
**Poivres, oléorésines de poivres —
Détermination de la teneur en pipérine —
Méthode par chromatographie en phase
liquide à haute performance**

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

*Pepper and pepper oleoresins — Determination of piperine content —
Method using high-performance liquid chromatography*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8aa685c-b3da-4244-bd68-d615dd6a1cc7/iso-11027-1993>

INCUBATE

ISO



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 11027 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 7, *Épices*.

L'annexe A de la présente Norme internationale 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

Poivres, oléorésines de poivres — Détermination de la teneur en pipérine — Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode permettant de déterminer, par chromatographie en phase liquide à haute performance, la teneur en pipérine des poivres (*Piper nigrum* Linnaeus) entiers ou en poudre, ainsi que de leurs extraits (oléorésines).

La méthode permet la séparation et, éventuellement, la détermination des autres alcaloïdes du poivre (isochavicine, isopipérine et pipérithine).

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

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

ISO 5564:1982, *Poivre noir et poivre blanc, entier ou en poudre — Détermination de la teneur en pipérine — Méthode spectrophotométrique*.

3 Principe

3.1 Cas des poivres en poudre

Extraction par l'éthanol sous reflux, puis détermination de la pipérine par chromatographie en phase

liquide à haute performance (CLHP), selon le mode opératoire décrit dans la présente Norme internationale.

3.2 Cas des poivres entiers

Préparation par broyage de l'échantillon, puis extraction de la poudre obtenue, suivie d'une détermination de la pipérine par CLHP, selon le mode opératoire décrit dans la présente Norme internationale.

3.3 Cas des oléorésines de poivre

Dilution de l'oléorésine dans l'éthanol, puis détermination de la pipérine par CLHP selon le mode opératoire décrit dans la présente Norme internationale.

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

Pipérine de pureté au moins égale à 98 %, déterminée par la méthode spectrométrique décrite dans l'ISO 5564.

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

4.2 Solvants

4.2.1 Éthanol, à 96 % (V/V).

4.2.2 Acétonitrile.

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

4.2.3 Acide acétique, solution aqueuse à 1 % (V/V).

4.3 Solvant d'élution

Mélanger 52 volumes de solution d'acide acétique (4.2.3) et 48 volumes d'acétonitrile (4.2.2).

5 Appareillage

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

5.1 Pipettes, de 2 ml, 5 ml et 10 ml de capacité.

5.2 Fioles jaugées, de 25 ml, 50 ml et 100 ml de capacité (en verre antiactinique ou entourées de papier d'aluminium).

5.3 Membranes de filtration, non adsorbantes.

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 343 nm.

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

5.6 Colonne

Matériau: acier inoxydable ou verre.

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

6 Méthode par calibration

AVERTISSEMENT — Tout au long du mode opératoire, les solutions doivent être conservées à l'abri de la lumière (par exemple, sous feuille d'aluminium) et utilisées le plus rapidement possible en raison de l'instabilité des solutions de pipérine.

6.1 Solution de référence

Préparer extemporanément une solution mère à 1 g/l de pipérine (4.1) dans l'éthanol (4.2.1).

6.2 Droite d'étalonnage

À partir de la solution de référence (6.1) préparer au moins trois solutions étalons de pipérine 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 pipérine 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:

$$K = m'/A$$

$$m' = m \times P_r$$

où

m est la masse, en milligrammes, de la pipérine;

A est l'aire du pic de la pipérine;

P_r est la pureté de la pipérine de référence;

m' est la masse corrigée de la pipérine, 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 Norme internationale. Une

méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 948¹⁾.

8 Préparation de l'échantillon pour essai

AVERTISSEMENT — Pour l'extraction du poivre en poudre, il est indispensable de travailler à l'abri de la lumière en raison de l'instabilité des solutions de pipérine.

8.1 Poivres en poudre

8.1.1 Vérifier par tamisage que la poudre passe en totalité au travers d'un tamis de 500 µm (5.8). Si ce n'est pas le cas, broyer à nouveau, selon les prescriptions de l'ISO 2825, pour obtenir cette granulométrie.

8.1.2 En utilisant l'échantillon pour essai préparé comme en 8.1.1, peser, à 0,01 g près, une prise d'essai de 0,5 g à 1 g et la transvaser dans un ballon à fond rond, de 100 ml, muni d'un réfrigérant. Ajouter 50 ml d'éthanol (4.2.1) et porter à l'ébullition. Maintenir 3 h sous reflux.

Laisser la solution refroidir. Filtrer la solution, et la recueillir dans une fiole de 100 ml. Rincer le ballon d'extraction et filtrer avec des portions successives d'éthanol (4.2.1). Utiliser les liquides de lavage pour compléter la fiole jaugée à 100 ml, et ajuster au trait de jauge avec de l'éthanol.

8.2 Poivres 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 (5.8).

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 poivres

Bien homogénéiser l'échantillon pour essai d'oléorésine.

9 Mode opératoire

9.1 Prise d'essai

9.1.1 Poivres entiers ou en poudre

Prélever, à l'aide d'une pipette (5.1), 10 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 solvant d'élution (4.3).

NOTE 1 Cette dilution peut être éventuellement modifiée par l'analyste en fonction de la teneur présumée en pipérine de l'échantillon et de la sensibilité du détecteur.

9.1.2 Oléorésines de poivre

Peser à 0,1 mg près, dans une fiole jaugée de 100 ml, 0,2 g d'oléorésine (voir 8.3), et ajuster au trait de jauge avec l'éthanol (4.2.1).

