
**Spectroscopie par résonance
magnétique nucléaire quantitative —
Détermination de la pureté des
composés organiques utilisés dans les
aliments et les produits alimentaires
— Exigences générales pour la
méthode de l'étalon interne par RMN
¹H**

*Quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy — Purity
determination of organic compounds used for foods and food
products — General requirements for ¹H NMR internal standard
method*

<https://standards.iteh.ai/en/standards/sist/60635/iso-24583-2022>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 24583:2022

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0c0e5bdd-e936-49f7-bbb6-99084c896ca9/iso-24583-2022>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2022

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
E-mail: copyright@iso.org
Web: 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 Principes	6
4.1 Généralités	6
4.2 Conventions relatives aux solutions échantillons pour le mode opératoire qRMN	7
4.3 RMN quantitative ^1H (qRMN ^1H)	8
5 Exigences techniques pour les mesurages par qRMN	9
5.1 Exigences générales	9
5.2 Plan d'expériences qRMN	9
5.3 Profil analytique cible	10
5.4 Étude de faisabilité	10
5.5 Préparation des solutions échantillons pour la qRMN	11
5.6 Acquisition des données de qRMN	12
5.6.1 Paramètres d'acquisition	12
5.6.2 Acquisition des données de qRMN	14
5.7 Traitement des données	14
5.7.1 Paramètres de traitement des données	14
5.7.2 Calcul de la pureté	15
5.8 Évaluation de l'incertitude de mesure	16
5.9 Établissement de la traçabilité métrologique	16
6 Validation du mode opératoire qRMN	16
7 Qualification de l'instrument de RMN	17
8 Rapport d'essai	18
Annexe A (informative) Pesage de l'échantillon et de l'étalon interne	19
Annexe B (informative) Étalons internes et solvants	24
Annexe C (informative) Détermination de l'incertitude de mesure	32
Bibliographie	36

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, 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'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

La quantification fiable des composants des aliments joue un rôle essentiel en matière de sécurité alimentaire et peut faire office d'outil de mesure pour garantir l'authenticité des aliments. À l'heure actuelle, la chromatographie, comme la chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC) et la chromatographie en phase liquide (CPL ou LC), est utilisée dans la majorité des travaux réglementaires associés aux aliments et aux produits alimentaires. Afin d'obtenir des résultats de quantification fiables à l'aide de ces méthodes, il est nécessaire de recourir à des matériaux de référence certifiés (MRC), pour lesquels la traçabilité métrologique de la valeur certifiée, comme les étalons de mesure, est essentielle. Cependant, dans la plupart des cas, il est presque impossible que ces MRC respectent ces exigences, car les méthodes conventionnelles pouvant établir la traçabilité métrologique, telles que la balance de masse, ont des applications limitées. Par conséquent, il est crucial de définir une méthode de quantification de la pureté simple, rapide, fiable et applicable à grande échelle, axée sur l'établissement de la traçabilité métrologique pour la caractérisation d'étalons de mesure destinés aux analyses alimentaires. La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire quantitative (qRMN) est reconnue comme une méthode de caractérisation simple et rapide. Cette méthode, dont la traçabilité métrologique est également reconnue, s'appuie sur la pureté d'un MRC pour déterminer la pureté d'autres analytes. Lorsqu'une valeur certifiée d'un MRC, dont la valeur est indiquée comme étant métrologiquement traçable par rapport au Système international d'unités (SI), est utilisée comme étalon de mesure pour la qRMN, la valeur de pureté de l'échantillon déterminée par qRMN peut aussi être reliée au SI par l'intermédiaire du MRC. De ce fait, la qRMN offre la possibilité de garantir la traçabilité des étalons de mesure associés à des composants des aliments par rapport au SI.^{[10][17][36]}

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 24583:2022

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0c0e5bdd-e936-49f7-bbb6-99084c896ca9/iso-24583-2022>

Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire quantitative — Détermination de la pureté des composés organiques utilisés dans les aliments et les produits alimentaires — Exigences générales pour la méthode de l'étalon interne par RMN ^1H

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des exigences générales et des critères de performance pour la détermination de la pureté des composés organiques par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire quantitative (qRMN) du proton en solution (^1H) utilisant une méthode à étalon interne.

