

Chapitre III. Méthodes d'évaluation de la qualité

I. Méthodes de préparation et de prélèvement des échantillons

La préparation de l'échantillon et le prélèvement de la portion servant à l'analyse sont les deux premières étapes d'une analyse physico-chimique. Ces étapes sont importantes pour la réussite d'une analyse, car l'exactitude du résultat en dépend. Les techniques qui seront utilisées lors de ces étapes devront permettre de respecter le principe suivant:

L'aliquote prélevée pour l'analyse doit être le plus représentatif possible du lot

Lot: ensemble d'une production alimentaire ou d'une matière première.

Échantillon: portion du lot prélevée au hasard ou selon des méthodes statistiques.

Sous-échantillon: portion de l'échantillon prélevée qui servira à la prise de l'aliquote.

1. Principes généraux pour la préparation des échantillons

a. Enlèvement des matières étrangères et des parties non comestibles

- Lavage des fruits et légumes (sable, terre)
- Enlèvement des os (viandes)
- Enlèvement de la partie habituellement non consommée (fromage à pâte molle)

b. Homogénéisation

Aliments liquides

- Brassage par inversion, rotation ou transfert d'un récipient à un autre
- Brassage énergique pour émulsification (vinaigrette)
- Enlèvement des gaz (les boissons gazeuses)
- Décongélation complète d'un échantillon avant le prélèvement de l'aliquote

Aliments solides

- Découpage adéquat de l'échantillon (viande,)
- Broyage approprié (hache-viande, moulin à farine, malaxeur, appareil Stomaker, mortier, bêcher et spatule, râpe, etc ...)

c. Prévention des altérations de l'échantillon

- altération physique ou chimique due à l'action de la chaleur
- séparation de la matière grasse (lait cru)
- caramélisation (aliments sucrés)

- altération chimique au contact avec l'air ambiant
- oxydation par l'action de l'O₂ (rancissement)
- modification de la concentration des constituants
- absorption d'humidité par les aliments hygroscopiques
- évaporation d'eau ou des constituants volatils d'un aliment

N.B. Un gain ou une perte d'eau modifie la concentration de tous les constituants d'un échantillon alimentaire.

d. Conservation des échantillons

- réfrigération ou congélation selon la nature de l'échantillon et le délai d'analyse - utilisation de contenants hermétiquement fermés
- utilisation de préservatifs inhibant la croissance microbienne - Ex: pastilles de bichromate de potassium K₂Cr₂O₇ pour les laits crus

2. Exemples de préparation d'échantillons tirés de l'AOAC

2.1. Produits laitiers

➤ Laits

Pour les laits homogénéisés, amener la température à 20 °C, mélanger par inversion ou par transvidage entre deux contenants et prélever immédiatement l'aliquote.

Pour les laits crus, chauffer l'échantillon à 38 °C, mélanger par inversion ou par transvidage entre deux contenants, ramener la température à 20 °C, mélanger de nouveau et prélever immédiatement l'aliquote.

➤ Crème glacée

Déposer la crème glacée dans un malaxeur *Waring Blender*, fermer hermétiquement et laisser l'échantillon ramollir. Broyer 2 minutes pour la crème glacée sans fruits et environ 5 minutes pour celle avec fruits. Transvider tout l'échantillon liquide dans un contenant et fermer hermétiquement. Bien mélanger par inversion avant de prélever l'aliquote.

2.2. Produits végétaux

Produits végétaux en conserve

Déposer tout le contenu de la boîte de conserve dans un malaxeur *Waring Blender* et broyer jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène. Transvider tout l'échantillon dans un contenant et fermer hermétiquement. Bien mélanger avant de prélever l'aliquote.

2.3. Boissons gazeuses

Enlever le CO₂ par brassage dans un grand erlenmeyer. Brasser lentement au début puis vigoureusement pour expulser tout le gaz. Si nécessaire, filtrer dégazée pour enlever les matières en suspension. Prélever l'aliquote.

