



African Food Tradition rEvisited by Research  
FP7 n°245025

Start date of project: **01/09/2010**

Duration: **45 months**

**Deliverable number: D.1.2.3.9**

**Title of deliverable: SOP for chemical analysis for Group 2**

Deliverable type (Report, Prototype, Demonstration, Other): Report

Dissemination level (PU, PP, RE, CO)\*: PU

Contractual date of delivery: February 2011

Actual date of delivery: October 2011

Work-package contributing to the deliverable: WP1

Organisation name of lead contractor for this deliverable: ADIV

Authors: are indicated on the appropriate SOPs.

**This document has been send to:**

The coordinator by WP Leader	Date: September 2011
To the Commission by the Coordinator	Date: October 2011

\* PU: Public; PP: Restricted to other programme participants (including the Commission Services); RE: Restricted to a group specified by the consortium (including the Commission Services); CO: Confidential, only for members of the consortium (including the Commission Services)

## **Methodology for the development of SOPs for this deliverable.**

This deliverable consists of several SOPs. SOPs related to chemical analysis for one Group of product.

The SOP's come from four sources:

1. The literature by searching the analysis method for similar components we want to determine in the African fermented and functional products. In this case several articles are combined according to their precisions.
2. Standards from the international Organization Standardization (ISO) or AACC the International Approved methods. In this case, the method is used like that or after minor modifications. And the modifications are then precised in the document, with the ISO or AACC joined in the annex. To be in agreement with intellectual property rules the project coordination purchased and distributed to partners all the standards referenced in SOP
3. The SOP's can come from the laboratory that developed the methods for the specific analysis.
4. Case of the kit enzymatic method developed by the vendors of the kit materials.

After writing, the SOP's are approved by the Work Package Leader (WPL) related to the group of product concerned (Group 1: WP2; Group 2: WP3; Group 3: WP4).

The WPL is in charge to send the SOP's to the concerned partners for validation. Each partner, according to his laboratory facilities, validates the method and informs one of the following alternatives in his laboratory:

- R - The laboratory makes the analysis in routine (= R codification in the table joined)
- P - The laboratory is able to make this analysis (= possible P)
- B - The laboratory can make the analysis after buying equipment (= B)
- I - The laboratory can't make the analysis ( I= impossible or sub-contracting).

The WPL decides the end of the validation step. He accepts the final SOP version. He completes the table with the last revision date.

### D1.2.3.9 - SOPS for Chemical analysis for Group 2

Characteristics	Compounds	Method	Principe	N° SOP
Chemical characteristics	Total phenol analysis (level of smoking)	CIRAD		Chem-MeatFish-001-en
	Moisture	méthode simplifiée	méthode 104° C, P° atmosphérique, pesée à poids constant	Chem-MeatFish-002-fr
	Water activity (aW)	Method "point de rosée"		Chem-MeatFish-003-fr
	pH	Jansen ( 2001) Meat Science Volume 58, Issue 2, June 2001, Pages 145-150 NF V 04 408	Mesure, exprimée en unités pH, de la différence de potentiel existant entre deux électrodes plongées dans le produit,	Chem-MeatFish-004-fr
	Chlorure content	NF V 04 405	Extraction des chlorures des viandes ou des produits à base de viande avec de l'eau chaude, puis précipitation des protéines - Dosage des chlorures à l'aide d'un analyseur de chlore	Chem-MeatFish-005-fr

	D & L lactic acid		kit enzymatique	Chem-MeatFish-006-fr
	Collagen (hydroxyproline x 8)	NF V 04 415	hydrolyse par ébullition en solution d'acide chlorhydrique et filtration, dilution, neutralisation par l'hydroxyde de sodium, oxydation de la L-hydroxyproline par la chloramine T, Mesure à 558 nm du para-diméthyl-amino-benzaldéhyde (couleur rouge).	Chem-MeatFish-007-fr
	Acidity index	NF ISO 660	Mise en solution d'une prise d'essai dans l'éthanol chaud, puis titrage des acides gras libres présents à l'aide d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium.	Chem-MeatFish-008-fr
	Acides organiques	(méthode CIRAD)	HPLC	Chem-MeatFish-009-fr



**African Food Tradition rEvisited by Research**

**FP7 n°245025**



**Deliverable D.1.2.3.9: SOP for chemical analysis for Group 2**

**Procédure pour la détermination des phénols dans les produits carnés fumés**

**SOP : Chem-Meatfish-001-fr**

Date : 18/05/2011

Version: 5

Ecrit par : Julien Ricci (CIRAD)

Pour plus d'information sur ce SOP, contactez :

- Julien Ricci (julien.ricci@cirad.fr)
- 
- 

**Ce document a été approuvé par :**

Partenaire	Noms des personnes l'ayant approuvé	Date DD/MM/YY
CIRAD	T.Goli. M. Rivier. E. Arnaud.	05/09/11
UAC		
CSIR		
ADIV		
UT		
UCAD		
INRA		

# Détermination des phénols dans les produits carnés fumés

SOP : Chem-Meatfish-001-fr

Date: 18/5/2011

Version : 3

## Table des matières

<b>1</b>	<b>Domaine et application .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Références .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Définitions .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Principe .....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Réactifs .....</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>Appareillage .....</b>	<b>4</b>
<b>7</b>	<b>Procédure .....</b>	<b>4</b>
7.1	Préparation des solutions .....	4
7.1.1	<i>Solution d'ammoniaque 2N.....</i>	<i>4</i>
7.1.2	<i>Solution aqueuse d'aminopyrine .....</i>	<i>4</i>
7.1.3	<i>Solution de ferricyanure de potassium (2% m/V).....</i>	<i>4</i>
7.1.4	<i>Solution de phénol (500mg/l) .....</i>	<i>4</i>
7.1.5	<i>Solution de phénol (5mg/l) .....</i>	<i>5</i>
7.2	Dosage des phénols .....	5
7.2.1	<i>Préparation de l'échantillon.....</i>	<i>5</i>
7.2.2	<i>Prise d'extrait et extraction .....</i>	<i>5</i>
7.2.3	<i>Etalonnage.....</i>	<i>5</i>
7.2.4	<i>Dosage d'un extrait d'échantillon de produit fumé.....</i>	<i>6</i>
<b>8</b>	<b>Expression des résultats .....</b>	<b>7</b>
8.1	Mode de calcul et formules .....	7
8.2	Répétabilité.....	7
<b>9</b>	<b>Points critiques et Note sur la procédure.....</b>	<b>8</b>
<b>10</b>	<b>Rapport d'essai .....</b>	<b>8</b>
<b>11</b>	<b>Enregistrement des Révisions .....</b>	<b>8</b>

# Détermination des phénols dans les produits carnés fumés

SOP : **Chem-Meatfish-001-fr**

Date: 18/5/2011

Version : 3

## 1 DOMAINE ET APPLICATION

Ce document décrit une méthode de quantification de la teneur en phénols des produits carnés fumés. Il s'inspire de la norme française NF V 45-067.

## 2 REFERENCES

NF V 45-067 : « Poissons transformés. Filets de hareng fumé. Spécifications ». Annexe B. *Dosage des phénols*. Septembre 1996

## 3 DEFINITIONS

Les phénols sont des composés chimiques aromatiques portant une fonction hydroxyle (-OH). Dans les produits fumés, les phénols proviennent exclusivement de la combustion de substances végétales comme le bois, largement utilisé à travers le monde. Le dosage des phénols permet d'évaluer l'intensité de fumage. Les produits peu fumés, comme le saumon fumé à froid, contiennent 1 à 3 mg de phénols pour 100 g (base humide). Des produits très fumés comme des produits « boucanés » des pays du sud peuvent en contenir jusqu'à 30 mg pour 100g.

## 4 PRINCIPE

Selon la NF V 45-067.

## 5 REACTIFS

Selon la NF V 45-067.

Pour les réactifs suivants, la référence chez le fournisseur SIGMA est précisée ci-dessous :

- Solution aqueuse d'aminopyrine à 2% (m/V) : Référence A4382, Sigma
- Solution de ferricyanure de potassium à 2% : Référence 244023, Sigma

# Détermination des phénols dans les produits carnés fumés

SOP : Chem-Meatfish-001-fr

Date: 18/5/2011

Version : 3

- Phénol : Référence P3653, Sigma

## 6 APPAREILLAGE

Selon la NF V 45-067.

## 7 PROCÉDURE

### 7.1 Préparation des solutions

#### *7.1.1 Solution d'ammoniaque 2N*

Pour 50 analyses :

- Prélever 11,1 ml d'ammoniaque 28%.
- Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.
- ➔ Peut se conserver environ 1 mois à température ambiante (20 ± 10°C).

#### *7.1.2 Solution aqueuse d'aminopyrine*

Pour 32 analyses :

- Peser 400 mg d'aminopyrine. (Penser à conserver l'aminopyrine dans un endroit sec et à l'abri de la lumière).
- Compléter à 20 ml avec de l'eau distillée.
- ➔ Solution à préparer le jour de l'analyse.

#### *7.1.3 Solution de ferricyanure de potassium (2% m/V)*

Pour 50 analyses :

- Peser 2g de ferricyanure de potassium.
- Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée
- ➔ Solution à préparer le jour de l'analyse.

#### *7.1.4 Solution de phénol (500mg/l)*

- Peser 50 mg de phénol.
- Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée
- ➔ Peut se conserver un mois à 4°C.



# Détermination des phénols dans les produits carnés fumés

## SOP : Chem-Meatfish-001-fr

Date: 18/5/2011

Version : 3

### **7.1.5 Solution de phénol (5mg/l)**

- Prélever 1 ml de la solution de phénol à 500mg/l.
  - Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée
- ➔ Solution à préparer le jour de l'analyse.

## **7.2 Dosage des phénols**

### **7.2.1 Préparation de l'échantillon**

Selon NF V 45-067.

La détermination de la matière sèche de l'échantillon aura été faite par ailleurs.

### **7.2.2 Prise d'extrait et extraction**

Selon NF V 45-067.

### **7.2.3 Etalonnage**

Pour adapter la méthode aux teneurs en phénols habituellement rencontrées dans les produits fumés des pays du sud, nous réalisons une gamme d'étalonnage sur l'intervalle de 0 à 50 µg de phénol.

Dans une ampoule à décanter, mettre chacun des réactifs du tableau ci-dessous en respectant l'ordre suivant (de haut en bas) :

Réactifs	Gamme d'étalonnage (ml)					
Solution étalon à 5mg/l en phénol	0	2	4	6	8	10
Eau	35	33	31	29	27	25
Solution Amino Antipyrine 2%	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Solution Ammoniaque 2N	2	2	2	2	2	2
Solution Ferricyanure de potassium 2%	2	2	2	2	2	2
Chloroforme	10	10	10	10	10	10
Soit quantité de phénols (µg) :	0	10	20	30	40	50

# Détermination des phénols dans les produits carnés fumés

## SOP : Chem-Meatfish-001-fr

Date: 18/5/2011

Version : 3

Lorsque les différents réactifs ont été ajoutés, agiter vigoureusement l'ampoule à décanter et reprendre la phase chloroformique (phase inférieure) sur un entonnoir garni d'un filtre dans lequel 6g environ de sulfate de sodium anhydre ont été déposés.

Mesurer l'absorbance du filtrat obtenu à **455 nm** dans une **cuve en quartz bouchée, d'un centimètre de trajet optique**.

Le zéro est fait sur le zéro de la courbe d'étalonnage.

