

MEMORIAL
Journal Officiel
du Grand-Duché de
Luxembourg



MEMORIAL
Amtsblatt
des Großherzogtums
Luxemburg



RECUEIL DE LEGISLATION

A – N° 75

11 novembre 1980

SOMMAIRE

- Règlement ministériel du 15 juillet 1980 fixant les méthodes d'analyse pour le contrôle de certains laits de conserve partiellement ou totalement déshydratés destinés à l'alimentation humaine page **1928**
- Règlement ministériel du 16 juillet 1980 fixant les méthodes d'analyse pour le contrôle des extraits de café et des extraits de chicorée.... **1958**
-

Règlement ministériel du 15 juillet 1980 fixant les méthodes d'analyse pour le contrôle de certains laits de conserve partiellement ou totalement déshydratés destinés à l'alimentation humaine.

Le Ministre de la Santé,

Vu l'article 12 du règlement grand-ducal du 14 juillet 1977 concernant certains laits de conserve partiellement ou totalement déshydratés destinés à l'alimentation humaine;

Vu la première directive de la Commission des Communautés européennes du 13 novembre 1979 portant fixation des méthodes d'analyses communautaires pour le contrôle de certains laits de conserve partiellement ou totalement déshydratés destinés à l'alimentation humaine;

Vu l'avis de la Chambre de Commerce;

Vu l'avis de l'organisme faisant fonction de Chambre d'Agriculture;

Arrête:

Art. 1^{er}. Les analyses nécessaires au contrôle de la composition des laits de conserve visés par le règlement grand-ducal du 14 juillet 1977 concernant certains laits de conserve partiellement ou totalement déshydratés destinés à l'alimentation humaine sont effectuées conformément aux méthodes décrites à l'annexe du présent règlement.

Art. 2. Dans le cas où des méthodes alternatives sont indiquées pour une seule détermination, l'échantillon peut être analysé par l'une quelconque de ces méthodes. Le procès-verbal de l'essai visé à l'annexe doit mentionner la méthode employée.

Art. 3. Le règlement ministériel du 19 août 1974 fixant les méthodes d'analyse de référence en matière de lait en poudre et de lait concentré sucré ou non est abrogé.

Art. 4. Le présent règlement sera publié au Mémorial avec son annexe.

Luxembourg, le 15 juillet 1980

Le Ministre de la Santé,
Emile Krieps

—
ANNEXE

Domaine d'application des méthodes d'analyse relatives à certains laits de conserve partiellement ou totalement déshydratés

Dispositions générales

Détermination de la teneur en matière sèche:

- Lait concentré riche en matière grasse ou lait concentré non sucré riche en matière grasse (par la méthode 1, sous II);
- Lait concentré ou lait concentré non sucré ou lait entier concentré (par la méthode 1, sous II);
- Lait partiellement écrémé concentré ou lait partiellement écrémé concentré non sucré (par la méthode 1, sous II);
- Lait écrémé concentré ou lait écrémé concentré non sucré (par la méthode 1, sous II);
- Lait concentré sucré ou lait entier concentré sucré (par la méthode 1, sous II);
- Lait partiellement écrémé concentré sucré (par la méthode 1, sous II);
- Lait écrémé concentré sucré (par la méthode 1, sous II).

Détermination de la teneur en humidité

- Lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse (par la méthode 2, sous II);
- Lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier (par la méthode 2, sous II);
- Lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé (par la méthode 2, sous II);
- Lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé (par la méthode 2 sous II).

Détermination de la matière grasse

- Lait concentré riche en matière grasse ou lait concentré non sucré riche en matière grasse (par la méthode 3, sous II);
- Lait concentré ou lait concentré non sucré ou lait entier concentré (par la méthode 3, sous II);
- Lait partiellement écrémé concentré ou lait partiellement écrémé concentré non sucré (par la méthode 3, sous II);
- Lait écrémé concentré ou lait écrémé concentré non sucré (par la méthode 3, sous II);
- Lait concentré sucré ou lait entier concentré sucré (par la méthode 3, sous II);
- Lait partiellement écrémé concentré sucré (par la méthode 3, sous II);
- Lait écrémé concentré sucré (par la méthode 3, sous II);
- Lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse (méthode 4, sous II);
- Lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier (méthode 4, sous II);
- Lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé (méthode 4, sous II);
- Lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé (méthode 4, sous II).

Détermination du saccharose

- Lait concentré sucré ou lait entier concentré sucré (par la méthode 5, sous II);
- Lait partiellement écrémé concentré sucré (par la méthode 5, sous II);
- Lait écrémé concentré sucré (par la méthode 5, sous II).

Détermination de l'acide lactique et des lactates

- Lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse (par la méthode 6, sous II);
- Lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier (par la méthode 6, sous II);
- Lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé (par la méthode 6, sous II);
- Lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé (par la méthode 6, sous II).

Détermination de l'activité de la phosphatase

- Lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse (par la méthode 7 ou 8 sous II);
- Lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier (par la méthode 7 ou 8, sous II);
- Lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé (par la méthode 7 ou 8, sous II);
- Lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé (par la méthode 7 ou 8, sous II).

DISPOSITIONS GÉNÉRALES

1. PRÉPARATION DEL'ÉCHANTILLON POUR L'ANALYSE CHIMIQUE

- 1.1. Lait concentré riche en matière grasse ou lait concentré non sucré riche en matière grasse
Lait concentré ou lait concentré non sucré ou lait entier concentré
Lait partiellement écrémé concentré ou lait partiellement écrémé concentré non sucré
Lait écrémé concentré ou lait écrémé concentré non sucré

Agiter la boîte fermée en la retournant. Ouvrir la boîte et transvaser le lait lentement dans un second récipient pouvant être fermé hermétiquement, en mélangeant par transvasements successifs. Veillez à ce que tous les restes de graisse et de lait adhérant aux parois et au fond de la boîte soient mélangés à l'échantillon. Fermer le récipient. Si le contenu n'est pas homogène, tiédifier la boîte dans un bain d'eau à 40 °C. Agiter vigoureusement toutes les 15 minutes. Après 2 heures, sortir le récipient du bain d'eau et laisser refroidir à température ambiante. Enlever le couvercle et mélanger soigneusement le contenu à l'aide d'une cuiller ou d'une spatule (si la graisse est désémulsionnée, il convient de ne pas procéder à l'analyse de l'échantillon). Conserver dans un endroit frais.

- 1.2. Lait concentré sucré ou lait entier concentré sucré
Lait partiellement écrémé concentré sucré
Lait écrémé concentré sucré

Boîtes:

Chauffer la boîte fermée dans un bain d'eau de 30 à 40 °C pendant 30 minutes environ. Ouvrir la boîte et mélanger soigneusement le contenu avec une spatule ou une cuiller, en effectuant des mouvements ascendants, descendants et circulaires, afin d'obtenir un mélange intime des couches supérieures et inférieures avec l'ensemble du contenu. Veiller à ce que les restes du lait adhérant aux parois et au fond de la boîte soient incorporés à l'échantillon. Dans la mesure du possible, transvaser le contenu dans un second récipient muni d'une fermeture étanche. Fermer le récipient et le conserver au frais.

Tubes:

Découper le fond et transvaser le contenu dans un récipient muni d'une fermeture étanche. Découper ensuite le tube dans le sens de la longueur, décoller toutes les matières adhérent aux parois et les mélanger soigneusement au reste du contenu. Conserver le récipient au frais.

- 1.3. Lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse
Lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier
Lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé
Lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé

Transvaser le lait en poudre dans un récipient propre et sec (à fermeture étanche) ayant une capacité correspondant au double du volume de poudre. Refermer le récipient immédiatement et mélanger intimement le lait en poudre par agitations et renversements successifs. Pendant la préparation de l'échantillon, il faut éviter, dans toute la mesure du possible d'exposer le lait en poudre à l'air atmosphérique, de manière à réduire au minimum l'absorption d'eau.

2. RÉACTIFS

2.1. Eau

2.1.1. Lorsqu'on utilise de l'eau pour les solutions, dilutions ou lavages, il faut employer de l'eau distillée, de l'eau déminéralisée ou de l'eau d'une pureté au moins équivalente.

2.1.2. Lorsque le terme «solution» ou «dilution» est utilisé sans autre indication, il s'agit de solution dans l'eau ou de dilution dans l'eau.

2.2. Produits chimiques

Tous les produits chimiques utilisés doivent être de qualité analytique reconnue, sauf spécifications spéciales.

3. APPAREILLAGE

3.1. Liste des appareils

Les listes des appareils ne contiennent que les articles à usage spécialisé et que les articles à spécification spéciale.

3.2. Balance analytique

Le terme «balance analytique» se rapporte à une balance capable de peser avec une précision de 0,1 mg au moins.

4. EXPRESSION DES RÉSULTATS

4.1. Calcul du pourcentage

Sauf spécifications contraires, le résultat sera calculé en pourcentage de la masse de l'échantillon reçu au laboratoire.

4.2. Nombre de chiffres significatifs

Les résultats ne contiendront pas un nombre de chiffres significatifs supérieur à celui qui est justifié par la précision de la méthode d'analyse utilisée.

5. PROCÈS-VERBAL DE L'ESSAI

Le procès-verbal de l'essai précisera la méthode d'analyse utilisée ainsi que les résultats obtenus. Il mentionnera, en outre, tous les détails de la procédure, non spécifiés dans la méthode d'analyse ou facultatifs, ainsi que les conditions susceptibles d'avoir influencé le résultat obtenu.

Le procès-verbal de l'essai fournira toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

MÉTHODE 1: DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN MATIÈRE SÈCHE

(Étuve à 99 °C)

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet de déterminer la teneur en matière sèche des laits énumérés ci-après:

- lait concentré riche en matière grasse ou lait concentré non sucré riche en matière grasse,
- lait concentré ou lait concentré non sucré ou lait entier concentré,
- lait partiellement écrémé concentré ou lait partiellement écrémé concentré non sucré,
- lait écrémé concentré ou lait écrémé concentré non sucré,
- lait concentré sucré ou lait entier concentré sucré,
- lait partiellement écrémé concentré sucré,
- lait écrémé concentré sucré.

2. DÉFINITION

Matière sèche du lait concentré: matière sèche déterminée par la méthode spécifiée.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Une quantité connue de l'échantillon est diluée avec de l'eau, mélangée avec du sable et desséchée à une température de 99 ± 1 °C. La masse après dessiccation constitue la masse de matière sèche. La matière sèche est exprimée en pourcentage de la masse de l'échantillon.

4. RÉACTIFS

Sable de quartz ou sable de mer (taille des grains: 0,18- 0,5 mm, traité à l'acide chlorhydrique, passé à travers un tamis de 500 microns et retenu par un tamis de 180 microns). Il doit correspondre au test de contrôle décrit ci-après:

Chauffer environ 25 g de sable pendant 2 heures dans l'étuve (point 5.3). comme décrit aux points 6.1 à 6.3. Ajouter 5 ml d'eau, chauffer à nouveau dans l'étuve pendant 2 heures, refroidir et peser à nouveau. La différence entre les deux pesées ne doit pas dépasser 0,5 mg.

Le cas échéant, traiter le sable pendant 3 jours à l'acide chlorhydrique à 25 %; mélanger de temps en temps. Laver à l'eau jusqu'à disparition de la réaction acide ou jusqu'à ce que l'eau de lavage soit exempte de chlorure. Sécher à 160 °C et répéter le test comme ci-avant.

5. APPAREILLAGE

5.1. Balance analytique.

5.2. Capsules métalliques, de préférence en nickel, en aluminium ou en acier inoxydable. Les capsules doivent être munies de couvercles s'adaptant convenablement mais pouvant être ôtées aisément. Les dimensions convenant le mieux sont: diamètre 60 à 80 mm, profondeur 25 mm environ.

5.3. Étuves à dessiccation à la pression atmosphérique, bien ventilée et contrôlée par thermostat, température réglée à 99 ± 1 °C. Il importe que la température soit uniforme dans l'ensemble de l'étuve.

- 5.4. Dessiccateur équipé d'un indicateur hygrométrique, garni de gel de silice récemment activé ou d'un desséchant équivalent.
- 5.5. Courtes baguettes de verre, dont l'une des extrémités est aplatie et d'une longueur correspondant aux dimensions intérieures des capsules métalliques (point 5.2).
- 5.6. Bain d'eau bouillante.

6. MODE OPÉRATOIRE

- 6.1. Placer dans la capsule (point 5.2) environ 25 g de sable (point 4) et une courte baguette de verre (point 5.5).
- 6.2. Chauffer la capsule, le couvercle et le contenu, le couvercle étant enlevé, pendant 2 heures dans l'étuve (point 5.3).
- 6.3. Replacer le couvercle sur la capsule et la transférer dans le dessiccateur (point 5.4). Laisser refroidir à la température ambiante et peser à 0,1 mg près (M_0).
- 6.4. Inclinant le couvercle, amasser le sable d'un côté de la capsule. Introduire dans l'espace libre ainsi aménagé, environ 1,5 g de l'échantillon si c'est du lait concentré sucré et 3,0 g si c'est du lait concentré non sucré. Replacer le couvercle et peser à 0,1 mg près (M_1).
- 6.5. Enlever le couvercle, ajouter 5 ml d'eau et, au moyen de la baguette de verre (point 5.5), mélanger les liquides, puis le sable et la partie liquide. Laisser la baguette dans le mélange.
- 6.6. Placer la capsule sur le bain d'eau bouillante (point 5.6) jusqu'à ce que l'eau soit évaporée (soit 20 minutes en général). Remuer le mélange de temps en temps avec la baguette afin que la masse soit bien aérée et qu'elle ne s'agglutine pas après dessiccation. Placer la baguette à l'intérieur de la capsule.
- 6.7. Placer la capsule et le couvercle pendant 1 h 30 environ dans l'étuve.
- 6.8. Remettre le couvercle, transférer la capsule dans le dessiccateur et l'y laisser refroidir jusqu'à la température ambiante; peser à 0,1 mg près.
- 6.9. Découvrir la capsule et la chauffer, ainsi que son couvercle, pendant 1 heure dans l'étuve.
- 6.10. Répéter l'opération du point 6.8.
- 6.11. Répéter les opérations décrites aux points 6.9 et 6.8 jusqu'à ce que deux pesées successives ne révèlent pas un écart de plus de 0,5 mg ou que la masse augmente. Employer dans ce dernier cas la pesée avec la masse la plus basse obtenue dans les calculs (point 7.1). Veiller à ce que le poids final noté soit M_2 .