2.4. Pain

Peser le pain frais. Couper en tranches de 2 à 3 cm d'épaisseur et laisser sécher sur un papier dans une chambre tiède pendant 15 à 20 heures. Peser les tranches séchées.

Broyer les tranches de pain pour obtenir des particules qui traversent un tamis de 20 mesh. Conserver les particules dans un récipient fermé hermétiquement. Bien mélanger avant de prélever l'aliquote.

2.5. Miel

Si l'échantillon est liquide, bien mélanger avant de prélever l'aliquote.

Si l'échantillon est solide ou liquide avec début de cristallisation, chauffer dans un bain-marie à 60 °C pendant 30 minutes, puis à 65 °C pour liquéfier complètement le miel. Bien mélanger avant de prélever l'aliquote.

2.6. Viande fraîche

Séparer les os de la viande. Hacher trois fois la viande avec un hachoir ayant des ouvertures de 3 mm en mélangeant la viande entre chaque hachage. Prélever l'aliquote.

2.7. Poissons en conserve

Déposer tout le contenu de la boîte de conserve dans un malaxeur Waring Blender. Broyer jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène. Prélever l'aliquote.

3. Principes généraux pour le prélèvement d'aliquotes

- s'assurer que l'échantillon est le plus homogène possible juste avant le prélèvement.
- pour le prélèvement d'un volume exact d'échantillon (résultat en % P/V):
- tenir compte de la température, car la masse volumique d'un liquide varie en fonction de celle-ci. Le prélèvement s'effectue normalement à la température ambiante (20 °C).
- utiliser les instruments les plus précis (pipettes)
- pour le prélèvement d'une masse d'échantillon (résultat en % P/P):
- procéder le plus rapidement possible pour la pesée d'un échantillon (solide ou liquide) qui perd facilement son humidité.

En conclusion, la technique utilisée pour le prélèvement de l'aliquote dépend de plusieurs facteurs:

- la nature de l'échantillon
- ses caractéristiques physiques (viscosité, produit hygroscopique, etc)
- le récipient dans lequel il sera placé
- la suite du protocole expérimental ...

II. Méthodes d'analyse :

Des analyses sensorielles, microbiologiques, parasitaires et physico-chimiques en vue de garantir la qualité hygiénique des aliments sont réalisées:

1. Analyse sensorielle

- ✓ Pour assurer la sécurité et la qualité des aliments du producteur au consommateur, des tests sensoriels et chimiques sont nécessaires.
- ✓ L'analyse sensorielle est la technique qui utilise les sens de l'homme pour connaître et décrire les caractéristiques organoleptiques d'un produit.

1.1. La vue

L'observation d'un aliment nous renseigne sur:

- **Sa forme** : un fruit peut être plus ou moins gros, avoir une forme plus ou moins régulière et équilibrée.
- **Sa couleur** : les saumons fumés non pas tous la même couleur, un jambon gris ne plaît pas toujours, les jus de fruits transmettent une partie de leur méthode d'élaboration à travers leur couleur.
- **Son état**: la peau terne et légèrement flétrie d'un fruit nous renseigne sur son état de fraîcheur, en vaporisant de l'eau sur un légume, il offre un aspect brillant nettement plus agréable. Les jus de fruit peuvent apparaître limpides ou troubles.
- **Sa consistance** : Le miel, le beurre et la mélasse montrent une consistance épaisse.

1.2. L'odorat

L'odorat nous apporte de nombreux renseignements sur l'état d'un aliment et sur sa comestibilité. On pourra remarquer que naturellement, nous faisons confiance envers un produit qui émane des effluves sucrées alors que nous nous montrons méfiant envers les odeurs âcres. L'odorat est aussi un élément qui permet d'anticiper le goût. On peut regrouper les odeurs en grandes familles: végétales, florales, animales ou sauvages, boisées, etc.

