
NORME INTERNATIONALE



2915

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

Laine — Détermination de la teneur en acide cystéique dans les hydrolysats de laine par électrophorèse sur papier et colorimétrie

Wool — Determination of cysteic acid content of wool hydrolysates by paper electrophoresis and colorimetry

ITEH STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)

Première édition — 1975-05-01

[ISO 2915:1975](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d3948ea7-82ec-418e-a0bc-c6c071bbd84e/iso-2915-1975)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d3948ea7-82ec-418e-a0bc-c6c071bbd84e/iso-2915-1975>

CDU 677.31 : 677.01

Réf. n° : ISO 2915-1975 (F)

Descripteurs : textile, laine, analyse chimique, dosage, acide cystéique, méthode par électrophorèse, méthode colorimétrique.

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 2915 a été établie par le Comité Technique ISO/TC 38, *Textiles*, et soumise aux Comités Membres en décembre 1972.

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

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

Aucun Comité Membre n'a désapprouvé le document.

Laine – Détermination de la teneur en acide cystéique dans les hydrolysats de laine par électrophorèse sur papier et colorimétrie

0 INTRODUCTION

La présente Norme Internationale reprend le contenu de la méthode FLI-23-70, mise au point par la Fédération lainière internationale (FLI).

L'acide cystéique est l'un des produits d'oxydation des acides aminés cystine et cystéine. La teneur en acide cystéique de la laine brute est normalement extrêmement faible; elle augmente par dégradation photochimique (exposition aux intempéries). Les traitements d'apprêt, tels que l'éclaircissement, le blanchiment ou le chlorage, entraînent toujours une augmentation de la teneur en acide cystéique.

Le dosage quantitatif de l'acide cystéique permet de déterminer directement le degré de l'oxydation, quelquefois sa nature. Exceptionnellement, il peut être utile de contrôler, à titre de comparaison, les matières textiles non traitées ou non dégradées.

1 OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

La présente Norme Internationale spécifie une méthode de détermination de la teneur en acide cystéique des hydrolysats de laine, par électrophorèse sur papier et colorimétrie.

La méthode est applicable directement à la laine pure, teinte ou non teinte, sous quelque forme que ce soit, c'est-à-dire en bourre, ruban, mèche, fil ou étoffe. Dans le cas de mélanges, il convient de déterminer exactement le pourcentage de laine. La méthode s'applique également aux laines carbonisées.

2 PRINCIPE

Après l'hydrolyse d'une prise d'essai de la laine à contrôler, séparation de l'acide cystéique, existant dans l'hydrolysats, des autres acides aminés par électrophorèse sur papier. Coloration de la bande de papier, puis élution de la zone renfermant l'acide cystéique. Par comparaison avec une quantité déterminée d'acide cystéique déposé en même temps, détermination par colorimétrie de la teneur en acide cystéique.

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 Méthanol.

3.2 Acide chlorhydrique, solution 5,7 N, obtenue par distillation azéotropique à partir d'acide chlorhydrique concentré, ρ 1,19 g/ml.

3.3 Réactif ninhydrine-cadmium.

Dissoudre 100 mg d'acétate de cadmium dans 10 ml d'eau, ajouter successivement 5 ml d'acide acétique cristallisable, 100 ml d'acétone et 1 g de ninhydrine. Le réactif peut être conservé en flacon brun, au réfrigérateur, durant une semaine. N'utiliser qu'une seule fois la fraction de réactif prélevée pour une révélation colorée déterminée.

3.4 Solution tampon, à pH 3,5.

Dissoudre 10 ml de pyridine et 100 ml d'acide acétique cristallisable dans 890 ml d'eau distillée. Renouveler la solution tampon toutes les cinq séparations.

3.5 Acide cystéique, solution étalon.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, dissoudre, dans de l'eau distillée, 110,6 mg d'acide cystéique monohydraté (correspondant à 100 mg d'acide cystéique anhydre). Avant pesage, sécher l'acide cystéique en le maintenant 24 h à 70 °C environ sur de l'anhydride phosphorique, dans un appareillage approprié (par exemple pistolet).

