MINISTERE DU COMMERCE

Arrêté du 23 Joumada El Oula 1435 correspondant au 25 mars 2014 rendant obligatoire la méthode de détection des agents colorants dans les viandes et les produits à base de viande par chromatographie en couche mince.

Le ministre du commerce,

Vu le décret présidentiel n° 13-312 du 5 Dhou El Kaada 1434 correspondant au 11 septembre 2013 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce ;

Vu le décret exécutif n° 05-465 du 4 Dhou El Kaada 1426 correspondant au 6 décembre 2005 relatif à l'évaluation de la conformité ;

Vu le décret exécutif n° 12-214 du 23 Joumada Ethania 1433 correspondant au 15 mai 2012 fixant les modalités d'utilisation des additifs alimentaires dans les denrées alimentaires destinés à l'alimentation humaine ;

Vu l'arrêté interministériel du 19 Chaoual 1417 correspondant au 26 février 1997 relatif aux conditions de préparation et de commercialisation des merguez ;

Vu l'arrêté du 24 Rabie Ethani 1421 correspondant au 26 juillet 2000, modifié et complété, relatif aux règles applicables à la composition et à la mise à la consommation des produits carnés cuits ;

Arrête :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire une méthode de détection des agents colorants dans les viandes et les produits à base de viande par chromatographie en couche mince.

Art. 2. — Pour la détection des agents colorants dans les viandes et les produits à base de viande par chromatographie en couche mince, les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet, doivent employer la méthode jointe en annexe du présent arrêté.

Cette méthode doit être utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 23 Joumada El Oula 1435 correspondant au 25 mars 2014.

Mustapha BENBADA.

ANNEXE

METHODE DE DETECTION DES AGENTS COLORANTS DANS LES VIANDES ET LES PRODUITS A BASE DE VIANDE PAR CHROMATOGRAPHIE EN COUCHE MINCE

1. DOMAINE D'APPLICATION

La présente méthode spécifie une technique de détection des agents colorants synthétiques solubles dans l'eau, dans les viandes et produits à base de viande par chromatographie en couche mince.

Les agents colorants suivants peuvent être détectés avec cette méthode :

- Tartrazine
- Jaune de quinoléine
- Jaune-orange FCF
- Amarante
- Ponceau 4R
- Erythrosine
- Bleu Patenté V
- Bleu indigo
- Noir brillant PN
- Noir 7984
- Vert malachite FCF
- Bleu VRS

2. TERME ET DEFINITION

Pour les besoins de la présente méthode, la définition suivante s'applique.

Détection des agents colorants

Détection de la présence ou de l'absence d'agents colorants conforme à la technique spécifiée dans la présente méthode.

3. PRINCIPE

Les agents colorants sont extraits d'une prise d'essai avec de l'eau chaude et absorbés sur une poudre de polyamide. Les agents colorants extraits sont purifiés par chromatographie sur colonne et les colorants sont élués de la colonne. Les agents colorants sont identifiés par chromatographie en couche mince.

4. REACTIFS

Sauf spécification contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

4.1 Eau, d'au moins qualité 3 ;

4.2 Ether de pétrole, intervalle d'ébullition 40 °C à 60 °C ;

4.3 Méthanol ;

4.4 Ammoniaque, solution aqueuse à 25 %, $p_{20} = 0,910$ g/ml ;

4.5 Acide acétique, fraction massique 100 %, $p_{20} = 1,050$ g/ml ;

4.6 Citrate trisodique dihydraté ;

4.7 Propane1-ol ;

4.8 Acétate d'éthyle ;

4.9 2- Méthyl-2-propanol ;

4.10 Acide propionique ;

4.11 Solution d'éluant pour chromatographie sur colonne.

Mélanger 95 volumes de méthanol (4.3) à 5 volumes d'ammoniaque (4.4).