1.3. Le goût

L'analyse stricte du goût se fait principalement sur la langue (attention à ne pas confondre saveur et parfum) dès le contact physique. Les principaux goûts sont :

- ✓ Sucré
- ✓ Salé
- ✓ Acide
- ✓ Amer

Le goût, dans un sens plus large, se compose de saveurs et de parfums que l'on regroupe sous le nom de Flaveurs. Enfin, le goût peut se traduire par une sensation: piquant, métallique, rafraîchissant, etc..., qui devraient logiquement être traité dans la partie concernant le toucher.

1.4. Le toucher

Le contact physique avec un aliment nous apporte deux types d'information :

- ✓ **Information mécanique:** le contact de la peau et des doigts nous renseigne sur la consistance du produit. L'action mécanique de la bouche nous délivre des informations plus précises: l'onctuosité, le croustillant, le fondant, le moelleux ou le gluant pour certains fromages par exemple.
- ✓ **Information thermique:** par le contact nous pouvons juger de la température du produit, certains plats s'appuient sur les contrastes thermiques pour assurer leur réussite.

1.5. L'ouïe

Même si l'oreille participe peu à l'analyse sensorielle elle peut se révéler importante pour certains produits: un pain doit croustiller, un biscuit trop craquant peut être déplaisant à l'oreille lors de sa mastication.

En effet, les caractéristiques sensorielles et la composition chimique sont des paramètres clés dans l'agro-alimentaire puisqu'ils déterminent directement la qualité et le succès des produits sur le marché.

Contrôle qualité d'aliments et boissons: tests de conformité sensorielle, contrôle de l'arôme, détection d'odeurs résiduelles, contrôle du goût, inspection visuelle, détection de contamination ou de défaut.

2. Analyse microbiologique

La qualité microbiologique d'un produit alimentaire présente deux aspects :

- La qualité hygiénique qui caractérise le risque pour la santé du consommateur
- qualité commerciale qui caractérise l'existence ou le risque d'altération du produit.

La maîtrise de cette qualité implique de bonnes pratiques au cours de fabrication, stockage et distribution.

Le but de l'analyse microbiologique des aliments :

- **S'assurer que le niveau de contamination du produit apte à être consommé ne présente aucun risque pour la santé du consommateur**
- **Donner à l'aliment une protection intrinsèque contre la prolifération microbienne.**

L'activité au sein du service de bactériologie des aliments est très diverse. Il s'agit de contrôler :

Les aliments produits au sein des unités de production, et les produits importés inspectés et échantillonnés par les vétérinaires inspecteurs aux postes frontières donc les produits finis.

L'objectif est de vérifier la conformité du produit à des critères microbiologiques.

L'analyse consiste

- La recherche des microorganismes responsables d'altération qui regroupent les germes capables d'altérer la qualité marchande de l'aliment (fore aérobie totale mésophile (FTAM), les anaérobies sulfite-réducteurs (ASR), les levures et moisissures
- Les germes témoins de contamination fécale (coliformes totaux, coliformes fécaux, Streptocoques D)
- Les germes responsables de toxi-infections alimentaires (*S. aureus*, *Salmonella*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*)

2.1. Quelques techniques d'analyse microbiologique des aliments

2.1.1. Préparation des dilutions :

- **La dilution mère :**

Cas de produits solides (viandes, fromages,...)

- Introduire aseptiquement 25 g de produit à analyser dans un flacon contenant 225 ml de dilution TSE (Tryptone Sel Eau)
- Homogénéiser

- Cette solution est dite dilution mère
- Laisser le flacon à 20°C pendant 30 à 45 min

Cas de produits liquides (lait pasteurisé en sachet...)

- mélanger de façon aseptique quelques sachets (en moyenne 5) pris au hasard parmi le lot à analyser
- Ce mélange est la solution mère SM

➤ **Les dilutions décimales :**

A partir de la solution mère préparer les dilutions décimales 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} si c'est n contrôle e routine, 10^{-5} jusqu'à 10^{-10} si toxi-infection.