3.6 Chlorure de baryum, solution.

Dans une fiole jaugée de 100 ml, dissoudre dans de l'eau distillée, 2,5 g de chlorure de baryum dihydraté ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

4 APPAREILLAGE

4.1 Vases à peser.

4.2 Balance analytique, précise à 0,000 2 g.

4.3 Étuve ventilée, réglable à 105 ± 2 °C pour le séchage et l'hydrolyse des prises d'essai à analyser, et à 70 °C pour le séchage du papier.

4.4 Dessiccateur.

4.5 Tube en verre à paroi épaisse, de diamètre 2 cm environ et de longueur 30 cm.

4.6 Pince et baguette en verre.

4.7 Chalumeau.

4.8 Couteau à verre.

4.9 Pipette, de 20 ml.

4.10 Pipettes, deux de 1 ml.

4.11 Pipettes de précision, de 0,01 ml.

4.12 Ballons à fond rond, de 100 ml et de 250 ml.

4.13 Fiole jaugée, de 100 ml.

4.14 Fioles jaugées, deux de 5 ml.

4.15 Bécher, de 250 ml.

4.16 Évaporateur rotatif.

4.17 Chambre d'électrophorèse et appareil d'alimentation électrique.

4.18 Bandes ou feuilles de papier filtre (Whatman N° 1 ou Schleicher et Schull N° 2043 aMgl ou tout autre papier de même qualité).

4.19 Tube à essais et support

4.20 Cuve de teinture ou cuve en verre.

4.21 Spectrophotomètre ou photomètre, muni d'un filtre ayant une absorption maximale à une longueur d'onde de 500 ± 10 nm.

L'appareil doit permettre de lire les densités optiques dans une zone comprise entre 0 et 0,7, à 0,01 près, et d'évaluer la décimale suivante.

4.22 Bain thermostatique, rempli d'huile à point d'ébullition élevé, ou plaque chauffante, munie d'une plaque en amiante (voir 6.3).

4.23 Réfrigérant à reflux.

5 PRÉLÈVEMENT DE L'ÉCHANTILLON ET PRÉPARATION DES PRISES D'ESSAI

Prélever, sur le lot à étudier, un échantillon représentatif, en quantité suffisante pour obtenir les prises d'essai suivantes :

- deux prises d'essai, chacune de masse 1 g environ, pour la détermination de la masse déshydratée;
- une prise d'essai de masse 1 g environ, pour la préparation de l'hydrolysate.

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 Soxhlet, à vitesse minimale de 6 cycles à l'heure, et laisser évaporer le dichlorométhane de l'échantillon nettoyé.

6 MODE OPÉRATOIRE

6.1 Pesage des prises d'essai

Peser, successivement, à 0,000 2 g près, les trois prises d'essai décrites dans le chapitre 5. Utiliser deux d'entre elles pour déterminer la masse déshydratée (voir 6.2), et l'autre pour préparer l'hydrolysate (voir 6.3).

6.2 Détermination de la masse déshydratée

Introduire chacune des deux prises d'essai dans un vase à peser (4.1), et les sécher à 105 ± 2 °C dans l'étuve (4.3). Puis boucher les vases et les laisser refroidir dans le dessiccateur (4.4), et peser. Répéter ces opérations jusqu'à masse constante.¹⁾

Retirer les prises d'essai des vases à peser, peser les vases vides, et en déduire la masse déshydratée des prises d'essai. Calculer alors, par proportion, la masse déshydratée de la prise d'essai pour l'hydrolysate.

6.3 Hydrolyse

L'hydrolyse doit être effectuée selon l'une des méthodes suivantes :

a) Introduire la prise d'essai (6.1) pesée et destinée à l'hydrolyse, et 20 ml de la solution d'acide chlorhydrique (3.2) dans un ballon à fond rond de 100 ml, sur lequel s'adapte un réfrigérant à reflux (4.23). Immerger le ballon dans le bain thermostatique (4.22) rempli d'huile à point d'ébullition élevé, et hydrolyser durant 4 h à 105 °C. À la place du bain d'huile, on peut également utiliser une plaque chauffante conjointement avec une plaque en amiante. Introduire le ballon à fond rond dans un trou ménagé dans la plaque en amiante de façon que le niveau du liquide reste visible et que le fond du ballon ne soit pas en contact avec la plaque chauffante.