4.12 Acide acétique, solution à 50 % dans du méthanol.

Mélanger 1 volume d'acide acétique (4.5) à 1 volume de méthanol (4.3) ;

4.13 Poudre de polyamide, taille des particules de 0,05 mm à 0,16 mm ;

4.14 Sable, à grains fins, lavé à l'acide chlorhydrique, neutralisé et calciné ;

4.15 Colorants étalons de référence

La pureté des colorants étalons risque de varier, il est donc nécessaire de connaître la pureté des colorants

NOTE : Les colorants alimentaires certifiés peuvent aussi être utilisés comme étalons.

4.16 Solutions étalons de référence pour chromatographie en couche mince.

Constituer avec de l'eau des solutions séparées de chacun des colorants étalons de référence (4.15) à une concentration de colorant étalon d'environ 1 g/l.

Préparer les solutions de bleu indigo le jour même de leur utilisation. D'autres solutions peuvent se conserver pendant, au moins, 3 mois lorsqu'elles sont stockées dans le noir (les solutions d'érythrosine se conservent pendant 1 mois).

4.17 Eluant pour chromatographie en couche mince : solution I.

Peser, à 0,1 g près, 25 g de citrate trisodique dihydraté (4.6) dans une fiole jaugée à un trait de 1000 ml. Dissoudre dans de l'eau, diluer avec de l'eau jusqu'au trait et mélanger.

Mélanger 80 volumes de cette solution de citrate à 20 volumes d'ammoniaque diluée (4.4) et à 12 volumes de méthanol (4.3).

De manière à éviter ou à réduire les perturbations dues au saffleur ou au safran, il est recommandé d'utiliser la solution chromatographique II (4.18).

4.18 Eluant pour chromatographie en couche mince : solution II.

Mélanger 6 volumes de propan-1-ol (4.7) à 1 volume d'acétate d'éthyle (4.8) et à 3 volumes d'eau.

4.19 Eluant pour chromatographie en couche mince : solution III.

Mélanger 50 volumes de 2-méthyl-2-propanol (4.9) à 12 volumes d'acide propionique (4.10) et à 38 volumes d'eau.

5. APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire et, notamment, les éléments suivants :

5.1 Equipement mécanique ou électrique capable d'homogénéiser l'échantillon pour laboratoire,

Ceci inclut une machine de découpe rotative à vitesse élevée et un hacheur équipé d'une plaque dont les ouvertures ont un diamètre inférieur ou égal à 4 mm.

5.2 Tubes de centrifugeuse, en verre, d'une contenance de 75 ml.

5.3 Fioles à fond plat, d'une contenance de 250 ml, à bouchon en verre rodé.

5.4 Fioles à fond rond, d'une contenance de 100 ml, avec rodage.

5.5 Centrifugeuse, fonctionnant avec une accélération radiale d'environ 2 000 *gn*.

5.6 Evaporateur rotatif

5.7 Colonne de chromatographie, en verre, équipée d'un filtre fritté et d'un robinet, longueur environ 20 cm, diamètre environ 30 mm, taille des pores du filtre de 40 μ m à 100 μ m.

Mettre de la laine de verre dans la colonne et ajouter 1 g à 2 g de sable (4.14).

5.8 Récipient en plastique, d'un volume d'environ 10 ml, avec couvercle.

5.9 Plaques de chromatographie en couche mince, recouvertes d'une couche de poudre cellulosique d'une épaisseur de 0,10 mm ou équivalent.

Des plaques du type prêtes à l'emploi peuvent être utilisées.

5.10 Micropipettes, d'une contenance d'environ 5 µl.

5.11 pH-mètre, précis à 0,1 unité de pH près.

6. ECHANTILLONNAGE

Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon qui soit réellement représentatif et n'ait pas été endommagé ou modifié lors du transport ou de l'entreposage.

Partir d'un échantillon représentatif d'au moins 200 g. Entreposer l'échantillon de manière à empêcher tout endommagement ou changement de composition.

