



Licence Sciences et Techniques (LST)  
**TECHNIQUES D'ANALYSE CHIMIQUE ET CONTROLE  
DE QUALITE**

**TACCQ**

**PROJET DE FIN D'ETUDES**

**CONTROLE DE LA QUALITE CHIMIQUE DES ALIMENTS  
ET  
RECHERCHE DE LA COMPOSITION DES DENREES  
ANIMALES ET D'ORIGINE ANIMALES**

**Présenté par :**

◆ **AHOUANSOU. Sènamin.S.I.**

**Encadré par :**

- ◆ **Mr TARHZAZ. Aziz (LRARVF)**
- ◆ **Mr BERHILI. Farid (LRARVF)**
- ◆ **Pr BALI. Hamza (FST)**

**Soutenu Le 13 Juin 2011 devant le jury composé de:**

- **Pr : BALI Hamza**
- **Pr : EL GHADRAOUI El Houssine**
- **Pr : SOUHA Hammou**

**Stage effectué au Laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches**

**Vétérinaires de Fès (LRARVF)**

**Année Universitaire 2010 / 2011**

# **DEDICACE**

Je dédie ce modeste projet de fin d'études,

A mes parents, pour tous leurs efforts consentis à mon égard, leur amour, leurs sacrifices quotidiens, afin de me pousser toujours plus loin, de m'aider à préparer un avenir professionnel plein de succès.

A mon frère et mes sœurs, pour leur soutien fraternel, qu'ils sachent profiter de chaque moment de la vie pour viser le sommet.

A mes ami(e)s, mes compatriotes béninois qui m'ont soutenu de près ou de loin.

A tous ceux et toutes celles qui me tiennent particulièrement à cœur : Richi, Olivia, Toundé,...et les autres qui m'accompagnent toujours de leurs prières.

A tout le corps enseignant de la filière, dont son responsable M. Youssef KANDRI RODI, qui ont fait de leur mieux pour nous former, et nous enseigner avec beaucoup de patience et de pédagogie.

Que Dieu Tout Puissant vous bénisse.....

# **REMERCIEMENTS**

Avec tous mes respects, je remercie le laboratoire LRARVF, son Directeur général : Dr Lahcen ESSALEH et l'ensemble du personnel pour leur accueil chaleureux et leur sympathie.

Mes vifs remerciements s'adressent aussi aux messieurs Aziz TARHZAZ, responsable de l'unité Chimie-Bromatologie et Farid BERHILI : intérim responsable de la même unité, pour m'avoir accordé leur confiance et m'avoir accepté au sein de leur service. Grace à leurs explications très claires, leurs réponses précises à toutes mes interrogations, leur disponibilité et leur gentillesse, j'ai pu en effet assurer mes activités dans un environnement particulièrement favorable.

Je tiens aussi à remercier le Pr. Hamza BALI, mon encadrant de stage au sein de la FST, de m'avoir guidé, et orienté. Je lui exprime toute ma reconnaissance, pour sa patience, sa gentillesse et son aide capitale à la rédaction de ce PFE.

Enfin, je ne pourrai terminer sans inclure dans mes remerciements, les membres du jury. J'espère que mon travail sera à la hauteur de vos attentes.

# **SOMMAIRE**

INTRODUCTION

5

Chapitre I : PRESENTATION DU LRARF

6

I/ 1. Historique

7

I/ 2. Organisation générale et activités du LRARVF

8

I/ 3. Démarche qualité du Laboratoire

12

Chapitre II : DESCRIPTION DES TACHES REALISEES

13

II/ 1. Analyse de l'eau

15

II/ 2. Analyse du lait

16

II/ 3. Analyse du poisson

20

II/ 4. Analyse de la viande bovine

21

Chapitre III : EXPLOITATION DES RESULTATS

24

III/ 1. Résultats obtenus

25

III/ 2. Discussion et interprétation

26

CONCLUSION

29

ANNEXES

A/ *LISTE DES ABREVIATIONS*

30

B/ *LEXIQUE*

31

C/ *WEBOGRAPHIE*

32

# Introduction

---

Dans le but de compléter ma formation en licence professionnelle, j'ai effectué un stage au sein du laboratoire LRARVF, plus précisément dans l'unité de Chimie-Bromatologie. Situé à Fès et représentant régional de l'ONSSA, ce dernier est reconnu sur le plan national et même international pour la prestation de ses services dans le domaine du contrôle de qualité des produits alimentaires. C'est donc la raison pour laquelle mon choix s'est porté sur ce laboratoire.

Ce stage a donc été pour moi l'opportunité d'appréhender quelques causes d'intoxication alimentaires, de comprendre davantage le lien étroit qui existe entre la composition chimique d'un aliment et sa qualité, aussi bien nutritionnelle que sanitaire.

Après mon intégration rapide dans le service, j'ai eu l'occasion de réaliser plusieurs tâches qui ont constitué une mission de stage globale. Chacune de ces tâches est utile et indispensable à l'établissement du critère de qualité de certains aliments.

Au sein de l'unité Chimie-Bromatologie, mon stage consistait essentiellement en l'analyse chimique des différents échantillons de produits que nous recevions. Selon les demandes d'analyses formulées par les particuliers, nous devrions leur fournir les résultats d'analyses attendues, en se servant des outils requis pour chaque type d'échantillon.

En vue de rendre compte de mon séjour passé au sein de l'entreprise LRARVF, il apparaît logique de présenter dans :

- Une première partie ce laboratoire c'est-à-dire, son historique, son organisation générale (un bref aperçu sur leurs activités) ainsi que la démarche qualité du laboratoire.
- Une deuxième partie, je décrirai la méthodologie employée pour effectuer chacune des tâches qui m'ont été confiées.
- Enfin, je ferai une petite analyse des résultats obtenus, suivie d'une discussion et une Conclusion générale.

