



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

**TACCQ**

**PROJET DE FIN D'ETUDES**

**Application de la méthode de Kjeldahl au contrôle de qualité du  
tourteau de soja**

**Présenté par :**

◆ **ZINEB TRIBAK**

**Encadré par :**

- ◆ **Mme A. MECHATTE**
- ◆ **Pr. IDRISSI KANDRI**

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

- Pr. N. IDRISSI KANDRI**
- Pr. A. BOUKIR**
- Pr. A. ZEROUALE**
- Mme. A. MECHATTE**

**Stage effectué à la société EL ALF**

**Année Universitaire 2010 / 2011**

# *Dédicace*

*Je voudrais dédier ce travail à mon cher père : tu vivras toujours dans mon cœur, à ma très chère ma mère : pour tes prières, à mes très chères sœurs : sara, Fatima et soukayna, ainsi que tous ceux et celles qui m'ont aidé à réaliser ce travail, et plus particulièrement à:*

*Mon encadrant Pr. Idrissi Kandri Noureddine*

*Mon encadrant de stage Mme Asmae Mechatte*

*Et à tout le personnel de la société EL ALF son exception.*

- **Remerciement :**

*Il m'est agréable de saisir l'occasion pour remercier Mr le Directeur général de la société EL ALF.*

*A l'échéance de ma période de stage je tiens à remercier mon encadrant P r .Idrissi kandri Noureddine ; qui m'a apporté le soutien dont j'avais besoin le long de déroulement de ce stage.*

*Je tiens également à remercier Mme Asmae Mechatte la responsable du laboratoire et Mme Ouafae mesewab la technicienne du laboratoire pour les renseignements qu'elles m'ont donnés, je les remercie pour leur coopération, leur encouragement et leur patience tout le long de ce stage.*

*Un grand merci à tout le personnel de l'entreprise EL ALF, chacun avec son nom qui m'ont aidé dans la collecte des informations.*

*Je remercie tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

### *Liste des figures*

**Figure 1 :** Composition moyenne d'un aliment.

**Figure 2 :** Procédé de fabrication.

**Figure 3 :** structure développée d'un acide aminé.

**Figure 4 :** Structures chimiques des vingt acides aminés.

**Figure 5 :** Indice de dispersion de protéines.

**Figure 6 :** Solubilité des protéines dans une solution de KOH.

## *Liste des tableaux*

**Tableau 1** : Quelques Exemples de matières premières.

**Tableau 2** : % en composition chimique moyenne de quelques tourteaux.

**Tableau 3** : valeur protéique moyenne (ruminants) des tourteaux(en% du produit sec).

**Tableau 4** : Valeur protéique moyenne de tourteau de soja (en % du produit sec).

**Tableau 5** : la teneur en protéine brutes.

**Tableau 6** : % de protéines en dispersion dans l'eau.

**Tableau 7** : % de protéines dans une solution de KOH.

# sommaire:

Introduction générale .....	1
Présentation de la société .....	2
Organigramme de la société.....	3

## Partie A : industrie alimentaire des aliments composés

I. Introduction.....	4
----------------------	---

<b>II. Les aliments pour animaux.....</b>	<b>5</b>
<b>II.1 procédé de préparation des aliments pour animaux.....</b>	<b>6</b>
<b>II.2 Les tourteaux.....</b>	<b>8</b>
<b>II.3 La composition chimique moyenne des tourteaux.....</b>	<b>9</b>
<b>II.4 Valeurs alimentaires des tourteaux.....</b>	<b>11</b>
<b>III. Protéines.....</b>	<b>13</b>
<b>IV. méthode de Kjeldahl.....</b>	<b>16</b>
<b>IV.1 Historique et objectif .....</b>	<b>16</b>
<b>IV.2 Principe de la méthode de Kjeldahl.....</b>	<b>16</b>
<b><u>Partie B: Application à la méthode de Kjeldahl</u></b>	
<b>Présentation.....</b>	<b>19</b>
<b>I. Préparation des échantillons à analyser.....</b>	<b>19</b>
<b>II. Teneur en protéines brutes .....</b>	<b>19</b>
<b>II.1 Objectif.....</b>	<b>19</b>
<b>II.2 Modes opératoires.....</b>	<b>19</b>
<b>II.3. Exploitation des résultats.....</b>	<b>20</b>
<b>III. Indice de dispersion des protéines .....</b>	<b>21</b>
<b>III.1 Objectif.....</b>	<b>21</b>
<b>III. 2 Modes opératoires.....</b>	<b>21</b>
<b>III.3 Exploitation des résultats.....</b>	<b>21</b>
<b>IV. Solubilité des protéines dans KOH .....</b>	<b>22</b>
<b>IV.1 Objectif.....</b>	<b>22</b>
<b>IV.2 Modes opératoires.....</b>	<b>22</b>
<b>IV.3 Exploitations des résultats.....</b>	<b>22</b>
<b>V. Résultats et interprétations.....</b>	<b>23</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>26</b>

## ***INTRODUCTION GENERALE***

La viande des bétails et des volailles sous ses différentes formes est la plus consommée, sa qualité est donc un enjeu majeur, elle doit prendre en compte les composantes sanitaires, organoleptiques, technologiques (aptitude à la transformation) et nutritionnelles.

L'alimentation des animaux a connu des évolutions majeures au cours de ces dernières années. Sur le plan des concepts, de nouveaux systèmes d'évaluation de la valeur des aliments ont été développés telle que l'énergie nette, la digestibilité idéale standardisée des acides aminés et du phosphore digestible. Ces systèmes largement adoptés au niveau international, ont permis d'établir une vaste base de connaissances sur les valeurs nutritionnelles des matières premières et les besoins des animaux.

Les valeurs nutritionnelles et énergétiques de l'aliment utilisé pour l'élevage des animaux dépendent principalement de sa composition en nutriments et de la nature des matières premières utilisées. Les lipides, les sucres, les vitamines et les protéines jouent des rôles essentiels au sein de l'organisme animal.

Dans ce travail nous présenterons un aperçu bibliographique sur l'industrie alimentaire des animaux et le rôle des protéines que ces aliments en contiennent, puis nous décrirons la technique de kjeldahl et son principe. La deuxième partie sera consacrée à l'application de la méthode de Kjeldahl, dans le tourteau de soja préparé au sein de la société El Alf, pour déterminer la teneur en azote, l'indice de dispersion des protéines dans l'eau et également la solubilité de ces protéines dans une solution alcaline de KOH. Nous terminerons ce travail par une conclusion générale.

## *Présentation de la société*

La société EL ALF est une société anonyme créée en 1974 par le groupe CHAOUNI. Situé dans lotissement Ennamare quartier industriel Bensouda.