2.1.2. Recherche des GAMT :

- Pendre deux boites de pétri pour chaque dilution décimale
- Porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution
- Compléter par 20 ml de gélose PCA ou TDYM fondue et refroidit à 45°C, bien mélanger
- Laisser solidifier pu ajouter une 2ème couche
- Après incubation, les colonies d GAMT sont sous forme lenticulaire en masse
- On compte le nombre de colonies ayant poussé sur les boites
- On ne compte que les boites contenant entre 15-300 colonies
- Toujours multiplier le nombre par l'inverse de la dilution
- Faire e suite la moyenne arithmétique entre les différentes dilutions

2.1.3. Recherche des coliformes totaux et fécaux

- Utiliser une gélose au désoxycholate (1 pour mille) ou gélose VRBL (gélose lactosée biliée au vert brillant et au rouge de phénol)
- Réaliser deux séries de boites pour chaque dilution
- Incuber les boites pendant 24- 48h,
- 1^{ère} série : incuber à 37°C recherche de coliformes totaux
- 2^{ème} série : incuber à 44°C recherche de coliformes fécaux
- Les coliformes et fécaux apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couler rouge foncé de 0,5 mm de diamètre, fluorescentes
- Il est impossible de trouver plus de CF que CT

2.1.4. Recherche de *S.aureus* :

- Au moment de l'emploi, faire fondre une gélose de Baird Parker , le refroidir
- Ajouter ensuite 15 ml d'une solution de jaune d'œuf au tellurite de potassium

- Ensemencer à partir des dilutions décimales
- Incuber à 37°C pendant 24- 48h.
- Sont positives, les boîtes contenant des colonies noires, brillantes, convexes entourées d'une zone de transparence qui peut être translucide
- Le diagnostic de *S. aureus* : catalase positive, coagulase positive.

2.1.5. Recherche de Salmonella

➤ **Pré-enrichissement :**

- Analyser dans un lacon contenant au préalable 225 ml d'eau peptonée. On met 25 g du produit à analyser
- Incubation à 37°C pendant 18h

➤ **Enrichissement :**

- Le milieu d'enrichissement est le milieu sélénite- cystéiné reparti à raison de 100ml par flacon
- A partir du milieu de pré enrichissement on met 10 ml dans un flacon de sélénite- cystéiné (en double)
- Incubation pendant 24h, une série à 37°C et 'autre à 42°C

- **Isolement** sur les milieux gélosés (gélose Hektoen, milieu gélosé bilié lactosé au vert brillant et au rouge de phénol, gélose S-S)

Après incubation :

- BLVBRP : Colonies roses entourées d'une zone d'hémolyse
- Hektoen : colonies gris- bleues à centre noir.
- Identification morphologique, biochimique et antigénique

2.1.6. Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs :

- Faire fondre, au moment de l'emploi, un flacon de gélose viande foie refroidir, puis ajouter une ampoule d'alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium.
- Les tubes contenant les dilutions 10^{-1} et 10^{-2} sont soumis d'abord à n chauffage à 80°C pendant 10 min, puis un refroidissement immédiat sous l'eau du robinet.
- A partir de ces dilutions, porter aseptiquement 1ml de chaque dilution en double dans deux tubes, puis ajouter environ 15 ml de gélose viande foie prête à l'emploi
- Incuber à 37°C pendant 6- 24h.

Après incubation :

- Les colonies de *Clostridium* sulfito réducteurs sont envahissantes et donc l'analyse est interprétable

- Il est impératif de repérer toute colonie noire et procéder à son identification biochimique

2.1.7. Recherche des levures et moisissures :

- A partir des dilutions 10^{-1} et 10^{-2} on met 4 gouttes de chaque dilution sur milieu Sabouraud Chloramphénicol
- il faut préparer un témoin négatif
- Incubation à 22°C pendant 5 jours.

Après incubation :

- Lecture des boîtes témoin d'abord, toute présence de levures et moisissures implique de refaire l'analyse
- Dénombrement des colonies de levures à art et es colonies de moisissures à part.