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. Mode de calcul

La teneur en matière sèche, exprimée en pourcentage de la masse d'échantillon, est indiquée par la formule:

$$\frac{M_1 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100$$

où:

- M_0 = masse, en grammes, de la capsule, de son couvercle et du sable, après l'opération du point 6.3,
 M_1 = masse, en grammes, du couvercle, de la capsule, du sable et de l'échantillon après l'opération du point 6.4,
 M_2 = masse, en grammes, du couvercle, de la capsule, du sable et de l'échantillon desséché, après l'opération du point 6.11.

7.2. **Répétabilité**

La différence entre les résultats de deux déterminations parallèles, effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste sur le même échantillon et dans les mêmes conditions, ne doit pas excéder 0,2 g de matière sèche pour 100 g de produit.

8. CALCUL DE LA TENEUR EN MATIÈRES SOLIDES TOTALES ET DE LA TENEUR EN MATIÈRES SOLIDES NON GRASSES DANS LE LAIT

8.1. La teneur en matière solide totale des laits concentrés sucrés est donnée par:

- la teneur en matière sèche totale [obtenue par la méthode 1 (annexe II)],
- la teneur en saccharose [obtenue par la méthode 5 (annexe II)].

8.2. La teneur en matière solide non grasse des laits concentrés est donnée par:

- la teneur en matière sèche totale [obtenue par la méthode 1 (annexe II)],
- la teneur en saccharose [obtenue par la méthode 5 (annexe II)],
- la teneur en matière grasse [obtenue par la méthode 3 (annexe II)].

8.3. La teneur en matière solide non grasse des laits concentrés non sucrés est donnée par:

- la teneur en matière sèche totale [obtenue par la méthode 1 (annexe II)],
- la teneur en matière grasse [obtenue par la méthode 3 (annexe II)].

MÉTHODE 2: DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN HUMIDITÉ

(Étuve à 102 °C)

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet de déterminer la perte de masse à la dessiccation des laits énumérés ci-après:

- lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse,
- lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier,
- lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé,
- lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé.

2. DÉFINITION

Teneur en humidité: la perte de masse à la dessiccation déterminée par la méthode spécifiée.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La masse résiduaire de la portion d'essai est déterminée après dessiccation à la pression atmosphérique dans une étuve à 102 ± 1 °C jusqu'à obtention d'une masse constante. La perte de masse est calculée en pourcentage de la masse d'échantillon.

4. APPAREILLAGE

4.1. Balance analytique

4.2. Capsules, de préférence en verre, en nickel, en aluminium ou en acier inoxydable. Les capsules doivent être munies de couvercles s'adaptant convenablement mais pouvant être ôtés aisément. Les dimensions convenant le mieux sont: diamètre 60 à 80 mm, profondeur 25 mm environ.

4.3. Étuve à la pression atmosphérique, bien ventilée et contrôlée par thermostat, température réglée à 102 ± 1 °C. Il importe que la température soit uniforme dans l'ensemble de l'étuve.

4.4. Dessiccateur équipé d'un indicateur hygrométrique garni de gel de silice récemment activé ou d'un desséchant équivalent.

5. MODE OPÉRATOIRE

5.1. Enlever le couvercle de la capsule (point 4.2) et placer capsule et couvercle dans l'étuve (point 4.3) pendant 1 heure environ.

5.2. Remettre le couvercle, transférer la capsule dans le dessiccateur (point 4.4) et l'y laisser refroidir jusqu'à la température ambiante; peser à 0,1 mg près (M_0).

5.3. Placer dans la capsule environ 2 g d'échantillon de lait sec, mettre le couvercle sur la capsule et peser rapidement la capsule munie de son couvercle à 0,1 mg près (M_1).

5.4. Enlever le couvercle et placer capsule et couvercle pendant 2 heures dans l'étuve.

5.5. Remettre le couvercle, transférer la capsule couverte dans le dessiccateur et l'y laisser refroidir jusqu'à la température ambiante; peser rapidement à 0,1 mg près.

5.6. Découvrir la capsule et la chauffer, ainsi que son couvercle, pendant 1 heure dans l'étuve.

5.7. Répéter l'opération du point 5.5.

5.8. Répéter les opérations des points 5.6 et 5.5 jusqu'à ce que les pesées successives ne révèlent pas un écart de plus de 0,5 mg ou que la masse augmente. Employer dans ce dernier cas la pesée avec la masse la plus basse obtenue dans les calculs (point 6.1). Veiller à ce que le poids final noté soit M_2 g.

6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

6.1. Mode de calcul

Calculer la perte de masse de l'échantillon à la dessiccation, exprimée en pourcentage de la masse, en utilisant la formule:

$$\frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \times 100$$

où:

M_0 = masse, en grammes, de la capsule et de son couvercle, après l'opération du point 5.2,

M_1 = masse, en grammes, de la capsule, de son couvercle et de l'échantillon, après l'opération du point 5.3,

M_2 = masse, en grammes, de la capsule, de son couvercle et de l'échantillon final, après l'opération du point 5.5.

6.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations, effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste sur le même échantillon et dans les mêmes conditions, ne doit pas excéder 0,1 g d'eau pour 100 g de produit.

MÉTHODE 3: DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN MATIÈRE GRASSE (MÉTHODE RÖSE-GOTTLIEB)

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet de déterminer la teneur en matière grasse des laits énumérés ci-après:

- lait concentré riche en matière grasse ou lait concentré non sucré riche en matière grasse,
- lait concentré ou lait concentré non sucré ou lait entier concentré,
- lait partiellement écrémé concentré ou lait partiellement écrémé concentré non sucré,
- lait écrémé concentré ou lait écrémé concentré non sucré,
- lait concentré sucré ou lait entier concentré sucré,
- lait partiellement écrémé concentré sucré,
- lait écrémé concentré sucré.

2. DÉFINITION

Teneur en matière grasse des laits concentrés: la teneur en matière grasse déterminée par la méthode spécifiée.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La teneur en matière grasse est déterminée par extraction de la matière grasse d'une solution ammoniaco-alcoolique de l'échantillon à l'aide d'oxyde diéthylique et d'éther de pétrole, évaporation des solvants et pesée du résidu, calcul en pourcentage de la masse de l'échantillon, selon la méthode Röse-Gottlieb.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être conformes aux conditions précisées dans l'essai à blanc (point 6.1). Le cas échéant, les réactifs pourront être distillés à nouveau en présence d'environ 1 g de graisse de beurre pour 100 ml de solvant.

- 4.1. Solution d'ammoniaque, environ 25 % (m/m) de NH_3 (densité à 20 °C, environ 0,91 g/ml) ou une solution plus concentrée de concentration connue.
- 4.2. Éthanol, à $96 \pm 2\%$ (v/v) ou, à défaut, de l'éthanol dénaturé avec du méthanol, de l'éthyl-méthylcétone ou de l'éther de pétrole.
- 4.3. Oxyde diéthylique, exempt de peroxydes.
- Note 1*
Pour s'assurer que l'oxyde diéthylique est exempt de peroxydes, ajouter à 10 ml d'oxyde contenus dans une petite éprouvette à bouchon, de verre, préalablement rincée avec un peu d'oxyde, 1 ml d'une solution à 10 % d'iodure de potassium, fraîchement préparée. Agiter et laisser reposer pendant 1 minute. Aucune coloration jaune ne doit apparaître dans l'une ou l'autre des deux couches.
- Note 2*
L'oxyde diéthylique peut être maintenu exempt de peroxydes par l'addition d'une feuille de zinc humide préalablement immergée pendant 1 minute dans une solution acide diluée de sulfate de cuivre puis lavée à l'eau. Pour 1 litre d'oxyde diéthylique, utiliser environ 8 000 mm² de feuille de zinc coupée en bandes suffisamment longues pour atteindre au moins le milieu du récipient.
- 4.4. Éther de pétrole, distillant entre 30 et 60 °C.
- 4.5. Mélange de solvants, préparé peu de temps avant l'emploi par le mélange de volume égaux d'oxyde diéthylique (point 4.3) et d'éther de pétrole (point 4.4). (On pourra remplacer le mélange de solvants, là où son utilisation est indiquée, par de l'oxyde diéthylique ou par de l'éther de pétrole.)

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Balance analytique.
- 5.2. Tubes ou flacons d'extraction appropriés, munis de bouchons en verre rodé, ou d'autres fermetures insensibles à l'action des solvants utilisés.
- 5.3. Flacons à fond plat et à paroi mince, de 150 à 250 ml de capacité.
- 5.4. Etuve à dessiccation à la pression atmosphérique, bien ventilée, contrôlée par thermostat (température à 102 ± 1 °C).
- 5.5. Granules destinés à faciliter l'ébullition, exempts de matière grasse, non poreux, non friables, par exemple perles de verre ou morceaux de carbure de silicium (l'emploi de ces granules est facultatif; voir à ce sujet le point 6.2.1).
- 5.6. Siphon correspondant aux tubes d'extraction.
- 5.7. Centrifugeuse.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Essai à blanc

En même temps que la détermination de la matière grasse de l'échantillon, effectuer un essai à blanc avec 10 ml d'eau en utilisant le même type d'appareil d'extraction, les mêmes réactifs dans les mêmes proportions et le même mode opératoire que celui décrit ci-avant à l'exclusion du point 6.2.2. Si la valeur de l'essai à blanc dépasse 0,5 mg, il conviendra de vérifier les réactifs et le ou les réactifs impurs devront être purifiés ou remplacés.

6.2. Dosage

6.2.1. Sécher le flacon (point 5.3) (éventuellement après y avoir déposé les matériaux (point 5.5) facilitant une ébullition modérée au cours de l'évaporation des solvants) dans l'étuve (point 5.4) pendant une demi-heure à 1 heure. Laisser refroidir le flacon jusqu'à la température de la salle des balances et peser le flacon une fois refroidi, à 0,1 mg près.

6.2.2. Agiter l'échantillon à 5 g préparé et peser immédiatement à 1 mg près, directement ou par différence, 4 g de lait concentré non sucré ou 2 à 2,5 g de lait concentré sucré dans l'appareil d'extraction (point 5.2). Ajouter de l'eau jusqu'au volume de 10,5 ml et agiter doucement en chauffant légèrement (40 à 50 °C) jusqu'à dispersion totale du produit. L'échantillon doit être dispersé complètement sinon la détermination sera répétée.

6.2.3. Ajouter 1,5 ml de la solution d'ammoniaque (25 %) (point 4.1) ou un volume correspondant d'une solution plus concentrée et mélanger convenablement.

6.2.4. Ajouter 10 ml d'éthanol (point 4.2) et mélanger les liquides doucement mais complètement dans l'appareil d'extraction maintenu ouvert.

6.2.5. Ajouter 25 ml d'oxyde diéthylique (point 4.3). Refroidir au besoin l'appareil sous l'eau courante. Fermer l'appareil, l'agiter énergiquement et le retourner à plusieurs reprises pendant 1 minute.

6.2.6. Enlever le bouchon avec précaution et ajouter 25 ml d'éther de pétrole (point 4.4), en utilisant les premiers millilitres pour rincer le bouchon et l'intérieur du col de l'appareil et en laissant les liquides de rinçage couler dans l'appareil. Fermer l'appareil en remplaçant le bouchon, agiter et retourner l'appareil à plusieurs reprises pendant 30 secondes. Si l'on ne prévoit pas de centrifugation lors de l'opération décrite au point 6.2.7, ne pas agiter trop énergiquement.

6.2.7. Laisser l'appareil au repos jusqu'à ce que la couche liquide supérieure devienne limpide et se sépare nettement de la phase aqueuse. On peut également effectuer la séparation à l'aide d'une centrifugeuse appropriée (point 5.7).

Remarque

Si l'on utilise une centrifugeuse dont le moteur n'est pas triphasé, des étincelles peuvent se produire et il faut donc veiller à éviter une explosion ou un incendie par suite de la présence de vapeurs d'éther (en cas de rupture d'un tube, par exemple).

6.2.8. Enlever le bouchon et le rincer, ainsi que l'intérieur du col de l'appareil, avec quelques millilitres du mélange de solvants (point 4.5) laisser les liquides de rinçage couler dans l'appareil. Transvaser avec soin, aussi complètement que possible, la couche supérieure dans le flacon (point 6.2.1) par décantation ou à l'aide d'un siphon (point 5.6).

Remarque

Si le transvasement n'est pas fait à l'aide d'un siphon, il pourra être nécessaire d'ajouter un peu d'eau pour rehausser l'interface des deux couches afin de faciliter la décantation.

