



DIRECTION GÉNÉRALE DE LA PROTECTION DE LA SANTÉ

OTTAWA

**DÉTECTION DES MATIÈRES ÉTRANGÈRES DANS LA SPIRULINE,
LES PRODUITS D'ALGUES ET LES PRODUITS DE VÉGÉTATION MARINE**

M.-A. Rivers

**Division de la recherche, Bureau de dangers microbiens,
Direction des aliments, repère postale: 2204A2
Santé Canada, Ottawa (Ontario) K1A 0L2**

1. APPLICATION

Cette méthode s'applique à l'échantillonnage et à l'examen de la spiruline, des produits d'algues et des produits de végétation marine, opérations qui visent à vérifier s'ils contiennent des matières étrangères comme des insectes, des poils de rongeurs et des barbules de plumes, et à déterminer ainsi s'ils sont conformes aux articles 4, 5 et 7 de la Loi des aliments et drogues.

2. DÉFINITION

Le lot est la quantité (volume, poids, etc.) de l'aliment qui est produite, entreposée ou expédiée dans les conditions les plus uniformes possibles et désignée, de préférence sur chaque contenant, par une marque ou un code commun et, dans tous les cas, composée d'une seule variété, d'une seule catégorie ou d'un seul type de produit provenant d'une seule source identifiable.

3. ÉCHANTILLONNAGE

- 3.1 Examiner attentivement tout le lot afin de déceler toute infestation vivante. Il ne faut alors prélever les unités d'échantillonnage qu'après fumigation ou un autre traitement efficace.
- 3.2 Prélever au hasard dans le lot trois unités d'échantillonnage d'au moins 25 g chacune au moyen du matériel nécessaire et les déposer dans les contenants appropriés. Trois unités d'échantillonnage constituent un échantillon.
- 3.3 Il faut garder séparément chaque unité d'échantillonnage et lui attribuer un numéro de 1 à 3. Il faut consigner des renseignements complets sur la grosseur du lot, le poids de chaque contenant, le pays d'origine, l'exportateur, l'importateur, le fabricant canadien, le nom du produit, le numéro du lot, et les joindre à l'échantillon.

4. MATÉRIEL ET PRODUITS SPÉCIAUX

- 1) Balance
- 2) Deux béciers de 2,0 L avec couvercles (verres de montre)
- 3) Barreau d'agitateur magnétique lisse recouvert de téflon (1x5 cm)
- 4) Plaque chauffante à agitateur magnétique

- 5) Tamis standard américain n° 230
- 6) Plat peu profond d'au moins 20 cm de diamètre
- 7) Percolateur de 2 L, avec niveaux préindiqués de 250 ml et de 1700 ml
- 8) Flacons-gicleurs
- 9) Appareil de filtration sous vide muni d'un entonnoir Buchner ou Hirsch (plaque perforée de 5-7 cm)
- 10) Papier-filtre ligné. Le papier-filtre doit être plus grand que l'entonnoir (7-9 cm).
- 11) Boîtes de Pétri correspondant à la taille du papier-filtre utilisé
- 12) Spatule en caoutchouc fixée à une longue tige de verre
- 13) Microscope stéréoscopique (10-30x)
- 14) Papier-filtre sans cendre. Le papier-filtre doit être plus grand que l'entonnoir (7-9 cm).
- 15) Four à séchage (40-60 °C)
- 16) Creuset
- 17) Dessiccateur
- 18) Four à moufle
- 19) HC1 concentré
- 20) Alcool (éthanol à 95 %)
- 21) Huile minérale. Huile de paraffine, blanche, légère, viscosité universelle de Saybolt 125/135 (38 °C), densité relative 0,840-0,860 (24 °C)
- 22) Détergent (solution de laurylsulfate de sodium à 1 %)
- 23) Mélange (1:1) glycérol-alcool (95 %)
- 24) Chloroforme (CHCl₃)

5. MARCHE À SUIVRE

L'analyse doit se dérouler conformément aux instructions suivantes.

5.1 Préparation des unités d'analyse

5.1.1 Prélever au hasard 25 g sur une unité d'échantillonnage bien mélangée. Ces 25 g constituent une unité d'analyse.

5.1.2 Répéter l'étape 5.1.1 pour chacune des deux unités d'échantillonnage qui restent.

5.2 Isolement - Saletés légères - Spiruline

5.2.1 Déposer une unité d'analyse dans un bécher de 2 L.

5.2.2 Ajouter 600 ml d'eau et un barreau d'agitateur magnétique. Faire dissoudre les comprimés en chauffant doucement et en les agitant sur une plaque chauffante à agitateur magnétique (0-2 heures). Ajouter au contenu 18 ml de HC1 et faire digérer en faisant bouillir le mélange à

chaleur moyenne pendant 30 min sur une plaque chauffante à agitateur magnétique. Agiter constamment.

