1ere année master biochimie appliqué

ABA

Bouheda Amina

Analyses biochimiques des aliments



**Intitulé du Master : BIOCHIMIE APPLIQUEE  
Semestre *:* 01  
Intitulé de l’UE : UE Fondamentales  
Intitulé de la matière : Analyses Biochimiques des aliments  
Crédits : 6  
Coefficients : 3  
Objectifs de l’enseignement** (*Décrire ce que l’étudiant est censé avoir acquis comme  
compétences après le succès à cette matière – maximum 3 lignes).*L'étudiant suivant cette unité est censé connaître les différents aspects et techniques  
biochimiques qui régissent le contrôle de qualité des aliments. De plus, les étudiants vont  
acquérir des notions de normalisation et connaître les normes nationales et internationales  
**Connaissances préalables recommandées (***descriptif succinct des connaissances  
requises pour pouvoir suivre cet enseignement – Maximum 2 lignes)*Biochimie structurale et métabolique.

Contenu de la matière :IntroductionComposition des Aliments- Aliments d’origine animale  
- Aliments d’origine végétale.  
Standardisation et normalisation des méthodes d'analyses et expression desrésultatsDosages des constituants des aliments- Dosage de l’eau- Dosage des minéraux- Dosage des sucres- Méthode polarimétrique.  
- Méthodes colorimétriques.  
- Dosage des protéines- Méthode de kdjeldahl  
- Méthodes colorimétriques (Bradford, Lowry, Biuret..ect).  
- Analyse qualitative d’une huile ou d’une graisse- Indice de saponification  
- Indice d’iode  
- Acidité libre  
- Indice d’hydroxyle  
- Les acides gras volatils  
- Degré d’oxydation d’une graisse  
- Analyse quantitative des Lipides

- Estimation du pourcentage de matières grasses dans les produits alimentaires

- Isolement et dosage des constituants lipidiques a partir d’un extrait lipidique  
total  
- Dosage du cholestérol.  
- Méthode gravimétrique.  
- Méthodes colorimétriques  
**- Dosage des Vitamines**- Dosage des vitamines hydrosolubles Exemple : Vitamine C  
- Dosage des vitamines liposolubles (Groupe ADEK) Exemple vitamine E.

Introduction

On appelle des aliments tout substance non toxique capable de satisfaire ou :

-Besoin nutritif de l’organisme, besoin de matière, besoin de chaleur et d’énergie mécanique.

L’aliments est aussi définit comme tout molécules capables de réparer les pertes des partie solides ou liquides de notre corps.

# L’aliment n’est pas jamais complet, puisque les aliments sont complémentaires les uns a l’autres.

La digestion est une transformation mécanique et chimique des aliments a des nutriments assimilable mécanisme a l’organisme.

Il existe 5 catégories de nutriment qui sont : les glucides, les lipides, les vitamines, les protéines et les sels minéraux.

L’aliments nutriments substance.

Lait lactose glucose galactose.

Viande peptide AA.

Certain nutriments constitués une source d’énergie important pour l’organisme, ce dernier utilise cette énergie pour maintenir la T° du corps et assurer les processus vitaux.

La nutrition est une science qui étudié les relations de l’être humain avec la nourriture et s’intéresse a l’utilisation des nutriments a la santé alimentaire, au besoin nutritifs population a l’étude dz les comportement et au production agroalimentaire.

Les nutriments possèdent plusieurs valeurs :

1. Valeur énergétique : On définit la valeur énergétique par le Nbre de calories exprimée100 g d’aliment ou bien 100 ml d’aliment. 1 Kcal = 4 Kj.
2. Valeur nutritive : elle représente la richesse du nutriment un glucides, lipides, prot, vit, minéraux….
3. Valeur sanitaire : n’importe quel produite alimentaire doit obligatoirement apte a la consommation humaine.

Contrôle sanitaire Aspet physicochimique.

Aspet microbiologique.

1. Aspet physicochimique : plusieurs paramètre sont vérifié talque : PH, l’eau, glucides, lipides, Acides volatiles et titrable, Vit, Prot, minéraux.
2. Aspet microbiologique : recherche des bactéries.

Champignons.

Le contrôle sanitaire est aussi vérifie par deux dates très importante :

DLC : date limites de consommation.

DPC : date préférentielle de consommation.

DEx : date expiration.

1. Valeur organoleptique (le gout, l’odeur, texture………. ).

**L’origine des aliments :**

On peut classer les aliments selon leur origine a : des aliments végétaux, les aliments animaux, les aliments minéraux et les aliments synthétique.

\* Les aliments végétaux : sont classés selon l’anatomie de la plante (fruits, graines, tubercules …), ou selon systématique Ex graminées, algue ..

\* Les aliments animaux : sont classes selon la systématique (mammifères, oiseau, poissons...) ou bien selon le tissu en muscle, foie…

Les aliments minéraux : comme l’eau…

Les aliments synthétiques ou artificielles sont en riche en mélange d’AA ou TG (formages et viande d’origine synthétique).

Remarque :

\*ON devise les aliments a :

* Les produits laitiers.
* Les viandes et produits carnés, les poisons et les œufs.
* Les céréales et dérivé légumineuses.
* Légumes et fruits.
* Les huiles et margarines...
* L’eau, boisson…
* Les produits sucrés.

\*La composition d’un aliment est : Les glucides, les lipides, les protéines, l’eau, les minéraux, les vitamines et les fibres.

**Standardisation et normalisation des méthodes d'analyses et expression des  
résultats**

La standardisation transforme les valeurs d'une variable pour qu'elles aient une moyenne de 0 et un écart-type de 1.

Le plus simple consiste à utilises un logiciel d’analyse de données spécialement conçu a cette effet. Pour calculer cette moyenne, il faut additionner toutes les valeurs de données, puis diviser cette somme par le nombre total de valeurs dans l'ensemble de données.

Contrairement a la normalisation, la standardisation ne fixe pas de plage spécifique pour les valeurs transformées. Ensemble des techniques qui ont pour objet de définir les produits et /ou les méthodes de fabrication aptes a satisfaire des besoins spécifiés.