# CHAPITRE I

---

## **Présentation du LRARVF**

## **I / 1. Historique**

Le Laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches Vétérinaires de Fès (LRARVF) est le représentant régional de l'ONSSA (Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires) à Fès. La dite office a été fondée dans le cadre de l'application du plan « Maroc vert ».

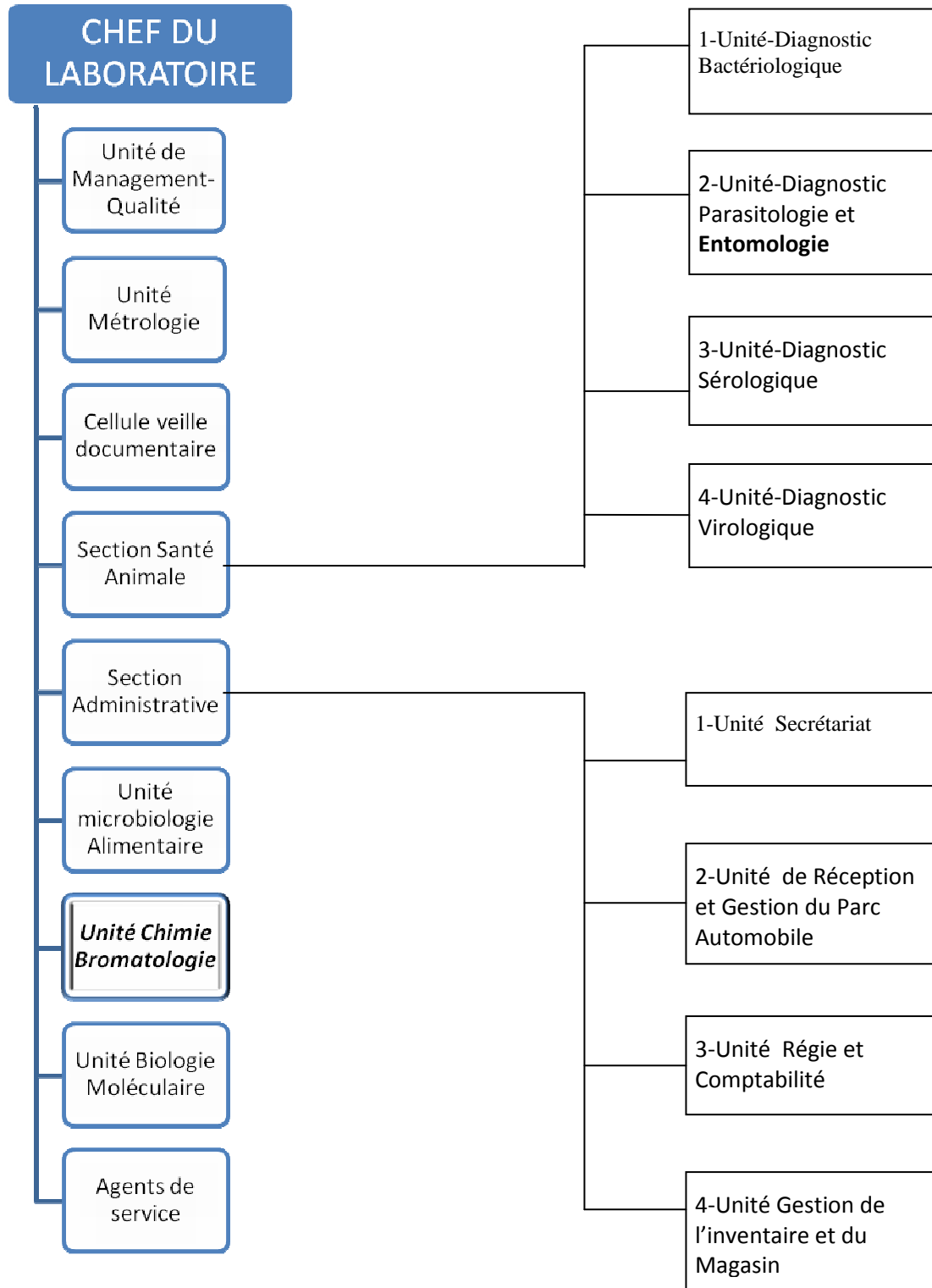
Ainsi donc, la création du LRARVF, a pu répondre à la nécessité de mise en place d'un système efficace de contrôle pour garantir aux consommateurs l'**innocuité** et la qualité des produits alimentaires, puis de promouvoir les échanges commerciaux des marchandises entre pays.

Au départ, les analyses effectuées par le LRARVF étaient uniquement portées sur les produits d'animaux et d'origine animale, mais depuis peu, leurs analyses se sont étendues également aux produits végétaux, afin de limiter les pertes du rendement agricole destiné à l'alimentation humaine ou animale et qui sont dues :

- aux organismes nuisibles (virus, bactéries, insectes, mauvaises herbes, champignons...),
- à l'utilisation de certains pesticides et **intrants chimiques**.

## *I / 2. Organisation générale et activités du LRARVF*

Le LRARVF possède un organigramme bien détaillé qui se présente comme suit :





Avec cet organigramme, il est aisé de percevoir la complémentarité qui existe entre les différentes unités du laboratoire. Afin de mieux cerner cette complémentarité, voici les différentes activités qui se font au LRARVF :

### Activités du laboratoire par section :

#### . Section santé animale :

La section Santé Animale, qui se compose de l'unité Diagnostic Bactériologique, de l'unité Parasitologie – Entomologie, de l'unité Diagnostic de la Rage, et de l'unité Sérologie-Immunologie. Elle assure le diagnostic **étiologique** des maladies animales, d'origine parasitaire, bactérienne, ou virale.

