
**Aliments des animaux — Détermination
du contenu en fibre par traitement à
l'amylase et au détergent neutre (aNDF)**

*Animal feeding stuffs — Determination of amylase-treated neutral
detergent fibre content (aNDF)*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 16472:2006](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e57e152-81d3-4837-b84b-b1fb28fdb00e/iso-16472-2006>



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 16472:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e57e152-81d3-4837-b84b-b1fb28fdb00e/iso-16472-2006>

© ISO 2006

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	1
5 Réactifs	2
6 Appareillage	2
7 Échantillonnage	3
8 Préparation de l'échantillon pour essai	4
9 Mode opératoire	4
9.1 Mode opératoire relatif à la méthode courante décrite dans la Référence [1]	4
9.2 Détermination avec un appareillage de type Fibertec	6
9.3 Modification applicables pour certains types d'échantillons	7
9.4 Assurance qualité	8
10 Calculs et expression des résultats	9
10.1 Calculs	9
10.2 Expression des résultats	10
11 Fidélité	10
11.1 Essai interlaboratoires	10
11.2 Répétabilité	10
11.3 Reproductibilité	11
12 Rapport d'essai	11
Annexe A (informative) Résultats d'essai interlaboratoires	12
Annexe B (informative) Étalonnage de la solution de travail d'alpha-amylase thermostable	15
Bibliographie	17

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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 16472 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 10, *Aliments des animaux*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 16472:2006
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e57e152-81d3-4837-b84b-b1fb28fdb00e/iso-16472-2006>

Aliments des animaux — Détermination du contenu en fibre par traitement à l'amylase et au détergent neutre (aNDF)

AVERTISSEMENT — L'utilisation de la présente Norme internationale peut impliquer l'utilisation de substances, de manipulations ou d'appareils dangereux. La présente Norme internationale n'a pas pour objectif de traiter tous les risques associés à la sécurité de son utilisation. L'utilisateur du présent document est responsable de définir les consignes de sécurité à observer et de déterminer les réglementations à appliquer avant toute utilisation.

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode de détermination du contenu en fibres résiduelles, insolubles, traitées à l'amylase et au détergent neutre, dans tous les types d'aliments pour animaux.

Elle inclut une méthode par gravimétrie courante et une méthode de référence.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

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

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

3.1

contenu en fibres traitées à l'amylase et au détergent neutre **contenu en aNDF**

fraction massique de fractions fibreuses insolubles, déterminée selon le mode opératoire décrit dans la présente Norme internationale

NOTE Le contenu en aNDF est exprimé en pourcentage en masse.

4 Principe

Une solution de détergent neutre (ND) et une alpha-amylase thermostable sont utilisées pour dissoudre les pectines, les amidons, les sucres, les lipides et les protéines faciles à digérer dans les aliments, laissant une fibre résiduelle insoluble; il s'agit principalement de composants de la paroi cellulaire des végétaux (cellulose, hémicellulose et lignine) d'une part et, d'autre part, de matière azotée indigeste dans les produits pour animaux.

5 Réactifs

Sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue ainsi que de l'eau distillée ou déminéralisée, ou bien de pureté équivalente.

5.1 Sulfite de sodium, anhydre (Na_2SO_3).

5.2 Semoule de maïs sec (graux de maïs, maïs cru), réduit en poudre dans un broyeur à dents pour passer au travers d'un tamis de 1 mm d'ouverture de maille.

5.3 Solution d'iode, contenant 2 g d'iodure de potassium et 1 g d'iode dans 100 ml d'eau.

Conserver dans un flacon ambré ou opaque.

5.4 Alpha-amylase thermostable, en solution ou en extrait aqueux de poudre d'enzyme lyophilisée (environ 1 g d'extrait de poudre pour 100 ml d'eau).

EXEMPLE Enzymes Termamyl 120 I de Novo ou équivalent.

Étalonner la solution d'alpha-amylase thermostable ou l'extrait de poudre d'enzyme de sorte que deux ajouts de 2 ml éliminent l'amidon contenu dans 0,5 g d'amidon de maïs cru (5.2). Pour plus d'informations sur le mode opératoire relatif à l'étalonnage d'une solution d'alpha-amylase thermostable, voir l'Annexe B.

