

NORME INTERNATIONALE

**ISO
5504**

Deuxième édition
1992-12-01

Tourteaux de graines oléagineuses — Dosage des isothiocyanates et de la vinylthiooxazolidone

*Oilseed residues — Determination of total isothiocyanate content and
vinylthiooxazolidone content*
(standards.iteh.ai)

ISO 5504:1992

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a8779433-4abc-4225-9ea6-3602b84be079/iso-5504-1992>



Numéro de référence
ISO 5504:1992(F)

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 (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 5504 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 2, *Graines et fruits oléagineux*.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/a8779433-4abc-4225-9ea6-3602b84be079/iso-5504-1992>

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 5504:1983), dont le domaine d'application et l'expression des résultats ont fait l'objet d'une révision technique.

Les annexes A et B de la présente Norme internationale sont données uniquement à titre d'information.

© ISO 1992

Droits de reproduction réservés. 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 et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case Postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse

Imprimé en Suisse

Tourteaux de graines oléagineuses — Dosage des isothiocyanates et de la vinylthiooxazolidone

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode de dosage des isothiocyanates (ITC) et de la vinyl-5-thiooxazolidone (VTO) provenant de l'hydrolyse enzymatique des glucosinolates dans les tourteaux de graines oléagineuses du genre *Brassica*.

Dans les conditions opératoires décrites, cette méthode ne permet pas de déterminer les isothiocyanates et la vinylthiooxazolidone libres.

La précision de la méthode testée dans des analyses circulaires fait qu'il n'est pas judicieux de l'utiliser valablement pour des teneurs inférieures à

ITC: 2 $\mu\text{mol/g}$

VTO: 6 $\mu\text{mol/g}$

L'annexe A donne, à titre d'information, une méthode de dosage des ITC par argentimétrie. Cette dernière méthode n'est cependant pas applicable aux tourteaux de graines oléagineuses ayant une faible teneur en glucosinolates.

NOTE 1 Pour les graines de colza, deux méthodes pour la détermination des glucosinolates sont données dans l'ISO 9167-1 et l'ISO 9167-2.

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la

CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 734:1979, *Tourteaux de graines oléagineuses — Détermination de l'extrait à l'hexane (ou à l'éther de pétrole), dit «teneur en huile»*.

ISO 5502:1992, *Tourteaux de graines oléagineuses — Préparation des échantillons pour essai*.

3 Principe

Après délipidation, si nécessaire, et déshydratation des tourteaux de graines oléagineuses, hydrolyse enzymatique des glucosinolates, puis extraction des isothiocyanates (ITC) par le dichlorométhane ou le chloroforme et de la vinylthiooxazolidone (VTO) par l'oxyde diéthylique.

Détermination des ITC par chromatographie en phase gazeuse et de la VTO par spectrométrie dans l'ultraviolet.

4 Réactifs

Sauf indication différente, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente.

4.1 Réactifs pour le dosage des ITC

4.1.1 Dichlorométhane, ou, à défaut, chloroforme.

AVERTISSEMENT — Des précautions particulières doivent être observées lors de la manipulation du chloroforme. Éviter toute exposition prolongée au chloroforme par exemple, en effectuant toutes les opérations, dans la mesure du possible, sous une hotte d'aspiration.

4.1.2 *n*-Hexane, ou, à défaut, éther de pétrole (intervalle de distillation 40 °C à 60 °C).

4.1.3 Solution tampon, de pH 7, du commerce ou, par exemple, une solution préparée comme suit.

Verser 35,3 ml d'une solution d'acide citrique monohydraté ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) à 0,1 mol/l (solution à 21,01 g/l) dans une fiole jaugée de 200 ml et compléter au trait repère avec une solution d'hydrogénophosphate disodique dihydraté ($Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$) à 0,2 mol/l (solution à 35,61 g/l). Vérifier le pH et l'ajuster éventuellement.

4.1.4 Support enzymatique, myrosidase (thioglucosidase) du commerce.

NOTE 2 Il est également possible d'utiliser un support enzymatique préparé à partir de graines de moutarde blanche (*Sinapis alba* L.), comme suit.¹⁾

Broyer finement les graines de moutarde blanche de façon que 80 % au moins de la mouture passent au travers d'un tamis de 280 μ m d'ouverture de maille.