**les paramètres évalués lors d'une validation de méthode analytique :**

1**. La spécificité** (ou sélectivité)

La [méthode d’analyse](https://filab.fr/nos-prestations/accompagnement-rd/cycle-vie-methode-analytique/) doit permettre de quantifier l’analyte seul, c’est-à-dire sans qu’il n’y ait d’interférences liées à la matrice (impuretés, autres constituants…). Elle sera observée par comparaison de l’analyte avant et après dopage de la matrice.

2.**La fidélité**

La fidélité représente l’étroitesse de l’accord entre les résultats d’essais indépendants, réalisés dans des conditions prédéfinies.  Trois opérateurs suivent la méthode sur le même appareil.  Pour pouvoir la valider, il est nécessaire que tous les trois retrouvent les mêmes résultats.

3. **La justesse**

La justesse est l’étroitesse de l’accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d’une large série de résultats d’essai et une valeur vraie (valeur de référence). Elle s’exprime généralement en termes de taux de recouvrement et de son intervalle de confiance.

4. **La linéarité**

La linéarité d’une méthode d’analyse est la capacité à obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration de l’analyte dans la matrice.

5. **La sensibilité**

La sensibilité d’une méthode est la capacité à distinguer deux concentrations très voisines d’un analyte. Elle est évaluée généralement au travers de la LoD, de la LoQ et de la pente de de la courbe d’étalonnage.

6. **La Limite de Détection (LoD) et la Limite de Quantification (LoQ)**

Le « zéro » en chimie analytique n’existe pas ! De manière générale, la limite de détection LoD et la limite de quantification LoQ sont souvent estimées approximativement à partir du rapport signal/bruit (S/B) d’un analyte mesuré dans la matrice.

7.**La stabilité**

Ce paramètre est apparenté à la stabilité de l’analyte au cours du temps. Evaluer la stabilité permet de vérifier la conservation des échantillons au cours du temps pour réaliser la méthode.

8.**La robustesse**

C’est la capacité d’une méthode à donner des résultats d’une précision acceptable dans des conditions variables minimes. Elle permet donc d’évaluer la fiabilité d’une méthode analytique dans des conditions d’usage de routine.

9.**L’incertitude**

L’incertitude de mesure peut être définie de plusieurs manières. De nombreux référentiels abordent la validation de méthodes analytiques et les critères d’acceptation, entre autres:

**Les étapes d’analyse**

Les principales étapes du processus danalyse consistent à cerner les sujets d’anlyse, à déterminer la disponibilité de données appropriées, à décider des méthodes qu'il y a lieu d'utiliser pour répondre aux questions d'intérêt, à appliquer les méthodes et à évaluer, résumer et communiquer les résultats

L'objectif de l'analyse des données est d’extraire une information statistique qui permet de cerner plus précisément le profil de la donnée.Les résultats obtenus permettent ensuite d'optimiser la stratégie de la société en question en ajustant certains points.

**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 prélevé pour l’analyse doit être le plus représentatif possible du lot. Appelé parfois la prise d’essai, c’est la portion de l’échantillon ou du sous-échantillon utilisée pour une analyse physico-chimique.

\*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.

**CHAÎNE DE PRÉLÈVEMENT**LOT  
ÉCHANTILLON  
SOUS-ÉCHANTILLON  
ALIQUOTE

(Analyse physico-chimique)

**Les principes généraux pour la préparation des échantillons  
1)** **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)  
**2) 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 ...)  
3) **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 O2 (rancissement)  
-Modification de la concentration des constituants  
- Absorption d’humidité par les aliments hygroscopiques  
- Evaporation 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.  
4) **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.  
**Exemples de préparation d’échantillons tirés du AOAC  
1) Produits laitiers**

**Laits**Pour les laits homogénéisés, amener la température à 20oC, mélanger par inversion ou  
par transvidage entre deux contenants et prélever immédiatement l’aliquote.  
Pour les laits crus, chauffer l’échantillon à 38oC, mélanger par inversion ou par transvidage entre deux contenants, ramener la température à 20oC, mélanger de nouveau et prélever immédiatement l’aliquote.

**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.

**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.  
**4) Aliments à base de céréales   
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.

**5) Sucres et produits sucrés** 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 bainmarie à 60oC pendant 30 minutes, puis à 65oC pour liquéfier complètement le miel. Bien mélanger avant de prélever l’aliquote.

**7) Produits marins   
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.

**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 (20oC).  
- 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.

**Prélèvement par pesée directe de l’aliquote**  
Le récipient dans lequel doit être déposé l’aliquote pour effectuer l’analyse est placé sur la balance. Exemple :  
- Placer un plat d’aluminium sur la balance analytique et noter sa masse.  
- Tarer le plat puis ajouter rapidement environ 2 ml de lait.  
- Noter la masse de l’échantillon aussitôt que la balance affiche g.

**Prélèvement par pesée indirecte de l’aliquote**Le récipient dans lequel doit être déposé l’aliquote pour effectuer l’analyse n’est pas placé sur la balance, pour des raisons diverses (poids trop élevé du récipient, récipient trop volumineux, échantillon perdant rapidement son eau, impossibilité de transférer adéquatement l’aliquote directement dans le récipient….etc.).  
On place plutôt l’instrument servant à prélever l’aliquote sur la balance et on procède généralement par différence de poids. Exemple : Placer sur la balance analytique un support métallique et une pipette remplie d’environ 10 ml de lait. Noter la masse. Retirer la pipette et verser le lait dans un tube. Replacer la pipette sur le support et noter de nouveau la masse.

**Les instruments de prélèvement sont :**- Pipette.  
- Seringue jetable en plastique.  
- Compte-gouttes jetable.  
- Nacelle jetable, bêcher.  
- Cuillère graduée.  
- Pincette en métal.  
- Spatule.  
- Papier-filtre.  
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

**Les methodes d’analyse**

La recherche d’une méthode d’analyse physico-chimique se fait normalement en consultant les manuels d’analyse publiés périodiquement par des organismes internationaux, dont les principaux sont:

- l’AOAC: Association of Official Analytical Chemists. Cet organisme publie à tous les 4 ou 5 ans une version révisée du manuel Official Methods of Analysis. Ce manuel contient plusieurs milliers de méthodes d’analyses physicochimiques applicables au domaine alimentaire.

