

<b>C.T.C.P.A.</b>	<b>CONSERVES DE PETITS POIS</b>	<b>DECISION N° 87</b> <b>JUILLET 2001</b> <b>Mise à jour : indice b</b>
-------------------	---------------------------------	---

## **Titre I - DEFINITION**

### *Article 1*

Les conserves alimentaires de petits pois doivent être conformes aux critères ci-après, préparées à partir de graines incomplètement mûres, fraîches ou surgelées de pois "*Pisum sativum L.*".

### *Article 2*

a) La dénomination "petits pois", suivie du nom du crible si nécessaire, est réservée aux conserves de petits pois additionnés d'un liquide de couverture composé d'eau et éventuellement de sel et sucres.

b) La dénomination "petits pois à l'étuvée", suivie du nom du crible si nécessaire, est réservée aux conserves de petits pois additionnés obligatoirement d'un liquide de couverture composé d'eau, de sucres, d'arômes et éventuellement de sel, d'aromates et d'épices divers.

c) La dénomination "petits pois préparés", suivie du nom du crible si nécessaire, est réservée aux conserves de petits pois additionnés d'un liquide de couverture composé d'eau et/ou d'aromates, d'épices divers, d'arômes avec addition éventuelle de sel et de sucres.

d) Tout autre mode de préparation du produit est admis à condition :

- qu'il soit suffisamment différent des autres modes de préparation exposés dans la présente décision
- qu'il satisfasse à toutes les autres exigences de la présente décision
- qu'il soit décrit de façon appropriée sur l'étiquette afin qu'il n'y ait pas, pour le consommateur, possibilité de confusion ou d'erreur.

Les conserves visées aux alinéas b), c) et d) peuvent, éventuellement, contenir une garniture : laitue, oignons, carottes...

### *Article 3*

La coloration artificielle des produits définis aux articles 1 et 2 ci-dessus est interdite, à moins qu'il ne s'agisse d'une fabrication destinée exclusivement à l'exportation et que le produit soit conforme à la législation en vigueur dans le pays de consommation.

### *Article 4*

Les petits pois peuvent avoir été triés par grosseur (criblés), la désignation du crible devant être conforme aux indications du tableau ci-après :

## DECISION N° 87- Conserves de Petits Pois - 2/4

DENOMINATIONS	Diamètre des perforations circulaires du crible correspondant (ces perforations sont celles au travers desquelles les graines crues doivent passer)
<b>A. POIS</b>	
Petits pois extra fins	7,5 mm
Petits pois très fins	8,2 mm
Petits pois fins	8,75 mm
Petits pois mi-fins	9,3 mm
Petits pois moyens	hors calibre
<b>B. POIS DOUX</b>	
Petits pois doux extra fins	7,5 mm
Petits pois doux très fins	8,2 mm
Petits pois doux fins	9,3 mm
Petits pois doux mi-fins	10,2 mm
Petits pois doux moyens	hors calibre
Petits pois doux *	non criblés

La fabrication de conserves de petits pois obtenues avec des mélanges de cribles différents est possible *sous réserve* que le pourcentage de pois de différents cribles *figure* obligatoirement sur l'étiquette.

\* Petits pois doux : petits pois de variétés ridées, dans la proportion naturelle des grosseurs après battage et nettoyage, sans enlèvement ni addition de pois soumis à un criblage.

### Titre II - SPECIFICATIONS

#### Article 5

##### A) Caractéristiques des matières premières.

a) Les petits pois employés à la préparation des produits visés par la présente décision peuvent être de variétés à graine lisse ou de variétés à graine ridée, à l'exclusion de celles habituellement utilisées en casserie.

Seules les variétés ridées peuvent être utilisées pour les dénominations pois doux.

b) Les petits pois utilisés à la préparation des produits visés par la présente décision doivent être frais, sains, en bon état, et avoir atteint un état de développement convenable. Ils doivent subir un nettoyage approprié ; les graines défectueuses et les matières étrangères doivent être éliminées.

c) Le terme "sucres" tel qu'il figure au Titre I de la présente décision désigne : les matières sucrantes prévues par le décret du 12 juillet 1977.

