PLURI 1 M7

PROTOCOLES DES ANALYSES

Dans la mesure où un certain nombre d'analyses sont communes à plusieurs protocoles, elles ont été regroupées dans cette annexe (plateforme STAV).

1 – ANALYSES PHYSIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES

1 - 1 Pesées

Elles doivent être réalisées avec des balances correctement étalonnées et dont la précision soit à une décimale au dessous de la valeur à mesurer. Exemple : si la valeur à mesurer est au 10e de grammes, prendre une balance dont l'affichage est au centième de gramme.

1 - 2 Mesure de la température

On favorisera les thermomètres à affichage digital qui ont l'avantage de ne pas se casser. Ils devront si possible posséder un certificat d'étalonnage.

1 - 3 Mesure du pH

Elle se fera grâce à des pH mètres dont les sondes seront calibrées, avant chaque mise en utilisation, grâce à des solutions étalon de valeurs 4 et 7. Ces sondes devront être soigneusement nettoyées et conservées après usage. Pour la mesure du pH dans les milieux semi solides comme le fromage frais, il est souhaitable de se munir d'une sonde pour pénétration.

1 - 4 Mesure de l'extrait sec

Cette mesure se fait à l'étuve à 105° jusqu'à ce que la masse soit constante. En général, il faut 10 heures de chauffage. Le temps et la température utilisés doivent toujours être les mêmes. Dans le cas du fromage frais, pour faciliter l'évaporation de l'eau, on mélange le prélèvement avec du sable de Fontainebleau.

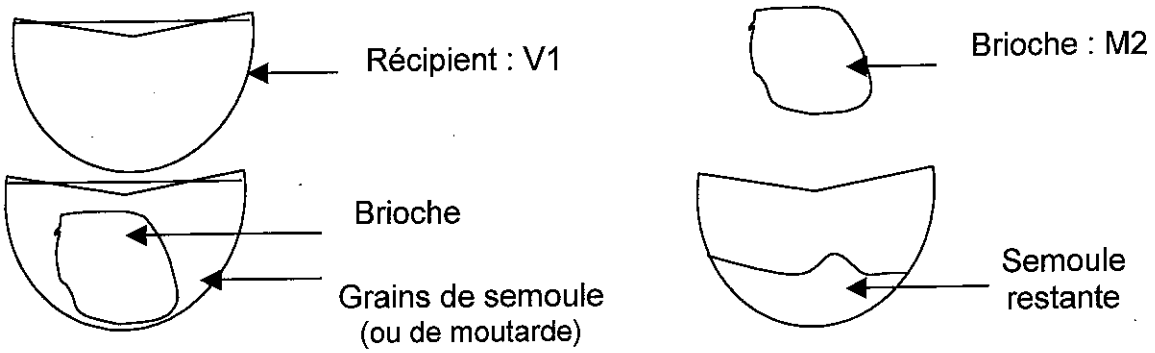
En pratique on utilise des coupelles en inox. On pèse une masse de produit que l'on introduit dans une coupelle, on met à l'étuve et on réalise une deuxième pesée après chauffage. On exprime ensuite l'extrait sec en pourcentage du produit. La masse de produit utilisée est de l'ordre de quelques grammes (entre cinq et 10 g).

1 - 5 Mesure du degré Brix

Le degré Brix est la teneur en sucre exprimée en grammes pour 100 ml. Elle s'effectue grâce à un réfractomètre. Lors de la mesure, il faut tenir compte de la température du produit et utiliser des tables de conversion « indice de réfraction / degré Brix ». Ces données se trouvent en général dans les notices d'utilisation des appareils. On trouvera également ces renseignements dans la bibliographie et notamment dans « activités technologiques en biochimie, tome 2, protocoles d'analyse » du CRDP d'Aquitaine.

