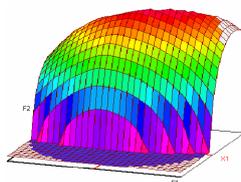


Année Universitaire : 2009-2010



Master Sciences et Techniques CAC Agiq
Chimiométrie et Analyse Chimique : Application à la gestion industrielle de la
qualité

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

Mise en place et validation des indicateurs de la qualité de cuisson
Du soja et du dosage du calcium Dans l'alimentation animale

Présenté par:

EL KNIDRI HAKIMA

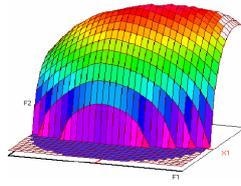
Encadré par:

- M^{me} MECHATTE Asmae EL ALF
- M^r. EL HADRAMI EL Mestafa FST Fès

Soutenu Le 21 Juin 2010 devant le jury composé de:

- M^{me}. A. MECHATTE
- M^r. E.M. EL HADRAMI
- M^r. F. OUAZZANI
- M^r. E.H. LAMCHARFI
- M^r. A. LHASSANI

Stage effectué à : EL ALF ; Aliments de bétails et volailles



Master ST CAC Agiq

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

Nom et prénom: EL KNIDRI HAKIMA

Année Universitaire : 2009/2010

Titre: Mise en place et validation des indicateurs de cuisson du soja et du dosage du calcium dans l'alimentation animale.

Résumé

Un domaine particulièrement fertile pour l'application des méthodes chimiométriques touche à l'assurance de la qualité au laboratoire et, en particulier à la validation des méthodes analytiques, qui consiste en une suite d'études expérimentales qui permettront de prouver que la méthode est en accord avec son domaine d'application qui correspond à l'ensemble des spécifications, posées dès le départ.

Mon projet effectué au sein du laboratoire de la société EL ALF se résume dans l'installation de deux méthodes permettant de tester la qualité du soja de point de vu, degré de cuisson, puis leur validation pour donner la preuve au laboratoire, en termes de valeur statistique, que la méthode est bien apte à l'emploi qu'on prévoit d'en faire.

La deuxième partie consiste à vérifier par une validation initiale que la méthode du dosage du calcium par titrimétrie, est capable de donner des résultats qui sont fiables et bien précis et de montrer que ces caractéristiques sont compatibles avec celles définies par la norme.

La validation de ces différentes méthodes est effectuée en évaluant les performances suivantes :

- ✚ Normalité
- ✚ Fidélité : répétabilité et reproductibilité
- ✚ ANOVA pour tester l'homogénéité des moyennes.
- ✚ Capabilité de la méthode d'analyse.
- ✚ Détermination de l'intervalle de confiance.

Mots clés: Validation statistique, fidélité, normalité, facteurs antinutritionnels, qualité de cuisson de soja, la solubilité dans le KOH, indice de dispersion des protéines.

Remerciement

Au terme de ce travail, j'ai le plaisir d'exprimer mes profonds remerciements et ma sincère gratitude à toutes les personnes qui m'ont trop aidé à réaliser ce stage pour leur soutien et leur accompagnement tout au long de ces quatre mois avec tant de patience et de pédagogie qui étaient à l'origine de ce modeste travail.

Je tiens à remercier dans un premier temps, toute l'équipe pédagogique de la faculté des sciences et techniques de Fès, et les intervenants professionnels responsables de la formation Chimiométrie et Analyse Chimique : Application à la gestion industrielle de la qualité, pour avoir assuré la partie théorique de celle-ci.

Je remercie également Monsieur **EL HADRAMI**, responsable du master CAC agiq, et mon professeur encadrant à la FST de Fès, pour son aide, ses conseils précieux et ces orientations fondamentales concernant les missions évoquées dans ce rapport, ainsi que pour le temps qu'il m'a consacré tout au long de cette période, sachant répondre à toutes mes interrogations, sans oublier sa participation au cheminement de ce rapport.

Je tiens également à remercier Madame **Asmae MACHATTE**, responsable du laboratoire d'EL ALF, pour son accueil et son confiance qu'elle m'a accordée dès mon arrivée dans l'entreprise et pour les conditions de travail privilégiées qui m'ont été offertes, et surtout pour son soutien durant la période du stage. Je lui témoigne toute ma reconnaissance pour la totale confiance et liberté qu'il m'a accordée depuis le début.

Mes remerciements vont aussi aux membres du jury à savoir, Mr. Le professeur **OUAZZANI**, Mr. Le professeur **LAMCHARFI**, et Mr le professeur **LHASSANI**, de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce modeste travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes : Mlle **MASWAB Ouafae** et Mr. **LOUDY Tarik** qui ont accepté de consacrer du temps à mes questions et à mes discussions approfondies, pour le soutien, les encouragements et les nombreux conseils qui m'ont permis de mener à bien cette projet ainsi que pour l'expérience enrichissante qu'elles m'ont fait vivre durant ces mois au sein de l'entreprise.

Finalement j'adresse un grand merci à toute ma famille qui a toujours été présente lorsque j'en ai eu besoin, ainsi que pour le soutien moral tout au long de ma formation, et que tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin, trouvent ici l'expression de ma gratitude.

Dédicace

A mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études. Sans eux, je n'aurais certainement pas fait d'études longues. Ce mémoire représente donc l'aboutissement du soutien et des encouragements qu'ils m'ont prodigués tout au long de mon parcours universitaire. J'espère qu'ils trouveront dans ce modeste travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A mes encadrant et nos enseignants, qui donnent toujours leurs mieux pour que les étudiants aient une formation assez complète pour avoir le minimum de difficultés lors de leur vie professionnelle.

A toutes les membres de ma famille à savoir mes frères et mes sœurs, mes tantes et mes oncles pour leurs patiences et leurs soutiens qu'ils n'ont cessés d'apporter au cours de ma formation et En leurs espérant le plein succès dans leur vie

A mes meilleurs amis et à tous ceux qui ont contribués de près ou de loin a la réalisation de ce modeste projet.

Je dédie ce mémoire

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre I : Société d'EL ALF présentation, activités , et processus de production	2
<u>I.</u> Présentation de la société :.....	2
<u>1.</u> Fiche techniques de la société :.....	2
2. Organigramme de la société d'AL ALF.....	3
<u>II.</u> Alimentation animale et processus de production :	3
<u>1.</u> A chaque animal son aliment composé :	3
<u>2.</u> Contrôle qualité au laboratoire de la société :.....	4
<u>III.</u> Processus de fabrication :.....	6
Chapitre II : Rappels sur la validation de méthode d'analyse et sur le soja	8
<u>A.</u> La validation d'une méthode d'analyse :	9
<u>1.</u> Validation d'une méthode :.....	9
<u>2.</u> Les indicateurs statistiques de la performance d'une méthode de mesure:	11

<u>B.</u> Les techniques statistiques au service de la qualité au laboratoire :	12
<u>I.</u> Définitions des termes statistiques :	13
<u>II.</u> Tests statistiques de la validation :	14
<u>1.</u> Test pour l'étude de la normalité d'une distribution :	14
<u>2.</u> Analyse de la variance à un facteur :	15
<u>3.</u> Tests sur les données aberrantes : Test de DIXON:	16
<u>4.</u> Test de Bartlett : Comparaison de plusieurs écarts types :	16
<u>C.</u> Les indicateurs de contrôle de la qualité de cuisson du soja :	17
<u>I.</u> Graine de soja, ses qualités et méthodes d'extraction :	17
<u>1.</u> Graine de soja :	17
<u>2.</u> La composition nutritionnelle de la graine de soja :	18
<u>3.</u> Les tourteaux de soja définition et présentation :	18
<u>II.</u> Le soja : Un aliment incontournable pour les animaux :	19
<u>1.</u> Optimisation des qualités des protéines de soja par traitements technologiques :	19
<u>2.</u> Les substances anti-nutritionnelles préexistantes dans les graines de soja :	20
<u>3.</u> Tests indicateurs de la qualité de cuisson :	21
Chapitre III : Mise en place et validation des indicateurs de cuisson du soja et du dosage du calcium	23
A/ Le calcium dans l'alimentation animale :	23
I. Dosage du calcium par la méthode titrimétrique :	24
<u>II.</u> Validation du dosage du Calcium par la méthode titrimétrique :	25
<u>B/</u> Mise en place des indicateurs de la cuisson du soja	32
<u>I.</u> Solubilité des protéines dans le KOH 0.2%:	33
<u>II.</u> Indice de dispersibilité des protéines IDP :	34
<u>C/</u> Protocole de la mise en place des indicateurs de cuisson :	35
<u>D/</u> Validation des indicateurs de la qualité de cuisson :	38
<u>I.</u> Validation de l'indice de dispersibilité des protéines :	38
<u>II.</u> Validation de la solubilité des protéines dans le KOH :	43
Conclusion	49
Bibliographie	50

Table des

Ho	Hypothèse nulle
H ₁	Hypothèse alternative
W _{obs}	W calculé à partir des résultats
W _{crit}	Valeur lue dans la table de Shapiro et Wilk
F _{exp}	Fisher calculé à partir des résultats
F _{seuil}	Valeur critique lue dans la table de Fisher
E _{obs}	E calculé à partir des résultats
E _{crit}	Valeur critique lue à partir de la table de Chi2
ddl	Degré de liberté
Sr	Ecart type de répétabilité
S _R	Ecart type de reproductibilité
S	Ecart type
IC	Intervalle de confiance
ICM	Indice de capabilité de la méthode
\bar{x}	Moyenne
ANOVA	Analyse de la variance
Ti	Tolérance inférieure
SCE	Somme des carrés des écarts
SCE _{inter}	Somme des carrés des écarts interclasses
SCE _{intra}	Somme des carrés des écarts intraclasses ou résiduelle
CV	Coefficient de variation
p-value	Le niveau significatif
Var(X)	La variance de X
Min	Minimum
Max	Maximum
Var _{totale}	Variabilité totale
Var _{intra}	Variabilité intragroupe
Var _{inter}	Variabilité intergroupes

abrégations

Introduction

Avec le progrès de la recherche scientifique, les éleveurs connaissent de plus en plus les potentiels de leurs animaux et les effets de l'alimentation animale sur les produits destinés à l'alimentation humaine. Grâce à ce progrès ils ont arrivé à modifier l'alimentation de leur cheptel pour répondre au mieux aux attentes de plus en plus précises des consommateurs, qui ont pris conscience de la nécessité d'avoir une bonne alimentation pour être en bonne santé.

D'où la relation étroite entre la qualité des aliments du bétail et celle des produits animaux qui sont proposés à la consommation humaine. Cette qualité est d'abord nutritionnelle, mais aussi organoleptique et sanitaire. Si l'aliment est avant tout un facteur de santé des animaux, il peut également par son déséquilibre ou sa composition induire des dysfonctionnements et agir sur la qualité sanitaire des produits animaux.

Mais la production de ces aliments n'est pas une tâche facile, il faut que cela satisfasse le client, et réellement bon pour satisfaire l'animal, et il doit être conforme aux recommandations nutritionnelles. Le seul moyen de les produire réside dans la connaissance approfondie des matières premières et de leur qualité qui constituent un très bon point de départ pour la santé des animaux et l'obtention de bonnes performances des élevages. C'est pourquoi le contrôle de la qualité des matières premières utilisées en alimentation animale est de première importance.

La qualité des matières premières doit être évaluée en suivant des protocoles expérimentaux qui doivent être obligatoirement validés, permettant une meilleure analyse des constituants des matières et par la suite d'obtenir des résultats fiables et plus précis. C'est dans ce cadre que j'ai effectué mon projet de fin d'étude au sein du laboratoire d'EL Alf, dont l'objectif de la mise en place des analyses indiquant la qualité de la cuisson du soja puis leur validation statistiquement, ainsi que la validation du dosage de calcium par la méthode titrimétrique.

Le présent rapport qui constitue le fruit d'une expérience réussite que j'ai pu accumuler tout au long de mon stage, est constitué de trois grandes axes en commençant par une brève présentation de la société ainsi que leur activités et le processus de fabrication, puis tout un deuxième chapitre consacré aux termes et définitions des bases théoriques nécessaires pour effectuer le traitement du sujet dans le dernier chapitre.