Procéder ensuite à une délipidation de la mouture obtenue au moyen d'hexane ou, à défaut, d'éther de pétrole (4.1.2), à froid, en effectuant l'extraction par une méthode permettant de délipider jusqu'à obtention d'un produit ne contenant pas plus de 2 % d'huile, sans que la température dépasse 30 °C, par exemple avec un appareil de type Soxhlet à double paroi, ou en procédant à des extractions par broyage dans l'hexane à l'aide d'un microbroyeur refroidi par un courant d'eau. Éliminer les traces de solvant à température ambiante, en utilisant, de préférence, un léger courant d'air.

Conserver le support enzymatique ainsi obtenu à 4 °C et obligatoirement dans un flacon de verre hermétiquement fermé. Dans ces conditions, celui-ci se conserve environ 6 semaines; il est cependant préférable d'employer un support enzymatique fraîchement préparé.

Il est conseillé d'effectuer un essai à blanc pour s'assurer que le support enzymatique ne contient pas d'ITC en quantité suffisante pour modifier significativement les résultats.

4.1.5 Isothiocyanate de butyle, solution étalon à 2 mmol/l dans le dichlorométhane ou le chloroforme (4.1.1).

Il est préférable de préparer une solution mère à 20 mmol/l [230,4 mg de butyl ITC dans 100 ml de dichlorométhane ou de chloroforme (4.1.1)] et de préparer une dilution à 10^{-1} avant l'utilisation.

Ce facteur de dilution peut être modifié en fonction de la teneur présumée en ITC du produit.

4.1.6 Gaz pour la chromatographie en phase gazeuse.

Gaz vecteur: azote soigneusement desséché et

contenant moins de 10 mg d'oxygène par kilogramme.

Gaz auxiliaires: hydrogène et air.

4.2 Réactifs pour le dosage de la VTO

4.2.1 Oxyde diéthylique, de qualité pour spectrométrie.

4.2.2 Antimousse, par exemple octanol-2.

4.2.3 Solution tampon, de pH 7 (voir 4.1.3).

4.2.4 Support enzymatique (voir 4.1.4).

5 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, en particulier ce qui suit:

5.1 Appareillage pour la préparation de l'échantillon pour essai et la déshydratation de la prise d'essai

5.1.1 Tamis, de 280 μ m d'ouverture de maille.

5.1.2 Appareillage nécessaire à la délipidation, selon l'ISO 734, si nécessaire.

5.1.3 Broyeur.

5.1.4 Dessiccateur.

5.1.5 Balance analytique.

5.1.6 Étuve électrique, réglable à $103 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$.

5.1.7 Fiole conique, de 25 ml de capacité.

5.2 Appareillage pour le dosage des ITC

5.2.1 Chromatographe, avec détecteur à ionisation de flamme et enregistreur, équipé par exemple d'une colonne de 2 m de longueur, de 3,2 mm de diamètre extérieur et de 2 mm de diamètre intérieur, rempli avec 10 % (m/m) de succinate de diéthylène glycol (DEGS) sur GAS/CHROM P 150 μ m à 180 μ m (80 à 100 mesh) (traité à l'hexaméthylidisilazane).

5.2.2 Système agitateur-secoueur, pour fioles coniques, ou **agitateur magnétique**.

1) Utiliser des semences dont plus de 85 % des graines germent en moins de 72 h et ayant moins de 2 ans d'âge.

5.2.3 Microseringue, de 1 µl de capacité.

5.2.4 Pipettes, de 5 ml et 10 ml de capacité.

5.3 Appareillage pour le dosage de la VTO

5.3.1 Spectromètre, de préférence avec enregistreur, approprié aux mesurages dans l'ultraviolet, équipé de cuves en silice de 10 mm de parcours optique.

5.3.2 Système agitateur-secoueur, pour fioles coniques, ou agitateur magnétique.

5.3.3 Fioles coniques, de 100 ml et 200 ml de capacité.

5.3.4 Fioles jaugées à un trait, de 25 ml et 100 ml de capacité.

5.3.5 Bécher, de 50 ml de capacité.

5.3.6 Ampoule à décanter, de 50 ml de capacité.

5.3.7 Pipette, de 2 ml de capacité.

6 Échantillonnage

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

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 5500.

