

Spectroscopie UV-Vis pour l'évaluation de la qualité du paprika selon la méthode ASTA 20.1

De la préparation d'échantillons à l'analyse à l'aide du spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 Multicuves



Auteur

Yasurika Heenatigala
Agilent Technologies, Inc.

Résumé

La couleur vive du paprika est un indicateur clé de sa qualité et de sa valeur commerciale. L'évaluation de sa couleur par spectroscopie UV-Vis est essentielle pour garantir son authenticité, la satisfaction des consommateurs et la conformité réglementaire. Cette note d'application présente l'efficacité du **spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 Multicuves** associé au **logiciel Agilent Cary UV Workstation** pour une évaluation rapide, fiable et standardisée de la qualité. Cette étude suit la méthode ASTA 20.1 afin de déterminer la couleur extractible dans les piments et leurs oléorésines.

Introduction

Le paprika est une épice très utilisée, appréciée pour sa couleur rouge intense et son arôme caractéristique, qui lui vaut sa renommée tant dans le domaine culinaire que commercial. Produit très demandé, fabriqué à partir de gousses de piment séchées, le paprika est sujet à des variations de qualité et à des adultérations qui peuvent compromettre l'authenticité du produit, la confiance des consommateurs et la conformité à la législation.

La spectroscopie UV-visible (UV-Vis) est une technique d'analyse rapide et reproductible qui permet d'évaluer la qualité du paprika en quantifiant la concentration en pigments. Dans le paprika, l'intensité de la couleur provient principalement des composés caroténoïdes et est généralement évaluée à l'aide de la méthode ASTA 20.1¹, une norme industrielle reconnue qui classe commercialement les échantillons de paprika sous forme de valeur numérique ASTA.

Dans cette note d'application, nous avons utilisé un spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 Multicuves et le logiciel Agilent Cary UV Workstation pour déterminer la valeur de couleur ASTA de deux échantillons de paprika disponibles dans le commerce. Les mesures ont été effectuées conformément à la méthode ASTA 20.1 pour la détermination de la couleur extractible dans les piments et leurs oléorésines.

Méthode expérimentale

Préparation d'échantillons

Étalon de référence : la méthode ASTA 20.1 exige la génération d'un facteur de correction de l'instrument (If) afin de normaliser les mesures des échantillons de paprika et de garantir la reproductibilité des mesures. Pour ce faire, un matériau de référence certifié (MRC) traçable aux normes du NIST (MRC Starna 18294 – filtre métal sur quartz 30 %, avec une absorbance spécifiée par le NIST comprise entre 0,4 et 0,6 à 465 nm) a été utilisé conformément à la méthode ASTA 20.1.

Témoin solvant : acétone, qualité ACS (Sigma-Aldrich, référence 179124, 2,5 L, numéro CAS 67-64-1). Un échantillon de 3 mL d'acétone de qualité ACS a été transféré dans une cuve en quartz standard de 10 mm et utilisé comme blanc de l'échantillon.

Extrait d'échantillons de paprika : Environ 90 mg d'échantillon testé (acheté localement) ont été pesés à 0,1 mg près, dans une nacelle de pesée propre, sèche et tarée (échantillon 1 : 92,5 mg, échantillon 2 : 90,5 mg). Chaque prise d'essai a été transférée dans une fiole jaugée de 100 mL et diluée à volume avec de l'acétone. Les solutions ont été bouchées, mélangées et laissées au repos pendant 16 heures à température ambiante, à l'abri de la lumière. Après cette période, les flacons ont été homogénéisés et laissés au repos suffisamment longtemps pour permettre aux particules de se déposer. Un échantillon de 3 mL de chaque solution a été transféré dans une cuve en quartz standard de 10 mm. Ils ont été désignés comme les extraits des échantillons de paprika.

Instruments

Une fois les échantillons et les blancs préparés, les paramètres ont été définis à l'aide du spectrophotomètre UV-Vis Cary 3500 Multicuves et du logiciel Cary UV Workstation (figure 1). L'étalon de référence a été mesuré selon les paramètres indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1. Paramètres de collecte des données UV-Vis pour le MRC Starna 18294 à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 Multicuves afin de calculer le facteur de correction de l'instrument (If).