#### ✓ **L'unité de Diagnostic Bactériologique a pour activités :**

- L'autopsie des animaux (volailles, lapins, carnivores et petits ruminants),
- Les recherches microbiologiques,
- Les réalisations des Antibiogrammes.

#### ✓ **L'unité de Parasitologie / Entomologie a pour activités :**

- **Les** recherches et le dénombrement des parasites chez les animaux,
- Le triage et l'identification des **culicoides**

#### ✓ **L'unité de Sérologie- Immunologie a pour activités :**

- Le diagnostic sérologique des maladies animales d'origine bactérienne ou virales,
- Le dépistage sérologique des maladies animales lors des opérations de l'INDH,
- Les enquêtes séro-épidémiologiques au niveau de la zone d'action du Laboratoire.

#### ✓ **L'unité de Diagnostic Virologique a pour activités :**

- **Le** diagnostic expérimental de la Rage
- La préparation des prélèvements destinés à la recherche de **l'influenza aviaire**

### . Section hygiène alimentaire .

La section hygiène alimentaire, qui se compose de :

- l'unité microbiologie alimentaire,
- l'unité chimie-toxicologie qui assure le contrôle de la qualité microbiologique et chimique des denrées animales et d'origine animale.

#### ✓ L'unité de Microbiologie Alimentaire a pour activités :

- Les recherches et les dénombrements des germes pour le contrôle microbiologique des aliments animales et d'origine animale,
- La recherche des résidus dans les viandes par l'activité antibactérienne selon la méthode des 4 boîtes.

#### ✓ L'unité de Chimie -Toxicologie a pour activités :

- Le contrôle de la qualité chimique des aliments et la recherche de la composition des denrées animales et d'origine animale (lait et produits laitiers ; viandes et produits carnés ; conserves et semi-conserves ; eaux ; aliments des animaux .....),
- La recherche des résidus de sulfamides dans les viandes par chromatographie sur couche mince.

### . Section Qualité- Métrologie .

La section qualité- métrologie, qui est chargée de la mise en place du système management de qualité selon la norme NM ISO 17025.

***N.B. : Compte tenu du fait que mon stage a été exclusivement réalisé au service de Chimie-bromatologie, il convient de la présenter aussi.***

#### ✓ L'unité de Chimie – Bromatologie .

Les premiers jours de mon stage, étaient pour me familiariser avec le milieu qui comprend : Trois locaux, dont un bureau principal et deux salles techniques contenant les différents appareils.

Notons que dans cette unité, chaque appareil est étiqueté (pour certains il a été affiché au mur, le mode d'emploi, sécurité, contrôles pratiques, précautions à prendre ...), tout ceci afin de pouvoir assurer une bonne manipulation.

J'ai également consulté brièvement le document du « plan qualité » du laboratoire, dont l'objectif est d'expliciter :

- les dispositions spéciales prises par l'unité,
- les moyens mis en œuvre pour construire, gérer, assurer la qualité des prestations et constituer en outre, un support d'organisation de l'unité.

## **I / 3. Démarche qualité du Laboratoire**

Le laboratoire est un service de contrôle et d'inspection de l'ONSSA. Il se doit donc de démontrer sa compétence, sa fiabilité et sa crédibilité auprès des instances internationales, des partenaires et des citoyens.

Pour cela, le laboratoire a choisi de s'inscrire dans un processus de performance et d'amélioration continue à travers la mise en place d'un système qualité et d'une culture, reposant sur des valeurs communes à toutes les structures de contrôle, à savoir :

- L'indépendance, l'impartialité, l'intégrité, et l'objectivité,
- La compétence et le professionnalisme,
- Le sens du service public,
- L'esprit d'équipe.

D'où le respect de la charte du personnel qui comprend les articles suivants :

- Article 1 : Respect du principe d'intégrité**
- Article 2 : Respect du principe d'impartialité**
- Article 3 : Avoir le sens du service public**
- Article 4 : Observer avec rigueur la règle professionnelle de confidentialité et de réserve**
- Article 5 : Observer les dispositions relatives à la communication externe**
- Article 6 : Avoir un bon comportement**
- Article 7 : Connaître et appliquer les dispositions du système qualité**
- Article 8 : Respect des règles d'hygiène et de sécurité**
- Article 9 : Responsabilité environnementale**
- Article 10 : Traitement des réclamations**

# CHAPITRE II

**Description des tâches réalisées**

Comme on l'a mentionné plus haut, les activités de l'unité de chimie-bromatologie sont variées et consistent à déterminer la composition chimique, à travers les analyses faites sur les produits aussi bien d'origine animale que d'origine végétale.

Les analyses effectuées durant la période de stage concernent exclusivement les produits d'animaux et d'origine animale.

Pour chaque échantillon reçu, il existe une « fiche de transmission des prélèvements ». Sur cette fiche, sont inscrites les informations suivantes :

- la réception du prélèvement (date de réception, heure...)
- le cadre de la demande (autocontrôle ou contrôle)
- l'identification du produit soumis à l'essai (n° du laboratoire, nature du prélèvement, n° de lot, marque du produit...)
- les analyses demandées
- les méthodes d'analyses (documents de référence)

De la même manière, après que les analyses aient été réalisées, il existe une autre fiche appelée « fiche de paillasse » servant à noter les résultats d'analyse. Elle est en quelque sorte la fiche d'identité de l'échantillon à analyser. Sur cette feuille, sont notées les différentes analyses auxquelles l'échantillon a été soumis.

Toutes ces précautions prises permettent de garantir la traçabilité des échantillons ainsi que la qualité des analyses faites.

