
**Corps gras d'origine végétale —
Détermination des produits de
décomposition des chlorophylles a et a'
(phéophytines a, a' et pyropheophytines)**

*Vegetable fats and oils — Determination of the degradation products of
chlorophylls a and a' (pheophytins a, a' and pyropheophytins)*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 29841:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009>



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 29841:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2009

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

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.

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 29841 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 11, *Corps gras d'origines animale et végétale*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 29841:2009
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 29841:2009

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009>

Corps gras d'origine végétale — Détermination des produits de décomposition des chlorophylles *a* et *a'* (phéophytines *a*, *a'* et pyrophéophytines)

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie un mode opératoire permettant la détermination des produits de décomposition des chlorophylles, à savoir les phéophytines *a* et *a'* et la pyrophéophytine *a*. La méthode s'applique uniquement aux corps gras d'origine végétale.

2 Références normatives

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 (y compris les éventuels amendements) s'applique.

ISO 661, *Corps gras d'origines animale et végétale — Préparation de l'échantillon pour essai*

3 Termes et définitions

[ISO 29841:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009)

[128c2ace8de9/iso-29841-2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009)

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

pyrophéophytine *a* (teneur dans les produits de dégradation de la chlorophylle)

masse de pyrophéophytine *a* divisée par la somme des masses de phéophytines *a* et *a'* et de pyrophéophytine *a*

4 Principe

Séparation des pigments (chlorophylles, phéophytines *a* et *a'*, pyrophéophytine *a*), par chromatographie miniaturisée sur colonne de gel de silice, des constituants majoritaires des lipides (triglycérides). L'éluat est analysé par CLHP sur colonne RP 18 et les composants séparés sont détectés à 410 nm à l'aide d'un détecteur photométrique.

L'analyse de certaines huiles issues de graines oléagineuses (par exemple l'huile de colza) nécessite une sensibilité plus élevée qui peut être obtenue par détection par fluorescence avec une longueur d'onde d'excitation de 430 nm et une longueur d'onde d'émission de 670 nm.

Une détermination directe par CLHP avec détection par fluorescence est également possible et décrite à l'Annexe C.

5 Réactifs

AVERTISSEMENT — L'attention est attirée sur les réglementations spécifiant la manipulation des substances dangereuses. Les mesures de sécurité sur les plans technique, organisationnel et de la sécurité personnelle doivent être suivies.

Au cours de l'analyse, sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

5.1 Chlorophylle a.

NOTE Du fait de l'absence d'étalons de phéophytine et de pyropheophytine, de la chlorophylle a est utilisée pour obtenir ces produits de décomposition. Les phéophytines sont obtenues à partir d'une solution de chlorophylle a par acidification, les pyropheophytines en procédant à un chauffage supplémentaire (> 100 °C) (Référence [4]).

5.2 Acétone.

5.3 Méthanol.

5.4 Éther diéthylique.

5.5 Éther de pétrole, domaine d'ébullition compris entre 40 °C et 60 °C.

5.6 *n*-heptane ou en cas d'indisponibilité *n*-hexane.

ATTENTION — Du fait de sa toxicité, éviter l'utilisation du *n*-hexane si le *n*-heptane est disponible.

5.7 Mélange d'éther de pétrole et d'éther diéthylique, de fractions volumiques $\varphi_{\text{PetE}} = 90 \text{ ml}/100 \text{ ml}$ et $\varphi_{\text{Et}_2\text{O}} = 10 \text{ ml}/100 \text{ ml}$.

ITeCh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 29841:2009
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009>

6 Appareillage

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

6.1 Installation de CLHP.

6.1.1 Système de CLHP, constitué d'une pompe, d'un dispositif d'injection d'échantillon (boucle de 20 μl) ou d'un auto-échantillonneur, d'un détecteur photométrique pour les mesurages à 410 nm ou d'un détecteur de fluorescence (longueur d'onde d'excitation $\lambda_{\text{ex}} = 430 \text{ nm}$ et longueur d'onde d'émission $\lambda_{\text{em}} = 670 \text{ nm}$) et d'un système d'intégration.

6.1.2 Colonne de CLHP, de 250 mm de longueur, 4,0 mm ou 4,6 mm de diamètre intérieur, remplie de particules RP 18 en phase inverse, d'une taille de 5 μm .

Les conditions suivantes ont été jugées appropriées:

Phase stationnaire: Partisil ODS 3, 5 μm , 250 mm \times 4,6 mm ¹⁾;

Phase mobile: Eau, méthanol et acétone (6.1.3);

Débit: 1,0 ml/min.

1) Exemple, disponible dans le commerce, de phase inverse C 18 avec une charge de carbone de 10,5 % en fraction massique, avec masquage des hydroxydes résiduels pour désactivation des silanols afin de limiter le plus possible la nécessité d'agents de suppression ou d'appariement d'ions. 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.

6.1.3 Phase mobile, mélange eau, méthanol et acétone: fractions volumiques $\varphi_{\text{H}_2\text{O}} = 4 \text{ ml}/100 \text{ ml}$; $\varphi_{\text{MeOH}} = 36 \text{ ml}/100 \text{ ml}$; $\varphi_{\text{Me}_2\text{C}=\text{O}} = 60 \text{ ml}/100 \text{ ml}$. Tous les solvants doivent être de qualité CLHP.