- la FIL: Fédération Internationale de Laiterie. Cet organisme publie des méthodes, appelées normes, pour l’analyse des produits laitiers.

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

**Méthodes de référence**

Elles peuvent être spécifiées par les autorités réglementaires à des fins de mise en application ou être stipulées par des organisations commerciales en vue du règlement des différends. Elles ont subi des essais inter laboratoires poussés et leurs caractéristiques de performance sont bien documentées. La fidélité de ces méthodes (c'est-à-dire l'accord entre les résultats obtenus à des moments différents ou par des analystes différents ou dans des laboratoires différents) est très importante. Parfois, ces méthodes ne sont pas strictement précises, c'est-à-dire qu'elles peuvent être sujettes à une erreur systématique qui entraîne un résultat erroné - mais qui s'appliquent à tous les laboratoires de la même manière et ne compromettent pas la comparaison inter laboratoires des résultats. Ou bien il peut y avoir des procédures qui donnent un résultat dépendant d'une méthode pour une substance alimentaire non caractérisée, par exemple les fibres alimentaires. Leur caractéristique la plus importante est leur aptitude à donner des résultats comparables dans n'importe quel laboratoire compétent.

Dans ces cas, la méthode doit être spécifiée de manière très précise et suivie scrupuleusement. Tout écart de la méthode prescrite peut donner lieu à une erreur systématique, laquelle entachera d'un biais tous les résultats de cette analyse.

**Méthodes officielles**

Elles peuvent elles aussi être stipulées par des organisations commerciales ou par des autorités réglementaires et sont considérées comme des méthodes qui peuvent être utilisées quotidiennement pour les travaux ordinaires. Elles auront fait l'objet d'un grand nombre d'essais comparatifs interlaboratoires et bien qu'elles ne donnent généralement pas les mêmes caractéristiques de performance et de qualité que les méthodes de référence, elles sont plus rapides, plus pratiques et moins coûteuses et elles ont une fidélité et une précision suffisantes pour la plupart des substances à analyser. Elles doivent assurer un accord acceptable avec la méthode de référence concernant la valeur "vraie" du paramètre mesuré, en particulier lorsque celui-ci est proche d'un niveau d'intervention. Lorsqu'un résultat particulier risque d'être remis en question, la substance doit faire l'objet d'une nouvelle analyse par la méthode de référence.

**Méthodes courantes du laboratoire**

II peut s'agir de méthodes d'analyses qui ont été mises au point à l'intérieur du laboratoire; bien que certaines soient nouvelles, elles sont le plus souvent fondées sur une méthode officielle qui a été simplifiée de manière à être plus facile, plus rapide, plus économique, plus avantageuse à utiliser. Elles n'ont généralement pas fait l'objet d'essais interlaboratoires mais ont fait la preuve de leurs caractéristiques de performance (hormis la reproductibilité) qui sont comparables à celles de la méthode officielle. Comme les autres méthodes habituelles, elles doivent être en étroit accord avec la méthode de référence en ce qui concerne les valeurs proches de la concentration d'alerte et si un résultat risque d'être remis en question, il faut utiliser la méthode de référence pour conduire une nouvelle analyse.

**Dosages des constituants des aliments  
- Méthodes de dosage de l’eau et des solides totaux**

L’eau représente un pourcentage très variable selon les aliments.

La matière sèche est composée de la matière organique et de la matière minérale, obtenue par dessiccation de l’aliment, la matière sèche est le résidu sec.

La teneur des aliments en matière sèche peut-être la plus grande raison de variation dans la composition des aliments. Pour cela, les constituants chimiques et biologiques sont rapportés sur la base de la matière sèche.

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.

% H2O + % 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.

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 dessicateur contenant un agent desséchant.

** Principe de la méthode**

On pèse l’échantillon. On élimine l’eau par chauffage dans des conditions prédéterminées (à 100-105°C (étuve ventilée) ou à 70-75oC (four à vide)) jusqu’à ce que la masse de l’échantillon demeure constante. On pèse l’échantillon sec, c’est-à-dire les solides totaux.

**% S.T. = (Masse (S.T.)/Masse de léchantillon)x 100**

**% H2O = 100 - % S.T**

**Méthode avec la balance avec lampe à infrarouge :**

Cette méthode est une version rapide de la méthode conventionnelle. L’échantillon pesé est chauffé à l’aide d’une lampe à rayons infrarouge pendant un temps déterminé.

La balance calcule la perte de poids de l’échantillon par rapport au temps. La balance la méthode de référence. Les variables ajustables sont :

- Masse d’échantillon déposée sur la balance

-Intensité lumineuse de la lampe (l’échantillon ne doit pas brûler)

- Temps de chauffage

**Méthode avec le four à micro-ondes :**

Cette méthode utilise le même principe que la méthode précédente. L’élimination de l’eau se fait à l’aide de micro-onde.

**Facteurs influençant la précision et l’exactitude des résultats :**

1. Échantillon contenant de la matière organique volatile.
2. Échantillon formant un gel à la chaleur.
3. Échantillon riche en sucres
4. Échantillon séché hygroscopique.
5. Autres sources d’erreurs affectant la précision ou l’exactitude.

a) dépôt de la graisse des doigts sur le plat avant la pesée.

b) plat non conditionné.

c) perte d’eau par évaporation pendant la pesée de l’échantillon.

d) quantité et répartition de l’échantillon dans le plat.

e) nombre trop élevé d’échantillons placés dans le four.

f) intensité lumineuse et temps de chauffage non calibrés (balance à rayons infrarouge.

**2. Méthode thermovolumétrique**

Cette méthode est utilisée pour la détermination de l’humidité dans les aliments à faible teneur en eau (graines, moulées, épices, etc ..). La méthode mesure directement la quantité d’eau éliminée de l’aliment.

Principe de la méthode

On pèse l’échantillon. On élimine l’eau par distillation avec un solvant immiscible avec l’eau qui forme un mélange azéotropique avec l’eau. L’eau éliminée de l’échantillon est piégée dans un tube collecteur gradué. Lorsque toute l’eau est distillée, on mesure le volume d’eau recueilli dans le tube collecteur gradué (voir montage à la page suivante).

-On utilise un solvant immiscible avec l’eau et moins dense que l’eau, tel le benzè-ne, le toluène ou le xylène. Par exemple, le toluène (P.E. 110oC) forme à la distillation un azéotrope avec l’eau ayant un point d’ébullition de 85oC.