- 6.2.9. Rincer l'intérieur et l'extérieur du col de l'appareil ou la pointe et la partie inférieure du siphon avec quelques millilitres du mélange de solvants. Laisser les liquides de rinçage de l'extérieur de l'appareil couler dans le flacon et ceux de l'intérieur du colet du siphon dans l'appareil d'extraction.
- 6.2.10. Procéder à une deuxième extraction en répétant les opérations décrites aux points 6.2.5 à 6.2.9 inclus, mais en utilisant seulement 15 ml d'oxyde diéthylique et 15 ml d'éther de pétrole.
- 6.2.11. Effectuer une troisième extraction en procédant comme indiqué au point 6.2.10, mais en omettant le rinçage final point (6.2.9).
- Remarque*
Dans le cas du lait écrémé concentré non sucré et du lait écrémé concentré sucré, cette troisième extraction n'est pas nécessaire.
- 6.2.12. Éliminer avec soin par évaporation ou distillation le maximum de solvant (y compris l'éthanol). Si le flacon est de petite capacité, il faudra éliminer un peu de solvant de la manière précitée après chaque extraction.
- 6.2.13. Quand il ne subsiste plus aucune odeur de solvant, chauffer le flacon, couché, pendant 1 heure, dans l'étuve.
- 6.2.14. Retirer le flacon de l'étuve, le laisser refroidir jusqu'à la température de la salle des balances et peser à 0,1 mg près.
- 6.2.15. Répéter les opérations des points 6.2.13 et 6.2.14 en chauffant par périodes de 30 à 60 minutes jusqu'à ce que deux pesées successives ne révèlent pas un écart de plus de 0,5 mg ou que la masse augmente. Employer dans ce dernier cas la pesée la plus basse obtenue dans les calculs (point 7.1). Veiller à ce que le poids final noté soit M_1 g.
- 6.2.16. Ajouter 15 à 25 ml d'éther de pétrole pour vérifier si la matière extraite est entièrement soluble. Chauffer légèrement et agiter le solvant par un mouvement circulaire jusqu'à ce que toute la matière grasse soit en solution.
- 6.2.16.1. Si la matière extraite est entièrement soluble dans l'éther de pétrole, la masse de matière grasse est la différence entre la pesée du point 6.2.1 et la pesée du point 6.2.15.
- 6.2.16.2. Si des matières insolubles sont présentes ou toujours en cas de doute extraire complètement la matière grasse contenue dans les flacons par des lavages répétés à l'éther de pétrole chaud, en laissant se déposer la matière non dissoute avant chaque décantation. Rincer trois fois l'extérieur du col du flacon. Chauffer le flacon, couché, pendant 1 heure à l'étuve et le laisser refroidir comme indiqué plus haut (point 6.2.1) jusqu'à la température de la salle des balances; peser à 0,1 mg près. La masse de la matière grasse est la différence entre la pesée du point 6.2.15 et cette pesée finale.

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. Mode de calcul

La masse exprimée en grammes, de la matière grasse extraite est donnée par la formule:

$$(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)$$

et la teneur en matière grasse de l'échantillon, exprimée en pourcentage, par la formule:

$$\frac{(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)}{S} \times 100$$

où:

- M_1 = masse, en grammes, du flacon M contenant la matière grasse après l'opération du point 6.2.15,
- M_2 = masse, en grammes, du flacon M après l'opération du point 6.2.1 ou, dans le cas où des matières insolubles sont présentes ou en cas de doute après l'opération du point 6.2.16.2,
- B_1 = masse, en grammes, du flacon B de l'essai à blanc après l'opération du point 6.2.15,
- B_2 = masse, en grammes, du flacon B, après l'opération du point 6.2.1 ou, dans le cas où des matières insolubles sont présentes ou en cas de doute après l'opération du point 6.2.16.2.
- S = masse, en grammes, de la prise d'essai utilisée.

7.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste sur le même échantillon et dans les mêmes conditions ne doit pas excéder 0,05 g de matière grasse pour 100 g de produit.

MÉTHODE 4: DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN MATIÈRE GRASSE (MÉTHODE DE RÖSE-GOTTLIEB)

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet de déterminer la teneur en matière grasse des laits énumérés ci-après:

- lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse.
- lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier.
- lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé.
- lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé.

2. DÉFINITION

La teneur en matière grasse des laits en poudre est la teneur en matière grasse déterminée par la méthode spécifiée.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La teneur en matière grasse est déterminée par extraction de la matière grasse d'une solution ammoniac-alcoolique de l'échantillon à l'aide d'oxyde dréthylique et d'éther de pétrole, évaporation des solvants, pesée du résidu et calcul en pourcentage de la masse de l'échantillon, selon le principe de la méthode de Röse-Gottlieb.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être conformes aux conditions précisées dans l'essai à blanc (point 6.1). Le cas échéant, les réactifs pourront être distillés à nouveau en présence d'environ 1 g de graisse de beurre pour 100 ml de solvant.

- 4.1. Solution d'ammoniaque, environ 25 % (m/m) de NH_3 (densité à 20 °C, environ 0,91 g/ml) ou Solution plus concentrée de concentration connue.
- 4.2. Éthanol, à 96 ± 2 % (v/v) ou, à défaut, de l'éthanol dénaturé avec du méthanol, de l'éthyl méthylcétone ou de l'éther de pétrole.
- 4.3. Oxyde diéthylique exempt de peroxydes.

Note 1

Pour s'assurer que l'oxyde diéthylique est exempt de peroxydes ajouter à 10 ml d'oxyde diéthylique contenus dans une petite éprouvette à bouchon de verre, préalablement rincée avec un peu d'oxyde diéthylique, 1 ml d'une solution à 10 % d'iodure de potassium récemment préparée. Agiter et laisser reposer pendant 1 minute. Aucune coloration jaune ne doit apparaître dans l'une ou l'autre des deux couches.

Note 2

L'oxyde diéthylique peut être maintenu exempt de peroxydes par addition d'une feuille de zinc humide préalablement immergée pendant 1 minute dans une solution acide diluée de sulfate de cuivre puis lavée à l'eau. Pour un litre d'oxyde diéthylique, utiliser environ 8 000 mm² de feuille de zinc coupée en bandes suffisamment longues pour atteindre au moins le milieu du récipient.

- 4.4. Éther de pétrole distillant entre 30 et 60 °C.
- 4.5. Mélange de solvants prépare peu de temps avant emploi par le mélange de volumes égaux d'oxyde diéthylique (point 4.3) et d'éther de pétrole (point 4.4). (On pourra remplacer le mélange de solvants, là où son utilisation est présente, par de l'oxyde diéthylique ou par de l'éther de pétrole.)

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Balance analytique.
- 5.2. Tubes ou flacons d'extraction appropriés, pourvus de bouchons en verre rodé, ou d'autres fermetures insensibles à l'action des solvants utilisés.
- 5.3. Flacons à fond plat, et à paroi mince, de 150 à 250 ml de capacité.
- 5.4. Étuve à dessiccation à la pression atmosphérique bien ventilée et et contrôlée par thermostat (température à 102 ± 1 °C).
- 5.5. Granules destinés à faciliter l'ébullition, exempts de matière grasse, non poreux, non friables, par exemple perles de verre ou morceaux de carbure de silicium (l'emploi de ces granules est facultatif, voir à ce sujet le point 6.2.1).
- 5.6. Bain d'eau de 60 à 70 °C.
- 5.7. Siphon correspondant aux tubes d'extraction.
- 5.8. Centrifugeuse.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Essai à blanc

En même temps que la détermination de la teneur en matière grasse de l'échantillon, effectuer un essai à blanc avec 10 ml d'eau en utilisant le même type d'appareil d'extraction, les mêmes réactifs dans les mêmes proportions et le même mode opératoire que celui décrit ci-après, à l'exclusion du point 6.2.2. Si la valeur de l'essai à blanc dépasse 0,5 mg, il conviendra de vérifier les réactifs et le ou les réactifs impurs devront être purifiés ou remplacés.

6.2. Dosage

6.2.1. Sécher le flacon (point 5.3) [éventuellement après y avoir déposé des matériaux (point 5.5) facilitant une ébullition modérée au cours de l'évaporation des solvants] dans l'étuve (point 5.4) pendant une demi-heure à 1 heure. Laisser refroidir le flacon jusqu'à la température de la salle des balances et peser le flacon une fois refroidi à 0,1 mg près.

6.2.2. Dans l'appareil d'extraction (point 5.2) peser à 1 mg près, soit directement, soit par différence, environ 1 g de lait entier en poudre ou environ 1,5 g de lait partiellement écrémé en poudre ou de lait écrémé en poudre. Ajouter 10 ml d'eau et agiter jusqu'à la dispersion totale de la poudre de lait (il peut être nécessaire de chauffer pour certains échantillons.).

6.2.3. Ajouter 1,5 ml de solution d'ammoniaque (25 %) (point 4.1) ou un volume correspondant d'une solution plus concentrée et chauffer au bain d'eau (point 5.6) pendant 15 minutes de 60 à 70 °C, en agitant de temps en temps. Refroidir ensuite, par exemple à l'eau courante.

6.2.4. Ajouter 10 ml d'éthanol (point 4.2) et mélanger les liquides doucement mais complètement dans l'appareil maintenu ouvert.

6.2.5. Ajouter 25 ml d'oxyde diéthylique (point 4.3). Refroidir au besoin sous l'eau courante. Fermer l'appareil, l'agiter énergiquement à plusieurs reprises pendant 1 minute.

6.2.6. Enlever le bouchon avec précaution et ajouter 25 ml d'éther de pétrole (point 4.4) en utilisant les premiers millilitres pour rincer le bouchon et l'intérieur du col de l'appareil et en laissant les liquides de rinçage couler dans l'appareil. Remettre le bouchon en place, agiter et renverser l'appareil à plusieurs reprises 30 secondes. Si l'on ne prévoit pas de centrifugation lors de l'opération décrite au point 6.2.7, ne pas agiter trop énergiquement.

6.2.7. Laisser l'appareil au repos jusqu'à ce que la couche liquide supérieure devienne limpide et se sépare nettement de la phase aqueuse. On peut également effectuer la séparation à l'aide d'une centrifugeuse appropriée (point 5.8).

Remarque

Si l'on utilise une centrifugeuse dont le moteur n'est pas triphasé, des étincelles peuvent se produire et il faut donc veiller à éviter une explosion ou un incendie par suite de la présence de vapeurs d'éther (en cas de rupture d'un tube, par exemple).

6.2.8. Enlever le bouchon et le rincer ainsi que l'intérieur du col de l'appareil avec quelques millilitres de mélange de solvants (points 4.5); laisser les liquides de rinçage couler dans l'appareil. Transvaser avec soin aussi complètement que possible la couche supérieure dans le flacon (point 6.2.1) par décantation ou à l'aide d'un siphon (point 5.7).

Remarque

Si le transvasement n'est pas fait à l'aide d'un siphon, il pourra être nécessaire d'ajouter un peu d'eau pour rehausser l'interface des deux couches afin de faciliter la décantation.

- 6.2.9. Rincer l'extérieur et l'intérieur du col de l'appareil ou la pointe et la partie inférieure du siphon avec quelques millilitres du mélange de solvants. Laisser les liquides de rinçage de l'extérieur de l'appareil couler dans le flacon et ceux de l'intérieur du col et du siphon dans l'appareil d'extraction.
- 6.2.10. Procéder à une deuxième extraction en répétant les opérations décrites aux points 6.2.5 à 6.2.9 inclus, mais en utilisant seulement 15 ml d'oxyde diéthylique et 15 ml d'éther de pétrole.
- 6.2.11. Effectuer une troisième extraction en procédant comme indiqué au point 6.2.10 mais en omettant le rinçage final (point 6.2.9).
- Remarque*
S'il s'agit de poudre de lait écrémé, la troisième extraction n'est pas nécessaire.
- 6.2.12. Éliminer avec soin, par évaporation ou distillation, le maximum de solvant (y compris l'éthanol). Si le flacon est de petite capacité, il faudra éliminer un peu de solvant de la manière précitée après chaque extraction.
- 6.2.13. Quand il ne subsiste plus aucune odeur de solvant, chauffer le flacon, couché, pendant 1 heure dans l'étuve.
- 6.2.14. Retirer le flacon de l'étuve et le laisser refroidir jusqu'à la température de la salle des balances comme indiqué plus haut (point 6.2.1) et peser à 0,1 mg près.
- 6.2.15. Répéter les opérations des points 6.2.13 et 6.2.14, en chauffant par période de 30 à 60 minutes jusqu'à ce que la différence en masse de deux pesées successives soit inférieure à 0,5 mg ou jusqu'à ce que la masse augmente. S'il y a augmentation de masse, utiliser dans le calcul (point 7.1) la masse la plus faible. M_1 est la masse obtenue en g.
- 6.2.16. Ajouter 15 à 25 ml d'éther de pétrole pour vérifier que la matière extraite est entièrement soluble. Chauffer légèrement et agiter le solvant par un mouvement circulaire jusqu'à ce que toute la matière grasse soit en solution.
- 6.2.16.1. Si la matière extraite est entièrement soluble dans l'éther de pétrole, la masse de la matière grasse est la différence entre la pesée du point 6.2.1 et la pesée du point 6.2.15.
- 6.2.16.2. Si de la matière insoluble est présente et toujours en cas de doute extraire complètement la matière grasse contenue dans le flacon par des lavages répétés à l'éther de pétrole chaud, en laissant se déposer la matière non dissoute avant chaque décantation. Rincer à trois reprises l'extérieur du col du flacon. Chauffer le flacon, couché, pendant 1 h à l'étuve et le laisser refroidir jusqu'à la température de la salle des balances comme indiqué plus haut (point 6.2.1) et peser à 0,1 mg près. La masse de la matière grasse est la différence entre la pesée du point 6.2.15 et la pesée finale.