## II / 1. Analyse de l'eau

Les échantillons d'eau reçus proviennent souvent des eaux de puits ou des eaux superficielles terrestres que certains éleveurs utilisent pour l'alimentation de la volaille. Ces eaux doivent répondre à certains critères et doivent être exemptes de toxicité pour la volaille. Pour cela, les analyses effectuées sont les suivantes :

- ▶ **Détermination du pH** (par la méthode électrochimique),
- ▶ **Dosage des chlorures** (par la méthode Charpentier-Volhard ou la méthode de Mohr),

Principe de la méthode de Charpentier-Volhard : Les chlorures d'un volume connu sont précipités en présence d'acide nitrique par un excès de nitrate d'argent titré. L'excès de sel argentique est déterminé par une solution titrée de sulfocyanure d'ammonium en présence d'alun de fer.

Principe de la méthode de Mohr : Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

- ▶ **Dosage des nitrates** (par la méthode du salicylate de sodium),

Principe de la méthode du salicylate de sodium : Les ions ( $\text{NO}_3^-$ ) nitrates avec le salicylate de sodium forment un composé qui est le « paranitro salicylate de sodium », de couleur jaune et qu'on peut doser par colorimétrie.

- ▶ **Dosage des nitrites** (par la méthode du réactif de zambilli),

Principe de la méthode du réactif de zambilli : L'acide sulfanilique en milieu chlorhydrique, en présence d'ion ammonium et de phénol forme avec les ions ( $\text{NO}_2^-$ ) un complexe coloré en jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en nitrites.

- ▶ **Dureté de l'eau** (par le dosage complexométrique de l'EDTA).

## **II / 2. Analyse du lait**

Les échantillons de lait sont sous diverses formes : crus, pasteurisés, ou fermentés... .

Selon les analyses demandées, on détermine :

- ▶ La teneur en azote (par la **méthode Kjeldhal**)

*Principe de la méthode de Kjeldhal :* Minéralisation d'une prise d'essai avec un mélange d'acide sulfurique concentré et de sulfate de potassium, en utilisant du sulfate de cuivre (II) comme indicateur pour convertir ainsi l'azote organique présent en sel d'ammonium. La fonction du sulfate de potassium utilisé, est d'élever le point d'ébullition de l'acide sulfurique et de permettre d'obtenir un mélange oxydant plus fort pour la minéralisation). Addition d'hydroxyde de sodium excédentaire au minéralisât refroidi pour libérer de l'ammoniac. Distillation de l'ammoniac libéré dans un excédent de solution d'acide borique, puis titrage en utilisant de l'acide chlorhydrique. Calcul de la teneur en azote à partir de la quantité d'ammoniac produite.

- ▶ La teneur en matière grasse (par la méthode acido-butyrométrique dite de Gerbert)
- ▶ Le mouillage (par la méthode cryoscopique)
- ▶ L'extrait sec total (par l'étuvage)

### **2. a - Détermination de la teneur en matière grasse du lait par la méthode acido-butyrométrique(Gerbert)**

D'après la norme marocaine NM 08.4.008, cette méthode est applicable au lait entier, et partiellement écrémé. Avec de légères modifications, elle est également applicable au lait contenant les conservateurs autorisés (dichromate de potassium, bromophénol).

Mais elle ne s'applique ni au lait formolé, ni au lait ayant subi un traitement d'homogénéisation.

Nous allons prendre le cas de trois échantillons respectifs :

- le lait pasteurisé,
- le lait fermenté à l'arôme de banane,
- le lait fermenté à l'arôme de fraise.

Ces échantillons devaient être analysés dans l'intention d'infirmier ou confirmer la teneur en matière grasse selon les indications de l'emballage.

Après avoir procédé à l'étalonnage et à la vérification du matériel :

- Mettre les échantillons dans une étuve entre 35°C et 45°C pendant quelques minutes pour faciliter la liquéfaction et l'homogénéisation de la matière grasse.



- Numéroté les 4 butyromètres de GERBERT (le premier pour le témoin, et les trois autres, pour les échantillons).
- Dans les trois derniers butyromètres, on introduit :
  - \* 10 ml d'acide sulfurique,
  - \* 1 ml du lait (échantillon),
  - \* 1 ml d'alcool amylique.
- Dans le premier butyromètre (témoin), on utilise 1 ml d'eau distillée au lieu du lait.
- Agiter horizontalement jusqu'à dissolution complète du contenu du butyromètre et homogénéiser par simple retournement.

**NB : Attention a une éventuelle casse ou perte du bouchon du butyromètre car la réaction est exothermique.**

- Installer les butyromètres dans une centrifugeuse à butyromètre, en prenant soin de les disposer l'une en face de l'autre pour qu'il y ait un certain équilibre.
- Après 5 minutes, retirer les butyromètres, les refroidir rapidement sous un jet d'eau froide, et lire le pourcentage de la matière grasse.

## **2. b - Détermination du mouillage du lait par cryoscopie**

Cette opération va concerner uniquement le lait pasteurisé de départ.

Un lait mouillé est un lait auquel on a ajouté de l'eau. Le point de congélation du lait est inférieur à celui de l'eau distillée (il est en moyen de  $- 0,55 \text{ C}^\circ$ ) ; Plus ce point de congélation se rapproche de celui de l'eau ( $0 \text{ C}^\circ$ ), plus elle est grande la quantité de l'eau qui a été ajoutée.