3. Analyse physicochimique

Les constituants chimiques, présents dans les aliments ou dans les matières premières utilisées pour leur fabrication, sont très diversifiés et se retrouvent en concentrations variables selon les aliments. Les principaux constituants alimentaires sont:

- l'eau
- les protéines
- les lipides
- les glucides
- les minéraux

Dans les laboratoires d'industries alimentaires, il est parfois nécessaire, pour diverses raisons, de faire l'analyse de certains de ces constituants alimentaires. Dans le cadre de ce cours, nous nous limiterons aux analyses physicochimiques considérées comme les analyses de base, soient:

- la teneur en eau
- la teneur en solides totaux
- la teneur en protéines
- la teneur en lipides
- la teneur en glucides
- la teneur en cendres
- l'acidité totale titrable
- l'acidité volatile

On retrouve deux types de méthodes d'analyse, les méthodes officielles et les méthodes de référence.

➤ **Méthode officielle**

Une méthode officielle est une méthode analytique acceptée et recommandée par les organismes internationaux qui en ont évalué les caractéristiques de performance (précision, exactitude, etc ...) par des études collaboratives impliquant plusieurs laboratoires à travers le monde.

➤ **Méthode de référence**

Une méthode de référence est une méthode officielle reconnue par les organismes internationaux comme étant la méthode qui donne le résultat le plus exact, c'est-à-dire le plus près de la valeur réelle de la concentration d'un constituant sous analyse. La méthode de référence donne habituellement les résultats les plus précis, par comparaison avec les autres méthodes d'analyse du constituant.

3.1. Méthodes de dosage de l'eau et des solides totaux

Les solides totaux sont définis comme étant le résidu d'un aliment restant après élimination de l'eau, dans des conditions expérimentales données. À l'exception des aliments contenant des constituants volatils (alcool, huile essentielle, etc ...), la somme de la teneur en eau et en solides totaux représente la totalité de l'aliment. On rapporte la teneur en eau ou en solides totaux selon le type d'aliment ou les normes de composition s'appliquant à l'aliment sous analyse.

$$\% \text{H}_2\text{O} + \% \text{S.T.} = 100\%$$

Presque tous les aliments contiennent deux types d'eau: l'eau libre, facilement évaporable, et l'eau liée par des ponts hydrogène aux macromolécules, tels les polysaccharides et les protéines. Cette eau est beaucoup plus difficile à évaporer et son élimination par la chaleur dépend des conditions expérimentales utilisées.

3.1.1. Méthode thermogravimétrique

La méthode thermogravimétrique est la méthode de référence pour la détermination de l'eau ou des solides totaux dans les aliments. L'analyse nécessite l'emploi d'une étuve ventilée ou d'un four à vide, ainsi que d'un dessiccateur contenant un agent desséchant.

➤ **Principe de la méthode**

On pèse l'échantillon. On élimine l'eau par chauffage dans des conditions prédéterminées jusqu'à ce que la masse de l'échantillon demeure constante. On pèse l'échantillon sec, c'est-à-dire les solides totaux.

$$\% \text{ S.T.} = \frac{\text{Masse (S.T.)} \times 100}{\text{Masse (échantillon)}}$$

$$\% \text{ H}_2\text{O} = 100 - \% \text{ S.T}$$

Conditions de chauffage et de pression:

- à 100-105 °C (étuve ventilée) ou à 70-75 °C (four à vide)

➤ **Facteurs influençant la précision et l'exactitude des résultats**

a. Échantillon contenant de la matière organique volatile.

L'analyse d'un aliment contenant des huiles volatiles, des acides volatils, de l'éthanol ou toute matière organique susceptible de s'évaporer en même temps que l'eau dans les conditions de l'analyse donnera des résultats inexacts pour la teneur en eau.

b. Échantillon formant un gel à la chaleur.