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. Mode de calcul

La masse, exprimée en grammes, de la matière grasse extraite est donnée par la formule:

$$(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)$$

et la teneur en matière grasse de l'échantillon, exprimée en pourcentage, par la formule:

$$\frac{(M_1 - M_2) - (B_1 - B_2)}{S} \times 100$$

où:

- M_1 = masse, en grammes du flacon M, avec la matière grasse après l'opération du point 6.2.15,
- M_2 = masse, en grammes, du flacon M, après l'opération du point 6.2.1 ou, dans le cas où des matières insolubles sont présentes ou en cas de doute, après l'opération du point 6.2.16.2,
- B_1 = masse, en grammes, du flacon B de l'essai à blanc après l'opération du point 6.2.15.
- B_2 = masse, en grammes, du flacon B après l'opération du point 6.2.1. ou, dans le cas où des matières insolubles sont présentes ou en cas de doute, après l'opération du point 6.2.16.2,
- S = masse, en grammes, de la prise d'essai utilisée.

7.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste sur le même échantillon, dans les mêmes conditions, ne doit pas excéder 0,2 g de matière grasse pour 100 g de produit à l'exception du lait écrémé en poudre pour lequel la différence ne doit pas excéder 0,1 g de matière grasse pour 100 g de produit.

MÉTHODE 5: DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN SACCHAROSE (MÉTHODE POLARIMÉTRIQUE)

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet de déterminer la teneur en saccharose des laits énumérés ci-après:

- lait concentré sucré ou lait entier concentré sucré,
- lait partiellement écrémé concentré sucré,
- lait écrémé concentré sucré.

Les échantillons ne doivent pas contenir de sucre interverti.

2. DÉFINITION

La teneur en saccharose des laits concentrés sucrés est la teneur en saccharose déterminée par la méthode spécifiée.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La méthode est basée sur le principe de l'inversion de Clerget: un traitement doux par un acide hydrolyse complètement le saccharose. Le lactose et les autres sucres ne sont pratiquement pas hydrolysés. La teneur en saccharose est déduite du changement du pouvoir rotatoire de la solution.

Un filtrat limpide de l'échantillon, sans mutarotation due au lactose, est préparé par traitement de la solution par l'ammoniaque, neutralisation et clarification par additions successives de solutions d'acétate de zinc et de hexaferrocyanure de potassium.

Sur une partie du filtrat, le saccharose est hydrolysé dans des conditions précises.

En partant des pouvoirs rotatoires du filtrat avant et après inversion, on calcule la teneur en saccharose à l'aide de formules.

4. RÉACTIFS

- 4.1. Solution d'acétate de zinc, M: dissoudre 21,9 g d'acétate de zinc cristallisé $Zn (C_2H_3O_2)_2 \cdot 2H_2O$ et 3 ml d'acide acétique glacial dans de l'eau et compléter à 100 ml.
- 4.2. Solution de hexaferrocyanure (II) de potassium, 0,25 M: dissoudre 10,6 g de hexaferrocyanure (II) de potassium $K_4 [Fe (CN)_6] \cdot 3H_2O$ dans de l'eau et compléter à 100 ml.
- 4.3. Solution d'acide chlorhydrique 6,35 + 0,20 M (20 à 22 %) ou 5,0 + 0,2 M (16 à 18 %).
- 4.4. Solution diluée d'ammoniaque 2,0 + 0,2 M (3,5 %).
- 4.5. Solution diluée d'acide acétique 2,0 + 0,2 M (12 %).
- 4.6. Indicateur bleu de bromothymol, solution à 1 % (m/v) dans l'éthanol.

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Balance analytique, sensibilité 10 mg.
- 5.2. Tube de polarimètre de 2 dm de longueur, calibré exactement.
- 5.3. Polarimètre ou saccharimètre:
 - a) Polarimètre à lumière de sodium ou à lumière verte de mercure (lampe à vapeur de mercure avec prisme ou écran Wratten spécial n° 77 A), permettant une lecture d'une précision au moins égale à 0,05 degré d'angle.
 - b) Saccharimètre à échelle internationale, utilisant de la lumière blanche passant au travers d'un filtre de 15 mm de solution à 6 % de bichromate de potassium ou bien de la lumière de sodium et permettant une lecture d'une précision au moins égale à 0.1 degré de l'échelle saccharimétrique internationale.
- 5.4. Bain d'eau réglé à 60 ± 1 °C.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Contrôle de la méthode

Dans le but de normaliser la méthode, les réactifs et les appareils, on procédera à un contrôle de la méthode comme décrite ci-après par double analyse d'un mélange de 100 g de lait et 18 g de saccharose pur ou de 110 g de lait écrémé et de 18 g de saccharose pur correspondant à 40 g de

lait concentré contenant 45 % de saccharose. Calculer la teneur en saccharose à l'aide des formules indiquées au point 7 en utilisant la formule 1, pour M, F et P, la quantité de lait pesée et les teneurs en matière grasse et en protéines de ce lait et, dans la formule 2, pour M, le chiffre de 40 g. La moyenne des valeurs trouvées ne doit pas différer de cette valeur (45 %) de plus de 0,2 %.

6.2. Dosage

- 6.2.1. Dans un bêcher de 100 ml en verre, peser exactement à 10 mg près, 40 g environ de l'échantillon convenablement mélangé. Ajouter 50 ml d'eau chaude (80 à 90 °C) et mélanger soigneusement.
- 6.2.2. Transvaser quantitativement le mélange dans un ballon jaugé de 200 ml, rincer le bêcher avec des quantités successives d'eau à 60 °C, jusqu'à ce que le volume total soit de 120 à 150 ml. Mélanger et refroidir à température ambiante.
- 6.2.3. Ajouter 5 ml de la solution d'ammoniaque diluée (point 4.4). Mélanger de nouveau et laisser reposer pendant 15 minutes.
- 6.2.4. Neutraliser l'ammoniaque en ajoutant une quantité équivalente de la solution diluée d'acide acétique (point 4.5). Déterminer au préalable la quantité exacte de ml par titrage de la solution d'ammoniaque diluée en employant le bleu de bromothymol comme indicateur (point 4.6). Mélanger.
- 6.2.5. Ajouter, en mélangeant doucement par rotation du ballon incliné, 12,5 ml de solution d'acétate de zinc (point 4.1).
- 6.2.6. De la même manière que pour la solution d'acétate, ajouter 12,5 ml de solution de hexaferrocyanure (II) de potassium (point 4.2).
- 6.2.7. Porter le contenu du ballon à 20 °C et ajouter de l'eau (à 20 °C) jusqu'au trait de jauge de 200 ml.

Remarque

Jusqu'à ce stade, toutes additions d'eau ou de réactifs seront effectuées de manière à éviter la formation de bulles d'air et, pour cette même raison, tous les mélanges seront effectués par rotation du ballon plutôt que par agitation violente. Si on constate la présence de bulles d'air avant la mise au trait (200 ml), on peut les éliminer en reliant le ballon à une pompe à vide et en lui imprimant un mouvement de rotation.

- 6.2.8. Boucher le ballon avec un bouchon sec et mélanger intimement en secouant énergiquement.
- 6.2.9. Laisser reposer pendant quelques minutes, filtrer ensuite sur papier filtre sec. Jeter les 25 premiers ml du filtrat.
- 6.2.10. Polarisation directe: déterminer la rotation optique du filtrat à 20 ± 1 °C.
- 6.2.11. Inversion: pipetter, dans un ballon jaugé de 50 ml, 40 ml du filtrat obtenu de la façon indiquée ci-avant. Ajouter 6,0 ml d'acide chlorhydrique 6,35 M ou 7,6 ml d'acide chlorhydrique 5,00 M (point 4.3).

Placer le ballon dans un bain d'eau à 60 °C pendant 15 minutes, le ballon étant immergé jusqu'à la naissance du col. Mélanger par rotation pendant les 5 premières minutes au cours desquelles le contenu devra avoir atteint la température du bain. Refroidir à 20 °C et porter au volume avec de l'eau à 20 °C; mélanger et laisser reposer une heure à cette température.

6.2.12. *Polarisation après inversion*

Déterminer le pouvoir rotatoire de la solution intervertie à $20 \pm 0,2$ °C (lorsque la température T du liquide dans le tube de polarisation diffère du plus de $0,2$ °C pendant la mesure, la correction de température indiquée au point 7.2 doit être appliquée).

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. **Mode de calcul**

Calculer la teneur en saccharose à l'aide des formules suivantes:

$$1. \quad v = \frac{M}{100} (1,08 F + 1,55 P)$$

$$2. \quad S = \frac{D - 1,25 I}{Q} \times \frac{V - v}{V} \times \frac{V}{L \times M} \%$$

S = teneur en saccharose,

M = masse de l'échantillon pesé exprimée en g,

F = pourcentage de matière grasse de l'échantillon,

P = pourcentage de protéines (N x 6,38) de l'échantillon,

V = volume en ml auquel l'échantillon est dilué avant filtration,

v = correction exprimée en ml pour le volume du précipité formé pendant la clarification,

D = lecture polarimétrique directe (polarisation avant inversion),

I = lecture polarimétrique après inversion,

L = longueur en dm du tube du polarimètre,

Q = facteur d'inversion dont les valeurs sont indiquées ci-après.

Remarques

- a) En pesant exactement 40 g de lait concentré et en utilisant un polarimètre à lumière de sodium, à échelle en degrés d'angle et un tube de polarimètre de 2 dm de longueur à $20,0 \pm 0,1$ °C, la teneur en saccharose des laits concentrés normaux (C = 9) peut être calculée à l'aide de la formule suivante:

$$S = (D - 1,25 I)(2,833 - 0,00612 F - 0,00878 P)$$

- b) Si la mesure de la polarisation après inversion est effectuée à une température autre que 20 °C, les chiffres obtenus devront être multipliés par:

$$[1 + 0,0037 (T - 20)]$$

7.2. **Valeurs du facteur d'inversion Q**

Les formules suivantes donnent des valeurs précises de Q pour diverses sources de lumière avec des corrections, le cas échéant, pour la concentration et la température:

Lumière du sodium et polarimètre à échelle en degrés d'angle:

$$Q = 0,8825 + 0,0006 (C - 9) - 0,0033 (T - 20).$$

Lumière verte du mercure et polarimètre à échelle en degrés d'angle:

$$Q = 1,0392 + 0,0007 (C - 9) - 0,0039 (T - 20).$$

Lumière blanche avec écran au bichromate et saccharimètre avec échelle saccharimétrique internationale:

$$Q = 2,549 + 0,0017 (C - 9) - 0,0095 (T - 20).$$

Dans les formules précédentes:

C = pourcentage des sucres totaux dans la solution intervertie, d'après la lecture polarimétrique.

T = température de la solution intervertie lors de la lecture au polarimètre.

Remarque 1

Le pourcentage des sucres totaux C dans la solution intervertie peut être calculé à partir de la lecture directe et de la variation après inversion selon la méthode habituelle, en utilisant les valeurs usuelles de rotation spécifique du saccharose, du lactose et du sucre interverti.

La correction 0,0006 (C - 9) etc. n'est exacte que lorsque C est égal à environ 9; pour du lait concentré normal cette correction peut être négligée, C étant alors voisin de 9.

Remarque 2

Les écarts de température de 1 °C par rapport à 20 °C n'influencent que faiblement la lecture directe. Par contre, des écarts de plus de 0,2 °C lors de la lecture après inversion nécessitent une correction. La correction - 0,0033 (T - 20), etc. n'est exacte que pour des températures comprises entre 18 et 22 °C.

7.3. **Répétabilité**

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste sur le même échantillon et dans les mêmes conditions ne doit pas excéder 0,3 g de saccharose pour 100 g de lait concentré.

MÉTHODE 6: DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN ACIDE LACTIQUE ET EN LACTATES

1. **OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION**

Cette méthode permet d'obtenir la teneur en acide lactique et en lactates des laits énumérés ci-après:

- lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse,
- lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier.
- lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé,
- lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé.

2. **DÉFINITION**

Teneur en acide lactique et en lactates des laits en poudre: la teneur en acide lactique et en lactates déterminée par la méthode spécifiée.

3. **PRINCIPE DE LA MÉTHODE**

La matière grasse, les protéines et le lactose sont éliminés simultanément d'une solution d'échantillon par addition de sulfate de cuivre et d'hydroxide de calcium, puis par filtration.

L'acide lactique et les lactates du filtrat sont transformés en acétaldéhyde par l'acide sulfurique concentré en présence de sulfate de cuivre (II).

La teneur en acide lactique est déterminée par colorimétrie en utilisant du p-hydroxydiphényle.

La teneur en acide lactique et en lactates est exprimée en mg d'acide lactique par 100 g de matières solides non lipidiques.