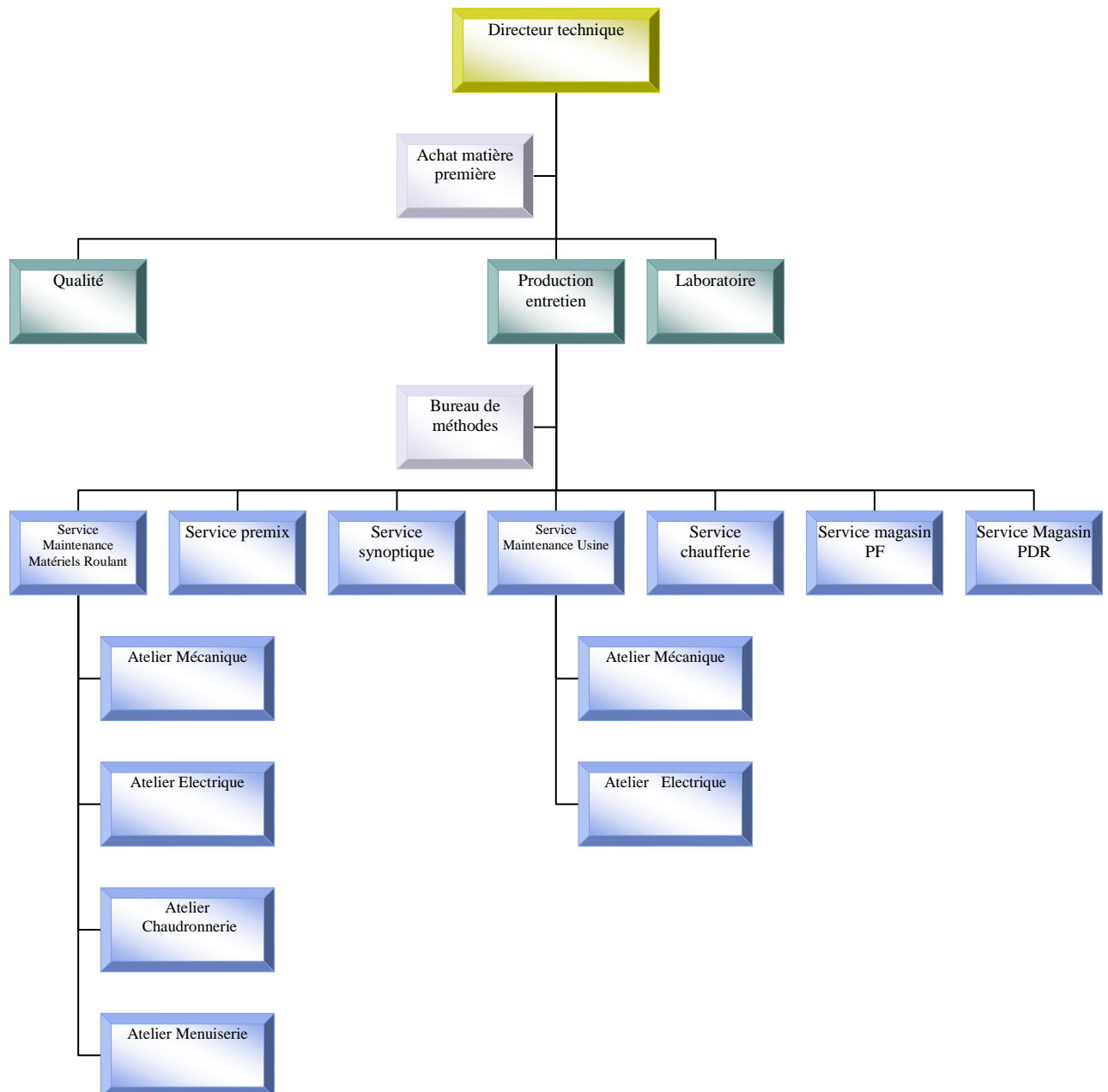
Depuis 2009, la société EL ALF a fusionné avec le groupe ATLAS et se classe actuellement deuxième sur le marché marocain. Aussi, l'entreprise a une capacité de production de 800 tonnes/jours.

L'organisation de son mode de travail et la qualité de ses produits lui ont permis d'être Certifiée par ISO 9001 et OSHAS 18001.

La société comporte trois parties :

- **La partie Usine** : les responsables de l'usine prépare les produits finis pour deux familles d'animaux. Il y a les aliments bétails (sous forme de granulés et/ou farine) et les aliments volailles (sous forme de granulés et/ou farine).
- **La partie Laboratoire** :  
Le personnel S'occupe de :
  - Analyses physico-chimique de la matière première et des produits finis ;
  - Analyses bactériologiques des aliments.
- **La partie Premix** : C'est une unité dans laquelle prépare les formulations alimentaires en respectant les dosages choisis suivant l'animal ciblé.

## Organigramme de la société :





***Partie A :***

***Industrie alimentaire des aliments composés***

## **I. Introduction :**

L'industrie agroalimentaire est la première industrie mondiale, cette filière représente près de 4% du PIB de la planète et emploie au total 22 millions de personnes. Ce secteur regroupe :

\* En amont : des activités de transformation des matières premières agricoles en produits alimentaires intermédiaires ou finis, comestibles par les humains ou les animaux.

\* En aval : des activités de transformation ou d'assemblage de produits intermédiaires.

On y trouve **huit grandes familles**, classées en fonction des produits fabriqués ou transformés

- **Industrie de la viande** : abattage du bétail, de la volaille, charcuterie, conserverie

- **Industrie sucrière**

- **Fabrication de produits alimentaires divers** : chocolat, confiserie, café et thé conditionnés, épices, vinaigres, sauces préparées, aliments pour bébés, produits de régime, desserts, bouillons, levures, etc.

- **Fabrication de boissons et alcools** : vins, eaux de vie, distillation d'alcool, apéritifs, champagne, bière, jus de fruits et de légumes, eaux minérales, etc.

- **Industrie laitière** : fabrication du lait, du beurre, des yaourts, des fromages, du lait en poudre ou concentré, des glaces, «crackage» du lait pour l'industrie alimentaire (caséine, lactose, protéines ultra-filtrées), etc.

- **Fabrication de produits alimentaires élaborés** : fruits, légumes, poissons, plats cuisinés et confitures.

- **Fabrication d'huiles, de corps gras et de margarines.**

- **Fabrication de produits à base de céréales :** farine, pain et pâtisserie industriels, biscuits, biscottes, semoules et pâtes alimentaires, malt, amidon, fécules et produits dérivés, aliments pour animaux comme tourteaux, etc.

## II. Les aliments pour animaux :

La production des aliments pour animaux est toujours précédée par une étape de formulation précisant les quantités des matières premières et les ingrédients à introduire.

Les céréales constituent la base énergétique de la ration alimentaire. Elles représentent en moyenne près de 50% des matières premières mises en œuvre dans la composition des aliments (figure 1).

