
Safran (*Crocus sativus* L.) —

**Partie 2:
Méthodes d'essai**

*Saffron (*Crocus sativus* L.) —*

Part 2: Test methods

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO/TS 3632-2:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/372632ec-adb3-4b81-ad59-e6d41ee459cd/iso-ts-3632-2-2003)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/372632ec-adb3-4b81-ad59-e6d41ee459cd/iso-ts-3632-2-2003>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO/TS 3632-2:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/372632ec-adb3-4b81-ad59-e6d41ee459cd/iso-ts-3632-2-2003)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/372632ec-adb3-4b81-ad59-e6d41ee459cd/iso-ts-3632-2-2003>

© ISO 2003

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Essais et tailles des échantillons	2
5 Essai d'identification	4
6 Examen microscopique du safran	6
7 Détermination de l'humidité et de la teneur en matières volatiles	9
8 Détermination de la teneur en restes floraux dans le safran en filaments et filaments coupés	10
9 Détermination de la teneur en matières étrangères dans le safran en filaments	11
10 Broyage et tamisage des échantillons pour les essais décrits aux Articles 6, 7 et 12 à 17	12
11 Détermination de l'extrait soluble dans l'eau froide	13
12 Détermination des cendres totales	13
13 Détermination des cendres insolubles dans l'acide	13
14 Détermination des principales caractéristiques par méthode spectrométrique UV/visible	13
15 Identification des pigments du safran	15
16 Recherche et identification des colorants artificiels hydrosolubles acides: méthode par chromatographie sur couche mince (CCM)	17
17 Recherche des colorants artificiels hydrosolubles acides — Méthode par chromatographie liquide à haute performance (CLHP)	21
Annexe A (informative) Exemple d'expression des résultats pour un examen microscopique	27
Annexe B (informative) Référentiel photographique pour l'identification microscopique	29
Annexe C (informative) Exemple de profil UV/visible d'un extrait aqueux de safran	32
Annexe D (informative) Exemples de chromatogrammes obtenus dans les conditions de l'essai	33
Bibliographie	35

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 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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.

Dans d'autres circonstances, en particulier lorsqu'il existe une demande urgente du marché, un comité technique peut décider de publier d'autres types de documents normatifs:

- une Spécification publiquement disponible ISO (ISO/PAS) représente un accord entre les experts dans un groupe de travail ISO et est acceptée pour publication si elle est approuvée par plus de 50 % des membres votants du comité dont relève le groupe de travail;
- une Spécification technique ISO (ISO/TS) représente un accord entre les membres d'un comité technique et est acceptée pour publication si elle est approuvée par 2/3 des membres votants du comité.

Une ISO/PAS ou ISO/TS fait l'objet d'un examen après trois ans afin de décider si elle est confirmée pour trois nouvelles années, révisée pour devenir une Norme internationale, ou annulée. Lorsqu'une ISO/PAS ou ISO/TS a été confirmée, elle fait l'objet d'un nouvel examen après trois ans qui décidera soit de sa transformation en Norme internationale soit de son annulation.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO/TS 3632-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 7, *Épices*.

Cette première édition annule et remplace l'ISO 3632-2:1993, qui a fait l'objet d'une révision technique.

L'ISO/TS 3632 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Safran* (*Crocus sativus L.*):

- *Partie 1: Spécifications*
- *Partie 2: Méthodes d'essai*

Safran (*Crocus sativus* L.) —

Partie 2: Méthodes d'essai

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO/TS 3632 spécifie les méthodes d'analyse du safran obtenu à partir des fleurs de *Crocus sativus* L.

Elle est applicable au safran présenté sous l'une des formes suivantes:

- en filaments entiers et coupés, sous forme de masse lâche, souple élastique et hygroscopique;
- en poudre.

NOTE Les spécifications du safran sont données dans l'ISO/TS 3632-1.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

2 Références normatives

[ISO/TS 3632-2:2003](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/372632ec-adb3-4b81-ad59->

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 928, *Épices — Détermination des cendres totales*

ISO 930, *Épices — Détermination des cendres insolubles dans l'acide*

ISO 941, *Épices — Détermination de l'extrait soluble dans l'eau froide*

ISO/TS 3632-1, *Safran (Crocus sativus L.) — Partie 1: Spécifications*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions donnés dans l'ISO/TS 3632-1 ainsi que les suivants s'appliquent.

3.1

humidité et teneur en matières volatiles

perte de masse déterminée dans les conditions décrites dans la présente partie de l'ISO/TS 3632

NOTE L'humidité et la teneur en matières volatiles sont exprimées sous forme de pourcentage en masse de l'échantillon.