4. RÉACTIFS

- 4.1. Solution de sulfate de cuivre (II): dissoudre 250 g de sulfate de cuivre (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau et diluer à 1 000 ml.
- 4.2. Suspension d'hydroxyde de calcium.
 - 4.2.1. Broyer 300 g d'hydroxyde de calcium $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ dans un mortier avec de l'eau, en utilisant au total 900 ml. La suspension devrait être fraîchement préparée avant d'être utilisée.
 - 4.2.2. Broyer 300 g d'hydroxyde de calcium $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ dans un mortier avec de l'eau, en utilisant au total 1 400 ml. La suspension devrait être fraîchement préparée avant d'être utilisée.
- 4.3. Solution d'acide sulfurique — sulfate de cuivre (II): ajouter à 300 ml d'acide sulfurique 95,5 = 97,0 % (m/m) de H_2SO_4 , 0,5 ml de la solution de sulfate de cuivre (II) (point 4.1).
- 4.4. Solution de p-hydroxydiphényle ($\text{C}_6\text{H}_5\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$): dissoudre en agitant et en chauffant légèrement 0,75 g de p-hydroxydiphényle dans 5 ml d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium renfermant 5 g de NaOH par 100 ml. Diluer jusqu'à 50 ml avec de l'eau dans une fiole jaugée. Conserver la solution dans un flacon en verre brun, à l'abri de la lumière et au frais. Ne pas utiliser la solution si la couleur change ou s'il se produit un trouble. La durée de conservation maximale est de 72 heures.
- 4.5. Solution étalon d'acide lactique: dissoudre peu avant l'emploi 0,1067 g de lactate de lithium ($\text{CH}_3\text{CHOHCOOLi}$) dans de l'eau et diluer à 1 000 ml dans une fiole jaugée. Un ml de cette solution correspond à 0,1 mg d'acide lactique.
- 4.6. Lait reconstitué étalon: analyser au préalable plusieurs échantillons de lait en poudre de haute qualité. Pour la préparation de la courbe de calibrage, prendre l'échantillon dont la teneur en acide lactique est la plus faible, pas plus de 30 mg d'acide lactique par 100 g de matières solides non lipidiques. Suivre le mode opératoire décrit au point 6.2.1 et en 6.2.2 ci-après.

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Balance analytique.
- 5.2. Spectrophotomètre permettant la lecture à une longueur d'onde de 570 nm.
- 5.3. Bain d'eau à $30 \pm 2^\circ\text{C}$.
- 5.4. Mortier et pilon.
- 5.5. Papier filtre (Schleicher et Schull 595, Whatman 1 ou similaire).
- 5.6. Tubes à essai pyrex ou similaires (dimensions 25 x 150 mm).

Note

Toute la verrerie doit être parfaitement propre et utilisée pour cette seule détermination. Avant lavage, rincer la verrerie contenant le précipité avec de l'acide chlorhydrique concentré.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc en versant 30 ml d'eau dans un tube gradué de 50 ml et en traitant ce flacon comme il est décrit aux points 6.2.4 à 6.2.11 inclus. Si les résultats de l'essai à blanc par rapport à l'eau dépassent l'équivalent de 20 mg d'acide lactique par 100g de matières solides non lipidiques, les réactifs doivent être contrôlés et le (ou les) réactif(s) impur(s) doit(vent) être remplacé(s). Traiter l'essai à blanc simultanément avec les échantillons.

6.2. Dosage

Note: Éviter la contamination par des impuretés, notamment par la salive et la transpiration.

- 6.2.1. Déterminer la teneur en matières solides non lipidiques (a) de l'échantillon en déduisant de 100 la teneur en matière grasse (selon la méthode 4) et la teneur en humidité (selon la méthode 2).
- 6.2.2. Peser $\frac{1\ 000}{(a) - 10}$ g de l'échantillon à 0,1 g près. Ajouter cette quantité d'échantillon à 100 ml d'eau et mélanger soigneusement.
- 6.2.3. Pipetter 5 ml de la solution obtenue dans un tube gradué de 50 ml et diluer avec de l'eau jusqu'à 30 ml.
- 6.2.4. Ajouter lentement et en agitant, 5 ml de la solution de sulfate de cuivre (point 4.1) et laisser reposer 10 minutes.
- 6.2.5. Ajouter lentement et en agitant 5 ml de la suspension d'hydroxyde de calcium (point 4.2.1) ou 10 ml de la suspension d'hydroxyde (point 4.2.2).
- 6.2.6. Diluer à 50 ml avec de l'eau, agiter vigoureusement, laisser reposer 10 minutes et filtrer. Rejeter les premières gouttes du filtrat.
- 6.2.7. Pipetter 1 ml du filtrat dans un tube à essai (point 5.6).
- 6.2.8. Ajouter au contenu du tube, au moyen d'une burette ou d'une pipette graduée, 6 ml de la solution d'acide sulfurique et de sulfate de cuivre (point 4.3). Mélanger.
- 6.2.9. Chauffer dans le bain d'eau bouillante pendant 5 minutes. Refroidir à la température ambiante sous eau courante.
- 6.2.10. Ajouter 2 gouttes de réactif au p-hydroxydiphényle (point 4.4) et agiter vigoureusement pour répartir uniformément le réactif dans tout le liquide. Plonger le tube dans le bain d'eau à $30 + 2$ °C et l'y maintenir pendant 15 minutes; agiter de temps en temps.
- 6.2.11. Plonger le tube dans le bain d'eau bouillante pendant 90 secondes. Refroidir à la température ambiante sous eau courante.
- 6.2.12. Mesurer la densité optique par rapport à l'essai à blanc (point 6.1) dans les trois heures, à la longueur d'onde indiquée au point 5.2.
- 6.2.13. Si la densité dépasse celle du plus haut point de la courbe d'étalonnage, répéter l'essai en utilisant une dilution convenable du filtrat obtenu au point 6.2.6.

- 6.3. **Établissement de la courbe d'étalonnage**
- 6.3.1. Pipetter 5 ml du lait reconstitué (point 4.6) dans cinq cylindres gradués de 50 ml. Pipetter dans ces tubes 0, 1, 2, 3 et 4 ml de la solution étalon (point 4.5), de façon à obtenir une gamme d'étalonnage correspondant à 0, 20, 40, 60 et 80 mg d'acide lactique ajouté par 100 g de matières solides non lipidiques de poudre de lait.
- 6.3.2. Diluer avec de l'eau jusqu'à environ 30 ml et traiter comme il est décrit aux points 6.2.4 à 6.2.11 inclus.
- 6.3.3. Mesurer les densités optiques des éléments de la gamme d'étalonnage (point 6.3.1) par rapport à l'essai à blanc (point 6.1) à la longueur d'onde indiquée au point 5.2. Porter ces densités optiques sur un diagramme en fonction des quantités d'acide lactique mentionnées au point 6.3.1, soit 0 mg, 20 mg, 40 mg, 60 mg, 80 mg, par 100 g de matières solides non lipidiques. Tracer la droite la plus satisfaisante passant par les points et préparer la courbe d'étalonnage en déplaçant cette ligne parallèlement à elle-même de façon à la faire passer par l'origine.

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. Mode de calcul

Convertir la densité optique mesurée selon le point 6.2.12 ou 6.2.13 en mg d'acide lactique par 100 g de matières solides non lipidiques de l'échantillon en se référant à la courbe d'étalonnage. Multiplier ce résultat par le facteur de dilution au cas où le filtrat a été dilué selon le point 6.2.13.

7.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste et dans les mêmes conditions sur le même échantillon ne doit pas dépasser 8 mg d'acide lactique par 100 g de matières solides non lipidiques pour des teneurs atteignant 80 mg. Pour des valeurs plus élevées, cette différence ne doit dépasser 10 % de la valeur la plus basse.

MÉTHODE 7: DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ DE LA PHOSPHATASE (MÉTHODE DE SANDERS ET SAGER, MODIFIÉE)

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet de déterminer l'activité de la phosphatase dans les laits énumérés ci-après:

- lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse,
- lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier,
- lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé,
- lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé.

2. DÉFINITION

L'activité de la phosphatase du lait en poudre est mesurée par la quantité de la phosphatase alcaline active présente. Elle est exprimé par la quantité de phénol libéré en ng par ml de lait reconstitué, déterminée par le procédé décrit ci-après.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

L'activité de la phosphatase du lait en poudre est déterminée par le pouvoir de la phosphatase de libérer le phénol du phénylphosphate disodique. La quantité de phénol libéré dans les conditions prescrites est déterminée par une mesure spectrophotométrique de la coloration développée grâce au réactif de Gibbs.

4. RÉACTIFS

4.1. **Solution A**

Tampon de borate et d'hydroxyde de baryum: pH 10,6 ± 0,1 à 20 °C.

Dissoudre: 25,0g d'hydroxyde de baryum [Ba(OH)₂·8H₂O] dans de l'eau et diluer jusqu'à 500 ml.

Dissoudre: 11,0 g d'acideborique (H₃BO₃) dans de l'eau et diluer jusqu'à 500 ml.

Chauffer les deux solutions à une température de 50 °C et mélanger.

Agiter et refroidir le mélange à la température ambiante.

Ajuster le pH à 10,6 ± 0,1 avec la solution d'hydroxyde de baryum et filtrer.

Conserver la solution dans un récipient bien bouché.

Avant utilisation, diluer le tampon avec la même quantité d'eau.

4.2. **Solution B**

Tampon pour le développement de la couleur.

Dissoudre 6 g de métaborate de sodium (NaBO₂) (ou 12,6 g de NaBO₂·4H₂O) et 20 g de chlorure de sodium (NaCl) dans de l'eau et diluer jusqu'à 1 000 ml.

4.3. **Solution C**

Substrat tamponné.

4.3.1. Dissoudre 0,5 g de phénylphosphate disodique (Na₂C₆H₅PO₄·2H₂O) dans 4,5 ml de solution B (point 4.2). Ajouter deux gouttes de solution E (point 4.5) et laisser reposer pendant 30 minutes. Extraire la couleur formée avec 2,5 ml d'alcool butylique (point 4.10). Si nécessaire répéter l'extraction de la couleur. Après séparation, jeter l'alcool butylique. Cette solution peut être conservée pendant quelques jours dans un réfrigérateur. Développer et extraire la couleur encore une fois avant l'emploi.

4.3.2. Pipetter 1 ml de cette solution dans un ballon jaugé de 100 ml et ajouter de la solution A jusqu'au repère. Préparer le substrat tamponné immédiatement avant l'emploi.

4.4. **Solution D**

Précipitant.

Dissoudre 3,0 g de sulfate de zinc (ZnSO₄·7H₂O) et 0,6 g de sulfate de cuivre II (CuSO₄·5H₂O) dans de l'eau et porter à 100 ml.

4.5. **Solution E**

Réactif de Gibbs.

Dissoudre 0,040 g de dibromo-2,6 quinone chloro-1,4 imide ($O \cdot C_6H_2Br_2 \cdot NCl$) dans 10 ml d'éthanol à 96 %. Conserver la solution dans un flacon en verre foncé dans un réfrigérateur. Jeter ce réactif quand il a changé de couleur.

4.6. **Tampon de dilution de la coloration**

Diluer 10 ml de la solution tampon B pour le développement de la couleur (point 4.2) avec de l'eau et compléter à 100 ml.

4.7. **Solution de sulfate de cuivre**

Dissoudre 0,05 g de sulfate de cuivre (II) ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) dans l'eau et compléter à 100 ml.

4.8. **Solution étalon de phénol**

Dissoudre $0,200 \pm 0,001$ g de phénol pur dans de l'eau et porter à 100 ml dans un ballon jaugé. Cette solution peut être conservée pendant quelques mois dans un réfrigérateur. Diluer 10 ml de cette solution à 100 ml avec de l'eau. Cette solution diluée contient 200 μ g de phénol par ml et peut être utilisée pour préparer des solutions plus diluées.

4.9. Eau distillée, bouillie.

4.10. Alcool n-butylique.

5. APPAREILLAGE

5.1. Balance analytique.

5.2. Bain d'eau maintenu par thermostat à $37 \pm 1^\circ C$.

5.3. Spectrophotomètre permettant la lecture à une longueur d'onde de 610 nm.

5.4. Papier filtre (Schleicher et Schull 597, Whatman 42 ou similaires).

5.5. Bain d'eau bouillante.

5.6. Feuille d'aluminium.

6. MODE OPÉRATOIRE

Précautions à prendre

1. Éviter l'exposition directe à la lumière solaire.
2. Nettoyer parfaitement toute la verrerie, les bouchons et matériels de transvasement. Il est recommandé de les rincer et de les faire bouillir à l'eau ou de les traiter à la vapeur.
3. Éviter l'emploi de matières plastiques (bouchons par exemple) qui pourraient contenir du phénol.
4. La salive contenant de la phosphatase, éviter soigneusement toute trace de salive.

6.1. Préparation de l'échantillon

6.1.1. Dissoudre 10 g de l'échantillon, pesés à 0,1 g près, dans 90 ml d'eau. La température de dissolution de la poudre ne doit jamais dépasser 35 °C.

6.2. Détermination

6.2.1. Introduire dans chacun des deux tubes à essai 1 ml de lait reconstitué préparé comme indiqué au point 6.1.1.

6.2.2. Chauffer l'un des tubes dans de l'eau bouillante pendant 2 minutes. Couvrir le tube et le bain d'eau (point 5.5) ou, par exemple, un bécher, avec une feuille d'aluminium (point 5.6), pour que le tube soit chauffé en entier. Refroidir dans de l'eau froide à température ambiante. Ce tube servira pour l'essai à blanc. À partir de ce point, traiter les deux tubes de façon identique.

6.2.3. Ajouter 10 ml de la solution C (point 4.3.2). Mélanger et placer les tubes dans le bain d'eau à 37 °C (point 5.2).