L'analyse d'un aliment contenant des composés formant un gel à la surface pendant le chauffage donnera des résultats imprécis (non reproductibles) et inexacts.

c. Échantillon riche en sucres.

L'analyse d'un aliment à haute teneur en sucres peut subir, pendant le chauffage, une décomposition pyrolytique des sucres conduisant à la formation d'eau. On obtient des résultats inexacts.

d. Échantillon séché hygroscopique.

Un échantillon, une fois séché, peut réabsorber l'humidité de l'air pendant les manipulations. Les résultats sont imprécis et inexacts.

3.2. Cendres totales

Les cendres totales sont le résidu de composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique. Les cendres représentent environ 1 à 5% de la masse d'un aliment sur une base humide, Principe de la méthode

On pèse l'échantillon. On le sèche puis on le pèse de nouveau si la teneur en cendres doit être déclarée sur une base sèche. On incinère l'échantillon à haute température, puis on pèse le résidu, c'est-à-dire les minéraux. Le % de cendres totales est calculé sur une base humide, mais le plus souvent sur une base sèche pour plus de reproductibilité dans les résultats.

$$\% \text{ cendres totales (base humide)} = \frac{M \text{ (cendres)}}{M \text{ (éch. humide)}} \times 100$$

$$\% \text{ cendres totales (base sèche)} = \frac{M \text{ (cendres)}}{M \text{ (éch. sec)}} \times 100$$

➤ **Facteurs influençant la précision et l'exactitude des résultats**

a. Aliments riches en gras (poissons, fromages) ou en substances volatiles (épices).

- éclaboussures pendant l'incinération (résultats non reproductibles).
- condition particulière d'opération:

b. Aliments riches en sucres (sirops, confitures).

- formation de mousse pendant l'incinération
- condition particulière d'opération:

c. Incinération incomplète.

- Une incinération sera incomplète si la température est trop basse ou si le temps d'incinération est insuffisant. Les cendres doivent être de couleur blanche ou grise, occasionnellement de couleur rougeâtre ou verte. Elles doivent être libres de particules de carbone imbrûlées ou de morceaux liquéfiés.

d. Manipulation et pesée des cendres.

- Les cendres sont très légères et ont une masse habituellement faible. De plus, certaines cendres, contenant du carbonate de potassium, sont hygroscopiques.

3.3. Méthodes de dosage des lipides

Les lipides sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques, tel l'éther éthylique. La plupart des méthodes de dosage des lipides exploitent ces propriétés physiques pour extraire les lipides des aliments dans le but de mesurer leur concentration.

Méthode Mojonnier

La méthode Mojonnier est la méthode de référence pour la détermination de la matière grasse dans les produits laitiers. Cette méthode gravimétrique, une adaptation de la méthode Roëse-Gotlieb.

➤ Principe de la méthode

Le produit laitier est pesé puis dissout dans la phase aqueuse contenant de l'hydroxyde d'ammonium et de l'alcool éthylique. La matière grasse est extraite à l'aide d'un solvant organique immiscible avec l'eau, composé d'éther éthylique et d'éther de pétrole. La phase organique est décantée dans un plat, le solvant évaporé et la matière grasse pesée.

$$\% \text{ lipides} = \frac{M (\text{lipides}) \times 100}{M (\text{échantillon})}$$

➤ Facteurs influençant la précision et l'exactitude des résultats

a. Produits laitiers contenant des agents épaississants.

Certains produits laitiers contiennent des agents épaississants, qui causent des émulsions entre la phase aqueuse et la phase organique. Les résultats obtenus sont non reproductibles. Une façon de contourner le problème est de peser moins de produit laitier et de remplacer la différence par de l'eau.

b. Qualité des solvants organiques.

À l'achat de tout nouveau contenant d'éther éthylique ou d'éther de pétrole, on vérifie la qualité du solvant en faisant un blanc. Le volume total d'éther éthylique et d'éther de pétrole normalement utilisé pour une analyse ne doit pas contenir plus de 0,5 mg de résidu non évaporable.

c. Décantation accidentelle de la phase aqueuse.