Valeur	Paramètre
Gamme de longueurs d'onde	350 à 800 nm
Longueurs d'onde d'analyse	465 nm
Durée d'intégration du signal	0,1 s
Intervalle de données	1 nm
Bande passante spectrale	2 nm

Les échantillons ont ensuite été mesurés, conformément aux paramètres indiqués dans le tableau 2.

Tableau 2. Paramètres de collecte des données UV-Vis pour l'analyse du paprika à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 Multicuves.

Valeur	Paramètre
Gamme de longueurs d'onde	350 à 800 nm
Longueurs d'onde d'analyse	460 nm
Durée d'intégration du signal	0,1 s
Intervalle de données	1 nm
Bande passante spectrale	2 nm

Les deux paramètres de la méthode ont été configurés à l'aide d'une nouvelle séquence dans l'application de balayage.



Figure 1. Le spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 Multicuves et le logiciel Agilent Cary UV Workstation. Le module Multicuves fournit huit canaux de mesure fixes.

Résultats et discussion

Facteur de correction de l'instrument (If)

La méthode ASTA 20.1 fournit des calculs permettant de déterminer l'If, ce qui permet de normaliser les mesures des échantillons de paprika et de garantir la reproductibilité des mesures. Le facteur est calculé comme le rapport entre l'absorbance certifiée par le NIST pour le MRC (abs de 0,4934) et l'absorbance observée en laboratoire.

La fonctionnalité logicielle « end of sequence analysis » (analyse de fin de séquence) du Cary UV Workstation a été utilisée pour calculer l'If. Cet outil aide les utilisateurs à produire et à analyser quantitativement les résultats au sein de l'application, simplifiant ainsi la procédure de travail. Conformément à la méthode ASTA 20.1, deux calculs ont été saisis à l'analyse de fin de séquence dans la page de configuration de séquence.

- L'analyse 1 (ValueAt[465]) a été utilisée pour déterminer l'absorbance à 465 nm
- L'analyse 2 (0,4934/ValueAt[465]) a été utilisée pour calculer l'If.

Dix mesures distinctes ont été effectuées afin de déterminer l'écart-type relatif (RSD), qui s'est élevé à $1,9366 \times 10^{-2} \%$, indiquant une variabilité significativement faible entre les mesures (tableau 3). La méthode ASTA 20.1 exige un RSD (10 mesures) $< 1 \%$ pour confirmer la stabilité de l'instrument.

Tableau 3. Écart-type relatif des 10 mesures distinctes du matériau de référence certifié (MRC).

Mesures d'étalon de référence	Abs certifiée par le NIST à 465 nm	Abs observée en laboratoire à 465 nm	Facteur de correction de l'instrument (If)
Cycle 1	0,4934	0,4916	1,0036
Cycle 2	0,4934	0,4915	1,0038
Cycle 3	0,4934	0,4915	1,0038
Cycle 4	0,4934	0,4917	1,0035
Cycle 5	0,4934	0,4918	1,0032
Cycle 6	0,4934	0,4916	1,0037
Cycle 7	0,4934	0,4916	1,0037
Cycle 8	0,4934	0,4917	1,0035
Cycle 9	0,4934	0,4917	1,0035
Cycle 10	0,4934	0,4917	1,0034
Moyenne	0,4934	0,4916	1,0036
Écart-type	S.O.	0,000095	0,00019
Écart-type relatif (RSD), %	S.O.	0,019	0,019

Les résultats des analyses 1 et 2 ont été automatiquement consignés dans un rapport de balayage (abordé plus en détail plus loin dans cette note d'application). Cela a simplifié l'accès aux résultats pour une analyse ultérieure du paprika. Le facteur instrumental pourrait facilement être utilisé dans les calculs pour corriger la valeur de couleur ASTA d'un échantillon de paprika.

