
NORME INTERNATIONALE



2913

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

Laine — Détermination colorimétrique de la cystine et de la cystéine dans les hydrolysats

Wool — Colorimetric determination of cystine plus cysteine in hydrolysates

Première édition — 1975-05-15

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 2913:1975](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0fd701d3-2129-4cd2-a996-91cabd897b24/iso-2913-1975)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0fd701d3-2129-4cd2-a996-91cabd897b24/iso-2913-1975>

CDU 677.31 : 677.01

Réf. n° : ISO 2913-1975 (F)

Descripteurs : textile, laine, analyse chimique, dosage, acide aminé, cystine, méthode colorimétrique, cystéine.

AVANT-PROPOS

L'ISO (Organisation Internationale de Normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (Comités Membres ISO). L'élaboration de Normes Internationales est confiée aux Comités Techniques ISO. Chaque Comité Membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du Comité Technique correspondant. 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.

La Norme Internationale ISO 2913 a été établie par le Comité Technique ISO/TC 38, *Textiles*, et soumise aux Comités Membres en novembre 1972.

Elle a été approuvée par les Comités Membres des pays suivants :

| | | |
|-------------------------|----------|-----------------|
| Afrique du Sud, Rép. d' | Finlande | Portugal |
| Allemagne | Hongrie | Roumanie |
| Australie | Inde | Royaume-Uni |
| Belgique | Iran | Suède |
| Brésil | Israël | Suisse |
| Bulgarie | Japon | Tchécoslovaquie |
| Canada | Norvège | Thaïlande |
| Danemark | Pays-Bas | Turquie |
| Égypte, Rép. arabe d' | Pologne | U.S.A. |

Le Comité Membre du pays suivant a désapprouvé le document pour des raisons techniques :

France

Laine — Détermination colorimétrique de la cystine et de la cystéine dans les hydrolysats

0 INTRODUCTION

La cystine est l'acide aminé le plus important de la laine. Étant très réactif, son groupe disulfure est attaqué par de nombreux agents utilisés dans le processus industriel lainier. Tandis que les traitements acides n'affectent que très légèrement la cystine, les agents alcalins, oxydants et réducteurs, la vapeur d'eau, la lumière et la chaleur, la détruisent plus ou moins. L'altération de la fibre étant souvent accompagnée d'une diminution de la teneur en cystine, une méthode analytique pour sa détermination s'est avérée nécessaire afin de contrôler et de diagnostiquer la dégradation provoquée par certains agents.

La présente méthode est fondée sur celle de Folin-Shinohara pour l'estimation de la cystine dans les hydrolysats acides de protéines, mais il est à noter que la teneur en cystine de la laine initiale n'est pas nécessairement la même que celle de son hydrolysate acide. La méthode est d'utilisation simple, demande peu d'appareillage spécial et convient bien pour un emploi dans des laboratoires industriels.

La méthode consiste à réduire la liaison disulfure de la cystine par du disulfite de sodium et à estimer par colorimétrie la cystéine formée au moyen d'acide dodécacatungstophosphorique. La laine vierge contient une faible quantité de cystéine, laquelle est incluse dans la teneur «cystine plus cystéine».

1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente Norme Internationale spécifie une méthode de détermination colorimétrique de la cystine et de la cystéine dans les hydrolysats de laine.

La méthode est applicable à la laine, sous toutes ses formes, c'est-à-dire laine en bourre, ruban, mèche, fil ou étoffe. Lorsqu'il s'agit de matière teinte, les colorants peuvent interférer dans le mesurage colorimétrique. **La méthode n'est pas applicable à la laine oxydée ou à la laine réduite**, car les nouvelles fonctions engendrées dans ces laines peuvent produire des réactions secondaires lors de l'hydrolyse, et conduire ainsi à des résultats erronés.

C'est la raison pour laquelle la présente méthode est principalement applicable à la détermination de la somme «cystine plus cystéine» dans les hydrolysats de laine lavée, de ruban peigné, de mèche peignée, de fil ou d'étoffe qui n'ont pas subi de traitement d'oxydation ou de réduction.

Les composés qui forment des complexes métalliques, tels que l'EDTA et l'anion cyanure, ne doivent pas être présents dans la laine, la réaction étant catalysée par le cuivre.