La phase aqueuse contient tous les solides hydrosolubles du lait (protéines, lactose, minéraux, etc...). Toute décantation accidentelle de la phase aqueuse augmente la masse de gras et donnera un résultat plus élevé que le résultat attendu.

3.4. Méthodes de dosage des glucides

Il existe beaucoup de méthodes de dosage des glucides. Certaines de ces méthodes utilisent le pouvoir réducteur ou non réducteur des sucres. Un sucre réducteur doit posséder dans sa structure une fonction aldéhyde ou cétone libre.

Méthode Lane-Eynon

La méthode Lane-Eynon est une méthode volumétrique de détermination des sucres réducteurs totaux dans les aliments. C'est une méthode empirique qui relie, à l'aide d'une table de conversion, une quantité de sucres réducteurs contenus dans un volume de solution alimentaire requis pour réduire un volume donné de réactif de Fehling.

➤ Principe de la méthode

La méthode est basée sur la capacité des sucres réducteurs de réduire l'hydroxyde cuivrique en oxyde cuivreux. On titre à chaud un volume donné de réactif de Fehling (10 ml ou 25 ml) à l'aide d'une solution de l'aliment contenant le ou les sucres réducteurs. L'indicateur Bleu de méthylène est utilisé pour rendre plus claire la disparition de la couleur bleue du réactif de Fehling (point de virage). Le volume de solution alimentaire utilisé pour le titrage est converti en mg de sucres réducteurs à l'aide d'une table de conversion.

Quantités mesurables de sucres réducteurs:

L'aliment doit être dilué de façon à ce que le volume de solution alimentaire utilisé pour le titrage corresponde à une quantité mesurable de sucres réducteurs.

On doit utiliser des colonnes de conversion spécifiques pour les aliments contenant un mélange de sucre inverti et de sucrose.

Dosage indirect du sucrose

Le sucrose, un disaccharide non réducteur, ne peut donc pas être dosé directement par cette méthode. Cependant, il est possible de le doser indirectement en faisant d'abord une hydrolyse du sucrose, puis en appliquant la méthode sur les produits d'hydrolyse. En effet, l'hydrolyse du sucrose donne des quantités égales de D-glucose et de D-fructose.

➤ Facteurs influençant la précision et l'exactitude des résultats

a. Détection du point de virage.

Le titrage de la solution de Fehling par la solution alimentaire doit se faire rapidement pendant le chauffage de la solution de Fehling à ébullition. La détection du point de virage peut être difficile pour un manipulateur inexpérimenté.

b. Choix de la colonne de sucre réducteur dans la table de conversion.

La méthode dose l'ensemble des sucres réducteurs dans un aliment, mais le résultat doit être exprimé en % d'un sucre réducteur particulier. Les résultats sont donc inexacts si l'aliment contient plusieurs sucres réducteurs différents.

3.5. Méthodes de dosage des acides organiques

Beaucoup d'aliments contiennent différents acides organiques plus ou moins volatils. Certains sont des liquides, comme l'acide acétique, tandis que d'autres sont des solides, comme l'acide citrique. On retrouve dans les aliments des monoacides, des diacides et même des triacides organiques.

Acidité volatile

Les acides organiques volatils sont ceux qui codistillent avec la vapeur d'eau. Le plus important présent dans les aliments est l'acide acétique. La détermination de l'acidité volatile sert à évaluer la qualité de certains aliments, tels les vins, ou leur degré de maturation.

Principe de la méthode

L'aliment est mis en solution dans un appareil capable de produire de la vapeur d'eau. Par chauffage, les acides organiques volatils sont entraînés par la vapeur d'eau. Le distillat contenant les acides volatils est titré par une solution standardisée de NaOH 0,1N, en présence d'un indicateur. Le résultat est exprimé habituellement en % d'acide acétique par 100 ml ou 100 g d'aliment.

