

INDICE

	PREMESSA CEN	1
	PREMESSA ISO	2
	INTRODUZIONE	3
1	SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE	3
2	RIFERIMENTI NORMATIVI	3
3	TERMINI E DEFINIZIONI	4
4	PRINCIPIO	4
5	REAGENTI	4
prospetto 1	Concentrazione della soluzione di riferimento interno da utilizzare secondo il contenuto presunto di glucosinolati del campione	5
prospetto 2	Peso della sinigrina in 100 ml di acqua per la preparazione di soluzioni di 5 mmol/l, 20 mmol/l e 40 mmol/l	5
prospetto 3	Peso della glucotropaeolina in 100 ml di acqua per la preparazione di soluzioni da 5 mmol/l, 20 mmol/l e 40 mmol/l	5
6	APPARECCHIATURA	6
figura 1	Esempio di un tipico cromatogramma di semi di colza con eluizione a gradiente	7
7	CAMPIONAMENTO	8
8	PREPARAZIONE DEL CAMPIONE DI PROVA	8
9	PROCEDIMENTO	8
9.1	Porzione di prova	8
9.2	Estrazione di glucosinolati	8
9.3	Prova in bianco	9
9.4	Preparazione delle colonne a scambio ionico	9
9.5	Purificazione e desolfatazione	9
prospetto 4	Volume di estratto trasferito nella colonna a scambio ionico secondo il contenuto di glucosinolati previsto del campione	9
9.6	Cromatografia con eluizione a gradiente	9
9.6.1	Generalità	9
9.6.2	Regolazione dell'apparecchiatura	10
10	ESPRESSIONE DEI RISULTATI	11
10.1	Calcolo del contenuto di ogni glucosinolato	11
10.2	Fattori di proporzionalità relativa	11
prospetto 5	Fattori di proporzionalità relativa (K_i) da adottare	12
10.3	Calcolo del contenuto di glucosinolati totale	12
11	PRECISIONE	12
11.1	Prova interlaboratorio	12
11.2	Ripetibilità	12
11.3	Riproducibilità	12
12	RAPPORTO DI PROVA	13

APPENDICE (informativa)	A	RISULTATI DELLE PROVE INTERLABORATORIO - METODO HPLC CON ELUIZIONE A GRADIENTE	14
prospetto	A.1	Risultati statistici della prova interlaboratorio del 1988 - Eluizione a gradiente	14
prospetto	A.2	Risultati statistici della prova interlaboratorio del 2014	14
APPENDICE (normativa)	B	VERIFICA DELLA TITOLAZIONE DELLA SOLUZIONE DI RIFERIMENTO INTERNO PREPARATA	15
APPENDICE (normativa)	C	PREPARAZIONE E PROVA DI UNA SOLUZIONE DI SOLFATASI PURIFICATA E VERIFICA DEL PASSAGGIO DI DESOLFATAZIONE IN COLONNE A SCAMBIO IONICO	16
APPENDICE (informativa)	D	QUALIFICAZIONE DEI CRITERI DI PRESTAZIONE DEL SISTEMA E DELLA COLONNA HPLC	20
APPENDICE (informativa)	E	ELUIZIONE CON IL MODO ISOCRATICO	22
figura	E.1	Esempio di un tipico cromatogramma di semi di colza con eluizione isocratica.....	24
prospetto	E.1	Fattori di proporzionalità relativa (K_i) da adottare.....	25
prospetto	E.2	Risultati statistici della prova interlaboratorio del 1998 - Eluizione isocratica.....	27
prospetto	E.3	Risultati statistici della prova interlaboratorio del 2014	27
		BIBLIOGRAFIA	28

QUESTO DOCUMENTO È UNA PREVIEW. RIPRODUZIONE VIETATA

PREMESSA CEN

Il presente documento (EN ISO 9167:2019) è stato elaborato dal Comitato Tecnico ISO/TC 34 "Food products" in collaborazione con il Comitato Tecnico CEN/TC 307 "Oilseeds, vegetable and animal fats and oils and their by-products - Methods of sampling and analysis", la cui segreteria è affidata all'AFNOR.