### **7.2.4 Dosage d'un extrait d'échantillon de produit fumé**

Dans une ampoule à décanter, mettre chacun des réactifs du tableau ci-dessous en respectant l'ordre suivant (de haut en bas) :

Réactifs	Dosage (ml)
Echantillon inconnu	V*
Eau	35 - V
Solution Amino Antipyrine à 2%	0,6
Solution Ammoniaque 2N	2
Solution Ferricyanure de potassium à 2%	2
Chloroforme	10

\* V est le volume de la prise d'essai d'extrait éthanolique de l'échantillon (7.2.2).

La valeur de la prise d'essai V, comprise entre 0,5 et 5 ml (selon l'intensité de fumage) devra, le cas échéant, être ajustée par essais successifs pour que la teneur en phénols contenue dans l'ampoule à décanter soit comprise entre 10 et 50 µg.

Lorsque les différents réactifs ont été ajoutés, agiter vigoureusement l'ampoule à décanter et reprendre la phase chloroformique (phase inférieure) sur un entonnoir garni d'un filtre dans lequel 6g environ de sulfate de sodium anhydre ont été déposés.

Mesurer l'absorbance du filtrat obtenu à **455 nm** dans une **cuve en quartz bouchée, d'un centimètre de trajet optique**.

Le zéro est fait sur le zéro de la courbe d'étalonnage.

# Détermination des phénols dans les produits carnés fumés

SOP : Chem-Meatfish-001-fr

Date: 18/5/2011

Version : 3

## 8 EXPRESSION DES RESULTATS

### 8.1 Mode de calcul et formules

Etablir la droite d'étalonnage sous la forme suivante :

$$C = a * ABS + b$$

Où :

a et b sont les coefficients de la droite d'étalonnage.

ABS est l'absorbance à 455 nm.

C est la quantité de phénols contenue dans l'ampoule en µg.

Au moyen de la courbe d'étalonnage, calculer la quantité de phénols **P** en **µg** pour chaque échantillon.

La teneur en phénols de l'échantillon, Ph, est calculée selon la formule suivante :

$$Ph = \left( \frac{P \times 100}{M \times MS} \right) \times \left( \frac{5}{V} \right)$$

Où :

Ph est la teneur en phénols de l'échantillon (en mg pour 100 g de matière sèche).

P est la quantité de phénols présents dans l'ampoule (en µg).

M est la masse d'échantillon analysée (en g).

MS est la teneur en matière sèche de l'échantillon (g/100g).

V est le volume en ml d'extrait éthanolique dosé (volume variable selon l'intensité du fumage).

### 8.2 Répétabilité

Le coefficient de variation (écart-type rapporté à la moyenne) de deux déterminations ne devra pas dépasser 8%.

# Détermination des phénols dans les produits carnés fumés

SOP : Chem-Meatfish-001-fr

Date: 18/5/2011

Version : 3

## 9 POINTS CRITIQUES ET NOTE SUR LA PROCEDURE

L'échantillon doit être stocké dans un lieu sec à l'abri de l'humidité.  
Bien respecter l'ordre d'addition des réactifs décrit.



Les déchets générés lors des dosages contiennent des polluants chimiques tels que des solvants chlorés. A ce titre, ils doivent être éliminés selon les bonnes pratiques de laboratoire en vigueur.

## 10 RAPPORT D'ESSAI

Le rapport d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus, en incluant les différentes répétitions et l'équation de la courbe d'étalonnage. En outre seront détaillées toutes conditions opératoires non indiquées dans la SOP, ou optionnelle, et les circonstances particulières qui auraient pu affecter les résultats.

## 11 ENREGISTREMENT DES REVISIONS

Date	Personne responsable	Description de la modification

	<p><b><u>African Food Tradition rEvisited by Research</u></b></p> <p><b><u>FP7 n°245025</u></b></p>	
<p><b>Deliverable D.1.2.3.9 : SOP for chemical analysis for Group 2</b></p>		
<p><b>Procédure de détermination de l'humidité dans les produits carnés</b></p>		
<p>SOP Number: <b>Chem-MeatFish-002-fr</b></p>		
<p>Date of creation: 16/05/2011</p>	<p>Revision:</p>	
<p>Written by : Valérie SCISLOWSKI (ADIV)</p> <p>For information on this SOP please contact :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Valérie SCISLOWSKI (valerie.scislowski@adiv.fr)</li> <li>•</li> </ul>		
<p><b>This document has been approved by :</b></p>		
<p>Partner</p>	<p>Name of the person who approved</p>	<p>Date</p> <p>DD/MM/YY</p>
<p>CIRAD UAC CSIR ADIV UT UCAD INRA</p>	<p>Valérie Scislowski</p>	<p>16/05/11</p>

# Humidité dans les produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-002-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## Table des matières

<b>1</b>	<b>Domaine et application .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Références .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Définitions .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Principe .....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Réactifs .....</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>Appareillages .....</b>	<b>3</b>
<b>7</b>	<b>Procédure .....</b>	<b>4</b>
<b>8</b>	<b>Expression des résultats .....</b>	<b>4</b>
8.1	Méthode de calcul et formule.....	4
8.2	Répétabilité.....	5
<b>9</b>	<b>Points critiques ou Note sur la procédure.....</b>	<b>5</b>
<b>10</b>	<b>Rapport d'essai .....</b>	<b>6</b>
<b>11</b>	<b>Enregistrement des révision.....</b>	<b>6</b>
<b>12</b>	<b>Annexe.....</b>	<b>7</b>

# Humidité dans les produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-002-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 1 DOMAINE ET APPLICATION

Ce mode opératoire a pour objet de formaliser la méthode de détermination de l'humidité (et matières sèches) dans les produits viandes et poissons par gravimétrie.

## 2 REFERENCES

- Données de la littérature

## 3 DEFINITIONS

La matière sèche (MS) est ce que l'on obtient lorsqu'on retire l'eau d'un produit.

## 4 PRINCIPE

La teneur en matières sèches d'un échantillon se détermine par gravimétrie avec pesée de la prise d'essai avant et après dessiccation à  $104^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  jusqu'à poids constant.

## 5 REACTIFS

## 6 APPAREILLAGES

- balance analytique avec une résolution minimale de 0,1 mg
- capsule en aluminium ( $\varnothing > 60$  mm,  $h \geq 20$  mm),
- étuve électrique réglée à  $104^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$
- spatule inox
- dessiccateur avec déshydratant (actigel)

# Humidité dans les produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-002-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 7 PROCEDURE

La teneur en matière sèche d'un échantillon est déterminée en double. L'échantillon doit être au préalable préparé selon la SOP Prep-MeatFish-001-fr

- 1- Identifier les coupelles en aluminium selon la nomenclature des échantillons
- 2- Sécher les coupelles à l'étude à 103°C pendant 30 minutes
- 3- Tarer les coupelles sur la balance : noter la masse (M1)
- 4- Peser précisément environ 1,5 g d'échantillon dans la coupelle en étalant l'échantillon et noter la masse M2
- 5- Mettre les coupelles d'échantillon à l'étuve (préalablement chauffée) pendant 48 heures
- 6- Après 48 h, sortir les coupelles, les mettre dans un dessiccateur pendant 30 minutes (pour refroidissement sans reprise d'eau)
- 7- Peser les coupelles et noter la masse M3
- 8- Re-Mettre les coupelles d'échantillon à l'étuve (préalablement chauffée) pendant 30 minutes
- 9- Après ces 30 minutes supplémentaires, sortir les coupelles, les mettre dans un dessiccateur pendant 30 minutes (pour refroidissement sans reprise d'eau)
- 10- Peser les coupelles et noter la masse M4
- 11- Si M3 est différents de M4, renouveler les opérations de 8 à 10 jusqu'à atteindre un poids constant

## 8 EXPRESSION DES RESULTATS

### 8.1 Méthode de calcul et formule

La teneur en matière sèche est calculée selon la formule suivante :

$$[(M3-M1) / (M2-M1) ] \times 100$$

Pour chaque échantillon, la moyenne des deux répétitions est calculée.

La teneur en matière sèche est exprimée en pourcentage du poids de l'échantillon.



# Humidité dans les produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-002-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 8.2 Répétabilité

## 9 POINTS CRITIQUES OU NOTE SUR LA PROCEDURE

### MATIERE

- l'échantillon à peser doit être parfaitement homogène ce qui nécessite une préparation du produit par broyage selon la SOP Prep-MeatFish-001-fr de préparation des échantillons pour l'analyse.

### MILIEU

- La température ambiante du laboratoire est suivie au moyen d'une sonde étalonnée et suivi.

- L'hygrométrie est a priori négligeable dans les conditions de mesure et de température. Si une quelconque influence pouvait intervenir, elle serait prise en considération.

### MATERIEL

L'étuve : l'influence de l'étuve dépend de 2 facteurs :

- respect de la température définie ( $104^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ )

- respect de la durée d'incubation (48h). La température de consigne doit être respectée avant toute introduction des échantillons dans l'étuve.

Le dessiccateur : l'influence du dessiccateur dépend du suivi du gel pris en compte dans la reproductibilité.

Capsule aluminium: l'influence est insignifiante si le mode opératoire est bien observé.

Balance : l'utilisation de la balance est à l'origine d'une cause d'erreur due à la vérification.

### METHODE

La fidélité due à la mise en oeuvre de la méthode.

La justesse de la méthode : Généralement il est difficile d'évaluer la justesse (rendement absolu) d'une méthode d'essais en chimie.

L'erreur de justesse ne peut être approximée compte tenu qu'il n'existe pas de matériau de référence.

L'erreur de justesse est supposée négligeable ce qui implique que le laboratoire maîtrise parfaitement la méthode d'essais à travers les critères suivants :

# Humidité dans les produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-002-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

- validation interne pour assurer la bonne mise en oeuvre de la méthode (double prise d'essai),
- la sélection et l'utilisation des réactifs dans les conditions optimales (séchage des coupelles pendant 30 min)
- le suivi métrologique régulier des équipements (suivi des températures, cartographie de l'étuve, vérifications de la balance),

## 10 RAPPORT D'ESSAI

Le rapport d'essai doit indiquer :

- le nom de l'échantillon en précisant sa nomenclature et le type d'échantillon
- le résultat avec son unité d'expression (en mentionnant les valeurs des répétitions et la moyenne)
- la méthode utilisée (ici SOP N° Chem-MeatFish-002-fr)
- toutes observations relatives à l'état de l'échantillon si celui-ci était ou paraissait suspect avant analyse
- toutes observations relatives au déroulement de la méthode si son application venait à être problématique

## 11 ENREGISTREMENT DES REVISION

Date	Responsible person	Description of change



# Humidité dans les produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-002-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 12 ANNEXE

	<p><b><u>African Food Tradition rEvisited by Research</u></b></p> <p><b><u>FP7 n°245025</u></b></p>	
<p><b>Deliverable D.1.2.3.9: SOP for sensory, physical and textural analysis for Group 2</b></p>		
<p><b>Procédure de DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE L'EAU (AW)</b></p>		
<p><b>SOP Number: Chem-MeatFish-003-fr</b></p>		
<p>Date of creation: 16/05/2011</p>	<p>Revision:</p>	
<p>Written by : Valérie SCISLOWSKI (ADIV)</p> <p>For information on this SOP please contact :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Valérie SCISLOWSKI (valerie.scislowski@adiv.fr)</li> <li>•</li> </ul>		
<p><b>This document has been approved by :</b></p>		
<p>Partner</p>	<p>Name of the person who approved</p>	<p>Date</p> <p>DD/MM/YY</p>
<p>CIRAD UAC CSIR ADIV UT UCAD INRA</p>	<p>Valérie SCISLOWSKI</p>	<p><b>16/05/2011</b></p>

# DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE L'EAU (AW)

SOP Number: **Chem-MeatFish-003-fr**

Date of creation: 16/5/2011

Date of revision:

## Table of contents

<b>1</b>	<b>Domaine et application .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Références .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Définitions.....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Principe .....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Réactifs .....</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>Appareillage .....</b>	<b>4</b>
<b>7</b>	<b>Procédure.....</b>	<b>4</b>
<b>8</b>	<b>Expression des résultats .....</b>	<b>4</b>
8.1	Mode de calcul et formule.....	4
8.2	Répétabilité.....	5
<b>9</b>	<b>Points critiques ou Note sur la procédure.....</b>	<b>5</b>
<b>10</b>	<b>Rapport d'essai.....</b>	<b>5</b>
<b>11</b>	<b>Enregistrement des révisions .....</b>	<b>6</b>
<b>12</b>	<b>Annexes .....</b>	<b>6</b>

# DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE L'EAU (AW)

SOP Number: **Chem-MeatFish-003-fr**

Date of creation: 16/5/2011

Date of revision:

## 1 DOMAINE ET APPLICATION

Ce mode opératoire a pour objet de formaliser la détermination de l'activité de l'eau dans les broyats de viande ou autre produit alimentaire.

