
Extraits de réglisse (*Glycyrrhiza glabra* L.) — Détermination de la teneur en acide glycyrrhizique — Méthode par chromatographie liquide à haute performance

iTeh STANDARD PREVIEW
*Liquorice extracts (*Glycyrrhiza glabra* L.) — Determination of glycyrrhizic acid content — Method using high-performance liquid chromatography*
(standards.iteh.ai)

[ISO 11023:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f377f9f9-2433-4e60-85b5-dc572beef06f/iso-11023-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f377f9f9-2433-4e60-85b5-dc572beef06f/iso-11023-1999>



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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 3.

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 11023 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 54, *Huiles essentielles*.

L'annexe A de la présente Norme internationale est donnée uniquement à titre d'information.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 11023:1999](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f377f9f9-2433-4e60-85b5-dc572beef06f/iso-11023-1999)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f377f9f9-2433-4e60-85b5-dc572beef06f/iso-11023-1999>

© ISO 1999

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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
Internet iso@iso.ch

Imprimé en Suisse

Extraits de réglisse (*Glycyrrhiza glabra* L.) — Détermination de la teneur en acide glycyrrhizique — Méthode par chromatographie liquide à haute performance

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit une méthode de détermination de la teneur en acide glycyrrhizique des extraits de réglisse (*Glycyrrhiza glabra* L.) par chromatographie liquide à haute performance.

La méthode n'est pas applicable aux racines de réglisse en l'état ou broyées.

2 Principe

Préparation de l'échantillon et des solutions étalons, puis détermination de la teneur en acide glycyrrhizique par chromatographie liquide à haute performance, selon le mode opératoire décrit dans la présente Norme internationale.

iteh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

3 Réactifs

ISO 11023:1999

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f377919-2433-4e60-85b5-dc572bee106f/iso-11023-1999>

3.1 Eau, de pureté CLHP.

3.2 Substance de référence, glycyrrhizate monoammoniacal (GMA).

Si une substance de référence à pureté garantie n'est pas disponible, il est recommandé aux utilisateurs de la présente Norme internationale de trouver un accord entre les parties intéressées sur l'étalon à utiliser.

3.3 Acétonitrile, de pureté CLHP.

3.4 Acide acétique, de pureté analytique.

3.5 Solvant d'élution (phase mobile), composé comme suit:

- 38 volumes d'acétonitrile (3.3)
- 61 volumes d'eau (3.1)
- 1 volume d'acide acétique (3.4)

À l'aide de l'éprouvette graduée (4.3) préparer le solvant d'élution comme suit.

Mélanger 1 volume d'acide acétique à 61 volumes d'eau, puis filtrer le mélange à travers un filtre pour solvants aqueux (4.5).

Filtrer les 38 volumes d'acétonitrile à travers un filtre pour solvants organiques (4.4).

Ajouter l'acétonitrile filtré au mélange eau/acide acétique filtré. Mélanger, puis dégazer le solvant d'éluion dans une cuve à ultrasons (4.8.3) ou autre système approprié.

Ne pas conserver ce solvant plus de 48 h à la température ambiante.

4 Appareillage

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

4.1 Pipettes, de 5 ml et 10 ml de capacité.

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

4.3 Éprouvettes graduées.

4.4 Filtre pour solvants organiques, de 0,5 µm d'ouverture de pores.

4.5 Filtre pour solvants aqueux, de 0,45 µm d'ouverture de pores.

4.6 Étuve, capable d'être maintenue à une température de 105 °C ± 2 °C.

4.7 Balance analytique, précise à 0,000 1 g près.

4.8 Système de séparation, composé des éléments suivants:

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

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

4.8.3 Système de dégazage des solvants, tel qu'une cuve à ultrasons ou autre système approprié.

4.8.4 Système de détection ultraviolette, pouvant être réglé à une longueur d'onde de 254 nm.

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

4.10 Colonne, aux caractéristiques suivantes:

- matériau: acier inoxydable ou verre;
- longueur: 10 cm à 25 cm;
- diamètre intérieur: 0,4 cm à 0,5 cm;
- phase stationnaire: silice en phase greffée avec groupe fonctionnel dérivé octadécyle C18, de granulométrie maximale 5 µm.
- efficacité de la colonne: le nombre de plateaux théoriques recommandé est de 7 000 à 10 000.

4.11 Précolonne, aux caractéristiques suivantes:

- matériau: acier inoxydable;
- longueur: 10 mm ou 25 mm;
- diamètre intérieur: 2 mm ou 4 mm;
- phase stationnaire: silice en phase greffée avec groupe fonctionnel dérivé octadécyle C18.