Le présent document est applicable à des composés bioactifs dans des aliments fonctionnels, à des toxines naturelles, à des additifs alimentaires ainsi qu'à des pesticides.

Le présent document est destiné aux utilisateurs qui cherchent à garantir la traçabilité métrologique des résultats de mesure.

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:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

3.1

RMN quantitative

qRMN

analyse quantitative par spectroscopie RMN

3.2

RMN quantitative du proton

RMN quantitative ^1H

qRMN ^1H

spectroscopie *RMN quantitative* (3.1) utilisant le proton (^1H) comme noyau observé

3.3

mode opératoire qRMN

séquence prédéterminée d'opérations d'analyse quantitative par *qRMN* (3.1), comprenant la préparation de la solution échantillon, l'acquisition des données et les paramètres de traitement des données, qui ont été optimisés et validés pour un analyte spécifique

3.4

aimantation à l'équilibre

grandeur du vecteur d'aimantation nucléaire qui est polarisé dans l'échantillon après avoir été placé dans un champ magnétique statique

3.5

temps de relaxation longitudinale T_1

temps nécessaire à un ensemble de spins de noyaux magnétiquement équivalents pour atteindre l'aimantation macroscopique M_z , l'équilibre M_z dans un champ magnétique ou pour revenir à cet équilibre après excitation (par une impulsion radiofréquence [RF])

Note 1 à l'article: La relaxation de l'aimantation M_z est un processus de saturation exponentiel décrit par l'équation de Bloch pour M_z :

$$M_z(t) = M_z(t_{eq}) - [M_z(t_{eq}) - M_z(0)] \times \exp(-t/T_1)$$

où

$M_z(t)$ est la fonction temporelle de M_z ;

0 est le temps zéro;

t_{eq} est le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre;

t peut être n'importe quel moment entre 0 et t_{eq} .

Note 2 à l'article: Après une impulsion à 90°, 63 % d'un ensemble de spins magnétiquement équivalents retournent à l'équilibre après $1 \times T_1$, plus de 99 % des spins retournent à l'équilibre après $5 \times T_1$.

3.6

signal de précession libre**FID**

signal RMN du domaine temporel qui résulte de la précession du vecteur d'aimantation nucléaire à l'intérieur de l'antenne de la sonde après application d'une impulsion radiofréquence (RF) d'excitation sur un échantillon dans un champ magnétique statique

3.7

homogénéisation du champ magnétique**shimming**

processus effectué pour corriger toute inhomogénéité dans le champ magnétique appliqué au cours d'une expérience RMN

3.8

largeur spectrale**SW**

largeur du spectre après transformée de Fourier

Note 1 à l'article: Elle est donnée en Hz ou en ppm¹⁾.

Note 2 à l'article: L'axe associé à la largeur spectrale d'un spectre de RMN (axe x) est donné généralement en déplacement chimique, exprimé en ppm. La fréquence de résonance d'un signal de RMN dépend du champ magnétique externe de l'instrument RMN. La relation entre la fréquence de résonance en Hz et le déplacement chimique, δ , en ppm est exprimée comme suit:

$$\delta = \frac{\nu_s - \nu_r}{\nu_r}$$

où

1) ppm = parties par million.

- δ est, en RMN, le déplacement chimique d'un signal individuel généralement exprimé en ppm;
- ν_s est la fréquence de résonance absolue du signal de RMN ^1H pour un échantillon mesuré à l'aide d'un instrument RMN, donnée en Hz;
- ν_r est la fréquence de résonance absolue du signal de RMN ^1H pour le signal du composé de référence associé à un déplacement chimique mesuré à l'aide d'un instrument RMN, donnée en Hz.

