NORME INTERNATIONALE

**ISO 20418-3**

Première édition
2020-06

# Textiles — Analyse protéomique qualitative et quantitative de certaines fibres animales —

## Partie 3: Détection des peptides par LC-MS sans réduction protéique

*Textiles — Qualitative and quantitative proteomic analysis of some animal hair fibres —*

*Part 3: Peptide detection using LC-MS without protein reduction*

Numéro de référence
ISO 20418-3:2020(F)

© ISO 2020



## DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2020

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, 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, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +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**
**Introduction** ..... **v**
**1 Domaine d'application** ..... **1**
**2 Références normatives** ..... **1**
**3 Termes et définitions** ..... **1**
**4 Symboles et abréviations** ..... **2**
**5 Principe** ..... **3**
**6 Réactifs** ..... **3**
**7 Appareillage** ..... **3**
**8 Méthode d'essai** ..... **4**
8.1 Échantillonnage ..... 4
8.2 Identification préliminaire ..... 4
8.3 Lavage pour dégraissage ..... 4
8.4 Réduction en poudre des fibres ..... 4
8.5 Digestion à la trypsine ..... 4
8.6 Marqueurs peptidiques ..... 5
8.7 Analyse LC-MS ..... 5
8.8 Évaluation de la validité des données observées ..... 6
8.9 Calcul du facteur de correction ..... 6
8.9.1 Facteur de correction ..... 6
8.9.2 Facteur de correction de Cac1 vis-à-vis de Mou1 et de Yac1 (kc) ..... 6
8.9.3 Facteur de correction de Yac2 vis-à-vis de Mou2, Mou3 et de Cac2 (ky) ..... 6
8.9.4 Facteur de correction de l'alpaga et du chameau (ka) ..... 6
8.9.5 Facteur de correction de l'angora (kr) ..... 7
8.10 Calcul des proportions de mélange ..... 7
8.10.1 Calcul des proportions de mélange du cachemire, de la laine de mouton et du yack ..... 7
8.10.2 Calcul avec Mou1, Cac1, Yac1 et kc ..... 7
8.10.3 Calcul avec Mou2, Mou3, Cac2, Yac2 et ky ..... 7
8.10.4 Calcul avec Mou1, Mou2, Mou3, Cac2, Yac1 ..... 8
8.10.5 Calcul des proportions de mélange de chameau, d'alpaga et d'angora ..... 8
**9 Rapport d'essai** ..... **9**
**Annexe A** (informative) **Marqueurs peptidiques de fibres de cachemire, de laine de mouton et de yack** ..... **11**
**Annexe B** (informative) **Exemple de conditions d'analyse LC-MS** ..... **14**
**Annexe C** (informative) **Analyse de fibres de chameau, d'alpaga et d'angora** ..... **17**
**Annexe D** (informative) **Exemple de chromatogrammes de masse de marqueurs peptidiques** ..... **20**
**Annexe E** (informative) **Résultats de l'étude interlaboratoires** ..... **24**
**Bibliographie** ..... **26**

© ISO 2020 – Tous droits réservés

# 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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée 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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le Comité technique ISO/TC 38, *Textiles*, en collaboration avec le Comité technique CEN/TC 248, *Textiles et produits textiles*, du Comité européen de normalisation (CEN) conformément à l'Accord de coopération technique entre l'ISO et le CEN (Accord de Vienne).

Une liste de toutes les parties de la série ISO 20418 se trouve sur le site web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.


© ISO 2020 – Tous droits réservés

# Introduction

Le cachemire est une fibre fine et longue obtenue à partir des poils des chèvres cachemire, qui est coûteuse du fait de sa haute qualité et de sa rareté. Des cas de non-conformité de l'étiquetage ou d'adultération d'articles en cachemire qui intègrent d'autres fibres animales moins onéreuses telles que la laine de mouton et le yack ont été régulièrement signalés dans le monde entier.

Des méthodes officielles actuelles permettant d'identifier les différentes fibres animales s'appuient sur une observation au microscope. Toutefois, l'identification au microscope est devenue de plus en plus difficile du fait d'un emploi plus large de traitements chimiques ou physiques au cours du procédé de fabrication. Au vu de ces problèmes, plusieurs autres méthodes ont également été étudiées visant soit à différencier les structures des fibres par spectroscopie dans le proche infrarouge ou par spectroscopie térahertz, soit à différencier des séquences ADN par réaction en chaîne par polymérase. Néanmoins, chaque méthode présente des limitations sur le plan de l'application pratique. Par conséquent, il est nécessaire de mettre au point de nouvelles méthodes d'identification.

Les fibres animales se composent principalement de protéines appelées kératines ainsi que de certaines protéines associées. De ce fait, les méthodes d'identification les plus prometteuses reposent sur l'analyse des protéines contenues dans les textiles. Habituellement, les protéines sont analysées en étant soumises à une digestion par la trypsine afin de les transformer en molécules plus petites, c'est-à-dire en peptides, qui sont ensuite caractérisés par spectrométrie de masse. Par conséquent, les méthodes d'identification au moyen d'un spectromètre de masse à désorption/ionisation laser assistée par matrice avec analyseur à temps de vol ou d'un système de chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS, acronyme issu de l'anglais «liquid chromatography–mass spectrometry») ont été étudiées. Ce dernier type d'appareillage, par comparaison au premier type d'appareillage, est moins onéreux et les laboratoires d'essai en sont plus fréquemment équipés du fait de la polyvalence de cet instrument analytique. De plus, la LC-MS permet d'analyser de grandes quantités et est donc préférable pour calculer les proportions de mélange de fibres animales.