Analyse des échantillons de paprika

La méthode ASTA 20.1 mesure l'intensité de la couleur du paprika en extrayant les pigments à l'acétone et en enregistrant l'absorbance à 460 nm. La mesure de l'absorbance, ainsi que le poids de l'échantillon, sont ensuite utilisés pour calculer la valeur de couleur ASTA. La valeur de couleur ASTA est un paramètre de qualité crucial pour le paprika et d'autres épices, car elle indique l'intensité et la vivacité de la couleur rouge, qui est une caractéristique essentielle pour les consommateurs et les fabricants de produits alimentaires.

Dans cette étude, les deux échantillons de paprika extraits ont été mesurés trois fois chacun afin d'obtenir des résultats en triple (tableau 4). L'échantillon 1 avait une valeur de couleur ASTA corrigée d'environ 103, et l'échantillon 2 avait une valeur de couleur ASTA corrigée d'environ 61, indiquant une intensité de couleur plus faible. La valeur de couleur ASTA corrigée a été automatiquement générée dans un tableau de valeurs facile à lire, et un rapport de balayage a été automatiquement exporté vers un emplacement défini par l'utilisateur.

Tableau 4. Résultats des deux échantillons de paprika.

Cycle	Échantillon 1		Échantillon 2	
	Abs (460 nm)	Valeur de couleur ASTA corrigée	Abs (460 nm)	Valeur de couleur ASTA corrigée
Cycle 1	0,5771	102,6879	0,3349	60,9013
Cycle 2	0,5771	102,7045	0,3348	60,8997
Cycle 3	0,5768	102,6479	0,3343	60,8135
Moyenne	0,5770	102,6801	0,3347	60,8715
		103		61

Pour effectuer cette analyse de manière simple et rapide, l'outil d'analyse de fin de séquence (figures 2 et 3) a été utilisé pour effectuer automatiquement les calculs après les mesures des échantillons, comme suit :

- Détermination de l'absorbance à 460 nm (analyse 1)
- Calcul de la valeur de couleur ASTA à l'aide de l'absorbance à 460 nm et du poids de l'échantillon testé (analyse 2)
- Calcul de la valeur de couleur ASTA corrigée à l'aide de la valeur de couleur ASTA et de la moyenne si calculée précédemment (analyse 3)