5.5 Solution de détergent neutre (ND)

Verser entre 400 ml et 500 ml d'eau dans une fiole de 1 l. Ajouter 4,0 g d'hydroxyde de sodium (NaOH), 14,6 g d'EDTA, 4,56 g d'hydrogénophosphate de sodium (Na_2HPO_4) et 6,81 g de borate de sodium décahydraté ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$), puis mélanger jusqu'à dissolution (chauffer si nécessaire). L'hydroxyde de sodium et l'EDTA peuvent être remplacés par 18,6 g d'EDTA disodique.

Sous une hotte, ajouter 30 g de lauryl sulfate de sodium, puis, après dissolution, ajouter 10 ml de triéthylène glycol (agent antimousse). Ajouter de l'eau jusqu'à 950 ml environ puis mélanger. Ajuster le pH entre 6,95 et 7,05 à l'aide d'acide chlorhydrique (HCl) concentré ou d'hydroxyde de sodium (NaOH), puis diluer avec de l'eau jusqu'à 1 000 ml. Si le pH s'écarte de ces valeurs de plus de 0,5, mettre la solution au rebut.

Conserver la solution de ND à température ambiante. En cas de précipitation, chauffer à 25 °C puis mélanger avant usage. Noter dans un journal des réactifs la date à laquelle la solution de ND a été préparée, ainsi que les mesurages de pH et les ajustements effectués.

6 Appareillage

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

6.1 Balance analytique, d'une précision de l'ordre de 0,1 mg pour le pesage et la lecture.

6.2 Broyeur cyclonique muni d'un tamis de 2 mm d'ouverture de maille, ou **broyeur à dents** muni d'un tamis de 1 mm d'ouverture de maille, pour broyer les échantillons jusqu'à l'obtention de particules géométriques dont la taille moyenne est comprise entre 200 µm et 260 µm.

6.3 Appareillage de reflux, muni de dispositifs de chauffage individuels et de réfrigérants d'eau froide conçus pour des béchers de 600 ml.

Tout appareillage conventionnel adapté à la détermination de fibres brutes peut être accepté. Étalonner les réglages des dispositifs de chauffage de sorte que 50 ml d'eau soient portés à ébullition en 4 min à 5 min lors de l'utilisation des réfrigérants d'eau froide. Il est possible d'utiliser un appareillage de type Fibertec pouvant bouillir 50 ml d'eau en 10 min.

6.4 Creusets de Gooch munis d'un disque en verre fritté, creusets de porosité grossière (de 40 µm à 60 µm), forme haute, de 40 ml à 50 ml de capacité ou de type P2 (porosité de 40 µm à 100 µm) de 26 ml à 28 ml de capacité.

Nettoyer les nouveaux creusets et incinérer à 500 °C pendant 1 h. Pour nettoyer les creusets après chaque utilisation, incinérer à 500 °C pendant 3 h, retirer les cendres, plonger dans une solution détergente, puis traiter aux ultrasons pendant 7 min à 10 min. Rincer les creusets dans l'eau chaude et immerger dans de l'eau à température ambiante pendant au moins 30 min. Fermer chaque creuset avec un bouchon en caoutchouc muni d'un port raccordé à un piège et à une pompe à vide. Rétrobalayer chaque creuset avec de l'eau en plongeant et en retirant de manière répétée la partie inférieure du creuset dans l'eau. Cette technique permet d'intensifier le rinçage.

Occasionnellement, vérifier le taux de filtration de la manière suivante. Remplir chaque creuset avec 50 ml d'eau distillée (25 ml pour les creusets Fibertec de type P2) et relever le temps nécessaire pour évacuer l'eau entièrement, sans système de vide (normalement 180 s ± 60 s pour les creusets de Gooch et 75 s ± 30 s pour ceux de type P2). Si le temps d'évacuation est < 100 s (ou < 35 s pour les creusets de type P2), mettre le creuset au rebut. S'il est < 120 s (ou < 45 s pour les creusets de type P2), vérifier la présence éventuelle de fissures dans le verre fritté. Si le temps de filtration est > 240 s (ou > 105 s pour les creusets de type P2), nettoyer le creuset avec une solution de nettoyage acide ou alcaline. Si le nettoyage n'améliore pas le taux de filtration, mettre le creuset au rebut.

Les creusets de type P2 peuvent également être remplacés par des creusets métalliques en acier inoxydable, munis d'un tamis métallique en acier inoxydable de 90 µm de taille d'ouverture de maille.

