

PROJET DE NORME INTERNATIONALE

ISO/DIS 23942

ISO/TC 34/SC 11

Secrétariat: BSI

Début de vote:
2019-12-17

Vote clos le:
2020-03-10

Détermination de la teneur en hydroxytyrosol et tyrosol dans les huiles d'olive vierges extra — Méthode CLHP

Determination of hydroxytyrosol and tyrosol content in extra virgin olive oils — HPLC method

ICS: 67.200.10

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9857c1be-3374-4b7d-ac3d-0371d5bc9dac/iso-dts-23942>

CE DOCUMENT EST UN PROJET DIFFUSÉ POUR OBSERVATIONS ET APPROBATION. IL EST DONC SUSCEPTIBLE DE MODIFICATION ET NE PEUT ÊTRE CITÉ COMME NORME INTERNATIONALE AVANT SA PUBLICATION EN TANT QUE TELLE.

OUTRE LE FAIT D'ÊTRE EXAMINÉS POUR ÉTABLIR S'ILS SONT ACCEPTABLES À DES FINS INDUSTRIELLES, TECHNOLOGIQUES ET COMMERCIALES, AINSI QUE DU POINT DE VUE DES UTILISATEURS, LES PROJETS DE NORMES INTERNATIONALES DOIVENT PARFOIS ÊTRE CONSIDÉRÉS DU POINT DE VUE DE LEUR POSSIBILITÉ DE DEVENIR DES NORMES POUVANT SERVIR DE RÉFÉRENCE DANS LA RÉGLEMENTATION NATIONALE.

LES DESTINATAIRES DU PRÉSENT PROJET SONT INVITÉS À PRÉSENTER, AVEC LEURS OBSERVATIONS, NOTIFICATION DES DROITS DE PROPRIÉTÉ DONT ILS AURAIENT ÉVENTUELLEMENT CONNAISSANCE ET À FOURNIR UNE DOCUMENTATION EXPLICATIVE.

Le présent document est distribué tel qu'il est parvenu du secrétariat du comité.



Numéro de référence
ISO/DIS 23942:2019(F)

© ISO 2019

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9857c1be-3374-4b7d-ac3d-0371d5bc9dae/iso-dts-23942>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en oeuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Geneva
Tél.: +41 22 749 01 11
Fax: +41 22 749 09 47
E-mail: copyright@iso.org
Website: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire	Page
Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Réactifs	1
6 Appareillage	2
7 Échantillonnage	3
8 Mode opératoire	3
8.1 Préparation de l'échantillon	3
8.2 Analyse CLHP	3
9 Expression des résultats	5
10 Fidélité	6
10.1 Étude de validation	6
10.2 Répétabilité, r	6
10.3 Reproductibilité, R	6
11 Rapport d'essai	6
Annexe A (informative) Chromatogrammes	7
Annexe B (normative) Limite de détection (LOD) et de quantification (LOQ)	8
Annexe C (informative) Étude de validation italienne	9
Annexe D (informative) Données de validation internationale supplémentaires ou autres données de validation	10
Bibliographie	11

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).

L'attention est attirée 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).

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 nature volontaire des normes, de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute autre information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant : www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

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

Introduction

Les composés biophénoliques de nature sécoiridoïde et propres à l'huile d'olive vierge extra (*Olea europaea* L.) sont issus de l'oleuropéine et du ligstroside et, outre leurs caractéristiques sensorielles particulières, sont associés à différents effets bénéfiques pour la santé humaine. Les composés biophénoliques contiennent deux alcools aromatiques sous forme estérifiée, à savoir l'hydroxytyrosol et le tyrosol. La méthode repose sur l'extraction de la fraction biophénolique avec une solution méthanol/eau et sur une réaction d'hydrolyse ultérieure pour produire du tyrosol libre et de l'hydroxytyrosol libre^{[1][2]}.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9857c1be-3374-4b7d-ac3d-0371d5bc9dac/iso-dts-23942>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Full standard:
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9857c1be-3374-4b7d-ac3d-0371d5bc9dae/iso-dts-23942>

Détermination de la teneur en hydroxytyrosol et tyrosol dans les huiles d'olive vierges extra — Méthode CLHP

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de détermination quantitative de la teneur en hydroxytyrosol et tyrosol dans les huiles d'olive vierges extra par CLHP en phase inverse (RP) couplée à la détection spectrophotométrique. La méthode est également applicable à toutes les autres huiles d'olive de différentes catégories commerciales.

2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

3 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes :

- IEC Electropedia : disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online Browsing Platform (OBP) : disponible à l'adresse <http://www.iso.org/obp>

3.1

hydroxytyrosol et tyrosol

teneur totale exprimée en milligrammes d'hydroxytyrosol et de tyrosol par kilogramme d'huile d'olive vierge extra après extraction de l'huile et réaction d'hydrolyse jusqu'à la forme libre

4 Principe

L'hydroxytyrosol et le tyrosol, présents sous forme libre et sous forme estérifiée, sont extraits de l'huile avec une solution méthanol/eau puis soumis à une réaction d'hydrolyse avec une solution éthanolique à 10 % d'acide sulfurique. Les composés sont identifiés par CLHP et par détection spectrophotométrique à 280 nm et la quantité d'alcools aromatiques libres est calculée par étalonnage externe.