6.2.4. Incuber pendant 60 minutes dans le bain d'eau en agitant de temps en temps.

6.2.5. Porter aussitôt les tubes au bain d'eau bouillant et chauffer pendant 2 minutes, refroidir à la température ambiante, dans de l'eau froide.

6.2.6. Ajouter 1 ml de la solution D (point 4.4), mélanger et filtrer sur un papier filtre sec; jeter les premiers filtrats jusqu'à obtention d'un liquide limpide.

6.2.7. Introduire 5 ml de chaque filtrat dans des tubes à essai, ajouter 5 ml de solution B (point 4.2) et 0,1 ml de solution E (point 4.5). Mélanger.

6.2.8. Laisser la couleur se préciser à température ambiante et à l'abri de la lumière solaire pendant 30 minutes.

6.2.9. Mesurer la densité optique de la solution de l'échantillon par rapport à l'essai à blanc à la longueur d'onde indiquée au point 5.3.

6.2.10. Répéter la détermination si la densité optique de la solution dépasse celle de l'étalon à 20 µg de phénol préparé suivant le point 7.

Si cette limite est dépassée, diluer un volume convenable du lait reconstitué, d'après le point 6.1.1, avec un volume approprié de ce lait soigneusement bouilli, comme indiqué au point 6.2.2, pour inactiver la phosphatase présente.

7. PRÉPARATION DE LA COURBE ÉTALON

7.1. Pipetter dans quatre ballons de 100 ml, 1, 3, 5 et 10 ml de la solution étalon diluée d'après le point 4.8 et compléter jusqu'au repère avec de l'eau; ces dilutions contiennent respectivement 2, 6, 10 et 20 µg de phénol par ml.

7.2. Pipetter 1 ml de chaque solution témoin (point 7.1) dans des tubes à essai afin d'obtenir une série d'échantillons contenant 0 (valeur zéro) 2, 6, 10 et 20 µg de phénol. Le blanc est obtenu par pipetage de 1 ml d'eau.

- 7.3. Pipetter successivement dans chaque tube à essai 1 ml de la solution de sulfate de cuivre (point 4.7), 5 ml de solution tampon colorée (point 4.6), 3 ml d'eau et 0,1 ml de la solution E (point 4.5); mélanger.
- 7.4. Laisser reposer les tubes à essai à température ambiante et à l'abri de la lumière solaire directe pendant 30 minutes.
- 7.5. Mesurer la densité optique du contenu des tubes par rapport à la valeur zéro, à la longueur d'onde indiquée au point 5.3.
- 7.6. Établir la courbe étalon en relevant les valeurs des densités optiques en fonction des quantités de phénol en ng telles qu'elles sont indiquées au point 7.2.

8. EXPRESSION DES RÉSULTATS

8.1. Mode de calcul

- 8.1.1. Convertir le chiffre obtenu au point 6.2.9 en ng de phénol, en se référant à la courbe étalon.
- 8.1.2. Calculer l'activité de la phosphatase exprimée en ng de phénol par ml de lait reconstitué selon la formule suivante:

$$\text{activité de la phosphatase} = 2,4 \times P$$

où P = quantité de phénol en ng d'après le point 8.1.1.

- 8.1.3. S'il a été nécessaire de diluer comme indiqué au point 6.2.10, multiplier le résultat obtenu au point 8.1.2 par le facteur de dilution.

8.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste sur le même échantillon et dans les mêmes conditions ne doit pas excéder 2 ng de phénol libéré par ml de lait reconstitué.

MÉTHODE 8: DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ DE LA PHOSPHATASE (MÉTHODE ASCHAFFENBURG ET MULLEN)

1. DOMAINE D'APPLICATION

La présente méthode permet de déterminer l'activité de la phosphatase dans les laits énumérés ci-après:

- lait en poudre riche en matière grasse ou poudre de lait riche en matière grasse,
- lait en poudre, lait entier en poudre, poudre de lait ou poudre de lait entier,
- lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé,
- lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé.

2. DÉFINITION

L'activité de la phosphatase du lait déshydraté est mesurée par la quantité de phosphatase alcaline active présente dans le produit. Elle est exprimée en quantité de p-nitrophénol libéré en μg par ml de lait reconstitué, déterminée par le procédé décrit ci-après.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

L'échantillon de lait reconstitué est dilué dans un substrat tamponné (pH 10,2) et incubé pendant 2 heures à une température de 37 °C. Toute quantité de phosphatase alcaline présente dans l'échantillon libérera, dans ces conditions, du p-nitrophénol provenant du p-nitrophénylphosphate disodique. Le p-nitrophénol libéré est mesuré par comparaison directe avec des verres de couleur étalons dans un colorimètre simple à lumière réfléchie.

4. RÉACTIFS

4.1. Tampon de carbonate de sodium et de bicarbonate de sodium.

Dissoudre 3,5 g de carbonate de sodium anhydre et 1,5 g de bicarbonate de sodium dans de l'eau et diluer à 1 000 ml dans un ballon jaugé.

4.2. Substrat tamponné.

Dissoudre 1.5 g de p-nitrophénylphosphate disodique dans la solution tampon de carbonate de sodium et de bicarbonate de sodium (point 4.1) et diluer à 1 000 ml dans un ballon jaugé.

Cette solution est stable pendant un mois au réfrigérateur (≤ 4 °C), mais il faut effectuer un test de contrôle de la couleur sur les solutions conservées de cette manière (voir point 6 note 3).

4.3. Précipitants.

4.3.1. Sulfate de zinc.

Dissoudre 30,0 g de sulfate de zinc ($ZnSO_4$) dans de l'eau et porter à 100 ml dans un ballon jaugé.

4.3.2. Hexacyanoferrate (II) de potassium en solution.

Dissoudre 17,2 g de hexacyanoferrate (II) de potassium trihydraté ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) dans de l'eau et porter à 100 ml dans un ballon jaugé.

5. APPAREILLAGE

5.1. Balance analytique.

5.2. Bain d'eau à 37 ± 1 °C, contrôlé par thermostat.

5.3. Comparateur colorimétrique, avec disque spécial contenant des verres de couleur étalons calibrés en mg de p-nitrophénol par ml de lait et deux cellules de 25 mm chacune.

6. MODE OPÉRATOIRE

Précautions à observer

1. Après l'emploi, vider les tubes, les rincer à l'eau, les laver à l'eau chaude additionnée d'un détergent alcalin, rincer soigneusement ensuite à l'eau du robinet chaude et claire. Les rincer à l'eau, pour terminer; sécher avant l'emploi.

Les pipettes doivent être rincées à fond à l'eau du robinet claire et froide immédiatement après l'emploi; les rincer à l'eau et les sécher avant l'emploi.

2. Les bouchons des tubes à essai doivent être rincés soigneusement à l'eau du robinet chaude immédiatement après emploi; les faire bouillir ensuite dans l'eau pendant 2 minutes.
3. Le substrat tamponné (point 4.2) devrait rester stable pendant 1 mois au moins au réfrigérateur à une température de ≤ 4 °C. Toute instabilité se traduit par la formation d'une couleur jaune. Alors que l'essai est toujours lu par rapport à un contrôle du produit bouilli contenant le même substrat tamponné, il est recommandé de ne pas utiliser ce substrat lorsque la couleur indique un excès de 10 µg, la lecture étant effectuée dans une cellule de 25 mm dans le colorimètre et en utilisant de l'eau distillée dans l'autre cellule de 25 mm.
4. Utiliser une pipette par échantillon et éviter la contamination par la salive.
5. Éviter à tout moment l'exposition directe à la lumière du soleil.

6.1. Préparation de l'échantillon

Dissoudre 10 g de poudre dans 90 ml d'eau. La température de dissolution de la poudre ne doit pas dépasser 35 °C.

6.2. Détermination

- 6.2.1. Pipetter 15 ml du substrat tamponné (point 4.2) dans un tube à essai propre et sec, puis 2 ml de l'échantillon de lait reconstitué (point 6.1) à tester. Fermer le tube à l'aide d'un bouchon, mélanger en renversant le tube et placer dans un bain d'eau à 37 °C (point 5.2).
- 6.2.2. Placer simultanément dans le bain d'eau un tube de contrôle contenant 15 ml de substrat tamponné et 2 ml d'échantillon de lait reconstitué bouilli du même type que celui du test.
- 6.2.3. Enlever les deux tubes du bain d'eau au bout de 2 heures, ajouter 0,5 ml de précipitant au sulfate de zinc (point 4.3.1), remettre le bouchon, agiter vigoureusement et laisser reposer pendant 3 minutes. Ajouter 0,5 ml de précipitant à l'hexaferrocyanure (II) de potassium (point 4.3.2); mélanger intimement et filtrer sur papier plissé (point 5.4); recueillir le filtrat limpide dans le tube à essai propre.
- 6.2.4. Transvaser le filtrat dans une cellule de 25 mm et comparer par rapport au filtrat de l'échantillon de contrôle bouilli dans le colorimètre en utilisant le disque spécial (point 5.3).

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. Mode de calcul

La lecture directe obtenue suivant le point 6.2.4 est exprimée en ng de p-nitrophénol par ml d'échantillon ou par ml d'échantillon de lait reconstitué.

7.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste sur le même échantillon et dans les mêmes conditions ne doit pas excéder 2 mg de p-nitrophénol libéré par ml de lait reconstitué.

Règlement ministériel du 16 juillet 1980 fixant les méthodes d'analyse pour le contrôle des extraits de café et des extraits de chicorée.

Le Ministre de la Santé,

Vu l'article 8 du règlement grand-ducal du 9 octobre 1979 relatif aux café, extraits de café, chicorée, extraits de chicorée et succédanés de café;

Vu la première directive de la Commission 79/1066/CEE du 13 novembre 1979 portant fixation des méthodes d'analyse communautaires pour le contrôle des extraits de café et des extraits de chicorée;

Vu l'avis de la Chambre de Commerce;

Arrête:

Art. 1^{er}. Les analyses nécessaires au contrôle de la composition des produits visés par le règlement grand-ducal du 9 octobre 1979 relatif aux café, extraits de café, chicorée, extraits de chicorée et succédanés de café, sont effectués conformément aux méthodes décrites à l'annexe du présent règlement.

Art. 2. Le présent règlement sera publié au Mémorial avec son annexe.

Luxembourg, le 16 juillet 1980

Le Ministre de la Santé,
Emile Krieps

ANNEXE

MÉTHODES D'ANALYSE DES EXTRAITS DE CAFÉ ET DES EXTRAITS DE CHICORÉE

DISPOSITIONS GÉNÉRALES

1. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

1.1. Généralités

La masse de l'échantillon présenté au laboratoire pour analyse doit être d'au moins 50 g.

1.2. Préparation de l'échantillon pour l'analyse chimique

1.2.1. Mélange

L'échantillon à analyser doit toujours être bien mélangé avant pesée de la prise d'essai.

1.2.1.1. Les échantillons en poudre ou en pâte doivent être sortis du récipient, les grains écrasés et l'échantillon mélangé de façon adéquate et placé dans un récipient approprié.

1.2.1.2. Les échantillons sous forme liquide doivent être mélangés au moyen d'un agitateur.

1.3. Récipients

L'échantillon doit toujours être conservé dans un récipient imperméable à l'air et à l'humidité.

2. RÉACTIFS

2.1. Eau

2.1.1. Lorsqu'il est précisé que l'on doit employer de l'eau pour la mise en solution, la dilution ou le lavage, on utilisera de l'eau distillée ou de l'eau déminéralisée de pureté au moins équivalente.

2.1.2. Lorsqu'il est fait référence à la mise en solution ou à la dilution sans autre indication, on sous-entend mise en solution dans l'eau ou dilution avec de l'eau.

2.2. Réactifs chimiques

Sauf convention contraire, tous les réactifs chimiques utilisés doivent être de qualité analytique.

3. APPAREILLAGE

3.1. Listes des appareils

Les listes des appareils mentionneront seulement ceux qui sont destinés à un usage particulier ou qui comportent des spécifications spéciales.

3.2. Balance analytique

Balance analytique signifie une balance capable de peser à 0,1 mg près.

4. EXPRESSION DES RÉSULTATS

4.1. Résultats

Le résultat indiqué dans le rapport d'analyse est la valeur moyenne obtenue à partir d'au moins deux dosages, pour lesquels la reproductibilité est satisfaisante.

4.2. Calcul du pourcentage

Sauf disposition contraire, le résultat sera calculé en pourcentage de la masse de l'échantillon.

4.3. Nombre de chiffres significatifs

Le résultat ne doit pas contenir plus de chiffres significatifs que la précision de la méthode d'analyse ne l'exige.

5. PROCÈS-VERBAL DE L'ESSAI

Le procès-verbal de l'essai précisera la méthode d'analyse utilisée ainsi que les résultats obtenus. Il mentionnera, en outre, tous les détails de la procédure, non spécifiés dans la méthode d'analyse ou facultatifs, ainsi que les conditions susceptibles d'avoir influencé le résultat obtenu.

Le procès-verbal de l'essai fournira toutes les informations nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

MÉTHODE 1: DOSAGE DE LA CAFÉINE

1. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode décrit le dosage de la caféine dans les extraits de café décaféiné.

2. DÉFINITION

Teneur en caféine: teneur en caféine telle qu'elle est dosée par la présente méthode.