6.5 Collecteur filtrant à vide (de type Fibertec, par exemple), permettant le trempage approprié des résidus fibreux.

Il convient d'utiliser un collecteur étanche au vide pour fermer le creuset afin de réduire la formation de mousse dans les lignes sous vide. Utiliser un tuyau à vide à parois épaisses pour raccorder le collecteur à un piège (entre 4 l et 18 l) et à une pompe à vide. Il est recommandé d'utiliser un réservoir de vide (18 l) entre le piège et la pompe à vide, afin de s'assurer que la capacité de mise sous vide est suffisante pour éliminer la mousse.

6.6 Alimentation en eau bouillante

Utiliser un générateur d'eau bouillante en continu, tel que décrit sans la Référence [1], ou tout autre appareil adapté. L'appareil doit être capable de fournir de l'eau bouillante (> 95 °C) en quantité suffisante pour que tous les échantillons puissent être nettoyés en même temps, grâce à une buse produisant une vapeur fine (débit de 35 ml à 40 ml par 10 s; une pointe de pipette en plastique jetable de 2,5 ml est une buse acceptable). Une buse fine permet de réduire la quantité d'eau nécessaire pour transférer les particules dans le creuset, tout en exerçant une pression hydraulique suffisante pour l'élimination des résidus accrochés aux parois du flacon. Il est primordial que l'eau soit portée à ébullition au moment de la verser dans les creusets, notamment pour les échantillons qui contiennent des amidons, des substances pectiques, des mucilages ou encore des glycoprotéines. Pour les appareils de type Fibertec, utiliser une seringue munie d'une buse de pulvérisation à jet conique pour rincer les réfrigérants, ainsi qu'une seringue jetable de 60 ml munie d'une aiguille de calibre 12 et d'une longueur de 10 cm pour détacher les résidus adhérant aux réfrigérants.

7 Échantillonnage

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 6497.

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 les échantillons conformément à l'ISO 6498.

Pour conserver les échantillons et les broyer sans difficulté, il convient de les sécher à l'air (environ 90 % de matière sèche).

Sécher les échantillons humides à < 60 °C pour prévenir la création d'artéfact de fibre. La taille des particules de l'échantillon a une influence sur la quantité de matériaux résiduels après extraction. Broyer les échantillons représentatifs jusqu'à l'obtention de particules géométriques dont la taille moyenne est comprise entre 220 μm et 260 μm (voir 6.2).

Le broyage permet de subdiviser l'échantillon, la fraction la plus riche en fibres constituant la dernière fraction passant au tamis. Ne pas mettre au rebut les matériaux dans le broyeur, mais les ajouter aux matériaux déjà présents dans le réceptacle du broyeur. Mélanger l'échantillon broyé en le plaçant sur une feuille de papier carrée (environ 40 cm \times 40 cm) avec des pliures le long des deux diagonales. Relever les coins opposés de la feuille pour faire glisser l'échantillon vers la pliure centrale. Aplatir la feuille de nouveau, la tourner de 90° et relever les deux autres coins. Répéter l'opération 11 fois. Transférer l'échantillon dans un récipient adapté.

NOTE Les échantillons humides peuvent également être analysés pour déterminer leur contenu en aNDF. Cependant, cette méthode n'est pas courante, car il est difficile de broyer les échantillons à une taille de particule équivalente à celle donnée plus haut.

9 Mode opératoire

iTeh STANDARD PREVIEW

9.1 Mode opératoire relatif à la méthode courante décrite dans la Référence [1]

9.1.1 Prise d'essai

Sécher les creusets vides à $105 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ pendant 4 h et les peser. Enregistrer à 0,000 1 g près la masse des creusets vides pour les échantillons (m_c) ou les blancs (m_b).

Mélanger le matériau avec soin et peser $1 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ d'aliments séchés à l'air, ou bien une quantité équivalente d'échantillon pour essai humide (m_s) dans un creuset ou un bécher à reflux, en fonction du dégraissage préalable.

Les échantillons hétérogènes nécessitant un broyage doivent être séchés (voir Article 8). Seuls les échantillons humides dont l'homogénéisation est facile peuvent être pesés directement.

Si les résultats sont consignés sur la base de la matière sèche, peser un deuxième échantillon en même temps afin de déterminer la teneur en matière sèche.

