
**Gingembre et oléorésines de gingembre —
Dosage des principaux composés piquants
(gingérols et shogaols) — Méthode par
chromatographie en phase liquide à haute
performance**

iTeh STANDARD PREVIEW
*Ginger and its oleoresins — Determination of the main pungent
components (gingerols and shogaols) — Method using high-performance
liquid chromatography*
(standards.iteh.ai)

[ISO 13685:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-
d6136b572a40/iso-13685-1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997)



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 13685 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 7, *Épices*.

Les annexes A à E de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

ITEH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 13685:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997>

© ISO 1997

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 central@iso.ch
X.400 c=ch; a=400net; p=iso; o=isocs; s=central

Imprimé en Suisse

Introduction

La présente méthode, initialement basée sur les publications de Wood de l'Overseas Development Natural Resources Institute (ODNRI) lève toute ambiguïté sur l'identité des pics obtenus par CLHP, retenus pour les contrôles de qualité des extraits de gingembre. Elle se justifie particulièrement dans ce cas où les composés organoleptiquement intéressants sont très thermosensibles.

La méthode a été validée par deux essais interlaboratoires réalisés sur le plan international par sept laboratoires.

Après examen des résultats, il a été estimé que la méthode pouvait être considérée comme constituant l'état de l'art actuel, mais qu'elle pourrait certainement être améliorée, notamment en ce qui concerne les données de fidélité.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 13685:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 13685:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997>

Gingembre et oléorésines de gingembre – Dosage des principaux composés piquants (gingérols et shogaols) – Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale décrit une méthode pour la détermination des gingérols [6]-G, [8]-G et [10]-G et des shogaols correspondants [6]-S, [8]-S et [10]-S dans le gingembre séché ou dans les oléorésines de gingembre, par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse.

NOTE — La structure chimique des gingérols et shogaols sont données en annexe A.

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 939:1980, *Épices — Détermination de la teneur en eau — Méthode par entraînement.*

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

3 Principe

À partir de gingembre pulvérisé et séché, extraction au méthanol des composés piquants, à température ambiante et concentration sous pression réduite d'une partie de l'extrait. Les oléorésines sont dissoutes dans le méthanol.

Les solutions résultantes sont analysées directement (sans aucune purification préalable) par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase inverse sur une colonne remplie d'octadécylsilyl silice, avec comme phase mobile un mélange d'acétonitrile et d'acide acétique aqueux et par détection UV à 280 nm.

La quantification est réalisée en utilisant un étalon externe avec l'acide nonanoïque vanillylamide qui a un temps de rétention comparable à celui du [6]-gingérol (ainsi qu'un spectre d'absorption UV comparable).

4 Réactifs et produits

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau de qualité CLHP.

4.1 Étalon externe: acide nonanoïque vanillylamide (NVA), dont le point de fusion se situe entre 42 °C et 44 °C, donnant essentiellement un pic unique (au moins 98 % de l'aire totale du pic entre 3 min et 8 min) en analyse par CLHP dans les conditions décrites dans la présente Norme internationale.

AVERTISSEMENT — Le NVA est un produit qui peut causer des irritations.

NOTE — Le NVA est aussi connu sous l'appellation «nonyl vanillylamide» ou «acide pélagonique vanillylamide».

4.2 Solvants

AVERTISSEMENT — L'acétonitrile est un produit toxique qui doit être utilisé avec précaution. Des études sont en cours pour le remplacer ultérieurement par un autre produit.

4.2.1 Méthanol, de qualité CLHP, pour la préparation de l'étalon NVA.

4.2.2 Méthanol, de qualité analytique, pour la dilution et l'extraction des échantillons pour essai.

4.2.3 Acétonitrile, de qualité CLHP.

4.2.4 Acide acétique cristallisable.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5 Appareillage

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

5.1 Chromatographe

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997>

Appareil équipé pour l'analyse par CLHP avec:

- un système d'injection capable de délivrer des portions aliquotes de 20 µl de la solution d'échantillon avec une grande précision;
- un détecteur ultraviolet (UV) réglé pour mesurer l'absorbance à une longueur d'onde de 280 nm;
- un enregistreur/intégrateur capable de mesurer l'aire des pics, avec correction de ligne de base appropriée, ayant une sensibilité de 0,25 à 0,5 a.u.f.s.