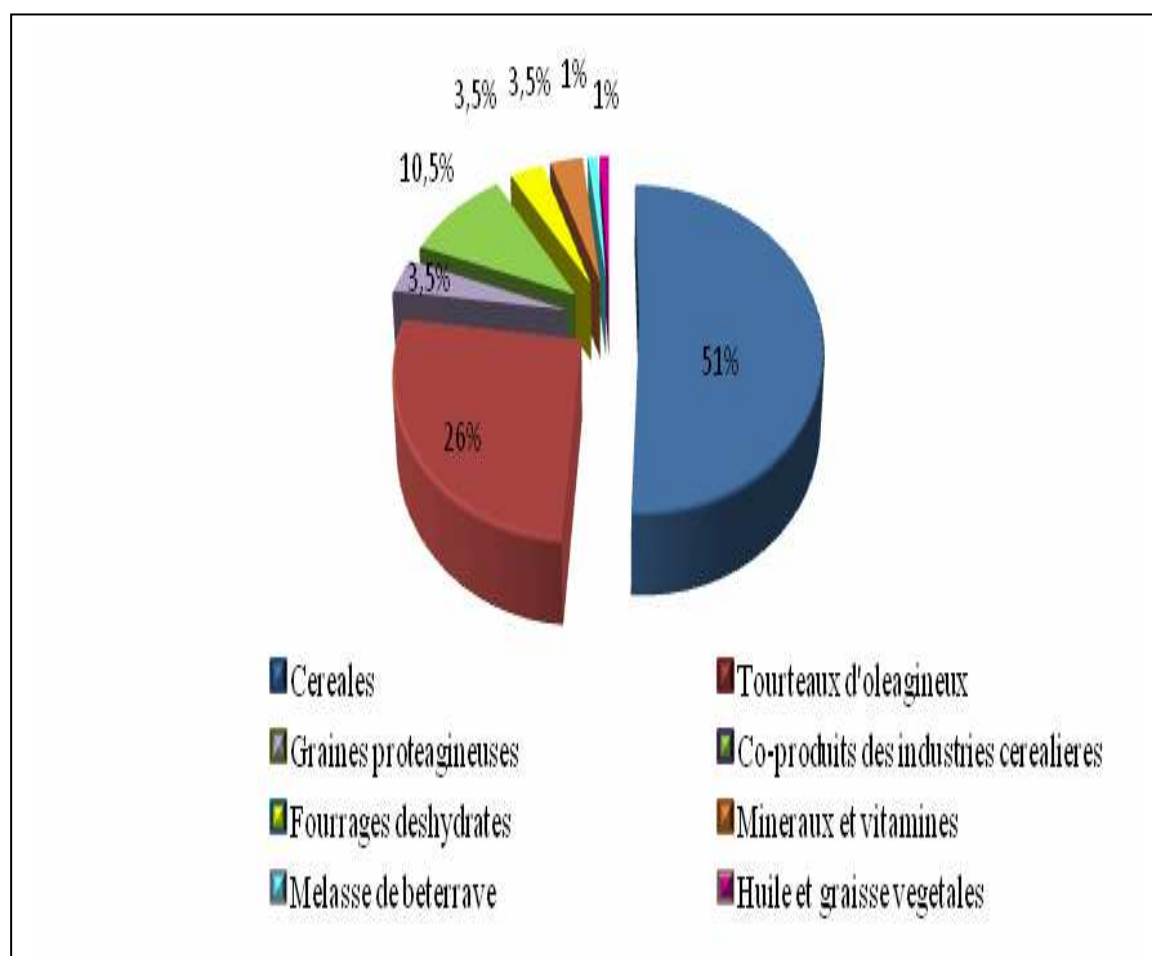
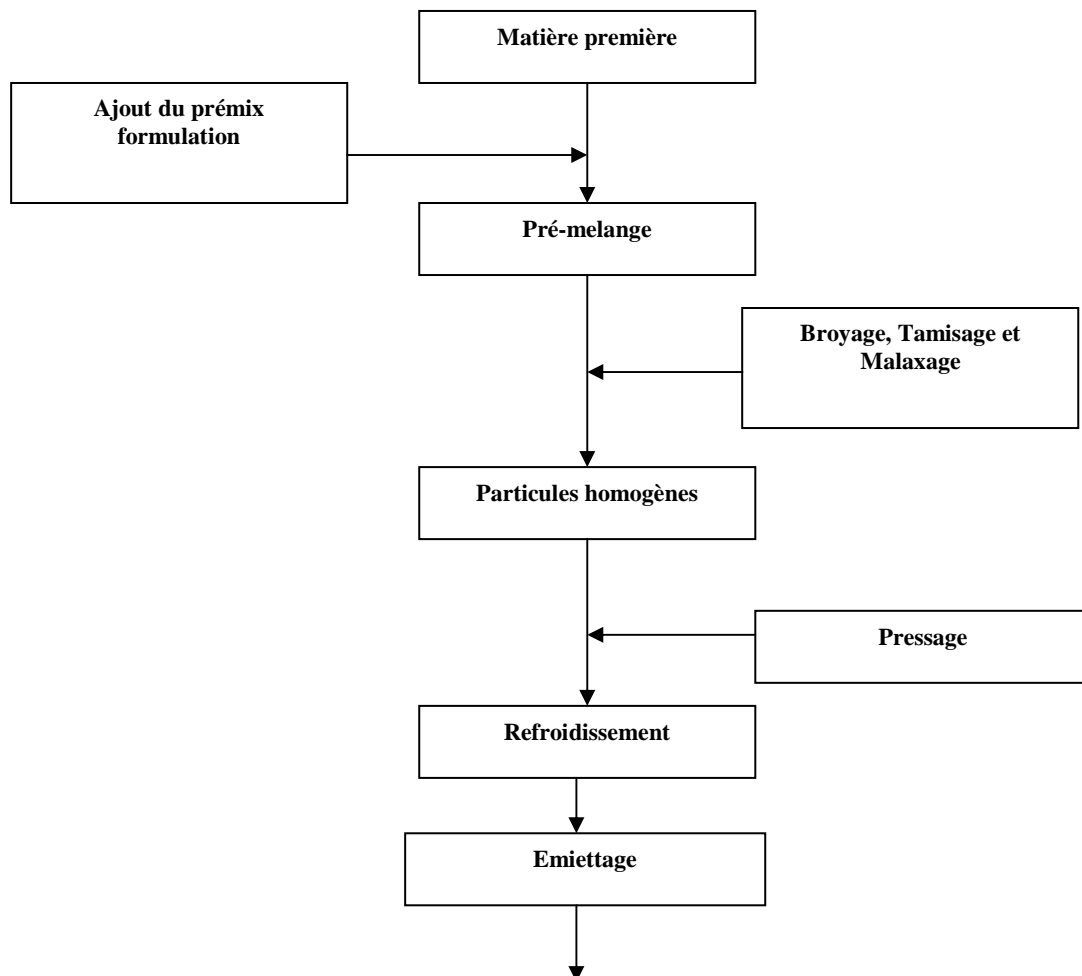


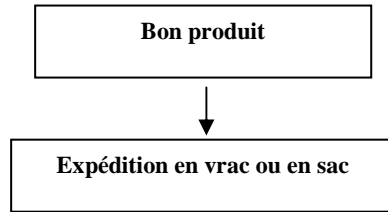
Figure 1: Composition moyenne d'un aliment

## II. 1 Procédé de préparation des aliments pour animaux :

La majorité des aliments destinés pour les animaux se présentent sous forme de granulés, ils contiennent l'ensemble des matières premières que le fabricant a soigneusement assemblé pour constituer un aliment composé et équilibré selon l'animal ciblé.

Le processus de fabrication de ces aliments se déroule généralement comme indiqué sur la figure 2 ci dessous :





**Figure 2 : Procédé de fabrication**

Les besoins nutritionnels des animaux dépendent de l'espèce, de l'âge, du sexe et de ce qu'ils produisent. En fonction de ces besoins, l'aliment comporte pour chacun une formulation adaptée indiquée sur un emballage spécifique de matières premières et des ingrédients à introduire (tableau 1).

*Tableau 1: Quelques Exemples de matières premières*

Famille	Exemples
Céréales	Maïs, blé, orge
Sous céréales	Son de blé,
Tourteaux	Tourteaux de tournesol, de colza, de soja
Additifs	Macroéléments (phosphate mono et bi calcique, carbonate de calcium) et liquides (mélasse, huile de soja, choline)
Pré-mélange	Oligoéléments, vitamines, acides aminées, levure...

## **II. 2. Les tourteaux :**

Les tourteaux sont les résidus solides obtenus après extraction de l'huile des graines ou des fruits oléagineux. Ce sont les sous-produits de la trituration (industrie de fabrication de l'huile).