Inclure, dans les 20 à 30 premiers échantillons consécutifs, un échantillon de référence interne ainsi que deux blancs, puis ajouter chaque fois un échantillon de référence et un blanc pour les 20 à 30 échantillons suivants.

9.1.2 Dégraissage préalable

Il convient de préextraire les échantillons dont la teneur en matières grasses est $> 5 \%$ ainsi que ceux dont la teneur est $> 10 \%$ afin d'éliminer les matières grasses.

Pour préextraire avec de l'acétone, placer la prise d'essai dans un creuset et peser. Ensuite, placer la prise d'essai dans le collecteur filtrant, extraire quatre fois avec 40 ml à 50 ml d'acétone (laisser tremper le matériau pendant au moins 5 min et agiter trois fois lors de chaque trempage). Retirer les traces d'acétone à l'aide de la pompe à vide, sécher à l'air pendant 10 min à 15 min pour s'assurer que toutes les traces d'acétone ont été enlevées et enfin transférer dans le bécher à reflux. Après extraction du ND, utiliser le même creuset afin de récupérer les fibres résiduelles pour l'échantillon pour essai.

En cas d'utilisation d'un agent filtrant, ce dernier doit être séché et pesé avec le creuset, puis transféré dans un autre récipient avant de peser l'échantillon pour essai dans le creuset et de l'extraire avec de l'acétone. Après l'extraction du ND, remettre l'agent filtrant dans le creuset avant la filtration des fibres résiduelles.

9.1.3 Minéralisation

Ajouter $0,5 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ de sulfite de sodium (5.1) à l'aide d'une écope étalonnée ainsi que $50 \text{ ml} \pm 5 \text{ ml}$ de solution de ND (5.5) dans chaque bécher à reflux, puis agiter (cela est primordial pour les aliments riches en amidons qui collent au fond du bécher lors du reflux). Ne pas ajouter de ND ni de sulfite de sodium dans les échantillons dans les 60 min précédant le reflux.

Porter à ébullition pendant 4 min à 5 min, puis ajouter 2 ml de solution d'amylase normalisée (5.4), remettre en suspension les particules accrochées dans le fond ou sur les parois et enfin agiter.

Procéder au reflux pendant 60 min à température d'ébullition afin de provoquer un mouvement intensif des particules, mais sans moussage excessif pour éviter que les particules débordent du bécher. Les échantillons peuvent mousser pendant 1 min à 2 min (ne pas baisser la température du dispositif de chauffage). Après avoir ajouté l'amylase, rincer pendant 5 min à 10 min les parois du bécher avec une petite quantité de solution de ND, à l'aide d'un flacon muni d'une buse fine, puis rincer pendant le temps nécessaire pour remettre en suspension les particules sur les parois du bécher (deux fois tout au plus).

9.1.4 Filtration

Retirer l'échantillon extrait du dispositif de chauffage et laisser les particules se déposer pendant 30 s à 60 s. Avant le transfert, observer le mélange afin de déterminer la présence de globules de lipides à la surface ou de vérifier si la solution a un aspect laiteux. Ces caractéristiques signifient que le matériau a une teneur élevée en matières grasses et qu'il convient de procéder à une nouvelle analyse après préextraction par l'acétone (9.1.2).

Placer un agitateur en Téflon dans le creuset, puis préchauffer en ajoutant 40 ml d'eau bouillante pendant 30 s à 60 s. Remplacer l'eau par du vide puis, dans le bécher, décanter immédiatement la couche supérieure de la solution, entre 30 ml et 40 ml, en maintenant le bécher incliné au-dessus du creuset. Utiliser seulement la quantité de vide nécessaire pour évacuer l'excès de liquide et arrêter la mise sous vide avant que les résidus s'assèchent.

NOTE L'apport excessif de vide et l'assèchement pendant l'évacuation entraînent l'obstruction du creuset par certains échantillons, ce qui rend le nettoyage difficile.

Rincer toutes les particules détachées du creuset sous un filet d'eau bouillante. Remplir la moitié du creuset avec de l'eau chaude. Ajouter 2 ml de solution d'amylase de travail (5.4) puis agiter.

Laisser réagir avec l'amylase pendant au moins 45 s à 60 s tout en grattant les particules accrochées dans le fond et sur les parois du bécher à reflux, à l'aide d'un bout en caoutchouc. Évacuer la solution d'amylase et transférer tout résidu encore présent dans le bécher à reflux vers un creuset contenant entre 20 ml et 30 ml d'eau bouillante. En général, deux rinçages suffisent. Après le transfert des résidus du bécher, remplir les trois quarts du creuset avec de l'eau bouillante, puis laisser tremper pendant 3 min.