#### Article 6

##### B) Caractéristiques générales du produit.

Les quantités nominales nettes et nettes égouttées pour les conserves définies au Titre I de la présente décision et pour les récipients les plus usités doivent correspondre aux indications du tableau ci-après :

## **DECISION N° 87- Conserves de Petits Pois - 3/4**

	Taux de remplissage	BOÎTES METALLIQUES	RECIPIENTS EN VERRE
Capacité nominale en ml		212 425 850 2650 3100 4250	212 314 370 580 720 850
Poids net total en g		200 400 800 2495 2920 4000	190 280 330 530 660 780
Poids net égoutté en g			
. Petits pois extra-fins, très fins, fins	66 %	140 280 560 1745 2045 2805	125 190 230 360 445 545
. Mi-fins, moyens et non calibrés	62,5 %	130 265 530 1655 1935 2655	120 180 215 340 420 515

Dans le cas de récipient de capacité non prévue dans le tableau ci-dessus, le poids net total est calculé en fonction de la contenance nominale du récipient sur la base de 800 g pour la boîte de 850 ml.

Le poids net égoutté est calculé en fonction de la contenance nominale du récipient sur la base du taux de remplissage indiqué dans le tableau ci-dessus. Les valeurs obtenues sont arrondies à la plus proche valeur inférieure multiple de 5.

Pour les récipients en verre, la capacité nominale est réduite de 20 ml avant calcul.

La quantité de garniture prise en compte pour la détermination du poids net égoutté est limitée à 5% du poids total de produit égoutté.

En ce qui concerne le contrôle des quantités nettes et nettes égouttées, il est fait appel, par les Agents qui en sont chargés, aux méthodes de contrôle statistiques des préemballages définies par la réglementation en vigueur.

Le contrôle métrologique de la quantité nette égouttée est effectué conformément aux modalités prévues pour le contrôle de la quantité nette, seules les erreurs en moins étant doublées.

### *Article 7*

Pour les préparations définies au Titre I, article 2b), la proportion de sucres dans le jus, à l'ouverture de la boîte, ne doit pas être inférieure à 50 g par litre exprimée en glucose.

## **Titre III - CARACTERES DE QUALITE**

### *Article 8*

#### **Caractères normaux**

Les conserves visées par la présente décision doivent en outre présenter les caractères minimaux ci-après :

- a) liquide de couverture pouvant être pour les préparations définies au titre I, article 2, § a, b, c :
  - à peine trouble pour les catégories "Extra-fins et "Très fins",
  - légèrement trouble pour les catégories "Fins",
  - trouble, mais non pris en empois consistant pour les autres catégories.

La présence dans la boîte d'un faible sédiment est tolérée quelle que soit la catégorie.

- b) saveur et odeur franches et normales ; absence de toute saveur ou odeur étrangère,
- c) couleur normale caractéristique des variétés utilisées, raisonnablement uniforme.

La proportion de matières étrangères végétales ne doit pas dépasser 0,5% pour le calibre extra-fin et 1% pour les autres cribles.

## **DECISION N° 87- Conserves de Petits Pois - 4/4**

### **II - Tolérances :**

#### **A - Définition :**

- graines défectueuses : graines jaunes, tachées, germées, parasitées.

#### **B - Tolérances :**

DEFAUTS	POURCENTAGE EN MASSE RAPPORTE A LA MASSE TOTALE DU PRODUIT EGOUTTE	
	Graines défectueuses	Matières étrangères végétales*
- extra fins	1	0,5
- très fins	2	1
- autres catégories	3	1

\* le nombre de morelles ne doit pas dépasser 2 par kg de produit égoutté.

### **III - Unités défectueuses :**

Un préemballage est considéré comme défectueux si l'un des défauts mentionnés en II est supérieur à une fois et demie la tolérance pour les graines défectueuses ou supérieur à la tolérance pour les matières étrangères végétales ou le nombre de morelles.