2 PRINCIPE

Hydrolyse de la laine par de l'acide sulfurique dilué. Réaction de l'hydrolysate tamponné avec l'acide dodécacatungstophosphorique, en présence de disulfite de sodium avec développement d'une coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en cystine et en cystéine de l'hydrolysate. Mesurage colorimétrique de la densité optique de la solution bleue et calcul de la somme «cystine plus cystéine».

NOTE — L'essai qualitatif suivant, applicable à la laine non teinte ou à un hydrolysate de laine (dans le cas d'une laine teinte, l'hydrolysate seul doit être utilisé), peut être employé pour se rendre compte si la laine à essayer a une teneur en cystéine significativement supérieure à la normale.

- Laine (non teinte) : Immerger l'échantillon dans une solution à 1 % de pentacyanonitrosylferrate de sodium jusqu'à mouillage complet, le retirer, le sécher entre des feuilles de papier filtre, et l'exposer à des vapeurs d'ammoniac. Une coloration rouge-violet indique la présence de cystéine.
- Hydrolysate : Ajouter, à 2 ou 3 ml d'hydrolysate placé dans un tube à essais, 2 ou 3 gouttes d'une solution de pentacyanonitrosylferrate de sodium, et rendre la solution alcaline par de l'ammoniaque concentrée. L'apparition immédiate d'une coloration rouge-violet indique la présence de cystéine.

3 RÉACTIFS

Au cours de l'analyse, n'utiliser que des réactifs de qualité analytique reconnue, et que de l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente.

3.1 Acide sulfurique, solution 6 N environ.

Ajouter 150 ml d'acide sulfurique concentré, ρ 1,84 g/ml, solution à 95 à 98 % (m/m), à 850 ml d'eau.

3.2 Tampon acétate, solution à pH 5,6.

Dissoudre 300 g d'acétate de sodium (dihydraté), 24 ml d'acide acétique cristallisable et 1 mg de sulfate de cuivre(II) (pentahydraté) dans de l'eau, et diluer à 1 l.

3.3 Réactif acide tungstophosphorique

Dissoudre 200 g de tungstate de sodium (dihydraté et exempt de molybdène) dans 400 ml d'eau, puis ajouter 100 ml d'acide phosphorique à 85 % et faire bouillir modérément, sous réfrigérant à reflux, durant 1 h. Enlever le réfrigérant, ajouter du brome ou de l'eau de brome, goutte à goutte, jusqu'à ce qu'une coloration jaune à brun soit obtenue. Éliminer l'excès de brome par ébullition (15 min environ). Refroidir, filtrer dans une fiole jaugée de 1 l, et compléter au volume par de l'eau. Conserver le filtrat jaune-brun dans un flacon en verre brun.

3.4 Disulfite de sodium, solution.

Dissoudre 10 g de disulfite de sodium dans de l'eau, diluer à 100 ml, et conserver à l'obscurité. Ne pas conserver le réactif plus de 20 jours.

3.5 Cystine, solution étalon.

Dissoudre 100 mg de cystine dans 20 ml d'acide sulfurique (3.1) dans une fiole jaugée de 250 ml, et compléter au volume par de l'eau.

NOTE — La cystine doit être séchée dans un dessiccateur sur du chlorure de calcium, le dessiccateur étant conservé à l'obscurité.

4 APPAREILLAGE

4.1 Balance analytique, précise à 0,2 mg.

4.2 Vases à peser, avec couvercles rodés en verre.

4.3 Étuve ventilée, pour le séchage et l'hydrolyse des prises d'essai, à 105 ± 2 °C.

4.4 Dessiccateur.

4.5 Fioles jaugées, de capacités 100 ml et 25 ml, de grande précision (conformes, par exemple, à l'ISO/R 1042, classe A ou B).

4.6 Pipettes, de capacités 15 ml, 10 ml, 5 ml, 2 ml et 1 ml. Les pipettes de 1 ml et de 5 ml, utilisées pour les prises d'essai de l'hydrolysate et de la solution étalon de cystine, doivent être de la plus haute précision possible (conformes, par exemple, à l'ISO/R 648, classe A).