Chapitre I : *Société d'EL ALF présentation, activités* *Et processus de production*

I. Présentation de la société :

La société EL ALF, est l'une des principales entreprises agricoles à Fès, qui se spécialise dans la fabrication et la commercialisation des aliments de bétails et volailles, c'est une société anonyme créée en 1974 par le groupe Chawni à SIDI BRAHIM à Fès avant de se déplacer au nouveau site, situé au lotissement ENNAMAE au quartier industriel BEN SOUDA. La société se décompose en 3 grandes unités :

- La production : pour la fabrication d'aliments composés équilibrés, présentés sous forme de farine, miettes ou granulés et adaptés pour chaque type d'animal.
- Le laboratoire : pour les analyses physicochimiques et microbiologiques
- Le prémix : pour la fabrication d'un prémélange appelé prémix ; ce sont des concentrés d'oligo-éléments, de vitamines et de minéraux. Ils sont associés en faible pourcentage aux différentes matières premières pour constituer l'aliment complet à destination du bétail.

1) Fiche techniques de la société :

Raison sociale	Société EL ALF
Forme juridique	Société Anonyme (S.A).
Date de création	1974

Capital	50.000.000.00 DH
Patente	13245830
Identification fiscale	04500755
Tél	00 .212 5.35.72.80.95
Fax	055 65 56 08
E-mail	elalf-fes@menara.ma
Siège social	Lotissement Ennamae Quartier, Industriel Ben souda Fès MAROC
Superficie	6000 m2, dont 2500 m2 couverts
Activités	Fabrication d'Aliments composés pour Bovins, Ovins et Volailles
Capacité de production	700 tonnes.
Canaux de distribution des produits	fermes propres à l'entreprise, Revendeurs et Eleveurs
	144 permanentes
	52 temporaires
Certification	ISO 9001 version 2008 et OHSAS 18001



2) *Organigramme de la société d'AL ALF* : Voir l'annexe.

II. Alimentation animale et processus de production :

Les animaux doivent trouver dans leur alimentation des apports quotidiens en énergie, en protéines, en vitamines, en minéraux et en fibres végétales. Ils les trouvent dans les aliments composés où les différentes matières premières sont assemblées en fonction de ce qu'elles apportent dans un dosage équilibré. Pour tous les animaux d'élevage, les céréales constituent la base énergétique de la ration alimentaire. Elles représentent en moyenne près de 50% des matières premières mises en œuvre dans les aliments composés.

1. A chaque animal son aliment composé :

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, le formulateur, compose pour chacun une recette adaptée : un assemblage spécifique de matières premières...Un aliment nutritionnellement équilibré doit aussi être facile à

consommer. Pour cela les fabricants adaptent la forme de présentation de l'aliment: farine (poussin, poule), miette (volaille), petit ou gros granulé (porc, bovin) sont distribués aux animaux en fonction de leur taille et de leur morphologie.

Pour élaborer des aliments équilibrés pour tous les animaux, en fonction de leur spécificité, les fabricants doivent très bien connaître :

- les besoins des animaux. Cette connaissance doit être très détaillée et très précise
- la composition des matières premières, en allant jusqu'à chaque nutriment en qualité et en quantité.

2. Contrôle qualité au laboratoire de la société :

Le contrôle de la qualité fait partie des bonnes pratiques de fabrication ; il concerne l'échantillonnage, les spécifications, le contrôle, ainsi que les procédures d'organisation, de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriées ont réellement été effectuées et que les matières premières, et les produits finis ne sont pas libérés pour l'utilisation, la vente ou l'approvisionnement sans que leur qualité n'ait été jugée satisfaisante.

La qualité des matières premières et des produits finis est contrôlée en permanence. Ces contrôles peuvent porter sur la qualité des produits finis, ou celle des matières premières utilisées, les différentes analyses de contrôle de qualité du laboratoire sont les suivantes :

a) Les analyses physico-chimiques:

Pour chaque matière première et produit fini le service qualité définit des paramètres d'analyse (humidité, température, activité d'eau..) qui vise la valeur nutritionnelle du produit, accompagnée des fréquences d'analyse pour les comparer avec des normes prédéfinies.

➤ Détermination de l'humidité:

Après broyage et conditionnement éventuels, la méthode consiste à un séchage du produit à une température de 103°C(ou autre selon le produit) pendant quatre heures.

➤ Dosage des cendres brutes:

On entend par cendres brutes, le résidu obtenu après incinération dans les conditions de la norme. La teneur en matière minérale d'une substance est conventionnellement le résidu de la substance après incinération dans un four pendant six heures à une température de 550°C.

➤ La teneur en cellulose:

Cellulose brute: résidu organique obtenu après un double hydrolyse réalisée successivement avec une solution acide et une solution basique. C'est une estimation par excès de la cellulose, car le résidu contient aussi une fraction variable de la lignine et des hémicelluloses

➤ Détermination de la teneur en protéine brute selon la méthode de Kjeldahl:

La méthode Kjeldahl consiste à doser la teneur en protéine brute après une minéralisation effectuée à l'aide d'un excès d'acide sulfurique concentré, en présence de catalyseurs pour accélérer la réaction de décomposition.

Après minéralisation, tout l'azote se trouve dans le minéralisât sous une même forme minérale, Après une l'alcalinisation des produits de la réaction puis distillation, l'azote est ensuite dosé par une solution titrée d'acide sulfurique.

➤ Dosage de la matière grasse selon la méthode de Soxhlet :

C'est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés. C'est une méthode gravimétrique qui consiste à une extraction préliminaire à l'éther de pétrole de la matière grasse des échantillons.

➤ Détermination de l'activité de l'eau :

La méthode Consiste à déterminer l'eau libre dans l'échantillon à l'aide d'un activimètre.

b) Les analyses bactériologiques :

➤ Recherche des moisissures : La méthode consiste à un dénombrement de moisissures en ensemençant des échantillons sur la gélose Sabourand des différentes dilutions préparées dans l'eau péptonée.

➤ Recherche des salmonelles : On procède à la recherche de salmonelle par la méthode classique en passant par le pré-enrichissement dans l'eau péptonée tamponnée et enrichissement dans le bouillon sélénite, puis l'ensemencement sur le vert brillant.

- Recherche des mycotoxines: ce sont des métabolites secondaires hautement toxiques produits principalement par les champignons des espèces *Fusarium*, *Aspergillus*, et *Penicillium*. Ce sont des petites molécules de durée de vie dans l'aliment bien plus longue que celles des champignons les ayant synthétisés. Elles sont chimiquement et thermiquement stables. Le laboratoire de la société s'intéresse à la recherche de trois types de mycotoxine : L'aflatoxine Total ou AFT, Le déoxynivalénol ou DON et Fumonisine FUM.

Les

Mycotoxine	Denrées	Champignon producteur	Conséquences de l'ingestion
Aflatoxine	Maïs, Arachides	<i>Aspergillus</i>	Potentiellement cancérigènes chez l'homme. Effets néfastes sur divers animaux et en particuliers les poulets
Déoxynivalénol	Blé, Maïs et Orge	<i>Fusarium culmorum</i>	Intoxications humaines. Toxiques pour les animaux et en particulier les porcs
Fumonisine	Maïs	<i>Fusarium moniliforme</i>	cancérigène chez l'homme. Toxique pour les porcs et les volailles. Responsable d'une maladie mortelle pour les chevaux.

mycotoxines dans les grains et graines de base.

Principe du test :

Le test ELISA est une technique immuno-enzymatique de détection, qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

La technique ELISA en compétition utilise une protéine à rechercher, immobilisée sur un support plastique et un anticorps spécifique conjugué à une enzyme, qui est révélé par l'addition d'un substrat qui se colore. Ce système de révélation est mis en compétition par une mise en présence préalable d'un échantillon à doser avec l'anticorps conjugué. Ce dernier est alors bloqué par la protéine recherchée et n'est donc pas révélé sur le support plastique. Ce système fonctionne à l'envers dans le sens où plus il y a de protéine présente, moins il y a de coloration.

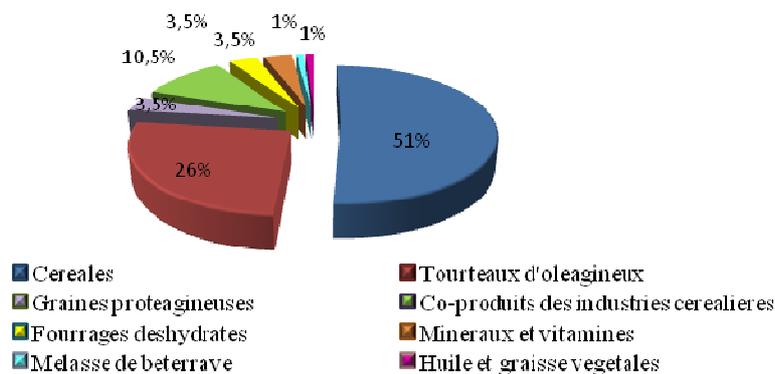
III. Processus de fabrication :

Le processus de fabrication des aliments composés peut se décomposer en plusieurs étapes principales : la réception des matières premières, la fabrication et l'expédition. Elles sont précédées d'une étape de recherche et de formulation pour déterminer les besoins alimentaires des animaux et les caractéristiques des matières premières sont rigoureusement étudiés dans les laboratoires et les centres de recherche afin d'assembler les ingrédients dans des proportions adaptées.

1. Formulation et recherche de la meilleure recette :

Les animaux doivent trouver dans leur alimentation des apports quotidiens en énergie, en protéines, en vitamines, en minéraux et en fibres végétales. Ils les trouvent dans les aliments composés où les différentes matières premières sont assemblées en fonction de ce qu'elles apportent dans un dosage équilibré. C'est cet assemblage, convenablement dosé et proportionné, qui constitue l'étape de la formulation, c'est à dire la détermination de la meilleure recette possible.

Pour tous les animaux d'élevage, les céréales constituent la base énergétique de la ration alimentaire. Elles représentent en moyenne près de 50% des matières premières mises en œuvre dans les aliments composés.



La composition moyenne d'un aliment

2. La réception des matières premières au sein de l'entreprise

D'origines variées, aussi bien locales, qu'internationales, ces matières premières, à leur arrivée, sont pesées et font l'objet d'un prélèvement d'échantillon destiné au contrôle de leur qualité. Ces échantillons sont conservés pendant trois mois sur le site et permettent une traçabilité complète des produits finis.

Les matières premières livrées sont déversées dans des fosses équipées de trémies qui dirigent les matières premières au moyen d'élévateur à godets vers des silos de stockage rigoureusement identifiés, pour empêcher les mélanges de différentes matières premières entre elles.

3. Le broyage et le prémélange

Après un passage dans l'une des deux bennes peseuses, La quantité de matière première définie selon la formule de l'aliment à fabriquer, rejoint un broyeur à marteaux permettant ainsi de réduire la taille de la matière première à une granulométrie plus petite afin de réaliser des mélanges homogènes , après passage sur des grilles qui permettent de calibrer la taille du grain, les matières premières rejoignent le mélangeur.

4. Le mélange

Après avoir été pesées, broyées et prémélangées, les matières premières sont dirigées vers une mélangeuse qui permet, suivant la formule à réaliser, l'addition de compléments, des aditifs et des liquides nécessaires tels que : l'huile, la choline, méthionine, et vitamines.. Cette étape d'une durée de quatre min constitue une étape essentielle permettant d'obtenir une homogénéité parfaite du produit.

Si la composition du produit nécessite l'ajout de mélasse, le mélange obtenu passe par un mélasseseur qui assure l'ajout de mélasse de betterave selon la formule. La fabrication des produits utilisés sous forme de farine se termine à cette étape. La fabrication de granulés nécessite une étape supplémentaire de pressage pour l'obtention des granulés.

5. Fabrication des granules :

La farine est dirigée, vers une presse dans laquelle est injectée de la vapeur d'eau pour obtenir une pâte à 85°C. Cette pâte est ensuite poussée vers un anneau d'acier perforé de petits trous qui permet à la pâte de sortir sous forme de bâtonnets qui sont ensuite cassés en morceaux de quelques mm et refroidis, ce sont les granulés. Le tamisage des granulés est l'ultime étape avant le stockage permettant d'éliminer les différentes poussières.

6. L'acheminement de l'aliment jusqu'en élevage

Les aliments sont chargés dans des camions, accompagnés d'une étiquette ou d'un bon de livraison sur lesquels on retrouve obligatoirement la composition de l'aliment, ses garanties nutritionnelles, le mode d'emploi et tous les éléments de traçabilité permettant de remonter à la formule fabriquée et aux matières premières incorporées.