7 Préparation de l'échantillon pour essai

Voir ISO 5502.

7.1 Tourteaux ayant une teneur en huile inférieure à 5 % (m/m)

Une délipidation n'étant pas nécessaire en dessous d'une teneur en huile de 5 % (m/m), utiliser les tourteaux tels quels après broyage, si nécessaire, de façon que 80 % au moins de la mouture obtenue passent au travers du tamis (5.1.1).

Les résultats étant exprimés par rapport à l'échantillon délipidé, déterminer parallèlement la teneur en huile du tourteau en utilisant la méthode spécifiée dans l'ISO 734 ou toute autre méthode convenable.

7.2 Tourteaux ayant une teneur en huile égale ou supérieure à 5 % (m/m)

Si la teneur en huile des tourteaux est égale ou supérieure à 5 % (m/m) (tourteaux de pression), procéder sur 10 g de tourteaux à une délipidation en suivant le mode opératoire spécifié dans l'ISO 734. Puis, après élimination du solvant, broyer si nécessaire.

8 Mode opératoire

8.1 Dosage des ITC

8.1.1 Prise d'essai

Introduire environ 2,2 g de l'échantillon pour essai (article 7) dans une fiole conique de 25 ml (5.1.7) préalablement séchée, puis tarée à 1 mg près. La porter à l'étuve (5.1.6) réglée à 103 °C pendant au moins 8 h, et la laisser refroidir dans le dessiccateur (5.1.4) jusqu'à température ambiante.

NOTE 3. Effectuer simultanément la déshydratation de la prise d'essai pour le dosage de la VTO, dans le bécher, si un dosage de la VTO est également demandé (voir 8.2.1).

Peser la fiole conique à 1 mg près et déterminer la masse de la prise d'essai délipidée éventuellement et séchée (environ 2 g).

8.1.2 Détermination

Ajouter à la prise d'essai 5 ml de la solution tampon (4.1.3), 0,25 g de support enzymatique (4.1.4) et 10 ml, prélevés à la pipette (5.2.4), de solution étalon d'isothiocyanate de butyle (4.1.5) (en utilisant une solution plus diluée, si nécessaire, de telle manière que la hauteur du pic de la solution étalon soit du même ordre que celle du pic le plus haut de la solution d'essai).

Agiter pendant 2 h, à la température du laboratoire, à l'aide du système agitateur-secoueur ou de l'agitateur magnétique (5.2.2). Laisser décanter ou centrifuger si nécessaire.

Prélever, à l'aide de la microseringue (5.2.3), 1 µl de la phase au dichlorométhane ou au chloroforme, en évitant de prélever des particules en suspension, et l'injecter dans le chromatographe (5.2.1), réglé, par exemple, comme indiqué ci-après:

température de l'injecteur: 135 °C

température de la colonne: 90 °C

température du détecteur: 130 °C

pression ou débit du gaz vecteur: 80 kPa²⁾ ou débit de 20 ml/min à 30 ml/min.

L'ordre d'élution est le suivant:

isothiocyanate d'allyle,

isothiocyanate de butyle,

isothiocyanate de butényle,

isothiocyanate de pentényle.

NOTES

4 À titre indicatif, en utilisant comme phase stationnaire le succinate de diéthylène glycol (DEGS), les temps de rétention relatifs rapportés à l'isothiocyanate de butyle sont les suivants:

isothiocyanate d'allyle: 0,70

isothiocyanate de butényle: 1,45

isothiocyanate de pentényle: 2,45

5 La solution injectée étant très corrosive, nettoyer immédiatement après utilisation la microseringue à l'aide d'un solvant.

8.2 Dosage de la VTO

8.2.1 Prise d'essai

Introduire environ 2,2 g de l'échantillon pour essai (article 7) dans un bécher de 50 ml (5.3.5) préalablement séché puis taré à 1 mg près. Le porter à l'étuve (5.1.6) réglée à 103 °C, pendant au moins 8 h, et le laisser refroidir dans le dessiccateur (5.1.4) jusqu'à température ambiante.