### **II.2. a. Procédés de fabrication des tourteaux :**

Les graines riches en huile (tournesol, colza, lin) sont préalablement dépoussiérées et le plus souvent décortiquées ou dépelliculées, puis subissent deux étapes essentielles :

#### **a) La trituration :**

Deux procédés sont possibles:

- Pression discontinue à froid :

Une fois les produits sont broyés, l'huile est extraite par application de pressions successives à une température inférieure à 80 °C. Le rendement est faible, les tourteaux conservant 6 à 12% de matières grasses.

- Pression continue à chaud (expeller) :

Les produits sont préchauffés jusqu'à 90 °C, puis broyés et ensuite pressés par une vis sans fin où la température atteint 120 °C. Le rendement est amélioré (il reste de 4 à 20% d'huile dans le tourteau, selon les graines traitées et les installations utilisées).

## **b) L'extraction :**

L'extraction de l'huile restant dans les produits après trituration, se fait en utilisant un solvant approprié. En effet, les lipides ont la propriété de se solubiliser dans des solvants organiques (comme l'hexane) chauffés entre 50-60 °C puis, par percolation à contre-courant du solvant pendant 4 à 5 heures.

La distillation du mélange de l'huile et du solvant se fait entre 115-120 °C sous vide. Le rendement est très supérieur donnant des tourteaux « déshuilés » (0,5 à 2,5% d'huile).

## **II.3. Composition chimique moyenne de quelques tourteaux :**

En industrie alimentaire des animaux, les tourteaux sont très utilisés vu leur qualité nutritionnelle. En effet, ils présentent une source très riche en protéines. Les principaux tourteaux (tableau 2) utilisés en alimentation animale sont ceux du soja ; du colza et du tournesol.

*Tableau 2 : % en composition chimique moyenne de quelques tourteaux.*

	<b>%Matière sèche</b>	<b>%Matières azotées totales</b>	<b>%lipides</b>	<b>%Cellulose brute</b>	<b>%cendres</b>
Arachide	91	49	1,4	9	5,5
Soja 50	88	48	2,3	4	6
Soja 48	88	45	2,6	6	6
Soja 44	88	41	2,3	7,8	6
Colza dé pelliculé	90	40	2,7	7,2	7
Colza	90	35,5	2,7	12	7

Tournesol décortiqué	92	40	0,7	16	8
Tournesol semi- décortiqué	90	34	2,7	21	7
Tournesol non décortiqué	88	29	1,2	25	6,7
Coton décortiqué	92	39	1,1	15	6,7
Coprah	91	21,5	1,5	16	6
Lin	90	36	1,5	10	6
Palmiste	88	17,5	1,8	17	3,4

**a. La matière sèche :**

Les tourteaux sont des aliments secs, leur taux d'humidité est faible, variant entre 10 à 11%, d'où la facilité de leur conservation.

**b. Les lipides :**

La matière grasse des tourteaux très riche en triglycérides (**acide gras insaturés**) et se présente sous forme liquide à température ambiante (résidu de la fabrication d'huile).

Le taux de matières grasses résiduelles dépend essentiellement du procédé de fabrication du tourteau, il est inférieur à 2,5% pour le procédé d'extraction par les solvants et varie de 4 à 6% pour le pressage à chaud. Il est comprimé entre 6 et 12% quand on utilise la pression à froid.

**c. La cellulose :**



Le taux de cellulose brut varie en sens inverse du taux de la matière azotée totale. Il dépend essentiellement de l'espèce botanique du tourteau envisagé et du procédé de fabrication.

**d. Les cendres :**

Les valeurs obtenues indiquent ( tableau 2) que les tourteaux sont bien pourvus en phosphore (0,6 à 1%) et en calcium (0,15 à 0,4%).

**e. Les matières azotées totales (protéines) :**

La teneur en protéines varie selon l'espèce botanique envisagée et le procédé de fabrication utilisé.

Les **tourteaux** des graines ou des fruits **décortiqués** sont plus riches en protéines que les tourteaux dans lesquelles coques ou pellicules ont été intactes.

Généralement on classe les **tourteaux** suivant leurs teneurs en protéines :

- ° Riches en protéines (45 à 50%) : Cas du soja, d'arachide, colza dé pelliculé, coton décortiqué et tournesol décortiqué.
- ° Moyens en protéines (environ 35% de protéines) : colza, lin et tournesol semi ou non décortiqué
- ° Pauvres en protéines (inferieur à 35%) : coprah et palmiste.

L'appellation commerciale du tourteau est associée à un chiffre qui correspond à la somme des taux de protéines et de lipides résiduels exprimés par rapport au produit brut. Par exemple le tourteau de soja 50 signifie qu'il contient environ 48% de protéines et 2% de lipides.

## **II.4. Valeurs alimentaires des tourteaux :**

#### **II.4. a. Valeur énergétique :**

La **valeur énergétique** d'un aliment est définie comme la quantité d'énergie pouvant être retirée lors de sa digestion par le consommateur.

Le contenu énergétique du tourteau de soja est un peu inférieur à celui des céréales mais leur valeur énergétique varie entre 25 à 30% et reste inférieure à celle du maïs. Ceci est dû à son faible pourcentage en amidon (moins de 15%) et en graisse et à son contenu en fibre relativement haut (5 à 10%).

#### **Remarque :**

La valeur énergétique des tourteaux diminue lorsque le taux de cellulose brute croît et augmente avec le taux de lipides.

#### **II. 4. b .Valeurs protéiques :**

D'une façon générale, la valeur biologique des protéines de tourteaux est un peu plus élevée que celle des céréales. Il existe de grandes disparités d'un tourteau à l'autre. La meilleure valeur biologique est trouvée dans les tourteaux du soja (tableau 3).

*Tableau3: valeur protéique moyenne (ruminants) des tourteaux(en% du produit sec)*

	<b>% MAT</b>	<b>%DT</b>	<b>%d</b>	<b>PDIN</b>	<b>PDIE</b>
Tourteau de soja 50	54,4	0,62	0,90	388	263
Tourteau d'arachide 48	45	0,73	0,89	345	192
Tourteau de colza	35.5	0,71	0,83	271	163
Tourteau de tournesol 35*	40	0,77	0,86	245	128

Tourteau de lin	36	0,62	0,86	261	184
-----------------	----	------	------	-----	-----

**MAT** : Matière azotée totale,

**DT** : Dégradabilité théorique dans le rumen,

**d**: digestibilité **réelle**,

**PDIN** : protéines vraies digestibles dans l'intestin lorsque le facteur limitant est l'**azote** apporté à la flore ruminale,

**PDIE** : protéines vraies digestibles dans l'intestin lorsque le facteur limitant est l'**énergie** apportée à la flore ruminale,

### III. Les protéines :

Une **protéine** est une macromolécule biologique composée d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés liées entre elles par des liaisons peptidiques (chaîne polypeptidique).

L'ordre dans lequel les acides aminés s'enchaînent est codé par le génome et constitue la structure primaire de la protéine. La protéine se replie sur elle-même pour former des structures secondaires, ce qui permet de créer des liaisons hydrogènes entre les atomes des carbones et d'azote des deux liaisons peptidiques voisines. Puis, les différentes structures secondaires sont agencées les unes par rapport aux autres pour former la structure tertiaire, souvent renforcée par des ponts disulfure. Les forces qui gouvernent ce repliement sont les forces physiques classiques. Dans le cas des protéines formées par l'agencement de plusieurs chaînes, la structure quaternaire décrit la position relative des sous-unités les unes par rapport aux autres.

Les protéines remplissent de nombreux rôles dans la cellule. Parmi ces différentes fonctions on peut souligner : mouvement, défense, transport de substances dans le sang, structure hormones, et enzymes.