3. PRINCIPE

La caféine est extraite d'une prise d'essai de l'échantillon, en milieu ammoniacal. Elle est ensuite successivement purifiée avec de l'éther diéthylique sur deux colonnes chromatographiques, la première en milieu alcalin, la seconde en milieu acide. La caféine est ensuite éluée à partir de la colonne par du chloroforme et mesurée par spectrophotométrie.

4. RÉACTIFS

4.1. Acide sulfurique, solution 2 M.

4.2. Hydroxyde de sodium, solution 2 M.

4.3. Célite 545 ou équivalent.

4.4. Solution d'ammoniaque, environ 4 M (préparer en ajoutant 1 volume de solution d'ammoniaque concentré, ρ_{20} circa 0,9 g/ml à 2 volumes d'eau).

4.5. Éther diéthylique, pur ou repurifié par chromatographie sur une colonne d'oxyde d'aluminium basique de degré d'activité 1 (voir point 6.6).

Faire passer 800 ml d'éther diéthylique dans une colonne contenant 100 g d'oxyde d'aluminium. L'éther diéthylique ainsi purifié doit être conservé dans des flacons en verre sombre jusqu'à son utilisation.

(On peut utiliser aussi de l'éther diéthylique récemment distillé et exempt de peroxydes au lieu de l'éther diéthylique purifié par chromatographie.)

Saturer l'éther diéthylique avec de l'eau.

4.6. Caféine (triméthyl 1,3,7-dihydroxypurine-2,6), pure anhydre ($C_8H_{10}N_4O_2$).

4.7. Chloroforme, pur ou repurifié par chromatographie selon la méthode spécifiée au point 4.5 et saturé d'eau.

5. APPAREILLAGE

5.1. Colonnes pour chromatographie (voir figure 1), approximativement, de longueur 250 mm, de diamètre intérieur 21 mm (colonne I) et 17 mm (colonne II), munies de robinets d'arrêt.

- 5.2. Spectrophotomètre d'absorption dans l'ultraviolet.
Le spectrophotomètre doit avoir une précision allant jusqu'à une absorbance de 0,004 dans la gamme utilisée.
- 5.3. Cuves en silice de 10 mm de parcours optique.
- 5.4. Matériel courant de laboratoire, notamment:
- 5.4.1. bain d'eau, bouillant,
- 5.4.2. fioles jaugées à un trait, de 50 ml, 100 ml et 1 000 ml, conformes à l'ISO 1042,
- 5.4.3. pipettes à un trait, de 2 ml et 5 ml, conformes à l'ISO 648,
- 5.4.4. balance analytique.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Préparation de la prise d'essai

Peser à 0,1 mg près environ 0,5 g d'échantillon d'extrait de café séché, entre 0,5 et 0,7 g d'échantillon d'extrait de café en pâte et entre 0,8 et 3,2 g d'échantillon d'extrait de café liquide. Les deux dernières pesées devront être choisies de façon à ce que les prises d'essai contiennent environ 0,5 g d'extrait de café séché. Transvaser l'échantillon dans un bécher de 100 ml avec 5 ml de solution d'ammoniaque (point 4.4) et chauffer pendant deux minutes sur le bain d'eau bouillant (point 5.4.1). Ajouter 6 g de célite (point 4.3) et mélanger soigneusement.

6.2. Remplissage des colonnes

6.2.1. Colonne I (colonne alcaline)

Phase A: mélanger soigneusement, en pétrissant avec la lame d'une spatule flexible, 3 g de célite (point 4.3) et 2 ml de solution d'hydroxyde de sodium (point 4.2), jusqu'à homogénéisation (voir note ci-après). On obtient une poudre légèrement humide. Transvaser cette poudre par petites fractions (d'environ 2 g), dans une colonne chromatographique (point 5.1), la partie inférieure de celle-ci étant garnie d'un petit tampon de coton ou de laine de verre. Après chaque addition, tasser le mélange, sans exagération, avec un agitateur en verre, dont l'une des extrémités est aplatie au diamètre de la colonne, jusqu'à obtention d'une phase parfaitement homogène et compacte. On peut placer au sommet de la phase A un petit tampon de coton ou de laine de verre.

Note: Le produit de remplissage de la colonne peut être préparé à l'avance en quantité importante et conservé dans des récipients clos.

Phase B: Transvaser le mélange célite-échantillon (point 6.1) dans la colonne au-dessus de la phase A. Sécher deux fois le bêcher avec des quantités d'environ 1 g de célite (point 4.3) en la transvasant ensuite dans la colonne. Tasser pour obtenir une phase homogène et placer un tampon de coton ou de laine de verre au-dessus de la phase B.

6.2.2. Colonne II (colonne acide)

Placer dans une seconde colonne, dont la partie inférieure est garnie d'un tampon de coton ou de laine de verre, 3 g de célite (point 4.3) et 3 ml de solution d'acide sulfurique (point 4.1), soigneusement mélangés dans les mêmes conditions que pour la phase A au point 6.2.1 (voir la

note à la fin de ce paragraphe). Placer un tampon de coton ou de laine de verre au-dessus de la couche pour éviter toute érosion.

6.3. **Chromatographie**

Monter les colonnes l'une sur l'autre de façon que l'écoulement de la colonne I puisse tomber, goutte à goutte, directement dans la colonne II. Faire passer 150 ml d'éther diéthylique (point 4.5) à travers les deux colonnes, maintenir le robinet de la colonne I ouvert. Régler le robinet de la colonne II de façon qu'une certaine quantité de liquide surnage au-dessus de la phase. Retirer la colonne I. Faire passer 50 ml d'éther diéthylique (point 4.5) à travers la colonne II, en utilisant la portion initiale pour laver l'extrémité de la colonne I, et faire passer également cette portion à travers la colonne II. Rejeter les effluents provenant de la colonne II.

Note: L'éther diéthylique utilisé peut être repurifié par agitation avec du sulfate de fer (II).

Faire passer un courant d'air, au sommet de la colonne II, en maintenant le robinet ouvert (par exemple, en utilisant un ballon de caoutchouc gonflé), jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'éther diéthylique s'échappant de la colonne et que l'air s'échappant du robinet ne présente plus qu'une très faible odeur d'éther diéthylique (voir note ci-après). Éluer la colonne II avec 45 à 50 ml de chloroforme (point 4.7). Recueillir l'éluat dans une fiole jaugée de 50 ml (point 5.4.2), compléter au trait avec du chloroforme (point 4.7) et mélanger soigneusement.

Le débit d'éther diéthylique et de chloroforme dans les conditions normales d'écoulement doit être de 1,5 à 3 ml/min. Si le débit est plus rapide, on peut supposer qu'il y a des fissures.

Note: L'opérateur doit travailler sous une hotte convenablement ventilée pour éviter de respirer des vapeurs de solvant et pour prévenir les risques d'explosion.

6.4. **Mesure spectrophotométrique** (voir figure 2)

6.4.1. **Mesurage de la solution d'essai**

En évitant les erreurs dues à l'évaporation du chloroforme, mesurer la densité optique de la solution chloroformique de caféine (point 6.3) dans des cuves en silice (point 5.3) par rapport à du chloroforme (point 4.7) à 276 nm (absorption maximale). Mesurer aussi la densité optique à 246 nm (absorption minimale) et à 306 nm pour vérifier la pureté de la caféine obtenue.

Si la densité optique à 276 nm dépasse 1,3, refaire le mesurage sur une partie diluée de la solution d'essai. Dans ce cas, tenir compte du facteur de dilution; les facteurs intervenant dans les formules du point 7.1 doivent être modifiés en conséquence. Si la densité optique mesurée à 276 nm est inférieure à 0,2, recommencer la détermination en utilisant une prise d'essai plus importante.

6.4.2. **Préparation et mesurage de la solution de référence**

Préparer une solution de référence de caféine de la façon suivante:

Peser, à 0,1 mg près, 100 + 20 mg de caféine pure anhydre (point 4.6). Les placer dans une fiole jaugée de 1 000 ml (point 5.4.2), dissoudre dans du chloroforme et compléter au volume. Prélever, avec une pipette (point 5.4.3) 5 ml de cette solution et compléter jusqu'à 50 ml avec du chloroforme.

Mesurer la densité optique de cette solution comme indiqué au point 6.4.1. L'absorbance corrigée de la solution de référence doit être de l'ordre de 0.4.

6.5. **Nombre de déterminations**

Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon.

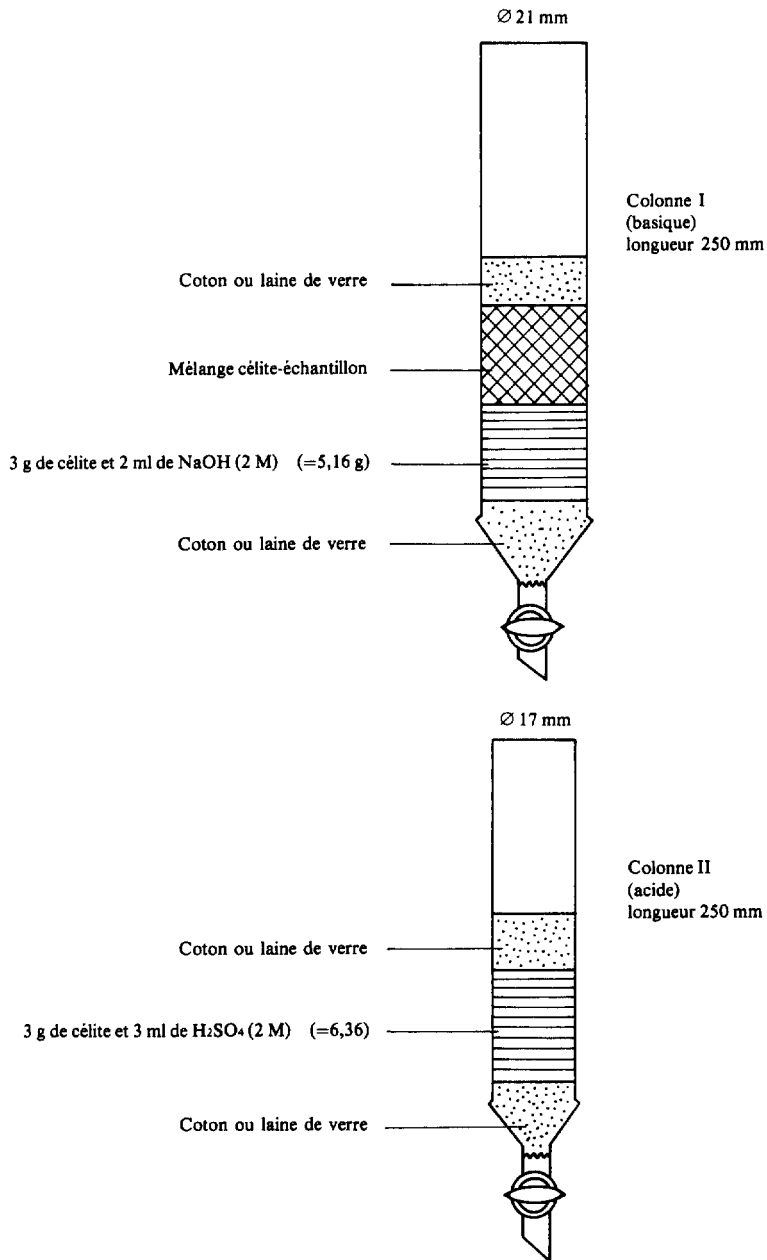


Figure 1
Colonnes chromatographiques

Cuves en silice avec 10 mm de parcours optique
Solvant: chloroforme
Blanc chloroforme

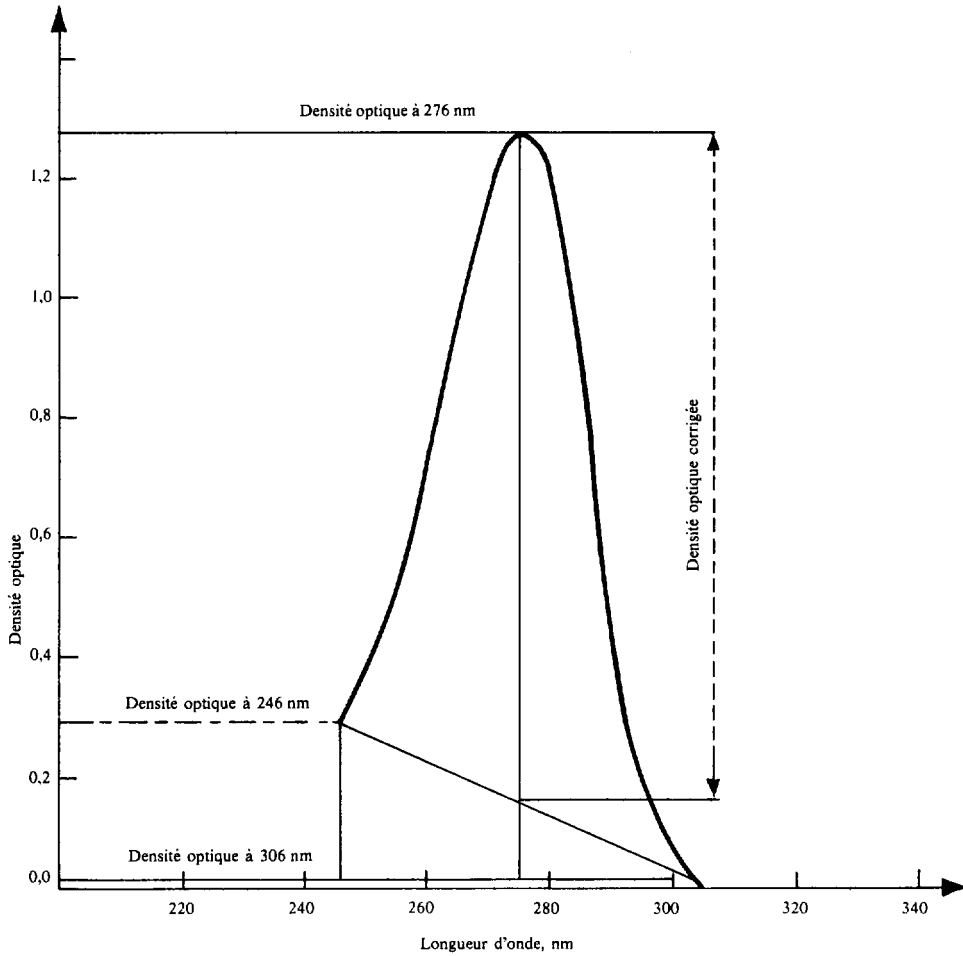


Figure 2
Mesures spectrophotométriques

6.6. Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc sur les réactifs en suivant le mode opératoire décrit ci-avant, mais sans la prise d'essai. Avant d'utiliser des réactifs repurifiés (voir points 4.5 et 4.7) refaire un essai à blanc pour vérifier leur pureté.