Peser le bécher, à 1 mg près, et déterminer la masse de la prise d'essai délipidée éventuellement et séchée (environ 2 g).

8.2.2 Détermination

Transvaser quantitativement la prise d'essai dans une fiole conique de 200 ml (5.3.3) et ajouter 70 ml de solution tampon (4.2.3) bouillante, dont une partie servira à rincer le bécher. Laisser refroidir jusqu'à environ 30 °C, puis ajouter 0,50 g de support enzymatique (4.2.4) et quelques gouttes d'un antimosse (4.2.2). Agiter pendant 2 h, à la température du laboratoire, à l'aide de l'agitateur-secoueur ou l'agitateur magnétique (5.3.2).

Transvaser aussitôt quantitativement dans une fiole jaugée de 100 ml (5.3.4) en rinçant avec de l'eau et

compléter au trait repère avec de l'eau. Filtrer et récupérer le filtrat dans une fiole conique de 100 ml (5.3.3). Agiter modérément pendant 30 s et prélever à la pipette (5.3.7) 2 ml que l'on introduit dans une ampoule à décanter de 50 ml (5.3.6). Procéder à deux extractions de la VTO en utilisant chaque fois 10 ml d'oxyde diéthylique (4.2.1). Récupérer les phases étherées dans une fiole jaugée de 25 ml (5.3.4). Compléter au trait repère avec de l'oxyde diéthylique.

Déterminer la courbe d'absorption de 220 nm à 280 nm et soustraire la valeur de l'absorbance lue à 280 nm de celle lue au maximum d'absorbance qui se situe aux environs de 250 nm pour obtenir l'absorbance de la prise d'essai.

Si les valeurs d'absorbances obtenues sortent des limites de l'appareil, procéder à une dilution adéquate de la solution d'essai extraite avec de l'oxyde diéthylique.

8.2.3 Essai à blanc

Effectuer, dans les mêmes conditions, un essai à blanc en omettant la prise d'essai, afin de déterminer l'absorbance due au support enzymatique.

9 Expression des résultats

9.1 Dosage des ITC

La teneur en ITC exprimée en micromoles par gramme de matière sèche de l'échantillon délipidé³⁾ est égale à

$$\frac{Q(\text{ITC})}{S_e \times m_1} \times [4/3S_a + 4/4S_b + 4/5S_p]$$

où

m_1 est la masse, en grammes, de la prise d'essai délipidée et séchée (8.1.1);

$Q(\text{ITC})$ est le nombre de micromoles de butylisothiocyanate contenu dans 10 ml de solution (généralement 20 µmol);

S_e est l'aire du pic correspondant à l'isothiocyanate de butyle;

S_a est l'aire du pic correspondant à l'isothiocyanate d'allyle;

S_b est l'aire du pic correspondant à l'isothiocyanate de butényle;

S_p est l'aire du pic correspondant à l'isothiocyanate de pentényle.

2) 80 kPa = 0,8 bar

3) Dans le cas des tourteaux non délipidés, il est nécessaire de tenir compte de la teneur en huile déterminée dans l'article 7.

NOTE 6 Les valeurs 4/3, 4/4 et 4/5 sont les coefficients de réponse conventionnels des isothiocyanates.

9.2 Teneur en VTO

La teneur en VTO, exprimée en micromoles par gramme de matière sèche de l'échantillon délipidé³⁾, est égale à

$$\frac{(A_E - A_B) \times 25 \times 100 \times 10^6}{15\,756 \times 1\,000 \times 2 \times m_2}$$

où

A_E	est l'absorbance de la solution d'essai (8.2.2);
A_B	est l'absorbance de la solution à blanc (8.2.3);
15 756	est la valeur du coefficient d'extinction moléculaire de la VTO, en litres moles moins un centimètres moins un;
m_2	est la masse, en grammes, de la prise d'essai (8.2.1).

On en déduit une formule simplifiée, dans laquelle la teneur en VTO, exprimée en micromoles par gramme de matière sèche de l'échantillon délipidé³⁾ est égale à

$$\frac{(A_E - A_B) \times 158,7}{m_2}$$

Tenir compte d'une dilution éventuelle.