- pour les calculs, on considère que la masse volumique de l’eau est de 1 g/ml à la température ambiante.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **% H2O= V(eau) x 100   M(échantillon)** | **=** | **M (eau) x 100  M(échantillon)** |

**Facteurs influençant la précision et l’exactitude des résultats**

- Etat de l’échantillon : légumineuses entières

- Temps de la distillation pour une extraction complète de l’eau.

- Formation d’émulsion à l’interface de l’eau et du solvant, conduisant à une lecture imprécise du volume d’eau.

- Gouttes d’eau accrochées à la paroi du réfrigérant et du tube collecteur.

- Volume d’eau recueilli : devrait se situer entre 2 et 5 ml.

- Incertitude sur le volume : ± 0,1ml

**Méthode de dosage des cendres**

Les matières minérales (MM), appelées également cendres, sont les résidus laissés après l’incinération de la matière sèche.

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.

Les aliments pesés, sont mis dans un four à moufles pendant quelques heures à 550ºC, placés dans un dessiccateur jusqu’à ce que les échantillons aient atteint la température ambiante, puis pesés de nouveau. Cette valeur est la teneur de l’échantillon en matière minérale.

% cendres totales base humide) = (Masse / Masse éch. humide) X 100

% cendres totales (base sèche) = (Masse des cendres /Masse éch. sec) X 100.

**Cendres solubles et insolubles dans l’eau :**

Les cendres solubles et insolubles dans l’eau peuvent être utiles dans certains aliments.

Par exemple, elles servent à évaluer le contenu en fruits des confitures, ou la quantité de corps étrangers (ajout de sable) dans les épics Principe de la méthode.

Pour déterminer les cendres insolubles dans l’eau, on dissout la partie soluble des cendres totales dans l’eau chaude qu’on filtre sur un papier filtre. Le résidu insoluble sur le papier filtre est incinéré de nouveau pour brûler le papier filtre. On pèse les cendres insolubles. Le % de cendres solubles est déduit par calcul.

**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.  
⮚ **Dosage des sucres réducteurs par la méthode Lane-Eynon**La méthode Lane-Eynon est une méthode volumétrique de détermination des sucres  
réducteurs totaux dans les aliments. C’est une méthode colorimétrique. 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 des sucres réducteurs par la méthode Munson-Walker**

La méthode Munson-Walker est une méthode gravimétrique de détermination des sucres réducteurs totaux dans les aliments. C’est une méthode colorimétrique empirique qui relie, à l’aide d’une table de conversion, une quantité de précipité formé par la réaction de Fehling à une quantité d’un sucre réducteur particulier.

Principe de la méthode

Les sucres possédant une fonction aldéhyde ou cétone libre peuvent réduire l’hydroxyde cuivrique (réactif de Fehling) en oxyde cuivreux, un précipité de couleur rouge brique.

L’aliment est mis en solution et une portion de la solution est traitée avec un excès de la solution de Fehling. Le précipité Cu2O formé par la réaction est récupéré quantitativement, séché et pesé. La quantité de précipité est convertie en mg de sucres réducteurs à l’aide d’une table de conversion (table de Hammond).

Quantités mesurables de sucres réducteurs :

L’échantillon doit être dilué de façon à ce que la quantité de précipité Cu2O formé par la réaction puisse être convertie en quantité mesurable d’un sucre réducteur dans la table de Hammond.

⮚ **Dosage des sucres réducteurs par la méthode polarimétrique (par polarimètre)**

Les sucres sont menues d’un pouvoir rotatoire spécifique qui est la capacité de dévier l’angle de la lumière polarisé soit vers la droite soit vers la gauche avec un angle de déviation spécifique.

Cette méthode de dosage spécifique pour les sucres réducteurs ou non réducteurs permet de calculer la pouvoir rotatoire de chaque sucre selon la loi de Biot :

[α] 20°= α observé / [C]. L

**Méthodes 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.

1. **Méthode de kjeldahl**

La méthode Kjeldahl est la méthode de référence pour la détermination des protéines dans les aliments.

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 : MO → NH4+

- l’acide sulfurique concentré a pour but d’oxyder la matière organique et de transformer l’azote protéique en ammoniac NH3. Il sert également à piéger l’ammoniac gazeux sous la forme de sulfate d’ammonium, par action de la base avec l’acide :

- l’addition du sel K2SO4 a pour but d’élever le point d’ébullition de la solution pour accélérer la réaction de minéralisation de la matière organique.

-le catalyseur utilisé peut être Hg (HgO), Cu (CuSO4) ou Se.

**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 (NH4)2SO4 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 H2SO4, 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.  
**% protéines = % N x F = [(VE- VB) x CN x 14,01 x F/] Masse de l’échantillon**

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**.

1. **Méthodes colorimétriques (Bradford, Lowry et Biuret).**

Les protéines contiennent de l’azote, cette propriété exploitée dans la methode de détermination de la teneur en protéine dans les aliments. On a plusieurs méthodes quantitative et qualitative tel que : Biuret, Lowry , Bradford…..

Ces techniques demandent un traitement de l’échantillon a mesurer par une substance chimique qui au contact des protéines, produira un changement de couleur que l’on peut quantifier par spectrophotométrie si on dispose d’une courbe standard fiable.

* **Méthode du biuret :**

La **méthode du biuret** est une **méthode** de dosage colorimétrique des protéines, permet de mettre en évidence les liaisons de type peptidiques.

Technique pour detecter les protéines dans une solution, qui prends son nom de la substance biuret (H2NCONHCONH2), formée quand l’urée est chauffée (elle présente une liaison de type peptidique).

La méthode consiste à mettre en milieu basique des ions cuivre (II) apporté sous forme de sel (sulfate de cuivre) réagit avec les liaisons peptidiques des protéines et la solution se colore bleu en violet avec une absorption maximum a 550 nm. Cette coloration ne se développe pas en présence des acides aminées libres.

Pour utiliser le réactif du biuret il faut broyer l'aliment testé dans un peu d'eau avant de mettre le mélange dans un entonnoir avec un filtre. Le mélange est filtré puis le filtrat est récupéré dans le bécher. On ajoute ensuite quelques dû réactifs et on observe la coloration.