b) Introduire la prise d'essai (6.1) pesée et destinée à l'hydrolyse, et 20 ml de la solution d'acide chlorhydrique (3.2) mesurés avec la pipette (4.9), dans le tube en verre à paroi épaisse (4.5). Sceller le tube au chalumeau (4.7) et laisser 24 h dans l'étuve à 105 °C. Pendant cette période, agiter le tube plusieurs fois jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de résidu de fibres dans l'hydrolysate.

1) La masse constante est obtenue lorsque la masse de la prise d'essai ne varie pas de plus de 0,000 2 après un nouveau séchage durant 30 min au moins.

Transvaser l'hydrolysate obtenu selon la méthode a) ou b), accompagné de l'eau avec laquelle on a effectué les rinçages :

- soit, dans le cas où l'échantillon n'est pas de la laine carbonisée, dans un ballon à fond rond (4.12) de 250 ml;
- soit, dans le cas où l'échantillon est de la laine carbonisée¹⁾, dans le bécher (4.15) de 250 ml, et chauffer jusqu'à l'ébullition. A la solution bouillante, ajouter goutte à goutte, à l'aide d'une pipette (4.10) et en agitant avec la baguette en verre (4.6), 1 ml de la solution de chlorure de baryum (3.6). Après que la solution refroidie a reposé toute la nuit, filtrer dans un ballon à fond rond (4.12) de 250 ml, en ayant soin de rincer correctement le papier filtre.

Ensuite, et dans les deux cas, concentrer la solution à une consistance sirupeuse, à l'aide de l'évaporateur rotatif (4.16), à 50 °C. Pour éliminer l'acide chlorhydrique en excès, reprendre trois fois le sirop avec 10 ml d'eau, et reconcentrer à chaque fois dans l'évaporateur rotatif. Transférer le résidu ainsi obtenu, quantitativement, à l'aide d'un peu d'eau, dans une fiole jaugée (4.14) de 5 ml, et diluer jusqu'au trait repère.

6.4 Électrophorèse

Pour la séparation par électrophorèse, un appareil à basse tension peut être utilisé. Tout appareil ayant, de préférence, une tension de sortie de 300 V environ, peut convenir. Pour accélérer l'analyse, un appareil ayant une tension de sortie plus haute (jusqu'à 1 500 V environ) peut être utilisé. La chambre de séparation doit pouvoir recevoir des bandes ou des feuilles de papier (4.18) d'au moins 30 cm de long (distance entre les électrodes).

Matérialiser, au moyen d'un tracé de crayon, le milieu des supports en papier. Avec une pipette de précision (4.11), déposer 0,01 ml de l'hydrolysate (6.3) à étudier, sous forme d'une ligne continue suivant le tracé au crayon. Pratiquer cette opération sur deux bandes de papier, pour obtenir une double détermination.

Sur une autre bande de papier, ou bien sur une autre partie de la ligne tracée sur la feuille, déposer 0,01 ml de solution étalon d'acide cystéique (3.5). Dans tous les cas, prendre soin de déposer régulièrement tout le contenu de la pipette sur la ligne de dépôt, en ménageant un espace libre d'au moins 0,5 cm à partir du bord du papier. Introduire les deux extrémités du papier dans la cuve contenant les électrodes. Le papier filtre absorbe régulièrement la solution tampon (3.4). La durée d'absorption peut être réduite en pulvérisant de la solution tampon sur le papier.

Lorsque le papier est complètement imprégné de la solution tampon, appliquer une tension comprise entre 5 et 8 V/cm (soit entre 200 et 300 V selon la longueur du papier). L'électrophorèse dure de 4 à 5 h.

Retirer alors les bandes (ou feuilles) de papier, les accrocher par leurs extrémités anodiques dans l'étuve (4.3), et les sécher durant 30 min à 70 °C.