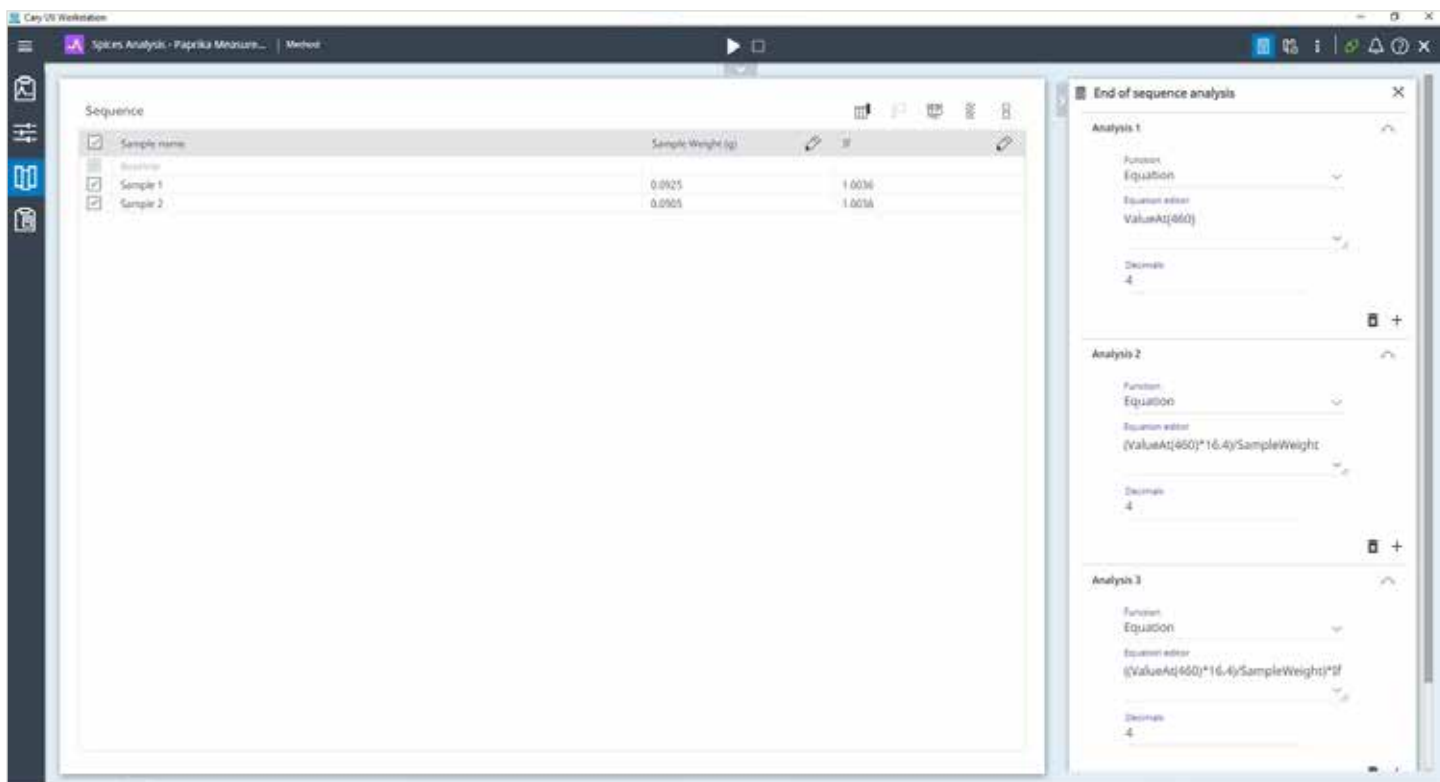


Figure 2. La page de séquence pour la mesure des échantillons de paprika, indiquant des paramètres tels que le poids de l'échantillon et le facteur de correction de l'instrument (If), qui peuvent être utilisés directement dans les analyses de fin de séquence pour faciliter les calculs.