9.3 Cas particulier: alimentation animale

En alimentation animale, les résultats sont généralement exprimés par rapport au produit tel quel. En conséquence, si une telle expression des résultats est souhaitée, effectuer les corrections nécessaires pour tenir compte de la teneur en eau et de la teneur en huile.

10 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer

- la méthode selon laquelle l'échantillonnage a été effectué (si elle est connue),
- la méthode utilisée,
- le(les) résultat(s) d'essai obtenu(s), et
- 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 les résultats.

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

ISO 5504:1992
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/87521318-bc-4225-9ea6-3602b84be079/iso-5504-1992>

Annexe A (informative)

Dosage des isothiocyanates par argentimétrie

A.1 Introduction

Pour les laboratoires ne possédant pas d'appareil de chromatographie en phase gazeuse pour le dosage des ITC, il est recommandé d'utiliser la méthode par argentimétrie décrite ci-après qui a été comparée à la méthode par chromatographie en phase gazeuse, lors d'essais interlaboratoires effectués sur le plan international et dont les résultats se sont avérés comparables, à condition que la teneur en glucosinolates soit suffisamment importante.

Il est cependant important de noter que l'expression des résultats est différente dans les deux méthodes; pour la chromatographie en phase gazeuse ils sont exprimés en micromoles d'isothiocyanates détectés, tandis que pour l'argentimétrie ils sont exprimés conventionnellement en milligrammes d'isothiocyanate de butényle.

A.2 Principe

Après délipidation, si nécessaire, et déshydratation du tourteau, hydrolyse enzymatique des glucosinolates, puis entraînement des ITC par distillation en présence d'éthanol, qui sont recueillis dans une solution d'ammoniaque diluée. Action du nitrate d'argent sur les dérivés de la thiourée ainsi formés.

Titration en retour de l'excès de nitrate d'argent à l'aide d'une solution de thiocyanate d'ammonium.

A.3 Réactifs et produits

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente.

A.3.1 Éthanol, à 95 % (V/V).

A.3.2 Antimousse, par exemple octanol-2.

A.3.3 Acide nitrique, solution, $c(\text{HNO}_3) = 6 \text{ mol/l}$

A.3.4 Ammoniaque, solution à 10 % (m/m).

A.3.5 Sulfate double d'ammonium et de fer(III), solution à 80 g/l.

A.3.6 Nitrate d'argent, solution titrée, $c(\text{AgNO}_3) = 0,01 \text{ mol/l}$.

A.3.7 Thiocyanate d'ammonium, solution titrée, $c(\text{NH}_4\text{SCN}) = 0,01 \text{ mol/l}$.

A.3.8 Solution tampon, de pH 4, du commerce ou, par exemple, une solution préparée comme suit.

Dissoudre 42 g d'acide citrique monohydraté dans 1 l d'eau. Amener à pH 4 avec une solution d'hydroxyde de sodium concentrée.

A.3.9 Support enzymatique, myrosidase (thioglucosidase), support enzymatique préparé à partir de graines de moutarde blanche (*Sinapis alba* L.) (voir 4.1.4).

A.3.10 Régulateur d'ébullition.

A.4 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, en particulier ce qui suit:

A.4.1 Appareillage pour la préparation de l'échantillon pour essai et la déshydratation de la prise d'essai

Voir 5.1.

A.4.2 Appareillage pour le dosage des ITC

A.4.2.1 Étuve électrique, réglable à 25 °C ou à 40 °C.

A.4.2.2 Appareil à distillation, du type de celui représenté à la figure A.1, comprenant en particulier:

- une fiole conique ③, de 500 ml de capacité;
- un ballon récepteur à fond rond ④, de 250 ml de capacité, ayant un trait repère à 70 ml.

A.4.2.3 Bain d'eau glacée.

A.4.2.4 Bain d'eau bouillante.

A.4.2.5 Fiole conique, de 100 ml de capacité.

A.4.2.6 Fiole jaugée à un trait, de 100 ml de capacité.

A.4.2.7 Pipettes, de 10 ml et 25 ml de capacité.

A.4.2.8 Papier filtre.