## **Titre IV - METHODE D'EXAMEN**

### *Article 9*

Les prélèvements d'échantillons et l'appréciation des différents caractères visés par la présente décision seront effectués selon les méthodes prescrites par les autorités chargées du contrôle.

Il est précisé qu'en ce qui concerne l'appréciation des catégories et la détermination du poids du produit égoutté, les méthodes à suivre sont celles indiquées en Annexe.

	<b>DETERMINATION DES QUANTITES NETTES ET NETTES EGOUTTEES DES CONSERVES DE LEGUMES APPERTISES</b>	Fiche : N° 1  Date : Mars 2001  Mise à jour : indice b
---	---	--

## ① - MODE OPERATOIRE :

La température du produit est ramenée à 20°C ± 5°C. Les mesures sont effectuées à température ambiante du laboratoire.

Peser le récipient avant ouverture (Pb), l'ouvrir\*, verser le contenu sur un tamis plat à mailles carrées de 2,5 mm (épaisseur du fil 0,85 mm selon norme ISO 3310/1) préalablement taré. Le diamètre de ce tamis sera de 20 cm pour les récipients de capacité inférieure ou égale à 850 ml et de 30 cm pour les récipients de capacité supérieure à 850 ml.

Incliner le tamis d'environ 20° par rapport à l'horizontale pour faciliter l'égouttage.

Egoutter 2 minutes à partir du moment où le produit est sur le tamis.

Peser le tamis et son contenu (Pe 2).

Rincer le récipient vide et son couvercle, les sécher puis les peser (Pr).

La masse nette = Pb - Pr

La masse nette égouttée = Pe2 - Pe1

Pe1 = la masse du tamis

Toutes les masses sont déterminées avec une précision de 1 g.

\*Les boîtes à ouverture facile doivent être ouvertes coté fond opposé à l'ouverture facile afin d'éviter d'abîmer le contenu lors du transvasement .

## ② - CAS PARTICULIERS :

**Mode opératoire applicable aux conserves de flageolets et de légumineuses et aux produits dont le liquide de couverture est pris en empois.**

Après avoir versé le contenu du récipient sur le tamis comme indiqué ci-dessus, recouvrir ce dernier d'un autre tamis de même caractéristique ou d'une grille adéquate. Immerger complètement le tamis ainsi recouvert dans une grande quantité d'eau à 20°C ±5, 2 fois 10 secondes. Séparer les deux tamis ou enlever la grille. Incliner le tamis inférieur d'environ 20° par rapport à l'horizontale puis procéder comme en 1.

	<b>DETERMINATION PONDERALE DES ELEMENTS DEFECTUEUX</b>	<b>Fiche : N° 2</b> <b>Date : Mars 1995</b> <b>Mise à jour : Indice a</b>
---	--	---

**- MODE OPERATOIRE :**

Après égouttage et détermination de la masse nette égouttée (voir Fiche 1) séparer les éléments défectueux en les classant par catégorie tel que définis dans les différentes décisions. Les peser à 0,1 g près.

Calculer les pourcentages par rapport à la masse nette égouttée mesurée.

	<b>MESURES DIMENSIONNELLES</b>	<b>Fiche : N° 3</b> <b>Date : Mars 2001</b> <b>Mise à jour : Indice b</b>
---	--------------------------------	---

### **- MODE OPERATOIRE :**

Les mesures dimensionnelles (longueur, épaisseur, diamètre) sont effectuées à l'aide d'un pied à coulisse au 1/10ème de millimètre.

Les mesures doivent être effectuées de telle façon que le pied à coulisse ne marque pas, ni n'écrase les légumes ou la partie de légume à mesurer.

Le calibre des haricots verts ou beurre doit être mesuré entre les deux lignes de suture.

Le calibre des salsifis doit être mesuré à la partie la plus étroite du morceau ou du tronçon.