## 2 REFERENCES

Notice technique de l'appareil de mesure

Remarque : il existe une norme pour cette analyse : Norme NF EN ISO 17025

## 3 DEFINITIONS

L'activité de l'eau de l'aliment se définit comme le rapport entre la pression de vapeur de l'eau à la surface du produit et la pression de vapeur de l'eau pure, à la même température du produit.

Le point de rosée de l'air est la température à laquelle la pression partielle de vapeur d'eau est égale à sa pression de vapeur saturante.

## 4 PRINCIPE

L'activité de l'eau (aw) est déterminée selon la méthode du point de rosée en faisant la moyenne de plusieurs mesures (l'appareil doit atteindre son point d'équilibre moyen).

La mesure de l'aw mesure l'équilibre de la phase liquide de l'eau d'un échantillon avec la phase vapeur dans une chambre hermétique. Un échantillon est placé sur une coupelle inséré dans un bloc muni de capteurs. Le capteur du point de rosée mesure la température du point de rosée de l'air alors qu'un thermomètre mesure la température de l'échantillon.

## 5 REACTIFS

- eau distillée
- solutions étalons permettant un contrôle de l'appareil (cf points critiques et note sur la procédure) :
  - NaCl d'humidité relative = 0,754 à 20°C,
  - BaCl<sub>2</sub> d'humidité relative = 0,906 à 20°C,
  - KNO<sub>3</sub> d'humidité relative = 0,932 à 20°C,
  - KCl d'humidité relative = 0,852 à 20°C

# DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE L'EAU (AW)

SOP Number: **Chem-MeatFish-003-fr**

Date of creation: 16/5/2011

Date of revision:

## 6 APPAREILLAGE

- appareil de mesure type AQUALAB TE
- coupelle spécifique (conditionnement de l'échantillon)
- couvercle

## 7 PROCEDURE

Pour réaliser une mesure rapidement, l'échantillon doit être le plus homogène possible (cf la procédure SOP Prep-MeatFish-001-fr

- placer l'échantillon préparé dans une coupelle propre (fournie avec le matériel) et sans défaut en couvrant toute la surface et en ne dépassant pas la moitié de sa hauteur.
- ouvrir le tiroir de l'appareil avec le bouton sur la position open/load
- placer délicatement la coupelle contenant l'échantillon
- fermer le tiroir et tourner le bouton sur la position READ
- attendre le résultat signalé par une alarme sonore et un signal lumineux
- par précaution, faire deux mesures dont les résultats doivent être très proches
- quand les mesures sont terminées, placer une coupelle propre disposée à l'envers dans le tiroir en position open/load
- éteindre l'appareil.

## 8 EXPRESSION DES RESULTATS

### 8.1 Mode de calcul et formule

La mesure de l'aw est directement lue sur l'écran de l'appareil.

# DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE L'EAU (AW)

SOP Number: **Chem-MeatFish-003-fr**

Date of creation: 16/5/2011

Date of revision:

## 8.2 Répétabilité

Réaliser au moins deux mesures pour un échantillon. Une précision de 0,01 aW est suffisante pour les applications en agroalimentaire.

## 9 POINTS CRITIQUES OU NOTE SUR LA PROCEDURE

- La température de la pièce doit être comprise entre 18 et 22°C (comme prévu par la climatisation).
- Vérifier l'étalonnage au moins une fois par mois, et avant une série de mesures.
- L'activité de l'eau dans la viande se situe entre 0,8 et 0.95 ; c'est pourquoi on utilise des étalons de NaCl, BaCl<sub>2</sub> ou KNO<sub>3</sub> du KCl.
- Des solutions contenant plus de 10 % de propylène glycol peuvent perturber les analyses.
- L'appareil doit être allumé au moins une demi-heure avant la première mesure.
- L'échantillon pour être analysé rapidement, doit être le plus homogène possible.

## 10 RAPPORT D'ESSAI

Le rapport d'essai doit indiquer :

- le nom de l'échantillon en précisant sa nomenclature et le type d'échantillon
- la date de l'analyse et le nom de l'opérateur
- la méthode utilisée (ici SOP N° Chem-MeatFish-003-fr)
- le résultat avec son unité d'expression (en mentionnant les valeurs des répétitions et la moyenne)
- toutes observations relatives à l'état de l'échantillon si celui-ci était ou paraissait suspect avant analyse



## DETERMINATION DE L'ACTIVITE DE L'EAU (AW)

SOP Number: **Chem-MeatFish-003-fr**

Date of creation: 16/5/2011



Date of revision:

- toutes observations relatives au déroulement de la méthode si son application venait à être problématique

### 11 ENREGISTREMENT DES REVISIONS

Date	Responsible person	Description of change

### 12 ANNEXES

	<p><b><u>African Food Tradition rEvisited by Research</u></b></p> <p><b><u>FP7 n°245025</u></b></p>	
<p><b>Deliverable D.1.2.3.9 : SOP for physical and textural analysis for Group 2</b></p>		
<p><b>Procédure de mesure du pH dans les viandes et produits à base de viande</b></p>		
<p><b>SOP Number: Chem-MeatFish-004-fr</b></p>		
<p>Date of creation: 16/05/2011</p>	<p>Revision:</p>	
<p>Written by : Valérie SCISLOWSKI (ADIV)</p> <p>For information on this SOP please contact :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• valerie.scislowski@adiv.fr</li> <li>•</li> </ul>		
<p><b>This document has been approved by :</b></p>		
<p>Partner</p>	<p>Name of the person who approved</p>	<p>Date</p> <p>DD/MM/YY</p>
<p>CIRAD</p> <p>UAC</p> <p>CSIR</p> <p>ADIV</p> <p>UT</p> <p>UCAD</p> <p>INRA</p>	<p>Valérie SCISLOWSKI</p>	<p>16/05/2011</p>

# pH dans les viandes et produits à base de viande

SOP Number: **Chem-MeatFish-004-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## Table of contents

<b>1</b>	<b>Domaine et application .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>References .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Définitions .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Principe .....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Réactifs .....</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>Appareillage .....</b>	<b>4</b>
<b>7</b>	<b>Procédure .....</b>	<b>4</b>
<b>8</b>	<b>Expression des résultats .....</b>	<b>4</b>
8.1	Méthode de calcul et formule.....	5
8.2	Répétabilité.....	5
<b>9</b>	<b>Points critiques ou Note sur la procedure.....</b>	<b>5</b>
<b>10</b>	<b>Rapport d'analyse.....</b>	<b>6</b>
<b>11</b>	<b>enregistrement des révisions .....</b>	<b>6</b>
<b>12</b>	<b>Annexe.....</b>	<b>7</b>

# pH dans les viandes et produits à base de viande

SOP Number: **Chem-MeatFish-004-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 1 DOMAINE ET APPLICATION

Ce mode opératoire a pour objet d'expliquer la méthode de mesure du pH dans les broyats de viande et de poisson.

## 2 REFERENCES

- Notice technique du pH mètre et de l'électrode
- Remarque : il existe une norme AFNOR NF V 04-408 pour la mesure de pH

## 3 DEFINITIONS

Le potentiel hydrogène, plus connu sous le nom de "pH" permet de mesurer l'acidité ou la basicité d'un aliment.

## 4 PRINCIPE

Mesure, exprimée en unités pH, de la différence de potentiel existant entre deux électrodes plongées dans le produit, objet de la mesure.

## 5 REACTIFS

- solution étalon pH 4,00
- solution étalon pH 7,00
- solution étalon pH 6,00
- éthanol
- eau distillée

# pH dans les viandes et produits à base de viande

SOP Number: **Chem-MeatFish-004-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 6 APPAREILLAGE

- pH-mètre
- électrode de pH de pénétration à xerolyt (électrolyte de référence sous la forme de polymère solide)
- thermomètre

## 7 PROCEDURE

- 1) Vérifier que la température des solutions étalon est comprise entre 18 et 22°C.  
Dans le cas contraire attendre que leur température atteigne cet intervalle.
- 2) Étalonner le pH-mètre avec les solutions étalons de pH 7,00 et pH 4,00, (se référer à la notice technique)
- 3) Vérifier le pH avec la solution pH 6,00. Si le résultat sort de l'intervalle, réétalonner. L'Erreur maximale Tolérée (EMT) est de  $\pm 0,05$ ,
- 4) Prendre la température du broyat, si elle est hors de l'intervalle de tolérance (cas exceptionnel), amener la prise d'essai à la température exigée,
- 5) Effectuer 3 déterminations par broyat (laisser l'électrode se stabiliser à chaque mesure), nettoyer l'électrode entre chaque mesure à l'eau distillée et essuyer au papier absorbant,  
Noter chaque résultat avec deux chiffres après la virgule.
- 6) Si une mesure diffère trop des autres, la refaire (les valeurs extrêmes ne doivent pas différer de plus de 0,15 unité pH),
- 7) Vérifier le pH 6,00 régulièrement (tous les 5 à 10 échantillons). Si on est hors de l'EMT, réétalonner l'appareil selon le protocole de départ et refaire les mesures.

## 8 EXPRESSION DES RESULTATS

# pH dans les viandes et produits à base de viande

SOP Number: **Chem-MeatFish-004-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 8.1 Méthode de calcul et formule

- La valeur de pH mesurée est directement lue sur l'appareil.
- Faire la moyenne arithmétique des 3 valeurs (à 0,01 unité près),
- Les résultats sont rendus avec 2 décimales.

## 8.2 Répétabilité

Effectuer 3 répétitions de la mesure de pH par échantillon. Les valeurs extrêmes ne doivent pas différer de plus de 0,15 unité pH

## 9 POINTS CRITIQUES OU NOTE SUR LA PROCEDURE

### Matière

- Les réactifs

D'une façon générale, il convient de respecter les prescriptions des normes et les instructions du fabricant pour la préparation, la conservation, le stockage des réactifs et consommables utilisés.

- Les solutions étalons pH 7 et 4 ont une incertitude de  $\pm 0,01$  (solutions radiometer).

- L'échantillon

La prise d'essais s'effectue sur un broyat initialement préparé dont l'homogénéité est assurée par la qualification et l'habilitation des techniciennes.

L'erreur sur la prise d'essais peut correspondre à une hétérogénéité du broyat et interférer sur la répétabilité.

### Matériel

- pH mètre

- ≈ la résolution du pH mètre au niveau de l'afficheur digital est de 0,01
- ≈ la précision du pH mètre est de 0,01.

