

---

---

**Graines de colza — Détermination de  
la teneur en chlorophylle — Méthode  
spectrométrique**

*Rapeseed — Determination of chlorophyll content —  
Spectrometric method*

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 10519:2015](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/294b1346-4701-4cf4-a6d3-87d2a0061fc0/iso-10519-2015)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/294b1346-4701-4cf4-a6d3-87d2a0061fc0/iso-10519-2015>



**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 10519:2015

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/294b1346-4701-4cf4-a6d3-87d2a0061fc0/iso-10519-2015>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2015, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401  
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland  
Tel. +41 22 749 01 11  
Fax +41 22 749 09 47  
copyright@iso.org  
www.iso.org

## Sommaire

Page

<b>Avant-propos</b> .....	<b>iv</b>
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Principe</b> .....	<b>1</b>
<b>5</b> <b>Réactif</b> .....	<b>1</b>
5.1    Solvant d'extraction.....	1
<b>6</b> <b>Appareillage</b> .....	<b>2</b>
<b>7</b> <b>Échantillonnage</b> .....	<b>2</b>
<b>8</b> <b>Préparation de l'échantillon pour essai</b> .....	<b>3</b>
<b>9</b> <b>Mode opératoire</b> .....	<b>3</b>
9.1    Prises d'essai.....	3
9.2    Extraction.....	3
9.3    Détermination.....	3
<b>10</b> <b>Expression des résultats</b> .....	<b>3</b>
<b>11</b> <b>Fidélité</b> .....	<b>4</b>
11.1   Répétabilité.....	4
11.2   Reproductibilité.....	4
<b>12</b> <b>Rapport d'essai</b> .....	<b>4</b>
<b>Annexe A (informative) Résultats de l'essai interlaboratoires</b> .....	<b>5</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>7</b>

## 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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir [www.iso.org/brevets](http://www.iso.org/brevets)).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant : [Avant-propos – Informations supplémentaires](http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/29461346-4701-4cf4-abd3-87d2a0061fc0/iso-10519-2015).

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, Sous-comité SC 2, *Graines et fruits oléagineux et tourteaux*.

Cette troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 10519:1997), dont elle constitue une révision mineure.

L'[Annexe A](#) de la présente Norme internationale est donnée à titre d'information uniquement.

# Graines de colza — Détermination de la teneur en chlorophylle — Méthode spectrométrique

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de spectrométrie permettant de déterminer la teneur en chlorophylle des graines de colza. Elle n'est pas applicable à la détermination de la chlorophylle dans les huiles.

## 2 Références normatives

Les documents ci-après, dans leur intégralité ou non, sont des références normatives indispensables à 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 648, *Verrerie de laboratoire — Pipettes à un volume*

ISO 664, *Graines oléagineuses — Réduction de l'échantillon pour laboratoire en échantillon pour essai*

ISO 665, *Graines oléagineuses — Détermination de la teneur en eau et matières volatiles*

## 3 Termes et définitions

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

### 3.1

#### teneur en chlorophylle

fraction massique des substances contenues dans l'échantillon qui contribuent à la bande d'absorption à une longueur d'onde voisine de 665 nm, telle que déterminée dans les conditions opératoires spécifiées dans la présente Norme internationale et mesurée en tant que chlorophylle A

Note 1 à l'article: La teneur en chlorophylle est exprimée en milligrammes par kilogramme.

## 4 Principe

Extraction d'une prise d'essai dans un appareil approprié, avec un solvant d'extraction spécifié. Détermination spectrométrique de la teneur en chlorophylle de la solution extraite.

## 5 Réactif

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

### 5.1 Solvant d'extraction

Introduire 100 ml d'éthanol anhydre dans un bécher de 500 ml. Y ajouter 300 ml d'isooctane anhydre (2,2,5-triméthylpentane) ou de *n*-heptane technique anhydre ou d'éther de pétrole anhydre (essentiellement composé d'hydrocarbures C<sub>7</sub>, ayant un intervalle d'ébullition compris entre 90 °C et 100 °C).

