

ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE (19)
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE



المملكة المغربية

المكتب المغربي
للملكية الصناعية والتجارية

(12) FASCICULE DE BREVET

(11) N° de publication :
MA 33013 B1

(51) Cl. internationale :
G01N 33/00; G01N 33/02

(43) Date de publication :
01.02.2012

(21) N° Dépôt :
32999

(22) Date de Dépôt :
07.07.2010

(71) Demandeur(s) :
UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH, Route d'Imouzzer B.P.2626 30000 FES (MA)

(72) Inventeur(s) :
LOTFI AARAB ; IBTISSAM OUAHIDI

(74) Mandataire :
ouahidi ibtissam

(54) Titre : **TROUSSE ANALYTIQUE POUR LA QUANTIFICATION DES GLIADINES DANS LES DENREES ALIMENTAIRES**

(57) Abrégé : **LA TROUSSE ANALYTIQUE DE QUANTIFIER DU TAUX GLUTEN DANS LES DENRÉES ALIMENTAIRES. CECI CONSTITUE UNE MÉTHODE DE DOSAGE QUI EST UN ÉLÉMENT IMPORTANT DANS LA DÉTECTION DU GLUTEN.**

Abrégé

LA TROUSSE ANALYTIQUE PERMET DE QUANTIFIER LE TAUX DU GLUTEN DANS LES DENRÉES ALIMENTAIRES. CECI CONSTITUE UNE MÉTHODE DE DOSAGE QUI EST UN ÉLÉMENT IMPORTANT DANS LA DÉTECTION DU GLUTEN

33013
01 FEV 2012

1- Introduction

Les produits alimentaires à risques sont faciles à reconnaître grâce à la nouvelle identification des allergènes.

La directive sur l'indication des ingrédients présents dans les denrées alimentaires est applicable dans toute l'Europe depuis le 25 novembre 2005. Celle-ci oblige les fabricants de produits alimentaires à indiquer sur l'emballage des produits alimentaires emballés les déclencheurs les plus fréquents d'allergies et d'intolérances alimentaires.

Outre 13 autres allergènes, les céréales contenant du gluten, c'est-à-dire froment, seigle, orge, avoine, épeautre vert, kamut ou autres hybrides, ainsi que les produits dérivés, doivent être indiqués sur l'emballage lorsqu'ils ont été sciemment utilisés pour la fabrication d'un produit alimentaire.

Les exigences pour les produits diététiques sans gluten sont déterminées pour le monde entier dans le Codex Standard pour les produits alimentaire sans gluten.

En 1996, il a été proposé de déterminer deux valeurs maximales : 20 ppm pour les produits alimentaires sans gluten fabriqués à partir de matières premières naturellement sans gluten et 200 ppm pour les produits alimentaires sans gluten fabriqués à partir de matières premières rendues sans gluten. Ces valeurs maximales, bien que n'ayant jamais été adoptées, ont été considérées pendant de nombreuses années comme les valeurs maximales de gluten.

En réponse à la demande de moyens de détection et de mesure du gluten de blé, de nombreuses techniques ont été développées, utilisant des principes tant physiques que chimiques : (le dosage de l'azote, l'électrophorèse des protéines ou de l'ADN, la chromatographie HPLC, la spectrométrie de masse). Cependant toutes ces techniques ne sont pas utilisables en routine pour des raisons de fiabilité ou de lourdeur (électrophorèse, chromatographie), de délai de réponse ou de coût d'analyse.

Le Codex Alimentarius recommande la méthode 991.19 de l'AOAC, utilisant les gliadines comme mesure du gluten dans les aliments.

Les différentes trouses de dosage sont d'origine internationale. Notre objet d'invention est de proposer une trousse concurrentielle pour la quantification du gluten dans les denrées alimentaires au profit des industriels et services de contrôle.

2- Présentation du Kit

SFQ-Gliadins est un test immunoenzymatique pour la quantification du gluten des farines dans les aliments.

Tous les réactifs nécessaires - y compris les étalons - pour le dosage sont contenus dans le Kit. Le test suffit pour 48 essais (étalons inclus).