4.7 Fioles coniques, de capacité appropriée, et agitateurs en verre.

4.8 Bêchers, filtre en verre fritté ou entonniers avec papier filtre, pour analyse quantitative.

4.9 Spectrophotomètre, ou photomètre à filtres muni d'un filtre d'absorption maximale à 720 nm ou plus. (N'importe quel appareil convient, à condition que la densité optique, dans l'intervalle 0 à 0,7, puisse être lue à 0,01, et estimée à la décimale la plus proche.)

5 ÉCHANTILLONNAGE ET PRÉPARATION DES PRISES D'ESSAI

Prélever un échantillon représentatif de l'ensemble, et suffisant pour fournir les prises d'essai suivantes :

- deux prises d'essai, chacune de masse 1 g environ, pour la détermination de la masse déshydratée;
- deux prises d'essai, chacune de masse 0,3 g environ, pour la préparation des hydrolysats.

Éliminer toutes les impuretés végétales et autres substances étrangères de la laine en bourre. Réduire à l'état de fil de courte longueur (1 cm environ) les échantillons de fil ou d'étoffe. Les matières feutrées, qui ne peuvent être réduites à l'état de fil, doivent être coupées en petits morceaux. Extraire l'échantillon, par du dichlorométhane, durant 1 h, dans un extracteur de Soxhlet, à la vitesse minimale de 6 cycles à l'heure, et laisser évaporer le dichlorométhane de l'échantillon.

6 MODE OPÉRATOIRE

ISO 2913:1975

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0f1701d3-2129-4cd2-a996-91cabd897b24/iso-2913-1975>

6.1 Pesage des prises d'essai

Peser successivement, avec une précision de 0,000 2 g, chacune des prises d'essai prévues au chapitre 5. Utiliser les deux prises d'essai (chacune de masse 1 g) pour la détermination de la masse déshydratée (voir 6.2), et les deux prises d'essai (chacune de masse 0,3 g) pour la préparation des hydrolysats pour essai en double (voir 6.3).

6.2 Détermination de la masse déshydratée

Placer chaque prise d'essai dans un vase à peser (4.2), et la sécher dans l'étuve (4.3) à 105 ± 2 °C. Fermer le vase à peser, le laisser refroidir dans le dessiccateur (4.4), le retirer et le peser. Répéter ces opérations de séchage et de pesage jusqu'à masse constante¹⁾. Enlever les prises d'essai, peser les vases à peser et déterminer alors la masse déshydratée des prises d'essai. Calculer proportionnellement la masse déshydratée des prises d'essai destinées à la préparation des hydrolysats.

6.3 Hydrolyse

Transférer une prise d'essai de 0,3 g dans une fiole conique (4.7) de 100 ml, ajouter 8 ml d'acide sulfurique (3.1), et placer la fiole Erlenmeyer dans l'étuve à 105 ± 2 °C. Agiter la fiole après 0,5 — 1 — 1,5 — 2 et 2,5 h. Après 10 h, retirer la fiole de l'étuve, la laisser refroidir à la température

1) La masse constante est atteinte quand la masse d'une prise d'essai, après un nouveau séchage en étuve durant 30 min au moins, ne varie pas de plus de 0,000 2 g.

ambiante, transférer quantitativement dans une fiole jaugée (4.5) de 100 ml, compléter à 100 ml par de l'eau distillée, et agiter énergiquement. Filtrer 50 ml au moins de l'hydrolysat ainsi préparé au travers d'un filtre en verre fritté sec ou au travers d'un papier filtre sec (4.8).

6.4 Mesurage des densités optiques

6.4.1 Généralités

Tous les mesurages de densité optique doivent être effectués à une longueur d'onde comprise entre 720 et 890 nm, en utilisant, de préférence, des cuves de 10 mm de parcours optique. Si l'on emploie une cuve de parcours optique différent, les résultats des mesurages doivent être corrigés en conséquence car, dans les instructions et calculs qui suivent, il a été tenu compte d'une cuve de 10 mm de parcours optique.

La valeur de la densité optique doit être inférieure à 0,70. Dans le cas contraire, il faut employer une cuve de parcours optique inférieur ou une quantité plus faible d'hydrolysat.

6.4.2 Solution de référence

Pour tous les mesurages de densité optique, employer de l'eau distillée comme solution de référence.

