

---

---

**Graines de colza — Détermination de la  
teneur en chlorophylle — Méthode  
spectrométrique**

*Rapeseed — Determination of chlorophyll content — Spectrometric method*

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

[ISO 10519:1997](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8169ec3b-cffa-495d-b906-1377ca5e8d91/iso-10519-1997>

## 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 10519 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, sous-comité SC 2, *Graines et fruits oléagineux*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 10519:1992), dont elle constitue une révision technique.

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

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

ISO 10519:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8169ec3b-cffa-495d-b906-1377ca5e8d91/iso-10519-1997>

© ISO 1997

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  
Internet central@iso.ch  
X.400 c=ch; a=400net; p=iso; o=isocs; s=central

Imprimé en Suisse

# Graines de colza – Détermination de la teneur en chlorophylle – Méthode spectrométrique

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit une méthode spectrométrique pour la détermination de la teneur en chlorophylle des graines de colza. Elle n'est pas applicable à la détermination de la chlorophylle dans les huiles.

## 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 648:1977, *Verrerie de laboratoire — Pipettes à un trait*.  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8169ec3b-cffa-495d-b906-1177c5e84917/iso-10519-1997>

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 Norme internationale, la définition suivante s'applique.

### 3.1 teneur en chlorophylle

fraction en masse des substances dans l'échantillon participant à l'absorption dans la bande voisine de 665 nm, déterminée dans les conditions opératoires prescrites dans la présente Norme internationale, et mesurée comme chlorophylle A

NOTE — La teneur en chlorophylle est exprimée en milligrammes par kilogramme.

## 4 Principe

Extraction d'une prise d'essai dans un appareil approprié, avec un solvant d'extraction spécifié. Détermination spectrométrique de la teneur en chlorophylle de la solution extraite.

## 5 Réactif

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

## 5.1 Solvant d'extraction

Dans un bécher de 500 ml, introduire 100 ml d'éthanol anhydre. Ajouter au contenu du bécher, 300 ml d'isooctane anhydre (triméthyl-2,2,5 pentane) ou de *n*-heptane technique anhydre ou d'éther de pétrole anhydre (composé essentiellement d'hydrocarbures en C<sub>7</sub>, ayant un intervalle d'ébullition compris entre 90 °C et 100 °C).

## 6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

**6.1 Balance analytique**, précise à 0,001 g près.

**6.2 Moulin mécanique**, du type moulin à couteaux ou moulin à café ou équivalent.

**6.3 Microbroyeur mécanique** (voir la figure 1), composé de tubes en acier inoxydable ayant un volume de 50 ml environ et pouvant être bouchés solidement, de billes pour roulements en acier inoxydable (Ø 16 mm) et d'un système permettant d'agiter horizontalement les tubes soigneusement bouchés à une fréquence de 240 min<sup>-1</sup>, avec un déplacement latéral de 3,5 cm, ou **broyeur à billes de Dangoumau**<sup>1)</sup>.

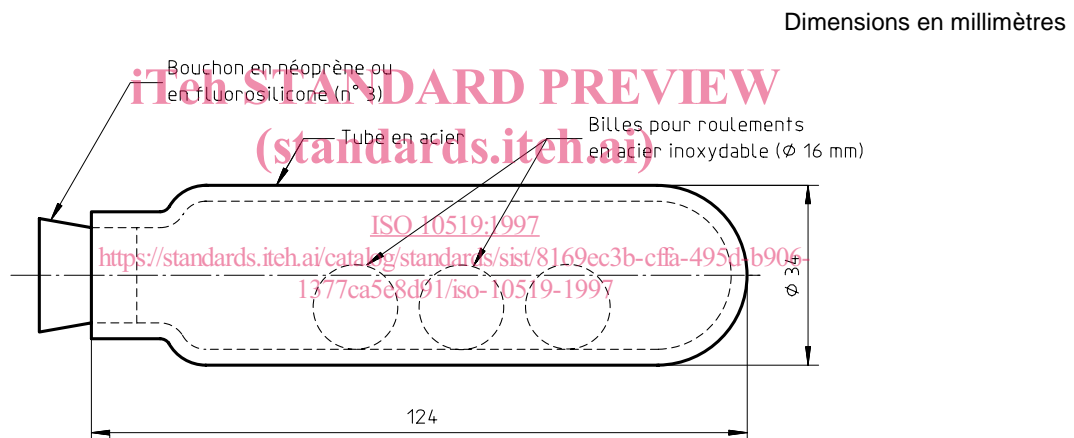


Figure 1 — Microbroyeur mécanique

**6.4 Papier filtre**, vitesse moyenne, plié en V.

**6.5 Spectromètre** (de préférence avec défilement de longueurs d'onde), permettant d'effectuer les mesurages d'absorbance à des longueurs d'ondes comprises entre 600 nm et 700 nm, avec une largeur de bande spectrale de 2 nm.