### III.1. Les acides aminés :

Un acide aminé est formé d'un carbone auquel sont liés : groupement amine ( $\text{NH}_2$ ) , un groupement acide ( $\text{COOH}$ ) et un radical(**R**) (figure 3)

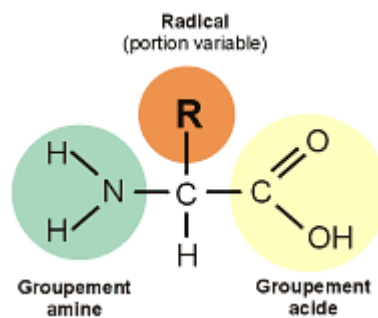
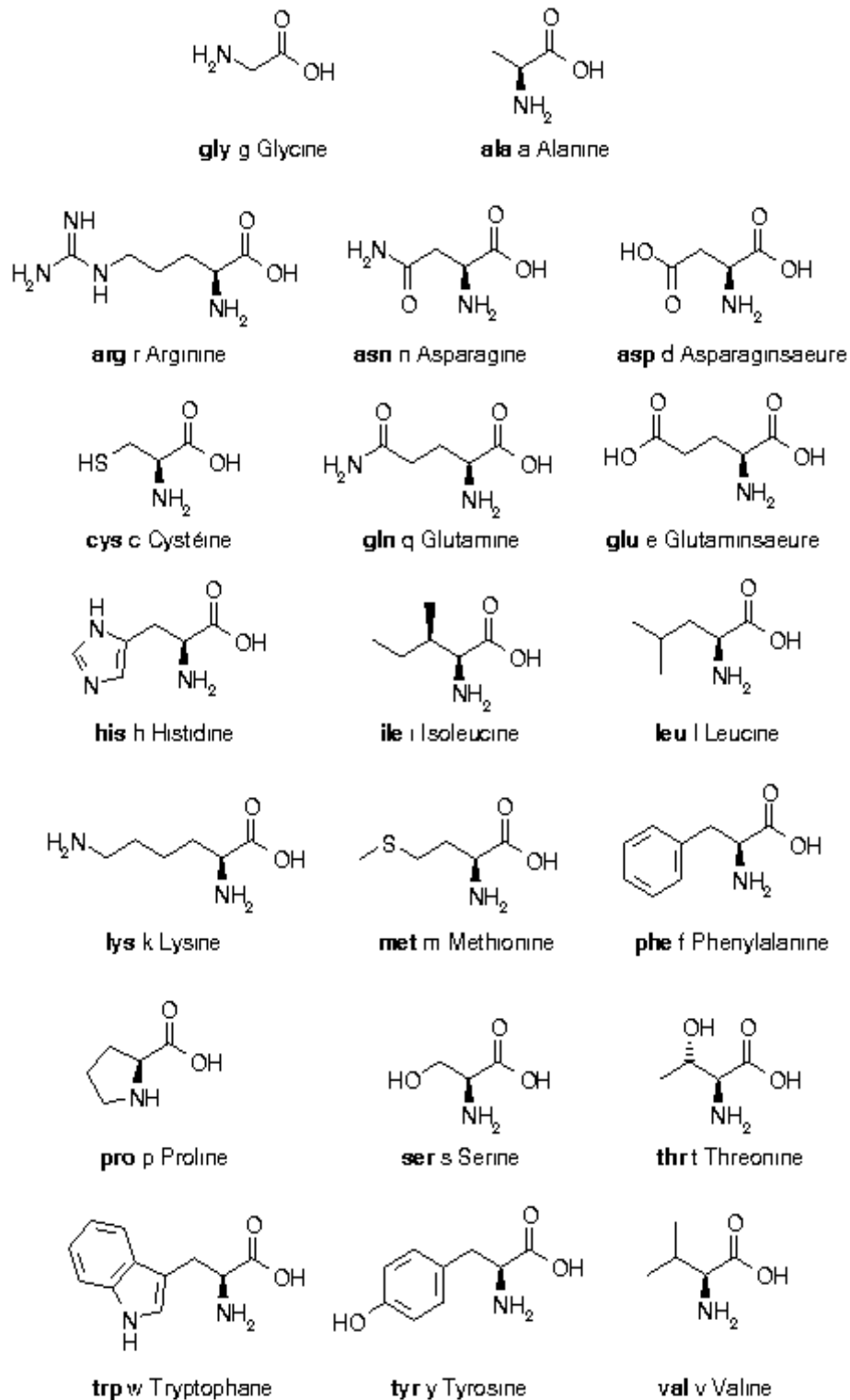


Figure 3 : structure développée d'un acide aminé

Selon la nature du radical (R) on distingue 20 acides aminés différents figure 4. (Des acides aminés).



*Figure 4 : Structures chimiques des vingt acides aminés*

Les acides aminés les plus importants dans la composition des protéines contenue dans les tourteaux sont lysine et méthionine.

*Tableau 4: Valeur protéique moyenne de tourteau de soja (en % du produit sec)*

<b>% d'acide aminé</b>	<b>% MAT</b>	<b>Lysine %LYS/MS</b>	<b>Lysine %LYS/MAT</b>	<b>Méthionine %MET/MS</b>	<b>Méthionine %MET/MAT</b>
<b>Tourteau de Soja</b>	54,4	3,47	6,4	0,75	1,4

Pour la valeur protéique du tourteau de soja (tableau 4) on trouve, que la lysine se trouve à 3,47% dans la matière sèche et de 6,4% de la matière azoté totale, alors que la méthionine se trouve à 0,75% dans la matière sèche et de 1,4% de la matière azoté.

## IV. Méthode de Kjeldahl :

### IV.1. Historique et objectif:

C'est en 1883 que le chercheur **Danois Johan Kjeldahl** travaillant sur l'évolution de la teneur en "protéine" des céréales utilisées dans la fabrication de la bière qu'il a mis au point une méthode pour déterminer l'azote organique. La technique a subi un grand nombre de modifications depuis sa première publication dans la même année dans une revue allemande de chimie analytique. C'est en fait **Gunning** qui suggéra l'adjonction de sulfate de potassium à l'acide sulfurique pour accroître la vitesse de minéralisation en augmentant la température d'ébullition. La méthode est connue au niveau international comme la détermination de l'azote suivant Kjeldahl.

### IV.2. Principe de la méthode de Kjeldahl :

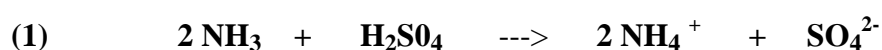
Dans un produit biologique (lait, sérum...) l'azote peut se trouver sous forme minérale et organique (protéines, phospho-amino-lipides...) ; pour le doser dans sa totalité, il faut détruire les composés organiques de manière à obtenir tout l'azote sous une même forme minérale. On effectue pour cela une minéralisation. L'azote est ensuite dosé par simple dosage acide-base.

#### IV.2. a. MINERALISATION

La minéralisation est réalisée en utilisant un excès d'acide sulfurique concentré et chaud, en présence d'un mélange de catalyseurs (**K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** et **CuSO<sub>4</sub>**).

En présence d'acide sulfurique concentré et chaud, le carbone, l'oxygène, l'hydrogène et l'azote des composés organiques se retrouvent sous forme de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O et NH<sub>3</sub>.

L'acide sulfurique étant en excès, on obtient la réaction chimique (1) :



L'azote total est donc transformé sous la forme minérale  $\text{NH}_4^+$  (ion ammonium).