	<b>MESURE DE LA DEPRESSION INTERNE DANS LES CONSERVES DE LEGUMES APPERTISES</b>	<b>Fiche : N° 6</b>  <b>Date : Mars 1995</b>  <b>Mise à jour : Indice a</b>
---	---	---

## ① - PRINCIPE :

La mesure de la dépression interne s'effectue à l'aide d'un vacuomètre muni d'un perforateur.

## ② - APPAREILLAGE :

- Vacuomètre ou Manomètre à vide métallique de type "Bourdon" mesurant les dépressions par rapport à l'atmosphère gradué en millibars dont l'échelle de lecture permet d'apprécier 25 millibars, muni d'un embout perforateur à ventouse permettant la prise directe de la dépression dans l'emballage.
- Vacuomètre électronique ou tout autre appareil permettant la mesure de la dépression par rapport à l'atmosphère, de précision équivalente muni d'un embout perforateur à ventouse.

## ③ - MODE OPERATOIRE :

Positionner le perforateur sur une partie plane de l'emballage (fond des boîtes, couvercle de bocal), pour avoir le meilleur contact avec la ventouse. Appuyer fermement sans à coup le perforateur pour que la pointe fixée dans la ventouse perce l'emballage. Lire aussitôt la valeur affichée sur le vacuomètre en maintenant un appui ferme.

Après chaque mesure, la pointe doit être essuyée pour éviter toute obstruction de la tubulure reliée ou soudée au vacuomètre.



	<b>DETERMINATION DE LA TENEUR EN MATIERES GRASSES</b>	Fiche : N° 7 Date : Mars 1995 Mise à jour : Indice a
---	---	--

## ① - PRINCIPE :

Extraction de l'échantillon séché par du n hexane ou de l'éther de pétrole. Elimination du solvant par évaporation, séchage du résidu sec puis pesée après refroidissement.

## ② - APPAREILLAGE :

- broyeur homogénéiseur à hélice
- appareil d'extraction continu de type Soxhlet ou similaire
- cartouche d'extraction
- étuve à 104°C ± 3°C
- dessiccateur garni d'un déshydratant efficace
- balance analytique

## ③ - REACTIF :

- n hexane ou éther de pétrole 40-65
- sulfate de sodium anhydre

## ④ - MODE OPERATOIRE :

Sécher pendant une heure à l'étuve réglée à 104°C ± 3°C la fiole de l'appareil d'extraction. Laisser refroidir la fiole jusqu'à la température ambiante dans le dessiccateur et peser à 1 mg près (soit Mo cette masse).

Broyer et homogénéiser la totalité du produit (légumes + liquide de couverture ou sauce) contenu dans le préemballage afin d'obtenir une pâte lisse. Dans un bécher de 100 ml peser exactement 10 g environ, à 1 mg près, du produit homogénéisé. Ajouter en mélangeant à l'aide d'un agitateur, du sulfate de sodium anhydre jusqu'à obtention d'une masse sèche se détachant facilement des parois du bécher. Transvaser cette

masse sèche de façon quantitative dans la cartouche d'extraction. Mettre la cartouche dans l'appareil d'extraction.

Verser dans la fiole de l'appareil d'extraction un volume de solvant d'extraction égal à 1,5 à 2 fois la capacité du tube intérieur de l'appareil.

Ajuster le ballon à l'appareil d'extraction.

Chauffer la fiole au bain-marie ou sur un appareil similaire approprié pendant quelques heures selon la vitesse d'extraction et l'appareil utilisé (4 heures en général).

Après extraction le solvant est éliminé totalement. Evaporer les dernières traces au bain marie.

Sécher la fiole pendant une heure à  $104^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  et après refroidissement à la température ambiante dans le dessiccateur.

Peser à 1 mg près (soit  $M_1$  cette masse).

Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé.