6.4.3 Cystéine et réducteurs étrangers

Transférer 5 ml d'hydrolysat (6.3) dans une fiole jaugée (4.5) de 25 ml, ajouter 15 ml de solution tampon (3.2) puis 2 ml de réactif acide tungstophosphorique (3.3). Homogénéiser et laisser reposer durant 20 à 30 min. Compléter au volume par de l'eau distillée, homogénéiser et mesurer la densité optique. Diviser la valeur obtenue par 5, et la désigner par A.

6.4.4 Cystine, cystéine (2 fois) et réducteurs étrangers

Transférer 1 ml d'hydrolysat (6.3) dans une fiole jaugée (4.5) de 25 ml, ajouter 5 ml de solution tampon (3.2), puis 1 ml de solution de disulfite de sodium (3.4) et 2 ml de réactif acide tungstophosphorique (3.3). Homogénéiser et laisser reposer durant 20 à 30 min. Compléter au volume

par de l'eau distillée, homogénéiser et mesurer la densité optique. Effectuer deux déterminations, et désigner la valeur moyenne par B.

6.4.5 Étalonnage

Pour l'étalonnage du colorimètre, préparer une solution, comme il est spécifié en 6.4.4, mais en utilisant 1 ml de la solution étalon de cystine (3.5) à la place de l'hydrolysat. Effectuer deux déterminations, et désigner la valeur moyenne de la densité optique par C. Cette valeur C doit être comprise entre 0,56 et 0,70.

7 EXPRESSION DES RÉSULTATS

Calculer le pourcentage, S, «cystine plus cystéine», d'après la formule

$$S = \frac{100 (B - A)}{25 \times C \times m}$$

où m est la masse déshydratée de la prise d'essai.

8 CONTRÔLE

Il est recommandé que chaque série d'essais soit contrôlée au moyen d'un échantillon témoin, dont la teneur en «cystine plus cystéine» est connue. Un échantillon de fil de laine peignée non teint est conseillé à cet effet.

9 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Indiquer, dans le procès-verbal d'essai

- le résultat obtenu;
- les résultats individuels;
- la référence de la présente Norme Internationale;
- toutes modifications apportées au mode opératoire, notamment lorsqu'il n'a pas été possible de le respecter, par insuffisance d'échantillon par exemple;
- tous détails opératoires non prévus dans la présente Norme Internationale, mais susceptibles d'avoir eu une influence sur les résultats.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] FOLIN AND LOONEY, *J. Biol. Chemistry*, 1922, **51**, 421.
- [2] FOLIN AND MARENZI, *J. Biol. Chemistry*, 1929, **83**, 103.
- [3] FOLIN, *J. Biol. Chemistry*, 1934, **106**, 311.
- [4] LUGG, *Biochem. J.*, 1932, **26**, 2144, 2160.
- [5] LUGG, *Biochem. J.*, 1933, **27**, 1022.
- [6] SHINOHARA, *J. Biol. Chemistry*, 1935, **109**, 665.
- [7] SHINOHARA, *J. Biol. Chemistry*, 1936, **112**, 671, 683.
- [8] SCHÖBERL AND RAMBACHER, *Biochem. Z.*, 1938, 295, 377.
- [9] SCHÖBERL, *Textil-Praxis*, 1959, **14**, 701.
- [10] BLACKBURN, *Proc. Techn. Committee*, Intern. Wool Textile Organiz., 1948, **2**, 40.
- [11] SPEAKMAN AND PARK, *Bull. Inst. Textile France*, 1952, **30**, 255.
- [12] ZAHN AND TRAUMANN, *Melliand Textilber*, 1954, **35**, 1069.
- [13] T. GERTHSEN, *I.W.T.O. Techn. Committee*, May 1962, Report No. 12, and December 1962, Report No. 20.
- [14] LEES AND ELSWORTH, *I.W.T.O. Techn. Committee*, May 1963, Report No. 16.
- [15] BAUTERS, LEFEBVRE AND VAN OVERBEKE, *Bull. Inst. Textile France*, 1964, **18**, 773.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 2913:1975](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0fd701d3-2129-4cd2-a996-91cabd897b24/iso-2913-1975)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0fd701d3-2129-4cd2-a996-91cabd897b24/iso-2913-1975>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 2913:1975

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0fd701d3-2129-4cd2-a996-91cabd897b24/iso-2913-1975>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 2913:1975

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/0fd701d3-2129-4cd2-a996-91cabd897b24/iso-2913-1975>