Évacuer l'eau, ajouter 40 ml à 50 ml d'eau bouillante, laisser tremper 3 min à 5 min puis recommencer. Si les résidus sont difficiles à filtrer après le premier trempage, ajouter encore 2 ml de solution d'amylase de travail. Si les résidus ont un aspect translucide et deviennent plus difficiles à filtrer après chaque trempage supplémentaire, éliminer le troisième trempage. S'il est raccordé, le creuset peut être rétrobalayé. Pour ce faire, il suffit de le retirer du collecteur filtrant puis de le réinsérer.

Évacuer l'eau, remplir de nouveau le creuset avec 40 ml à 50 ml d'acétone, agiter pour disperser les particules, laisser tremper 3 min à 5 min puis recommencer. Rincer l'agitateur pour retirer les particules fibreuses accrochées. Avant d'ajouter l'acétone, ne pas évacuer entièrement l'eau des fibres résiduelles avec du vide. Un séchage excessif entraîne l'agglutination des résidus ainsi qu'une dispersion difficile des particules dans l'acétone, gênant ainsi l'extraction à l'acétone.

Appliquer le vide pour sécher l'échantillon, retirer le creuset du collecteur et sécher à l'air pendant 10 min à 60 min pour éliminer l'acétone.

9.1.5 Séchage

Sécher les creusets à $105\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant au moins 8 h, laisser refroidir dans un dessiccateur, puis peser à 0,000 1 g près (m_{ce} et m_{be}).

9.1.6 Incinération

Enflammer le creuset ainsi que les résidus dans un fourneau à $500\text{ °C} \pm 20\text{ °C}$, pendant 5 h ou bien jusqu'à l'élimination du carbone. Laisser refroidir dans le dessiccateur, puis peser à 0,000 1 g près (m_{ca} et m_{ba}).

9.2 Détermination avec un appareillage de type Fibertec

9.2.1 Prise d'essai

Ajouter l'agent filtrant dans le creuset de type P2, sécher à $105\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant 2 h à 4 h, puis peser à 0,000 1 g près (m_c ou m_b). Mélanger le matériau avec soin et peser $0,5\text{ g} \pm 0,050\text{ 0 g}$ d'aliments séchés à l'air, ou bien une quantité équivalente d'échantillon pour essai humide (m_s) dans un creuset.

Si les résultats sont consignés sur la base de la matière sèche, peser un deuxième échantillon en même temps afin de déterminer la matière sèche.

Inclure, dans les 20 à 30 premiers échantillons consécutifs, un échantillon de référence interne ainsi que deux blancs, puis ajouter chaque fois un échantillon de référence et un blanc pour les 20 à 30 échantillons suivants.

9.2.2 Dégraissage préalable

En général, il convient de pré-extraire les échantillons dont la teneur en matières grasses est inconnue ainsi que ceux dont la teneur est $> 10\%$ afin d'éliminer les matières grasses.

Placer le creuset sur l'appareil pour extraction à froid et extraire quatre fois en ajoutant de 40 ml à 50 ml d'acétone (laisser tremper le matériau au moins 5 min et agiter trois fois lors de chaque trempage). Appliquer le vide pour éliminer toute trace d'acétone, sécher à l'air pendant 10 min à 15 min et, enfin, vérifier que toute trace d'acétone a bien été éliminée.

9.2.3 Minéralisation

Démarrer l'appareillage de type Fibertec en suivant la notice d'utilisation.

Ajouter $0,5\text{ g} \pm 0,1\text{ g}$ de sulfite de sodium et $50\text{ ml} \pm 5\text{ ml}$ de solution de ND (5.5) dans chaque creuset, puis mélanger en exerçant une contre-pression (primordial pour les aliments riches en amidons qui restent au fond du creuset lors du reflux). Ne pas ajouter de ND ni de sulfite de sodium dans les échantillons dans les 60 min précédant le reflux. Ajouter 2 ml de solution d'amylase normalisée (5.4), puis porter à ébullition pendant 10 min. Exerger une contre-pression pour mélanger l'amylase avec la solution de ND et l'échantillon.