Chapitre II : Rappels sur la validation de méthode D'analyse et sur le soja

A. La validation d'une méthode d'analyse :

La validation est généralement l'étape ultime du développement d'une nouvelle méthode analytique avant son application en analyse de routine. Basée sur des exigences scientifiques et réglementaires, elle doit permettre d'évaluer les performances de la méthode par l'étude d'un certain nombre de paramètres appelés « critères de validation » au moyen d'outils statistiques appropriés.

Le principe de la validation des procédures analytiques quantitatives est, aujourd'hui largement, répandu dans tous les domaines d'activité où des mesures sont réalisées. Le champ d'application de la validation analytique s'étend à toute procédure d'analyse utilisée dans le contrôle de la matière première, le contrôle en cours de fabrication, le contrôle des produits intermédiaires et des produits finis.

En effet, si un laboratoire effectue des analyses c'est dans le but d'obtenir des résultats qui sont utiles pour une prise de décisions. Il faut donc que ces résultats soient interprétables c.à.d. qu'ils doivent être valides, pour mieux répondre aux besoins des clients du laboratoire. Ceci fait clairement apparaître le lien étroit qui existe entre la qualité d'une analyse et la validation de la méthode qui permet de la faire. D'ailleurs les référentiels utilisés dans les laboratoires affirment que toute méthode doit être validée avant d'être utilisée.

I. Validation d'une méthode :

La validation d'une méthode est le procédé par lequel on confirme que la procédure analytique employée pour mener un test en particulier, répond aux exigences de l'usage auquel elle est destinée. Les résultats de la validation de méthodes peuvent être utilisés pour juger la qualité, la fiabilité et la cohérence des résultats analytiques. Ce procédé fait partie intégrante de toute bonne pratique analytique. Les étapes de la validation statistique d'une méthode de mesure sont :

- **Etape 1** : Connaissance des besoins ou spécifications du laboratoire.
- **Etape 2** : Analyse technique détaillée de la méthode de mesure.

- **Etape 3** : Caractérisation des performances statistiques de la méthode.
- **Etape 4** : Mise en assurance qualité de la méthode de mesure
- **Etape 5** : Amélioration de la robustesse de la méthode de mesure

La problématique de validation de méthodes n'est pas une nouveauté; de nombreuses références ont été publiées sur le sujet, les plus connues sont :

- ✚ La série de Normes ISO 5725 Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure, 1994 / 1996 forment un corpus complet, très statistique.
- ✚ Les guides du COFRAC, COmité FRançais d'ACcréditation.
- ✚ La Norme ISO 17025 : 2005 Exigences générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais. C'est la référence pour l'accréditation des laboratoires par le COFRAC. Elle s'organise en 2 parties distinctes : "Prescriptions relatives au management", reprenant les exigences de l'ISO 9001 : 2000, avec des ajouts nombreux et "Prescriptions techniques" qui traitent de la compétence du personnel, des installations adéquates, qui exige des méthodes d'essai décrites et validées, du matériel adapté, la traçabilité du mesurage, etc.

La norme ISO/CEI 17025 stipule que :

- Le laboratoire doit utiliser des méthodes d'essai qui répondent aux besoins des clients et qui conviennent aux essais et/ou étalonnages qu'il effectue, de préférence des méthodes publiées comme normes internationales ou nationales.
- Des méthodes développées par le laboratoire ou des méthodes adoptées par le laboratoire peuvent également être employées si elles conviennent à l'usage prévu et qu'elles ont été validées.
- Le laboratoire doit valider les méthodes non normalisées, les méthodes développées par le laboratoire, les méthodes employées en dehors de leur domaine d'application prévu, ainsi que les amplifications ou modifications de méthodes normalisées, afin de confirmer que les méthodes sont aptes à l'emploi prévu.
- Le laboratoire doit confirmer qu'il peut correctement appliquer des méthodes normalisées avant de les mettre en œuvre pour des essais ou des étalonnages.

1. Vérification d'une méthode normalisée :

Il s'agit ici de déterminer les caractéristiques de la méthode normalisée telle qu'elle est appliquée au sein du laboratoire et de vérifier que ces caractéristiques sont compatibles avec celles définies par la

méthode normalisées ou avec celles fixées par le responsable technique du laboratoire. Les caractéristiques à vérifier sont:

- la répétabilité,
- la reproductibilité interne,
- le domaine de linéarité,
- la limite de détection,
- la limite de quantification.

La participation à des essais inter laboratoires, s'il en existe, est indispensable pour assurer la maîtrise dans le temps de la méthode.

2. Validation d'une méthode non normalisée :

Lors de l'utilisation d'une méthode complètement développée en interne, ou d'une méthode connue, mais adaptée, ou encore une méthode connue, mais employée en-dehors de son domaine d'application prévu, alors il faut prouver que la méthode en question est bien apte à l'emploi qu'on prévoit d'en faire.

En effet la validation d'une méthode non normalisée doit inclure les éléments de vérification cités précédemment auxquels s'ajoutent la détermination de la spécificité de la méthode et de sa justesse par rapport à une méthode de référence ou à des matériaux ou solutions de référence certifiées. Les objectifs de performance de la méthode doivent être fixés au préalable par le responsable technique du laboratoire et vérifiés lors de la validation.

II. Les indicateurs statistiques de la performance d'une méthode de mesure:

La validation d'une méthode d'analyse entraîne la détermination de plusieurs paramètres : les limites de détection et de quantification d'une méthode, la limite de linéarité, la fidélité, la justesse, la sélectivité et l'intervalle de mesure... Dans la suite, nous nous présenterons l'importance de la normalité des résultats de mesure dans tout processus de validation.

- ✚ **Justesse :** C'est l'écart entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur de référence acceptée (ISO 5725-1:1994).
- ✚ **Fidélité :** C'est l'écart entre des résultats d'essai indépendants obtenus sous des conditions stipulées (ISO 5725-1:1994) il y a :
 - **Répétabilité :** C'est la fidélité sous des conditions de répétabilité (ISO 5725-1:1994). Conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essai identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps (ISO 5725-1:1994).

- **Reproductibilité :** C'est la fidélité sous des conditions de reproductibilité (ISO 5725-1:1994). Conditions où les résultats d'essais sont obtenus par la même méthode sur des individus d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs utilisant des équipements différents (ISO 5725-1:1994).
- ✚ **Linéarité :** C'est la capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir une valeur d'information ou des résultats proportionnels à la quantité en analyte à doser dans l'échantillon pour le laboratoire (AFNOR XP T90-210 Décembre 1999).
- ✚ **Limites de linéarité :** Les limites de linéarité sont les limites expérimentales de grandeurs entre lesquelles un modèle d'étalonnage linéaire peut être appliqué avec un niveau de confiance connu (AFNOR XP T90-210 Décembre 1999). L'intervalle entre les limites de linéarité est le domaine de linéarité.
- ✚ **Spécificité :** C'est la capacité d'une méthode d'analyse de convenir exclusivement à la détermination de la grandeur de l'analyte considéré, avec la garantie que le signal mesuré provient seulement de l'analyte (AFNOR XP T90-210 Décembre 1999).
- ✚ **Limite de détection :** C'est la plus petite quantité d'un analyte à examiner dans un échantillon, pouvant être détectée et considérée comme différente de la valeur du blanc mais non nécessairement quantifiée (AFNOR XP T90-210 Décembre 1999).
- ✚ **Limite de quantification :** C'est la plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminée quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans la méthode avec une variabilité définie (AFNOR XP T90-210 Décembre 1999).
- ✚ **Robustesse :** C'est l'aptitude d'une méthode d'analyse à fournir de faibles variations du résultat lorsqu'elle est soumise à des modifications des conditions d'application par exemple ; température, pression atmosphérique, réactifs et appareillages...

B. Les techniques statistiques au service de la qualité au laboratoire :

La maîtrise des différents critères de validation revêt une importance croissante et l'établissement d'un dossier de validation devient un aspect important du travail de laboratoire. La mise en place de protocoles expérimentaux obligent le scientifique à devoir mieux comprendre les aspects méthodologiques, ainsi que les concepts et les tests statistiques intervenant dans la maîtrise et l'analyse des résultats fournis.

D'où l'importance de la statistique qui englobe l'ensemble des méthodes servant à mesurer, organiser, analyser et interpréter les données, les observations, les expériences et les résultats. C'est la démarche qui permet de trouver l'ordre dans le désordre apparent ainsi que l'ensemble des outils qui permettent de mieux quantifier pour bien qualifier.

I. Définitions des termes statistiques :

1) Caractéristiques de position

Les caractéristiques de position d'une série statistique servent à résumer le profil de cette série statistique. Parmi ces caractéristiques, on retient :

- ✚ Le mode : On appelle mode d'une série statistique la modalité la plus fréquente. Il peut ne pas exister et n'est pas nécessairement unique.
- ✚ La médiane : La médiane d'une série statistique, que l'on note généralement M, est une valeur de la variable étudiée qui partage la liste des valeurs ordonnées en deux groupes de même effectif.
- ✚ Les quartiles : Les quartiles d'une série statistique, que l'on note généralement Q1, Q2, Q3 sont trois valeurs de la variable étudiée qui partagent la liste des valeurs ordonnées en quatre groupes de même effectif. Dans la pratique, pour obtenir le premier quartile Q1, on prend la valeur dont le rang est l'arrondi supérieur du quart de l'effectif total de la série et pour obtenir le troisième quartile Q3, on prend la valeur dont le rang est l'arrondi supérieur des trois quarts de l'effectif total de la série.
- ✚ La moyenne : Dans le cas où une analyse sur un échantillon est répétée un certain nombre de fois, la valeur moyenne de ces mesures est un nombre important, elle se calcule en faisant la somme des valeurs trouvées par les mesures et en divisant cette somme par le nombre de mesures :

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum x_i$$

2) Caractéristiques de dispersion :

Les caractéristiques de dispersion d'une série statistique permettent de mesurer à l'aide d'une valeur numérique l'homogénéité, ou l'hétérogénéité de cette série. Autrement dit, ces caractéristiques indiquent par leur ordre de grandeur si les valeurs de la série sont concentrées autour d'une valeur particulière, ou au contraire si elles sont dispersées. Les caractéristiques de dispersion auxquels on s'intéresse sont :

- ✚ L'étendue : On appelle étendue d'une série statistique la différence entre les deux valeurs extrêmes de la série.
- ✚ La variance : C'est le terme le plus significatif statistiquement pour exprimer la qualité des données. La formule mathématique de la variance s'écrit comme suit :

$$\text{Var}(X) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

- ✚ L'écart type : L'écart type est un indicateur pour mesurer la dispersion d'une série statistique par rapport à sa moyenne. Son ordre de grandeur indiquera donc si les valeurs de la série sont plutôt regroupées autour de la moyenne, ou au contraire si elles sont plutôt éloignées par rapport à cette moyenne. L'écart type est la racine carrée de la variance :

$$s = \sqrt{\text{Var}}$$

✚ Le coefficient de variation CV : c'est le rapport de l'écart-type à la moyenne. Plus la valeur du coefficient de variation est élevée, plus la dispersion autour de la moyenne est grande. Il est généralement exprimé en pourcentage. Sans unité, il permet la comparaison de distributions de valeurs dont les échelles de mesure ne sont pas comparables.

$$CV = \frac{s}{m} 100$$

II. Tests statistiques de la validation :

La liste des tests statistiques décrits dans la littérature est très longue. Il en existe plusieurs centaines. Parmi ceux-ci seulement un nombre restreint connaît des applications régulières. En ce qui concerne la validation des méthodes, nous avons choisi de décrire quelques tests qui sont réellement nécessaires aux études présentées. Ils sont rassemblés dans le tableau suivant :

Objectif	Test a réalisé
Vérifier l'égalité de deux variances	Test de Fisher
Vérifier l'égalité de plusieurs variances	Test de Cochran
Vérifier l'égalité de deux moyennes	Test de Student
Vérifier l'égalité de plusieurs moyennes	ANOVA
Recherche des données aberrantes	Test de Dixon
Recherches des moyennes aberrantes	Test de Grubbs

1. Test pour l'étude de la normalité d'une distribution :

Plusieurs outils statistiques de la qualité se basent sur l'hypothèse selon laquelle les données sont distribuées selon une loi normale. Une variable aléatoire quantitative est dite normale si :

- Il est soumis à un grand nombre d'effet (température, vibration, réglages...)
- Ces différents effets sont indépendants les uns des autres (pas d'interaction forte entre eux)
- Ces différents effets sont d'un ordre de grandeur équivalent.