5.2 Colonne en acier inoxydable, de 250 mm de longueur et de 4,6 mm de diamètre (ou de dimensions comparables) remplie d'une phase stationnaire de type C₁₈ avec des particules de 5 µm¹⁾.

5.3 Évaporateur rotatif sous vide, équipé d'un bain d'eau contrôlé thermostatiquement.

5.4 Appareil à filtration sous vide.

5.5 Filtres Millipore type FH²⁾, avec pores de 0,5 µm, pour solvants organiques.

1) ODS-2, distribué par Phase Separations Ltd., GB, 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.

2) Les filtres Millipore sont des exemples de produits appropriés disponibles 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 des produits ainsi désignés.

5.6 Filtres Millipore type HA ²⁾, avec pores de 0,45 µm, pour solvants aqueux.

5.7 Pipettes à deux traits, de classe A, de 20 ml de capacité.

5.8 Pipette Pasteur.

5.9 Fioles jaugées à un trait, de 5 ml, 25 ml et 100 ml de capacités.

5.10 Ballon à fond rond, de 100 ml de capacité.

5.11 Balance analytique, précise à ± 0,001 g près.

6 Préparation de l'échantillon pour essai

6.1 Gingembre séché

Sauf s'il est déjà sous forme de poudre fine, le gingembre séché doit être moulu comme décrit dans l'ISO 2825 pour pouvoir passer au travers d'un tamis de 1 mm d'ouverture de maille.

La teneur en eau du produit moulu doit être déterminée conformément à l'ISO 939.

6.2 Oléorésines de gingembre

Bien agiter et homogénéiser l'oléorésine avant de prélever les échantillons pour essai.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

7 Mode opératoire

7.1 Préparation des solutions étalons de NVA

Peser, à 0,001 g près, 0,1 g de NVA (4.1), le dissoudre dans du méthanol (4.2.1). Compléter la solution à 100 ml. Conserver cette solution (à environ 1,0 mg/ml) à - 10 °C et, s'il y a lieu, préparer les solutions étalons (à environ 0,2 mg/ml et 0,4 mg/ml) en diluant la solution initiale (5 ml et 10 ml respectivement, dilués à 25 ml) avec du méthanol (4.2.1). Noter les concentrations exactes.

7.2 Préparation des solutions échantillons de NVA

7.2.1 Gingembre séché

Dans une fiole jaugée de 100 ml (5.9), peser, à 0,001 g près, 1 g de gingembre moulu. Compléter au trait repère avec du méthanol (4.2.2). Boucher la fiole et l'agiter vigoureusement. Après 2 h, agiter de nouveau vigoureusement, puis laisser reposer au moins 12 h. À l'aide d'une pipette (5.7) et sans toucher le dépôt au fond de la fiole, prélever une portion aliquote de 20,0 ml de la solution surnageante. La placer dans un ballon à fond rond de 100 ml (5.10) et réduire le volume de solvant à environ 2 ml à l'aide de l'évaporateur rotatif sous vide (5.3). Il convient que la température du bain d'eau ne dépasse pas 40 °C.

À l'aide d'une pipette Pasteur (5.8), transférer la solution concentrée et le méthanol de rinçage dans une fiole jaugée de 5 ml (5.9) et compléter au trait repère avec du méthanol (4.2.2). Boucher la fiole et l'agiter vigoureusement. Mettre de côté les deux extraits [le non concentré (original) et le concentré] pour les analyses en CLHP.

Pour chaque échantillon, préparer ces extraits en double et noter les concentrations exactes en milligrammes par millilitre.

7.2.2 Oléorésines de gingembre

Peser, à 0,001 g près, 0,5 g d'oléorésine dans une fiole jaugée de 100 ml (5.9) et noter la masse exacte. Compléter au trait repère avec du méthanol (4.2.2), boucher et agiter vigoureusement. Pour chaque échantillon d'oléorésine, préparer ces solutions en double et noter les concentrations exactes en milligrammes par millilitre.