5 Réactifs

Pendant l'analyse, sauf mention contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

5.1 Acide orthophosphorique à 85 % V/V

5.2 Méthanol de qualité chromatographique

5.3 Acétonitrile de qualité chromatographique

5.4 Eau de qualité chromatographique

5.5 Éthanol à 96 % V/V

5.6 Acide sulfurique à 96 % V/V

5.7 Solution méthanol/eau 80/20 V/V

5.8 Échantillon de référence: hydroxytyrosol ou 2-(3,4-Dihydroxyphényl)éthanol, p. ex. Extrasynthese Cedex France et Tyrosol, p. ex. Sigma Aldrich Germany¹

5.9 Échantillon de référence : tyrosol, p. ex. Sigma Aldrich Germany

5.9.1 Préparation de la solution d'étalonnage externe d'hydroxytyrosol et de tyrosol

Peser exactement 25 mg d'hydroxytyrosol (5.7) et de tyrosol (5.8) dans une fiole jaugée de 50 ml (6.2) et compléter au volume avec une solution méthanol/eau 80/20 V/V (5.7). Transvaser 1 ml (5.3) dans une autre fiole de 10 ml et compléter au volume avec la même solution (5.7). La concentration finale sera de 50 mg/l de chaque solution d'étalonnage externe. Injecter 20 µl de cette solution dans le système CLHP. La solution est stable pendant au moins 6 mois à -20 °C.

5.10 Solution d'hydrolyse constituée d'éthanol/eau/acide sulfurique 50/40/10 V/V/V

6 Appareillage

Verrerie de laboratoire habituelle.

6.1 Balance analytique précise à ± 0,1 mg

6.2 Fioles jaugées de 10 ml et 50 ml, de classe A

6.3 Pipette électronique de 1 000 µl et 5 000 µl ou pipette manuelle

6.4 Tube à essai de 10 ml, avec bouchon à vis

6.5 Mélangeur de type Vortex

6.6 Bain d'extraction à ultrasons

6.7 Filtres seringues en PVDF (polyfluorure de vinylidène) de 0,45 µm et 13 mm

6.8 Centrifugeuse pouvant tourner à 5 000 tr/min

6.9 Seringue en plastique de 5 ml

6.10 Bain thermostatique

¹ Extrasynthese Cedex France et Sigma Aldrich sont des exemples de produits appropriés disponibles dans le commerce. Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs du présent document et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ces produits.

6.11 Système analytique comprenant une pompe ternaire de CLHP équipée d'une colonne de CLHP, en phase inverse RP 18. La colonne suivante s'est avérée adaptée à la détermination (diamètre interne 4,6 mm, longueur 25 cm, granulométrie 5 µm, 100 Å°, type Spherisorb ODS2²) avec détecteur spectrophotométrique UV à 280 nm et système d'intégration. L'utilisation d'un détecteur DBD pour enregistrer les spectres peut faciliter l'identification des pics.

7 Échantillonnage

Il est important de fournir au laboratoire un échantillon d'huile intact, non endommagé ou non modifié pendant le transport ou le stockage. Un échantillon représentatif doit être utilisé pour l'analyse. Une méthode d'échantillonnage recommandée est indiquée dans l'EN ISO 5555^[8].

8 Mode opératoire

8.1 Préparation de l'échantillon

À l'aide d'une balance analytique (6.1), peser 2 g d'huile bien homogénéisée dans un tube à essai conique de 10 ml (6.4). Ajouter (6.3) 5 ml d'une solution méthanol/eau 80/20 V/V (5.7). Mélanger la solution à l'aide d'un mélangeur pour tube à essai de type Vortex (6.5) pendant 1 minute et poursuivre l'extraction pendant 15 minutes dans un bain à ultrasons (6.6) à température ambiante. Centrifuger (6.8) à 5 000 tr/min pendant 25 minutes. Filtrer une portion aliquote à travers un filtre seringue à membrane en PVDF (6.7), transférer 1 ml (6.3) de prise d'essai de la solution filtrée dans un autre tube à essai de 10 ml (6.4), qui sera ensuite séchée totalement sous un courant d'azote et dans un bain thermostatique (6.10) maintenu à une température maximale de 40 °C. Ajouter 1 ml de la solution d'hydrolyse (5.10) et mélanger, puis laisser réagir à 40 °C pendant 1 heure. Laisser la solution toute une nuit à température ambiante. Filtrer la solution à l'aide d'un filtre seringue à membrane en PVDF (6.7).

8.2 Analyse CLHP

20 µl d'échantillon sont injectés dans le système de CLHP (6.11). Le premier échantillon injecté dans une série d'analyse doit être un blanc de solution méthanol/eau 80/20 V/V (5.7). Aucun signal interférent ne doit être présent pendant l'analyse chromatographique au même temps de rétention de l'hydroxytyrosol et du tyrosol.

² La colonne Spherisorb ODS2 est un exemple de colonne chromatographique appropriée et disponible dans le commerce. Cette information est donnée par souci de commodité à l'intention des utilisateurs du présent document et ne saurait constituer un engagement de l'ISO à l'égard de ce produit.