

NORME
INTERNATIONALE

ISO
9167-2

Première édition
1994-10-01

**Graines de colza — Dosage des
glucosinolates —**

Partie 2:

Méthode par spectrométrie de fluorescence
aux rayons X

ISO 9167-2:1994

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/82a151d9-513a-4afd-8f35-830811952e/iso-9167-2-1994>
*Rapeseed — Determination of glucosinolates content —
Part 2: Method using X-ray fluorescence spectrometry*



Numéro de référence
ISO 9167-2:1994(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 9167-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 2, *Graines et fruits oléagineux*.

ISO 9167-2:1994

L'ISO 9167 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Graines de colza — Dosage des glucosinolates*:

- *Partie 1: Méthode par chromatographie liquide à haute performance*
- *Partie 2: — Méthode par spectrométrie de fluorescence aux rayons X*

Les annexes A et B de la présente partie de l'ISO 9167 sont données uniquement à titre d'information.

© ISO 1994

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, 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

Graines de colza — Dosage des glucosinolates —

Partie 2:

Méthode par spectrométrie de fluorescence aux rayons X

1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 9167 prescrit une méthode rapide pour le dosage global des glucosinolates des graines de colza par spectrométrie de fluorescence aux rayons X (XRF).

Elle est applicable aux graines ayant une teneur en protéines comprise entre 19 % et 23 %. Pour des graines ayant des teneurs en protéines situées en dehors de cette gamme, il y aura lieu de tenir compte de la teneur en protéines totales dans le calcul de la teneur en glucosinolates total (voir référence [4]).

NOTES

1 L'ISO 9167-1 prescrit une méthode par chromatographie liquide à haute performance (CLHP), qui permet de doser individuellement chaque glucosinolate.

2 Les résultats obtenus par l'application des méthodes par chromatographie liquide à haute performance (ISO 9167-1) et par spectrométrie de fluorescence aux rayons X peuvent ne pas être aussi bien corrélés si l'analyse porte sur des graines immatures ou stockées dans de mauvaises conditions (par exemple, humides et chaudes). La méthode CLHP sera prise comme méthode de référence.

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 partie de l'ISO 9167. 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 partie de l'ISO 9167 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 664:1990, *Graines oléagineuses — Réduction de l'échantillon pour laboratoire en échantillon pour essai.*

ISO 665:1977, *Graines oléagineuses — Détermination de la teneur en eau et matières volatiles.*

3 Définition

Pour les besoins de la présente partie de l'ISO 9167, la définition suivante s'applique.

3.1 teneur totale en glucosinolates: Teneur totale en soufre moins la fraction liée à des protéines ou à des glucosinolates, dont le dosage est impossible par les méthodes de référence directes, divisée par le nombre stœchiométrique moyen des atomes de soufre présents dans la fraction glucosinolate caractéristique du genre *Brassica*.

4 Principe

Détermination, par spectrométrie de fluorescence aux rayons X, de la teneur totale en soufre des graines broyées et pressées. Calcul de la teneur totale en glucosinolates par comparaison avec les valeurs obtenues pour des échantillons de référence ayant une teneur certifiée en soufre.

5 Matériaux

5.1 Matériaux de référence de graines de colza, trois échantillons ayant chacun une teneur en soufre certifiée.

5.2 Matériaux de référence secondaires de graines de colza, ayant chacun une teneur en soufre connue et en rapport avec les échantillons certifiés de matériaux de référence (5.1).

5.3 Échantillons synthétiques pour l'étalonnage, trois échantillons couvrant la gamme concernée de la teneur en soufre.

NOTE 3 Ces échantillons peuvent être fournis prêts à l'emploi par les constructeurs des spectromètres de fluorescence aux rayons X ou être préparés à partir de matériau pulvérulents ayant une teneur en soufre connue.

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire, et

6.1 Mesurette, permettant de prélever environ 20 g (30 ml de graines).

6.2 Broyeur, de type moulin à café, volume 100 cm³, diamètre 8 cm, puissance 180 W.

6.3 Spatules.

6.4 Coupelles en aluminium ou cuves à liquide, avec fenêtre en feuille de polycarbonate.

6.5 Presse hydraulique ou dispositif manuel, permettant d'appliquer une pression donnée.

6.6 Spectromètre à rayons X, à dispersion élevée (supérieure à 50 eV), avec dispositif sous vide ou atmosphère d'hélium.

6.7 Étuve ventilée, réglable à 85 °C ± 1 °C, ou **four à micro-ondes**, de puissance 650 W, pour le séchage des graines.

7 Échantillonnage

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

L'échantillon ne fait pas partie de la méthode prescrite dans la présente partie de l'ISO 9162. Une méthode

d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 542[1].