7.3 Chromatographie

7.3.1 Phase mobile [acétonitrile avec de l'eau contenant 1 % d'acide acétique (65:35 avant dégazage)]

Au moyen de l'appareil à filtration sous vide (5.4), faire passer 520 ml d'acétonitrile (4.2.3) à travers un filtre Millipore type FH (5.5). Mélanger de l'eau et de l'acide acétique cristallisable (4.2.4) dans les proportions 99:1 (V/V) et faire passer 280 ml de ce mélange sur un filtre Millipore type HA (5.6) dans la solution d'acétonitrile filtrée. Dégazer le mélange en le gardant sous pression réduite (environ 0,3 bar), avec agitation magnétique pendant 5 min, ou par tout autre moyen convenable. Transférer la phase mobile dans le réservoir du chromatographe et établir un débit de 1,0 ml/min.

7.3.2 Détermination des facteurs de réponse

Régler l'enregistreur/intégrateur (5.1) pour empêcher l'intégration jusqu'à ce que les perturbations de la ligne de base dues au passage du solvant d'injection à travers le détecteur aient cessé (généralement environ 3 min à partir de l'injection). Ajuster le détecteur et/ou l'enregistreur à la sensibilité appropriée. Faire des injections répétées de 20 µl de chacune des solutions étalons de NVA (7.1), en laissant pour chaque chromatogramme un temps de déroulement égal au temps de rétention du NVA (généralement 4 min à 5 min) plus 4 min. Injecter chaque solution étalon au moins trois fois.

Noter l'aire du pic du NVA pour chaque chromatogramme et calculer la valeur moyenne pour chaque concentration de NVA (environ 0,2 mg/ml et 0,4 mg/ml). Calculer le facteur de réponse, K_{NVA} , pour le NVA comme suit:

$$K_{NVA} = \frac{c_{NVA} \times 100}{A_{NVA}} \text{ mg/100 ml/unité d'aire } ^3)$$

où

c_{NVA} est la concentration de NVA, en milligrammes par millilitre;

A_{NVA} est l'aire moyenne du pic de NVA à cette concentration

Pour une réponse linéaire, les valeurs de K_{NVA} calculées pour les deux concentrations ne doivent pas différer de plus de 2 %.

Voir la courbe d'étalonnage en annexe C.

Calculer ensuite les valeurs de K pour chaque gingérol et shogaol, comme indiqué ci-dessous.

Pour le [6]-gingérol:

$$\begin{aligned} K_{[6]-G} &= K_{NVA} \times \frac{294,38}{293,41} \\ &= K_{NVA} \times 1,003 \text{ mg/100 ml/unité d'aire} \end{aligned}$$

où

294,38 est la masse moléculaire du [6]-gingérol;

293,41 est la masse moléculaire du NVA.

3) Unité propre à l'intégrateur utilisé. Cette unité arbitraire est éliminée au cours du calcul.

De la même façon,

$$K_{[8]-G} = K_{NVA} \times 1,099 \text{ mg/100 ml/unité d'aire}$$

$$K_{[10]-G} = K_{NVA} \times 1,194 \text{ mg/100 ml/unité d'aire}$$

$$K_{[6]-S} = K_{NVA} \times 0,942 \text{ mg/100 ml/unité d'aire}$$

$$K_{[8]-S} = K_{NVA} \times 0,942 \text{ mg/100 ml/unité d'aire}$$

$$K_{[10]-S} = K_{NVA} \times 1,133 \text{ mg/100 ml/unité d'aire}$$

7.3.3 Analyse des solutions échantillons

7.3.3.1 Gingembre séché

Injecter chaque extrait concentré préparé en 7.2.1, en utilisant les mêmes réglages instrumentaux qu'en 7.3.2, mais en respectant un temps de déroulement plus long d'environ 17 min. Enregistrer les aires des pics correspondants aux [6]-G, [8]-G, [6]-S et [10]-G répertoriés dans l'ordre des temps de rétention. (Voir le chromatogramme type en annexe D.)

Les composés [8]-S et [10]-S sont rarement trouvés en quantités significatives dans le gingembre séché et le pic du [6]-G, dont le temps de rétention est proche de celui du NVA, est normalement le plus grand sur le chromatogramme.