3.2

pouvoir colorant

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$

absorbance à la longueur d'onde maximale (environ 440 nm) de la crocine pour une solution à 1 % de l'échantillon pour essai, dans une cuve d'1 cm

NOTE Le pouvoir colorant est principalement dû à la teneur en crocine.

3.3

profil UV/visible

spectre d'un extrait aqueux de safran entre 200 nm et 700 nm

NOTE Un exemple est illustré à la Figure C.1.

3.4

limite de détection

plus petite concentration ou teneur en analyte pouvant être détectée, mais pas quantifiée, dans les conditions d'essai décrites pour la méthode

4 Essais et tailles des échantillons

4.1 Masse minimale de l'échantillon pour essai

Le prix du safran étant très élevé, la masse d'échantillon reçue dans les laboratoires pour réaliser les analyses est souvent restreinte. La masse minimale de l'échantillon pour laboratoire doit être de 14 g ($7 \text{ g} \times 2$) afin de réaliser l'ensemble des analyses standard en double.

Il est recommandé que des quantités supérieures d'échantillon soient mises à disposition des laboratoires en cas de litige.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/372632ec-adb3-4b81-ad59-ef6d41ee459d/iso-ts-3632-2-2003>

En raison de la faible masse des prises d'essai, il est souhaitable que le prélèvement soit effectué à partir d'un échantillon homogénéisé.

4.2 Essais requis et tailles des échantillons

Voir le Tableau 1 pour le safran en filaments et filaments coupés et le Tableau 2 pour le safran en poudre.

Tableau 1 — Safran en filaments et filaments coupés

Ordre des analyses de laboratoire	Mode opératoire (échantillon: 7 g × 2 = 14 g)	Échantillon pour essai g	Commentaires	Article correspondant
1	Essai d'identification	5	Essai non destructif Rejeter l'échantillon si la présence de matières végétales étrangères au <i>Crocus sativus</i> L est détectée	Article 5
2	Détermination de la teneur en restes floraux	3	Essai non destructif	Article 8
3	Détermination des matières étrangères	3	Échantillon reconstitué après réincorporation des restes floraux	Article 9
4	Regroupement et mélange de tous les éléments séparés lors des essais	5	Retour à l'échantillon pour essai initial de 5 g	Articles 5, 8 et 9
5	Examen microscopique	0,05		Article 6
6	Détermination de l'humidité et de la teneur en matières volatiles	2,5	Conserver l'échantillon pour la détermination des cendres totales et des cendres insolubles dans l'acide	Article 7
7	Détermination de l'extrait soluble dans l'eau froide	2		Article 11
8	Détermination de la teneur en cendres totales	2 (approx.)	Échantillon restant après l'essai 6	Article 12
9	Détermination de la teneur en cendres insolubles dans l'acide	2 (approx.)	Échantillon restant après l'essai 8	Article 13
10	Broyage et tamisage	5	Effectuer le tamisage conformément à l'Article 10 de manière à obtenir une poudre passant à 95 % au travers d'un tamis de 500 µm d'ouverture de maille. Réincorporer ce qui reste dans le réceptacle du tamis	Article 10
11	Détermination des principales caractéristiques	0,5		Article 14
12	Chromatographie sur couche mince: identification des pigments du safran	0,05		Article 15
13	Chromatographie sur couche mince: identification des colorants artificiels	0,5	L'emploi de la CLHP (essai 14) est envisageable en remplacement, ou en complément. Dans ce dernier cas utiliser l'extrait pour chaque méthode	Article 16
14	Chromatographie liquide à haute performance: identification des colorants artificiels	0,5	L'emploi de la CCM (essai 13) est envisageable en remplacement, ou en complément. Dans ce dernier cas utiliser l'extrait pour chaque méthode	Article 17

NOTE Il reste 1,40 g d'échantillon qui peuvent servir à d'autres essais ou à répéter certaines analyses, si nécessaire.