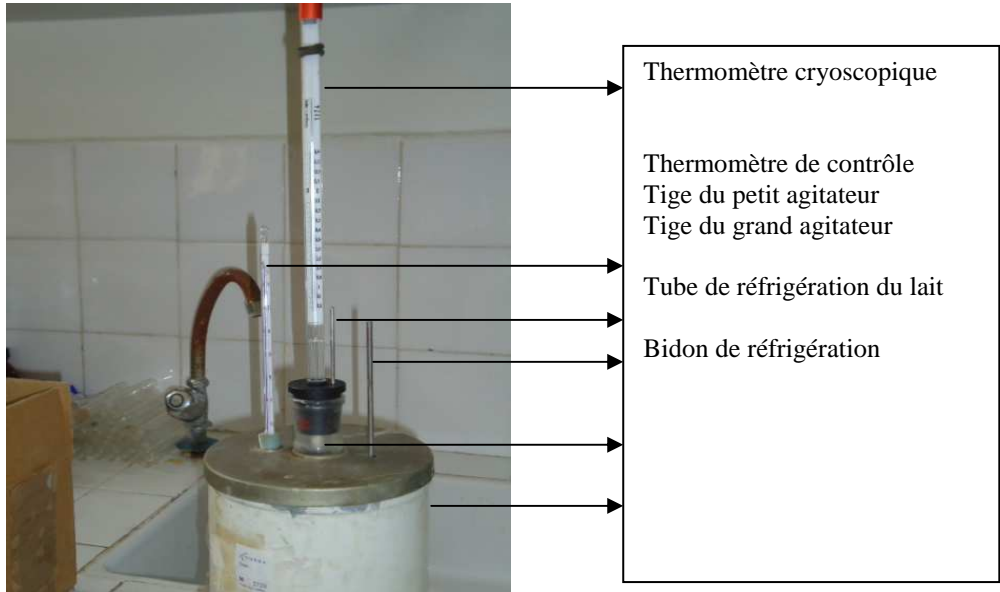
La norme marocaine NM ISO 5764-2000, décrit la méthode pour la détermination du point de congélation :

- Verser des glaçons dans la moitié du bidon de réfrigération d'un cryoscope de Gerbert.
- Mettre une ou deux poignées de sel de cuisine, et remplir jusqu'au 2/3 avec l'eau de robinet,
- Introduire la tige du grand agitateur dans l'ouverture relative du couvercle et mettre celui-ci avec l'agitateur sur le bidon,
- Introduire le thermomètre de contrôle avec le bouchon dans la forure correspondante du couvercle et veiller à ce que l'ampoule de mercure du thermomètre plonge dans la masse réfrigérante à travers l'opercule,

- Bien agiter la masse réfrigérante pour atteindre la température optimale de  $-7^{\circ}\text{C}$  pour le contrôle (si cette température n'est pas atteinte, un contrôle parfait n'est plus garanti. Si elle est plus basse, il y a danger de sur-refroidissement).
- Remplir le tube de réfrigération de lait jusqu'au trait annulaire,
- Introduire le thermomètre cryoscopique dans le bouchon jusqu'à ce que l'ampoule de mercure se trouve à quelque mm au-dessus du fond du tube, et on place le petit agitateur dans le bouchon de telle façon que l'anneau inférieur encercle l'ampoule à mercure du thermomètre,
- Agiter sans arrêt la masse réfrigérante et le lait avec le grand et le petit agitateur jusqu'à ce que le mercure se soit retiré du récipient d'expansion supérieur dans le tube capillaire ; ce dernier (mercure) va baisser dans le tube capillaire et disparaître en bas pour peu de temps pour remonter ensuite. Lorsque le fil à mercure s'arrêtera définitivement, et que le lait aurait congelé, lire la température à l'échelle.
- Effectuer un blanc en utilisant de l'eau à la place de l'échantillon pour s'assurer que l'analyse a été réussie ( $0^{\circ}\text{C}$ ). La valeur lue est alors projeté sur le disque à calcul pour déterminer le taux de mouillage en %.



*Cryoscope de Gerbert standard et son disque calculeur pour le mouillage*



*Vue détaillée du cryoscope de Gerbert*

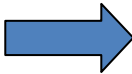
### **II / 3. Analyse du poisson**

Cette analyse consiste à déterminer le taux d'**histamine** contenu dans le poisson. En effet, l'histamine est un médiateur chimique qui résulte de la décarboxylation de l'histidine (acide aminé naturellement présent dans le poisson) par l'action des microorganismes. Cette histamine déjà présente même dans le poisson frais (en très petite quantité) intervient dans certaines manifestations allergiques, lorsqu'elle atteint un certain seuil. Par conséquent, l'histamine devient toxique.

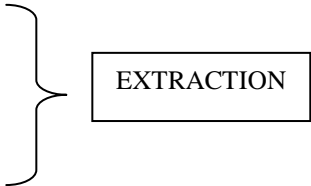
#### **Dosage de l'histamine par spectrofluorimétrie dans le poisson**

La Méthode spectrofluorimétrique de Lerk et Bell est décrite dans le « Manuel d'inspection et de contrôle des produits de la pêche » édité par la Division Vétérinaire de l'hygiène alimentaire de la Direction de l'Élevage en 1994.

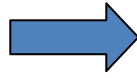
Broyage du muscle du poisson dans un Broyeur Stomacher



Filtration du broyat obtenu



Préparation de la résine échangeuse d'ions



Séparation et élution de l'histamine



PURIFICATION

Complexation par OPA



Détermination du taux d'histamine



LECTURE

Description du mode opératoire

## II / 4. Analyse de la viande bovine

Il s'agit ici de la détermination des résidus de **sulfamides** dans la viande bovine. Les sulfamides étaient autrefois utilisés comme additif antibiotique dans l'alimentation animale, mais depuis le 1er janvier 2006, leur utilisation a été interdite en raison du développement de l'**antibiorésistance** des microbes, du risque **nosocomial** et du cancer.

La présente méthode a pour objet la mise en évidence, avec présomption de leur identité, des résidus de divers sulfamides par chromatographie sur couche mince à haute performance (CCMHP)... Cette méthode est applicable aux viandes de bovins, porcins et ovins.