#### **EXPRESSION DES RESULTATS :**

La teneur en matières grasses en pour cent en masse de l'échantillon est égale à

$$(M_1 - M_0) \times \frac{100}{E}$$

$M_0$  masse en grammes de la fiole

$M_1$  Masse en grammes de la fiole et de la matière grasse après séchage

E Masse en grammes de la prise d'essai

Exprimer le résultat avec une seule décimale.

#### **Répétabilité :**

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre ne doit pas être supérieure à 0,5 g de matière grasse pour 100 g d'échantillon.

	<b>DETERMINATION DE LA TENEUR EN IMPURETES MINERALES SABLES - GRAVIERS</b>	Fiche : N° 8 Date : Mars 1995 Mise à jour : indice a
---	--	--

## **1 - PREPARATION DE L'ECHANTILLON :**

Homogénéiser l'ensemble des légumes égouttés après la détermination de la masse nette égouttée pour les préemballages de volume inférieur ou égal à 850 ml.


Pour les préemballages de volume supérieur, prélever 500 g de la masse nette égouttée et l'homogénéiser.

### ***CAS PARTICULIER DES EPINARDS HACHES OU EN PUREE :***

Pour les préemballages de volume inférieur ou égal à 850 ml, homogénéiser entièrement leur contenu. Pour les préemballages de volume supérieur, mélanger soigneusement avec un agitateur tout le contenu. Peser 500 g de produit et les homogénéiser dans un homogénéisateur à hélice.

## **2 - MODE OPERATOIRE :**

Peser exactement à 0,5 g près la totalité du produit homogénéisé en **1**, puis suivre le mode opératoire de la norme NFV05103 13/07/62 Détermination de la teneur en impuretés minérales d'origine terreuse.

	<b>DOSAGE DES SUCRES PAR VOIE ENZYMATIQUE DU SACCHAROSE ET DU GLUCOSE</b>	Fiche : N° 9 Date : Mars 1995 Mise à jour : indice a
---	---	--

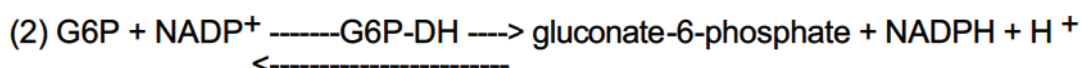
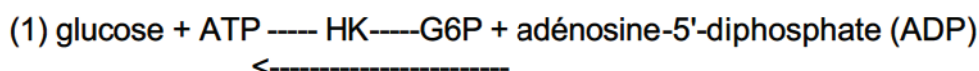
## 1 - PRINCIPE :

On dose le glucose avant et après l'hydrolyse enzymatique du saccharose.

### - Dosage du glucose avant inversion :

L'hexokinase (HK) catalyse la phosphorylation du glucose par l'adénosine 5' triphosphate (ATP) à pH 7,6.

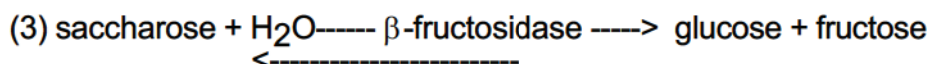
Dans une réaction catalysée par la glucose-6-phosphate-déshydrogénase (G6P-DH) le glucose-6-phosphate formé (G6P) est oxydé spécifiquement en présence de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP) en gluconate-6-phosphate, avec formation de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate réduit (NADPH).



La formation de NADPH, mesurée par l'augmentation de l'extinction à la longueur d'onde de 334, 340 ou 365 nm est proportionnelle à la quantité de glucose présente.

### - Inversion enzymatique :

Le saccharose est hydrolysé à pH 4,6 par la  $\beta$ -fructosidase (invertase) en glucose et fructose.



Le dosage du glucose après inversion (glucose total) se fait parallèlement selon le procédé décrit plus haut. La différence entre les teneurs en glucose avant et après inversion permet de calculer la teneur en saccharose.

## ② - REACTIFS :

Tous les réactifs utilisés doivent être de pureté analytique reconnue, l'eau utilisée doit être bidistillée.