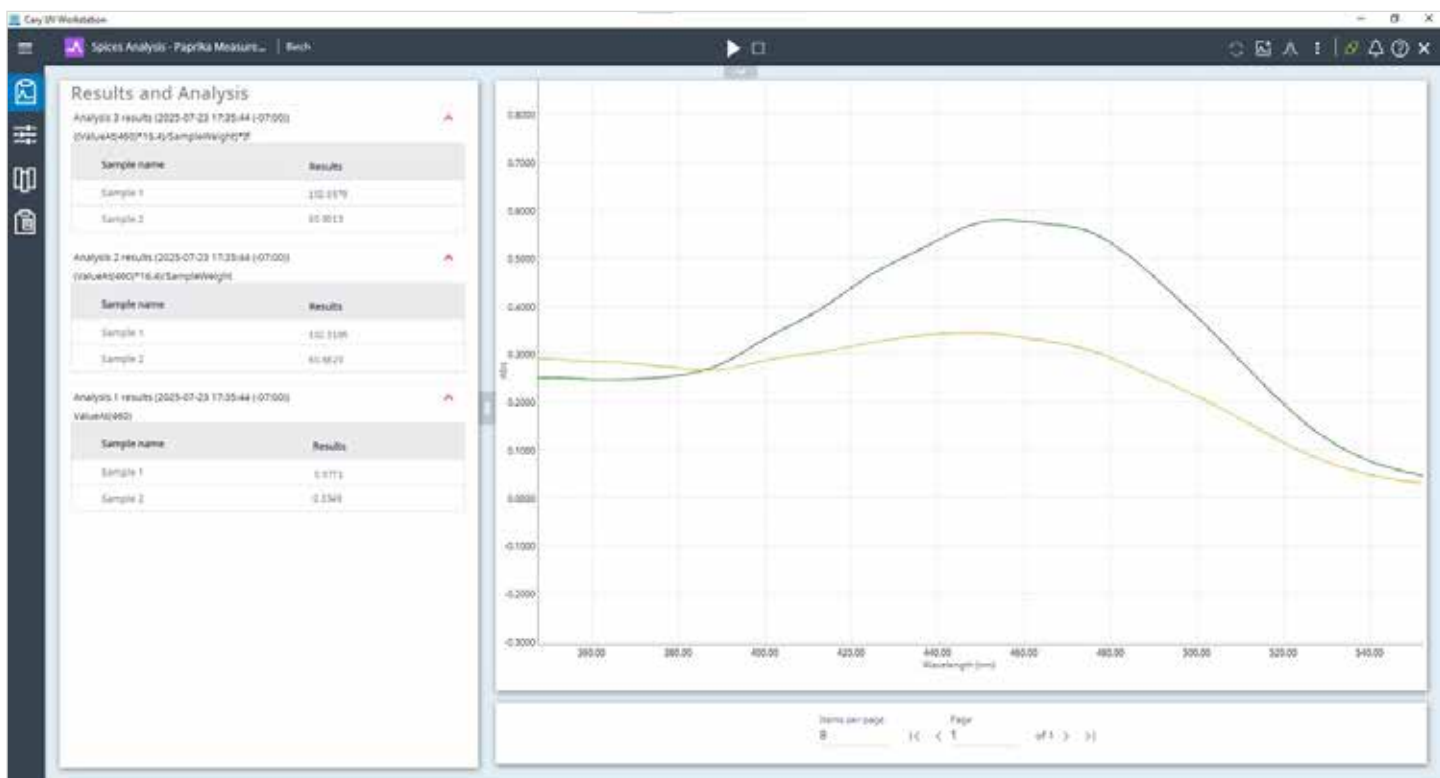


Figure 3. Résultats des mesures. Le logiciel Agilent Cary UV Workstation effectue des analyses qualitatives (graphiques d'absorbance) et quantitatives (tableaux d'analyse de fin de séquence) grâce à une interface conviviale.

Dans une séquence de balayage distincte, les spectres des deux échantillons ont été comparés à la mesure d'un échantillon précédemment acquis à 460 nm à l'aide de la fonctionnalité logicielle « load spectrum » (charger le spectre). Le graphique évolutif offrait une clarté visuelle des comparaisons d'absorbance. La figure 4 illustre les étapes à suivre pour comparer les mesures de n'importe quel échantillon dans la base de données sécurisée du Cary UV Workstation.

Reporting

Une documentation précise et traçable est essentielle pour garantir la reproductibilité des analyses ainsi que leur conformité. Le Cary UV Workstation facilite cette tâche grâce à un système de rapport intégré.

Le logiciel génère automatiquement des rapports de balayage (PDF et/ou CSV) qui regroupent les informations essentielles (telles que les paramètres des instruments, la configuration de méthode, les informations relatives aux échantillons, les spectres d'absorbance des analytes cibles et les résultats quantitatifs), comme le montre la figure 6. Le rapport sur les échantillons de paprika a été adapté à l'application de l'utilisateur, à l'aide des préférences de rapport (figure 5). Le graphique du spectre a également été mis à l'échelle de 350 à 550 nm pour des raisons de fonctionnalité.



Figure 4. La fonctionnalité « load spectrum » (Charger le spectre) facilite la comparaison des spectres entre tous les échantillons mesurés à l'aide du programme de balayage. Les échantillons 1 (vert) et 2 (jaune) ont été comparés à un échantillon acquis précédemment (rose).