Pour un échantillon dont l'extrait concentré conduit à une aire de pic pour le [6]-G plus grande que celle du pic du NVA dans l'étalon à 0,4 mg/ml, injecter aussi l'extrait non concentré issu de 7.2.1 et utiliser le chromatogramme qui en résulte pour la détermination de [6]-G.

7.3.3.2 Oléorésines de gingembre

Injecter chaque solution d'oléorésine préparée en 7.2.2, en utilisant les mêmes réglages instrumentaux qu'en 7.3.2, mais en respectant un temps de déroulement plus long d'environ 40 min. Enregistrer les aires des pics correspondants aux [6]-G, [8]-G, [6]-S, [10]-G, [8]-S, et [10]-S répertoriés dans l'ordre des temps de rétention. (Voir le chromatogramme type en annexe D.)

Les pics de [6]-G et [6]-S sont normalement les plus grands sur le chromatogramme et le temps de rétention de [6]-G est voisin de celui du NVA.

Pour un échantillon donnant une aire du pic pour [6]-G plus grande que celle du pic du NVA dans l'étalon à 0,4 mg/ml, préparer et injecter une dilution appropriée et utiliser le chromatogramme qui en résulte pour la détermination de [6]-G.

8 Expression des résultats

Calculer la concentration de chaque gingérol ou shogaol dans l'échantillon de gingembre séché ou d'oléorésine, comme illustré ci-dessous pour le [6]-gingérol. La teneur en [6]-G de l'échantillon est

$$\frac{A_{[6]-G} \times K_{[6]-G}}{c} \% (m/m)$$

où

$A_{[6]-G}$ est l'aire du pic de [6]-G sur le chromatogramme de l'échantillon (déterminé en 7.3.3);

$K_{[6]-G}$ est le facteur de réponse (déterminé en 7.3.2) pour [6]-G, exprimé en mg/100 ml/unité d'aire;

c est la concentration de gingembre séché (corrigée pour la teneur en eau) ou d'oléorésine dans la solution échantillon, exprimée en milligrammes par millilitre.

9 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essais individuels indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode, sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même appareillage et dans un court intervalle de temps, ne devrait pas être supérieure à

2 % pour le gingembre séché (pour le [6]-G);

2 % pour une oléorésine de gingembre (pour le [6]-G ou pour le [6]-S).

NOTE — Les résultats des deux essais interlaboratoires réalisés sont donnés en annexe E pour information uniquement.

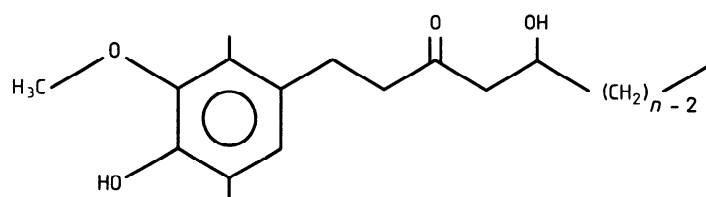
iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 13685:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997>

Annexe A (informative)

Structure chimique des gingérols et des shogaols



[6]-G, $n = 6$: $C_{17}H_{26}O_4 = 294,38$

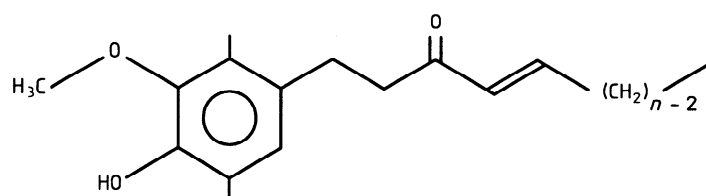
[8]-G, $n = 8$: $C_{19}H_{30}O_4 = 322,43$

[10]-G, $n = 10$: $C_{21}H_{34}O_4 = 350,48$

Figure A.1 — Gingérols

ISO 13685:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/ae8372cc-61ed-491b-b71c-d6136b572a40/iso-13685-1997>



[6]-S, $n = 6$: $C_{17}H_{24}O_3 = 276,36$

[8]-S, $n = 8$: $C_{19}H_{28}O_3 = 304,41$

[10]-S, $n = 10$: $C_{21}H_{32}O_3 = 332,46$

Figure A.2 — Shogaols