**6.6 Cuves**, ayant un parcours optique d'au moins 1 cm.

**6.7 Pipettes**, de 30 ml de capacité, conformes aux exigences de l'ISO 648, classe A, ou **dispositif automatique** permettant de délivrer des quantités de 30 ml avec une erreur inférieure à 1 %.

**6.8 Tubes à essais**, de 20 ml de capacité, munis de bouchons à vis.

<sup>1)</sup> Le broyeur à billes de Dangoumau est un exemple d'appareil approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme internationale et ne signifie nullement que l'ISO approuve ou recommande l'emploi exclusif de l'appareil ainsi désigné.

## 7 Échantillonnage

L'échantillonnage ne fait pas partie de la méthode prescrite dans la présente Norme internationale. Une méthode d'échantillonnage recommandée est donnée dans l'ISO 542.

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

## 8 Préparation de l'échantillon pour essai

Préparer un échantillon pour essai conformément à l'ISO 664, à partir de l'échantillon pour laboratoire tel qu'il est reçu ou après séparation des impuretés.

Sécher les graines ayant une teneur en eau supérieure à 10 % (*m/m*) pendant 12 h à 45 °C afin de réduire la teneur en eau à 10 % (*m/m*), ou moins pour diminuer le risque de décomposition des pigments de chlorophylle.

Transférer 50 g de l'échantillon pour essai dans le moulin mécanique (6.2) et moule les graines jusqu'à obtention d'une poudre homogène. Si l'on utilise un moulin de petites dimensions, comme par exemple un moulin à café, moule plusieurs portions de 10 g, puis les combiner et les mélanger soigneusement.

# iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

## 9 Mode opératoire

[ISO 10519:1997](#)

### 9.1 Prises d'essai

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8169ec3b-cffa-495d-b906-1377ca5e8d91/iso-10519-1997>

Peser, à 0,001 g près, 2 g de l'échantillon pour essai (article 8) dans un tube en acier inoxydable ou dans le réceptacle du broyeur à billes de Dangoumau (6.3).

### 9.2 Extraction

**9.2.1** Ajouter, à la pipette (6.7), 30 ml du solvant d'extraction (5.1) dans le tube ou le réceptacle. Si l'on utilise un tube, y introduire trois billes en acier inoxydable et agiter pendant 1 h. Pour le broyeur à billes de Dangoumau, introduire au moins quatre billes en acier de taille moyenne dans le réceptacle et procéder à l'extraction pendant 20 min.

**9.2.2** Laisser reposer l'extrait pendant 10 min, puis décanter au travers du papier filtre (6.4) dans un tube à essais (6.8) un volume suffisant du filtrat pour remplir la cuve du spectromètre (6.6). Boucher le tube aussitôt que possible afin de réduire l'évaporation au minimum.

NOTE — La présence de plus d'une phase dans le solvant d'extraction indique une teneur en eau excessive, soit dans l'échantillon [il convient que sa teneur en eau soit inférieure à 10 % (*m/m*)], soit dans les solvants (il convient qu'ils soient anhydres).

### 9.3 Détermination

Verser le filtrat dans une cuve (6.6) et déterminer l'absorbance avec le spectromètre (6.5) aux longueurs d'onde de 665 nm, 705 nm et 625 nm. (Les lectures effectuées à 705 nm et à 625 nm servent à évaluer le bruit de fond.)

## 10 Expression des résultats

La teneur en chlorophylle,  $w$ , en milligrammes par kilogramme de produit tel quel, est obtenue par l'équation

$$w = \frac{k \times A_{\text{corr}} \times V}{m \times l}$$

où

- $A_{\text{corr}}$  (l'absorbance corrigée) est égale à  $A_{665} - (A_{705} + A_{625}) / 2$ ;
- $A_{665}$  est l'absorbance à 665 nm;
- $A_{705}$  est l'absorbance à 705 nm;
- $A_{625}$  est l'absorbance à 625 nm;
- $k$  est une constante qui est égale à 13;
- $l$  est le parcours optique, en centimètres, de la cuve;
- $m$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai;
- $V$  est le volume, en millilitres, du solvant ajouté dans le tube (9.2.1).