**Remarque :**

- Au cours de la minéralisation, l'acide sulfurique est partiellement décomposé et réduit en  $\text{SO}_2$  et  $\text{SO}_3$  qui forment des fumées blanches irritantes et toxiques.
- L'utilisation d'un mélange de catalyseurs permet d'avoir une minéralisation plus rapide :
- ✓  $\text{K}_2\text{SO}_4$  permet d'élever la température d'ébullition de l'acide sulfurique ; on peut ainsi effectuer la minéralisation à ces températures sans avoir de pertes trop importantes d'acide sous forme de vapeurs ;
- ✓  $\text{CuSO}_4$  est le catalyseur de minéralisation proprement dit : il augmente la vitesse de la minéralisation.

**IV. 2. b. DOSAGE DE L'AZOTE:**

Après minéralisation, l'azote se trouve dans le minéralisat sous forme de  $\text{NH}_4^+$ .

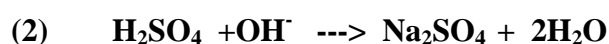
Le dosage de l'azote total est un dosage acide-base. Les ions ammonium du minéralisat se trouvant dans un excès d'acide sulfurique, on ne peut les doser directement.

Dans un premier temps on va donc déplacer les ions ammonium du minéralisat sous forme de  $\text{NH}_3$  (ammoniac), puis il faudra récupérer l'ammoniac seul pour pouvoir le doser à l'aide d'une solution étalonnée d'acide fort. Pour isoler l'ammoniac on procède par **distillation**.

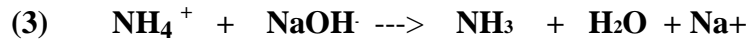
**a. Déplacement de  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NH}_3$  :**

Pour transformer les ions ammonium du minéralisat en ammoniac, on doit alcaliniser le minéralisat ; pour cela on utilise un large excès d'une base forte.

Le minéralisat est ainsi tout d'abord neutralisé puis alcalinisé, suivant les réactions (2) et (3):







La lessive de soude étant en excès, tous les ions ammonium sont transformés en ammoniac et donc tout l'azote se retrouve sous forme de  $\text{NH}_3$ .

#### **b. Distillation :**

On chauffe le minéralisat alcalinisé, l'ammoniac se dégage sous forme de vapeurs que l'on capte en utilisant un montage de distillation, l'ammoniac est condensé dans une solution d'acide borique  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , (acide très faible  $\text{p}K_a=9,4$ ) où il est piégé pour être dosé par la suite.

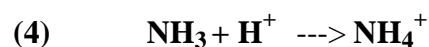
#### **c. Dosage de l'ammoniac**

On peut procéder soit par un dosage direct soit par un dosage en retour.

##### **c.1. Dosage direct**

L'acide borique étant piégé est neutralisé directement de son arrivée par une solution étalonnée d'acide fort ( $\text{HCl}$  ou  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) en présence d'un indicateur coloré : l'indicateur de Tashiro ou indicateur RB (mélange de rouge de méthyle et de bleu de méthylène) amené au préalable à sa teinte sensible. A la neutralisation on peut donc calculer le pourcentage de l'azote contenu dans le produit de départ.

La réaction (4) mise en jeu est la suivante :

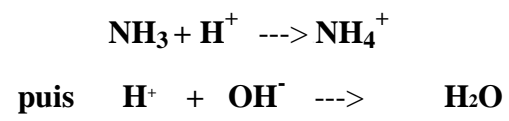


(Lorsque l'ammoniac arrive dans l'acide borique il alcalinise le milieu qui vire au vert, on verse alors la solution étalonnée d'acide fort pour ramener l'indicateur à sa teinte sensible).

##### **C.2. Dosage indirect**

L'ammoniac est recueilli dans un volume connu et en excès d'une solution étalon d'acide fort ( $\text{HCl}$  ou  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). L'excès d'acide est ensuite dosé à l'aide d'une solution étalonnée de base forte, en présence d'un indicateur coloré.

On a :



***Partie B :***

***Application à la méthode de Kjeldahl***

## **Presentation:**

Lors du procédé de la fabrication du tourteau de soja la température de cuisson et la durée utilisées jouent un rôle primordial sur la qualité du produit fini. En effet, une sous cuisson des grains de soja et de ses tourteaux entraîne une mauvaise digestibilité, ce qui réduit les performances de croissance des animaux alors qu'une sur cuisson implique la destruction de certains acides aminés essentiels à la croissance des animaux. D'où la nécessité d'effectuer des contrôles de qualité des produits finis avant leurs commercialisations.

Le contrôle des protéines en termes des produits est réalisé par la méthode de Kjeldahl en déterminant leurs indices de dispersion dans l'eau et leur solubilité dans un milieu alcalin.

Cette partie expérimentale vise à déterminer le % azote puis comparer les résultats obtenus

### **I. Préparation des échantillons à analyser :**

Les prélèvements des échantillons se font quotidiennement au niveau de la chaîne de fabrication dans des sachets propres et soudés.

Chaque échantillon est broyé à l'aide d'un broyeur (Retsch modèle ZM200), équipé d'un rotor de 12 dents, d'un tamis de 1mm (ou 0,85mm) de diamètre de pores tournant à une vitesse entre 6000 à 18000 tr/min et un récipient collecteur.

Le but de cette opération est l'obtention d'une poudre fine prête à être analysée.

### **II. La teneur en protéines brute :**

#### **II.1 : objectif :**

Le but de cette expérience est de déterminer le pourcentage des protéines dans le tourteau de soja.

#### **II.2. Mode opératoire :**

### **a. Minéralisation :**

#### ✓ **Blanc :**

- Introduire dans un matras une tablette de **K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et CuSO<sub>4</sub> (catalyseur)** de 5.5g et un papier sans azote (papier sulfurisé).
- Ajouter 20ml d'acide sulfurique concentré 36N.

#### ✓ **Echantillon :**

- Mettre 1g de l'échantillon dans un papier sans azote (papier sulfurisé), dans un matras.
- Ajouter 20ml d'acide sulfurique et une tablette de **K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et CuSO<sub>4</sub>** ;
- Placer les matras dans le support de Kjeldahl, bien fermer les joints l'appareil;
- porter à l'ébullition graduellement jusqu'à 400°C pendant 3h ;
- laisser refroidir jusqu'à température ambiante.

### **b. Distillation et titrage:**

- Placer à tour de rôle les matras contenant le blanc et les échantillons minéralisés dans le distillateur
- titrateur automatique (marque vapodest), selon les opérations suivantes :
- Ajout de 80ml NaOH 8.25N.
- Mettre en place de 50ml de l'acide borique 16.1N dans un récipient.
- Dosage direct de l'ammoniac par une solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de 0.1N.
- A la fin du dosage le distillateur –titrateur automatique affiche le volume de l'acide sulfurique nécessaire à la neutralisation de NH<sub>3</sub> distillé, il affiche également le pH finale de la solution finale.

### **II.3. Exploitation des résultats :**

Le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nécessaire pour neutraliser tout l'azote contenu dans le tourteau de soja est égal à la différence entre V<sub>2</sub> : le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nécessaire pour neutraliser l'ammoniac dans l'échantillon et V<sub>1</sub> : le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nécessaire pour neutraliser le blanc, le nombre de mole de l'azote totale sera donc (V<sub>2</sub>-V<sub>1</sub>) x 10<sup>-3</sup>x N, en le multipliant par la masse atomique de l'azote 14 pour déterminer la masse de l'azote total.