Elle permet de détecter les résidus de sulfamides à partir d'une concentration de 25µg/Kg environ. (La limite maximale de résidus actuellement retenue au niveau communautaire est de 100 µg/Kg pour tous les composés de groupes des sulfamides).

Elle sert de tri des échantillons avant la mise en œuvre éventuelle d'une méthode confirmative en cas de résultats positifs.... Selon l'organisme : AFSSA FOUGERE ; Les échantillons, conservés à une température de - 20°C environ, doivent être soumis à l'analyse dans les meilleurs délais après le prélèvement.

La détection de ces sulfamides nécessite leur extraction du muscle haché, par un solvant organique.

Après centrifugation, la phase organique est évaporée et le résidu (repris dans un autre solvant), est chromatographié sur plaque de gel de silice.

Après migration dans un solvant adéquat, un révélateur est pulvérisé sur la plaque qui est examinée visuellement sous une lumière UV ( $\lambda = 366$  nm). Les sulfamides apparaissent comme des taches jaune vert sur fond pourpre.

### **Détermination des résidus de sulfamides par CCM dans le muscle**

#### **d'animaux de boucherie**

L'échantillon de viande est divisé en deux parts égales dans deux différents sachets :

- l'une sera analysé,
- l'autre sera conservé au congélateur pour une future utilisation.

L'échantillon à analyser est d'abord broyé et ensuite :

- On pèse  $1\text{g} \pm 0.1\text{g}$  du broyat dans un tube à essai.
- On ajoute 2ml de dichlorométhane (Disperser de façon homogène le broyat dans le solvant).
- On agite 10 min dans un homogénéisateur (cuve à ultra-sons) qui permet de bien homogénéiser le contenu du tube à essai pour faciliter l'extraction des sulfamides.
- On centrifuge à 4500 tr/ min pendant 15 min dans une centrifugeuse réfrigérée pour qu'il y ait séparation des phases.
- On élimine soigneusement les phases supérieures aqueuses (couche fine d'hématies) et médiane solide (broyat du muscle).
- On récupère la phase organique dans un autre tube à essai et la faire évaporer durant 15 min dans un évaporateur sous flux gazeux (qui en exerçant une pression sous vide, avec une température de  $50\text{C}^\circ$  va faciliter l'évaporation de la phase aqueuse).

A la fin, il ne restera que des résidus concentrés au fond du tube.

- On récupère ces résidus avec  $250\ \mu\text{L}$  de méthanol à l'aide d'une pipette automatique.
- On remet ces derniers dans la cuve à ultra-sons pendant 10 min et on les fait passer de nouveau à l'évaporateur sous flux gazeux pendant 15min.

Un dépôt se forme alors au fond du tube avec un surnageant limpide et incolore. C'est ce surnageant qui contient les sulfamides.

L'analyse en chromatographie sur couche mince se fait selon le mode suivant :

- Préparer la **plaque HPTLC** (gel de silice) où se feront les dépôts, tout en réservant un point pour le dépôt de la solution d'histamine standard préparée d'avance.

Cette dernière (solution d'histamine standard) contient 5 mg de :

- sulfanilamide,
- sulfadimérazine,
- sulfadiazine,
- sulfadoxine

Ces compositions sont mises dans une fiole jaugée de 250ml, qu'il faut ajuster après avoir solubilisé l'ensemble dans le méthanal. Diluer cette solution au 1/50 dans du chloroforme (c'est la référence).

- Déposer 20 $\mu$ l de la phase organique du surnageant obtenu précédemment sur la zone de concentration de la plaque HPTLC. Les dépôts doivent être espacés d'au moins 8 mm et ne pas dépasser 5 mm de diamètre. Déposer également 10 et 20  $\mu$ l de la solution de référence correspondant respectivement à 2 et 4 nano-gramme de chaque sulfamide (au moins un dépôt par volume)

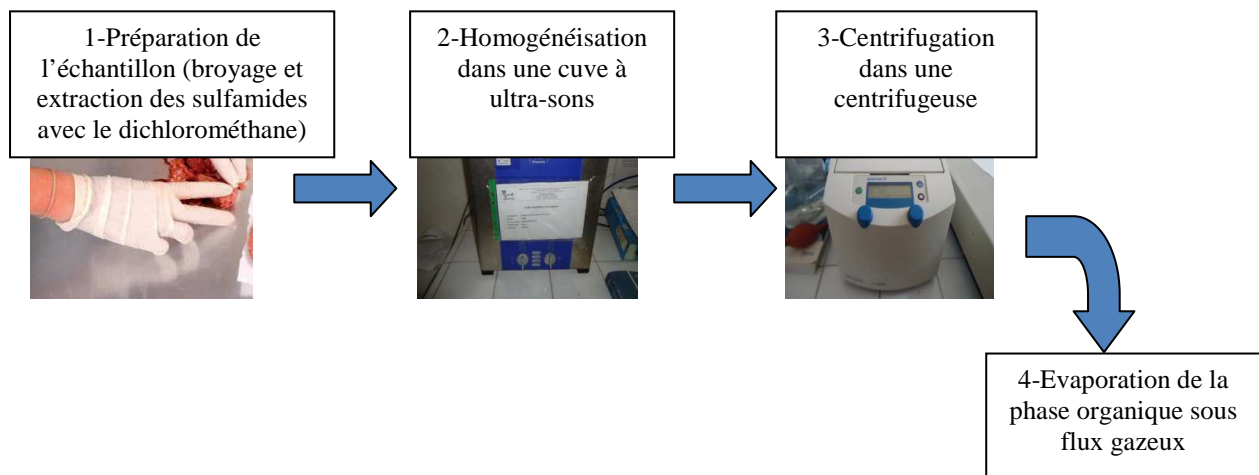
- La plaque est ramenée à température ambiante, dans une cuve contenant le solvant de migration (25ml de chloroforme + 12.5 ml de tétrahydrofurane) non nécessairement saturée

- Laisser migrer sur une distance d'environ 4cm et sécher ensuite la plaque.

