

---

# Norme internationale



# 6866

---

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

---

## Aliments des animaux — Dosage du gossypol libre et du gossypol total

*Animal feeding stuffs — Determination of free and total gossypol*

Première édition — 1985-11-15

ITEH STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

[ISO 6866:1985](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8b099961-3208-4305-9805-fb170c7b6092/iso-6866-1985)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8b099961-3208-4305-9805-fb170c7b6092/iso-6866-1985>

## 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 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.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO. Les Normes internationales sont approuvées conformément aux procédures de l'ISO qui requièrent l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 6866 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8b099961-3208-4305-9805-fb120c7b6092/iso-6866-1985>

L'attention des utilisateurs est attirée sur le fait que toutes les Normes internationales sont de temps en temps soumises à révision et que toute référence faite à une autre Norme internationale dans le présent document implique qu'il s'agit, sauf indication contraire, de la dernière édition.

# Aliments des animaux — Dosage du gossypol libre et du gossypol total

## 1 Objet

La présente Norme internationale spécifie une méthode de dosage du gossypol libre et du gossypol total, et des substances chimiquement apparentées, dans les aliments des animaux.

## 2 Domaine d'application

La méthode est applicable aux graines, farines et tourteaux de coton ainsi qu'aux aliments composés qui en contiennent.

La limite de détection pour le gossypol libre est de 20 mg/kg et celle pour le gossypol total de 50 mg/kg.

## 3 Références

ISO 6497, *Aliments des animaux — Échantillonnage*.<sup>1)</sup>

ISO 6498, *Aliments des animaux — Préparation des échantillons pour essai*.

## 4 Principe

Extraction du gossypol, en présence d' amino-3 propanol, soit par un mélange de propanol-2 et d'hexane pour le dosage du gossypol libre, soit par la diméthylformamide pour le dosage du gossypol total. Transformation du gossypol au moyen d'aniline en gossypol-dianiline. Mesure de l'absorbance à la longueur d'onde du maximum d'absorbance (entre 435 et 445 nm).

## 5 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

**5.1 Propanol-2/hexane**, mélange 60 + 40 en volume.

### 5.2 Solvant A.

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml, verser environ 500 ml du mélange propanol-2/hexane (5.1), 2 ml d' amino-3 propanol, 8 ml d'acide acétique cristallisable et 50 ml d'eau. Compléter au trait repère avec le mélange propanol-2/hexane.

Ce réactif est stable durant une semaine seulement.

### 5.3 Solvant B.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, verser 2 ml d' amino-3 propanol et 10 ml d'acide acétique cristallisable. Refroidir à la température ambiante et compléter au trait repère avec du *N,N*-diméthylformamide.

Ce réactif est stable durant une semaine seulement.

### 5.4 Aniline.

Si l'absorbance de l'essai à blanc excède 0,022, distiller l'aniline sur poudre de zinc en éliminant les première et dernière fractions de 10 % du distillat. Stocker ce réactif en flacon bouché de verre brun et au réfrigérateur (0 à 4 °C).

Le réactif est stable durant plusieurs mois.

## 6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et notamment

**6.1 Agitateur-culbuteur**, ayant une fréquence de rotation d'environ 35 min<sup>-1</sup>, ou autre système agitateur.

**6.2 Spectromètre**, permettant d'effectuer les mesures à des longueurs d'onde comprises entre 435 et 445 nm, équipé de cuves de 10 mm d'épaisseur.

**6.3 Fioles jaugées**, de 25 et 50 ml de capacité.

**6.4 Fioles coniques**, de 50, 100 et 250 ml de capacité.

## 7 Échantillonnage

Prélever l'échantillon pour laboratoire conformément à l'ISO 6497.

1) Actuellement au stade de projet.

## 8 Mode opératoire

### 8.1 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer l'échantillon pour essai conformément à l'ISO 6498.

### 8.2 Prise d'essai

La masse de la prise d'essai dépend de la teneur présumée en gossypol. Pour le dosage du gossypol libre dans les graines, les farines et les tourteaux de coton, la masse de la prise d'essai ne doit pas excéder 1 g; pour les aliments composés elle pourra atteindre 5 g. Pour le dosage du gossypol total, la masse de la prise d'essai pourra varier de 0,5 à 5 g.

NOTE — La masse de la prise d'essai doit permettre d'obtenir, dans la partie aliquote du filtrat, la quantité de gossypol libre indiquée en 8.3.1.2 ou la quantité de gossypol total indiquée en 8.3.2.4.

### 8.3 Détermination

#### 8.3.1 Détermination du gossypol libre

**8.3.1.1** Introduire la prise d'essai (8.2) dans une fiole conique de 250 ml, dont le fond est recouvert de billes de verre. Ajouter, à la pipette, 50 ml du solvant A (5.2), boucher la fiole et mélanger durant 1 h dans l'agitateur-culbuteur (6.1). Filtrer sur un papier filtre sec et recueillir le filtrat dans une fiole conique de 100 ml. Au cours de la filtration, recouvrir l'entonnoir d'un verre de montre.

**8.3.1.2** Introduire, à la pipette, respectivement dans deux fioles jaugées de 25 ml (C et D), des parties aliquotes identiques de filtrat contenant de 50 à 100 µg de gossypol. Compléter éventuellement le volume à 10 ml à l'aide du solvant A (5.2).