6.5 Développement de la coloration et élution

Après avoir séché les bandes (ou feuilles) de papier, les imprégner soigneusement à l'aide d'un peu de la solution de ninhydrine-cadmium (3.3), répartie en couche mince sur le fond de la cuve en verre (4.20). Dans ces conditions, le papier absorbe seulement la solution réactive, mais n'est en aucun cas immergé dans celle-ci.

Suspendre ensuite les papiers durant 30 min à 70 °C dans l'étuve, l'extrémité anodique du papier étant placée en haut. Selon la tension appliquée et la durée de l'électrophorèse, la zone de l'acide cystéique est déplacée de 4 à 6 cm en direction de l'anode par rapport à sa position initiale.

Découper en surfaces autant que possible identiques les deux zones; acide cystéique de l'hydrolysate et acide cystéique de la solution étalon. Découper les surfaces en plusieurs morceaux, et les introduire dans trois tubes à essais (4.19). Dans un quatrième tube à essais, placer un morceau découpé de la même façon d'une bande de papier de même grandeur prélevée entre la zone acide cystéique et l'extrémité anodique du papier (voir schéma), de façon que la teinte du papier de cette zone découpée soit identique à celle de l'ensemble de la bande de papier. L'éluat de ce papier permettra d'obtenir un témoin «à blanc» du fond du papier (valeur de référence).

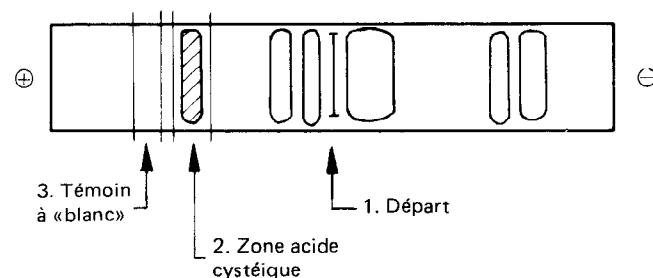


FIGURE — Schéma de séparation par électrophorèse

Dans chacun des quatre tubes à essais, introduire, à l'aide d'une pipette, 5 ml de méthanol (3.1). Après avoir agité légèrement à plusieurs reprises, le colorant rouge est élué du papier en 30 min.

6.6 Colorimétrie

Effectuer les mesurages des densités optiques à une longueur d'onde de 500 ± 10 nm, en utilisant des cuves de 10 mm de parcours optique. Les densités optiques se situent entre 0,2 et 0,7. Si l'on obtient des valeurs trop

1) Dans le cas où l'échantillon est de la laine carbonisée, il est nécessaire d'éliminer de cette laine l'acide sulfurique résiduel en le précipitant sous forme de sulfate de baryum. S'il n'est pas éliminé, l'acide sulfurique résiduel peut intervenir pendant la concentration pour former du sulfate de sérine qui, se déplaçant en électrophorèse comme l'acide cystéique, peut provoquer, par sa présence, une évaluation erronée de la teneur en acide cystéique.

élevées, ou si l'on prévoit une teneur très forte en acide cystéique, utiliser une prise d'essai moins importante, ou bien reprendre l'hydrolysate dans une fiole jaugée de 10 ml.

Filtrer les éluats d'acide cystéique obtenus à partir de la solution étalon d'acide cystéique et à partir de l'hydrolysate, pour éliminer les morceaux de papier résiduels. Effectuer, dans tous les cas, le mesurage photométrique de chacun des éluats, par rapport à l'éluat du témoin «à blanc».

7 CALCUL DE LA TENEUR EN ACIDE CYSTÉIQUE

La teneur en acide cystéique, C , exprimée en pourcentage en masse, est donnée par la formule

$$C = \frac{C_S \times V_T}{V_H \times 10^6} \times \frac{D_H}{D_S \times m} \times 100$$

où

C_S est la masse, en microgrammes, d'acide cystéique contenue dans le volume de solution étalon utilisé;

V_T est le volume, en millilitres, de la fiole jaugée dans laquelle l'hydrolysate a été effectué;

V_H est le volume, en millilitres, de l'hydrolysate utilisé;

D_H est la densité optique de la zone acide cystéique correspondant à l'hydrolysate;

D_S est la densité optique de la zone acide cystéique correspondant à la solution étalon;

m est la masse déshydratée, en grammes, de la prise d'essai analysée.