Alla presente norma europea deve essere attribuito lo status di norma nazionale, o mediante pubblicazione di un testo identico o mediante notifica di adozione, al più tardi entro dicembre 2019, e le norme nazionali in contrasto devono essere ritirate al più tardi entro dicembre 2019.

Si richiama l'attenzione alla possibilità che alcuni degli elementi del presente documento possano essere oggetto di brevetti. Il CEN non deve essere ritenuto responsabile di avere citato tali brevetti.

Il presente documento sostituisce la EN ISO 9167-1:1995.

In conformità alle Regole Comuni CEN/CENELEC, gli enti nazionali di normazione dei seguenti Paesi sono tenuti a recepire la presente norma europea: Austria, Belgio, Bulgaria, Cipro, Croazia, Danimarca, Estonia, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Irlanda, Islanda, Italia, Lettonia, Lituania, Lussemburgo, Malta, Norvegia, Paesi Bassi, Polonia, Portogallo, Regno Unito, Repubblica Ex Jugoslava di Macedonia, Repubblica Ceca, Romania, Serbia, Slovacchia, Slovenia, Spagna, Svezia, Svizzera, Turchia e Ungheria.

NOTIFICA DI ADOZIONE

Il testo della ISO 9167:2019 è stato approvato dal CEN come EN ISO 9167:2019 senza alcuna modifica.

PREMESSA ISO

L'ISO (Organizzazione Internazionale di Normazione) è la federazione mondiale degli organismi di normazione nazionali (membri ISO). L'attività di stesura delle norme internazionali è svolta generalmente attraverso comitati tecnici ISO. Ogni organismo membro interessato ad un argomento per il quale è stato istituito un comitato tecnico ha il diritto di essere rappresentato in tale comitato. Anche le organizzazioni internazionali, governative e non-governative, in collaborazione con l'ISO, partecipano ai suddetti lavori. L'ISO collabora strettamente con l'IEC (Commissione Elettrotecnica Internazionale) su tutti gli argomenti della normazione elettrotecnica.

Le procedure seguite per sviluppare il presente documento, unitamente a quelle seguite per il suo successivo mantenimento, sono descritte nelle Direttive ISO/IEC, Parte 1. In particolare, si dovrebbe prestare attenzione ai diversi criteri di approvazione necessari per i differenti tipi di documenti ISO. Il presente documento è stato redatto in conformità alle regole editoriali specificate nelle Direttive ISO/IEC, Parte 2. (vedere: www.iso.org/directives).

Si richiama l'attenzione sulla possibilità che alcuni degli elementi del presente documento possano essere oggetto di brevetti. L'ISO non deve essere ritenuto responsabile di aver citato alcuni o tutti questi brevetti. I dettagli sui brevetti identificati durante lo sviluppo del documento sono indicati nell'Introduzione e/o nell'elenco ISO delle dichiarazioni di brevetto ricevute (vedere www.iso.org/patents).

Qualsiasi denominazione commerciale utilizzata nel presente documento costituisce un'informazione fornita a supporto degli utenti e non costituisce un'approvazione.

Per una spiegazione sulla natura volontaria delle norme, sul significato di termini specifici ISO e delle espressioni relative alla valutazione della conformità, nonché informazioni sull'osservanza dell'ISO ai principi dell'Organizzazione Mondiale del Commercio (WTO) nell'ambito delle barriere tecniche per il commercio (TBT), vedere il seguente URL: www.iso.org/iso/foreword.html.

Il presente documento è stato elaborato dal Comitato Tecnico ISO/TC 34 "Food products", Sottocomitato SC 2 "Oleaginous seeds and fruits and oilseed meals".

La presente prima edizione annulla e sostituisce la ISO 9167-1:1992, che è stata tecnicamente revisionata. Essa inoltre incorpora l'aggiornamento ISO 9167-1:1992/Amd.1:2013.