Différentes méthodes et tests statistiques permettant de tester la normalité d'une population parmi lesquelles il y a :

a) En utilisant le test de Shapiro et Wilk :

Le test de Shapiro-Wilk permet de tester si les observations sont issues d'une loi Normale. Ce test est plus puissant lorsque la taille de l'échantillon est inférieure à 50, il se fonde sur le calcul de la valeur W:

$$W = \frac{(\sum_{i=1}^n a_i x_i)^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Où a_i sont les coefficients du Shapiro et Wilk et x_i le rang de la $i^{\text{ème}}$ valeur.

L'hypothèse nulle du test est que les données sont normalement distribuées, et que par conséquent si la p-value de W est inférieure à 0.05, l'hypothèse de normalité doit être rejetée. Donc pour savoir si on doit accepter ou rejeter l'hypothèse nulle, la p-value est comparée au seuil alpha.

- Si p-value de W est supérieur au seuil choisi, les données sont normalement distribuées.
- Si p-value de W est inférieure au seuil choisi, la distribution n'est pas normale.

Le test de Shapiro-Wilk nous indique d'une façon générale si une distribution est proche de la loi normale ou non, mais ne nous renseigne pas sur la nature de la non normalité. Outre l'inspection visuelle des histogrammes, et la droite d'Henry, il existe des mesures qui permettent de caractériser la distribution:

- Le degré d'aplatissement de la distribution: kurtosis
- La symétrie de la distribution : Skewness

b) Examen visuel des graphiques :

L'examen visuel des graphiques d'ajustement est un bon complément aux tests d'adéquation. L'histogramme et la droite de Henry sont des présentations graphiques permettant d'évaluer la normalité d'une distribution.

2. Analyse de la variance à un facteur :

L'analyse de la variance ou test ANOVA est un test statistique qui permet de comparer globalement la moyenne de plusieurs échantillons. Le nom de ce test s'explique par sa façon de procéder : on décompose la variance totale de l'échantillon en deux variances partielles, la variance inter-classes et la variance résiduelle ou intra-classes, et on compare ces deux variances. Les deux hypothèses à tester sont :

L'hypothèse nulle : il n'y a pas d'effet du facteur et les moyennes sont de même ordre d'égalité.
L'hypothèse alternative : effet de facteur mis en évidence, et les moyennes sont significativement différentes.

La valeur F_{obs} comparée à F_{seuil} lue dans la table de la loi de Fisher-Snedecor pour un risque d'erreur α fixé et $(p-1, N - p)$ degrés de liberté, avec :

$$F_{obs} = \frac{\frac{SCE_{inter}}{k-1}}{\frac{SCE_{intra}}{N-k}}$$

- Si $F_{obs} > F_{seuil}$ l'hypothèse H_0 est rejetée au risque d'erreur α : le facteur contrôlé a un effet significatif en moyenne sur les valeurs de la variable étudiée.
- Si $F_{obs} \leq F_{seuil}$ l'hypothèse H_0 est acceptée: le facteur contrôlé n'a pas d'effet significatif en moyenne sur les valeurs de la variable étudiée.

3. Tests sur les données aberrantes : Test de DIXON:

Un point aberrant provient d'une mesure pour laquelle un ou plusieurs paramètres sont hors contrôle. Les valeurs aberrantes présentent des écarts par rapport à la moyenne ou au modèle réellement plus importants que les écarts dus à la variabilité naturelle des mesures.

Le test de DIXON consiste à comparer la distance entre les points les plus éloignés du modèle et les points immédiatement plus voisins à l'étendue totale des résidus.

- Les données sont trier par ordre croissant avec x_1 la valeur la plus basse, et x_n la plus haute.
- On calcule le rapport w_1 pour vérifier si la valeur inférieure est acceptable, puis w_2 pour vérifier si la valeur supérieure est acceptable avec :

$$w_1 = \frac{X_2 - X_1}{(X_n - X_1)} \quad w_2 = \frac{X_n - X_{(n-1)}}{(X_n - X_1)}$$

- Lire les valeurs limites dans les tables pour n répétitions aux risques 5% et 1%, puis les comparer aux valeurs limites

Règle de décision :

- ✚ Si un des rapports est supérieur à la valeur de la table au risque 1% le résultat est considéré comme aberrant.
- ✚ S'il est supérieur à la valeur de la table au risque d'erreur 5%, il est considéré comme suspect.

4. Test de Bartlett : Comparaison de plusieurs écarts types :

Le test de Bartlett est utilisé dans le but de tester ou vérifier l'homogénéité de plusieurs écarts types, pour cela les hypothèses en concurrence sont :

- L'hypothèse nulle H_0 : les écarts-types observés sont du même ordre de grandeur
- L'hypothèse alternative H_1 : les écarts-types sont significativement différents.

Pour conclure entre les deux hypothèses H_0 et H_1 en calcule la statistique suivante :

$$E_{obs} = \frac{1}{D} \left[v * \text{Log}(s *)^2 - \sum_{j=1}^p v_j \text{Log}(s_j)^2 \right]$$

$$D = 1 + \frac{\sum_{j=1}^p \frac{1}{v_j} - \frac{1}{v *}}{3(p-1)} \quad \text{avec} \quad v * = \sum_{j=1}^p v_j \quad \text{et} \quad s * = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^p v_j (s_j)^2}{v *}}$$

Règles de décision :

Lire χ^2 (n-1) ddl dans la table de χ^2 (voir annexe) et la comparer avec E_{obs} .

- ✚ Si $E_{obs} < \chi^2$ (n-1) ddl, on garde l'hypothèse H_0 selon laquelle les écarts types sont de même ordre de grandeur
- ✚ Si $E_{obs} > \chi^2$ (n-1) ddl, on garde H_1 et dans ce cas, il y a au moins un écart-type différent des autres. Un examen visuel des écarts-types est nécessaire pour voir quels types de regroupements d'écarts types on peut faire et rechercher ensuite les causes de ces disparités.

C. Les indicateurs de contrôle de la qualité de cuisson du soja :

I. Graine de soja, ses qualités et méthodes d'extraction :

1. Graine de soja :

Le soja, ou soya, est une plante grimpante classé dans la catégorie des légumineuses, proche du haricot, largement cultivée pour ses graines oléagineuses qui fournissent la principale huile alimentaire consommée dans le monde. Le tourteau, issu de la trituration des graines de soja est la principale matière riche en protéines employée en alimentation animale.

Il en existe plus de 100 variétés différentes qui se distinguent par la taille, la couleur, la teneur en protéines et la consistance huileuse. La variété à graine jaune est la plus fréquemment utilisée car elle contient une combinaison optimale de protéines, lipides et goût. Le soja est cultivé à grande échelle aux États-Unis, au Brésil, en Argentine et en Chine.



Avec une production mondiale de 221 millions de tonnes en 2007/08, le soja domine et continuera à dominer le marché mondial des huiles et des protéines végétales : il représente plus de 50 % en masse de la production mondiale d'oléagineux. En tant qu'oléoprotéagineux, le soja constitue une matière première de choix pour une multitude d'industries utilisatrices de la graine entière de soja, de sa composante protéique ou de l'huile.

2. La composition nutritionnelle de la graine de soja :

En plus d'être une plante respectueuse de l'environnement, le soja, grâce à sa composition nutritionnelle unique dans le monde végétal, est un aliment de choix pour tous ceux qui souhaitent une alimentation saine et équilibrée. Les atouts nutritionnels des aliments de soja sont nombreux :

✚ Une richesse en protéines végétales inégalée :

Le soja est particulièrement riche en protéines, sur les 20 acides aminés que contiennent les protéines dans la nature, 8 sont dits essentiels, c'est-à-dire que l'organisme n'est pas capable de les fabriquer. Il faut donc les trouver dans l'alimentation et éviter toute carence. Le soja présente la particularité de les contenir tous les 8. De plus, les protéines du soja présentent une valeur biologique supérieure aux autres protéines végétales ainsi elles sont caractérisées par leur grande digestibilité.

✚ Des lipides de qualité :

Les graines de soja contiennent peu d'acides gras saturés (dont notre alimentation est souvent excédentaire et dont les effets négatifs sur la santé cardio-vasculaire sont reconnus) et apportent en revanche des acides gras insaturés et polyinsaturés, dont les acides gras oméga 3, que notre organisme ne sait pas fabriquer et dont notre alimentation est souvent déficitaire.

✚ Des isoflavones:

Ce sont des antioxydants faisant partie de la grande famille des polyphénols, naturellement présents dans les fruits et légumes. Les études suggèrent que les isoflavones du soja contribueraient au maintien du capital minéral osseux et auraient un effet positif sur le fonctionnement vasculaire.

3. Les tourteaux de soja définition et présentation :

3.1) Définition :

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, c.à.d. l'industrie de fabrication de l'huile.

L'huile est utilisée à 85-86% pour la consommation humaine. Elle est également utilisée dans l'industrie (savons, détergents, peintures, lubrifiants, cosmétiques, encre...).

Les tourteaux sont utilisés en alimentation animale et constituent la 2ème classe d'aliments la plus importante après les céréales. En effet, ils représentent la principale source de protéines en alimentation animale.

3.2) Obtention des tourteaux après extractions des huiles :

Par trituration, les graines sont transformées en huile de soja et en farine pour l'alimentation humaine ou en tourteaux pour l'alimentation animale. Plus de 130 millions de tonnes de soja par an sont triturées mondialement. Comme pour chaque procédé d'extraction d'huile à partir de graines oléagineuses, trois étapes principales sont essentielles dans la trituration des graines de soja : le broyage, la cuisson et la séparation. Il existe deux grands procédés pour extraire l'huile :

a) Par pression continue à chaud

Un préchauffage des graines jusqu'à environ 90°C est réalisé. Les graines sont ensuite introduites dans une vis sans fin, souvent appelé Expeller. La température va alors s'élever jusqu'à 120°C. Le rendement est meilleur, les tourteaux ont un taux résiduel de matières grasses de l'ordre de 4 à 6%.

b) Par extraction

Les lipides sont extraits par solubilisation dans des solvants organiques (hexane). Les extracteurs, de type continu, sont constitués d'un long caisson dans lequel les graines broyées avancent sur un tapis roulant. L'extraction se fait par lavage par percolation à contre-courant du solvant chauffé à 50-60°C pendant 4 à 5 heures. Le miscella (mélange d'huile et de solvant) est distillé pour séparer : l'huile et l'hexane.

Les tourteaux sont désolvantisés par chauffage à 115-120°C sous aspiration puis par injection de vapeur dans un toaster. Les vapeurs du toaster sont condensées pour récupérer l'hexane entraîné. Dans ce procédé, il y a donc également élévation de la température (cuisson) du tourteau. C'est le procédé qui possède le meilleur rendement, les tourteaux ont un taux résiduel de matière grasse de l'ordre de 0,5% à 2,5%. On parle alors de tourteaux déshuilés ou de tourteaux d'extraction.

II. Le soja : Un aliment incontournable pour les animaux :

Grâce à sa richesse en protéines et en huile, la graine de soja constitue un bon compromis alimentaire pour fournir simultanément les acides aminés et l'énergie dont l'animal a besoin. L'extraction industrielle de l'huile laisse un produit appelé tourteau qui représente 80 % du poids des graines. Ce tourteau, qui est la principale forme utilisée par les animaux, contient jusqu'à 48% de protéines digestes et bien pourvues en lysine, ce qui en fait un produit incontournable pour les élevages intensifs.

Ces graines constituent une matière première de choix pour l'alimentation animale. Elle présente un certain nombre d'avantages, teneur élevée en protéines, en lysine, mais aussi des inconvénients : présence de facteurs antinutritionnels principalement : lectines, facteurs anti-trypsiques. A l'état cru, le soja est très mal toléré. La cuisson permet d'inactiver en grande partie les lectines et les AT et de le rendre mieux utilisable.

1. Optimisation des qualités des protéines de soja par traitements technologiques :

Les graines de soja contiennent de nombreux facteurs antinutritionnels dont la plupart sont thermolabiles. Les graines mûres de soja sont impropres à la consommation animale. Elles ont une faible valeur nutritionnelle. Les produits à base de protéines de soja exigent un traitement thermique pour éliminer les inhibiteurs de protéases, les phytohémataglutines et autres composés antinutritionnels thermolabiles, ainsi que pour transformer les protéines brutes en des formes plus facilement digestibles.