- Procéder à la révélation en vaporisant la plaque avec une solution de fluorescamine, et déposer dans un milieu sombre (carton fermé) pendant 10 min.

- Observer les migrations sur la plaque dans une chambre UV. Les sulfamides donnent des taches jaune-vert sur fond violet.

Sur la prise correspondant au dépôt de 2 nano-gramme de chaque sulfamide par exemple, 4 taches correspondant aux 4 familles de sulfamides doivent être nettement distinguées ; sinon recommencer la pulvérisation. L'identité du (des) sulfamide(s) présent(s) sera présumé par comparaison des Rapports Frontaux (**R.F.**) des essais avec ceux des standards déposés ou avec ceux indiqués.



9-Observation de la migration des dépôts dans une chambre UV



8-Chromatographie sur CCM

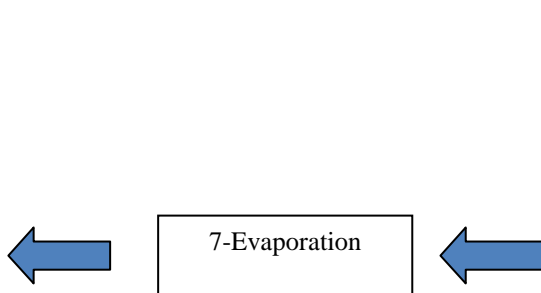


7-Evaporation

5-Récupération des résidus de sulfamide et homogénéisation



6-Centrifugation



# CHAPITRE III

## **EXPLOITATION DES RESULTATS**



### ***III / 1 .Résultats obtenus***

Suite aux différentes analyses réalisées sur les échantillons reçus, les résultats suivants ont été obtenus :

#### **ANALYSE DE L'EAU :**

	Valeur obtenue	Valeur max .admissible selon la norme NM 03. 7. 001 (2006)
pH par mesure au pH-mètre	7,54	6,5<pH<8,5
Chlorures par la méthode de Charpentier-Volhard (en mg de Cl <sup>-</sup> /l)	241,00	750
Nitrates par la méthode au salicylate de sodium (en mg de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l)	6,06	50
Nitrites par la méthode au réactif de zambili (en mg de NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /l)	0,115	0,5

#### **ANALYSE DU LAIT :**

	Taux de mouillage par cryoscopie en %	Valeur maximale admissible en %
Lait pasteurisé	4,00	8,00

	Matière grasse par méth. Acidobutyrométrique de Gerber (en %)	Indications selon l'emballage (en %)
Lait pasteurisé	2,80	3,00
Lait fermenté à la banane	1,80	1,5
Lait fermenté à la fraise	0,90	1,5

#### ANALYSE DU POISSON :

Après avoir tenu compte de toutes les dilutions faites pour faire les calculs, on obtient le Taux d'histamine en (mg/100g) par la méthode spectrofluorimétrique de Lerk et Bell : est de 1,92

La valeur de référence admise d'après l'espèce du poisson (taux d'histamine < 10mg/100g)

#### ANALYSE DE LA VIANDE BOVINE :

La détection des résidus de sulfamides dans le muscle d'animaux de la boucherie par la CCM nous donne :

Un Résultat Négatif

### **III / 2 .Discussion et interprétation**

- ✓ Pour l'analyse de l'échantillon d'eau, on peut constater que les résultats obtenus ne dépassent pas les valeurs autorisées par la NM. Par conséquent, on peut en déduire que l'eau analysée peut être utilisée pour l'alimentation de la volaille.
- ✓ Pour l'analyse des échantillons du lait, on peut remarquer que le lait pasteurisé n'est pas mouillé puisque le taux de mouillage (4%) est inférieur à celui de (8%) autorisé.

Donc ce lait possède un point de congélation normal, et n'a pas subi de fraude; (car l'ajout de l'eau au lait en période de haute lactation [printemps-été] est interdite).

Quant au pourcentage de matière grasse contenu dans chacun des échantillons, il faut se référer aux indications de composition fournies sur leurs emballages pour savoir si ces indications sont justes ou pas.

Dans notre cas, nous constatons qu'aucun des échantillons de lait (pasteurisé, fermenté à la banane, fermenté à la fraise) ne confirme les indications de l'emballage. Toutefois les résultats du lait pasteurisé et du lait fermenté à la banane sont tolérables. Alors qu'il s'agit d'une situation de non-conformité totale pour le lait fermenté à la fraise...

L'usine de transformation de ces échantillons de lait devrait revoir ses techniques de fabrication pour corriger les défauts liés à la non-conformité de ce produit.

- ✓ En ce qui concerne l'analyse du poisson, il faut noter que pour chaque espèce de poisson, il ya un seuil d'histamine à ne pas dépasser. Donc le seuil d'histamine toléré est propre à chaque espèce de poisson, et non à tous les genres de poisson.

Par exemple, dans les sardines, vu que la quantité d'histidine est élevée, cela fera que le seuil d'histamine autorisé sera plus élevé que celui du maquereau par exemple, où la quantité d'histamine est plus faible.

Notre échantillon est un poisson frais dont l'espèce est semblable à celle du maquereau. Son taux d'histamine est de 1,92mg /100g; ce qui est largement inférieur à la valeur maximale de 10mg/100g exigée par la NM....Il s'agit donc d'un poisson véritablement frais. Ce poisson peut être consommé normalement sans risque d'intoxication sur la santé humaine.

- ✓ Le dernier échantillon étudié est celui de la viande bovine (bœuf) et son analyse nous a donné un résultat négatif : ce qui veut dire qu'il y a absence de résidus de sulfamides (puisque aucune des 4 familles de sulfamide de référence n'a été retrouvée). Ainsi donc, on n'aura pas besoin de confirmer ou d'infirmer la présence des sulfamides par **Chromatographie HPLC**.