Comme la différence dans le numérateur est généralement indiquée en Hz et que le dénominateur est en MHz, δ est exprimé en ppm.

3.9

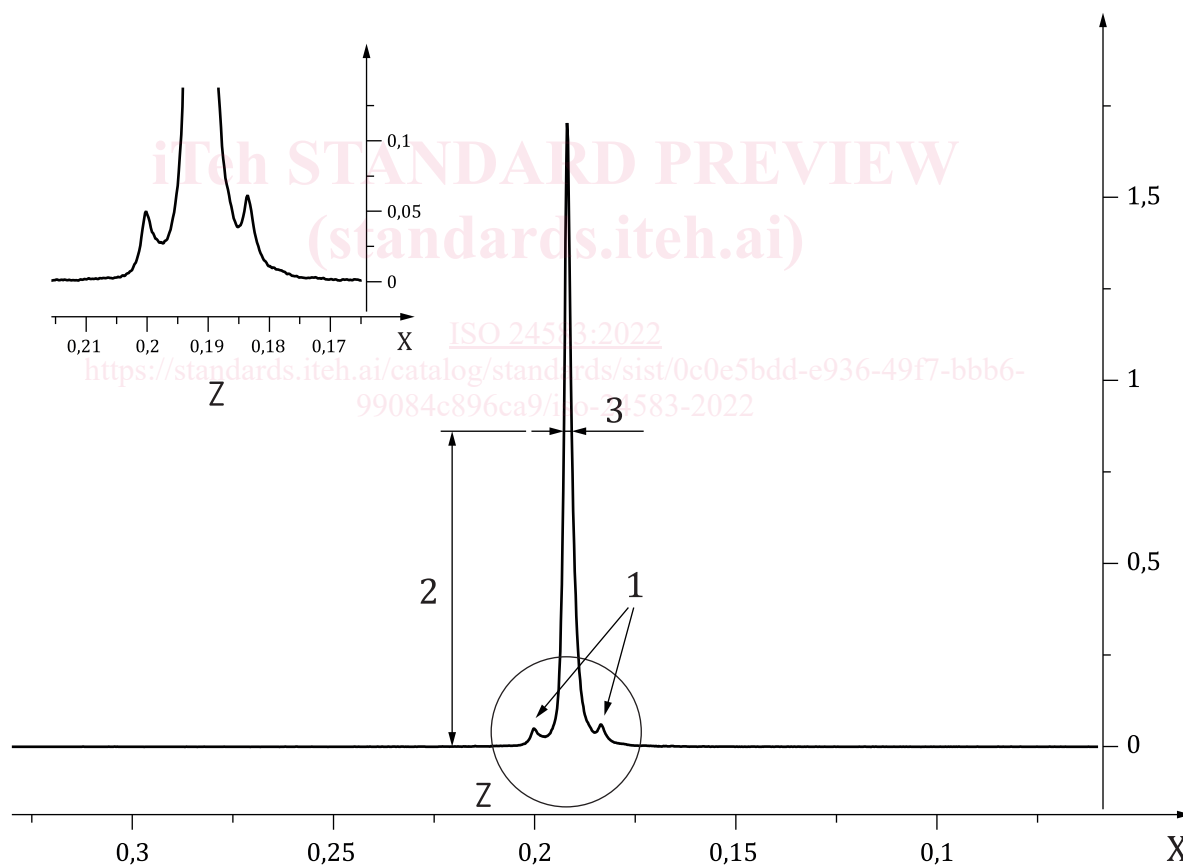
largeur à mi-hauteur

FWHM

largeur d'une forme linéaire à la moitié de l'intensité maximale du signal

Note 1 à l'article: Elle est exprimée en Hz.

Note 2 à l'article: La [Figure 1](#) illustre cette largeur à mi-hauteur. Le signal d'exemple provient du 1,4-Bis(triméthylsilyl)(D₄)benzène (voir le [Tableau B.1](#)).