### - Solution tampon citrate pH 4,6 :

- . acide citrique 1 H<sub>2</sub>O 6,9 g
- . citrate trisodique 2 H<sub>2</sub>O 9,1 g
- ajouter environ 150 ml d'eau distillée, mélanger
- . ajouter une solution de soude à 0,2 mole/litre jusqu'à pH 4,6.
- . eau distillée QS 200 ml

La solution est stable un an à +4°C.

### - Solution de β-fructosidase :

- . β-fructosidase 10 mg
- . eau bidistillée 2 ml

La solution est stable une semaine à +4°C.

### - Solution tampon triéthanolamine pH 7,6 :

- . chlorhydrate de triéthanolamine 14,0 g
- . sulfate de magnésium (SO<sub>4</sub> Mg 7H<sub>2</sub>O) 0,25 g
- ajouter environ 80 ml d'eau bidistillée, mélanger,
- . solution de soude à 5 moles/litre environ 5 ml
- (le pH doit être ajusté à 7,6 avec la soude)
- . eau bidistillée Q S 100 ml

Cette solution est stable 4 semaines à +4°C.

**- Solution de nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate (NADP) :**

. NADP Na <sub>2</sub> H	60 mg
. eau bidistillée	6 ml

Cette solution est stable 4 semaines à +4°C

**- Solution d'adénosine 5' -triphosphate (ATP) :**

. ATP Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	300 mg
. carbonate acide de sodium (NaHCO <sub>3</sub> )	300 mg
. eau bidistillée	6 ml

Cette solution est stable 4 semaines à +4°C.

**- Solution d'hexokinase/glucose-6-phosphate déshydrogénase (HK/G6P - DH) :**

Utiliser la suspension (2 mg de HK/ml, 1 mg de G6P-DH/ml) sans dilution.

Cette suspension est stable un an à + 4°C.

**- solution étalon de glucose :** contenant 1 g/l de glucose

**- solution étalon de saccharose :** contenant 1 g/l de saccharose

**③ - APPAREILLAGE :**

Matériel courant de laboratoire et notamment

- homogénéiseur de laboratoire.

3.1 - **Pipettes et micro-pipettes** permettant de délivrer 0,02 ; 0,1 ; 0,2 ; 1 ; 1,7 ; 1,8 ; 1,9 ml et 10 ml **NF B 35-305**

3.2 - **Spectrophotomètre** permettant des mesures à 340 nm et muni de cuves de 1 cm de trajet optique. Il est possible d'utiliser des cuves à usage unique.

Photocolorimètre à filtre permettant une mesure à 334 ou 365 nm.

### 3.3 - Balance analytique.

## **4** - MODE OPERATOIRE

### 4.1 - Préparation de l'échantillon

#### - échantillons liquides

Utiliser pour l'essai des solutions claires incolores ou légèrement colorées directement ou après dilution si nécessaire. Filtrer les solutions troubles ou clarifier les avec les réactifs de Carrez.

#### - échantillons solides

Broyer les échantillons solides ou pâteux (fruits, légumes, confitures...) avec un mixer, un hachoir. Peser l'échantillon bien homogénéisé, extraire à l'eau (chauffer à 60°C si nécessaire). Transférer quantitativement dans une fiole jaugée, ajuster. Filtrer. Utiliser la solution limpide éventuellement diluée comme essai.

### 4.2 - Essai étalon

Pour chacune des déterminations, effectuer un essai étalon dans les mêmes conditions que les essais respectifs (4.4 et 4.5) mais en remplaçant la prise d'essai par 0,1 ml de solution étalon de saccharose (3.8) ou de glucose (3.9) ou de fructose (3.10).

### 4.3 - Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions que la détermination du saccharose mais en remplaçant la prise d'essai par de l'eau.

### 4.4 - Détermination du glucose et du saccharose

Les réactions enzymatiques se font directement dans les cuves de lecture du spectrophotomètre.