- 5.2.3 Vider le contenu du bécher dans un tamis n° 230. Laver le contenu du tamis avec un jet d'eau chaude du robinet (50-70 °C) jusqu'à ce que l'eau de lavage soit claire et qu'elle traverse librement la substance. Dégraisser de la façon suivante : déposer le tamis dans un plat peu profond, recouvrir le résidu d'environ 2 cm d'éthanol, laisser reposer pendant 5 min et égoutter. Répéter l'opération de dégraissage une fois. Mouiller la spiruline contenue dans le tamis jusqu'à ce que l'eau de rinçage soit claire. Utiliser de l'eau chaude (50-70 °C) pour faire passer le contenu du tamis dans le bécher initial et diluer jusqu'à environ 1 L.
- 5.2.4 Ajouter un barreau d'agitateur magnétique, 50 ml d'huile minérale et déposer sur une plaque chauffante à agitateur magnétique.
- 5.2.5 Faire agiter pendant 5 minutes à la vitesse maximale qui ne produit pas d'éclaboussures visibles ou audibles.
- 5.2.6 Verser sans tarder le contenu du bécher dans un percolateur contenant environ 250 ml d'eau. Utiliser de l'eau chaude du robinet pour rincer le contenu du bécher dans un percolateur. Bien en transférer tout le contenu, y compris les saletés lourdes. Ajouter de l'eau chaude du robinet au percolateur pour en porter le contenu à 1 700 ml.
- 5.2.7 Utiliser des flacons-gicleurs pour rincer dans un bécher les particules magnétiques qui adhèrent au barreau d'agitateur magnétique. Utiliser d'abord de l'eau, puis de l'alcool et, enfin, du détergent, jusqu'à ce que toutes les particules soient détachées. Filtrer les liquides de rinçage sur du papier-filtre ligné en utilisant un appareil de filtration sous vide. Déposer le papier-filtre dans une boîte de Pétri et humecter le papier avec un mélange glycérol-alcool.
- 5.2.8 Laisser reposer le contenu du percolateur pendant une minute et agiter délicatement plusieurs fois avec une longue tige de verre. Laisser le contenu reposer pendant quatre minutes encore.
- 5.2.9 Laisser écouler l'interface d'huile dans un bécher de 2 L jusqu'à ce que le percolateur ne contienne plus que 250 ml. Conserver le contenu du bécher pour la détermination des saletés lourdes.
- 5.2.10 Remplir de nouveau le percolateur en versant de l'eau froide du robinet sur ses parois pour détacher la matière qui y adhère.
- 5.2.11 Après 2 à 3 minutes, vider en partie le contenu du percolateur en laissant baisser le niveau jusqu'à 250 ml, jeter les eaux de rinçage et remplir pour répéter l'opération au moins deux autres fois. Après le remplissage, la couche du bas ne devrait contenir presque aucune matière en suspension. Si elle en contient encore, répéter l'opération au moins une fois.
- 5.2.12 Pour finir, laisser écouler l'interface huile-eau jusqu'à ce que le percolateur ne contienne plus que 250 ml et vider le liquide qui reste dans le bécher initial. Utiliser des flacons-gicleurs pour rincer sans tarder les parois du percolateur : utiliser successivement des volumes d'au moins 50 ml d'eau chaude du robinet, d'alcool et encore d'eau chaude du robinet. Utiliser du détergent au besoin.
- 5.2.13 Utiliser un appareil de filtration sous vide pour filtrer la solution sur du papier-filtre ligné. Utiliser au moins 50 ml d'eau chaude, d'alcool, et d'eau ou de détergent. Utiliser au besoin une spatule en caoutchouc pour nettoyer les parois du bécher.
- 5.2.14 Déposer des papiers-filtres dans des boîtes de Pétri et les humecter avec un mélange glycérol-alcool.
- 5.2.15 Répéter l'isolement pour les deux unités d'analyse qui restent.

5.3 Examen - Saletés légères - Spiruline

Examiner les papiers-filtres au microscope à 30x pour déterminer tous les types de matières étrangères présentes.

5.4 Inscription des résultats - Saletés légères - Spiruline : ExFLP-23

5.4.1 Consigner le nombre et l'échelle de grandeur des fragments d'insectes, de poils de rongeurs et de barbules de plume. Il faut le faire pour chaque unité d'analyse.

5.4.2 Consigner le nombre et l'échelle de grandeur de toutes les autres matières étrangères présentes. Il faut le faire pour chaque unité d'analyse.

5.5 Isolement - Saletés lourdes - Spiruline

5.5.1 Brasser le contenu du bécher conservé à l'étape 5.2.9 lors de l'isolement des saletés légères avec une spatule en caoutchouc pendant 30 secondes et laisser reposer la suspension sans la perturber pendant 30 minutes.