* **Méthode de lowry :**

C’est une méthode de dosage colorimétrique des protéines, Elle est complémentaire a celle du biuret puisque le protéine réagit tous d’abord avec le « Gronall » puis dans un second tems un réactif « phosphotungstomolybdique cuivrique » réactif de folin cioccalten, ce réactif permet de la réduction des AA aromatique (Tyr, tryp..) conduisant à la formation d’un complexe colorée bleu foncé a 650 nm-750nm.

Cette technique bénéficie de meilleure sensibilité que la méthode de biuret il est possible de réaliser les mesures dans des solution des protéines relativement dilués.

* **Méthode de Bradford :**

C’est un dosage colorimétrique, basé sur le changement d’absorbance, la mesure se fait a 595 nm se manifestant par le changement de couleur de bleu de Coomassie après liaison avec les AA basique et les résidus aromatiques (en milieu acide).

- La forme cationique (+) instable forme libre rouge possède un spectre d’absorption maximal a 465 nm a 470 nm.

- La forme anionique (-) lie a une protéine (bleu) est absorbé a 595 nm.

Ce changement d’absorbance est proportionnel à la quantité du colorant liée.

- La méthode de Bradford est moins sensible aux interférences par divers agent présent dans l’échantillon a analysé elle efficace et inutilisable pour AA, peptides, Prot de PM ≥ 3000 DA.

**Analyse qualitative d’une huile ou d’une graisse**

Bien qu’il n’existe pas de critère scientifique permettant de distinguer une huile d’une graisse, on utilise couramment le premier terme pour désigner une matière grasse liquide à la température ordinaire et le second pour désigner une matière grasse solide. Les huiles et graisses alimentaires sont constituées principalement de triglycérides, c. a .d. de glycérol combiné de 3 molécules d’acides gras ; ces 3 molécules sont rarement d’une même sorte ce qui fait que les triglycérides sont généralement des glycérides mixtes (14). Les matières grasses naturelles contiennent aussi parfois de petites quantités de monoglycérides ainsi que des acides gras libres, des phosphatides et des substances insaponifiables - (hydrocarbures, stérols et vitamines liposolubles). Rappelons que les acides gras entrant dans la constitution des lipides naturels sont presque exclusivement des acides à chaîne droite et à nombre pair d’atomes de carbone allant de C4 à C24’ Certains comme les acides palmitique, stéarique et oléique sont particulièrement fréquents. On distingue parfois différents groupes d’huiles ou de graisses qui semblent avoir une parenté de constitution ; c’est ainsi que l’on parle de groupe butyrique, de groupe laurique, de beurres végétaux, de graisses animales. Il faut cependant remarquer que le fait de connaître la composition exacte en acides gras d’une huile ou d’une graisse, en admettant que la chose soit toujours possible ne suffit pas à la définir, d’une part à cause de la présence des constituants non glycéridiques, d’autre part à cause du polymorphisme même des glycérides naturels. On peut donc dire que l’analyste n’aura jamais trop de critères physiques ou chimiques à sa disposition pour caractériser une matière grasse. Comme il s’agit bien souvent de tests plus ou moins empiriques, on n’insistera jamais trop non plus sur la nécessité de les appliquer avec minutie et dans des conditions rigoureusement définies. C’est l’interprétation de l’ensemble des résultats obtenus par ces tests qui permettra à un technicien expérimenté de faire le « diagnostic » d’une huile ou d’une graisse. Il va de soi qu’il serait parfaitement absurde de se livrer à ces recherches qui sont souvent longues et délicates sur un échantillon qui ne serait pas parfaitement représentatif. Ceci dit, quels sont les tests analytiques utilisés ? Il en existe un nombre tellement considérable que nous ne ferons qu’énumérer les principaux. Il existe de nombreuses méthodes physiques pour déterminer le point de fusion, le point de solidification et le titre, la consistance, la viscosité, la densité, l’indice de réfraction, etc... On en trouvera l’exposé détaillé dans des revues spécialisées. Nous dirons seulement un mot des méthodes chimiques les plus courantes, car elles sont d’un usage très général en matière de Biochimie des lipides :

**a) l’indice de saponification** (quantité de potasse en mg nécessaire pour saponifier i g de corps gras) renseigne sur le poids moléculaire moyen des acides gras. L’équivalent de saponification est le nombre de grammes de substances saponifiées par 56, 1 mg (un équivalent de KOH). On utilise de la potasse alcoolique 2 N et on dose en présence de phénolphtaléine dans l’alcool ; l’acide qui sert à titrer la potasse doit être étalonné. I ’ébullition ne doit pas être prolongée trop longtemps sinon on risque la formation de réactions secondaires, entraînant une diminution de l’indice.

**b) l’indice d’iode** (nombre de grammes d’iode fixés par g de graisse) renseigne sur le degré de désaturation des A. G. c. a. d. sur le nombre global des liaisons éthyléniques. Ia méthode de Wijs est excellente à condition de préparer convenablement les réactifs et d’étalonner la solution d’hyposulfite avec le bichromate.

**c) l’acidité libre** : on la mesure le plus souvent par simple titration à la potasse alcoolique et on l’exprime en pourcentage d’A. G. libres, calculé sur la base de l’acide gras libre prédominant : oléique, laurique, etc., selon le cas. Par titration, le test n’est pas très sensible.

**d) l’indice d’hydroxyle** rend compte des fonctions alcool non estérifiées existant dans un corps gras. C’est le nombre de mg de potasse nécessaires pour neutraliser l’acide acétique qui se combine par acétylation à i g de M. G. La mesure de cet indice rend compte des monoglycérides et aussi des acides gras hydroxylés qui peuvent apparaître dans un corps gras altéré.

e**) Les acides gras volatils**, de bas poids moléculaires, peuvent être estimés (A. G. votatils par les indices de REICHERT (A. G. votatils solubles) de POLENSK E insolubles) et de KIRSCHNER (A. G. butyrique). Tous ces indices s’expriment en mm3de solution 0,1 N de soude nécessaires pour neutraliser les A. G. distillés à partir de 5 g de graisse dans des conditions bien définies.