6.2 Fiole conique, d'une capacité de 10 ml ou 25 ml.

6.3 Bêchers, de différentes capacités.

6.4 Évaporateur rotatif, comportant un bain-marie.

6.5 Flacons pour auto-échantillonneur, d'une capacité appropriée.

6.6 Cartouche de silice, 1 000 mg/6 ml, 55 μm , 700 nm ou **cartouche de diol**, 3 ml ²⁾.

NOTE Des mini-colonnes de silice préparées au laboratoire peuvent également être utilisées pour la séparation.

7 Échantillon

7.1 Échantillonnage

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 5555 ^[1].

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif et non endommagé ni modifié lors du transport ou du stockage.

(standards.iteh.ai)

7.2 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 661 ^{ISO 29841:2009}
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/191efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009>

IMPORTANT — Les échantillons pour essai doivent être conservés froids et à l'abri de la lumière dans des récipients en verre. Après purification, les solutions d'essai doivent être *immédiatement* analysées afin d'éviter toute dégradation et oxydation. Éviter le contact des échantillons pour essai avec le plastique.

8 Mode opératoire

8.1 Peser environ 300 mg de l'échantillon pour essai (7.2) dans un petit bécher (6.3), dissoudre dans 1 ml de *n*-heptane ou de *n*-hexane (5.6) et verser la solution sur la cartouche de silice (colonne de gel de silice) (6.6). Rincer le bécher deux fois avec des fractions de 1 ml d'éther de pétrole (5.5), verser également ces solutions de lavage sur la cartouche (colonne).

8.2 Dès que le solvant s'est écoulé à la partie supérieure de la cartouche (colonne), éluer les substances apolaires avec deux fois 5 ml de mélange d'éther de pétrole et d'éther diéthylique (5.7).

8.3 Éluer la fraction de la phéophytine avec deux fois 5 ml d'acétone (5.2) et recueillir cette fraction dans une fiole conique (6.2), à l'abri de la lumière.

2) Strata Si-1 (cartouche de silice) et Supelclean LC-Diol SPE Tubes - Supelco 57016 (cartouche de type diol) sont des exemples de produits disponibles dans le commerce. 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.

8.4 Évaporer le solvant à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif (6.4) à 20 °C maximum. Dissoudre le résidu dans 200 µl d'acétone. Introduire immédiatement cette solution dans le système CLHP (6.1).

IMPORTANT — Les phéophytines sont très instables à la lumière et s'oxydent facilement.

8.5 Des chromatogrammes types obtenus dans les conditions de colonne énumérées en 6.1.2 sont présentés aux Figures A.1 et A.2.

9 Résultats de la détermination

9.1 Identification des pics

Le tracé chromatographique obtenu lors de l'analyse peut comporter les pics des pigments suivants: chlorophylle *a*, chlorophylle *b* ainsi que les phéophytines et pyrophéophytines correspondantes. Il convient de faire référence aux chromatogrammes types présentés aux Figures A.1 et A.2 car les autres pigments ne sont pas disponibles comme étalons du fait de leur instabilité. Pour l'identification de la phéophytine *a*, de la phéophytine *a'* et de la pyrophéophytine *a*, voir les Figures A.1 et A.2.

9.2 Calcul de la teneur en pyrophéophytine *a*

Utiliser les aires des pics pour calculer les proportions relatives des analytes dans la solution échantillon. Pour les besoins de la présente méthode, on suppose que les facteurs de réponse de tous les pigments sont identiques. La teneur en pyrophéophytine *a*, exprimée sous forme de fraction massique en pourcentage, w_{PPP_a} , est calculée sur la base d'un rapport d'aires de pics comme suit:

$$w_{PPP_a} = \frac{A_{PPP_a} \times 100}{(A_{PPP_a} + \sum A_{PP})}$$

où

A_{PPP_a} est l'aire du pic de pyrophéophytine *a*;

$\sum A_{PP}$ est la somme des aires des pics de phéophytine *a* et *a'*.

Noter le résultat à une décimale près.

10 Fidélité de la méthode

10.1 Essai interlaboratoires

Les détails de l'essai interlaboratoires relatifs à la fidélité de la méthode sont récapitulés à l'Annexe B. Les valeurs obtenues à partir de cet essai interlaboratoires peuvent ne pas être applicables à des plages de concentration et à des matrices autres que celles indiquées.

10.2 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants obtenus avec la même méthode, sur le même matériau d'essai, dans un même laboratoire et par un même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, ne dépasse les valeurs de *r* indiquées dans le Tableau B.1 que dans 5 % des cas, au plus.

10.3 Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels, obtenus avec de la même méthode, sur un matériau identique soumis à essai dans différents laboratoires, avec différents opérateurs utilisant un appareillage différent, ne dépasse les valeurs de R indiquées dans le Tableau B.1 que dans 5 % des cas, au plus.

11 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit contenir au moins les informations suivantes:

- a) toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon;
- b) la méthode d'échantillonnage utilisée, si elle est connue;
- c) la méthode d'essai utilisée et la référence à la présente Norme internationale;
- d) tous les détails opératoires non spécifiés dans la présente Norme internationale, ou considérés comme facultatifs, ainsi que les détails des incidents éventuels survenus lors de l'application de la méthode et susceptibles d'avoir influé sur le ou les résultats d'essai;
- e) les résultats d'essai obtenus;
- f) si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final obtenu.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 29841:2009](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/591efc40-c9fb-4063-a19a-128c2ace8de9/iso-29841-2009>