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. Formules et mode de calcul

La teneur en caféine, exprimée en pourcentage de la masse de matière sèche de l'échantillon, est égale à:

$$\frac{5 \times 10^5 \times C \times A}{A_2 \times m \times p}$$

où:

C = concentration en caféine de la solution de référence (point 6.4.2) en g/ml,

A₁ = densité optique corrigée de l'extrait purifié (point 6.4.1) [c'est-à-dire densité optique à 276 nm-0,5 x (densité optique à 246 nm + densité optique à 306)],

A₂ = densité optique corrigée de la solution de référence de caféine (point 6.4.2) [c'est-à-dire densité optique à 276 nm-0,5 x (densité optique à 246 nm + densité optique à 306 nm)],

m = masse en g de la prise d'essai,

p = teneur en matière sèche, exprimée en pourcentage de la masse de l'échantillon, dosée selon les méthodes 2 ou 3 (annexe II).

7.2. Répétabilité

La différence entre les résultats indépendants de deux déterminations effectuées simultanément ou rapidement à la suite l'une de l'autre, sur le même échantillon par le même analyste et dans les mêmes conditions, ne doit pas dépasser 0,01 g de caféine par 100 g d'échantillon.

MÉTHODE 2: DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN MATIÈRE SÈCHE

1. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet de déterminer la teneur en matière sèche des extraits de café et de chicorée, des extraits de café et de chicorée solubles, des cafés et chicorées solubles et des cafés et chicorées instantanés.

2. DÉFINITION

Teneur en matière sèche: teneur en matière sèche telle qu'elle est déterminée par la présente méthode.

3. PRINCIPE

La masse résiduelle de la prise d'essai est déterminée après séchage pendant 16 heures dans une étuve à vide, à une température de 70 °C et une pression de 5,0 k Pa et calculée en pourcentage de la masse de l'échantillon.

4. APPAREILLAGE

- 4.1. Capsules de pesée, à fond plat, résistant à l'attaque de l'échantillon et aux conditions d'essai, ayant environ 50 mm de diamètre et 30 mm de haut et munies de couvercles hermétiques. Des capsules en aluminium et acier inoxydable conviennent.
- 4.2. Étuve à vide, à chauffage électrique, à température réglée par un thermostat à 70 ± 1 °C pour tout le volume de l'étuve, munie d'un thermomètre de précision agréé à 70 °C, indiquant la température au voisinage du plateau et d'une jauge indiquant la pression interne en kPa au-dessus de la pression zéro. La température interne de cette étuve doit être uniforme. Les plateaux doivent être construits et montés de façon à assurer une bonne transmission de la chaleur aux capsules (point 4.1).
- 4.3. Étuve sèche à chauffage électrique, à température réglée par un thermostat à 102 ± 2 °C pour tout le volume de l'étuve.
- 4.4. Pompe à vide permettant l'obtention dans l'étuve à vide (point 4.2) d'une pression d'au plus 5,0 kPa.
- 4.5. Système de séchage constitué de deux flacons de lavage en verre remplis de glycérol de manière à former des bulles et deux colonnes de séchage en verre remplies de gel de silice fraîchement activé avec un indicateur d'humidité.

Le système de barbotage et le système de séchage sont reliés en série avec l'étuve à vide (point 4.2), et les colonnes de séchage entre l'étuve et le système de barbotage.
- 4.6. Dessiccateur, garni de gel de silice fraîchement activé (ou d'un dessiccant équivalent) et muni d'un indicateur d'humidité.
- 4.7. Balance analytique.

5. MODE OPÉRATOIRE

5.1. Préparation des capsules

Placer les capsules et leurs couvercles, propres, séchés et vides (point 4.1) dans une étuve à vide (point 4.3) réglée à 102 ± 2 °C pendant une heure. Les couvercles doivent être placés à côté des capsules pour que toutes les surfaces soient exposées au séchage.

Sortir les capsules et les couvercles de l'étuve et les placer dans un dessiccateur (point 4.6). Laisser refroidir et peser la capsule avec son couvercle à 0,1 mg près (M_0).

5.2. Prise d'essai

Enlever le couvercle de la capsule préparée (point 5.1). Introduire aussi rapidement que possible environ 3 g d'échantillon dans la capsule et le répartir uniformément au fond. Recouvrir la capsule de son couvercle et peser l'ensemble à 0,1 mg près (M_2). Si l'on doit effectuer plus d'une pesée, placer les capsules recouvertes dans le dessiccateur jusqu'à ce que tous les échantillons aient été pesés et soient prêts à être placés dans l'étuve.

- 5.3. Placer la capsule et son couvercle dans l'étuve à vide, séparément (point 4.2).
- 5.4. Fermer l'étuve et réduire lentement la pression (au moins 2 à 2 minutes et demie) jusqu'à $5,0 \pm 0,1$ kPa.
- 5.5. Laisser l'air sec pénétrer lentement dans l'étuve à travers le système de colonnes et de barbotage (point 4.5) au rythme d'environ une bulle par seconde comme ce qui est observé dans le liquide du système de barbotage.
- 5.6. Sécher dans l'étuve à vide à 70 ± 1 °C pendant $16 \pm \frac{1}{2}$ heures en maintenant le courant d'air.
- 5.7. À la fin de la période de séchage, laisser l'air entrer lentement dans l'étuve (2 à 3 minutes) pour éviter toute turbulence qui pourrait entraîner la perte d'une partie de l'échantillon contenu dans la capsule. Replacer le couvercle sur la capsule correspondante; introduire la capsule couverte dans le dessiccateur (point 4.6) et laisser refroidir à température ambiante.
- 5.8. Peser à 0,1 mg près la capsule munie de son couvercle et son contenu (M_1).

6. EXPRESSION DES RÉSULTATS

6.1. Formule et mode de calcul

La teneur en matière sèche calculée en pourcentage de la masse de l'échantillon préparé, est donnée par:

$$\frac{M_1 - M_0}{M_2 - M_0} \times 100$$

où:

M_0 = masse de la capsule munie de son couvercle séché,

M_1 = masse de la capsule munie de son couvercle et de la prise d'essai après séchage,

M_2 = masse de la capsule munie de son couvercle et de la prise d'essai avant séchage.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des résultats des deux déterminations, en s'assurant que la répétabilité (point 6.2) est satisfaisante.

6.2. Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations, effectuées simultanément ou immédiatement l'une après l'autre sur le même échantillon, par le même analyste et dans les mêmes conditions, ne doit pas excéder 0,06 g par 100 g d'échantillon.

MÉTHODE 3: DÉTERMINATION DE LA TENEUR EN MATIÈRE SÈCHE

1. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet de déterminer la teneur en matière sèche de:

- extrait de café liquide,
- extrait de chicorée liquide,
- extrait de café en pâte,
- extrait de chicorée en pâte.

2. DÉFINITION

Teneur en matière sèche: teneur en matière sèche telle qu'elle est déterminée par cette méthode.

3. PRINCIPE

Des prises d'essai d'échantillons sont mélangées à du sable de mer, puis séchées pendant 16 heures dans une étuve à vide à une température de 70 °C et une pression de 5 kPa. La masse résiduelle est calculée en pourcentage de la masse de l'échantillon.

4. RÉACTIFS

Sable de mer, lavé dans de l'acide puis de l'eau jusqu'à élimination de l'acide, puis calciné.

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Capsules de pesée, à fond plat, résistant à l'attaque de l'échantillon et aux conditions d'essai, ayant environ 80 mm de diamètre et munies de couvercles hermétiques.
- 5.2. Baguettes de verre dont la longueur est telle qu'elles peuvent reposer de tout leur long dans les capsules (point 5.1), par exemple de 50 à 75 mm de long.
- 5.3. Étuve à vide, à chauffage électrique, à température réglée à 70 ± 1 °C à l'aide d'un thermostat pour tout le volume de l'étuve, munie d'un thermomètre de précision agréé à 70 °C, indiquant la température au voisinage du plateau et d'une jauge indiquant la pression interne en kPa au-dessus de zéro.
La température interne de cette étuve doit être uniforme. Les plateaux doivent être construits et montés de façon à assurer une bonne transmission de la chaleur aux capsules (point 5.1).
- 5.4. Pompe à vide permettant l'obtention dans l'étuve à vide (point 5.3) d'une pression d'au plus 5,0 kPa.
- 5.5. Système de séchage constitué de deux flacons de lavage en verre remplis de glycérol de manière à former des bulles et deux colonnes de séchage en verre remplies de gel de silice fraîchement activé avec un indicateur d'humidité.
Le système de barbotage et le système de séchage sont reliés en série avec l'étuve à vide (point 5.3), et les colonnes de séchage entre l'étuve et le système de barbotage.
- 5.6. Dessiccateur, garni de gel de silice fraîchement activé (ou d'un dessiccant équivalent) et muni d'un indicateur d'humidité.
- 5.7. Balance analytique.
- 5.8. Bain d'eau, bouillant.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Préparation de la capsule de pesée

Placer 25 à 35 g de sable de mer (point 4) dans une capsule de pesée (point 5.1) avec une baguette de verre (point 5.2) et peser. Introduire la capsule avec le sable de mer, son couvercle et la baguette dans l'étuve à vide (point 5.3).

Le couvercle doit être posé à côté de la capsule pour que toutes les surfaces soient exposées au séchage.

Retirer la capsule et son contenu, ainsi que son couvercle, de l'étuve et l'introduire dans un dessiccateur (point 5.6).

Laisser refroidir et peser la capsule, son contenu et son couvercle à 0,1 mg près.

Répéter jusqu'à obtention d'un poids constant (M_0).

6.2. Prise d'essai

Enlever le couvercle de la capsule préparée (point 6.1). Introduire (aussi rapidement que possible) une portion d'échantillon contenant de la matière sèche correspondant à 0,1 à 1 g. Peser à 0,1 mg près la capsule, son contenu et la prise d'essai, et son couvercle (M_2).

6.3. Mélanger soigneusement le sable de mer et l'échantillon avec la baguette de verre (point 5.2). Si le mélange n'est pas bien effectué, ajouter un peu d'eau pour faciliter l'opération.

Réchauffer au bain d'eau (point 5.8) en agitant de temps en temps jusqu'à obtention d'un mélange sableux parfaitement homogène. Si le mélange tend à s'agglomérer ou à former une croûte, remuer ou fractionner constamment afin de prévenir toute agglomération.

6.4. Introduire la capsule munie de son couvercle dans l'étuve à vide séparément (point 5.3).

6.5. Fermer l'étuve et réduire lentement la pression (au moins 2 à 2 minutes et demie) jusqu'à $5,0 \pm 0,1$ kPa.

6.6. Laisser l'air sec pénétrer lentement dans l'étuve à travers le système de colonnes et de barbotage (point 5.5) au rythme d'environ une bulle par seconde comme ce qui est observé dans le liquide du système de barbotage.

6.7. Sécher dans l'étuve à air 70 ± 1 °C pendant $16 \frac{1}{2}$ heures en maintenant un courant d'air.

6.8. À la fin de la période de séchage, laisser l'air entrer lentement dans l'étuve (2 à 3 minutes) pour éviter toute turbulence qui pourrait entraîner la perte d'une partie de l'échantillon contenu dans la capsule. Replacer le couvercle sur la capsule correspondante et introduire la capsule couverte dans le dessiccateur (point 5.6) et laisser refroidir à température ambiante.

6.9. Peser à 0,1 mg près la capsule munie de son couvercle et son contenu (M_1).

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. Formule et mode de calcul

La teneur en matière sèche calculée en pourcentage de la masse de l'échantillon préparé, est donnée par:

$$\frac{M_1 - M_0}{M_2 - M_0} \times 100$$

où:

M_0 = masse de la capsule munie de son couvercle séché,

M_1 = masse de la capsule munie de son couvercle et de la prise d'essai après séchage,

M_2 = masse de la capsule munie de son couvercle et de la prise d'essai avant séchage.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des résultats de deux déterminations, en s'assurant que la répétabilité (point 7.2) est satisfaisante.

7.2. **Répétabilité**

La différence entre les résultats de deux déterminations, effectuées simultanément ou immédiatement l'une après l'autre sur le même échantillon, par le même analyste et dans les mêmes conditions, ne doit pas excéder 0,06 g par 100g d'échantillons.