Les kératines sont hautement insolubles du fait des liaisons disulfure qu'elles tendent à former, tant sur le plan intramoléculaire que sur le plan intermoléculaire. C'est la raison pour laquelle les kératines sont généralement extraites en présence d'agents réducteurs. Toutefois, cette étape de réduction est chronophage et complexe. Le présent document spécifie une méthode alternative reposant sur la sélection de peptides exempts de cystéine à titre de marqueurs d'identification, éliminant de ce fait la nécessité d'avoir recours à l'étape de réduction et permettant une préparation rapide des échantillons de LC-MS.

L'ISO 20418-1 et le présent document traitent tous deux de l'analyse par LC-MS, mais diffèrent quant à la méthode d'extraction des peptides. Dans l'ISO 20418-1, les protéines sont dans un premier temps extraites des fibres à l'aide d'une solution de thiourée/urée/dithiothréitol (DTT), puis sont coupées par digestion à la trypsine afin d'obtenir des peptides. Dans le procédé décrit ici, les peptides sont directement extraits par digestion à la trypsine des fibres réduites en poudre de manière mécanique. Cette méthode s'est avérée très utile même pour analyser des échantillons hautement transformés et peut être appliquée à différents types de poils animaux, tels que les poils de chèvre (cachemire ou mohair), la laine ou le yack.

© ISO 2020 – Tous droits réservés

# Textiles — Analyse protéomique qualitative et quantitative de certaines fibres animales —

# Partie 3:
# Détection des peptides par LC-MS sans réduction protéique

## 1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode qualitative et quantitative pour déterminer la composition des mélanges de fibres animales – poils - (composés de laine, de cachemire, de yack, d'alpaga, de chameau ou d'angora) par LC-MS sans réduction protéique.

NOTE 1 La composition des fibres autres que les poils animaux peut être mesurée conformément à l'ISO 1833 (toutes les parties). Les résultats de ces deux méthodes sont ensuite combinés pour déterminer la composition globale des fibres.

La méthode repose sur une identification préliminaire, par microscopie optique, de toutes les fibres présentes dans le mélange sur la base de leur morphologie, conformément à l'ISO/TR 11827[4]. Elle n'est pas applicable si des fibres de la même espèce animale (telles que des mélanges de cachemire et de mohair) sont présentes.

NOTE 2 Dans ce cas, l'analyse quantitative est réalisée par microscopie [tel que décrit dans l'ISO 17751 (toutes les parties), par exemple].

## 2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences 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 1833-1, *Textiles — Analyse chimique quantitative — Partie 1: Principes généraux des essais*

ISO 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 17751 (toutes les parties), *Textiles — Analyse quantitative du cachemire, de la laine, d'autres fibres animales spéciales et leurs mélanges*

## 3 Termes et définitions

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

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse https://www.iso.org/obp;

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse http://www.electropedia.org/.

**3.1**
**fibre animale (poil)**
type de fibre de kératine destiné à un usage textile, tel que la laine, le cachemire, le yack, l'alpaga, le chameau ou l'angora

© ISO 2020 – Tous droits réservés

**3.2**
**Bovidae**
famille biologique regroupant les mammifères ruminants biongulés, incluant la chèvre cachemire, le mouton et le yack

**3.3**
**Camelidae**
famille biologique regroupant les mammifères ongulés à nombre de doigts pair, incluant le chameau et l'alpaga

**3.4**
**protéine**
polymère d'acides aminés qui joue de nombreux rôles essentiels dans le corps

**3.5**
**peptide**
petite *protéine* (3.4) composée de moins de 50 acides aminés environ

**3.6**
**marqueur peptidique**
partie d'une *protéine* (3.4) utilisée pour son identification, sa récupération et sa purification

**3.7**
**chromatogramme de masse**
chromatogramme pour un rapport masse sur charge donné

**3.8**
**chromatogramme correspondant aux ions totaux**
**TIC**
chromatogramme dont chaque point de donnée est créé en additionnant les intensités de tous les pics de spectres de masse appartenant au même balayage

**3.9**
**détection d'ions sélectionnés**
**mode SIM**
mode de balayage de spectrométrie de masse dans lequel le spectromètre ne reçoit/ne détecte qu'une plage limitée de rapport *m/z*

## 4 Symboles et abréviations

| | |
|---|---|
| A | surface d'un pic |
| W | proportion de mélange |
| Br | proportion de Bovidae |
| Cr | proportion de Camelidae |
| ka | facteur de correction de l'alpaga et du chameau |
| kc | facteur de correction du cachemire |
| kr | facteur de correction de l'angora |
| ky | facteur de correction du yack |
| *m/z* | rapport masse sur charge, où *m* est la masse, exprimée en unité de masse atomique, et *z* est le nombre de charges des ions |


© ISO 2020 – Tous droits réservés