# Conclusion

---

Ainsi j'ai effectué mon stage de fin d'étude de la Licence Professionnelle en Techniques d'Analyses Chimiques et Contrôle de Qualité au sein du Laboratoire LRARVF. Lors de ce stage, j'ai beaucoup appris. J'ai pu mettre en pratique mes connaissances théoriques acquises durant ma formation, notamment celles des bonnes pratiques de laboratoire, des différentes méthodes d'analyses chimiques... En plus, avec mes notions en normes de certification, je me suis confronté aux exigences réelles du monde du travail et de tout ce qu'un service de qualité peut impliquer.

Au delà d'enrichir mes connaissances théoriques, mon stage m'a donné l'occasion de m'exercer davantage sur le plan des analyses chimiques qui se font au laboratoire. Il a été une expérience particulièrement enrichissante pour moi. Et cette expérience m'a permis d'apprécier et d'être fier de la formation que j'ai reçue.

Désormais lorsqu'on me demandera comment peut-on vérifier la qualité du lait, du poisson, de l'eau ou encore de la viande, je saurai répondre convenablement en faisant recours à cette première expérience professionnelle.

Je pense que cette expérience en laboratoire m'a offert une bonne préparation à ma future insertion professionnelle car elle fut pour moi un apprentissage enrichissant et pratiquement complet qui conforte mon désir d'exercer mon futur métier de « analyste qualitatif » dans le secteur de l'alimentation ou celle de la pharmaceutique.

La qualité des aliments n'est plus un sujet à polémique. Elle s'inscrit partout dans le cycle de la chaîne alimentaire. Et pour cela, le contrôle de la qualité chimique des aliments s'impose. Dans le but de satisfaire les besoins de la population en matière de qualité en alimentation, le rôle des analystes qualitatifs au sein des entreprises de consommation alimentaire à différentes échelles s'impose. Pour cela, ne serait-il pas nécessaire de promouvoir davantage ce domaine de formation qui est trop souvent ignoré des jeunes étudiants ?

Faisons donc passer le message et sensibilisons la jeunesse montante de nos différents pays....

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**AFSSA** : Agence française de sécurité sanitaire des aliments

**EDTA** : **acide éthylène diamine tétracétique**, est un acide diaminotétracarboxylique de formule  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ . Sa principale caractéristique est son fort pouvoir chélatant (ou complexant) par lequel il forme des complexes métalliques très stables

**HPLC (chromatographie)** : se dit de la chromatographie en phase liquide à haute performance

**HPTLC (plaque)** : Cette gamme de plaques utilise un gel de silice 60 optimisé Merck avec une taille de particules de 5-6  $\mu m$  seulement, pour une densité de sorbant plus élevée et une surface plus lisse afin de réduire la diffusion du dépôt. Les plaques HPTLC avec zone de concentration permettent l'application aisée de grands volumes d'échantillons dilués.

**INDH** : Initiative nationale pour le Développement Humain

**LRARVF** : Laboratoire Régional d'Analyses et de Recherches Vétérinaires de Fès

**NM ISO 17025** : Norme Marocaine ISO, relative aux "Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais", pour les laboratoires d'essais ou d'étalonnages

**ONSSA** : Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires

**R.F** : Rapport frontal

## LEXIQUE

**Antibiorésistance** : capacité d'une bactérie à ne pas être sensible à l'action d'un antibiotique.

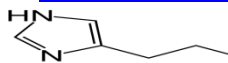
**Bromatologie** : science de l'analyse des aliments.

**Culicoides** : Moustique (cératopogonidé) à piqûre très douloureuse, agent vecteur de certaines maladies comme la toxoplasmose, arbovirose...

**Entomologie** : branche de la zoologie dont l'objet est l'étude des insectes.

**Etiologie** : étude des causes et des facteurs d'une maladie

**Histamine** : L'histamine est un médiateur chimique, elle est stockée dans les cellules et libérée dans des circonstances telles que les réactions d'hypersensibilité. Elle joue un rôle important dans les mécanismes de l'intolérance alimentaire, de l'allergie, de l'urticaire, des inflammations... et augmente pendant la réaction allergique.



Formule chimique de l'histamine

**Innocuité** : caractère de ce qui n'est pas nuisible.

**Influenza aviaire** : virus responsable de la grippe aviaire.

**Intrants** : différents produits apportés aux terres et aux cultures (engrais, semences...)

**Méthode de kjeldhal** : utilisée pour le dosage de l'azote de différents composés azotés tels les amines et les sels d'ammonium quaternaires. Quand l'azote est sous forme organique, il faut d'abord procéder à la minéralisation du composé pour passer à de l'azote minéral.

**Nosocomial** : chez les animaux, se dit d'une infection contractée à la suite de l'ingestion d'antibiotiques administrés sans raison valable.

**Sulfamide** : également appelé **amine sulfurique**, c'est un composé chimique de formule  $\text{SO}_2(\text{NH}_2)_2$ . Substance médicamenteuse ayant une action antibiotique.

## WEBOGRAPHIE

**Site de l'ONSSA** : disponible sur

<http://www.onssa.gov.ma/onssa/index.php>

**Formation de l'ABVT** : disponible sur

[http://www.bibliomer.com/documents/fiches/fiche\\_synthese\\_ABVT.pdf](http://www.bibliomer.com/documents/fiches/fiche_synthese_ABVT.pdf)

**Encyclopédie « Wikipédia »** : disponible sur

<http://fr.wikipedia.org/wiki/Encyclop%C3%A9die>

**Page de recherche GOOGLE** : disponible sur <http://www.google.fr/>