8 Préparation des échantillons

8.1 Préparation des échantillons pour essai

8.1.1 Réduire l'échantillon pour laboratoire conformément à la méthode prescrite dans l'ISO 664.

8.1.2 Si les graines ont une humidité supérieure à 10 %, ramener cette dernière entre 7 % et 9 % par séchage, en répartissant 40 g environ (60 ml) de graines en couche mince et en les plaçant, soit à l'étuve ventilée pendant 75 min à 85 °C, soit au four à micro-ondes (6.7) pendant 2 min.

Laisser les graines refroidir à la température ambiante avant de poursuivre le mode opératoire.

8.1.3 Déterminer parallèlement la teneur en eau et en matières volatiles conformément à la méthode prescrite dans l'ISO 665.

8.2 Préparation des échantillons de référence

8.2.1 Préparer les étalons de graines (5.1) selon le mode opératoire décrit en 8.1.2 et 8.1.3. Préparer trois exemples pour chaque échantillon de référence.

8.2.2 Utiliser ces échantillons pour étalonner l'appareil à sa mise en service, ou lors d'un nouvel étalonnage (voir 9.3.2).

8.2.3 Utiliser une nouvelle série d'échantillons de référence de graines de colza (5.1) pour toute nouvelle procédure d'étalonnage.

9 Mode opératoire

9.1 Prise d'essai

9.1.1 Prélever avec une mesurette (6.1), environ 20 g (30 ml) de graines séchées, puis les moule pendant 30 s dans le broyeur (6.2). Avec une spatule (6.3), détacher le broyat adhérent à la paroi du broyeur, puis remettre celui-ci en marche, pendant 1 s au maximum, pour assurer l'homogénéisation.

9.1.2 Verser le broyat homogénéisé dans une coupelle en aluminium ou une cuve à liquide (6.4), en remplissant le récipient à ras bord, ou jusqu'à la limite spécifiée par le fabricant. Une fois remplie, manipuler la coupelle ou la cuve avec précaution pour éviter toute sédimentation des particules.

NOTE 4 La quantité de broyat placée dans les coupelles en aluminium ou les cuves à liquide, dépend uniquement du type de coupelle ou de cuve utilisé et n'influe pas sur les résultats de la détermination. Il convient toutefois, dans un même laboratoire et pour un appareillage donné, d'opérer sur des quantités constantes.

9.2 Tassement des broyats

Dans tous les cas, y compris pour les échantillons de référence (5.1), la pression doit être maintenue constante à $\pm 10\%$.

9.2.1 Cas des coupelles en aluminium

Tasser le broyat obtenu en 9.1.2, avec la presse hydraulique (6.5) sous une pression constante de 1 t/cm^2 .

9.2.2 Cas des cuvettes à liquide

Tasser le broyat obtenu en 9.1.2, en utilisant le dispositif manuel (6.5) exerçant une pression permettant de réduire le volume à 35 % de sa valeur initiale.

9.3 Étalonnage

9.3.1 Vérifier à l'aide des échantillons synthétiques (5.3) que la stabilité du spectromètre correspond aux spécifications du constructeur.

9.3.2 Durant l'utilisation en routine, vérifier l'étalonnage du spectromètre au moins deux fois par jour à l'aide des échantillons de référence secondaires (5.2) préparés selon la méthode donnée en 8.2 et le réétalonner si nécessaire, au moyen des échantillons synthétiques (5.3) en utilisant des valeurs de référence établies pour eux (9.4.2).

NOTE 5 L'étalonnage du spectromètre au moyen de nouveaux étalons de graines (5.1) est recommandé

- tous les 3 à 4 mois durant l'utilisation en routine;
- si l'appareil a été arrêté plus de 4 semaines;
- après toute modification, réparation ou opération de maintenance sur le spectromètre.

9.4 Détermination

9.4.1 Déterminer l'intensité du rayonnement S-K α des trois étalons de graines (5.1) dans les conditions opératoires normales (tension du tube, courant électrique, débit du gaz, intensité du vide, temps de me-

surage, etc.). Réaliser ce mesurage sur les trois sous-échantillons préparés à partir de chaque étalon de graines.

9.4.2 Déterminer l'intensité du rayonnement S-K α des trois échantillons synthétiques (5.3) dans les conditions opératoires prescrites en 9.4.1.

9.4.3 Calculer, pour chacun des échantillons étalons de graines (5.1), la droite de régression liant la teneur en soufre, S_R , de l'échantillon étalon, exprimée en milligrammes par gramme de produit, et l'intensité du rayonnement S-K α mesurée en 9.4.1.

La droite de régression est de la forme

$$S_R = bX_R + a$$

où

X_R est l'intensité du rayonnement S-K α pour l'échantillon étalon;

a et b sont des constantes.