Différents procédés industriels, basés sur l'échauffement de la graine broyée ou non, permettent d'abaisser la teneur de ces facteurs antinutritionnels. On distingue 2 principaux types de traitement du soja : cuisson simple ou toastage et extrusion :

- **Toastage** : Traitement thermique par chauffage direct et injection de vapeur d'eau entre 110- 130°C pendant un temps assez long jusqu'à 30 mn.

- **Extrusion** : Traitement mécanique (compression et cisaillement à des pressions entre 30 et 80 bars) et thermique (130 à 150°C) pendant un temps très court pendant 10 à 30 secondes, obtenu par entraînement de la matière première par une ou plusieurs vis vers une filière. La chaleur peut être obtenue par friction et par chauffage du fourreau. Ce traitement, s'il est bien conduit, est supérieur au toastage : meilleure digestibilité.

D'autres traitements peuvent être utilisés tels que :

- **La torréfaction** : les graines non broyées sont chauffées durant quelques minutes à 160-180 °C par conduction dans un cylindre (cuisson sèche).
- **Le floconnage** : les graines sont cuites en milieu humide à moins de 100°C et pendant 10 à 20 minutes, puis elles sont aplaties à chaud et refroidies.
- **La micronisation** : les graines entières ou broyées passent sous une rampe à rayonnement infrarouge, chauffée au gaz ou à l'électricité (pendant 45-90 secondes, à 120-145 °C).

Bien que le traitement thermique des graines de soja soit nécessaire, un chauffage excessif provoquera une perte de qualité nutritionnelle, en réduisant le Coefficient d'Efficacité Protéique, et en diminuant les qualités fonctionnelles, notamment le profil de solubilité des protéines. Le traitement thermique du soja ne doit pas nécessairement viser la destruction complète des composés indésirables, mais l'inactivation des facteurs les plus thermorésistants, tout en maximisant la rétention de nutriments. Un compromis entre l'inactivation des facteurs antinutritionnels et la conservation de la qualité nutritionnelle et des propriétés fonctionnelles des produits est toujours le plus important mais aussi les plus difficiles à obtenir.

2. *Les substances anti-nutritionnelles préexistantes dans les graines de soja :*

1.1 Définition de facteur antinutritionnel :

On appelle facteur antinutritionnel une protéine contenue dans un ingrédient alimentaire qui en diminue la digestibilité. Il peut s'agir par exemple des inhibiteurs de la trypsine, des lectines et des glucosinolates. Par exemple, à l'état brut, les graines de soja entières contiennent un inhibiteur de la trypsine, c'est-à-dire une substance qui diminue la digestibilité de la protéine. Il faut donc détruire cet inhibiteur en traitant thermiquement le soja pour éviter une baisse de la performance de l'animal.

2.2 Les facteurs anti-nutritifs du soja :

La graine de soja contient des facteurs antinutritionnels dont les plus importants et les plus étudiés pour leur impact sur la physiologie sont:

a) Facteurs anti-trypsiques

Les facteurs anti-trypsiques sont des protéines qui ont la propriété d'inhiber les protéases. Dans le tube digestif, elles forment des complexes très stables avec la trypsine et la chymotrypsine, ce qui

inhibe l'action digestive de ces enzymes. Ces complexes riches en acides aminés soufrés, sont excrétés intacts, ce qui :

- augmente les pertes endogènes de protéines
- diminue fortement la digestibilité des protéines
- accentue la carence en acides aminés soufrés des légumineuses

La baisse de la concentration d'enzyme dans l'intestin grêle conduit, à une hypersécrétion de trypsine, ce qui provoque une hypertrophie du pancréas. Ces facteurs très sensibles à la chaleur, provoquent de forts retards de croissance et une diminution des performances zootechniques

b) Lectines ou phyto-hémagglutinines

Les lectines sont des glycoprotéines assez répandues dans le règne végétal. Elles sont caractérisées par leur affinité pour les sucres. C'est cette caractéristique qui est responsable de leur propriété d'agglutiner les hématies d'où leur nom de phyto-hémagglutinines.

Ces phyto-hémagglutinines ont la faculté de se fixer au niveau des cellules de la muqueuse intestinale et d'empêcher ainsi l'absorption des acides aminés, de la vitamine B12 et des polysaccharides. Elles sont thermolabiles et provoquent :

- des retards de croissance, des anémies ou des colites
- une inflammation des cellules épithéliales de l'intestin

c) L'uréase

Cette enzyme contenue dans la graine de soja crue permet de transformer l'urée en gaz carbonique et en ammoniac. La consommation de soja cru en quantité importante dans des rations enrichies en urée pour les ruminants peut conduire à des intoxications ammoniacales, la flore microbienne ne pouvant assimiler la totalité de l'ammoniac produit.

3. Tests indicateurs de la qualité de cuisson :

Dans la plupart des aliments destinés à l'alimentation animale, le tourteau de soja constitue la principale source d'acides aminés alimentaires. Par conséquent il est primordial d'utiliser, un tourteau de très bonne qualité. Ces tourteaux doivent être traités par la chaleur afin de diminuer ou d'éliminer la présence de facteurs anti-nutritionnels. Ce processus de traitement par la chaleur est déterminant pour la qualité du produit. En effet un tourteau qui n'a pas été suffisamment chauffé comportera de grandes quantités de facteurs antinutritionnels. En revanche un tourteau soumis à une chaleur excessive peut voir sa teneur en acides aminés digestibles, plus spécifiquement en lysine, considérablement réduite. Il est donc essentiel d'utiliser des tourteaux chauffés de manière adéquate.

C'est pourquoi il est nécessaire de disposer de tests permettant de juger la qualité de la cuisson : optimale, sur-cuisson ou sous-cuisson. Les tests les plus couramment utilisés sont :

- L'indice de la solubilité des protéines dans le KOH 0.2%.
- La mesure de l'indice de dispersibilité des protéines

La qualité des protéines de tourteau de soja est liée à la réduction des facteurs antinutritionnels, et l'optimisation de la digestibilité des protéines. L'analyse directe des deux spécifications est difficile dans les opérations de routine. Il est donc remplacé avec des tests indirects comme l'uréase, l'IDP et la solubilité des protéines dans la soude.

a) **Indice de solubilité des protéines dans la soude :**

Il a été suggéré que la solubilité dans le KOH d'une étoffe d'alimentation est bien corrélée à la digestibilité de protéines. La procédure implique l'agitation d'une prise d'essai dans une solution de KOH 0.2% pendant 20 min à température ambiante. Après cette agitation, l'échantillon est centrifugé et le surnageant est analysé pour la concentration en azote. La teneur en azote dans le surnageant est considérée comme indigeste pour l'animal et, par conséquent, la digestibilité ou la quantité de protéines digestibles peut être calculé comme la différence entre la protéine dans l'échantillon et la protéine dans le surnageant.

b) **Indice de dispersibilité des protéines ou IDP:**

Un autre moyen d'évaluer l'adéquation du traitement des graines de soja est l'indice de dispersibilité des protéines. Cet indice a été utilisée dans l'industrie de l'alimentation depuis près d'un quart de siècle, mais a récemment attiré l'attention en tant que méthode pour distinguer la qualité du tourteau de soja pour l'alimentation animale, l'IDP permet de mesurer la quantité de protéines de tourteau dispersé dans l'eau après avoir mélangé la prise d'échantillon dans de l'eau dans un mélangeur à haute vitesse.

Les différentes spécifications concernant les tests pratiqués sur le soja sont présentées dans le tableau suivant :

	Critères	
	% IDP	% sol. KOH
Soja cru	85	90 à 99
Soja insuffisamment cuit	30 à 70	Sup. à 85
Soja correctement cuit	15 à 30	75 à 85
Soja sur-cuit	inf. à 15	inf. à 70

Chapitre III :
Mise en place et validation des
Indicateurs de cuisson du soja et du dosage du calcium

A. Le calcium dans l'alimentation animale :

Le calcium est, avec le phosphore, le principal constituant de l'os et de la dent qui contiennent 99% du calcium corporel. Non seulement indispensable pour l'intégrité du squelette, le calcium intervient aussi dans de multiples processus vitaux par exemple : une mauvaise régulation de la teneur en Calcium du plasma sanguin (ou calcémie) se traduit par des troubles de l'excitabilité neuromusculaire.

Abondant dans les légumineuses et les crucifères, le calcium est déficitaire dans l'ensilage de maïs, les pailles et les céréales. Un complément de calcium est donc souvent nécessaire, notamment pour la vache laitière, et la poule pondeuse, dont les besoins atteignent respectivement 6.9 et 35 g de Ca /kg de ration sèche.

En cas d'excès de calcium plasmatique ou hypercalcémie du par exemple à l'ingestion d'un aliment très riche en calcium, ou hypocalcémie c.à.d. carence ou besoin intense de calcium, plusieurs mécanismes de contrôle d'origine hormonale sont mis en œuvre. Il est donc utile de bien connaître la teneur en calcium des aliments, de plus, son indication est obligatoire sur l'étiquette des aliments composés minéraux et de certaines substances minérales simples.

I. Dosage du calcium par la méthode titrimétrique :

1. Objet et domaine d'application

La méthode permet de déterminer la teneur en calcium total des aliments des animaux.

2. Principe

L'échantillon est incinéré, les cendres sont traitées par l'acide chlorhydrique et le calcium est précipité sous forme d'oxalate de calcium. Après dissolution du précipité dans l'acide sulfurique, l'acide oxalique formé est titré par une solution de permanganate de potassium.

3. Réactifs

- 3.1. Acide chlorhydrique à 30%
- 3.2. Acide nitrique $d=1,40$
- 3.3. Acide sulfurique à 20% $d=1,13$
- 3.4. Ammoniaque $d=0,98$
- 3.5. Solution saturée à froid d'oxalate d'ammonium.
- 3.6. Solution à 30% (p/v) d'acide citrique.
- 3.7. Solution à 5 % (p/v) de chlorure d'ammonium.
- 3.8. Solution à 0,04 % (p/v) de vert de bromocrésol
- 3.9. Solution de permanganate de potassium 0,1 N

4. Appareillage

- 4.1. Four à moufle électrique $550 \pm 20^\circ\text{C}$
- 4.2. Creusets à incinération en platine, quartz ou porcelaine
- 4.3. Creusets filtrants en verre, porosité G4
- 4.4. Balance analytique

5. Mode opératoire

- Peser, à 1 mg près, 5 g environ de l'échantillon, les calciner à 550°C et transvaser les cendres dans un bécher de 250 ml. Ajouter 40 ml d'acide chlorhydrique, 60 ml d'eau et quelques gouttes d'acide nitrique. Porter à ébullition et maintenir celle-ci pendant trente minutes.

- Refroidir, transvaser la solution dans une fiole jaugée de 250 ml. Rincer, compléter le volume jusqu'au trait de jauge avec de l'eau, homogénéiser et filtrer.
- Prélever à la pipette, 10 ml du filtrat et l'introduire dans un bécher de 250 ml. Ajouter 1 ml de solution d'acide citrique et 5 ml de solution de chlorure d'ammonium. Compléter le volume à 100 ml environ avec de l'eau. Porter à ébullition, ajouter 8 à 10 gouttes de solution de vert de bromocrésol et 30 ml de solution chaude d'oxalate d'ammonium. Si un précipité apparaît, dissoudre celui-ci par addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique.
- Neutraliser ensuite très lentement par l'ammoniaque, en agitant constamment, jusqu'à obtention d'un pH de l'ordre de 4,4 à 4,6. Placer le bécher dans un bain d'eau bouillante, maintenir durant trente minutes pour laisser déposer le précipité formé. Retirer le bécher du bain d'eau. Laisser reposer durant une heure et filtrer dans un creuset filtrant G4.
- Laver le bécher et le creuset avec 150 ml d'eau chaude jusqu'à élimination de l'excès d'oxalate d'ammonium. Puis mettre le creuset dans un bécher de 250 ml, et ajouter 80 ml d'une solution chaude d'acide sulfurique et porter à ébullition pendant 20min.
- Titrer goutte à goutte par la solution de permanganate de potassium jusqu'à obtention d'une coloration rose persistante pendant 1 minute.