Légende

- X déplacement chimique (ppm)
- Z déplacement chimique (ppm)
- 1 signal satellite du ^{29}Si
- 2 mi-hauteur du signal
- 3 largeur du signal à mi-hauteur

Figure 1 — Illustration de la largeur à mi-hauteur (FWHM)

3.10

angle de bascule angle d'impulsion angle de flip

angle d'inclinaison du vecteur d'aimantation nucléaire macroscopique par rapport au champ magnétique statique après application d'une impulsion RF d'une durée et d'une amplitude spécifiques dans un champ magnétique statique à l'équilibre thermique

Note 1 à l'article: Cette aimantation hors d'équilibre peut être induite en appliquant une impulsion RF de bande passante d'excitation suffisante et une fréquence porteuse proche de la fréquence de Larmor des spins nucléaires.

3.11

temps de répétition

T_r

délai entre l'application de la première impulsion RF d'une séquence d'impulsions et la nouvelle application de la même impulsion dans le transitoire suivant

3.12

nombre de transitoires NT

nombre de scans

nombre de fois qu'une expérience de résonance magnétique nucléaire à transformée de Fourier (FT-RMN) est répétée, les *FID* (3.6) en résultant étant accumulés/additionnés pour améliorer le rapport signal sur bruit du spectre RMN

3.13

découplage

technique RMN expérimentale visant à éliminer le couplage spin-spin

Note 1 à l'article: Le présent document étudie uniquement le découplage hétéronucléaire, par exemple le découplage du couplage spin-spin ^1H - ^{13}C .

3.14

scan factice

scan pour l'état stationnaire

transitoire effectué pour atteindre l'état stationnaire de l'aimantation, toutes les parties de l'expérience RMN sont réalisées (par exemple, impulsions RF, délais, gradients de champ pulsé), sans donner lieu à un enregistrement de données

3.15

signal satellite

signal provenant d'une fraction d'un échantillon contenant un autre noyau actif en RMN et montrant le couplage de ce noyau

3.16

remplissage par des zéros

insertion de valeurs nulles à la fin d'un signal *FID* (3.6) avant la transformée de Fourier afin d'augmenter la résolution du domaine de fréquences d'un spectre RMN

3.17

correction de phase

traitement mathématique utilisé pour restaurer une forme de ligne d'absorption pure sur l'ensemble du spectre RMN

3.18

correction de ligne de base

traitement mathématique utilisé pour corriger les distorsions de la ligne de base d'un spectre RMN

3.19

résolution spectrale

degré de distinction et de séparation des signaux utilisés dans une analyse quantitative

3.20**aire intégrée
aire du signal
aire du pic**

résultat de l'intégration de la surface entre la ligne de base du signal et le signal de résonance

3.21**poids minimal**

plus petite quantité d'échantillon requise pour qu'une pesée atteigne au moins une exactitude relative spécifiée de pesage

[SOURCE: EURAMET Calibration Guide No.18 Version 4.0^[9]]

3.22**répétabilité**

fidélité de mesure selon un ensemble de conditions de répétabilité

[SOURCE: ISO/IEC Guide 99:2007,^[5] 2.21]

3.23**étalonnage**

opération qui, dans des conditions spécifiées, établit en une première étape une relation entre les valeurs et les incertitudes de mesure associées qui sont fournies par des étalons et les indications de mesure correspondantes avec les incertitudes associées, puis utilise, en une seconde étape, cette information pour établir une relation permettant d'obtenir un résultat de mesure à partir d'une indication de mesure

[SOURCE: ISO/IEC Guide 99:2007,^[5] 2.39, modifié — Les notes à l'article ont été supprimées.]

3.24**étalon interne**

matériau utilisé comme étalon de mesure en solution conjointement avec un échantillon pour évaluer la pureté dans le cadre d'un *mode opératoire qRMN* (3.3)

Note 1 à l'article: Une illustration schématisée est fournie à la [Figure 2](#).