5.5.2 Décanter les substances alimentaires en suspension sans déranger celles qui sont au fond.

5.5.3 Ajouter au bécher 400-500 ml d'eau, brasser pendant 30 secondes et laisser reposer pendant 10 minutes.

5.5.4 Répéter les étapes 5.5.2 et 5.5.3 jusqu'à ce que les substances végétales aient été presque entièrement décantées.

5.5.5 En présence de saletés lourdes, ajouter 100-200 ml de CHCl_3 , brasser pendant 30 secondes, laisser reposer pendant 10 minutes et décanter ensuite la couche aqueuse (couche du haut) sans troubler ni verser l'interface CHCl_3 -eau.

5.5.6 Filtrer le contenu du bécher sur un papier-filtre prépesé, séché au four et sans cendres. Déposer le papier-filtre dans une boîte de Pétri.

5.6 Examen - Saletés lourdes - Spiruline

Examiner le papier-filtre au microscope à 30x afin de déterminer s'il contient des morceaux d'excréments de rongeurs, des excréments d'insectes, des larves d'insectes, des œufs d'insectes et d'autres contaminants organiques.

5.7 Inscription des résultats - Saletés lourdes - Spiruline : ExFLP-23

5.7.1 Consigner le nombre et l'échelle de grandeur de chaque type de saleté lourde isolée. Il faut le faire pour chaque unité d'analyse.

5.7.2 Faire sécher le papier-filtre au four et le peser. Calculer par différence le poids des saletés lourdes. Consigner ces renseignements.

5.7.3 S'il reste des résidus pour la peine, déposer le papier-filtre et son contenu dans un creuset prépesé et faire calciner dans un four à moufle à environ 500 °C pendant deux heures. Laisser refroidir dans un dessiccateur et peser. Calculer par différence le poids des cendres et consigner ce renseignement.

5.8 Isolement - Saletés légères - Produits d'algues

5.8.1 Procéder de la façon décrite en 5.2. À l'étape 5.2.4, ajouter 20 ml de HC1 concentré avec les 50 ml d'huile minérale. Suivre ensuite les instructions des étapes 5.2.5 à 5.2.15.

5.9 Examen - Saletés légères - Produits d'algues

Procéder de la façon décrite en 5.3.

5.10 Inscription des résultats - Saletés légères - Produits d'algues : ExFLP-23

Procéder de la façon décrite en 5.4.

5.11 Isolement - Saletés lourdes - Produits d'algues

5.11.1 Procéder de la façon décrite en 5.5, étapes 5.5.1 et 5.5.2.

5.11.2 Ajouter 500 ml d'une solution de HC1 à 25 %, mélanger pendant 30 secondes et laisser reposer pendant 10 minutes. Décanter la suspension.

5.11.3 Ajouter 500 ml d'une solution de HC1 à 25 %, mélanger pendant 30 secondes et laisser reposer pendant 5 minutes. Agiter vigoureusement et laisser reposer pendant 10 minutes. Décanter.

5.11.4 Continuer de la façon décrite aux étapes 5.5.5 et 5.5.6.

5.12 Examen - Saletés lourdes - Produits d'algues

Procéder de la façon décrite en 5.6.

5.13 Inscription des résultats - Saletés lourdes - Produits d'algues : ExFLP-23

Procéder de la façon décrite en 5.7.

5.14 Isolement - Saletés légères - Produits de végétation marine

Procéder de la façon décrite en 5.2. À l'étape 5.2.3, sauter l'étape du dégraissage. Suivre ensuite les instructions jusqu'à l'étape 5.2.15.

5.15 Examen - Saletés légères - Produits de végétation marine

Procéder de la façon décrite en 5.3.

5.16 Inscription des résultats - Saletés légères - Produits de végétation marine : ExFLP-23

Procéder de la façon décrite en 5.4.

5.17 Isolement - Saletés lourdes - Produits de végétation marine

Procéder de la façon décrite en 5.5.

5.18 Examen - Saletés lourdes - Produits de végétation marine

Procéder de la façon décrite en 5.6.

5.19 Inscription des résultats - Saletés lourdes - Produits de végétation marine : ExFLP-23

Procéder de la façon décrite en 5.7.

6. INTERPRÉTATION

6.1 Voir le tableau 2 du document « Direction générale de la protection de la santé. Sommaire des normes et des lignes directrices concernant l'innocuité », volume 1 du Compendium des méthodes pour l'analyse biologique, où l'on trouve les lignes directrices de la DGPS sur les différents types de substances étrangères dans la spiruline, les produits d'algues et les produits de végétation marine.

6.2 En cas de doute quant à l'acceptabilité du lot, communiquer avec la Division de l'évaluation, Bureau de dangers microbiens, Direction des aliments, Direction générale de la protection de la santé (téléphone : (613) 957-0349; télécopieur : (613) 952-6400).