- mesurer la densité optique à une longueur d'onde de 334, 340 ou 365 nm dans une cuve de 1 cm d'épaisseur, à une température constante entre 20 à 25°C, en ajustant le zéro soit sur l'air (pas de cuve sur le trajet optique), soit sur une cuve remplie d'eau distillée.

- introduire dans des cuves :

	Témoin	Dosage direct	Dosage après hydrol.
. solution tampon citrate	0,20 ml	rien	0,20 ml
. solution à doser ou solution étalon	rien	0,10 ml	0,10 ml
. solution de $\beta$ -fructosidase	0,02 ml	rien	0,02 ml

mélanger, conserver les cuves à une température de 20 à 25°C pendant 15 minutes, ajouter :

. solution tampon triéthanolamine	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
. eau bidistillée	1,70 ml	1,82 ml	1,60 ml
. solution de NADP	0,10 ml	0,10 ml	0,10 ml
. solution d'ATP	0,10 ml	0,10 ml	0,10 ml

Mélanger, lire la densité optique des solutions ( $E_1$ ) au bout de 3 minutes environ. Démarrer la réaction enzymatique par addition de :

. solution de HK/G6P-DH	0,02 ml	0,02 ml	0,02 ml
-------------------------	---------	---------	---------

Mélanger, attendre la fin de la réaction (environ 10 à 15 minutes) et mesurer la densité optique des solutions ( $E_2$ ). Si la réaction n'est pas terminée au bout de 15 minutes, continuer à lire les densités optiques de 5 minutes en 5 minutes jusqu'à ce que l'augmentation soit constante.

Si l'on observe des augmentations d'extinctions constantes, extrapoler au temps d'addition de la HK/G6P-DH.

Calculer les différences d'extinction ( $E_2 - E_1$ ) du témoin et du dosage.

Déduire la différence d'extinction du témoin de celle du dosage

$$\Delta E = \Delta E_d - \Delta E_t = (E_2 - E_1)_{\text{dosage}} - (E_2 - E_1)_{\text{témoin}}$$

et ce, avant et après hydrolyse.



## 5 - EXPRESSION DES RESULTATS

La formule générale pour le calcul des concentrations est la suivante :

$$C \text{ en g/L} = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta E$$

dans laquelle :

V est le volume total dans la cuve, 3,14 ml

v est le volume de la prise d'essai

PM est le poids moléculaire de la substance à doser

d est l'épaisseur de la cuve en cm (1 cm)

$\varepsilon$  est le coefficient d'extinction du NADPH, 6,3 pour 340 nm, 3,5 pour 365 nm, 6,18 pour 334 nm.

On obtient ainsi pour le glucose :

$$\begin{aligned} C \text{ en g/L} &= \frac{3,14 \times 180,16}{\varepsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000} \times \Delta E \text{ glucose avant hydrolyse} \\ &= 5,657 \times \frac{\Delta E}{\varepsilon} \end{aligned}$$

et pour le saccharose :

$$\begin{aligned} C \text{ en g/L} &= \frac{3,14 \times 342,3}{\varepsilon \times 1 \times 0,1 \times 1000} \times (\Delta E \text{ glucose total} - \Delta E \text{ glucose avant hydrolyse}) \\ &= 10,75 \times \frac{\Delta E \text{ glu. tot.} - \Delta E \text{ glu. av. hyd.}}{\varepsilon} \end{aligned}$$

Si une dilution a été effectuée lors de la préparation de l'échantillon, multiplier le résultat par le facteur de dilution F.

La quantité de saccharose et de glucose dans la cuve doit être comprise entre 5 et 150  $\mu\text{g}$  (mesure à 365 nm) ou 5 à 80  $\mu\text{g}$  (mesure à 340 ou 334 nm). Diluer la solution à doser de manière à ce que la concentration en sucre soit comprise entre 0,05 et 1,5 g/l ou entre 0,05 et 0,8 g/l.