7. PREPARATION DE L'ECHANTILLON POUR ESSAI

Homogénéiser l'échantillon à l'aide de l'équipement approprié (5.1). Veiller à ce que la température de la matière de l'échantillon ne s'élève pas au-dessus de 25 °C. Si l'on utilise un hachoir, faire passer l'échantillon dans l'équipement, au moins, deux fois.

Remplir un récipient approprié, étanche à l'air, avec l'échantillon préparé. Fermer le récipient et l'entreposer de manière à éviter tout endommagement ou changement de composition de l'échantillon. Analyser l'échantillon dès que les conditions pratiques le permettent, mais toujours dans un délai de 24 h après l'homogénéisation.

8. MODE OPERATOIRE

Remarques :

1. Si l'échantillon contient de l'indigo, la température ne doit, à aucun moment de l'analyse, dépasser 35 °C. Le bleu indigo se décompose partiellement dans la solution chromatographique I, c'est pourquoi on doit utiliser la solution II.

2. L'érythrosine est sensible à la lumière. Lorsque l'analyse se trouve interrompue, les solutions et les plaques doivent être entreposées dans le noir. Ceci est également valable pour l'indigo.

8.1 Prise d'essai

Peser, à 0,1 g près, 5 g de l'échantillon pour essai préparé (7) dans un tube de centrifugeuse (5.2).

Pour les échantillons gras, procéder conformément à (8.2).

Pour les échantillons non gras, procéder conformément à (8.3).

8.2 Echantillons gras

Ajouter environ 20 ml d'éther de pétrole (4.2) dans le tube de centrifugeuse et mélanger avec une baguette de verre. Décanter l'éther de pétrole.

Renouveler cette opération trois fois.

8.3 Echantillons non gras

Ajouter 25 ml d'eau bouillante (8) et mélanger.

Ajouter 25 ml de solution d'éluant (4.11).

Vérifier que le pH est de $9 \pm 0,5$ en utilisant le pH-mètre (5.11). Si ce n'est pas le cas, ajuster le pH avec de l'acide acétique (4.5) ou de l'ammoniaque diluée (4.4).

Bien mélanger. Mettre l'échantillon à refroidir dans un congélateur pendant 15 min (pour empêcher la turbidité).

Centrifuger (5.5) pendant 10 min avec une accélération radiale d'environ 2 000 *gn*.

Décanter la solution claire dans une fiole à fond plat (5.3). Pour le bleu indigo, utiliser une fiole à fond rond (5.4).

Ajouter 5 ml d'eau au tube de centrifugeuse contenant le résidu. Mélanger et ajouter 10 ml de solution d'éluant (4.11). Mélanger et centrifuger comme indiqué ci-dessus.

Renouveler l'opération jusqu'à ce que tout le colorant soit extrait de l'échantillon et combiner tous les extraits.

Evaporer l'extrait combiné sur un bain-marie jusqu'à environ 25 ml de manière à éliminer le méthanol. Pour l'indigo, utiliser une fiole à fond rond (5.4) et l'évaporateur rotatif (5.6) à 35 °C.

Ajouter 25 ml d'eau bouillante (8) et mélanger.

8.4 Transfert des colorants sur la poudre de polyamide

Avec l'acide acétique (4.5), ou l'ammoniaque diluée (4.4), ajuster le pH entre 4 et 5.

Ajouter 1 g de poudre de polyamide (4.13) à la solution tiède (8). Secouer vigoureusement pendant 1 min.

Laisser la poudre sédimenter.

Vérifier qu'il ne reste pas de colorant dans la solution. Si la solution est colorée, ajouter un peu plus de poudre de polyamide et secouer vigoureusement.

NOTE : Certains colorants naturels ne sont pas complètement absorbés par la poudre de polyamide, laissant une solution colorée même quand tous les colorants synthétiques ont été entièrement absorbés. Il est en général possible de décider en fonction du type d'échantillon si ces colorants naturels sont présents ou non.

Secouer et transférer la solution tiède en suspension dans la colonne de chromatographie (5.7).