Tableau 2 — Safran en poudre

Ordre des analyses de laboratoire	Mode opératoire (échantillon: 7 g × 2 = 14 g)	Échantillon pour essai g	Commentaires	Article correspondant
1	Essai d'identification	0,5	Ne pas poursuivre cette analyse si l'analyse colorimétrique n'est pas correcte	Article 5
2	Examen microscopique	0,05		Article 6
3	Détermination de l'humidité et de la teneur en matières volatiles	2,5	Conserver l'échantillon pour la détermination des cendres totales et des cendres insolubles dans l'acide	Article 7
4	Détermination de l'extrait soluble dans l'eau froide	2		Article 11
5	Détermination de la teneur en cendres totales	2 (approx.)	Échantillon restant après l'essai 3	Article 12
6	Détermination de la teneur en cendres insolubles dans l'acide		Échantillon restant après l'essai 5	Article 13
7	Broyage et tamisage	4,5	Vérifier que 95 % de la poudre passe au travers d'un tamis de 500 µm d'ouverture de maille. Réincorporer ce qui reste dans le réceptacle du tamis	Article 10
8	Détermination des principales caractéristiques	0,5		Article 14
9	Chromatographie sur couche mince: identification des pigments du safran	0,05		Article 15
10	Chromatographie sur couche mince: identification des colorants artificiels	0,5	L'emploi de la CLHP (essai 11) est envisageable en remplacement, ou en complément. Dans ce dernier cas utiliser l'extrait pour chaque méthode	Article 16
11	Chromatographie liquide haute performance: identification des colorants artificiels	0,5	L'emploi de la CCM (essai 10) est envisageable en remplacement, ou en complément. Dans ce dernier cas utiliser l'extrait pour chaque méthode	Article 17

NOTE Il reste 0,9 g d'échantillon qui peuvent servir à d'autres essais ou à répéter certaines analyses, si nécessaire.

5 Essai d'identification

5.1 Généralités

Cet essai préliminaire peut éviter de réaliser les analyses suivantes, s'il apparaît qu'il ne s'agit pas de safran pur.

5.2 Safran en filaments et filaments coupés

5.2.1 Principe

Examen visuel à la loupe.

5.2.2 Appareillage

5.2.2.1 **Loupe**, d'un grossissement maximum de $\times 10$.

5.2.2.2 **Verre de montre**, de taille appropriée.

5.2.3 Mode opératoire

Étaler l'échantillon pour essai de safran en filaments et filaments coupés sur le verre de montre (5.2.2.2) et l'examiner à la loupe (5.2.2.1).

5.2.4 Interprétation des résultats

Tous les filaments doivent appartenir à la plante de *Crocus sativus* L.

Rejeter l'échantillon s'il contient des matières végétales étrangères au *Crocus sativus* L.

5.3 Safran en poudre

5.3.1 Principe

Utilisation d'une réaction colorimétrique.

5.3.2 Réactifs

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

5.3.2.1 **Acide sulfurique**, d'une densité de 1,19 g/l.

5.3.2.2 **Diphénylamine**, ne produisant aucune réaction colorée avec l'acide sulfurique.

5.3.2.3 **Solution de diphénylamine**, préparée comme suit:

Mélanger 0,1 g de diphénylamine (5.3.2.2) à 20 ml d'acide sulfurique (5.3.2.1) et 4 ml d'eau.

5.3.3 Appareillage

5.3.3.1 **Capsule en porcelaine**, à fond plat.

5.3.4 Mode opératoire

Prélever 0,5 g de safran (voir Tableau 2).

Placer cette prise d'essai dans la capsule en porcelaine (5.3.3.1) contenant la solution de diphénylamine (5.3.2.3).

5.3.5 Interprétation des résultats

Le safran pur vire immédiatement au bleu, puis rapidement au rouge-brun.

La couleur bleue persiste en présence de nitrates.

6 Examen microscopique du safran

6.1 Généralités

La méthode s'applique à l'examen du safran en poudre et en filaments afin de déterminer si l'échantillon est constitué de stigmates de *Crocus sativus* L. exclusivement et de mettre en évidence tout reste floral et toute matière étrangère.

6.2 Principe

Vérification de l'identité du safran en poudre et en filaments broyés et détection des restes floraux et matières étrangères par la recherche des éléments anatomiques observables en microscopie, selon les conditions décrites en 6.5. Les pourcentages relatifs aux éléments observés peuvent être déterminés, si nécessaire (voir Annexes B et C).

6.3 Réactifs

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déminéralisée ou de l'eau de pureté équivalente.

6.3.1 Solution iodo-iodurée, solution aqueuse d'iode dans l'iodure de potassium.

Dans une fiole jaugée à un trait de 100 ml munie d'un bouchon en verre, introduire 2 g d'iode, 4 g d'iodure de potassium et environ 10 ml d'eau. Laisser la dissolution s'effectuer et compléter au trait repère avec de l'eau. Boucher la fiole.

6.3.2 Solution éclaircissante, soit d'hydroxyde de sodium ou d'hydroxyde de potassium à 5 g/100 ml d'eau, soit d'hydrate de chloral à 80 g/100 ml d'eau; dissoudre à chaud.