# pH dans les viandes et produits à base de viande

SOP Number: **Chem-MeatFish-004-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

- L'électrode

L'incertitude de l'électrode est donnée par le fabricant :  $EMT = \pm 0,02$ .

## 10 RAPPORT D'ANALYSE

Le rapport d'essai doit indiquer :

- le nom de l'échantillon en précisant sa nomenclature et le type d'échantillon
- la date de l'analyse et le nom de l'opérateur
- la méthode utilisée (ici SOP N° Chem-MeatFish-004-fr)
- la mesure dans la solution étalon pH 6,00 après étalonnage,
- les 3 valeurs obtenues pour l'échantillon,
- la mesure dans la solution étalon 6,00 en fin de mesure (et tous les 10 échantillons si il y a un nombre important d'échantillons).
- le résultat avec son unité d'expression (en mentionnant les valeurs des répétitions et la moyenne)
- toutes observations relatives à l'état de l'échantillon si celui-ci était ou paraissait suspect avant analyse
- toutes observations relatives au déroulement de la méthode si son application venait à être problématique

## 11 ENREGISTREMENT DES RÉVISIONS

Date	Responsible person	Description of change

# pH dans les viandes et produits à base de viande

SOP Number: **Chem-MeatFish-004-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 12 ANNEXE





**African Food Tradition rEvisited by Research**

**FP7 n°245025**



**Deliverable D.1.2.3.9: SOP for chemical analysis for Group 2**

**Procédure pour la détermination de la teneur en chlorure de sodium dans les produits carnés**

**SOP : Chem-Meatfish-005-fr**

Date : 18/05/2011

Version: 4

Ecrit par : Thierry GOLI (CIRAD)

Pour plus d'information sur ce SOP, contactez :

- Thierry Goli (thierry.goli@cirad.fr)
- Julien Ricci (julien.ricci@cirad.fr)
- Elodie Arnaud (elodie.arnaud@cirad.fr)

**Ce document a été approuvé par :**

Partenaire	Noms des personnes l'ayant approuvé	Date DD/MM/YY
CIRAD	M.Rivier. J.Ricci. E. Arnaud.	18/05/2011
UAC		
CSIR		
ADIV	Valérie Scislowski	12/09/2011
UT		
UCAD		
INRA		

# Teneur en chlorure de sodium dans les produits carnés

SOP : Chem-Meatfish-005-fr

Date: 11/05/2011

Version :

## Table des matières

<b>1</b>	<b>Domaine et application .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Références .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Définitions .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Principe .....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Réactifs et consommables .....</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>Appareillage .....</b>	<b>4</b>
<b>7</b>	<b>Procédure .....</b>	<b>4</b>
	7.1. Extraction des chlorures .....	4
	7.2. Etalonnage de l'appareil .....	5
	7.3. Dosage des échantillons .....	5
<b>8</b>	<b>Expression des résultats .....</b>	<b>6</b>
	8.1. Mode de calcul et formules .....	6
	8.2. Répétabilité .....	6
<b>9</b>	<b>Points critiques et note sur la procédure .....</b>	<b>6</b>
<b>10</b>	<b>Rapport d'essai .....</b>	<b>6</b>
<b>11</b>	<b>Enregistrement des Révisions .....</b>	<b>7</b>
<b>12</b>	<b>Annexe .....</b>	<b>7</b>

# Teneur en chlorure de sodium dans les produits carnés

SOP : Chem-Meatfish-005-fr

Date: 11/05/2011

Version :

## 1 DOMAINE ET APPLICATION

Méthode d'analyse potentiométrique des ions chlorures présents dans tous types de matériaux biologiques.

## 2 REFERENCES

Modes opératoires des appareils « Corning Chloride Analyser 926 » et « Sherwood MKII Chloride Analyser 926 » (respectivement « Analyseur de chlore modèle 926, Mode d'emploi », Ciba Corning 1990, et « Model 926, Chloride Analyser, operator's manual », Sherwood Scientific Ltd., 1997).

Ces deux appareils sont équivalents.

Procédure opérationnelle interne CIRAD-AMIS –PAA, inspirée de ces 2 modes opératoires, « détermination des chlorures par le chloremètre Corning » n° PC0922A rédigée le 21 juillet 2000.

## 3 DEFINITIONS

Les ions chlorure ( $\text{Cl}^-$ ) sont mesurés dans les produits carnés de saurisserie pour calculer la teneur en NaCl (exprimée en général en g pour 100g de produit en base humide), ingrédient de fabrication largement utilisé pour son rôle essentiel dans l'affinage, la stabilité et la sapidité des produits finis.

## 4 PRINCIPE

Les ions  $\text{Cl}^-$  contenus dans l'échantillon (préalablement broyé finement), sont extraits sous agitation à l'aide d'acide nitrique. Après une heure d'agitation, 500  $\mu\text{l}$  d'extrait sont introduits dans un bêcher avec du tampon acide « Sherwood ».

Le chloremètre est équipé de deux jeux d'électrodes : 2 électrodes d'argent qui génèrent des ions argent en continu dans le milieu réactionnel, et 2 électrodes de mesure de conductivité électrique de ce milieu. Les ions argent libérés par les électrodes se combinent avec les ions  $\text{Cl}^-$  de l'échantillon, formant un précipité de chlorure d'argent, sans impact sur la conductivité électrique du milieu. Lorsque tous les ions  $\text{Cl}^-$  ont précipité, des ions argent libres apparaissent et la conductivité de la solution change. Ce changement est détecté par les électrodes de mesure qui donnent directement le résultat d'analyse en mg de  $\text{Cl}^-$  par litre d'extrait dosé, ou en mg de NaCl / g d'extrait.

## 5 REACTIFS ET CONSOMMABLES

Les références indiquées sont celles des produits Sherwood Scientific Ltd<sup>®</sup>.

- Acide nitrique à 0,3N.

# Teneur en chlorure de sodium dans les produits carnés

## SOP : Chem-Meatfish-005-fr

Date: 11/05/2011

Version :

- Tampon acide combiné Sherwood (ref. 001 56 206).
- Eau distillée.
- Solution étalon de Chlore Ciba-Corning à 200 mg/l (ref. 001 56 203).
- Pâte à polir pour nettoyer les électrodes (ref. 001 56 205).
- Cathode et électrodes de mesure (ref. 925 11 002).
- Anodes (ref. 925 11 003).
- Bêcher jaugé à 10ml (ref. 925 11 009).
- Rotor (ref. 925 14 001).

## 6 APPAREILLAGE

La performance de l'appareil est vérifiée au moyen de la solution étalon à 200 mg/l. Voir ci-après dans la partie 7-Procédure.

## 7 PROCEDURE

Allumer le chloremètre au moins **30 minutes** à l'avance.

### 7.1. Extraction des chlorures

Selon la teneur en sel supposée des échantillons, peser séparément à 3 reprises une masse de 0,5 à 3 g d'échantillon homogène (pour des teneurs en NaCl supposées de l'ordre respectivement de 3 à 0,5% dans l'échantillon). Introduire chacune des pesées dans des pots en plastique polypropylène de 60 ml minimum.

Remarque : dans le doute, ne pas hésiter à sous-évaluer la teneur supposée, car il sera aisé de diluer l'extrait nitrique (à l'eau distillée) par la suite si la teneur en Cl<sup>-</sup> s'avérait au-delà de la plage de mesure de l'appareil.

Rajouter dans chacun de ces pots 50 ml d'acide nitrique dilué à 0,3N.

Mettre sous agitation les pots pendant 1 heure au minimum. Une fois le mélange fait, l'extrait nitrique peut se conserver au froid plusieurs jours si besoin (3 jours maximum).

Avant toute mesure, vérifiez que :

- Les électrodes sont bien droites et parallèles.
- Elles sont insérées dans leurs orifices jusqu'à affleurer au même niveau, permettant une rotation libre de l'agitateur.
- Les électrodes s'usent. Vérifier que l'anode (l'électrode la plus longue, de 70 mm initialement) mesure au moins 57 mm, sinon la remplacer<sup>1</sup>.
- Les électrodes ne sont pas oxydées. Si c'est le cas, les frotter à la pâte à polir sur un chiffon doux jusqu'à qu'elles soient propres et brillantes.

<sup>1</sup> Voir § 9

# Teneur en chlorure de sodium dans les produits carnés

## SOP : Chem-Meatfish-005-fr

Date: 11/05/2011

Version :

### 7.2. Etalonnage de l'appareil

- Introduire dans le bêcher du tampon acide combiné jusqu'au trait de jauge.
- Déposer le bêcher sur le portoir (de couleur noir) de l'appareil.
- Relever le portoir jusqu'à la butée, de manière à ce que l'ensemble des électrodes + agitateur trempe dans le bêcher.
- Appuyez sur "**condition**", pour la mise à zéro.
- **Pipetez**, à l'aide d'une pipette automatique préréglée, **500µl** de la solution étalon à 200 mg/l de Cl<sup>-</sup>, et lancer la titration automatique en appuyant sur la touche « **Titrate** ».
- L'agitateur va se mettre à tourner. A son arrêt, effectuer la lecture sur l'afficheur digital du chloremètre, qui doit donner une valeur en lecture de 200 + ou - 3 mg/l. Répéter cette phase à 3 reprises afin de garantir la qualité de la mesure. En cas de dispersion plus importante des valeurs, procéder au nettoyage complet des 4 électrodes et de l'agitateur. En cas d'écart significatif à une moyenne de 200 (±3mg/l) agir sur la vis de calibration se situant sur le côté droit de l'appareil et reprendre en phase A. 1 tour complet de vis correspond à 6 à 7 mg/l.

Une fois que l'appareil est étalonné, jeter<sup>2</sup> le contenu du bêcher, le rincer à l'eau distillée et le sécher avant de passer au dosage des échantillons.

### 7.3. Dosage des échantillons

- Pour les échantillons, procéder selon la procédure décrite pour la détermination de la teneur en Cl<sup>-</sup> de la solution étalon à 200mg/l, à savoir :
- **Pipetez**, à l'aide d'une pipette automatique préréglée, **500µl** d'extrait nitrique de l'échantillon. Lancer la titration automatique en appuyant sur la touche « **Titrate** ». Lire la teneur en Cl<sup>-</sup> affichée une fois l'affichage stabilisé (quelques secondes)
- Répéter 2 fois la procédure du point précédent avec le même extrait afin d'obtenir 3 valeurs de teneur en Cl<sup>-</sup>, I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> et I<sub>3</sub>. Ces valeurs doivent être comprises dans l'intervalle de linéarité de la réponse de l'appareil (**30 à 300 mg/l**). Si la valeur obtenue en lecture est hors de cet intervalle, procéder à une dilution préalable avec de l'eau distillée, afin que la valeur obtenue soit dans la gamme de linéarité.

Lorsque le voyant « **change reagents** » s'allume (en général après une dizaine de dosages), vider<sup>2</sup> et nettoyer le bêcher, puis remplacer le contenu par du tampon combiné. Taper sur « **condition** » pour refaire le zéro, puis reprendre les dosages.

---

<sup>2</sup> Voir § 9.