3.25**étalon qRMN**

composant d'un *étalon interne* (3.24) utilisé comme étalon de mesure dans le cadre d'un *mode opératoire qRMN* (3.3)

Note 1 à l'article: Une illustration schématisée est fournie à la [Figure 2](#).

3.26**gain du récepteur****RG**

taux d'amplification du signal par le récepteur

3.27**élargissement de raie**

technique de traitement mathématique visant à soumettre le *FID* (3.6) à une fonction exponentielle afin d'améliorer le rapport signal sur bruit au détriment de la résolution

4 Principes

4.1 Généralités

La RMN est l'une des techniques les plus utiles pour l'élucidation des structures de composés organiques grâce à trois caractéristiques essentielles:

- a) les déplacements chimiques des signaux de résonance;
- b) les couplages spin-spin de noyaux voisins, actifs en RMN et non équivalents;
- c) la proportionnalité entre l'aire intégrée et le nombre de noyaux ^1H correspondants.

La première et la troisième caractéristiques jouent un rôle déterminant dans la comparaison quantitative de différentes aires intégrées. L'aire intégrée est directement proportionnelle à la taille de la population de noyaux ^1H provoquant ce signal de résonance, si les conditions expérimentales sont correctement optimisées. Comme les aires intégrées de deux résonances distinctes sont, en général, clairement séparées en raison de leurs déplacements chimiques respectifs, il est possible de déterminer les rapports molaires des substances chimiques ou des motifs structuraux provoquant les signaux. En d'autres termes, tous les signaux du spectre peuvent être attribués à des (sous-)structures chimiques de l'analyte et de l'étalon qRMN. Par conséquent, si un étalon interne avec une structure identifiée de valeur de pureté certifiée est ajouté à la solution échantillon qui contient un analyte de structure connue, la pureté de l'analyte dans l'échantillon peut être déterminée à partir de la relation déduite des [Formules \(1\) et \(2\)](#).

Pour le $i^{\text{ième}}$ signal du spectre RMN ^1H d'un seul analyte dans un échantillon, une aire intégrée I_i peut être exprimée selon la [Formule \(1\)](#):

$$I_i \propto N_i \frac{m}{VM} P \sin \beta \frac{1 - e^{-T_r/T_{1i}}}{1 - e^{-T_r/T_{1i}} (\cos \beta)} M_z(t_{\text{eq}}) \quad (1)$$

où

I_i est l'aire intégrée du $i^{\text{ième}}$ signal de l'analyte;

N_i est le nombre de protons en résonance pour l'aire intégrée de l' $i^{\text{ième}}$ signal (I_i);

V est le volume de la solution échantillon;

m est la masse de l'échantillon;

M est la masse molaire de l'analyte;

P est la pureté (fraction massique) de l'analyte;

β est l'angle de bascule de l'excitation;

T_{1i} est le temps de relaxation longitudinale du $i^{\text{ième}}$ signal ^1H de l'analyte;

T_r est le temps de répétition;

$M_z(t_{\text{eq}})$ est l'aimantation à l'équilibre.

Les temps de relaxation T_{1i} peuvent être différents pour les noyaux ^1H de différents signaux.

Cette formule laisse entendre que N_i et T_{1i} sont les seuls termes qui dépendent de différents signaux. Lorsque la condition $T_r \gg T_{1i}$ est remplie, $1 - \exp(-T_r/T_{1i})$ tend vers un. Par conséquent, lorsque le paramètre expérimental T_r est défini pour être suffisamment plus long que le plus long T_1 parmi les signaux étudiés, le rapport des aires intégrées peut être proportionnel à N_i . Lorsque cette relation est appliquée à un composé, tous les paramètres, à l'exception de I et de N , sont des facteurs communs.