Faire bouillir pendant 60 min. Les échantillons peuvent mousser pendant 1 min à 2 min (ne pas baisser la température du dispositif de chauffage). Après avoir ajouté l'amylase, rincer pendant 5 min à 10 min les parois du bécher avec une petite quantité de ND à l'aide d'un flacon muni d'une buse fine, puis rincer pendant le temps nécessaire pour remettre en suspension les particules sur les parois du bécher (deux fois tout au plus).

9.2.4 Filtration

Avant la filtration initiale, observer le mélange afin de déterminer la présence de globules lipidiques à la surface ou bien de vérifier si la solution a un aspect laiteux. Ces caractéristiques indiquent que le matériau est riche en matières grasses et qu'il convient de l'analyser de nouveau après préextraction à l'acétone (9.2.2).

Évacuer la solution sans laisser les résidus s'assécher. Utiliser seulement la quantité de vide nécessaire pour évacuer l'excès de liquide, mais arrêter la mise sous vide avant que les résidus s'assèchent.

NOTE 1 L'apport excessif de vide et l'assèchement pendant l'évacuation entraînent l'obstruction du creuset par certains échantillons, ce qui rend le nettoyage difficile.

Ajouter 30 ml d'eau chaude (80 °C) et 2 ml de solution d'amylase normalisée (5.4). Exercer une contre-pression afin de mélanger l'amylase dans l'eau utilisée précédemment pour le trempage. Arrêter l'immersion dans l'eau et l'amylase après au moins 60 s de réaction.

NOTE 2 Les creusets peuvent être transférés de l'appareil à filtration à chaud vers celui à froid pour permettre l'utilisation de l'eau chaude restante pour le trempage des échantillons faciles à filtrer. Ainsi, il est possible de commencer à extraire le ND de la prochaine série d'échantillons sur l'appareil à filtration à chaud. Les échantillons difficiles à filtrer peuvent être nettoyés sur le dispositif de chauffage Fibertec, à une température plus faible afin de réduire l'agitation des particules.

Ajouter 30 ml d'eau chaude, laisser tremper pendant 3 min à 5 min, puis retirer l'eau. Si les résidus sont difficiles à filtrer après le premier trempage, ajouter encore 2 ml de solution d'amylase. Si les résidus ont un aspect translucide et deviennent plus difficiles à filtrer après chaque trempage supplémentaire, ne pas tremper une troisième fois. S'ils sont raccordés, les creusets peuvent être rétrobalayés en exerçant une très faible contre-pression.

Avant de nettoyer avec l'acétone, ne pas évacuer entièrement l'eau des fibres résiduelles avec du vide. Un séchage excessif entraîne l'agglutination des résidus ainsi qu'une dispersion difficile des particules dans l'acétone, gênant ainsi l'extraction à l'acétone.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5e57e152-81d3-4837-b84b-5b85d0c01672-2006>

Transférer les creusets vers l'appareil à extraction à froid. Remplir les creusets avec 30 ml d'acétone, puis exercer une faible contre-pression pour disperser les particules. Laisser tremper pendant 3 min à 5 min puis évacuer. Répéter le nettoyage à l'acétone.

Sécher les résidus sous vide, retirer le creuset du collecteur et sécher à l'air pendant 10 min à 60 min afin d'éliminer l'acétone.

9.2.5 Séchage

Sécher les creusets à $105\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant au moins 8 h, laisser refroidir dans un dessiccateur, puis peser à 0,000 1 g près (m_{ce} et m_{be}).

9.2.6 Incinération

Enflammer le creuset et les résidus dans un fourneau à $500\text{ °C} \pm 20\text{ °C}$, pendant 5 h ou bien jusqu'à l'élimination du carbone. Laisser refroidir dans le dessiccateur, puis peser à 0,000 1 g près (m_{ca} et m_{ba}).

9.3 Modifications applicables pour certains types d'échantillons

9.3.1 Si la solution extraite de ND a un aspect laiteux et opaque et si la filtration est lente pendant le transfert des résidus ou après le premier trempage, ce sont probablement les signes d'une teneur en amidon trop élevée. Effectuer un traitement supplémentaire avec 2 ml d'amylase au cours de la deuxième immersion dans l'eau. Réduire la durée des trempages pour que les solutions immergées soient maintenues à une température la plus élevée possible ($> 85\text{ °C}$).