6. **Calcul des résultats** : La teneur en Calcium exprimée en g/kg d'échantillon :

$$\frac{20.04 * V * C}{m} * \frac{250}{V'}$$

Avec :

V : Volume en ml de la solution titrée de permanganate de potassium utilisé pour le titrage.

C : Concentration de la solution titrée de permanganate de potassium.

m : masse de la prise d'essai en g.

V' : volume en ml de la partie aliquote prélevée.

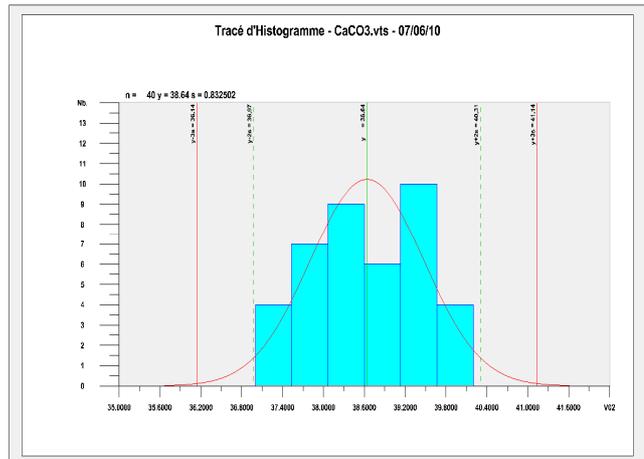
II. Validation du dosage du Calcium par la méthode titrimétrique :

La validation de la méthode du dosage du calcium dans les aliments de bétail et volailles est effectuée en travaillant sur deux produits : un produit fini destiné au poulet de chair et une matière première qui est le carbonate de calcium. Pour les deux produits les résultats du traitement sont obtenus par 5 opérateurs et chacun réalise 8 répétitions. Donc on a :

- p = 5 opérateurs
- n = 8 répétitions
- N= 40 essais

1. Résultats pour le Carbonates de Calcium :

Les résultats d'analyse sont représentés dans le tableau suivant :



répétition	Opérateur				
	op1	op2	op3	op4	op5
1	39,4	38,8	37,9	38,2	39,4
2	39,5	38,2	37,5	39,4	37,6
3	38,8	37,0	37,5	38,2	39,4
4	37,9	38,8	37,8	39,2	39,2
5	37,8	38,2	37,5	37,7	38
6	38,4	38,8	39,0	40,0	40,2
7	38,4	38,6	39,6	39,6	40,0
8	38,6	38,8	39,2	40,1	38,2

Avant de passer aux différents tests statistiques pour évaluer les critères de la validation on doit dans un premiers temps vérifier si la distribution suit une loi normale.

Statistique élémentaire						
Taille d'ech	Min	Max	Etendue	Moyenne	Ecart type	CV%
40	37	40,2	3,2	38,66	0,8304	2,1481

a) Normalité de la distribution :

➤ Evaluation graphique de la normalité :

Avant de passer au traitement de la normalité par le test de Shapiro et Wilk, une représentation graphique sous forme d'histogramme sera utile puisque N est supérieur à 21. Le tracé d'histogramme donne une idée sur l'allure de la distribution s'il est sous forme de cloche ou pas.

Tous les résultats de l'analyse sont donnés par le logiciel lumière.



➤ Test de Shapiro et Wilk :

Les hypothèses du test sont les suivantes :

- H_0 : la distribution n'est pas significativement différente d'une loi normale.
- H_1 : la distribution est significativement différente d'une loi normale.

On a $W_{obs} = 0.9627$ et $W_{crit} = 0.940$

W_{obs} est supérieurs à la valeur critique du tableau du Shapiro et wilk pour α de 95% et $N=40.$, d'autre part le risque alpha donné par le logiciel est bien supérieur à 5%. Donc on rejette l'hypothèse H_1 et on garde H_0 et par la suite la distribution suit une loi normale. Le tableau de résultat de normalité donné par lumière est le suivant :

Test de Normalité : SHAPIRO ET WILK			
Statistique Calculée	Loi	Confiance %	Risque (alpha)%
0,9627	Normale	71,3664	28,6336
La distribution n'est pas significativement différente d'une loi normale			

D'après l'évaluation graphique et le test de Shapiro et wilk, on peut dire que la distribution suit une loi normale.

b) **Analyse de la variance ou ANOVA:**

Il est nécessaire de tester la signification des différences entre des moyennes calculées pour différentes catégories, autrement dit tester une hypothèse nulle selon laquelle les moyennes sont égales. On a alors recours à l'analyse de variance ou ANOVA développée par Fischer. Le principe de base repose sur la décomposition de la variabilité totale en ses composantes :

- intra-groupes : variabilité à l'intérieur de chaque modalité de la variable qualitative
- inter-groupes : variabilité entre les différentes classes, selon la formule :

$$\text{Var}_{\text{totale}} = \text{Var}_{\text{intragroupes}} + \text{Var}_{\text{intergroupes}}$$

La valeur F renvoie au test de Fischer permet de tester la significativité de la relation ou plus exactement de l'indépendance entre les deux variabilités. Le tableau de l'analyse de la variance donné par le logiciel lumières est le suivant :

Analyse de la Variance						
Source	Somme des Carrés	ddl	Carrés Moyens	Fisher	Confiance %	Risque α %
op_#	4,056	4,00	1,0140	1,5539	79,17	20,83
Résidus	22,84	35,00	0,6526			
Total	26,8960	39,00				

Les hypothèses à tester sont :

- Ho : les moyennes ne sont pas significativement différentes.
- H₁ : les moyennes sont significativement différentes.

On a $F_{exp} = 1.5539$ et $F_{th} = 2.65$ donc : F_{exp} est plus petite que la valeur théorique du test de Fisher, donc on garde l'hypothèse Ho et on peut dire que les moyennes sont de même ordre de grandeur.

D'autre part la valeur de la probabilité du test de Fisher est supérieure à 0.05, ce qui prouve qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les moyennes et qu'il n'y a pas d'effet d'opérateur. Autrement dit l'hypothèse d'égalité des moyennes est vérifiée et d'après le diagramme de l'ANOVA qui montre une homogénéité des résultats on peut dire qu'il n'y a pas d'effet du facteur opérateur mis en évidence

c) Evaluation de la fidélité :

Avant de passer au calcul de la répétabilité et la reproductibilité on va dans un premier temps tester l'homogénéité des écarts types et des variances.

d) Homogénéité des écarts types : Test de Bartlett

Les deux hypothèses en concurrence sont :

- Ho : les écarts-types observés sont du même ordre de grandeur
- H₁ : les écarts-types sont significativement différents.

On conclut entre Ho et H₁ en comparant la valeur de E de Bartlett expérimentale avec celle trouvée dans la table statistique.

Nombre d'Echantillons	Ecart-Type Fusionné	ddl. Fusionné	Loi
5,00	0,8078	35,00	Chi ²
E de Bartlett	ddl.	Confiance %	Risque α %
2,2084	4,00	30,2516	69,7484
Les Ecarts-Types ne sont pas significativement différents, ils sont donc fusionnables			

On a $E = 2.2084$ et $\chi^2_{crit} = 9.49$ à 4 ddl et à $\alpha = 5\%$ donc E est bien inférieure à la valeur critique, ce qui montre que les écarts-types observés sont du même ordre de grandeur.

e) La fidélité :

D'après l'analyse de la variance on a :

L'écart type de répétabilité S_r est : $S_r = \sqrt{V_{intra}}$ Donc on $S_r = \sqrt{0.6526} = 0.8078$

L'écart type de reproductibilité S_R est : $S_R = \sqrt{V_{intra} + V_{op}}$ avec $V_{op} = \frac{V_{inter} - V_{intra}}{n}$

$$S_R = \sqrt{0.6526 + 0.045} = 0.8352.$$

Les valeurs données par le logiciel lumière sont les mêmes que les valeurs calculées :

- Ecart -type de Répétabilité : 0,8078
- Ecart -type de Reproductibilité : 0,8353

Pour vérifier la fidélité, les deux écarts types sont comparés à l'aide d'un test de Fisher :

On a $F_{exp} = \frac{0,8353^2}{0,8078^2} = 1.0689$ et $F_{th} = 2.65$ pour $\alpha = 5\%$ $ddl_1=4$ et $ddl_2=35$

Puisque $F_{exp} < F_{th}$ on conclue qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux écarts types, donc la méthode est fidele.

f) La capabilité :

On a la tolérance inferieure $Ti = 38$ et $S_R = 0.8352$ on peut calculer donc l'indice de capabilité de la méthode ICM qui doit être à l'intérieur de **[2.66 , 4]**, avec la relation :

$$ICM = \frac{\bar{X} - Ti}{3 S_R} \quad ICM = 0.29$$

La valeur de ICM est très faible ce qui permet de conclure que la méthode n'est pas capable.

g) Intervalle de confiance :

Si N résultats d'essais sont obtenus dans le laboratoire utilisant la méthode de mesure, d'écart type S alors la valeur vraie μ est encadrée par :

$$\mu = m \pm 2.02 \frac{S}{\sqrt{N}} \text{ pour un degre de confiance de 95\%}$$

Donc $\mu = 38.66 \pm 0.265$ et $IC = [38.395 , 38.925]$

2. Résultats pour le produit fini :

L'ensemble des résultats obtenus est regroupés dans le tableau suivant :

	Opérateur				
répétition	op1	op2	op3	op4	op5
1	0,75	0,8	0,77	0,77	0,76
2	0,75	0,79	0,75	0,75	0,80
3	0,8	0,82	0,75	0,75	0,84
4	0,82	0,81	0,76	0,76	0,85
5	0,8	0,75	0,79	0,82	0,75
6	0,84	0,78	0,7	0,8	0,80

7	0,76	0,8	0,76	0,72	0,76
8	0,78	0,75	0,81	0,76	0,75

Statistique élémentaire						
Taille d'ech	Min	Max	Etendue	Moyenne	Ecart type	CV%
40	0.7	0.85	0.15	0.7783	0,0334	4.2952

a) Etude de la normalité de la distribution :

➤ Evaluation graphique de la normalité :

Puisque $N > 21$, une représentation graphique sous forme d'histogramme sera utile.

L'allure visuelle de tracé l'histogramme donnée par le logiciel laisse supposer que la distribution suit une loi normale. C'est ce qu'on va vérifier à l'aide du test de Shapiro et Wilk.

➤ Test de Shapiro et Wilk :

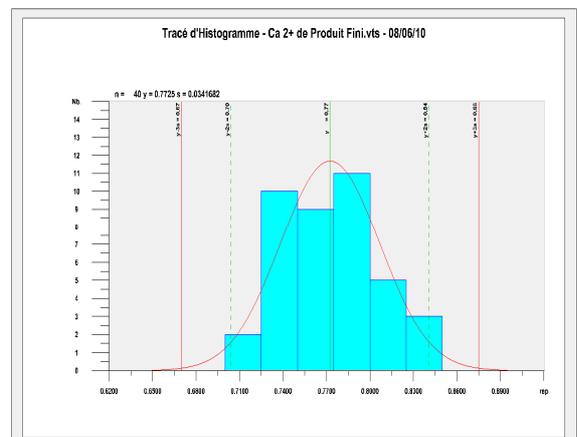
La distribution n'est pas significativement différente d'une loi normale puisque la statistique calculée $W_{obs}=0.9425$ est plus grande que la valeur critique de Shapiro et wilk $W_{th} =0.940$ donc on peut accepter l'hypothèse selon laquelle la distribution est normale.