**f) Le degré d’oxydation d’une graisse** est évalué classiquement par la méthode de Lea (oxydation de l’iodure de potassium à froid ou à chaud par les peroxydes). L’indice de LEA est le nombre de microgrammes d’oxygène fixé sous forme de peroxydes par i g de corps gras. Cette méthode peut être rendue plus sensible par addition de thiofluorescéine

**Analyse quantitative des Lipides**

Les lipides que l’on retrouve dans l’alimentation se composent essentiellement (98%) de triacylglycérols et contiennent également des petites quantités de phospholipides et de stérols. Il existe quatre grandes familles d’acide gras : les acides gras saturés, monoinsaturés, polyinsaturés et trans. Les lipides sont des substances hydrophobiques, solubles dans les solvants organiques. Les principaux lipides qui jouent un rôle important dans la nutrition des animaux sont les acides gras. Par conséquent, la détermination de la teneur des acides gras dans un aliment, est une méthode préférable dans l’analyse des lipides.

La détermination quantitative de la teneur en matières grasses d'un échantillon s'effectue généralement par extraction avec un solvant lipophile. La graisse libre est détectée par extraction directe sans minéralisation préalable.

La méthode d'extraction la plus répandue est l'extraction solide-liquide. L'échantillon préparé est extrait avec le solvant. Après l'extraction, le solvant est éliminé par distillation et le résidu séché est pesé. La teneur en matières grasses libres correspond à la différence entre les poids initiaux et finaux.

Une extraction complète dans le reflux du solvant distillé, conformément à la méthode classique de Soxhlet, prend beaucoup de temps et nécessite plusieurs heures.

Le chimiste américain Randall a ajouté à cette méthode une phase d'extraction dans laquelle la cartouche d'extraction contenant l'échantillon est immergée directement dans le solvant chaud et il a ainsi réussi, pour la plupart des échantillons, à raccourcir la durée d'extraction à moins d'une heure.

**Méthode Soxhlet**

La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés. C’est une méthode gravimétrique, puisqu’on pèse l’échantillon au début et la matière grasse à la fin de l’extraction.

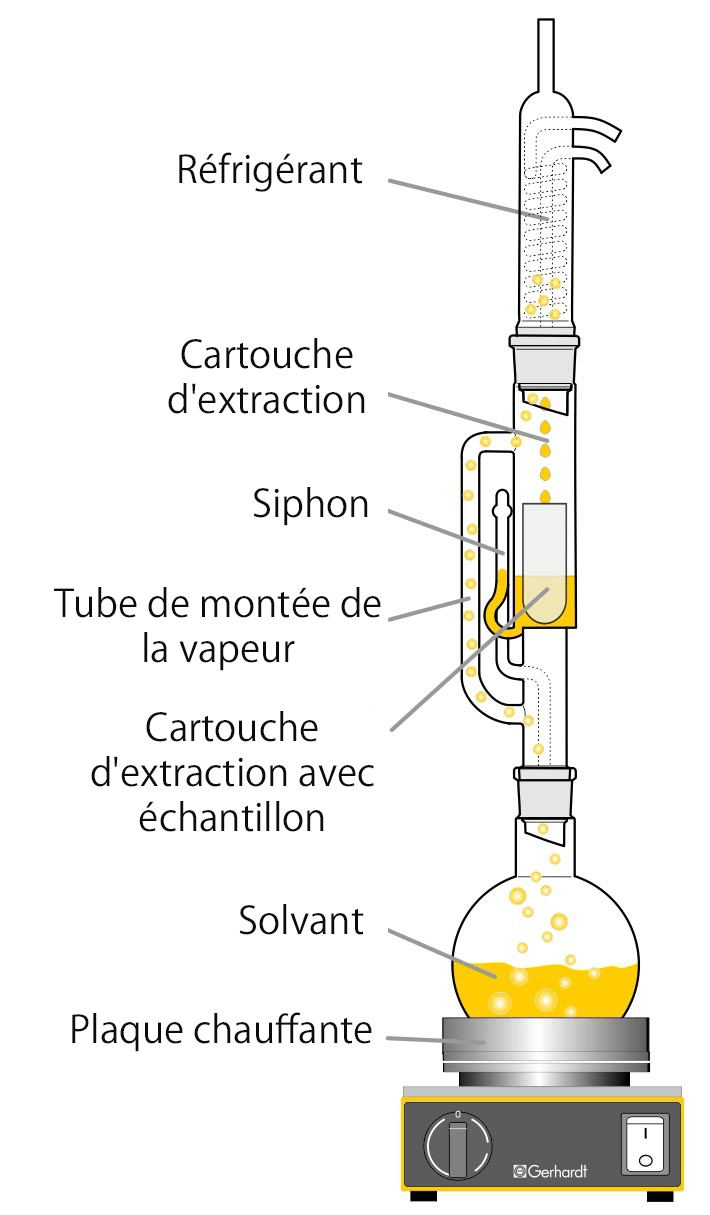
Principe de la méthode

L’aliment solide est pesé et placé dans une capsule de cellulose. L’échantillon est extrait en continu par de l’éther éthylique à ébullition (P.E. 35oC) qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Comme seul le solvant peut s’évaporer de nouveau, la matière grasse s’accumule dans le ballon jusqu’à ce que l’extraction soit complète. Une fois l’extraction terminée, l’éther est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif, et la matière grasse est pesée.

Les capsules de cellulose sont perméables au solvant et à la matière grasse qui y est dissoute. Ces capsules sont jetables.

**% lipides = M (lipides) x 100**

**M(échantillon)**

[](https://www.gerhardt.de/fileadmin/Redaktion/know-how/Analytische_methoden/CG_webseite_methode_Extraktion_soxhlet_french-min.png)

Représentation schématique d'un appareil d'extraction Soxhlet classique

**Méthode Goldfisch**

La méthode Goldfisch est une variante (appareillage différent) de la méthode Soxhlet.

C’est une méthode gravimétrique utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés.

Principe de la méthode

L’aliment solide est pesé et placé dans une capsule de cellulose ou un contenant poreux d’alundum. L’échantillon est extrait en continu par de l’éther éthylique à ébullition (P.E. 35oC) qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans un bêcher placé sous le contenant d’alundum. Comme seul le solvant peut s’évaporer bêcher jusqu’à ce que l’extraction soit complète. Une fois l’extraction terminée, l’éther est évaporé et la matière grasse pesée.

