

## Chapitre V : Dosage des glucides

### V.1. Méthodes Lane-Eynon

C'est une méthode de titration pour déterminer la concentration de sucres réducteurs dans un échantillon. Une burette est utilisée pour ajouter la solution de glucides analysée dans un ballon contenant une quantité connue de solution de sulfate de cuivre bouillant et un indicateur de bleu de méthylène. Les sucres réducteurs de la solution glucidique réagissent avec le sulfate de cuivre présent dans le ballon. Une fois que tout le sulfate de cuivre en solution a réagi, tout ajout supplémentaire de sucres réducteurs fait passer l'indicateur du bleu au blanc. Le volume de solution de sucre nécessaire pour atteindre le point final est enregistré. La réaction n'est pas stoechiométrique, ce qui signifie qu'il est nécessaire de préparer une courbe d'étalonnage en réalisant l'expérience avec une série de solutions étalons de concentration connue en glucides.

### V.2. Méthode Munson et Walker

C'est une méthode gravimétrique pour déterminer la concentration de sucres réducteurs dans un échantillon. Les glucides sont oxydés en présence de chaleur et d'un excès de sulfate de cuivre et de tartrate alcalin dans des conditions soigneusement contrôlées, ce qui conduit à la formation d'un précipité d'oxyde de cuivre:



La quantité de précipité formé est directement liée à la concentration de sucres réducteurs dans l'échantillon initial. La concentration du précipité présent peut être déterminée gravimétriquement.

### V.3. Méthodes enzymatiques

Les méthodes enzymatiques permettent de doser spécifiquement chaque sucre. Elles nécessitent donc la mise en œuvre préalable de techniques analytiques qualitatives pour identifier le ou les sucres présents. Ces méthodes sont rapides, hautement spécifiques et sensibles aux faibles concentrations et sont donc idéales pour la détermination des glucides dans les aliments. De plus, peu de préparation d'échantillons est généralement requise. Les aliments liquides peuvent être testés directement, tandis que les aliments solides doivent d'abord être

dissous dans l'eau. Il existe de nombreux kits de dosage enzymatique qui peuvent être achetés dans le commerce pour effectuer une analyse de glucides spécifiques. Les fabricants de ces kits fournissent des instructions détaillées sur la façon d'effectuer l'analyse.

### V.3.1. Méthode D-glucose / D-fructose

Cette méthode utilise une série d'étapes pour déterminer la concentration de glucose et de fructose dans un échantillon. Premièrement, le glucose est converti en glucose-6-phosphate (G6P) par l'enzyme hexakinase et l'ATP. Ensuite, le G6P est oxydé par le NADP<sup>+</sup> en présence de G6P-déshydrogénase (G6P-DH).



La quantité de NADPH formée est proportionnelle à la concentration de G6P dans l'échantillon et peut être mesurée par spectrophotométrie à 340 nm. La concentration en fructose est ensuite déterminée en convertissant le fructose en glucose, en utilisant une autre enzyme spécifique et en répétant la procédure ci-dessus.

### V.3.2. Méthode Maltose/Sucrose

La concentration de maltose et de saccharose (disaccharides) dans un échantillon peut être déterminée après que la concentration de glucose et de fructose a été déterminée par la méthode précédente. Le maltose et le saccharose sont décomposés en leurs monosaccharides constitutifs par l'enzyme  $\alpha$ -glucosidase:



Les concentrations de glucose et de fructose peuvent ensuite être déterminées par la méthode précédente. Le problème majeur de cette méthode est que de nombreux autres oligosaccharides sont également convertis en monosaccharides par l' $\alpha$ -glucosidase, et il est difficile de déterminer avec précision quels oligosaccharides sont présents. Cette méthode n'est donc utile que lorsque l'on connaît le type de glucides présents, mais pas leurs concentrations relatives. Diverses autres méthodes enzymatiques sont disponibles pour déterminer la

concentration d'autres monosaccharides et oligosaccharides, par exemple le lactose, le galactose et le raffinose.

#### **V.4. Méthode polarimétrique**

Les molécules qui contiennent un atome de carbone asymétrique ont la capacité de faire tourner la lumière polarisée plane. Un polarimètre est un appareil qui mesure l'angle de rotation de la lumière polarisée plane lors du passage à travers une solution. Un polarimètre se compose d'une source de lumière monochromatique, d'un polariseur, d'une cellule d'échantillon de longueur connue et d'un analyseur pour mesurer l'angle de rotation. L'étendue de la polarisation est liée à la concentration des molécules optiquement actives en solution par l'équation  $\alpha = [\alpha] lc$ , où  $\alpha$  est l'angle de rotation mesuré,  $[\alpha]$  est l'activité optique (qui est une constante pour chaque type de molécule),  $l$  est la longueur du trajet et  $c$  est la concentration. L'angle de rotation global dépend de la température et de la longueur d'onde de la lumière utilisée et ces paramètres sont donc généralement standardisés à 20°C et 589,3 nm (la ligne D pour le sodium). Une courbe d'étalonnage d'une concentration en fonction de la concentration est préparée en utilisant une série de solutions de concentration connue, ou la valeur de  $[\alpha]$  est tirée de la littérature si le type de glucides présents est connu. La concentration de glucides dans un échantillon inconnu est ensuite déterminée en mesurant son angle de rotation et en le comparant avec la courbe d'étalonnage.

#### **V.5. Méthode réfractométrique**

C'est une technique qui vise à déterminer la partie réelle de l'indice de réfraction d'un matériau. L'indice de réfraction de l'eau par rapport à l'air est 1,330 à 20°C. Si l'on dissout une substance dans l'eau, du saccharose par exemple, l'indice de réfraction augmente ; l'indice de réfraction varie dans le même sens que la concentration de la substance dissoute. En raison de sa très grande facilité d'emploi, la mesure réfractométrique est utilisée couramment dans l'industrie sucrière pour doser directement des solutions de saccharose. Le réfractomètre est alors directement gradué en concentration de saccharose (saccharomètre). Le degré Brix est la mesure de la matière sèche soluble qui celle-ci s'exprime en pourcentage.

Dans le secteur de l'agroalimentaire le réfractomètre est couramment utilisé pour déterminer la teneur en sucre d'un milieu dit simple tel que les jus de fruits, le vin, confiture, etc. Dans ce cas la mesure observée est considéré comme étant égal à la teneur en sucres dans le milieu, soit

20°Brix = 20% de sucres dans le milieu, car pour ce type de milieu les minéraux et autres substances sont négligeables.

A l'inverse dans un milieu complexe, c'est-à-dire contenant de nombreux ingrédients, le degré Brix ne s'assimile pas au taux de sucres présents mais à la matière sèche soluble dans le milieu, car l'angle sera dévié par la présence d'autres éléments, minéraux ...

La mesure du degré Brix est fortement liée à la température car elle a une influence sur l'indice de réfraction. Généralement, les appareils de mesures ont une compensation automatique de la température, si ce n'est pas le cas il faut utiliser une table de correction.