Test de Normalité : SHAPIRO ET WILK			
Statistique Calculée	Loi	Confiance %	Risque (alpha)%
0,9425	NORMALE	94,1634	5,8366
La distribution n'est pas significativement différente d'une loi normale			

D'après

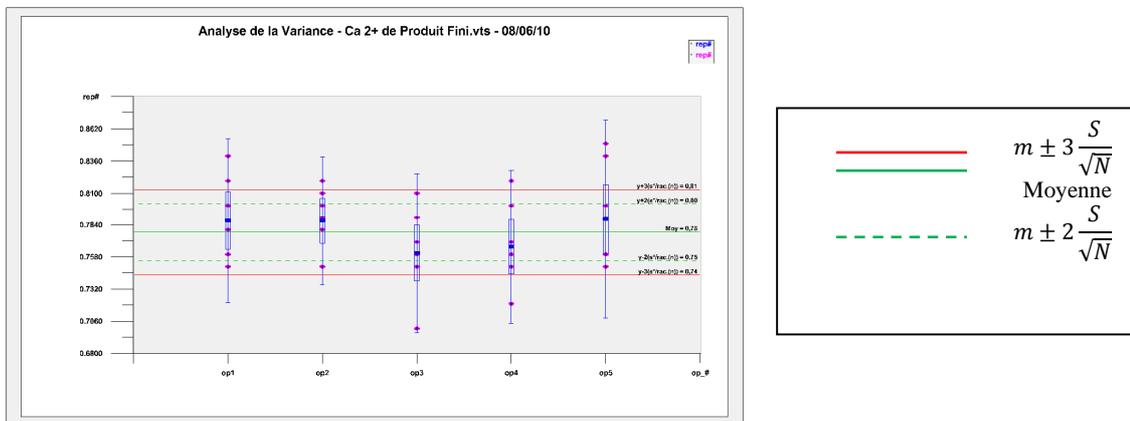
l'évaluation graphique et le test de Shapiro et Wilk, on peut dire que la distribution suit une loi normale.

b) Analyse de la variance ou ANOVA:



Source	Somme des Carrés	ddl	Carrés Moyens	Fisher	Confiance %	risque α %
op_#	0,0057	4	0,0014	1,3207	71,85	28,15
Résidus	0,0379	35	0,0011			
Total	0,0436	39				

Le tableau d'ANOVA décompose la variance de mesure en deux composants, un composant intergroupe et un autre intragroupe. La valeur de F_{exp} qui est dans ce cas égal à 1.3207 est inférieure à F_{th} 2.65 ce qui montre qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les moyennes de mesure d'un niveau d'opérateur à l'autre au degré de confiance 95% ; ce qui est bien claire dans le diagramme d'ANOVA.



c) Homogénéité des écarts types : Test de Bartlett

Nombre d'Echantillons	Ecart-Type Fusionné	ddl Fusionné	Loi
5	0,0329	35	Chi ²
E de Bartlett	ddl	Confiance %	Risque α %
1,2703	4	13,3604	86,6396
Les Ecarts-Types ne sont pas significativement différents ils sont donc fusionnables			

d) Evaluation de la fidélité :

- Ecart -type de répétabilité S_r : 0,0329
- Ecart -type de reproductibilité S_R : 0,0335

Pour vérifier la fidélité, les deux écarts types sont comparés à l'aide d'un test de Fisher :

On a $F_{exp} = \frac{0.0225^2}{0.0229^2} = 1.036$ et $F_{th} = 2.65$ pour $\alpha = 5\%$ $ddl_1=4$ et $ddl_2=35$

Puisque $F_{exp} < F_{th}$ on conclue qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux écarts types donc la méthode est fidèle.

e) La capacité :

On a la tolérance inférieure $T_i = 1$ et $S_R = 0.0335$ on peut calculer donc l'indice de capacité de la méthode ICM avec la relation :

$$ICM = \frac{\bar{X} - T_i}{3 S_R} \text{ donc } ICM = 2.21$$

La méthode est moyennement capable.

f) Intervalle de confiance de mesure :

Les limites de confiance constituent l'intervalle autour de la moyenne qui contient probablement la vraie moyenne, un degré de confiance de 95% signifie que l'analyste est confiant que 95% des mesures seront à l'intérieur de cet intervalle.

Donc on a $\mu = 0.7783 \pm 0.0107$ et $IC = [0.7676, 0.789]$

B. Mise en place des indicateurs de la cuisson du soja

Avant de passer à l'étape de la validation des méthodes, les analyses de l'indication de la qualité de la cuisson du soja doivent être mises en place tous d'abord. Ces analyses sont :

- L'indice de dispersibilité des protéines ou IDP et
- La solubilité des protéines dans la solution de potasse à 0.2%

Ces deux méthodes sont parmi les méthodes du guide AOCS official method, ou méthodes officielles et pratiques recommandés de l'AOCS : American Oil Chemists' Society. AOCS méthodes sont utilisées dans des centaines de laboratoires sur les six continents, c'est une association qui fournit des ressources pour l'information scientifique et le partage des connaissances reliant la science de la chimie par la vie quotidienne. Créée en 1909, cette société révolutionnaire a formée après neuf ans, son premier livre intitulé, officiel Méthodes et pratiques recommandées de l'AOCS , qui a été publié en 1918.

Ces méthodes officielles définissent: L'indice de dispersibilité des protéines ou IDP et la solubilité des protéines dans le KOH 0.2% comme méthode permettant de déterminer la protéine dispersibles dans les produits du soja dans les conditions de l'essai.

I. Solubilité des protéines dans le KOH 0.2%:

1. Champs d'application :

Méthode applicable aux graines de soja broyées, aux tourteaux et grits de soja non dégraissés et dégraissés, ainsi qu'à la farine de soja.

2. Appareillage :

- Un agitateur magnétique
- Une centrifugeuse tournant à 2700tr/min, garnie de tubes de 50 ml ou équivalent
- Une balance analytique
- Un équipement Kjeldahl standard

3. Réactifs:

- Solution d'hydroxyde de potassium KOH 0.2 %
- Les réactifs standards de la méthode Kjeldahl pour l'analyse des protéines

3. Mode opératoire:

- Placer environ 1,5 g d'échantillon dans un bécher de 250 ml, puis ajouter 75 ml de la solution d'hydroxyde de potassium KOH 0.2 %
- Agiter le mélange pendant 20 minutes à 75% de la vitesse maximum de l'agitateur magnétique avec un barreau de 3,6 cm de longueur
- Au bout de 20 minutes, environ 50 ml de liquide est recueilli dans des tubes de centrifugation. Puis centrifuge à 2700 tr/min pendant 10 minutes.
- Avec la pipette, prélever 15 ml du surnageant et le verser dans un matras de Kjeldahl et suivre la procédure de Kjeldahl afin de déterminer la quantité d'azote.

4. Expression de résultats:

La solubilité des protéines est calculée en pourcentage du total de l'échantillon original.

Le pourcentage de protéines soluble dans la potasse :

$$\frac{V \times N \times 0.014 \times 100 \times 6.25}{0.3}$$

Avec :

V : volume du titrage en ml de l'échantillon testé selon la méthode Kjeldahl.

N : la normalité de la solution du titrage dans la méthode Kjeldahl.

Le facteur 6.25 est utilisé pour convertir l'azote de Kjeldahl en protéines.

- L'indice de solubilité dans une solution de potasse à 0.2 %

$$\frac{\% \text{ protéines solubles dans KOH} \times 100}{\% \text{ protéines totales}}$$

II. *Indice de dispersibilité des protéines IDP :*

1. *Champs d application:*

Méthode applicable aux graines de soja broyées, aux flocons entiers ou flocons non dégraissés moulus ou flocons obtenus par extraction, aux tourteaux et grits de soja non dégraissés et dégraissés, ainsi qu'à la farine de soja.

2. *Appareillage:*

- Un malaxeur Hamilton Beach Drinkmaster
- Un ensemble couteau dont les lames peuvent être fabriquées à partir de deux éléments d'acier inoxydables de 60 mm de long sur 12.5 à 9 mm de largeur au centre et 0.6 mm à la pointe. Les pointes d'une lame sont courbées à 90° vers le haut, les pointes de l'autre étant pliées à 30° vers le bas. Les deux lames sont positionnées perpendiculairement l'une à l'autre en formant une croix à angle droit 90°.
- Un bol malaxeur de capacité de 1 litre
- Une centrifugeuse tournant à 2700tr/min, garnie de tubes de 50 ml ou équivalent
- Une balance analytique
- Une minuterie avec alarme
- Un équipement Kjeldahl standard

3. *Réactifs:*

- L'eau distillée et les réactifs standards de la méthode Kjeldahl pour l'analyse des protéines.

4. *Mode opératoire:*

- Peser 20±0.1g de l'échantillon
- Prendre le flacon mélangeur de 300 ml et le remplir d'eau distillée à 25±1 C, verser 50 ml de cette eau dans le bol malaxeur, puis transférer la quantité d'échantillon pesée dans le bol malaxeur. Bien mélanger avec une spatule de façon à obtenir une pâte, ajouter le reste de l'eau sur les parois du bol malaxeur, puis mettre le bol en position de malaxage.
- Malaxer l'échantillon pendant 10 min à 8500 tr/min.

- Retirer le bol malaxeur et verser la barbotine dans un bécher de 600 ml. Après séparation de la barbotine, laisser décanter ou prélever une partie de la couche supérieure à la pipette et la verser dans un tube de centrifugation de 50 ml, puis centrifuger à 2700 tr/min pendant 10 min.
- Avec la pipette, prélever 15 ml du liquide excédentaire et le verser dans un ballon de Kjeldahl afin de déterminer la quantité d'azote selon la méthode Kjeldahl.

5. Expression de résultats:

Le pourcentage de protéines en dispersion dans l'eau est :

$$\frac{V \times N \times 0.014 \times 100 \times 6.25}{m \times 0.05}$$

Avec :

V : volume du titrage en ml de l'échantillon testé selon la méthode Kjeldahl.

N : la normalité de la solution du titrage dans la méthode Kjeldahl.

m : la masse de la prise d'essai en g.

Le facteur 6.25 est utilisé pour convertir l'azote de Kjeldahl en protéines.

Et l'indice de dispersibilité des protéines IDP est :

$$\frac{\% \text{ protéines en dispersion dans l'eau} \times 100}{\% \text{ protéines totales}}$$

6. Précision:

- ✚ L'écart entre les résultats de deux analyses réalisées séparément dans un même laboratoire ne peut excéder 4.375.
- ✚ Accord entre laboratoire : l'écart entre les résultats de deux analyses réalisées séparément dans des laboratoires différents ne peut dépasser 9.664.

C. Protocole de la mise en place des indicateurs de cuisson :

La mise en place de l'analyse de la solubilité des protéines dans le KOH a été bien conduite, vue la disponibilité de tout le matériel et les réactifs nécessaires pour la mise en place de la méthode.

Contrairement à l'IDP ou l'indice de dispersibilité des protéines qui nécessite une agitation de l'ordre de 8500 tr/min par un malaxeur approprié, alors que le laboratoire se dispose d'un malaxeur dont la vitesse minimale est de l'ordre de 18000 tr/min.

L'IDP a nécessité presque deux mois de travail et de recherche pour bien fixer la méthode en cherchant les facteurs influant et les conditions expérimentales permettent de trouver la valeur optimale recherchée.

1) Problématique :

La mesure du pourcentage des protéines dispersibles dans l'échantillon nécessite obligatoirement un malaxeur de type Hamilton Beach Drinkmaster bien adapté à la mesure de l'IDP en réalisant une agitation de 8500 tr/min pendant 10 min. Le laboratoire d'EL ALF ne dispose pas de ce type de malaxeur, mais d'un autre de type Waring Blender de caractéristiques

Capacity:	1 Liter/1.2 Liter
Switch Settings:	Two Speed
Base:	Epoxy Coated Motor Housing
Container:	Stainless steel with handle and two piece vinyls and styrene lid 7011S. Heat resistant glass with handle and two piece vinyls and styrene lid 7011G.
Overall Height:	15 inches/16 inches

Ce malaxeur possède deux niveaux de vitesse :

- High speed où la vitesse maximale de l'ordre de 22 000 tr/min
- Low speed où la vitesse minimale de

l'ordre de 18 000 tr/min

2) Protocole de recherche :

Une étude préliminaire a été menée, en suivant le mode opératoire tel qu'il est, pour avoir une idée sur les valeurs obtenues par le malaxeur du laboratoire.