La moyenne d'azote a été retrouvé à environ 16% ce qui conduit à l'utilisation du calcul suivant  $1/0.16 = 6.25$  pour convertir la teneur en azote en teneur en protéines, d'où le pourcentage en protéines est calculé à partir de la formule ci-dessous:

$$\text{Protéines brutes\%} = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 0.014 \times 6.25 \times 100}{\text{Masse initiale}}$$

**Avec :**

**V1:** le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nécessaire pour neutraliser le blanc.

**V2 :** le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nécessaire pour neutraliser l'ammoniac dans l'échantillon.

**N :** normalité de l'acide sulfurique 0.1N

**14 :** la masse atomique de l'azote

**6.25 :** facteur de conversion de l'azote en protéine.

**III. Détermination de l'indice de dispersion des protéines dans l'eau (IDP) :**

L'indice de dispersion des protéines (IDP) est le plus simple, le plus précis et le plus sensible des tests disponibles pour la détermination de la qualité protéique des produits alimentaire composés. Cette méthode mesure la solubilité des protéines dans l'eau

**III.1. Objectif :**

Déterminer la quantité de protéines dispersées dans l'eau.

**III.2. Mode opératoire :**

- Délayer 20 g de tourteau de soja broyé dans 300ml d'eau distillée.
- Malaxer l'échantillon pendant 10 min à 8500tr/min.
- Retirer le bol malaxeur et verser la barbotine obtenue dans un bécher.
- Laisser décanter jusqu'à la séparation de surnageant et culant, prélever le surnageant à la pipette et la verser dans un tube de centrifugation de 50 ml.
- Centrifuger à 2700 tr/min pendant 10 minutes.
- Prélever 15 ml du liquide excédentaire verser le dans un Matras.
- Procéder par la méthode Kjeldahl déjà illustrée.

**III.3. Exploitation des résultats :**

Le pourcentage des protéines en dispersion dans l'eau peut être calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de protéines en dispersion dans l'eau} = \frac{(V2-V1) \times N \times 0,014 \times 100 \times 6,25}{\text{Masse de l'échantillon}}$$

Où:

**V1** = le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour neutraliser le blanc

**V2**= le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour neutraliser l'ammoniac dans l'échantillon.

**N** = normalité de l'acide sulfurique (0.1N).

Le pourcentage de dispersion des protéines dans l'eau est ensuite divisé par la teneur en protéines brutes afin de déterminer l'indice de dispersion de protéines, selon le calcul suivant :

$$\text{Indice de dispersion des protéines (IDP)} = \frac{\% \text{ protéines en dispersion dans l'eau} \times 100}{\% \text{ protéines brutes}}$$

#### **IV. Solubilité des protéines dans une solution de KOH :**

Le test de solubilité des protéines dans de l'hydroxyde de potassium (KOH) : il est surtout utile pour détecter si le tourteau de soja a été soumis à une température trop élevée.

##### **IV.1. Objectif :**

Cette méthode permet de déterminer le pourcentage de protéines solubilisées dans une solution d'hydroxyde de potassium (KOH).

##### **IV.2. Mode opératoire:**

- Diluer 1,5 gramme de tourteau de soja dans 75 ml de KOH, agiter pendant 20 minutes.
- Transférer 50 ml du liquide dans un tube de centrifugation et centrifuger pendant 10 minutes à 2700 tr/min.
- Doser 15 ml pour doser de la solution obtenue en appliquant la méthode Kjeldahl déjà expliquée.

##### **IV.3. Exploitation des Résultats :**

Le pourcentage des protéines dans une solution de KOH est donné selon la formule suivante :

$$\% \text{ protéines dans une solution de KOH} = \frac{(V2-V1) \times N \times 0,014 \times 100 \times 6,25}{\text{Masse de l'échantillon}}$$

Où:

**V1** = le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour neutraliser le blanc

**V2** = le volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pour neutraliser l'ammoniac dans l'échantillon

**N** = normalité de l'acide sulfurique (0.1N).

Le pourcentage des protéines dans une solution de KOH est divisé par la teneur en protéines brutes afin de déterminer le pourcentage des protéines solubilisées.

$$\% \text{ des protéines Solubilisés} = \frac{\% \text{ protéines dans une solution de KOH} \times 100}{\% \text{ Protéines brutes}}$$

## **V. Résultats et interprétations:**

### **A. Teneur en protéine brutes :**

**Tableau 5 : la teneur en protéine brutes**

Référence des échantillons	1	2	3	4	5	6	7	8
%Protéines brutes	43,77	44,06	48,38	44,88	44,73	43,20	44,95	43,5

### **Interprétation :**

Les valeurs des pourcentages obtenus sont comprises entre 43.5 et 48.88%, elles sont donc dans les normes.

### **B. Pourcentage de protéines en dispersion dans l'eau :**

**Tableau 6 : % de protéines en dispersion dans l'eau**

Référence des échantillons	1	2	3	4	5	6	7	8
PD(%)	8,01	8,01	9,13	8,85	7,88	7,99	8,06	8,32

### **Interprétation :**

Les pourcentages des protéines en dispersion dans l'eau illustrés, sont compris entre 7.88 et 9.13%, et sont donc dans les normes internationales.

### **C. Pourcentage des protéines dans une solution de KOH :**

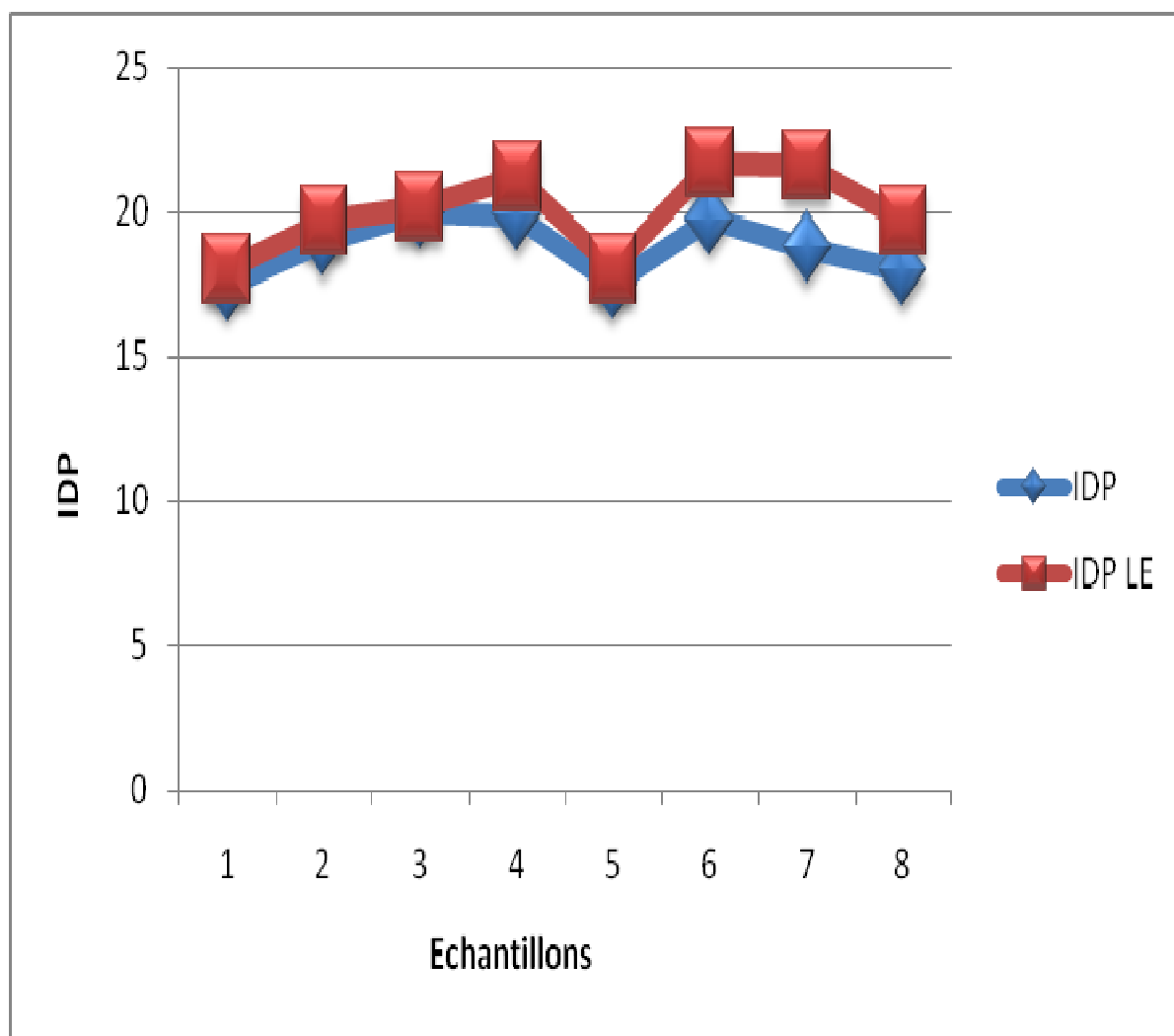
**Tableau 7 : % de protéines dans une solution de KOH**