9.4.4 Calculer la teneur en soufre, S_C , des échantillons synthétiques (5.3) d'après la droite de régression

$$S_C = bX_C + a$$

où X_C est l'intensité du rayonnement S-K α pour l'échantillon étalon.

9.4.5 Déterminer l'intensité du rayonnement S-K α de chaque échantillon à analyser (8.1) dans les conditions opératoires prescrites.

Calculer la teneur en soufre, S_T , de chaque échantillon à analyser d'après la droite de régression

$$S_T = bX_T + a$$

où X_T est l'intensité du rayonnement S-K α pour l'échantillon à analyser.

10 Expression des résultats

10.1 La teneur totale en glucosinolates, A, dans les échantillons à doser, exprimée en micromoles par gramme de graines séchées (conformément à 8.1.2), est calculée à l'aide des formules suivantes:

a) pour des concentrations en soufre total inférieures à 4,93 mg/g

$$A = + 2,53S_T + 0,768S_T^2 - 5,596$$

- b) pour des concentrations en soufre total supérieures ou égales à 4,93 mg/g

$$A = 13,724S_T - 42,10$$

10.2 Exprimer le résultat en tant que moyenne arithmétique de deux déterminations effectuées sur des sous-échantillons séparés, et exprimée avec une décimale.

NOTE 6 Dans les contrats où l'expression des résultats est demandée à un taux d'humidité déterminé (généralement 9 %), corriger le résultat obtenu ci-dessus en tenant compte de l'humidité mesurée en 8.1.3.

11 Fidélité

Un essai interlaboratoire organisé en 1990 sur le plan international avec la participation de 27 laboratoires, a donné les résultats statistiques déterminés selon l'ISO 5725[2] figurant en annexe A.

11.1 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai indépendants, obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans le même laboratoire par le même opérateur utilisant le même appareillage dans un court intervalle de temps, ne doit pas être supérieure à

10 % de la moyenne arithmétique des deux résultats, avec un minimum de 1 µmol/g pour des teneurs en glucosinolates inférieures à 20 µmol/g;

5 % de la moyenne arithmétique des deux résultats, avec un minimum de 1 µmol/g pour des teneurs en glucosinolates supérieures à 20 µmol/g.

11.2 Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels obtenus à l'aide de la même méthode sur un matériau identique soumis à l'essai dans des laboratoires différents par des opérateurs différents utilisant des appareillages différents, ne doit pas être supérieure à

20 % avec un minimum de 2 µmol/g pour des teneurs en glucosinolates inférieures à 20 µmol/g;

25 % avec un minimum de 5 µmol/g pour des teneurs en glucosinolates supérieures à 20 µmol/g.

12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit indiquer

- la méthode utilisée,
- les résultats obtenus, 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 partie de l'ISO 9167, 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.

Annexe A (informative)

Résultats statistiques d'un essai interlaboratoire sur les graines de colza

Échantillon	Colza A	Colza B	Colza C
Nombre de laboratoires retenus après élimination des aberrants	21	20	21
Moyenne de la teneur en glucosinolates, $\mu\text{mol/g}$ de matière sèche	16,0	32,4	11,8
Écart-type de répétabilité, s_r	0,4	0,6	0,3
Coefficient de variation de répétabilité, %	2,8	1,9	2,6
Répétabilité, $2,83s_r$	1,3	1,8	0,9
Écart-type de reproductibilité, s_R	1,2	1,8	0,7
Coefficient de variation de reproductibilité, %	7,4	5,6	5,8
Reproductibilité, $2,83s_R$	3,4	5,2	2,0

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 9167-2:1994

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/82a151d9-513a-4afd-8f35-8308f1f95f2e/iso-9167-2-1994>

Annexe B (informative)

Bibliographie

- [1] ISO 542:1990, *Graines oléagineuses — Échantillonnage.*
- [2] ISO 5725:1986, *Fidélité des méthodes d'essai — Détermination de la répétabilité et de la reproductibilité d'une méthode d'essai normalisée par essais interlaboratoires.*
- [3] ISO 9167-1:1992, *Graines de colza — Dosage des glucosinolates — Partie 1: Méthode par chromatographie liquide à haute performance.*
- [4] SCHNUG *et al.*, *Fat Sci. Technol.*, 1991.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 9167-2:1994](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/82a151d9-513a-4afd-8f35-8308ff95f2e/iso-9167-2-1994)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/82a151d9-513a-4afd-8f35-8308ff95f2e/iso-9167-2-1994>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 9167-2:1994](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/82a151d9-513a-4afd-8f35-8308ff95f2e/iso-9167-2-1994>