[ISO/TS 3632-2:2003](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/372632ec-adb3-4b81-ad59-e6d41ee459cd/iso-ts-3632-2-2003)

6.4 Appareillage

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/372632ec-adb3-4b81-ad59-e6d41ee459cd/iso-ts-3632-2-2003>

Matériel courant utilisé pour les examens microscopiques, tels que lames, lamelles, scalpel, aiguilles lancéolées, et notamment.

6.4.1 Fiole jaugée, de 100 ml de capacité.

6.4.2 Seringue, permettant de délivrer des volumes de 50 µl, graduée en microlitres.

6.4.3 Microscope, permettant l'observation sous un grossissement de ×100 et ×400, éventuellement muni d'un dispositif permettant l'examen en lumière polarisée.

6.5 Mode opératoire

6.5.1 Prise d'essai

Prélever pour chaque lame (de 6.5.2 à 6.5.4) une prise d'essai de l'ordre de 0,001 g à 0,002 g de safran en poudre (10.3) ou de safran en filaments broyés (10.2).

6.5.2 Préparation pour l'observation dans l'eau

Préparer deux lames comme suit:

Sur une lame, déposer 50 µl d'eau. Avec la pointe d'un scalpel ou d'une aiguille lancéolée, prélever la prise d'essai (6.5.1) et la délayer dans l'eau, attendre 5 min au moins que la poudre soit bien mouillée avant de couvrir d'une lamelle.

6.5.3 Préparation pour l'observation dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium, d'hydroxyde de potassium ou d'hydrate de chloral

Préparer deux lames en opérant comme indiqué en 6.5.2 mais en remplaçant l'eau par la solution aqueuse d'hydroxyde de sodium, d'hydroxyde de potassium ou d'hydrate de chloral (6.3.2)

Attendre quelques minutes pour que le milieu éclaircisse et observer dans les 10 min suivant l'ajout de la solution éclaircissante afin de ne pas altérer les éléments cellulaires et rendre leur identification possible.

NOTE Cette observation permet d'éclaircir les préparations en détruisant totalement ou partiellement la majeure partie du contenu cellulaire. Les éléments cellulaires sont ainsi plus nets et plus faciles à observer, surtout les éléments scléreux, les vaisseaux, les fibres et les épidermes.

6.5.4 Préparation pour l'observation dans une solution aqueuse iodo-iodurée

Préparer une lame en opérant comme indiqué en 6.5.2, mais en remplaçant l'eau par la solution iodo-iodurée (6.3.1).

NOTE Cette observation permet de voir les grains d'amidon qui se colorent en bleu noir ou violet noir.

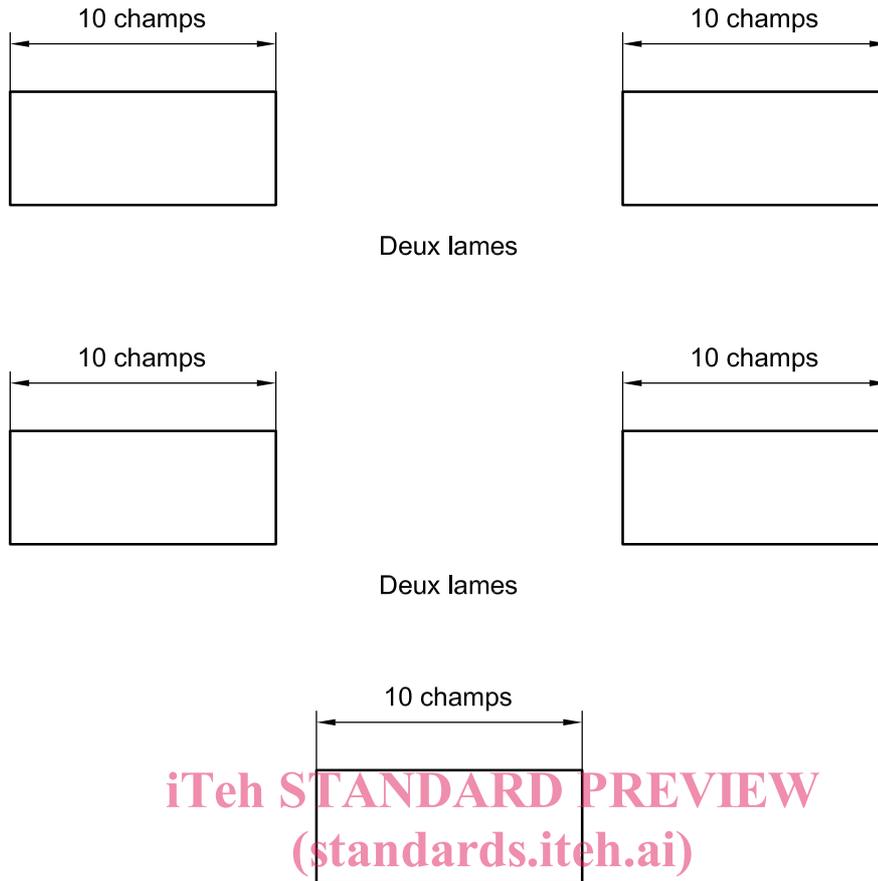
6.5.5 Observation, identification, comptage