Par conséquent, il convient de tenir compte uniquement de I et N . Il s'agit du principe de base de la proportionnalité des aires intégrées pour un composé et il peut être résumé à l'aide de la [Formule \(2\)](#):

$$\frac{I_1}{I_2} = \frac{N_1}{N_2} \quad (2)$$

où

I_1 est la première aire intégrée du composé;

I_2 est la seconde aire intégrée du composé;

N_1 est le nombre de protons en résonance pour l'aire intégrée du premier signal (I_1);

N_2 est le nombre de protons en résonance pour l'aire intégrée du second signal (I_2).

4.2 Conventions relatives aux solutions échantillons pour le mode opératoire qRMN

Dans le présent document, les conventions suivantes sont utilisées:

- la solution échantillon utilisée pour le mode opératoire qRMN est un mélange d'un échantillon et d'un étalon interne dissous dans un solvant ou un mélange de solvants;
- l'échantillon (S) est constitué d'un composant principal, qui est le composant cible pour la détermination de la pureté, et d'autres composants qui, dans ce contexte, sont des impuretés. L'analyte (A) est désigné ci-après comme le composant principal de l'échantillon (S);
- l'étalon interne (IS) est un matériau utilisé comme étalon dans la méthode qRMN. L'étalon interne (IS) est également constitué d'un composant principal pour la méthode qRMN et d'autres composants (impuretés). L'étalon qRMN (Q) est désigné ci-après comme le composant principal de l'étalon interne (IS).

La [Figure 2](#) est une représentation schématique de ces conventions.

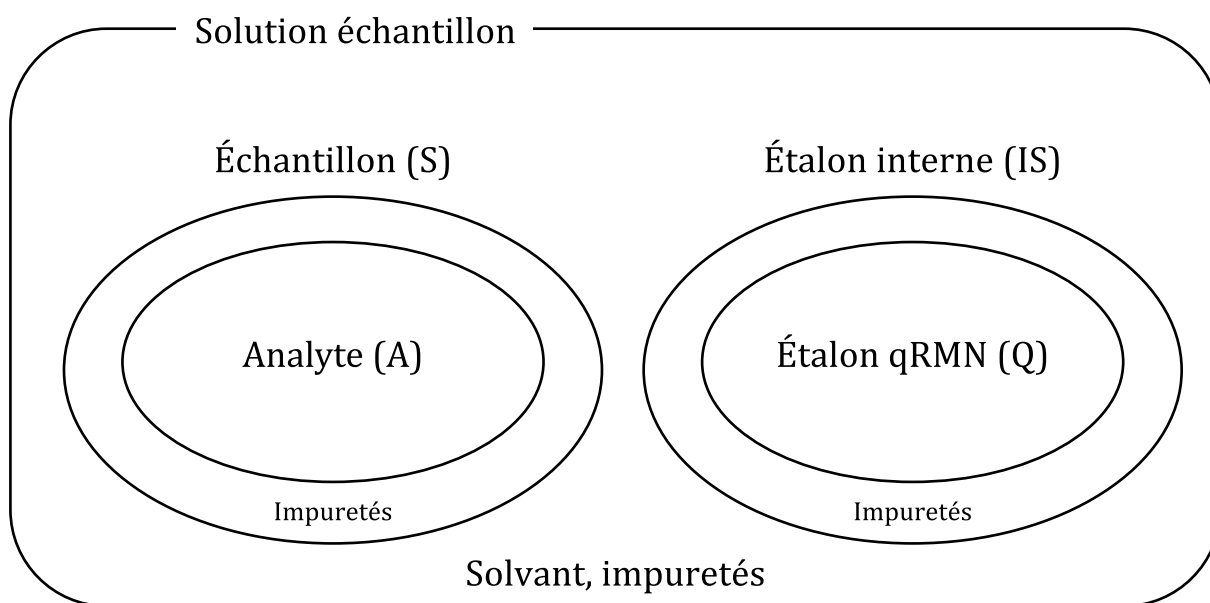


Figure 2 — Représentation schématique de la solution échantillon