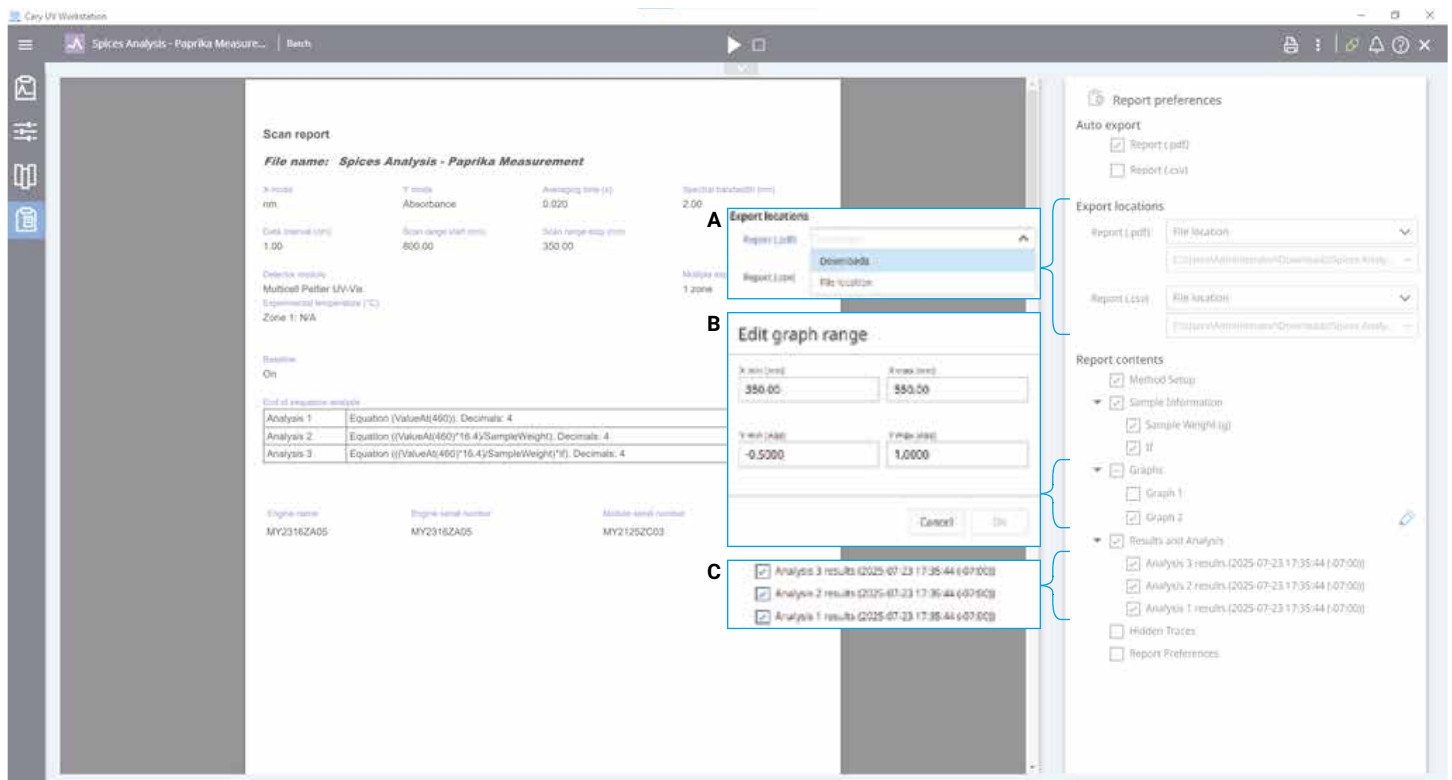


Figure 5. Le logiciel Agilent Cary UV Workstation permet à l'utilisateur de sélectionner de manière préférentielle le contenu affiché dans le rapport de balayage. (A) Le rapport PDF a été automatiquement exporté vers un emplacement défini par l'utilisateur. (B) Le graphique 1 (spectre complet) a été désélectionné, et le graphique 2 a été sélectionné et réduit afin que l'absorbance à 465 nm puisse être lue plus clairement. (C) L'absorbance à 465 nm (analyse 1), la valeur de couleur ASTA (analyse 2) et la valeur de couleur ASTA corrigée (analyse 3) ont été conservées dans le tableau des résultats pour le rapport final.