**% lipides = M (lipides) x 100**

**M (échantillon)**

**Méthode Babcock**La méthode Babcock est une méthode officielle utilisée pour la détermination des lipides dans les produits laitiers. Cette méthode volumétrique est rapide et peu coûteuse, mais moins précise que la méthode de référence Mojonnier. De plus, les résultats obtenus par cette méthode sont, en moyenne, légèrement plus élevés que ceux obtenus par la méthode Mojonnier.  
Principe de la méthode

Le produit laitier pesé (ou pipetté pour le lait) est dissout dans l’acide sulfurique dont l’action sert à libérer la matière grasse qui remonte à la surface de la solution. Par addition d’eau et centrifugation, la matière grasse est dirigée dans la partie graduée du butyromètre. On mesure, à une température de 57oC, la hauteur d’une colonne de gras sur une échelle graduée en % P/P de matière grasse.

Matériel : - tube Babcock

- centrifugeuse Babcock

- bain thermostaté à 57oC

Particularités de la méthode :

- Pour les laits, on utilise un butyromètre gradué jusqu’à 8% en divisions de 0,1%.

Pour le prélèvement de l’échantillon, on utilise une pipette de 17,6 ml, ce qui équivaut à 18,0 g de lait. La précision de l’analyse est de ± 0,1%.

- Pour les laits écrémés, on utilise un butyromètre spécial gradué jusqu’à 0,5% en divisions de 0,01%. Le prélèvement de l’échantillon est de 18,0 g (17,6 ml).

- Pour les autres produits laitiers liquides (crèmes, crèmes glacées, etc), on utilise un butyromètre 0-20% (divisions de 0,25%) ou 0-50% (divisions de 0,5%). Le prélèvement de l’échantillon est de 9,0 g. La précision de l’analyse est de ± 0,25 % ou 0,5% selon le butyromètre utilisé.

- Pour les produits laitiers solides, tels les fromages, on utilise un butyromètre Paley 0-20% ou 0-50%. Le prélèvement de l’échantillon est de 9,0 g. La précision de l’analyse est de ± 0,25% ou 0,5% selon le butyromètre utilisé.

**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, utilise un appareil spécial, l’appareil Mojonnier.

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.

**% lipides = M (lipides) x 100**

**M (échantillon)**

Composantes de l’appareil Mojonnier :

- balance analytique

- centrifugeuse

- plaque chauffante

- four à vide

- dessicateur (compartiment à double paroi dans laquelle circule une huile soluble)

Particularités de la méthode :

À cause de la teneur très variable en matière grasse dans les produits laitiers, la quantité d’échantillon pesée, le nombre d’extractions et le volume de solvant utilisé doivent être ajustés en fonction de chaque type de produits laitiers.

Précision de la méthode :

- ± 0,02% pour les laits écrémés

- ± 0,03% pour les autres laits

- ± 0,1% pour les crèmes

Rôle des réactifs :

- Hydroxyde d’ammonium (NH4OH) à densité relative 0,8974 :

Neutralise l’acidité du produit laitier, réduit la viscosité, facilitant ainsi l’action des solvants, et prévient la formation de gel.

-Alcool éthylique à 95% :

Facilite l’extraction, l’alcool étant miscible avec l’éther en toute proportion ; brise toute liaison entre les protéines et les phospholipides qui sont alors inclus avec la matière grasse ; facilite la séparation de la phase aqueuse et de la phase organique.

- Éther éthylique (P.E. 35oC) :

Dissout la matière grasse et la garde en solution éthérée. L’éther dissout également un peu d’eau contenant une petite quantité de solides non gras qui peuvent causer des résultats erronés à moins de correction subséquente.

- Éther de pétrole 40-60oC :

L’éther de pétrole est un mélange d’hydrocarbures ayant des points d’ébullition entre 40 et 60oC et sert à éliminer de la solution d’éther toute trace d’eau pouvant contenir des solides non gras.

**Dosage du cholestérol**.

Méthode gravimétrique : C’est la méthode classique de WINDAUS - CaMrNAD! (7), on dose le cholestérol sous forme de complexe avec la digitonine ; on évalue le cholestérol libre dans l’extrait lipidique total et le cholestérol total dans l’insaponifiable total obtenu après saponification.

Méthodes colorimétriques. - Elles sont utilisées pour de petites quantités de cholestérol (le cholestérol estérifié ou total dissous dans le chloroforme donne en présence d’acide sulfurique la réaction colorée de LIEBRMANN -BuRCHARD). Citons parmi ces méthodes cette dernière est particulièrement intéressante car elle ne comporte pas les causes d’erreurs par excès des autres méthodes colorimétriques - le dosage colorimétrique porte ici sur le complexe digitonine-cholestérol, préalablement isolé par centrifugation.

Généralement. Les techniques les plus anciennes, qui utilisaient des méthodes gravimétriques et colorimétriques, sont maintenant considérées comme obsolètes et ne sont plus conseillées.

Les méthodes de choix sont chromatographiques, l’utilisation de la CPG est possible mais sur des dérivés qui peuvent être séparés sur des colonnes à faible polarité (Punwar, 1975; Hubbard et al., 1977). Le problème dans l’analyse des stérols est la présence en grandes quantités d’autres lipides dans la plupart des aliments qui gênent une application directe de la méthode sur l’extrait lipidique.

Une saponification avant la préparation des dérivés méthylés est nécessaire. L’utilisation de dérivés triméthyl silyliques (TMS) pour l’application à des aliments complexes a satisfait les normes de l’AOAC (Carpenter, Ngeh-Ngwainbi et Lee, 1993). Les procédures sont un peu délicates à réaliser et des méthodes simplifiées demandant des temps de préparation de l’échantillon plus réduits ont été proposées (Thompson et Merola, 1993).

Les améliorations de la CPG capillaire fournissent les bases au développement de procédures sans dérivatisation dont les résultats sont conformes aux normes (Jekel, Vaessen et Schothorst, 1998).

**Dosage des Vitamines**

Les vitamines sont des substances organiques nécessaires au bon fonctionnement du métabolisme des êtres vivants. Certaines d'entre elles sont directement synthétisées par le corps. D'autres, au contraire, nécessitent d'être apportées à l'organisme par le biais de l'alimentation ou de la complémentation alimentaire.