Prélever à l'aide d'une pipette (5.1) 10 ml de ce mélange dans une fiole jaugée de 50 ml, et compléter au trait de jauge avec le solvant d'élution (4.3).

NOTE 2 Cette dilution peut être éventuellement modifiée par l'analyste en fonction de la teneur présumée en pipérine 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 l'aire du pic de la pipérine (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 %.

10 Calcul

10.1 Cas des poivres entiers ou en poudre

Calculer la teneur en pipérine, en pourcentage en masse, à l'aide de la formule suivante:

$$A \times K \times \frac{25}{10} \times \frac{100}{m_x} \times 100$$

où

A est l'aire du pic de la pipérine, en unités d'intégrateur;

m_x est la masse, en milligrammes, de la prise d'essai (voir annexe A);

K est le coefficient de réponse déterminé pour la substance de référence.

NOTE 3 Le rapport 25/10 est lié à la dilution proposée en 9.1.1 et il convient de le modifier en conséquence si une autre dilution a été utilisée.

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

10.2 Cas des oléorésines de poivre

Calculer la teneur en pipérine, en pourcentage en masse, à l'aide de la formule suivante:

$$A \times K \times \frac{50}{10} \times \frac{100}{m_x} \times 100$$

où A , m_x et K ont les mêmes significations qu'en 8.1.1.

NOTE 4 Le rapport 50/10 est lié à la dilution proposée en 9.1.2 et il convient de le modifier en conséquence si une autre dilution a été utilisée.

11 Répétabilité

Prendre comme résultats pour le coefficient de réponse K et pour la teneur en pipérine, 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:

- a) référence à la présente Norme internationale;
- b) système d'appareillage;
- c) caractéristiques de la colonne (matériau, dimensions, remplissage, phase stationnaire);
- d) caractéristiques du détecteur (facultatif) et conditions d'utilisation;
- e) caractéristiques de la phase mobile (débit et nature);
- f) identification de l'échantillon (quantité injectée et éventuelle dilution);
- g) résultats obtenus.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 11027:1993

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8aa685c-b3da-4244-bd68-d615dd6a1cc7/iso-11027-1993>

Annexe A (informative)

Chromatogrammes-types

La figure A.1 illustre deux exemples de chromatogrammes-types obtenus selon les conditions opératoires décrites dans la présente Norme internationale.

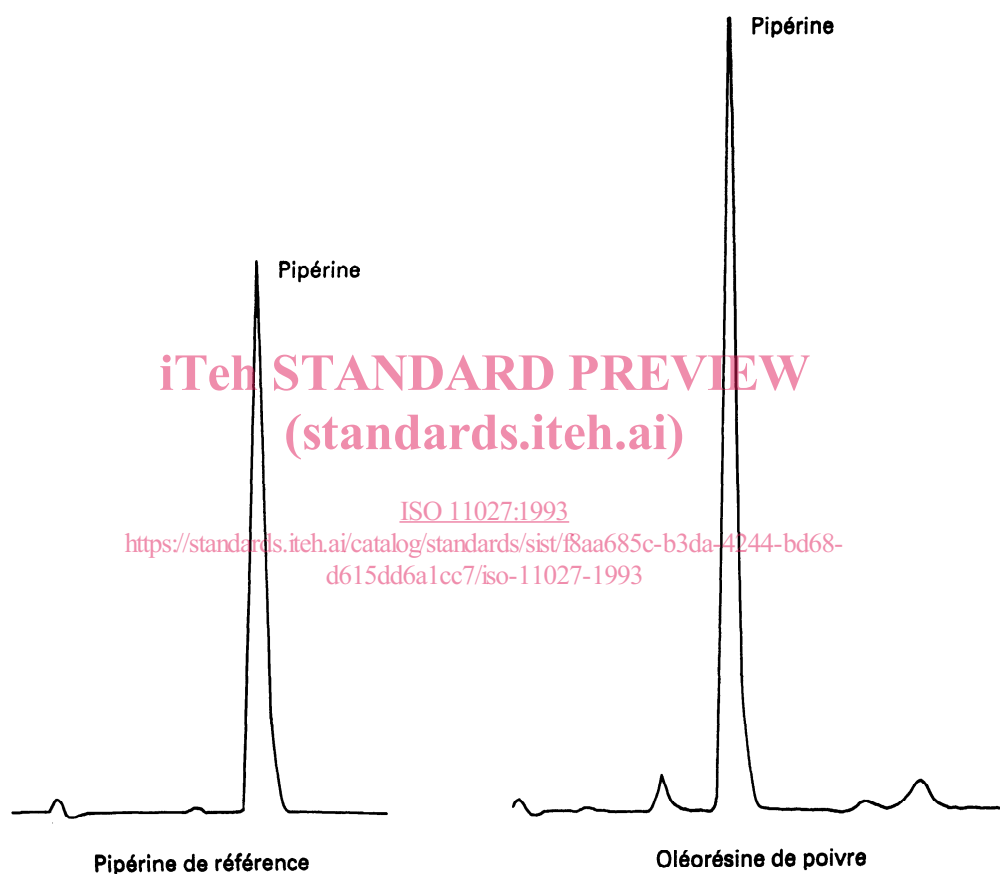


Figure A.1

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 11027:1993

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f8aa685c-b3da-4244-bd68-d615dd6a1cc7/iso-11027-1993>

CDU 633.841:543.544

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

Prix basé sur 5 pages