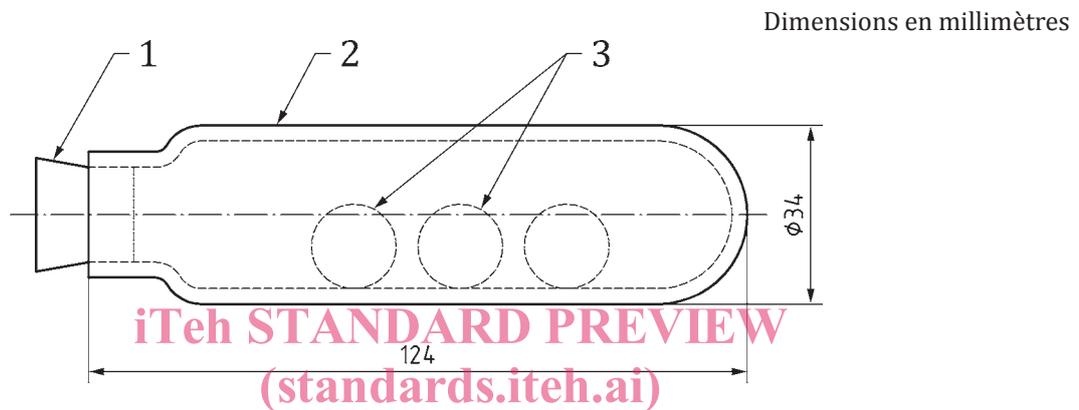
## 6 Appareillage

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

**6.1 Balance analytique**, capable de peser à 0,001 g près.

**6.2 Broyeur mécanique**, à couteaux, ou moulin à café ou l'équivalent.

**6.3 Micro-broyeur mécanique** (voir [Figure 1](#)), composé de tubes en acier inoxydable ayant un volume d'approximativement 50 ml et pouvant être bouchés hermétiquement, de billes pour roulements en acier inoxydable ( $\varnothing$  16 mm), et d'un système permettant d'agiter horizontalement les tubes soigneusement bouchés à une fréquence de 240 min<sup>-1</sup>, avec un déplacement latéral de 3,5 cm, ou **broyeur à billes du commerce**.



### Légende

- 1 bouchon en néoprène ou fluorosilicone (n° 3) [ISO 10519:2015](#)
- 2 tube en acier <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/294b1346-4701-4cf4-a6d3-87d20061fc0/iso-10519-2015>
- 3 billes pour roulements en acier inoxydable,  $\varnothing$  16 mm

**Figure 1 — Micro-broyeur mécanique**

**6.4 Papier filtre**, vitesse moyenne, plié en V.

**6.5 Spectromètre** (de préférence à défilement des longueurs d'onde), permettant d'effectuer les mesurages d'absorbance à des longueurs d'onde comprises entre 600 nm et 700 nm, avec une bande passante de 2 nm.

**6.6 Cuves**, ayant un trajet optique d'au moins 1 cm.

**6.7 Pipettes**, de 30 ml de capacité, conformes aux exigences de l'ISO 648, classe A, ou dispositif automatique permettant de délivrer des volumes de 30 ml avec une erreur inférieure à 1 %.

**6.8 Tubes à essais**, de 20 ml de capacité, munis de bouchons.

## 7 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 542.

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon réellement représentatif, non endommagé ni modifié lors du transport et de l'entreposage.

## 8 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer un échantillon pour essai conformément à l'ISO 664, à partir de l'échantillon pour laboratoire tel qu'il est reçu ou après séparation des impuretés.

Sécher les graines ayant une teneur en eau supérieure à 10 % (en fraction massique) pendant 12 h à 45 °C afin de réduire la teneur en eau à 10 % (en fraction massique), ou moins pour diminuer le risque de décomposition des pigments de chlorophylle.

Transférer 50 g de l'échantillon pour essai dans le broyeur mécanique (6.2) et moudre les graines jusqu'à l'obtention d'une poudre homogène. Si l'on utilise un moulin de petites dimensions, comme par exemple un moulin à café, moudre plusieurs portions de 10 g, puis les combiner et les mélanger soigneusement.

## 9 Mode opératoire

### 9.1 Prises d'essai

Peser, à 0,001 g près, 2 g de l'échantillon pour essai (Article 8) dans un tube en acier inoxydable ou dans le réceptacle du broyeur à billes du commerce (6.3).

### 9.2 Extraction

9.2.1 Ajouter, à la pipette (6.7), 30 ml du solvant d'extraction (5.1) dans le tube ou le réceptacle. Si l'on utilise un tube, y introduire trois billes en acier inoxydable et agiter pendant 1 h. Pour les broyeurs à billes du commerce, introduire au moins quatre billes en acier de taille moyenne dans le réceptacle et procéder à l'extraction pendant 20 min.

9.2.2 Laisser reposer l'extrait pendant 10 min, puis décanté au travers du papier filtre (6.4) dans un tube à essais (6.8) un volume suffisant du filtrat pour remplir la cuve du spectromètre (6.6). Boucher le tube aussitôt que possible afin de réduire l'évaporation au minimum.

NOTE La présence de plus d'une phase dans le solvant d'extraction indique une teneur en eau excessive, soit dans l'échantillon qui devrait en contenir moins de 10 % (en fraction massique), soit dans les solvants (qui devraient être anhydres).

### 9.3 Détermination

Verser le filtrat dans une cuve (6.6) et déterminer l'absorbance avec le spectromètre (6.5) aux longueurs d'onde de 665 nm, 705 nm et 625 nm. (Les lectures effectuées à 705 nm et à 625 nm servent à calculer une correction de la ligne de base.)