Lorsque C_S , V_T et V_H ont une valeur constante, la formule ci-dessus peut être simplifiée comme suit :

$$C = \text{facteur} \times \frac{D_H}{D_S \times m} \times 100$$

Exprimer le résultat avec deux décimales.

8 PROCÈS-VERBAL D'ESSAI

Le procès-verbal d'essai doit contenir les indications suivantes :

- référence de la méthode utilisée;
- résultats, ainsi que la forme sous laquelle ils sont exprimés;
- compte rendu de tous détails particuliers éventuels relevés au cours de l'essai;
- compte rendu de toutes opérations non prévues dans la présente Norme Internationale, ou facultatives.

ISO 2915:1975

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d3948ea7-82ec-418e-a0bc-c6c071bbd84e/iso-2915-1975>

ANNEXE

PRÉCISION DE LA MÉTHODE

À la suite d'un premier essai entre laboratoires, il en a été effectué un second, auquel ont participé dix laboratoires.

Avec deux laines ayant une teneur en acide cystéique différente, chaque laboratoire a préparé deux hydrolysats, l'un après hydrolyse de 24 h, l'autre après hydrolyse de 4 h, et a effectué deux dosages sur chaque hydrolysats.

Les résultats obtenus avec ces deux durées d'hydrolyse présentent une très bonne concordance. Le tableau ci-après donne les résultats, uniquement dans le cas d'une durée d'hydrolyse de 24 h.

	Laine A	Laine B
Teneur moyenne en acide cystéique de la laine, en %	0,20	0,75
Valeur estimée de la dispersion s_L entre les laboratoires, en pourcentage d'acide cystéique	non significative	0,066
Valeur estimée de la dispersion s_H entre les hydrolysats, en pourcentage d'acide cystéique	0,013	0,026
Valeur estimée de la dispersion s_R entre des essais répétés, en pourcentage d'acide cystéique	0,012	0,015

Ces valeurs permettent d'évaluer l'intervalle de confiance du dosage de l'acide cystéique selon la méthode spécifiée.

A.1 INTERVALLE DE CONFIANCE DES RÉSULTATS D'UN LABORATOIRE

Abstraction faite de la dispersion entre laboratoires, c'est-à-dire en comparant seulement les résultats au sein d'un même laboratoire, il est possible de calculer l'intervalle

de confiance Q_i de la valeur moyenne, avec une probabilité statistique de 95 % (probabilité d'erreur de 5 %), d'après la formule d'approximation suivante :

$$Q_i = \pm 2 \sqrt{\frac{s_H^2}{j} + \frac{s_R^2}{j \times k}} \text{ \% d'acide cystéique}$$

où j est le nombre d'hydrolysats, et k le nombre de dosages par hydrolysats.

Dans cette formule, il convient d'employer pour s_H et s_R , les valeurs arrondies du tableau.

A.2 ÉTENDUE DE L'INTERVALLE DE CONFIANCE, COMPTE TENU DE LA DISPERSION ENTRE LES LABORATOIRES

Pour tenir compte de la dispersion entre les laboratoires, c'est-à-dire en comparant leurs résultats, il est possible de calculer l'intervalle de confiance Q_i de la valeur moyenne, avec une probabilité statistique de 95 % (probabilité d'erreur de 5 %), d'après la formule d'approximation suivante :

$$Q_i = \pm 2 \sqrt{\frac{s_L^2}{i} + \frac{s_H^2}{i \times j} + \frac{s_R^2}{i \times j \times k}} \text{ \% d'acide cystéique}$$

lorsque chacun des i laboratoires effectue un nombre j d'hydrolysats, avec k essais chaque fois.

Lorsque $i = 1$, on a l'intervalle de confiance pour chaque laboratoire, compte tenu des variations entre les laboratoires.

Les valeurs numériques de s_L , s_H et s_R tirées du tableau doivent être considérées comme approximatives.

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 2915:1975

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/d3948ea7-82ec-418e-a0bc-c6c071bbd84e/iso-2915-1975>