1 - 6 Mesure de la masse volumique

Pour évaluer le gonflement d'une brioche (ou de pain...), ou comparer les gonflements entre plusieurs produits, on peut mesurer la masse volumique ρ par différence avec une masse volumique connue.



M1 : masse de semoule
V1 : volume du bol (si le volume du récipient est inconnu, il peut être déterminé en remplissant au préalable le bol d'eau, de densité 1)
$\rho 1$: masse volumique de la semoule
M2, V2, $\rho 2$: masse, volume, et masse volumique de la brioche

Mode opératoire :
-peser le bol plein de semoule (à ras bord) : M1masse de semoule, V1 son volume
-peser une brioche refroidie : M2
-enlever de la semoule du bol, et mettre la brioche dans le bol à la place, puis remettre de la semoule jusqu'à ras bord
-ôter la brioche du bol en prenant soin de récupérer toute la semoule qui était autour
-peser la semoule ainsi récupérée: M3. Elle occupe un volume V3 = V1 – V2

on a :

$\rho 1 = M1/V1 = M3/V3 = M3/(V1-V2)$ $\rho 2 = M2/V2$ donc $V2 = M2/\rho 2$

$V3 = M3^* V1/M1$ $V2 = V1 - (M3^* V1/M1)$

$\longrightarrow$ $\rho 2 = M2 / (V1 - (M3^* V1/M1))$

2 - ANALYSES CHIMIQUES ET BIOCHIMIQUES

2 - 1 Recherche de l'activité de la phosphatase dans le lait

Cette enzyme est produite par les acini mammaires de la vache et se retrouve dans le lait. Elle a la propriété d'hydrolyser la liaison ester entre le phénol ou un dérivé du phénol et un groupement phosphate. Elle est thermolabile et est détruite à la pasteurisation. Elle sert donc d'indicateur pour vérifier l'application de ce traitement thermique.

2 réactions permettent de la mettre en évidence :

♣ méthode d'ASCHAFFENBURG et MUELLEN : elle utilise le paranitrophényl phosphate disodique (NPPD) en milieu aqueux qui est transformé par l'enzyme en nitrophénol. Le substrat incolore donne un produit coloré en jaune. La vitesse d'apparition de la coloration jaune peut être mise en relation avec la concentration en enzyme. Cependant la plupart du temps on se contente d'un résultat qualitatif avec une première lecture à 30 minutes et une seconde au bout de deux heures. L'apparition d'une couleur jaune indique la présence de l'enzyme et donc l'absence de pasteurisation.

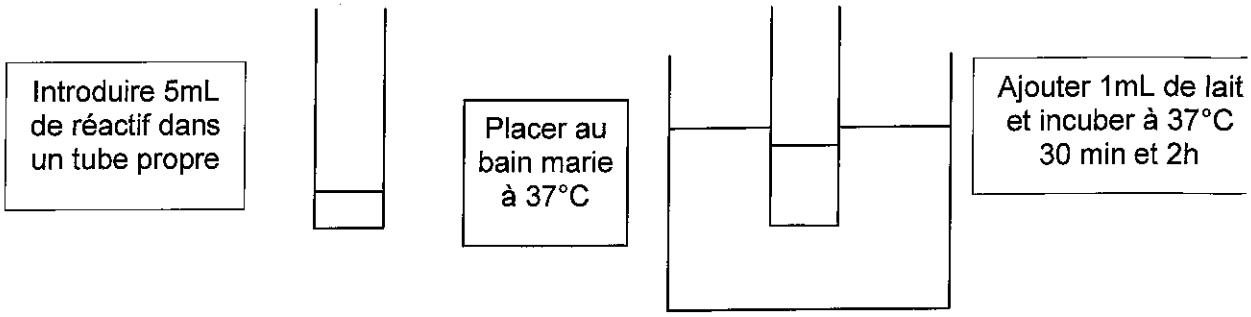
Protocole :

- préparation du réactif : ajouter 0,15 g de NPPD dans 100 mL de solution tampon (3,5 g de carbonate de soude anhydre + 1,5 g de bicarbonate de soude + 1L d'eau distillée)
- mode opératoire :

La lecture se fait à l'oeil ou grâce à un comparateur.