# Teneur en chlorure de sodium dans les produits carnés

SOP : Chem-Meatfish-005-fr

Date: 11/05/2011

Version :

## 8 EXPRESSION DES RÉSULTATS

### 8.1. Mode de calcul et formules

La teneur en sels  $T_{NaCl}$  est exprimée en g/100g d'échantillon est donnée par la formule suivante :

$$T_{NaCl} = (1,648 \cdot 10^{-4}) \cdot \frac{(I_1 + I_2 + I_3)}{3} \cdot v \cdot \frac{d}{m_0}$$

où :

- 1,648 correspond à la masse molaire du NaCl / Masse molaire du Cl<sup>-</sup>,
- I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> et I<sub>3</sub> sont les 3 teneurs en chlorures (mg/l) lues sur l'afficheur de l'appareil,
- m<sub>0</sub> correspond au poids de l'échantillon introduit dans les 50 ml d'acide nitrique à 0.3N,
- d est la dilution éventuelle de l'extrait avant titration (par exemple 2 si l'extrait a été dilué 2 fois).
- v est le volume d'acide nitrique à 0,3 N en ml qui a été mis en œuvre pour l'extraction des ions.

### 8.2. Répétabilité

Le coefficient de variation des 3 lectures réalisées pour un même échantillon ne doit pas excéder 2,5%.

## 9 POINTS CRITIQUES ET NOTE SUR LA PROCEDURE

Les déchets générés lors des dosages contiennent des polluants chimiques tels que des sels d'argent, des acides (nitrique, acétique). A ce titre, ils doivent être éliminés selon les bonnes pratiques de laboratoire en vigueur.

## 10 RAPPORT D'ESSAI

Le rapport d'essai doit contenir les informations suivantes :

- Une référence à la présente procédure.
- Toute information nécessaire à une identification complète de l'échantillon (nom, nature des produits).
- La date d'analyse et le nom de l'opérateur
- Les détails opératoires non prévus pouvant influencer l'interprétation des résultats.

# Teneur en chlorure de sodium dans les produits carnés

SOP : **Chem-Meatfish-005-fr**

Date: 11/05/2011

Version :

- Une feuille de calculs intermédiaires contenant l'ensemble des variables listées au point 8.1.

## 11 ENREGISTREMENT DES REVISIONS

Date	Personne responsable	Description de la modification

## 12 ANNEXE

Mode d'emploi "Model 926, Chloride Analyser, operator's manual », Sherwood Scientific Ltd., 1997"



**African Food Tradition rEvisited by Research**

**FP7 n°245025**



**Deliverable 1.2.3.9:** SOP for Chemical analysis for Group 2

**Procédure pour la détermination de la teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)**

**SOP : Chem-Meatfish-006-fr**

Date : 10/05/2011

Version :

Ecrit par : Elodie ARNAUD

Pour plus d'informations sur ce SOP, contactez :

- Elodie ARNAUD ([elodie.arnaud@cirad.fr](mailto:elodie.arnaud@cirad.fr))
- Julien Ricci ([julien.ricci@cirad.fr](mailto:julien.ricci@cirad.fr))

**Ce document a été approuvé par :**

Partenaire	Noms des personnes l'ayant approuvé	Date DD/MM/YY
CIRAD	T. Goli, J. Ricci	18 mai 2011
UAC		
CSIR		
ADIV	V. Scislowski	15 juin 2011
UT		
UCAD		
INRA		



## **Table des matières**

<b>1</b>	<b>Domaine et application .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Références .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Définitions .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Principe .....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Réactifs .....</b>	<b>4</b>
<b>6</b>	<b>Appareillage .....</b>	<b>6</b>
<b>7</b>	<b>Procédure .....</b>	<b>7</b>
7.1	Préparation de l'échantillon .....	7
7.2	Dosage de l'acide D- et L-lactique (avec le kit Megazyme) .....	7
<b>8</b>	<b>Expression des résultats .....</b>	<b>8</b>
8.1	Méthode de calcul et formules .....	8
8.2	Répétabilité .....	9
<b>9</b>	<b>Points critiques et notes sur la procédure .....</b>	<b>9</b>
<b>10</b>	<b>Rapport d'essai .....</b>	<b>10</b>
<b>11</b>	<b>Enregistrement des révisions .....</b>	<b>10</b>
<b>12</b>	<b>Annexe .....</b>	<b>11</b>

# Teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

SOP Number: **Chem-Meatfish-006-fr**

Date of creation: 10/05/2001

Date of revision:

## 1 DOMAINE ET APPLICATION

Cette procédure décrit un protocole de dosage séparé des acides D- et L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

## 2 RÉFÉRENCES

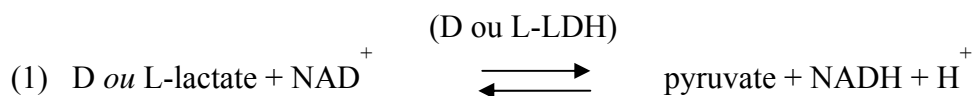
- Acide D-lactique (D-lactate) et acide L-lactique (L-lactate) - Procédure d'essai K-DLate 06/08. *Megazyme International Ireland Limited* 2006.
- Enzytec Fluid Questions –réponses. Version : 16/01/2008. *SCIL Diagnostics*.
- Enzytec Generic Questions –réponses. Version : 26/10/2006. *SCIL Diagnostics*.

## 3 DÉFINITIONS

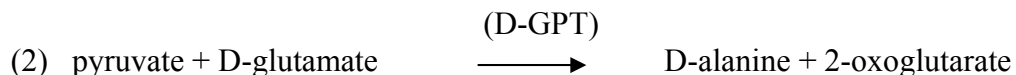
Les acides D- et L-lactiques sont mesurés dans les produits carnés fermentés dans lesquels ils sont issus de la glycolyse post mortem et de la production par les bactéries lactiques.

## 4 PRINCIPE

Après homogénéisation de l'échantillon dans de l'eau distillée et clarification par la méthode de Carrez (qui élimine les protéines, mais aussi les graisses, la turbidité et certains types de coloration), les acides D- et L-lactiques sont quantifiés en dosant par spectrophotométrie (à 340 nm) le NADH produit selon la réaction (1) :



Toutefois, l'équilibre de la réaction (1) étant clairement favorable au D- ou L-lactate et au  $\text{NAD}^+$ , une réaction supplémentaire est nécessaire pour piéger le produit pyruvate, ce qui est obtenu par la réaction (2) :



## Teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

SOP Number: **Chem-Meatfish-006-fr**

Date of creation: 10/05/2001

Date of revision:

La quantité de NADH formé par la réaction couplée ci-dessus est stœchiométrique avec la quantité de D- ou L-lactate.

### 5 RÉACTIFS

- Solution de Carrez I : Dissoudre 3,6 g d'hexacyanoferrate de potassium II ( $C_6FeK_4N_6, 3H_2O$ ) dans 100 ml d'eau distillée. Conserver à température ambiante.
- Solution de Carrez II : Dissoudre 7,2 g de sulfate de zinc ( $ZnSO_4, 7H_2O$ ) dans 100 ml d'eau distillée. Conserver à température ambiante.
- Hydroxyde de sodium 0,1M : Dissoudre 0,4g de pastilles de soude dans 100ml d'eau distillée. Conserver à température ambiante.
- Kits enzymatiques Megazyme :

Référence	Nombre de tests / kit
Acide D-lactique (rapide) K-DATE	50
Acide D/L-Lactique K-DLATE	100 (50 de chaque)
Acide L-Lactique K-LATE	50

Les kits D/L-lactique contiennent la méthode complète de dosage, avec :

- ⇒ **Flacon 1**: (x2) Tampon glycylglycine (25 mL, 0,5 M, pH 10,0) plus D-glutamate (0,5 M) et azoture de sodium 0,02 % (m/v) jouant un rôle de conservateur.
- Stable pendant > 2 ans à 4°C.
- Prêt à l'emploi. Dans le cas d'une conservation prolongée, de petites quantités de D-glutamate peuvent cristalliser au fond du flacon. Ceci n'influe en rien sur le dosage : il est possible de ne pas en tenir compte, ou de resolubiliser par incubation (en agitant de temps à autres) dans l'eau chaude jusqu'à ce que la solution soit claire.
- ⇒ **Flacon 2** : (x2)  $NAD^+$  (380 mg).
- Stable pendant > 5 ans à -20°C.

## Teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

SOP Number: **Chem-Meatfish-006-fr**

Date of creation: 10/05/2001

Date of revision:

- Dissoudre le contenu du flacon 2 dans 5,5 mL d'eau distillée. Répartir en aliquotes de taille appropriée et conserver dans des tubes en polypropylène à -20°C entre les utilisations. Une fois décongelée, cette solution doit de préférence être conservée au froid (par exemple au réfrigérateur ou sur de la glace) pendant son utilisation. Ne dissoudre le contenu du deuxième flacon qu'au moment de son utilisation. Une fois dissous, le réactif est stable pendant > 2 ans à -20°C.
- ⇒ **Flacon 3** : Suspension de D-glutamate-pyruvate transaminase (2,2 mL, 1300 U/mL).
- Stable pendant > 2 ans à 4°C.
- ⇒ **Flacon 4** : Suspension de L-lactate déshydrogénase (1,1 mL, 2000 U/mL).
- Stable pendant > 2 ans à 4°C.
- ⇒ **Flacon 5** : Suspension de D-lactate déshydrogénase (1,1 mL, 20000 U/mL).
- Stable pendant > 2 ans à 4°C.

Le contenu des flacons 3, 4 et 5 doit être utilisé tel quel. Agiter les flacons avant de les ouvrir pour la première fois, afin d'éliminer les dépôts enzymatiques éventuellement présents sur le bouchon en caoutchouc. Conserver ensuite les flacons en position verticale. Agiter les flacons pour mélanger le contenu avant utilisation.

- ⇒ **Flacon 6** : Solution de référence d'acide D/L-lactique (5 mL, 0,15 mg/mL de chaque) dans l'azoture de sodium à 0,02 % (m/v).

Stable pendant > 2 ans à 4°C.

Prêt à l'emploi

Les dosages des acides D- et L-lactiques peuvent être réalisés avec d'autres kits (Enzytec Fluid et Enzytec Generic). Les kits Enzytec Generic fonctionnent selon le même principe que les kits Megazymes. Les kits Enzytec Fluid fonctionnent selon un principe proche (dosage par spectrophotométrie de la quantité de NADH formé par la réaction (1) qui est rendue totale par ajustement du tampon et de son pH et utilisation d'une L-LDH de meilleure qualité, pour obtenir une meilleure constante de Michaelis).

## Teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

SOP Number: **Chem-Meatfish-006-fr**

Date of creation: 10/05/2001

Date of revision:

Ci-dessous un tableau comparatif des kits :

Kit	Prix/essai (base France)	Domaine de linéarité (g/L)	Nombre de réactifs – Durée de réaction	Etalon fourni	Péremption des réactifs
Enzytec Fluid D / L-Lactique 5240 + 5260	3,21€	0,025 à 0,25 (100µL) 0,007 à 0,07 (300µL)	2 15 min	Non	A 4°C, jusqu'à date de péremption (en général 1 an et demi après achat, mais selon les lots peut être inférieure)
Enzytec Generic D-/L-Lactic Acid 1255 ou 1253 + 1254	2,46€	0,02 à 0,15 (100µL) 0,002 à 0,015 (1ml)	5 30 min	Non	A 4°C, jusqu'à date de péremption (en général 1 an et demi après achat, mais selon les lots peut être inférieure)  NAD <sup>+</sup> : 2 mois à -20°C
Megazyme Acide D/L- Lactique K- DLATE	2,89€	à 0,3g.L-1 (100µL)	5 5 min (D) 10 min (L)	Oui	2 ans à 4°C  NAD <sup>+</sup> : Nécessité de faire des aliquotes (5 ans à -20°C)

Les tarifs sont équivalents. Le kit Megazyme est préféré pour la plus grande durée de conservation des réactifs. Le kit Enzytec Fluid présente cependant l'avantage de n'utiliser que deux réactifs mais les calculs sont plus sources d'erreurs car font intervenir un facteur de dilution pour le calcul du  $\Delta A$  (cf § 8.1) qui change selon le volume d'échantillon utilisé. De plus les kits Enzytec ne contiennent pas de standard qui doit être acheté en parallèle (ref 1240). Le kit Enzytec Generic 1255 prévoit d'effectuer les deux tests dans la même cuvette ce qui ne permet pas d'utiliser des volumes d'échantillons différents si les concentrations d'acide D- et L-lactique sont éloignées.