Si l'on désire rapporter la teneur en chlorophylle au produit sec, tenir compte, dans le calcul, de la teneur en eau de l'échantillon, déterminée conformément à l'ISO 665.

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

### 11 Fidélité

Les détails de l'essai interlaboratoire relatif à la fidélité de la méthode sont résumés dans l'annexe A. Les valeurs provenant de cet essai interlaboratoire ne peuvent être appliquées aux plages de concentrations et aux matrices autres que celles données.

#### 11.1 Répétabilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels 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 et dans un court intervalle de temps, ne doit pas être supérieure à 10 % de la moyenne arithmétique des deux résultats.

#### 11.2 Reproductibilité

La différence absolue entre deux résultats d'essai individuels indépendants, 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 % de la moyenne arithmétique des deux résultats.

## 12 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 le (les) résultat(s) d'essai.

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

## Annexe A (informative)

### Résultats de l'essai interlaboratoire

Un essai interlaboratoire a été effectué par 16 laboratoires conformément à l'ISO 5725<sup>2)</sup>. Les valeurs de répétabilité et de reproductibilité figurant dans le tableau A.1 ont été obtenues.

**Tableau A.1 — Résultats statistiques de l'essai interlaboratoire**

Paramètre	Échantillon <sup>1)</sup>									
	A	B	C	D	E	F	H	I	J	Moyenne
Nombre de laboratoires participants	16	16	16	16	16	16	16	16	16	
Nombre de laboratoires aberrants <sup>2)</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1	4	
Valeur moyenne (mg/kg)	25,8	31,0	40,4	49,8	75,7	82,9	10,5	20,4	31,2	
Écart-type de répétabilité $s_r$ , mg/kg	1,13	1,47	1,45	1,75	2,74	2,99	0,49	0,68	0,99	
Écart-type de reproductibilité $s_R$ , mg/kg	1,93	2,15	3,02	3,44	4,9	5,68	1,02	1,63	2,19	
Coefficient de variation de répétabilité, %	4,39	4,76	3,59	3,52	3,62	3,61	4,66	3,35	3,16	3,85
Coefficient de variation de reproductibilité, %	7,47	6,94	7,49	6,91	6,47	6,85	9,79	8,00	7,04	7,44
Limite de répétabilité $r$ , mg/kg	3,17	4,13	4,06	4,90	7,68	8,38	1,38	1,93	2,79	
Limite de reproductibilité $R$ , mg/kg	5,39	6,03	8,47	9,63	13,71	15,90	2,89	4,61	6,21	
Répétabilité $r$ , %	12,3	13,3	10,1	9,9	10,1	10,1	13,1	9,5	8,9	10,81
Reproductibilité $R$ , %	20,9	19,4	21	19,3	18,1	19,2	27,5	22,5	19,9	20,88
<p>Les échantillons A à E correspondent à l'essai de 1992, les échantillons F à H correspondent à l'essai de 1990.</p> <p>A: 25 mg/kg chlorophylle                      D: 50 mg/kg chlorophylle                      H: 10 mg/kg chlorophylle            B: 30 mg/kg chlorophylle                      E: 75 mg/kg chlorophylle                      I: 20 mg/kg chlorophylle            C: 40 mg/kg chlorophylle                      F: 80 mg/kg chlorophylle                      J: 30 mg/kg chlorophylle</p> <p>2) Pour chaque essai, un laboratoire a été éliminé à cause d'une utilisation incorrecte de la méthode. Pour l'échantillon J, trois autres laboratoires ont été éliminés à cause d'une différence supérieure à 3 mg/kg entre les deux valeurs.</p>										

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* (annulée à l'heure actuelle), a été utilisée pour évaluer les données de fidélité.

**Annexe B**  
(informative)

**Bibliographie**

[1] ISO 542:1990, *Graines oléagineuses — Échantillonnage*.

[2] ISO 5725-1:1994, *Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure — Partie 1: Principes généraux et définitions*.

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

[ISO 10519:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8169ec3b-cffa-495d-b906-1377ca5e8d91/iso-10519-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8169ec3b-cffa-495d-b906-1377ca5e8d91/iso-10519-1997>



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

ISO 10519:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8169ec3b-cffa-495d-b906-1377ca5e8d91/iso-10519-1997>