	<b>DOSAGE DES SUCRES METHODE PAR HPLC</b>	<b>Fiche : N° 10</b>  <b>Date : Mars 1995</b>  <b>Mise à jour : Indice a</b>
---	---	--

## 1 - PRINCIPE :

Détermination des mono et disaccharides dans les liquides de couverture de certains légumes par chromatographie liquide haute performance (HPLC) et détection réfractométrique. L'identification des sucres repose sur le temps de rétention et l'analyse quantitative sur un étalonnage externe utilisant la surface ou la hauteur des pics.

## 2 - REACTIFS :

Pendant l'analyse, sauf spécifications contraires, n'utiliser que des réactifs de teneur analytique connue et de l'eau ayant une classe de pureté de minimum 3, conformément à la norme ISO 3696.

### 2.1 - Acetonitrile pour analyse HPLC

### 2.2 - Solutions étalons de sucres

#### 2.2.1 - Solution étalon de glucose et de fructose

Peser au milligramme près dans le même becher environ 500 mg de fructose et 500 mg de glucose. Les dissoudre dans de l'eau. Transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajuster le volume à 100 ml. La solution se conserve 10 jours au maximum à + 4°C environ.

#### 2.2.2 - Solution étalon de saccharose

Peser au milligramme près dans un becher environ 500 mg de saccharose. Le dissoudre dans de l'eau. Transvaser dans une fiole de 100 ml, ajuster le volume à 100 ml. La solution se conserve 10 j au maximum à + 4°C environ.

### **③ - APPAREILLAGE :**

#### **Appareillage courant de laboratoire et en particulier :**

**3.1** - Système de filtration permettant de filtrer le jus ou le liquide de couverture avec un filtre de 0,45  $\mu\text{m}$  de porosité. Par exemple il pourra être utilisé un système de filtre à monter sur seringue.

**3.2** - Filtre à membrane compatible avec la solution d'élution de pore  $\leq 0,45 \mu\text{m}$

**3.3** - Ensemble de chromatographie liquide, comprenant une pompe, un injecteur d'échantillon, un détecteur réfractométrique.

**3.4** - Colonne de séparation : colonne de silice greffée  $\text{NH}_2$

### **④ - MODE OPERATOIRE :**

#### **4.1 - Préparation de l'échantillon :**

Peser à 1 mg près 10 g environ de jus ou de liquide de couverture. Transvaser cette prise d'échantillon dans une fiole jaugée de 100 ml. Diluer et compléter à 100 ml avec de l'eau.

Filtrer la solution obtenue sur le filtre 3.2.

#### **4.2 - Dosage :**

Injecter la solution filtrée (4.1) dans le système chromatographique.

Conditions chromatographiques :

- Phase mobile : Acétonitrile/eau (80/20 V/V)
- Débit 1,2 ml/min.
- Température de la colonne : environ 30°C
- Détecteur réfractomètre
- Colonne (3.4)

Le dosage est effectué par la méthode d'étalonnage externe.

Intégrer les surfaces des pics ou déterminer leur hauteur et déterminer les concentrations en sucre par rapport aux étalons.

Une autre méthode consiste à faire une courbe d'étalonnage.

## 5 - MODE DE CALCUL :

Calculer en grammes pour 100 g d'échantillon, la concentration en fructose, glucose, saccharose à partir de l'équation suivante :

$$p \% = \frac{A_1 V_1 m_1}{A_2 V_2 m_0} \times 100$$

ou  $A_1$  est la surface ou la hauteur du pic pour le fructose, le glucose ou le saccharose de la solution pour essai (4.1) exprimée en unité de surface ou de longueur.

$A_2$  est la surface ou la hauteur du pic pour le fructose, le glucose ou le saccharose de la solution étalon (2.2) exprimée en unité de surface ou de longueur.

$V_1$  est le volume total exprimé en millilitre de la solution (4,1) pour essai.

$V_2$  est le volume total exprimé en millilitre de la solution étalon 2.2.

$m_1$  est la masse exprimée en grammes respectivement de fructose, de glucose et de saccharose contenues dans  $V_2$ .

$m_0$  est la masse initiale de l'échantillon exprimée en gramme