Pour les échantillons contenant chocolat, café, cacao, ou tannin

a- Précaution d'utilisation et stockage

- La solution d'arrêt contient de l'acide chloridrique des précautions doivent être prises pour éviter des accidents
- Ne pas utiliser les produits du kit au delà du délai d'expiration
- Ne pas procéder à des dilutions des réactifs ce qui va diminuer la sensibilité du test
- Le kit doit être stocké à moins de 7°C
- Le substrat est sensible à la lumière. Au cours de son utilisation, gardez-le loin de toute source de lumière
- Toute coloration du substrat indique une détérioration de la solution qu'il est nécessaire de remplacer en contactant notre représentant.

4-Méthode de dosage

a- Préparation des échantillons

La préparation des échantillons requière de l'éthanol 70%.

- Echantillons liquides ou fluides : Yaourts ... etc.
Rajouter 1 ml de l'aliment à 9 ml de l'éthanol 70%
- Echantillons solides : biscuits sans gluten, ... etc.
Broyer finement puis peser 1 g de la poudre avec 10ml d'éthanol 70%
- Echantillons à base de viandes tel mortadelles
Suite à la distribution non homogène des gliadines dans ces produits, peser au moins 25 g et homogénéiser avec 250 ml d'éthanol 70%

Après homogénéisation des échantillons :

- Mélanger au vortex énergiquement pendant au moins 2x5 min
- Centrifuger à 3000 rpm pendant 10 min

- Diluer le surnageant au 1/50 dans la solution de dilution fournie dans le Kit (20 µl de surnageant + 980 µl PBS)
- Déposer 100 µl de chaque échantillon dans chaque puits de la plaque de microtitration

Remarque : Les surnageants peuvent être stockés jusqu'à un mois à moins de 10°C.

b- Réalisation du test

Réaliser une ELISA indirecte

Tous les réactifs doivent être mis à 37°C au moins 15 min avant utilisation.

Etape du test (Echantillon)	
Aliment à tester	100 µl
Incubation à 37°C, 30 min	
Lavage	
BSA	200µl
Incubation à 37°C, 15 min	
Lavage	
Anticorps 1	100 µl
Incubation à 37°C, 45 min	
Lavage	
Anticorps 2	100 µl
Incubation à 37°C, 45 min	
Lavage	
Substrat OPD	100 µl
Incubation à 37°C, 10 à 15 min	
Solution d'arrêt	50 µl

c- Expression des résultats

Les valeurs d'absorbances des étalons doivent être présentées sur un graphe en fonction de la concentration des gliadines en ppm ($\mu\text{g /Kg}$).

La concentration en gliadine des échantillons va être déduite du graphe.

Remarque :

- L'étalon 0 ppm doit donner une absorbance inférieure à 0,1. Toute valeur supérieure indique des lavages insuffisants.
- Tout échantillon donnant une absorbance supérieure à 2 nécessite une dilution supplémentaire.

Pour déterminer la teneur en gluten dans un aliment il faut multiplier d'abord par le facteur de dilution. Si vous suivez la procédure indiquée il faut multiplier par 500.

Sachant que 50% du gluten est estimé être des gliadines, il faut multiplier le résultat par un facteur 2.

Exemple de calcul :

- D'après la courbe, la concentration de gliadine déterminée est 5ppm
- La concentration en gliadine dans l'aliment est de 5×500 soit 2500 mg/Kg ou 2,5 g/Kg
- La teneur en gluten est $2,5 \times 2$ soit 5 g/Kg ou 0,5% de gluten

Revendications

- 1- la trousse analytique permet de quantifier le taux du gluten dans les denrées alimentaires. Ceci constitue une méthode de dosage qui est un élément important dans la détection du gluten
- 2- 2-La trousse analytique Selon (1), est caractérisée en ce qu'elle permet la réalisation de plusieurs tests dans plusieurs denrées alimentaires.
- 3- la trousse analytique Selon (1), est caractérisée en ce qu'elle permet la réalisation de test sur une seule denrée alimentaire et son suivi
- 4- La trousse analytique Selon (1), est caractérisée en ce qu'elle permet la réalisation du test sur plusieurs denrées alimentaire
- 5- La trousse analytique Selon (2,3,4) est définit en ce que le test soit utilisé pour le contrôle de qualité des aliments en ce qui concerne le taux de gluten
- 6- La trousse analytique Selon (2,3,4) est définit selon que test soit utilisé pour la détection du gluten dans les denrées alimentaires
- 7- La trousse analytique Selon (2,3,4) est définit selon que le test soit utilisé pour l'évaluation de l'efficacité des traitements en industrie agroalimentaire