A.4.2.9 Réfrigérant à reflux, adaptable au ballon ⑥ de l'appareil à distillation (A.4.2.2).

A.5 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai comme décrit dans l'article 7.

A.6 Mode opératoire

A.6.1 Prise d'essai

Introduire environ 2,2 g de l'échantillon pour essai (A.5) dans une fiole conique (A.4.2.6) préalablement séchée, puis tarée à 1 mg près. La porter à l'étuve (5.1.6) réglée à 103 °C pendant au moins 8 h, et la laisser refroidir dans le dessiccateur (5.1.4) jusqu'à température ambiante.

Peser la fiole conique à 1 mg près et déterminer la masse de la prise d'essai délipidée éventuellement et séchée (environ 2 g).

A.6.2 Hydrolyse

Transvaser quantitativement la prise d'essai dans la fiole conique ③ de l'appareil à distillation (A.4.2.2) et ajouter 100 ml de solution tampon de pH 4 (A.3.8) dont une partie servira à rincer la fiole conique contenant la prise d'essai, puis ajouter 0,50 g de support enzymatique (A.3.9). Boucher la fiole et l'agiter modérément, puis la mettre dans l'étuve (A.4.2.1) pendant 16 h à 25 °C, ou 3 h à 40 °C. Pendant cette période, agiter la fiole à intervalles réguliers.

A.6.3 Préparation du ballon récepteur

Dans le ballon récepteur ⑥ de l'appareil à distillation (A.4.2.2) introduire 10 ml de la solution de nitrate d'argent (A.3.6) mesurés à la pipette (A.4.2.7) et 2,5 ml de la solution d'ammoniaque (A.3.4).

Adapter le ballon au réfrigérant de l'appareil à distillation et le mettre dans un bain d'eau glacée (A.4.2.3). L'extrémité du tube du réfrigérant doit plonger dans la solution de nitrate d'argent-ammoniaque.

A.6.4 Distillation

Laisser la fiole conique (voir A.6.2) refroidir à température ambiante, y introduire un régulateur d'ébullition (A.3.10) et quelques gouttes d'un anti-mousse (A.3.2), puis l'adapter à l'appareil à distillation. Ajouter dans la fiole, à l'aide de l'entonnoir placé au-dessus du réfrigérant, 10 ml d'éthanol (A.3.1) ainsi que 3 ml d'éthanol dans le tube de sûreté du ballon récepteur.

Distiller lentement jusqu'à obtention d'un total de 70 ml de liquide dans le ballon récepteur.

A.6.5 Détermination

Retirer le ballon, y verser l'éthanol contenu dans le tube de sûreté. Mettre un réfrigérant à reflux (A.4.2.9) et chauffer le ballon pendant 30 min dans un bain d'eau bouillante (A.4.2.4), puis le refroidir à l'eau froide.

Verser quantitativement dans une fiole jaugée de 100 ml (A.4.2.6) le contenu du ballon en rinçant avec de l'eau et compléter au trait repère. Agiter et filtrer sur papier filtre. Prélever, à la pipette (A.4.2.7), 25 ml du filtrat que l'on introduit dans une fiole conique de 100 ml (A.4.2.5). Ajouter 1 ml de la solution d'acide nitrique (A.3.3) et 0,5 ml de la solution de sulfate double d'ammonium et de fer(III) (A.3.5) qui sert d'indicateur.

Titrer l'excès de nitrate d'argent avec la solution de thiocyanate d'ammonium (A.3.7) jusqu'à obtention d'une coloration rosâtre stable.

A.6.6 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc sans mettre la prise d'essai, en suivant le même mode opératoire.

A.7 Expression des résultats

La teneur en ITC, exprimée en milligrammes d'isothiocyanate de butényle par gramme de matière sèche de l'échantillon délipidé⁹⁾ est égale à

$$\frac{4(V_1 - V_2) \times c \times 56,59}{m_3}$$

où

m_3 est la masse, en grammes, de la prise d'essai (A.6.1);

V_1 est le volume, en millilitres, de la solution de thiocyanate d'ammonium, utilisé pour l'essai à blanc (A.6.6);

V_2 est le volume, en millilitres, de la solution de thiocyanate d'ammonium, utilisé pour la détermination (A.6.5);