## 10 Expression des résultats

La teneur en chlorophylle,  $w$ , en milligrammes par kilogramme de produit tel quel, est obtenue à l'aide de la Formule (1):

$$w = \frac{k \times A_{\text{corr}} \times V}{m \times l}$$

où

$A_{\text{corr}}$  (l'absorbance corrigée) est égale à  $A_{665} - (A_{705} + A_{625})/2$ ;

$A_{665}$  est l'absorbance à 665 nm ;

$A_{705}$  est l'absorbance à 705 nm ;

- $A_{625}$  est l'absorbance à 625 nm ;
- $k$  est une constante qui est égale à 13 ;
- $l$  est le trajet optique, en centimètres, de la cuve ;
- $m$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai ;
- $V$  est le volume, en millilitres, du solvant ajouté dans le tube (9.2.1).

Si l'on désire rapporter la teneur en chlorophylle au produit sec, tenir compte, dans le calcul, de la teneur en eau de l'échantillon, déterminée conformément à l'ISO 665.

## 11 Fidélité

Les détails de l'essai interlaboratoires relatifs à la fidélité de la méthode sont récapitulés dans l'[Annexe A](#). Les valeurs provenant de cet essai interlaboratoires ne peuvent être appliquées aux plages de concentrations et aux matrices autres que celles données.

### 11.1 Répétabilité

Il convient que la différence absolue entre deux résultats d'essai 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 soit pas supérieure à 10 % de la moyenne arithmétique des deux résultats.

### 11.2 Reproductibilité

Il convient que la différence absolue entre deux résultats d'essai individuels, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans des laboratoires différents par des opérateurs différents utilisant des appareillages différents, ne soit pas être supérieure à 20 % de la moyenne arithmétique des deux résultats.

## 12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit préciser les informations suivantes :

- la méthode selon laquelle l'échantillonnage a été effectué, si elle est connue ;
- la méthode utilisée ;
- le ou les résultats d'essai obtenus ;
- si la répétabilité a été vérifiée, le résultat final cité qui a été obtenu.

Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur le (les) résultat(s) d'essai.

Le rapport d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

## Annexe A (informative)

### Résultats de l'essai interlaboratoires

Un essai interlaboratoires a été effectué par 16 laboratoires conformément à l'ISO 5725<sup>1)</sup>. Les valeurs de répétabilité et de reproductibilité figurant dans le [Tableau A.1](#) ont été obtenues.

**Tableau A.1 — Résultats statistiques de l'essai interlaboratoires**

Paramètre	Échantillon <sup>a</sup>									
	A	B	C	D	E	F	H	I	J	Moyenne
Nombre de laboratoires participants	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
Nombre de laboratoires aberrants <sup>b</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1	4	
Valeur moyenne, mg/kg	25,8	31,0	40,4	49,8	75,7	82,9	10,5	20,4	31,2	
Écart-type de répétabilité, sr, mg/kg	1,13	1,47	1,45	1,75	2,74	2,99	0,49	0,68	0,99	
Écart-type de reproductibilité $s_R$ , mg/kg	1,93	2,15	3,02	3,44	4,9	5,68	1,02	1,63	2,19	
Coefficient de variation de la répétabilité, en %	4,39	4,76	3,59	3,52	3,62	3,61	4,66	3,35	3,16	3,85
Coefficient de variation de la reproductibilité, en %	7,47	6,94	7,49	6,91	6,47	6,85	9,79	8,00	7,04	7,44
Limite de répétabilité ( $r$ ), mg/kg	3,17	4,13	4,06	4,90	7,68	8,38	1,38	1,93	2,79	
Limite de reproductibilité ( $R$ ), mg/kg	5,39	6,03	8,47	9,63	13,71	15,90	2,89	4,61	6,21	
Répétabilité ( $r$ ), %	12,3	13,3	10,1	9,9	10,1	10,1	13,1	9,5	8,9	10,81
<p>a Les échantillons A à E correspondent à l'essai de 1992, les échantillons F à H correspondent à l'essai de 1990.  A: 25 mg/kg chlorophylle    D : 50 mg/kg chlorophylle    H : 10 mg/kg chlorophylle  B: 30 mg/kg chlorophylle    E : 75 mg/kg chlorophylle    I : 20 mg/kg chlorophylle  C: 40 mg/kg chlorophylle    F : 80 mg/kg chlorophylle    J: 30 mg/kg chlorophylle</p> <p>b Pour chaque essai, un laboratoire a été éliminé à cause d'une utilisation incorrecte de la méthode. Pour l'échantillon J, trois autres laboratoires ont été éliminés à cause d'une différence supérieure à 3 mg/kg entre deux valeurs.</p>										

1) L'ISO 5725:1986, *Fidélité des méthodes d'essai — Détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode d'essai normalisée par essais interlaboratoires* (annulée à l'heure actuelle), a été utilisée pour évaluer les données de fidélité.