Référence des échantillons	1	2	3	4	5	6	7	8
PS(%)	35,01	35,26	37,70	36,72	37,93	36,97	37,04	34,56

**Interprétation :**

- les pourcentages des protéines dans une solution de KOH sont entre 34.56 et 37.93%, ils sont donc dans les normes internationales.

**D. Indice de dispersion de protéines (IDP) :**



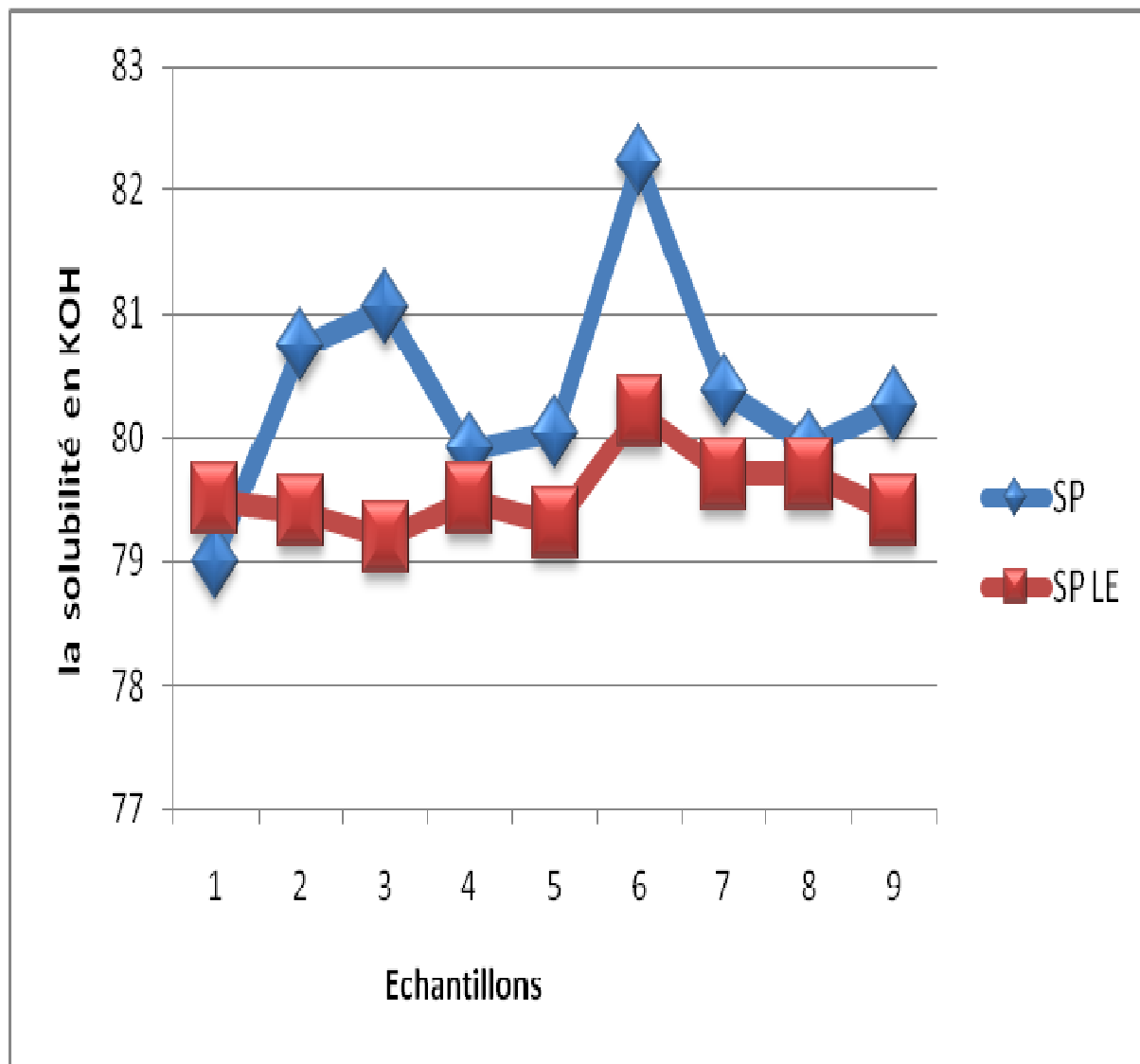
**Figure 5 : Indice de dispersion de protéines**



- **Interprétation :**

- Pour tous les échantillons, les résultats trouvés sont proches des résultats du laboratoire externe certifié ; et respectent les normes suivantes :  $15\% < \text{IDP} < 45\%$ .
- L'IDP pourrait être la meilleure méthode et la plus sensible pour identifier les meilleurs tourteaux de soja, elle est également la plus simple.

**E. Solubilité des protéines dans KOH :**



**Figure 6 :Solubilité des protéines dans une solution de KOH**

- **Interprétation :**

- D'après la comparaison avec un laboratoire extérieur (laboratoire certifié) ; nous avons trouvé pratiquement les mêmes résultats avec une petite incertitude qui est due aux erreurs systématiques.
- La solubilité dans une solution de potasse constitue un test permettant d'indiquer une sur-cuisson du soja.

## ***CONCLUSION***

Le tourteau de soja est la source la plus importante de protéines (acides aminés) dans l'alimentation des volailles et des bétails au niveau mondial. Il est manifestement primordial d'obtenir la meilleure qualité de tourteau de soja possible.

Dans ce travail nous avons suivi la qualité du tourteau de soja de la société EL ALF, en analysant les protéines.

Selon l'indice de dispersion de protéines dans l'eau qui est utile pour identifier un tourteau de soja traité adéquatement dans les normes suivantes  $15\% < IDP < 45\%$  , et la solubilité des protéines dans une solution de KOH pour déterminer si le tourteau de soja a été soumis à une température trop élevée selon les normes :  $70\% < KOH < 85\%$  .

Cette application est bénéfique pour la société EL ALF afin de compléter ces analyses effectuées sur les différents produits.