5 Mode opératoire

5.1 Préparation des solutions étalons

5.1.1 Préparation de la solution à 0,5 mg/ml

Peser, à 10^{-4} g près, 50 mg de glycyrrhizate monoammoniacal (3.2), dans une fiole jaugée de 100 ml (4.2).

Ajouter le solvant d'éluion (3.5) et dissoudre le glycyrrhizate monoammoniacal (3.2). Compléter au trait avec une nouvelle quantité de solvant d'éluion.

Filtrer, si nécessaire, à travers un filtre pour solvants organiques (4.4).

Il est indispensable de préparer une nouvelle solution chaque jour.

5.1.2 Préparation des solutions diluées à 0,05 mg/ml, 0,075 mg/ml et 0,1 mg/ml

5.1.2.1 Solution étalon à 0,05 mg/ml

À l'aide d'une pipette (4.1), transférer 5 ml de la solution étalon à 0,5 mg/ml (5.1.1) dans une fiole jaugée de 50 ml (4.2). Compléter au trait avec le solvant d'éluion (3.5).

5.1.2.2 Solution étalon à 0,075 mg/ml

À l'aide d'une pipette (4.1), transférer 15 ml de la solution étalon à 0,5 mg/ml (5.1.1) dans une fiole jaugée de 100 ml (4.2). Compléter au trait avec le solvant d'éluion (3.5).

5.1.2.3 Solution étalon à 0,1 mg/ml

À l'aide d'une pipette (4.1), transférer 10 ml de la solution étalon à 0,5 mg/ml (5.1.1) dans une fiole jaugée de 50 ml (4.2). Compléter au trait avec le solvant d'éluion (3.5).

Il est indispensable de préparer une nouvelle solution chaque jour.

5.2 Préparation de la solution à analyser

5.2.1 Préparer la solution à analyser de façon que l'aire du pic de l'acide glycyrrhizique obtenue soit comprise entre les aires de pics des deux solutions étalons, en se basant sur les masses et volumes spécifiés dans le Tableau 1, en fonction de la teneur en acide glycyrrhizique supposée de l'échantillon.

Tableau 1 — Exemples de quantités et volumes à utiliser en fonction de la teneur en acide glycyrrhizique supposée des extraits de réglisse

Teneur en acide glycyrrhizique supposée	Masse de la prise d'essai	Volume de la fiole jaugée	Volume de solution pipetée	Volume de la fiole jaugée
%	mg	V_1 ml	V_2 ml	V_3 ml
3 à 5	1	50	5	50
5 à 10	1	100	5	50
10 à 15	0,50	100	5	50
20 à 25	0,25	100	5	50

5.2.2 Peser, à 10^{-4} g près, une prise d'essai de masse m_0 dans une fiole jaugée de volume V_1 ml.

Ajouter une quantité appropriée de solvant d'éluion (3.5) pour dissoudre l'échantillon, puis compléter au trait avec le solvant d'éluion.

À l'aide d'une pipette, transférer un volume V_2 de cette solution dans une fiole jaugée de volume V_3 ml.

Ajouter une quantité appropriée de solvant d'éluion (3.5), agiter et compléter au trait avec le solvant d'éluion.

Filtrer cette dernière solution sur un filtre pour solvants organiques (4.4) avant d'injecter.

5.3 Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles de l'échantillon

Peser, à 10^{-4} g près, une prise d'essai (m_0) d'exactly 2 g et la placer dans un verre montre taré.

Placer la prise d'essai dans l'étuve (4.6) réglée à 105 °C pendant 24 h, jusqu'à masse constante. Laisser refroidir, puis peser le résidu (m_1).

La teneur en eau et en matières volatiles de l'échantillon, w , exprimée en pourcentage en masse, est égale à :

$$w = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \times 100 \%$$

où

m_0 est la masse, en grammes, de la prise d'essai

m_1 est la masse, en grammes, du résidu obtenu.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

6 Détermination

ISO 11023:1999
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f3779f9-2433-4e60-85b5-dc572beef06f/iso-11023-1999>

6.1 Injecter 10 μ l de la solution 5.1.2.1.

6.2 Injecter 10 μ l de la solution 5.1.2.2.

6.3 Injecter 10 μ l de la solution 5.1.2.3.

6.4 Injecter 10 μ l de la solution à analyse (5.2.2).

6.5 Effectuer en double les opérations décrites en 6.1 à 6.4.

NOTE Il est possible d'injecter des quantités entre 5 μ l et 10 μ l si le système d'injection et de détection est adapté.