**8.3.1.3** Amener au trait repère le contenu de la fiole C avec le mélange propanol-2/hexane (5.1) et mélanger.

Cette solution sera utilisée comme solution de référence pour la mesure de la solution d'essai.

**8.3.1.4** Introduire, à la pipette, 10 ml du solvant A (5.2), respectivement dans deux autres fioles jaugées de 25 ml (E et F).

**8.3.1.5** Amener au trait repère le contenu de la fiole E avec le mélange propanol-2/hexane (5.1) et mélanger.

Cette solution sera utilisée comme solution de référence pour la mesure de la solution de l'essai à blanc.

**8.3.1.6** Ajouter 2,0 ml d'aniline (5.4), respectivement dans les fioles D et F. Chauffer pendant 30 min sur un bain d'eau bouillante pour développer la coloration.

**8.3.1.7** Refroidir à température ambiante, compléter au trait repère avec le mélange propanol-2/hexane (5.1), mélanger et laisser reposer pendant 1 h.

**8.3.1.8** Mesurer à l'aide du spectromètre (6.2), à la longueur d'onde du maximum d'absorbance (entre 435 et 445 nm), l'absorbance de la solution de l'essai à blanc (fiole F; 8.3.1.7) par rapport à la solution de référence (fiole E; 8.3.1.5) et l'absorbance de la solution d'essai (fiole D; 8.3.1.7) par rapport à la solution de référence (fiole C; 8.3.1.3).

**8.3.1.9** Soustraire l'absorbance de la solution de l'essai à blanc de celle de la solution d'essai pour obtenir l'absorbance corrigée.

#### 8.3.2 Détermination du gossypol total

**8.3.2.1** Introduire la prise d'essai (8.2) dans une fiole jaugée de 50 ml et ajouter 10 ml de solvant B (5.3).

**8.3.2.2** Introduire 10 ml de solvant B (5.3) dans une autre fiole jaugée de 50 ml.

**8.3.2.3** Chauffer les deux fioles (8.3.2.1 et 8.3.2.2) pendant 30 min dans un bain d'eau bouillante.

Refroidir à température ambiante et compléter au trait repère avec le mélange propanol-2/hexane (5.1). Mélanger et laisser reposer pendant 10 à 15 min, puis filtrer et recueillir les filtrats dans des fioles coniques de 50 ml (6.4).

**8.3.2.4** Introduire, à la pipette, 2 ml du filtrat obtenu à partir de la prise d'essai et contenant de 40 à 200 µg de gossypol, respectivement dans deux fioles jaugées de 25 ml, et 2 ml du filtrat de la seconde fiole dans deux autres fioles jaugées de 25 ml.

Amener au trait repère les contenus de l'une des fioles contenant la solution d'essai et de l'une des fioles pour l'essai à blanc, avec le mélange propanol-2/hexane (5.1).

Ces solutions seront utilisées comme solutions de référence.

**8.3.2.5** Ajouter 2,0 ml d'aniline (5.4) à la solution d'essai et à la solution de l'essai à blanc restantes. Chauffer pendant 30 min dans un bain d'eau bouillante pour développer la coloration. Refroidir à température ambiante, compléter au trait repère avec le mélange propanol-2/hexane (5.1), mélanger et laisser reposer pendant 1 h.

**8.3.2.6** Mesurer les absorbances des solutions comme décrit en 8.3.1.8 et calculer l'absorbance corrigée comme décrit en 8.3.1.9.

### 8.4 Nombre de déterminations

Effectuer deux déterminations sur le même échantillon pour essai.

## 9 Expression des résultats

### 9.1 Mode de calcul et formule

La teneur en gossypol libre ou en gossypol total, exprimée en milligrammes par kilogramme du produit tel quel, est égale à

$$\frac{A \times 1\,250 \times 1\,000}{a \times m \times V} = \frac{A \times 1,25}{amV} \times 10^6$$

où

$A$  est l'absorbance corrigée (8.3.1.9 ou 8.3.2.6);

$m$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai (8.2);

$V$  est le volume, en millilitres, de la partie aliquote du filtrat prélevée en 8.3.1.2 ou 8.3.2.4;

$a$  est le coefficient spécifique d'absorbance massique (62,5 cm<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>.l dans le cas du gossypol libre; 60,0 cm<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>.l dans le cas du gossypol total).

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations (voir 8.4) si la condition de répétabilité (voir 9.2) est remplie.

### 9.2 Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations, effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre sur le même échantillon, ne doit pas dépasser

15 % (en valeur relative) de la valeur moyenne pour des teneurs en gossypol inférieures à 500 mg/kg;

75 mg/kg (en valeur absolue) pour des teneurs en gossypol comprises entre 500 et 750 mg/kg;

10 % (en valeur relative) de la valeur moyenne pour des teneurs en gossypol supérieures à 750 mg/kg.

## 10 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et le résultat 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 le résultat.

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

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)

[ISO 6866:1985](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8b099961-3208-4305-9805-fb170c7b6092/iso-6866-1985)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8b099961-3208-4305-9805-fb170c7b6092/iso-6866-1985>

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 6866:1985

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8b099961-3208-4305-9805-fb170c7b6092/iso-6866-1985>

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 6866:1985

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8b099961-3208-4305-9805-fb170c7b6092/iso-6866-1985>

Page blanche

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 6866:1985

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8b099961-3208-4305-9805-fb170c7b6092/iso-6866-1985>