Facteurs influençant la précision ou l'exactitude des résultats

Volume de NaOH utilisé pour le titrage.

Comme la quantité d'acides volatils dans les aliments est très petite, le volume de NaOH nécessaire pour le titrage l'est également. Pour obtenir un maximum de précision, on utilise une micro burette de 10 ml avec des divisions de 0,05 ml.

3.6. Méthode de dosage des protéines

Contrairement aux sucres et aux lipides, les protéines contiennent de l'azote. Cette propriété sera exploitée dans la méthode de détermination de la teneur en protéines dans les aliments.

La méthode **Kjeldahl** est la méthode de référence pour la détermination des protéines dans les aliments. Il existe deux versions de la méthode qui utilisent le même principe: la méthode macro-Kjeldahl et la méthode micro-Kjeldahl. Elles diffèrent seulement par l'appareillage utilisé et les quantités d'échantillon; la masse d'échantillon analysée par la méthode macro-Kjeldahl est environ 5 fois plus élevée que celle analysée par la méthode micro-Kjeldahl.

Principe de la méthode

La détermination des protéines par la méthode Kjeldahl s'effectue en trois étapes:

Étape 1: Digestion ou minéralisation de l'échantillon

Pendant l'étape de la digestion, l'azote protéique est transformé en azote ammoniacal par oxydation de la matière organique dans l'acide sulfurique concentré à haute température, en présence d'un catalyseur et d'un sel:

Étape 2: Distillation de l'ammoniac

Avant de distiller l'ammoniac à la vapeur d'eau, on doit libérer l'ammoniac sous la forme du sel $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ par l'addition d'une solution concentrée de NaOH en excès:

L'ammoniac est ensuite distillé par la vapeur d'eau et piégée dans une solution d'acide borique. L'ammoniac réagit avec l'acide borique pour former des sels borates d'ammonium:

Étape 3: Titrage de l'ammoniac

L'ammoniac sous la forme de borates d'ammonium est titré directement à l'aide d'une solution standardisée d'acide, tel HCl ou H_2SO_4 , et d'un indicateur:

- On fait un blanc en mettant tous les réactifs sauf l'échantillon, pour soustraire l'ammoniac contenu dans les réactifs de l'ammoniac contenu dans l'échantillon.

Calcul du % de protéines dans l'échantillon

Le % de protéines dans l'échantillon est obtenu en multipliant le % d'azote par un facteur F dépendant du type d'aliment analysé.

$$\% \text{ protéines} = \% \text{ N} \times F$$

Le tableau suivant montre les principaux facteurs utilisés avec la méthode Kjeldahl.

Aliment	Facteur
farine de blé	5,70
pain	5,70
produits laitiers	6,38
amandes	5,18
arachides	5,46
noix du Brésil	5,46
autres noix	5,30
facteur général	6,25

- Pour les aliments dont on ne connaît pas la protéine principale ou qui sont préparés avec des ingrédients contenant plusieurs types de protéines, on utilise le facteur général de 6,25.

- La valeur du % d'azote obtenue par la méthode Kjeldahl n'est pas une valeur exacte du contenu d'azote protéique dans l'échantillon, car l'azote des acides aminés libres, des acides nucléiques, des sucres aminés, etc ..., y est inclus.

- La valeur du % de protéines n'est pas non plus une valeur exacte, car le facteur utilisé tient compte uniquement de la principale protéine contenue dans l'aliment.

Facteurs affectant la précision et l'exactitude des résultats

- a. Erreur sur le volume de HCl pour titrer le blanc.
- b. Concentration inexacte de la solution titrante de HCl.
- c. Perte d'ammoniac pendant la distillation.
- d. Temps de digestion trop court pour minéraliser tout l'échantillon.
- e. Volume trop petit de HCl requis pour titrer les échantillons.
 - 1) le volume de HCl requis pour titrer les échantillons est d'environ 3,5 ml.
 - 2) le volume de HCl requis pour titrer les échantillons est d'environ 10 ml.