Le principali modifiche sono le seguenti:

- sono state aggiunte nello scopo le farine di colza con l'aggiunta di una nuova prova collaborativa;
- nel punto 9.2 il metanolo al 70% è stato sostituito dall'etanolo al 50% per una tossicità più bassa^[6];
- nel punto 9.2 è stata eseguita una sola estrazione anziché due;
- nei punti 10.2 e E.5.1 è stato utilizzato il termine "fattore di proporzionalità relativo" anziché "fattore di risposta";
- nell'appendice E è stato aggiunto il modo isocratico.

Qualsiasi riscontro o quesito al presente documento dovrebbe essere indirizzato all'organismo di normazione dell'utilizzatore. Un elenco completo di tali organismi è disponibile all'indirizzo: www.iso.org/members.html.

INTRODUZIONE

I glucosinolati nei semi di colza possono essere analizzati mediante metodi cromatografici, enzimatici o spettroscopici. Il presente documento descrive un metodo cromatografico con due condizioni di eluizione (a gradiente e isocratica) per l'analisi qualitativa e quantitativa di singoli glucosinolati nei semi e nelle farine di colza. Il metodo con eluizione a gradiente è considerato il metodo di riferimento mentre il metodo con eluizione isocratica è considerato un metodo semplificato ed è presentato nell'appendice E a scopo informativo.

Il presente documento specifica un metodo che utilizza la cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC) con eluizione a gradiente come metodo di riferimento. Per il modo isocratico, la scelta del riferimento interno, le condizioni cromatografiche e i risultati della separazione sono diversi dal metodo di riferimento. Questi aspetti sono discussi nell'appendice E.

1

SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

Il presente documento specifica un metodo per la determinazione del contenuto dei singoli glucosinolati nei semi e nelle farine di colza utilizzando la cromatografia liquida ad alta risoluzione con eluizione a gradiente.

Il presente metodo è stato sottoposto a prova su semi e farine di colza (*Brassica rapa*, *Brassica napus* e *Brassica juncea*), ma è applicabile ad altri materiali vegetali, purché i glucosinolati presenti precedentemente identificati siano descritti nel presente documento. Diversamente, l'analisi quantitativa del(i) glucosinato(i) interessato(i) non è eseguita.

Nota Il presente metodo non determina i glucosinolati che sono sostituiti nella molecola di glucosio, ma questi composti sono di poca importanza nei semi e nella farina di colza disponibile in commercio.

L'appendice A presenta i risultati delle prove interlaboratorio per il metodo HPLC con eluizione a gradiente. L'appendice B presenta come verificare la titolazione della soluzione di riferimento interno preparata. L'appendice C presenta come preparare e sottoporre a prova la soluzione di solfatasi purificata e come verificare il passaggio di desolfatazione nella colonna a scambio ionico. L'appendice D presenta la qualificazione dei criteri di prestazione dell'HPLC e della colonna.

L'analisi del contenuto di glucosinolati nei semi di colza può essere eseguita anche utilizzando un metodo di eluizione isocratica. Ciò richiede alcune modifiche del metodo (riferimento interno, colonna HPLC e tamponi HPLC), come descritto nell'appendice E.

2

RIFERIMENTI NORMATIVI

Nel testo si fa riferimento ai seguenti documenti in modo tale che il loro contenuto, in tutto o in parte, costituisca un requisito del presente documento. Per quanto riguarda i riferimenti datati, si applica esclusivamente l'edizione citata. Per i riferimenti non datati si applica l'ultima edizione del documento cui si fa riferimento (compresi gli aggiornamenti).

ISO 664	Oilseeds - Reduction of laboratory sample to test sample
ISO 665	Oilseeds - Determination of moisture and volatile matter content
ISO 771	Oilseed residues - Determination of moisture and volatile matter content
ISO 3696	Water for analytical laboratory use - Specification and test methods
ISO 5502	Oilseed residues - Preparation of test samples