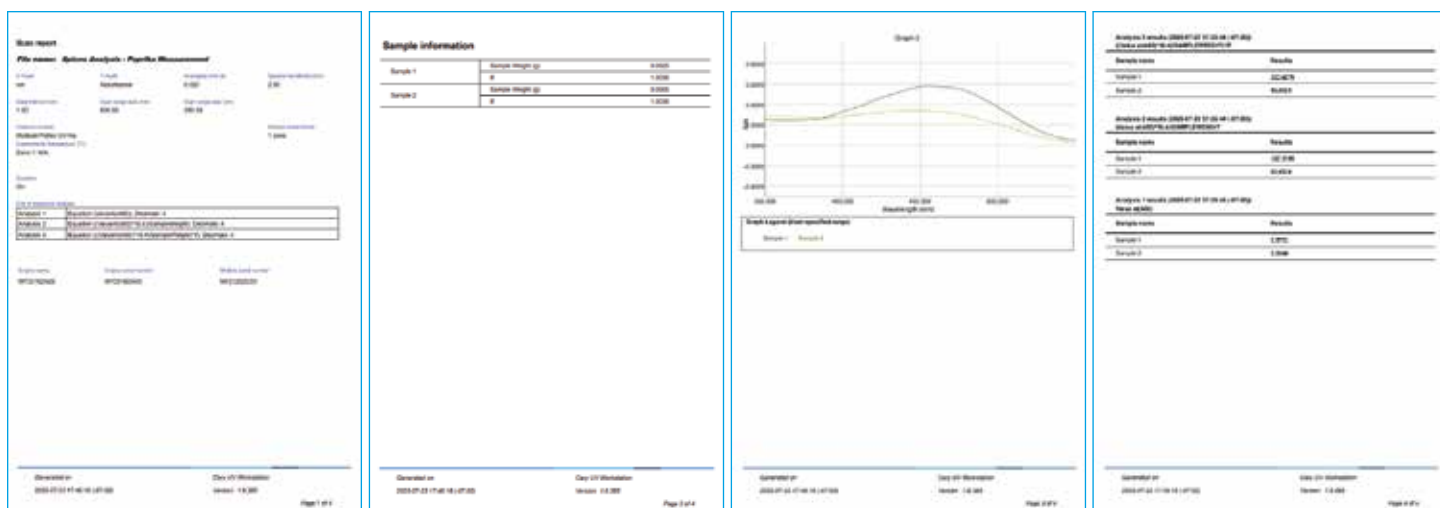


Figure 6. Rapport de balayage généré par le logiciel de station Agilent Cary UV Workstation.

Conclusion

Le spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 Multicuves associé au logiciel Agilent Cary UV Workstation a permis une évaluation rapide, fiable et standardisée de la qualité des échantillons de paprika. Grâce à la méthode ASTA 20.1, largement répandue dans l'industrie, le système Cary 3500 a permis une quantification précise des pigments caroténoïdes, facilitant ainsi la classification par catégorie.

La conception multicellulaire à haut débit du spectrophotomètre UV-Vis Cary 3500 Multicuves permet de mesurer simultanément jusqu'à sept échantillons et une référence, ce qui améliore l'efficacité et minimise la variabilité. Le logiciel Cary UV Workstation simplifie l'acquisition et l'analyse des données grâce à des fonctionnalités spectrales intuitives telles que l'outil d'analyse de fin de séquence, qui peut être appliqué automatiquement à n'importe quelle méthode de balayage, et les comparaisons de spectres via l'outil Load spectrum (Charger le spectre).

De la mesure de l'absorbance des échantillons à la création du rapport final, le système Cary 3500 a éliminé le besoin de traitement manuel des données ou d'outils externes. Il a ainsi simplifié les opérations et renforcé leur fiabilité.

Informations complémentaires

- Spectrophotomètre UV-Vis Agilent Cary 3500 Multicuves
- Logiciel Agilent Cary UV Workstation
- FAQ sur la spectrophotométrie et la spectroscopie UV-Vis

Références

1. ASTA Method 20.1: Extractable Color in Capsicums and Their Oleoresins. Révisé en octobre 2004.