6.6 Mesurer l'aire du pic de l'acide glycyrrhizique sur les chromatogrammes des solutions étalons ainsi obtenus (voir l'annexe A).

6.7 Tracer une courbe donnant l'aire des pics de l'acide glycyrrhizique en fonction de la concentration en glycyrrhizate monoammoniacal des solutions étalons.

On obtient une droite d'étalonnage passant par l'origine.

6.8 À partir du chromatogramme de la solution échantillon, mesurer l'aire du pic de l'acide glycyrrhizique.

Lire sur la droite d'étalonnage la concentration, c , en glycyrrhizate monoammoniacal, en milligrammes par millilitre.

7 Expression des résultats

La teneur en acide glycyrrhizique, w_G , exprimée en pourcentage en masse, sur sec, est obtenue à l'aide de l'équation suivante:

$$w_G = \frac{c \times V_1 \times V_3 \times 100 \times p \times 822}{m_0 \times V_2 (100 - w) \times 839}$$

où

- m_0 est la masse, en grammes, de la prise d'essai;
- c est la valeur moyenne des concentrations obtenues, en milligrammes par millilitre, de glycyrrhizate monoammoniacal lue sur la droite d'étalonnage;
- p est la pureté de la substance de référence, en pourcentage;
- w est la teneur en eau et en matières volatiles de l'échantillon à analyser, déterminée en 5.3;
- 822 est la masse molaire de l'acide glycyrrhizique;
- 839 est la masse molaire du glycyrrhizate monoammoniacal;
- V_1, V_2, V_3 ont la signification indiquée dans le Tableau 1.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

8 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer:

- tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- la méthode d'échantillonnage utilisée, si elle est connue;
- la méthode d'essai utilisée, avec la référence à la présente Norme internationale;
- tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails sur les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le(les) résultat(s) d'essai;
- le(s) résultat(s) d'essai obtenu(s), ou,
- si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final cité qui a été obtenu.

Annexe A (informative)