Placer chacune des lames préparées selon 6.5.2 à 6.5.4 sous le microscope (6.4.3). Régler le grossissement sur $\times 100$. Identifier et compter les éléments observés à un grossissement $\times 400$ (voir 6.7).

NOTE L'identification et le comptage des structures anatomiques et des éléments exogènes se font pour chaque lame sur l'observation de 10 champs.

Si le microscope utilisé (6.4.3) est muni d'un dispositif permettant l'observation en lumière polarisée, une des deux lames préparées en 6.5.2 doit être observée en lumière polarisée comme indiqué en 6.5.5.

La Figure 1 illustre un exemple qui résume l'ensemble des opérations permettant le comptage.



Deux lames

Deux lames

10 champs

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Une lame

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/372632ec-adb3-4b81-ad59-e6d41ee459cd/iso-ts-3632-2-2003>

Figure 1 — Mode opératoire

6.6 Expression des résultats

Un exemple d'expression des résultats est fourni à titre indicatif à l'Annexe A.

6.7 Examen microscopique

Voir le référentiel photographique fourni à titre indicatif à l'Annexe B.

Lors de l'examen, les éléments suivants peuvent être observés:

- des fragments de l'extrémité distale du stigmate garnie de grosses papilles allongées en forme de cheveux après broyage des papilles isolées (Figure B.1);
- des débris épidermiques du stigmate qui se caractérisent par de petites invaginations de la membrane (Figure B.2);
- des débris épidermiques du style, qui se caractérisent par une paroi sinueuse (Figure B.3);
- des grains de pollens arrondis, de 80 µm à 100 µm de diamètre, dont la paroi cellulaire est lisse et l'exine présente de petites crêtes (Figure B.4);
- des fragments d'éléments conducteurs constitués de vaisseaux spiralés (Figure B.5);

- des fragments d'étamines (Figure B.6);
- des grains d'amidon (Figure B.7);
- des matières minérales (Figure B.8);
- des fragments de paille (Figure B.9);
- des cellules dont le contenu reste coloré malgré la solution éclaircissante (Figure B.10).

6.8 Interprétation des examens microscopiques

L'appréciation du pourcentage relatif à chaque structure évaluée à partir de la grille de comptage permet de vérifier que le safran broyé est majoritairement constitué de fragments de stigmates auxquels peuvent être associés des fragments de styles et des grains de pollens.

La représentativité des restes floraux doit être faible, celle des éléments étrangers pratiquement inexistante.

NOTE Le safran broyé ne présente ni cellules scléreuses, ni fibres, ni poils tecteurs, ni grains d'amidon. Le contenu des cellules se dissout totalement dans l'eau en la colorant en jaune orangé.

7 Détermination de l'humidité et de la teneur en matières volatiles

7.1 Généralités

Cette méthode s'applique à la détermination de l'humidité et de la teneur en matières volatiles du safran en filaments et filaments coupés ou en poudre.

NOTE La méthode de détermination de l'humidité des épices et aromates décrite dans la norme ISO 939 n'est pas applicable dans le cas du safran, car elle nécessite l'utilisation d'une prise d'essai trop importante.

7.2 Principe

Séchage à l'étuve à $103 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$, pendant 16 h.

7.3 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et notamment:

- 7.3.1 **Capsule à peser** ou **capsule d'évaporation**, munie d'un couvercle ou d'un verre de montre.
- 7.3.2 **Étuve**, réglable à $103 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$.
- 7.3.3 **Dessiccateur**, garni d'un agent déshydratant.
- 7.3.4 **Balance analytique**, précise à 0,001 g près.

7.4 Mode opératoire

7.4.1 Prise d'essai

7.4.1.1 Safran en filaments et filaments coupés

Opérer à partir de l'échantillon tel que reconstitué après la détermination et la réincorporation des restes floraux (Article 8) et des matières étrangères (Article 9) (voir Tableau 1).