♣ méthode de SANDERS et SAGER : c'est la méthode de référence, elle

utilise le phényl phosphate disodique qui est transformé en phénol par action enzymatique. La lecture se fait au spectrophotomètre, le phénol ayant une couleur rosée. Cette méthode est moins facile à mettre en oeuvre que la précédente.



2 - 2 Recherches de l'activité de la peroxydase

Cette enzyme décompose le peroxyde d'hydrogène en libérant de l'oxygène atomique capable de se fixer sur une substance oxydable en donnant un produit d'oxydation coloré. Elle est un peu plus thermorésistante que la phosphatase et on peut avoir des laits phosphatase négative et péoxydase positive. Ceux-ci ont donc subi une pasteurisation correcte mais n'ont pas été trop chauffés, ils sont placés dans les laits pasteurisés de haute qualité.

2 tests sont utilisables :

♣ test de DUPOUY : la substance capable de fixer l'oxygène est le gaïacol qui est rose saumon à l'état oxydé.

-mode opératoire : introduire dans un tube 2mL de lait, y ajouter 2 mL de la solution de gaïacol à 2 % et une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes. Agiter et garder le tube dans la main. La présence de peroxydase se traduit par l'apparition d'une teinte rosée en une minute environ.

♣ test de STORCH : l'accepteur d'oxygène est le paraphénylène diamine qui prend une teinte violette à l'état oxydé.

- mode opératoire : mettre dans un tube 5 mL de lait + une goutte de solution de paraphénylène diamine à 2 % + deux gouttes d'eau oxygénée à 10 volumes. Agiter et garder le tube dans la main. La présence de péroxydase se traduit par l'apparition d'une teinte bleu violacé en une minute environ.

2 - 3 Mesure de l'acidité

Acidité Dornic : c'est le dosage de l'acidité totale du lait par de la soude en présence de phénolphtaléïne comme indicateur.

- mode opératoire :

Introduire 10mL de lait, de yaourt ou de lactosérum à la pipette dans un beécher avec 2 gouttes de phénolphtaléïne Remplir une burette avec de la soude M/9. Verser au goutte à goutte la soude dans le bécher contenant le lait jusqu'au virage au rose ; noter alors le volume de soude versé en mL.

- résultat : en industrie laitière, il est courant d'exprimer cette acidité non pas en mol/L mais en degré Dornic (°D).

Acidité Dornic = nombre de mL de soude versée multiplié par 10.

1 °D correspond à 1g d'acide lactique par litre.

2 - 4 Test à l'alcool

Ce test est très ancien, il permet de prévoir la stabilité du lait lors du chauffage. Si le lait est instable à la chaleur, cela veut dire qu'il est altéré et que sa composition en matières protéiques et salines est anormale. On peut donc détecter de façon rapide des laits de mauvaise qualité chimique.

- mode opératoire : on mélange dans un tube 1 ml de lait et 1 ml d'alcool à 75 %, on agite et on laisse reposer une minute. Si le lait précipite, il est altéré.

2 - 5 Dosages des sucres réducteurs

Pour ce dosage, on utilisera la méthode de BERTRAND.

2 - 6 Observation des globules gras

Cette observation est réalisée sur le pâté mais peut l'être aussi sur le yaourt ou le fromage frais.

Pour le pâté, lors du cuttérage final, après 1 ou 2 minutes, puis à la fin du cuttérage (t = 8 minutes) : Observer la matière grasse au microscope (objectif X40) après coloration de la préparation au rouge SOUDAN III : schéma général, et taille et dénombrement des globules gras.

Comparer l'évolution des 2 produits aux deux instants, et entre les deux méthodes.

Le même colorant servira pour le yaourt et le fromage.