Exemples de chromatogrammes

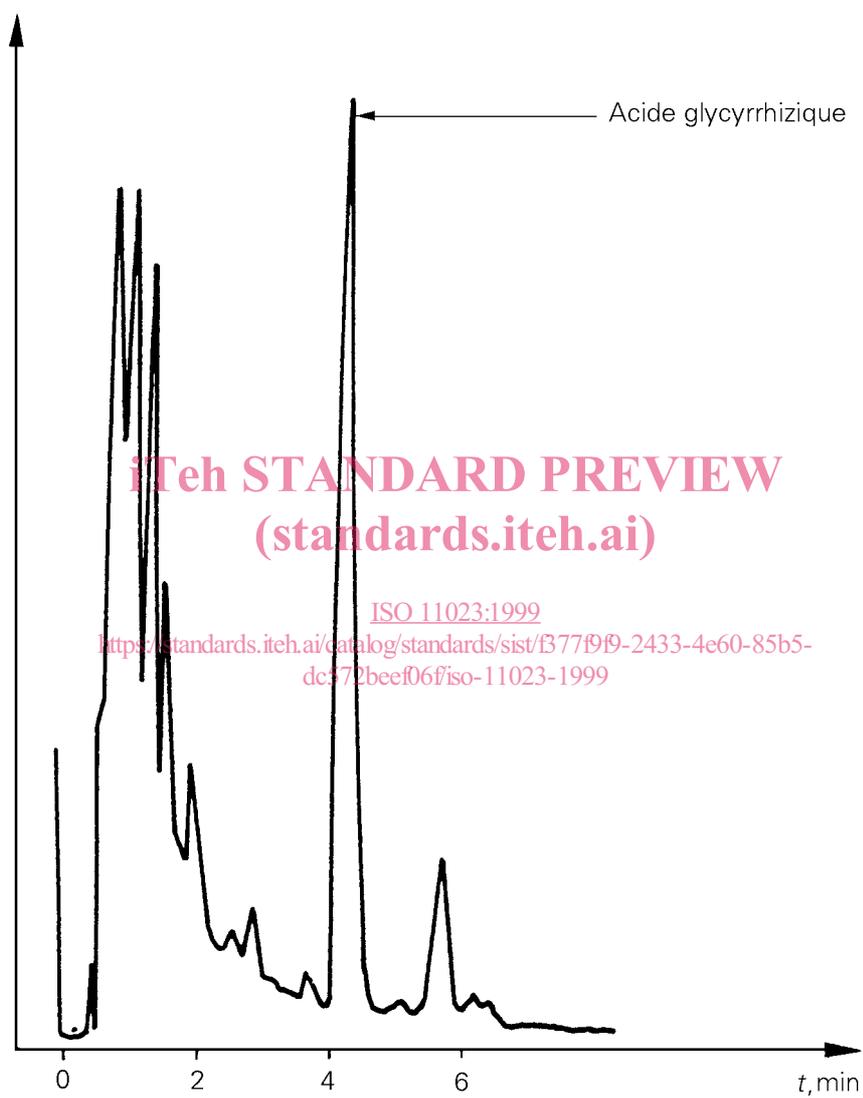


Figure A.1 — Chromatogramme d'un extrait de réglisse

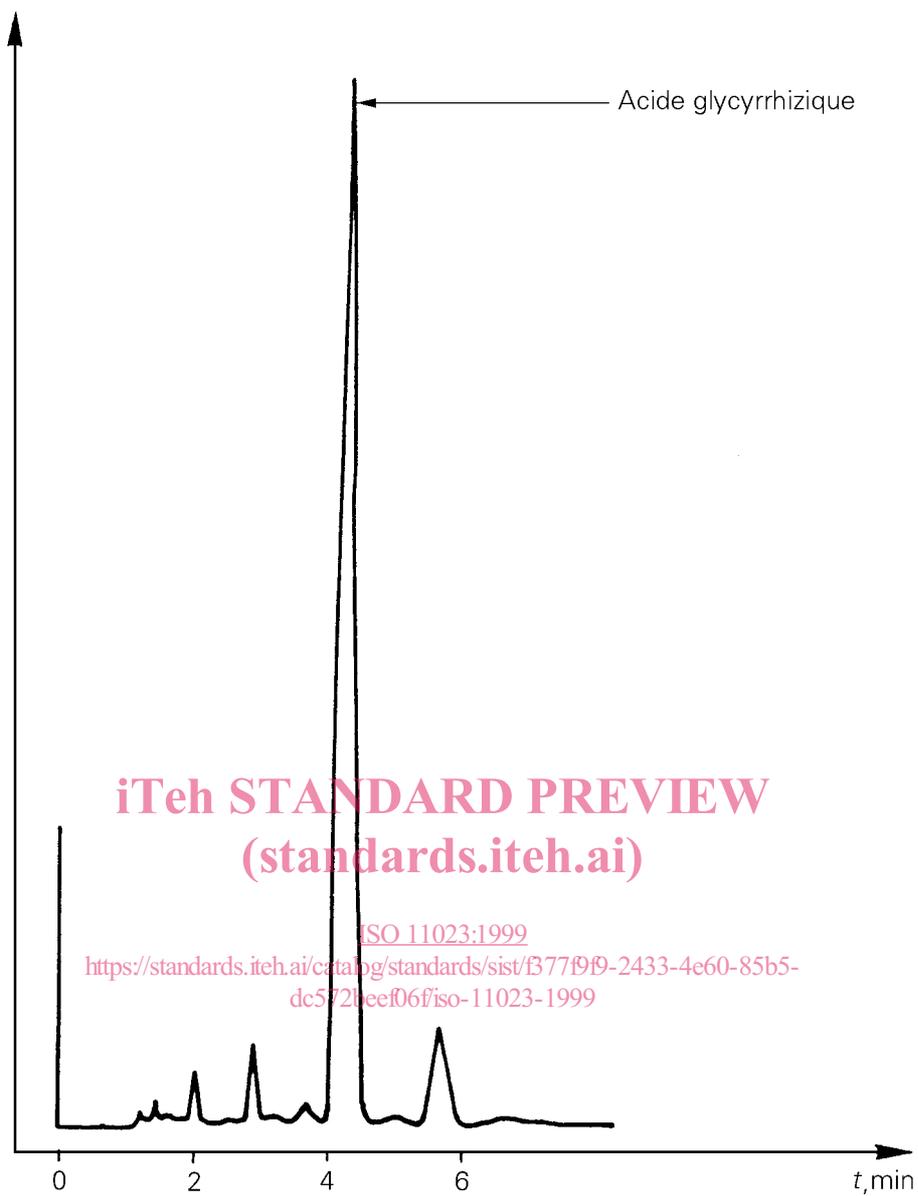


Figure A.2 — Chromatogramme de la substance de référence