Rincer la fiole à fond plat avec trois volumes d'eau chaude de 10 ml chacun (8) et ajouter les trois volumes de rinçage, un par un, à la colonne. Laver à nouveau la colonne à trois reprises avec des volumes d'eau chaude de 10 ml (8) et pour finir la laver à trois reprises avec trois volumes de méthanol (4.3) de 5 ml.

Si les colorants naturels sont élués, poursuivre le lavage de la colonne avec du méthanol (4.3) jusqu'à ce que le méthanol élué soit devenu incolore.

8.5 Elution et concentration des colorants isolés

Placer une fiole à fond rond (5.4) sous la colonne et éluer les colorants de la poudre de polyamide en utilisant des volumes de solution d'éluant (4.11) de 5 ml, à un débit d'élution de 2 ml/min, jusqu'à ce que le polyamide soit devenu incolore.

Evaporer l'éluat jusqu'à séchage complet à l'aide de l'évaporateur (5.6) à une température de 35 °C maximum (8)

Ajouter 1 ml ou 2 ml de solution d'éluant (4.11) en fonction de la quantité et du nombre de colorants, et dissoudre le résidu. Transférer la solution colorée dans un récipient en plastique (5.8).

8.6 Séparation chromatographique en couche mince

8.6.1 Plaques étalons de référence

Préparer trois plaques de chromatographie en couche mince étalons de référence. Avec une micropipette (5.10), déposer sur chacune des plaques (5.9) une goutte d'environ 5 µl (diamètre < 5 mm) de chaque solution étalon (4.16). Laisser celles-ci développer séparément, chacune des plaques avec un éluant chromatographique (4.17, 4.18 et 4.19), dans une cuve non saturée jusqu'à ce que le front du solvant se trouve à environ 10 cm à 12 cm de la ligne de départ. Retirer les plaques de la cuve et les sécher à l'air sous une cloche de protection. Entreposer les plaques dans le noir. Les gouttes, à l'exception de l'indigo, sont stables pendant plusieurs années.

8.6.2 Echantillons

Avec une micropipette (5.10), déposer sur une plaque de chromatographie en couche mince (5.9) une quantité juste visible de solution d'échantillon (8.5). Sécher avec un sèche-cheveux. Pour l'indigo, sécher à l'air.

Développer la plaque dans une cuve non saturée à une hauteur d'environ 10 cm à 12 cm en utilisant une solution chromatographique appropriée (4.17, 4.18 ou 4.19), c'est-à-dire la solution qui permet d'obtenir la séparation des colorants la meilleure dans l'échantillon (1).

Il est parfois nécessaire de préparer une deuxième plaque échantillon et de la développer dans l'un ou l'autre des éluants pour obtenir la séparation la meilleure possible.

Retirer la plaque de la cuve et la sécher à l'air sous une cloche de protection.

Comparer les gouttes d'échantillons à la plaque étalon de référence appropriée (8.6.1).

Il est recommandé d'utiliser différentes quantités de solutions d'échantillons dans le cas où les colorants sont mélangés, car les colorants en présence peuvent avoir des concentrations différentes.

Les produits résiduels sont en général provoqués par une purification inadéquate. Si tel est le cas, adsorber le colorant à nouveau avec l'absorbant, laver à l'eau chaude et éliminer l'absorbant comme décrit précédemment.

8.7 Confirmation

Confirmer l'identité des colorants par chromatographie du concentré (8.6.2) lorsque les étalons sont mélangés pour les colorants identifiés avec le premier chromatogramme.

En cas de doute, éluer le colorant de la plaque avec une solution neutre (eau ou éthanol, ou solution d'acétate d'ammonium à 0,2 g/l), un acide (acide chlorhydrique à 0,1 mol/l) et une solution alcaline (solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 mol/l) et comparer le spectre d'absorption du colorant à celui de l'étalon. Se reporter aux spectres d'absorbance des agents colorants cités en (1).