## 6 APPAREILLAGE

Fioles jaugées (50 mL et 100 mL)

Balance de précision

# Teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

SOP Number: **Chem-Meatfish-006-fr**

Date of creation: 10/05/2001

Date of revision:

Filtres Whatman plissés

Entonnoirs

Erlens de 50 mL minimum

Cuves jetables en plastique (trajet optique 1cm, volume 3,0 mL)

Pipettes (20 $\mu$ L, 100 $\mu$ L, 1mL, 5mL)

Spectrophotomètre

## 7 PROCÉDURE

### 7.1 Préparation de l'échantillon

Peser précisément environ 2,5 g de broyat de viande dans une fiole jaugée de 50 mL. La valeur de 2,5g est indicative. La quantité d'échantillon doit être adéquate pour obtenir une concentration comprise dans le domaine de linéarité du kit.

Ajouter 30 ml d'eau distillée. Agiter.

Ajouter les solutions suivantes et mélanger après chaque addition: 2,5 mL de solution de Carrez I, 2,5 mL de solution de Carrez II et 5 mL de solution de NaOH (0,1M).

Compléter jusqu'à la marque avec de l'eau distillée, mélanger et filtrer la solution à l'aide de papier filtre.

### 7.2 Dosage de l'acide D- et L-lactique (avec le kit Megazyme)

Préparer chacune des cuves comme indiqué ci-dessous :

	Blanc	Standard	Echantillon
Eau distillée	1,6 mL	1,5 mL	1,5 mL
Echantillon	-	100 $\mu$ L	100 $\mu$ L
Solution 1 (tampon)	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L	500 $\mu$ L

## Teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

SOP Number: **Chem-Meatfish-006-fr**

Date of creation: 10/05/2001

Date of revision:

Solution 2 (NAD <sup>+</sup> )	100 µL	100 µL	100 µL
Solution 3 (D-GPT)	20µL	20µL	20µL
Mélanger *			
Lire ** les absorbances (A <sub>1</sub> ) après 3 min			
Solution 5 (D-LDH ou L-LDH)	20 µL	20 µL	20 µL
Mélanger *			
Lire ** les absorbances (A <sub>2</sub> ) à la fin de la réaction (environ 5 min pr le D-lactate et 10 min pour le L-lactate) ***			

\*Par délicate inversion après avoir scellé la cuve au moyen d'un bouchon spécial ou de parafilm

\*\* La lecture se fait par rapport à l'eau

\*\*\* Si la réaction n'est pas terminée au bout de 5 min, continuer à lire les absorbances toutes les 1 min pour le D-lactate et toutes les 2 min pour le L-lactate jusqu'à ce que les absorbances ne varient plus ou qu'elles augmentent régulièrement. Dans le dernier cas, si la vitesse est plus importante pour l'échantillon que pour le blanc, extrapoler les absorbances. Par exemple, supposons pour le D-lactate, A<sub>1</sub> = 0,1, A<sub>2</sub> = 0,350 après 5 min de réaction, 0,360 après 6 min et 0,370 après 7 min. L'augmentation de DO est constante (0,010 toutes les min). Cette augmentation est due à une réaction parasite puisque s'il s'agissait de la réaction principale qui se termine lentement la DO évoluerait de moins en moins vite. Le calcul sera donc le suivant : A<sub>2</sub> à 5 min = 0,350-5 × 0,010= 0,300. La concentration sera calculée avec cette valeur.

## 8 EXPRESSION DES RESULTATS

### 8.1 Méthode de calcul et formules

Déterminer la différence d'absorbance (=A<sub>2</sub>-A<sub>1</sub>) pour le blanc et l'échantillon.

Soustraire la différence d'absorbance du blanc de la différence d'absorbance des échantillons afin d'obtenir ΔA.

$$C = F \times \frac{\Delta A \times V_{cuve}}{\varepsilon \times l \times V_{échantillon}} \times M_{acide\ lactique}$$

## Teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

SOP Number: **Chem-Meatfish-006-fr**

Date of creation: 10/05/2001

Date of revision:

avec : C = concentration en acide D ou L lactique de l'échantillon ( $\text{g.L}^{-1}$ )

F = facteur de dilution de l'échantillon

$\varepsilon$  = coefficient d'extinction molaire du NADH à 340 nm ( $6300 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ )

l = épaisseur de la cuve (1 cm)

$V_{\text{cuve}}$  = volume de réactifs dans la cuve (2,24 mL)

$M_{\text{acide lactique}}$  = masse molaire de l'acide D ou L lactique ( $90,1 \text{ g.mol}^{-1}$ )

$V_{\text{échantillon}}$  = volume d'échantillon mis dans la cuve (0,1 à 1,5 mL)

C doit être compris dans le domaine de linéarité du kit.

Si  $C < SB$  linéarité et si besoin de plus précision augmenter le volume d'échantillon jusqu'à 1,5 ml maximum.

Si  $C > 0,3 \text{ g.L}^{-1}$  et si besoin de plus de précision, diluer l'échantillon.

$$T_{\text{acide lactique}} = \frac{C \times V}{m_{\text{viande}}} \times 100$$

avec :  $T_{\text{acide lactique}}$  : teneur en acide D ou L lactique (g / 100g de viande)

$m_{\text{viande}}$  : masse de viande utilisée pour l'extraction (g)

V : volume d'extraction (50 mL)

### 8.2 Répétabilité

Non précisé dans la fiche technique à moins que l'on considère que ce soit la sensibilité (cf. paragraphe ci-dessous). Info demandée au fabricant.

## 9 POINTS CRITIQUES ET NOTES SUR LA PROCEDURE

Le dosage est linéaire sur la plage allant de à 30  $\mu\text{g}$  d'acide D- ou L-lactique par dosage.



## Teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

SOP Number: **Chem-Meatfish-006-fr**

Date of creation: 10/05/2001

Date of revision:

La plus faible absorbance permettant une différenciation (sensibilité) dans ce dosage est de 0,005 unités d'absorbance. Cela correspond à 0,107 mg/L de solution échantillon au volume maximal d'échantillon de 1,50 mL (ou à 1,60 mg/L pour un volume d'échantillon de 0,1 mL).

### 10 RAPPORT D'ESSAI

Le rapport d'essai doit indiquer :

- le nom de l'échantillon en précisant sa nomenclature et le type d'échantillon
- la date de l'analyse et le nom de l'opérateur
- la méthode utilisée (ici SOP N° Chem-MeatFish-006-fr)
- les résultats avec leur unité d'expression (en mentionnant les valeurs des répétitions et la moyenne si il y a lieu)
- toutes observations relatives à l'état de l'échantillon si celui-ci était ou paraissait suspect avant analyse
- toutes observations relatives au déroulement de la méthode si son application venait à être problématique (Les détails opératoires non prévus pouvant influencer l'interprétation des résultats)

### 11 ENREGISTREMENT DES RÉVISIONS

Date	Personne responsable	Description de la modification

## Teneur en acide D-, L-lactique dans les produits carnés (viandes et poissons)

SOP Number: **Chem-Meatfish-006-fr**

Date of creation: 10/05/2001

Date of revision:

### 12 ANNEXE



Acide D-lactique (D-lactate) et acide L-lactique (L-lactate) - Procédure d'essai K-DLate 06/08. *Megazyme International Ireland Limited* 2006.

Enzytec Fluid Questions –réponses. Version : 16/01/2008. *SCIL Diagnostics*.

Enzytec Generic Questions –réponses. Version : 26/10/2006. *SCIL Diagnostics*.

Enzytec Fluid acide L-lactique 5260. Version 06/12/2007. *SCIL Diagnostics*.

Enzytec Fluid acide D-lactique 5240. Version 15/09/2005. *SCIL Diagnostics*.

	<p><b><u>African Food Tradition rEvisited by Research</u></b></p> <p><b><u>FP7 n°245025</u></b></p>	
<p><b>Deliverable D.1.2.3.9 : SOP for chemical analysis for Group 2</b></p>		
<p><b>Procédure de détermination de la teneur en L-hydroxyproline et calcul de la teneur en collagène des viandes et poissons</b></p>		
<p><b>SOP Number: Chem-MeatFish-007-fr</b></p>		
<p>Date of creation: 16/05/2011</p>	<p>Revision:</p>	
<p>Written by : Valérie SCISLOWSKI (ADIV)</p> <p>For information on this SOP please contact :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Valérie Scislowski (valerie.scislowski@adiv.fr)</li> <li>•</li> </ul>		
<p><b>This document has been approved by :</b></p>		
<p>Partner</p>	<p>Name of the person who approved</p>	<p>Date</p> <p>DD/MM/YY</p>
<p>CIRAD UAC CSIR ADIV UT UCAD INRA</p>	<p>Valérie SCISLOWSKI</p>	<p>16/05/2011</p>

# Teneur en L-hydroxyproline et calcul de la teneur en collagène des viandes et poissons

SOP Number: **Chem-MeatFish-007-fr**

Date of creation: 16/05/201116/5/2011

Date of revision:

## Table of contents

<b>1</b>	<b>Domaine et application .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>References .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Définitions .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Principe .....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Réactifs .....</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>Appareillage .....</b>	<b>3</b>
<b>7</b>	<b>Procédure .....</b>	<b>4</b>
<b>8</b>	<b>Expression des résultats .....</b>	<b>4</b>
<b>9</b>	<b>Points critiques ou Note sur la procedure.....</b>	<b>4</b>
<b>10</b>	<b>Rapport d'analyse.....</b>	<b>4</b>
<b>11</b>	<b>Enregistrement des versions .....</b>	<b>5</b>
<b>12</b>	<b>Annexe.....</b>	<b>5</b>

# Teneur en L-hydroxyproline et calcul de la teneur en collagène des viandes et poissons

SOP Number: **Chem-MeatFish-007-fr**

Date of creation: 16/05/201116/5/2011

Date of revision:

## 1 DOMAINE ET APPLICATION

Le présent document décrit une méthode (Technique manuelle) pour la détermination de la teneur en L(-) hydroxyproline et le calcul de la teneur en collagène, dans les viandes et produits à base de viande, et dans les produits de la pêche et leur préparation.

## 2 REFERENCES

- Norme AFNOR NF EN ISO/CEI 17025
- Norme AFNOR NF V 04-415

## 3 DEFINITIONS

Cf document normatif

## 4 PRINCIPE

Libération de la L(-)hydroxyproline par hydrolyse acide, oxydation par la chloramine T et formation d'un composé de couleur rouge avec le p-diméthylaminobenzaldéhyde, mesure photométrique à une longueur d'onde de 558 nm.

## 5 RÉACTIFS

Cf document normatif

## 6 APPAREILLAGE

Cf document normatif

# Teneur en L-hydroxyproline et calcul de la teneur en collagène des viandes et poissons

SOP Number: **Chem-MeatFish-007-fr**

Date of creation: 16/05/2011 16/5/2011

Date of revision:

## 7 PROCEDURE

Cf document normatif

## 8 EXPRESSION DES RESULTATS

Cf document normatif

## 9 POINTS CRITIQUES OU NOTE SUR LA PROCEDURE

- **Préparation des échantillons : appliquer la SOP Prep-MeatFish-001-fr**

Cette étape est primordiale : il est nécessaire d'obtenir un échantillon homogène et représentatif.