Elle est nécessaire en faible quantité au métabolisme d'un organisme vivant, et qui ne peut être synthétisée en quantité suffisante par cet organisme. Les vitamines sont des compléments indispensables aux échanges vitaux. Elles ont des fonctions diverses participant dans beaucoup de processus métaboliques, de fonctions immunitaires des cellules et dans la régulation des gènes. Une carence d’une vitamine peut provoquer des signes cliniques spécifiques et des symptômes de déficiences subcliniques peuvent subvenir dans lesquels les symptômes ne sont pas évidents. Mais la productivité animale ou l’état de santé est moindre.

La classification traditionnelle des vitamines dépend de leur solubilité dans les lipides ou dans l’eau.

- **Les vitamines liposolubles** (A, D, E et K) sont associées aux lipides dans les aliments. Elles sont absorbées dans l’intestin grêle par des mécanismes similaires à ceux intervenant dans l’absorption des acides gras à longues chaînes. Elles sont stockées dans des quantités appréciables dans l’organisme.

**Ex : La vitamine E.**

Role : protège les cellules de l'oxydation en agissant contre les radicaux libres.

Carence : atteinte hématologique de type anémie et ataxie.

Source : les fruits à coque (noisette, noix et amande), les huiles végétales (tournesol, noisette, colza) et les germes de céréales.

La vitamine E participe à la protection des membranes cellulaires et contribue ainsi à ralentir le vieillissement cutané. "La vitamine E possède également des vertus antioxydantes. Elle est très utile pour limiter l'oxydation du cholestérol dans le sang, premier facteur de risque de la formation des plaques d'athérome, à l'origine de nombreuses maladies cardio-vasculaires", ajoute notre experte.

**Les vitamines hydrosolubles** ne sont pas associées avec les lipides et les altérations dans l’absorption des lipides n’affecte pas leur absorption : et la plupart du temps elles ne peuvent être stockées en quantités suffisantes dans l’organisme et les excès sont rapidement excrétés. Ainsi une complémentation continue des vitamines hydrosolubles est nécessaire pour éviter les carences. Les vitamines hydrosolubles ne sont relativement pas toxiques, mais les excès des vitamines A et D peuvent causer de sérieux problèmes : Ce sont les vitamines du groupe B (thiamine, riboflavine, niacine, acide pantothénique, B12, choline) et la vitamine C.

Les vitamines hydrosolubles sont dites "solubles dans l'eau". Elles ne sont pas stockables par le corps.

**Ex : La vitamine C.**

Rôle : la vitamine C (acide ascorbique) favorise les défenses immunitaires, protège les cellules contre les radicaux libres.

Carence : scorbut, hypertension artérielle et déficit immunitaire.

Source : les légumes et les fruits (rouges et agrumes).

La vitamine C possède des propriétés antioxydantes qui luttent contre le vieillissement des cellules. Elle aide à la cicatrisation et consolide les dents et les os. "Très précieuse en hiver, elle renforce également les défenses immunitaires.

**Dosase de la vitamine C**

Les méthodes biologiques dosent à la fois la forme oxydée et la forme réduite de l’acide ascorbique. Comme on le sait le Rat synthétise la vitamine C ce qui oblige à se servir du Cobaye pour les études sur le scorbut. Dans le dosage de la vitamine C on utilise donc des cobayes que l’on choisit adultes (contrairement à ce qui se passe pour les membres du complexe B il est possible de carencer un animal adulte en acide ascorbique). Ia méthode préventive, la première utilisée (i5o), consiste à rechercher la quantité minimum d’échantillon pour prévenir le scorbut. La méthode curative s’applique à la restauration des animaux carencés par une pré période d’une quinzaine de jours. Dans les 2 cas le test est la courbe pondérale des animaux. Par ailleurs, une des manifestations du scorbut, toujours chez le Cobaye, est utilisée à des fins analytiques. Cette avitaminose modifie nettement l’histologie de la dent : - désorganisation des odontoblastes ; - structure irrégulière de la dentine ; - décalcification de la prédentine.

On a échafaudé une méthode de dosage basée sur la prévention des troubles scorbutiques de la dent). Il est également possible de mesurer l’intensité de la carence ascorbique en dosant la phosphatase alcaline du sang, dont le taux est proportionnel à la quantité de vitamine chez l’animal.

La méthode chimique est la seule technique couramment employée pour le dosage de l’acide ascorbique. Ce corps réduit nombre de réactifs, et pour la détermination quantitative de l’acide ascorbique on utilise généralement son pouvoir de transformer un colorant en son leuco dérivé.

La technique la plus répandue consiste à observer la décoloration du dichloro 2-6 phénolindophénol qui est un colorant rouge ou bleu selon le pH. Il convient de prendre certaines précautions car le dichloro-2-6 phénol indiphénol peut oxyder des substances organiques très variées. En pratique, on extrait l’acide ascorbique de l’échantillon à l’aide de l’acide trichloracétique, acétique, métaphosphorique, oxalique, etc.

Si l’on veut doser l’acide ascorbique total il faut passer l’extrait à un courant de SH2 en milieu acide pour réduire la forme déhydroascorbique. Ensuite, on mesure au photomètre, toutes les 15 ou 30 secondes, la décoloration d’une solution à 0,25 p. 1oo de dichloro 2-6 phénolindophénol par action de l’extrait contenant l’acide ascorbique.

Une autre méthode d’effectue à pH 3, o et, en présence, d’hyposulfite on éclaire violemment la solution de bleu de méthylène contenant l’extrait d’acide ascorbique.

On peut doser la somme acide ascorbique plus acide déhydroascorbique par une réaction avec la dinitro-2- 4phénylhydrazine, qui donne une osazone de couleur rouge et dont on dose l’intensité au photomètre.

Enfin, il est possible de doser chromatographiquement la vitamine C sur papier en faisant un chromatogramme de la dinitro 2-4 phénylhydrazone de l’acide ascorbique, que l’on dose colorimétriquement après élution une autre méthode chromatographique sépare l’acide ascorbique de l’acide isoascorbique et d’autres substances perturbantes.