Cela conditionne la répétabilité de l'analyse :

- utiliser le broyat de l'échantillon préparé dans la journée,
- selon l'échantillon, déterminer le taux de collagène en double ou en triple :
  - \* en double pour les produits homogènes (exemple : jambons),
  - \* en triple pour un produit hétérogènes (saucissons, certaines viandes hachées),
- peser en général 2 à 2,5 g par prise d'essai. La masse peut s'échelonner de 1 à 4 g selon la quantité présumée de collagène dans le produit,

- Respecter les temps et températures au court des étapes d'hydrolyse et de dosage.

## 10 RAPPORT D'ANALYSE

Le rapport d'essai doit indiquer :

- le nom de l'échantillon en précisant sa nomenclature et le type d'échantillon
- la date de l'analyse et le nom de l'opérateur
- la méthode utilisée (ici SOP N° Chem-MeatFish-007-fr)
- le résultat avec son unité d'expression (en mentionnant les valeurs des répétitions et la moyenne)
- toutes observations relatives à l'état de l'échantillon si celui-ci était ou paraissait suspect avant analyse

# Teneur en L-hydroxyproline et calcul de la teneur en collagène des viandes et poissons

SOP Number: **Chem-MeatFish-007-fr**

Date of creation: 16/05/201116/5/2011

Date of revision:



- toutes observations relatives au déroulement de la méthode si son application venait à être problématique

## 11 ENREGISTREMENT DES VERSIONS

Date	Responsible person	Description of change

## 12 ANNEXE

Cf document normatif

	<p><b><u>African Food Tradition rEvisited by Research</u></b></p> <p><b><u>FP7 n°245025</u></b></p>	
<p><b>Deliverable D.1.2.3.9 : SOP for chemical analysis for Group 2</b></p>		
<p><b>Procédure de détermination de l'indice d'acide des produits carnés</b></p>		
<p>SOP Number: <b>Chem-MeatFish-008-fr</b></p>		
Date of creation: 16/05/2011	Revision:	
<p>Written by : Valérie SCISLOWSKI ( Valérie SCISLOWSKI)  For information on this SOP please contact :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Valérie SCISLOWSKI (valerie.scislowski@adiv.fr)</li> <li>•</li> </ul>		
<p><b>This document has been approved by :</b></p>		
Partner	Name of the person who approved	Date DD/MM/YY
CIRAD UAC CSIR ADIV UT UCAD INRA	Valérie SCISLOWSKI	16/05/2011



# Indice d'acide des produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-008-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## Table of contents

<b>1</b>	<b>Domaine et application .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>References .....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Définitions.....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Principe .....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Réactifs .....</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>Appareillage .....</b>	<b>4</b>
<b>7</b>	<b>Procédure.....</b>	<b>4</b>
7.1	Prise d'essai .....	4
7.2	Détermination de l'indice d'acide.....	5
<b>8</b>	<b>Expression des résultats .....</b>	<b>5</b>
8.1	Méthode de calcul et formule.....	5
8.1.1	<i>Formulae.....</i>	<i>6</i>
8.2	Repeatability.....	6
<b>9</b>	<b>Critical points or Note on the procedure.....</b>	<b>6</b>
<b>10</b>	<b>Test report .....</b>	<b>6</b>
<b>11</b>	<b>Revision record.....</b>	<b>6</b>
<b>12</b>	<b>Appendix.....</b>	<b>7</b>

# Indice d'acide des produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-008-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 1 DOMAINE ET APPLICATION

Ce mode opératoire a pour objet de formaliser la méthode de détermination de l'indice d'acide dans les corps gras d'origine animale.

La méthode choisie est celle à l'éthanol.

## 2 REFERENCES

- Norme NF EN ISO 17025,
- Norme AFNOR NF T 60-204.

## 3 DEFINITIONS

Indice d'acide :

- Nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour neutraliser les acides gras libres présents dans 1 g de corps gras.
- L'indice d'acide est exprimé en mg/g.

Acidité :

- Expression conventionnelle du % d'acides gras libres.
- L'acidité est exprimée en pourcentage en masse.

## 4 PRINCIPE

L'indice d'acide est déterminé sur les matières grasses extraites des produits carnés. Mise en solution d'une prise d'essai dans l'éthanol chaud, puis titrage des acides gras libres présents à l'aide d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium.

## 5 REACTIFS

- solution d'hydroxyde de sodium 1N titrinorm (titrée)
- alcool éthylique à 96 %,
- phénolphthaléine à 1 % dans l'alcool éthylique 96 %,
- solution hydroxyde de sodium 0,1N (préparation le jour de l'analyse en relation avec le nombre d'échantillons).

# Indice d'acide des produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-008-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

## 6 APPAREILLAGE

- balance analytique au mg,
- erlens de 100 ml,
- agitateur magnétique,
- barreau aimanté,
- éprouvette de 50 ml,
- burette précise 5 ml graduée à 0,02 ml,
- bain marie bouillant,
- fiole jaugée 100 ml,
- pipette jaugée 10 ml,
- pipette jaugée 2 ml.

## 7 PROCEDURE

### 7.1 Prise d'essai

Réaliser une prise d'essai par échantillon.

Peser au mg dans l'erlen (identifié par le numéro de l'échantillon) la quantité utile de gras d'après les indications du tableau.

Indice d'acide présumé	Masse de la prise d'essai (g)	Précision de la pesée de la prise d'essai (g)
< 1	20	0,05
1 à 4	10	0,02
4 à 15	2,5	0,01
15 à 75	0,5	0,001
> 75	0,1	0,0002

La plupart des produits carnés ont un indice d'acide compris entre 4 et 15.  
Cependant, des produits frais (tels que des mêlées) peuvent avoir des valeurs

# Indice d'acide des produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-008-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

voisines de 1 à 4. C'est pourquoi la prise d'essai se situe généralement à 2,5 g ou plus.

Noter la masse pesée dans le rapport d'analyse.

## 7.2 Détermination de l'indice d'acide

- \* Ajouter successivement dans l'erlen :
  - 50 ml d'alcool éthylique 96 % (préalablement neutralisé),
  - 0,5 ml à 1 ml de phénolphtaléine,
- \* Dissoudre les corps gras dans le solvant en portant le mélange au voisinage de l'ébullition avec précaution,
- \* Titrer le mélange et le mettant sous agitation ou en agitant énergiquement avec la solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N jusqu'au virage de l'indicateur. Le point final du titrage est atteint lorsque l'ajout d'une seule goutte d'alcool provoque un changement de couleur net même s'il est léger, persistant durant au moins 15 s.
- \* Reprendre 1 ou 2 échantillons : en particulier ceux ayant des résultats forts.
- \* Noter le volume d'hydroxyde de sodium en ml dans le rapport d'analyse

## 8 EXPRESSION DES RESULTATS

### 8.1 Méthode de calcul et formule

Expression de l'indice d'acide :

$$\frac{56,1 \times v \times c}{m}$$

- v : volume en ml de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée,  
c : concentration exacte, en moles/l de la solution titrée d'hydroxyde de sodium utilisée, soit 0,1 N,  
m : masse en grammes de la prise d'essai.

Expression de l'acidité (en pourcentage de masse) :

$$v \times c \times \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{v \times c \times M}{10 \times m}$$

- v : volume, en ml de la solution titrée d'hydroxyde de sodium utilisée,  
c : concentration exacte, en moles/l de la solution titrée d'hydroxyde de sodium utilisée,

# Indice d'acide des produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-008-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

- M : masse molaire en grammes de l'acide adapté pour l'expression du résultat (voir tableau ci-dessous),  
m : masse en grammes de la prise d'essai.

Nature du corps gras	Expression	Masse molaire g/mol
- huile de coprah, huile de palmiste et huiles similaires,	acide laurique	200
- huile de palme,	acide palmitique	256
- tous autres corps gras	acide oléique	282

Si la demande d'analyse indique simplement "acidité" sans autre précision, elle est par convention exprimée en pourcentage d'acide oléique.  
Si l'échantillon contient des acides minéraux, ils sont par convention déterminés comme acides gras.

## 8.1.1 Formulae

## 8.2 Repeatability

## 9 CRITICAL POINTS OR NOTE ON THE PROCEDURE

**CF OB**

## 10 TEST REPORT

## 11 REVISION RECORD

Date	Responsible person	Description of change

# Indice d'acide des produits carnés

SOP Number: **Chem-MeatFish-008-fr**

Date of creation: 16/05/2011

Date of revision:

--	--	--

## 12 APPENDIX



**African Food Tradition rEvisited by Research**

**FP7 n°245025**



**Deliverable D.1.2.3.9: SOP for chemical analysis for Group 2**

**Procédure pour la détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés**

**SOP : Chem-MeatFish-009-fr**

Date : 11/10/2011

Version: 3

Ecrit par : Julien Ricci (CIRAD)

Pour plus d'information sur ce SOP, contactez :

- Julien Ricci (julien.ricci@cirad.fr)
- 
- 

**Ce document a été approuvé par :**

Partenaire	Noms des personnes l'ayant approuvé	Date DD/MM/YY
CIRAD	Thierry Goli, Michel Rivier	11/10/2011
UAC		
CSIR		
ADIV	Valérie Scislowski	30/09/2011
UT		
UCAD		
INRA		

# Détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés

SOP : Chem-MeatFish-009-fr

Date: 12/10/2011

Version : 3

## Table des matières

<b>1</b>	<b>Domaine et application</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Références</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Définitions ou contexte</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Principe</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Réactifs</b>	<b>3</b>
<b>6</b>	<b>Appareillage</b>	<b>4</b>
<b>7</b>	<b>Procédure</b>	<b>4</b>
7.1	Préparation des solutions	4
7.1.1	<i>Solution d'acide sulfurique 0,5 M</i>	4
7.1.2	<i>Solution d'acide sulfurique 0,005 M</i>	5
7.1.3	<i>Solution d'acide L-lactique à 1 g / L</i>	5
7.1.4	<i>Solution d'acide acétique à 1 g / L</i>	5
7.1.5	<i>Solution d'acide formique (ou méthanoïque) à 1 g / L</i>	5
7.1.6	<i>Solution d'acide succinique à 1 g / L</i>	5
7.2	Dosage des acides organiques dans les produits carnés	6
7.2.1	<i>Préparation de l'échantillon</i>	6
7.2.2	<i>Prise d'extrait et extraction</i>	6
7.2.3	<i>Mise en route du système chromatographique</i>	6
7.2.4	<i>Etalonnage</i>	7
7.2.5	<i>Dosage d'un extrait d'échantillon de produit carné</i>	8
<b>8</b>	<b>Expression des résultats</b>	<b>8</b>
8.1	Mode de calcul et formules	8
8.2	Répétabilité	9
<b>9</b>	<b>Points critiques et Note sur la procédure</b>	<b>9</b>
<b>10</b>	<b>Rapport d'essais</b>	<b>9</b>
<b>11</b>	<b>Enregistrement des Révisions</b>	<b>10</b>



# Détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés

SOP : Chem-MeatFish-009-fr

Date: 12/10/2011

Version : 3

## 1 DOMAINE ET APPLICATION

Ce document décrit une méthode HPLC de quantification de la teneur en quatre acides organiques fréquemment rencontrés dans les produits carnés fermentés.

## 2 REFERENCES

Référence interne laboratoire du CIRAD.

Thèse de Victor Anihouvi

Thèse en cours de C. Kouakou

## 3 DEFINITIONS OU CONTEXTE

La présence d'acides organiques, de nature variée, en quantités significatives dans des produits carnés implique une présomption de « fermentation » par des métabolismes microbiens sur la base de substrats hydrocarbonés comme des sucres. Le pH n'étant pas forcément altéré du fait de mécanismes tampon, il est proposé de doser les 4 acides organiques qui sont fréquemment associés aux viandes ou poissons fermentés traditionnellement en Afrique : les acides lactique, succinique, formique et acétique.

## 4 PRINCIPE

Les acides organiques considérés dans la présente SOP sont des composés chimiques contenant une fonction acide carboxylique (COOH) à laquelle se rattache une chaîne présentant un nombre variable d'atomes de carbone. Cette propriété permet une séparation et une quantification aisées sur une chaîne HPLC.

La méthode inclut :

- Une extraction des acides organiques en milieu acide.
- Une séparation par HPLC sur colonne HPX87H.
- Un dosage par spectrophotométrie UV à 210 nm sur la base de standards pour HPLC.

## 5 REACTIFS

- Acide sulfurique 95-98% : référence Sigma-Aldrich 320501

# Détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés

SOP : Chem-MeatFish-009-fr

Date: 12/10/2011

Version : 3

- Standards acides organiques de qualité HPLC
  - Acide L-lactique : référence Sigma-Aldrich L1750
  - Acide acétique : référence Sigma-Aldrich 338826
  - Acide formique (ou acide méthanoïque) : référence Sigma-Aldrich 33015
  - Acide succinique : référence Sigma-Aldrich S3674
- Méthanol (pour rinçage injecteur) : référence Sigma-Aldrich 34860
- Acétonitrile (pour nettoyage de la colonne) : référence Sigma-Aldrich 271004

## 6 APPAREILLAGE

Chaine HPLC muni d'un détecteur spectrophotométrique UV et d'une colonne HPX87H.

Broyeur ménager.

Roue d'agitation.

Centrifugeuse de pailleasse.

Micropipettes.

Balance analytique (de résolution 0,1 mg minimum).

Seringues et filtres 0,45µm .

Consommables « courants » : tubes Eppendorf et vials HPLC.

## 7 PROCEDURE

### 7.1 Préparation des solutions

#### *7.1.1 Solution d'acide sulfurique 0,5 M*

- Prélever 26,79 ml ou 49,04 g d'acide sulfurique pur
- Compléter à 1 litre avec de l'eau qualité HPLC

# Détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés

SOP : Chem-MeatFish-009-fr

Date: 12/10/2011

Version : 3

- Peut se conserver environ 2 mois à 4°C

## ***7.1.2 Solution d'acide sulfurique 0,005 M***

- Prélever 10 ml de la solution d'acide sulfurique 0,5 M
- Compléter à 1 litre avec de l'eau qualité HPLC
- Peut se conserver environ une semaine à 4°C

## ***7.1.3 Solution d'acide L-lactique à 1 g / L***

- Peser environ exactement 100 mg d'acide L-lactique
- Compléter à 100 ml avec de l'eau qualité HPLC
- Filtrer à l'aide d'une seringue de 5 ml muni d'un filtre seringue 0,45µm
- Peut se conserver environ 1 mois à 4°C

## ***7.1.4 Solution d'acide acétique à 1 g / L***

- Peser environ exactement 100 mg d'acide acétique
- Compléter à 100 ml avec de l'eau qualité HPLC
- Filtrer à l'aide d'une seringue de 5 ml muni d'un filtre seringue 0,45µm
- Peut se conserver environ 1 mois à 4°C

## ***7.1.5 Solution d'acide formique (ou méthanoïque) à 1 g / L***

- Peser environ exactement 100 mg d'acide formique
- Compléter à 100 ml avec de l'eau qualité HPLC
- Filtrer à l'aide d'une seringue de 5 ml muni d'un filtre seringue 0,45µm
- Peut se conserver environ 1 mois à 4°C

## ***7.1.6 Solution d'acide succinique à 1 g / L***

- Peser environ exactement 100 mg d'acide succinique
- Compléter à 100 ml avec de l'eau qualité HPLC
- Filtrer à l'aide d'une seringue de 5 ml muni d'un filtre seringue 0,45µm
- Peut se conserver environ 1 mois à 4°C

# Détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés

SOP : Chem-MeatFish-009-fr

Date: 12/10/2011

Version : 3

## 7.2 Dosage des acides organiques dans les produits carnés

### 7.2.1 Préparation de l'échantillon

- Broyer et mélanger un échantillon représentatif de 50 grammes de l'échantillon à analyser si possible (si cela n'est pas possible s'assurer d'avoir un échantillon homogène et représentatif) ; cf. SOP D1.2.3.9-Prep-MeatFish-001-fr de préparation des échantillons avant analyse.
- Lancer les analyses le plus rapidement possible puis conserver dans un flacon étanche le reste du broyat.
- La détermination de la matière sèche devra être faite par la suite selon la SOP D1.2.3.9-Chem-MeatFish-002-fr.

### 7.2.2 Prise d'extrait et extraction

- Peser environ exactement 150 mg d'échantillon broyé dans un tube Eppendorf de 2 ml.
- Ajouter 1,5 ml d'acide sulfurique 0,005M puis agiter vigoureusement manuellement de telle sorte que tout l'échantillon se mette en suspension.
- Placer le tube sous agitation (sur une couronne d'agitation) pendant 30 minutes (avec une vitesse de rotation d'environ 20 tours par minute) à température ambiante.
- Centrifuger à 4140g durant 5 minutes à 20°C.
- Filtrer le surnageant à l'aide d'une seringue de 2 ml munie d'un filtre seringue 0,45 µm.

### 7.2.3 Mise en route du système chromatographique

- S'assurer que la colonne installée soit bien une colonne HPX87H munie d'une précolonne.
- Placer dans le flacon de phase mobile la solution d'acide sulfurique 0,005M.
- Mettre en route la pompe **progressivement** jusqu'à 0,6 ml / min et attendre que la pression se stabilise.
- Allumer la lampe UV et attendre 30 minutes pour lancer les premiers échantillons.
- Allumer l'injecteur.
- Allumer la régulation de température pour la colonne.

# Détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés

SOP : Chem-MeatFish-009-fr

Date: 12/10/2011

Version : 3

- Rincer l'injecteur avec du méthanol.
- Placer les échantillons précédemment extraits dans le carrousel (si vous disposez d'un injecteur automatique).
- Lancer l'analyse des acides organiques pendant 40 minutes à un débit constant de 0,6 ml / min.
- Nettoyer la colonne avec de l'acétonitrile ; attention cette phase est à réaliser à la fin du passage des échantillons ou en cours d'analyse si la pression observée dans la colonne dépasse les préconisations du constructeur ou si la variation de pression entre deux échantillons est trop importante. Si après nettoyage de la colonne la pression n'a pas retrouvée sa pression normale, changer la précolonne.

## 7.2.4 Etalonnage

- Placer dans le carrousel les standards d'acide L-lactique, acide acétique, acide formique et acide succinique à environ exactement 1 g/L.
- Lancer l'analyse et vérifier qu'il y a bien une élution unique de chaque acide organique (la présence de plusieurs pics parasites pourrait venir de la présence d'impuretés de la solution de standard ou du mauvais état de la colonne).
- Relever le temps de rétention de chaque acide organique (ce temps de rétention permettra d'identifier les différents acides organiques présents dans les extraits de produits carnés).
- Faire une courbe de calibration de la concentration en chaque acide en fonction de la surface de réponse du pic (cette courbe de calibration permettra de quantifier les acides organiques présents dans les extraits de produits carnés) de la manière suivante :

Echantillon	Dilution	Concentration réelle en acide (g / L)	Aire mesurée (mAU*min)
<b>S1</b>	20	C / 20	<b>A1</b>
<b>S2</b>	10	C / 10	<b>A2</b>
<b>S3</b>	5	C / 5	<b>A3</b>
<b>S4</b>	2	C / 2	<b>A4</b>
<b>S5 (solution mère)</b>	<b>1</b>	<b>C</b>	<b>A5</b>

# Détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés

SOP : Chem-MeatFish-009-fr

Date: 12/10/2011

Version : 3

- Déterminer pour chaque acide organique la pente de la droite ainsi que le coefficient directeur (il est normal que la pente de la droite diffère pour chaque acide organique, leur coefficient de réponse à 210 nm étant différent).

## 7.2.5 Dosage d'un extrait d'échantillon de produit carné

Placer les échantillons de produits extraits dans le carrousel et lancer les analyses chromatographiques (cf. étape 7.2.3).

Grâce aux différents temps de rétention et aux différentes courbes de calibration vous pouvez identifier et quantifier les quatre acides.

Remarque : s'assurer que l'aire de réponse des pics est bien dans la courbe de calibration. Si tel n'est pas le cas il sera nécessaire de diluer l'échantillon (si l'aire est trop grande) ou de recommencer l'extraction avec une masse plus importante (si l'aire est trop petite).

## 8 EXPRESSION DES RESULTATS

### 8.1 Mode de calcul et formules

Etablir la droite d'étalonnage pour chaque acide organique sous la forme suivante :

$$C = a * AIRE + b$$

Où :

a et b sont les coefficients de la droite d'étalonnage

Aire est la surface de réponse du pic à 210 nm.

C est la concentration en acide en g/L

Grâce à la courbe d'étalonnage on peut donc calculer la concentration en chaque acide organique de chaque échantillon.

La quantité d'acide **T (g d'acides pour 100 g de matière sèche d'échantillons)** se calcule selon la formule suivante :

$$T = \left( \frac{C \times V}{1000} \right) \times \left( \frac{10000}{M \times MS} \right)$$

Où :

T, est la teneur en g d'acides pour 100 g de matière sèche d'échantillons.

# Détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés

SOP : Chem-MeatFish-009-fr

Date: 12/10/2011

Version : 3

C, est la concentration en acide en g/L.

V, est le volume en mL d'acide sulfurique 0,005 M utilisé lors de l'extraction

M, est la masse en g d'échantillon analysée.

MS, est la matière sèche (en %) de l'échantillon

## 8.2 Répétabilité

Le coefficient de variation (écart type rapporté à la moyenne) de deux déterminations ne dépassera pas 10%.

## 9 POINTS CRITIQUES ET NOTE SUR LA PROCEDURE

L'échantillon doit être stocké dans un lieu sec à l'abri de l'humidité de l'air.

Bien vérifier que l'intégration de la surface réponse des pics soit correcte.

Bien vérifier que la pression dans la colonne ne varie pas trop entre les échantillons.

## 10 RAPPORT D'ESSAIS

Le rapport d'essais doit indiquer :

- le nom de l'échantillon en précisant sa nomenclature et le type d'échantillon
- la date de l'analyse et le nom de l'opérateur
- la méthode utilisée (ici SOP N° Chem-MeatFish-009-fr)
- le résultat avec son unité d'expression (en mentionnant les valeurs des répétitions, la moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation)
- toutes observations relatives à l'état de l'échantillon si celui-ci était ou paraissait suspect avant analyse
- en outre, seront détaillées toutes conditions opératoires non indiquées dans le SOP, ou optionnelles, et les circonstances particulières qui auraient pu affecter les résultats.

# Détermination de la teneur en acides organiques dans les produits carnés

SOP : Chem-MeatFish-009-fr

Date: 12/10/2011

Version : 3

## 11 ENREGISTREMENT DES REVISIONS

<b>Date</b>	<b>Personne responsable</b>	<b>Description de la modification</b>
<b>30/09/2011</b>	<b>Valérie Scislowski</b>	<b>Compléments</b>
<b>11/10/2011</b>	<b>Julien Ricci</b>	<b>Compléments</b>