Donc 6 essais ont été effectués pour chaque tourteau en réalisant une agitation premièrement à 22000 et deuxièmement à 18000, pendant 10 min, et les valeurs obtenues sont représentées dans les deux tableaux suivants :

IDP % TS 44	
Agitation pendant 10 min	
Grande vitesse	Faible vitesse
40,66	30,40
41,93	30,52
40,56	30,32

IDP % TS 48	
Agitation pendant 10 min	
Grande vitesse	Faible vitesse
63,56	50,91
63,74	51,28
63,92	50,73

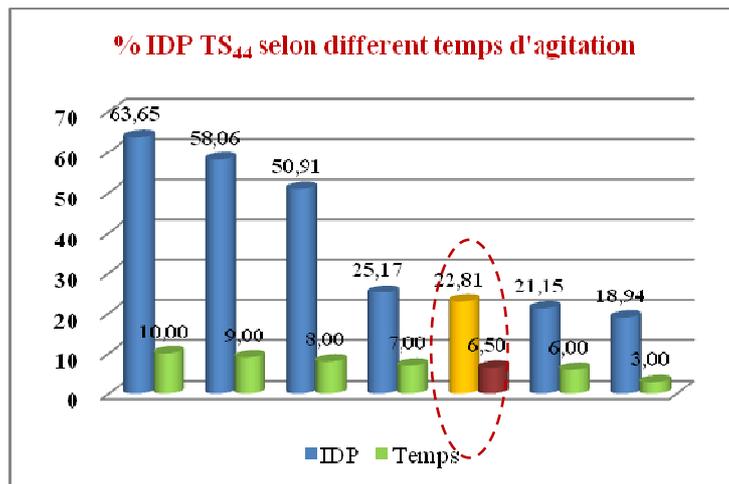
Sachant que les deux tourteaux de soja sont envoyés à un laboratoire externe accrédité qui utilise le même mode opératoire et que les résultats obtenus sont les suivants :

- % IDP pour TS₄₄ = 22.1
- % IDP pour TS₄₈ = 21.4

D'après ces valeurs on constate clairement que les résultats obtenus par notre laboratoire et le laboratoire externe sont incomparables, vu la grande différence entre les valeurs.



La deuxième étape de cette étude est consacrée à réaliser un jeu de facteur permettant de mieux adapter le protocole expérimentale à l'utilisation prévue. Dans ce but, l'idée de base est de fixer la vitesse du malaxeur à son niveau inferieur puis le changement du facteur 'le temps d'agitation' jusqu'à l'obtention d'une valeur la plus proche possible du laboratoire externe, considérée comme valeur de référence. Après la réalisation de plusieurs d'essais, les moyennes des résultats obtenus sont représentées dans le graphe suivant :

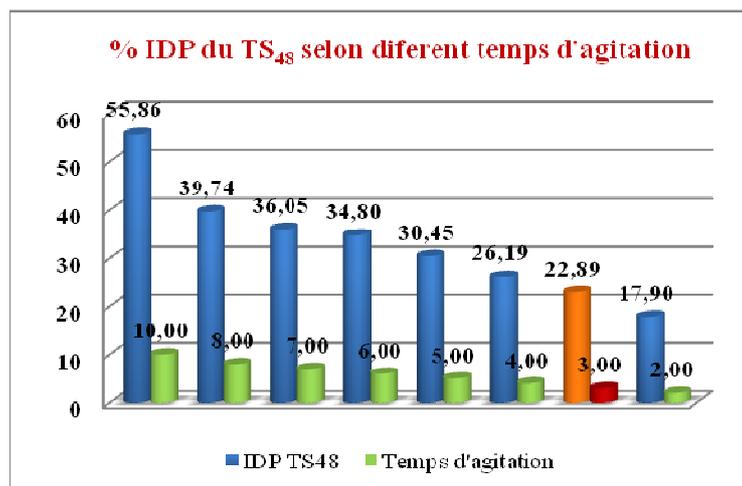


3) Interprétation et conclusion :

Le pourcentage des protéines dispersibles dans l'échantillon diminue progressivement avec la diminution du temps d'agitation. On a passé de 63.65 jusqu'à 18.94% obtenu pendant une agitation de 3min. Donc la valeur la plus proche de celle du laboratoire externe (valeur prise comme référence) est 22.81 qui correspond à un temps d'agitation de 6.5min.

De ce fait pour dispersibilité des de variété TS₄₄, il opératoire décrit ci-le temps d'agitation min avec le niveau malaxeur.

Le même travail a tourteau de soja TS₄₈ trouvés sont graphe suivant :



mesurer l'indice de protéines de soja faut suivre le mode dessus en changent de 10 min à 6.5 bas de la vitesse de

été réalisé pour le et les résultats présentés sur le



D'après la représentation graphique des résultats, la valeur la plus proche de celle du laboratoire externe est 22.89 % qui correspond au temps d'agitation de 3min.

Donc s'il s'agit d'un tourteau de soja TS₄₈, la mesure de l'indice de dispersion des protéines dans l'eau peut être effectuée en suivant le protocole expérimental décrit précédemment, mais en changeant le temps d'agitation de 10min par 3 min et en fixant la vitesse du malaxeur à son niveau bas.

 **Remarque :**

La dispersion des protéines du soja dans l'eau est très sensible aux variations de la température. Une simple élévation de la température augmente brusquement le pourcentage des protéines dispersibles. De ce fait il faut éviter tout changement de la température de la salle de manipulation et de l'eau distillée.

D. Validation des indicateurs de la qualité de cuisson :

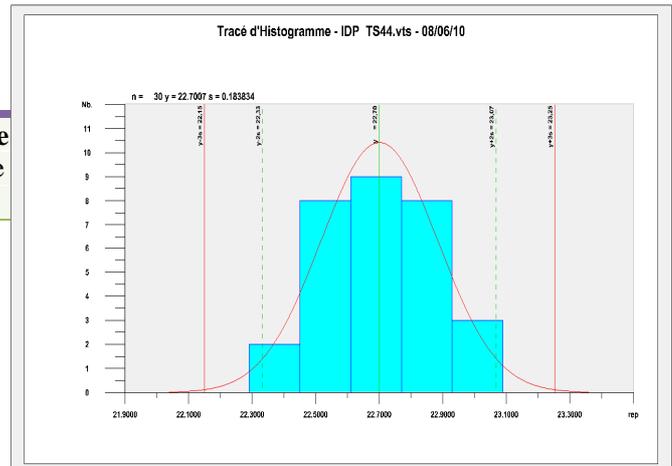
Pour pouvoir disposer de données suffisantes pour le traitement et la validation de la méthode ainsi pour tester l'homogénéité de la mesure sur le domaine expérimental, 5 operateurs ont réalisé l'essai sur un même échantillon, avec une répétabilité de 6 fois.

I. Validation de l'indice de dispersibilité des protéines :

1. L'IDP pour le tourteau de soja 44 TS₄₄ :

repetition	Opetateur				
	op1	op2	op3	op4	op5
1	22,89	22,69	22,49	22,69	22,49
2	23,09	22,79	22,29	22,69	22,69
3	22,69	22,69	22,79	22,49	22,69
4	22,89	23,09	22,49	22,89	22,29
5	22,49	22,79	22,59	23,09	22,49

Statistique			
Taille d'ech	Min	Max	Etendue
30	22.29	23.09	0.8



6	22,69	22,89	22,59	22,69	22,89
---	-------	-------	-------	-------	-------

a) La normalité de la distribution :

➤ Evaluation graphique de la normalité :

La visualisation de la forme de la distribution des données sous forme d'histogramme permet de comparer son profil avec celle d'une courbe représentant une loi normale c.à.d. profil en cloche. L'allure visuelle de l'histogramme laisse supposer qu'il s'agit d'une distribution normale.

➤ Test de Shapiro et wilk

H_0 : la distribution n'est pas significativement différente d'une loi normale.

H_1 : la distribution est significativement différente d'une loi normale.

On a $W_{obs} = 0.9424$ et $W_{crit} = 0.927$ et puisque W_{obs} est supérieurs à la valeur critique du tableau du Shapiro et wilk avec un niveau de confiance de 95% et $N=30$. Donc on accepte l'hypothèse H_0 selon laquelle la distribution est normale.

Test de Normalité : SHAPIRO ET WILK			
Statistique Calculée	Loi	Confiance %	Risque (alpha)%
0,9424	Normale	87,5930	12.4070
La distribution n'est pas significativement différente d'une loi normale			

b) Analyse de la variance ANOVA :

Source	Somme des Carrés	ddl	Carrés Moyens	Fisher	Confiance %	Risque α %
op_#	0,3853	4	0,0963	2,671	94,45	5,55

Résidus	0,9017	25	0,0361			
Total	1,287	29				

- Ho : les moyennes ne sont pas significativement différentes.
- H₁ : les moyennes sont significativement différentes.

On a $F_{exp} = 2.671$ et $F_{th} = 2.76$ donc : F_{exp} est plus petite que la valeur théorique du test de Fisher, donc on garde l'hypothèse Ho et on peut dire que les moyennes sont de même ordre de grandeur. D'autre part la valeur de la probabilité du test de Fisher est supérieure à 0.05, ce qui prouve que l'hypothèse d'égalité des moyennes est vérifiée et pas d'effet d'opérateur mis en évidence.

c) Homogénéité des écarts types : Test de Bartlett :

Nombre d'Echantillons	Ecart-Type Fusionné	ddl Fusionné	Loi
5	0,1899	25	Chi ²
E de Bartlett	ddl	Confiance %	Risque α %
0.8718	4	7,1433	92.8567
Les Ecarts-Types ne sont pas significativement différent ils sont donc fusionnables.			

On a $E = 0.8718$ et $\chi^2_{crit} = 9.49$ à 4 ddl et à $\alpha = 5\%$ donc E est bien inférieure à la valeur critique, ce qui montre que les écarts types des répétitions sont homogènes et de même ordre de grandeur.

d) Evaluation de la fidélité de la méthode :

Pour vérifier la fidélité il faut tous d'abord déterminer l'écart types de répétabilité S_r et l'écart type de reproductibilité S_R .

L'écart type de répétabilité S_r est : $S_r = \sqrt{V_{intra}}$ Donc on $S_r = \sqrt{0.0361} = 0.190$

L'écart type de reproductibilité S_R est : $S_R = \sqrt{V_{intra} + V_{op}}$ avec $V_{op} = \frac{V_{inter} - V_{intra}}{n}$

$$S_R = \sqrt{0.0361 + 0.01} = 0.2147.$$

Les valeurs données par le logiciel lumière sont les mêmes que les valeurs calculées :

- Ecart -type de Répétabilité : 0,1899
- Ecart -type de Reproductibilité : 0,2147

On a $F_{exp} = \frac{0.2147^2}{0.1899^2} = 1.278$ et $F_{th} = 2.76$ pour $\alpha = 5\%$ et $ddl_1=4$ et $ddl_2=25$

Et puisque $F_{exp} < F_{th}$ on conclue qu'il n y a pas de différence significative entre les deux écarts types donc la méthode est fidèle.

e) La capabilité :

On a la tolérance inférieure $T_s = 30\%$ et $S_R = 0.2147$, on peut calculer donc l'indice de capabilité de la méthode ICM avec la relation :

$$ICM = \frac{\bar{X} - T_i}{3 S_R} \quad ICM = 11.333$$

Ce qui permet de conclure que la méthode est bien capable.

f) Intervalle de confiance : La valeur vraie μ est encadrée par :

$$\mu = m \pm 2.042 \frac{s}{\sqrt{N}} \text{ pour un degré de confiance de } 95\%$$

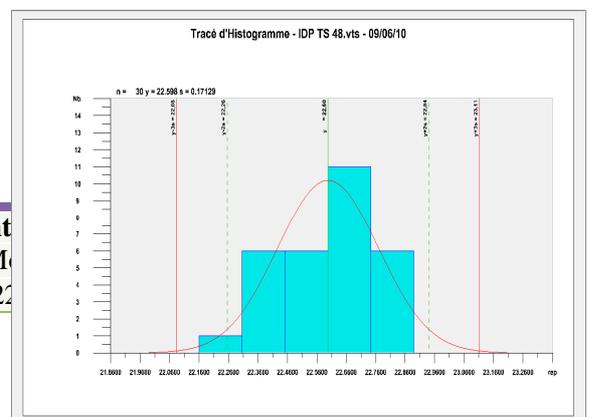
Donc $\mu = 22.7 \pm 0.0786$ et $IC = [22.6214, 22.7786]$

2. L'IDP pour le tourteau de soja 48 TS₄₈ :

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Opérateur					
répétition	op1	op2	op3	op4	op5
1	22,71	22,89	22,71	22,71	22,43
2	22,89	22,34	22,8	22,34	22,89
3	22,71	22,52	22,71	22,34	22,89

Statistique element				
Taille d'ech	Min	Max	Etendue	Moyenne
30	22.16	22.89	0.73	22.586



4	22,52	22,62	22,52	22,43	22,71
5	22,71	22,52	22,89	22,16	22,62
6	22,52	22,71	22,34	22,52	22,71

a) La normalité de la distribution :

L'allure visuelle de l'histogramme laisse supposer qu'il s'agit d'une distribution normale.

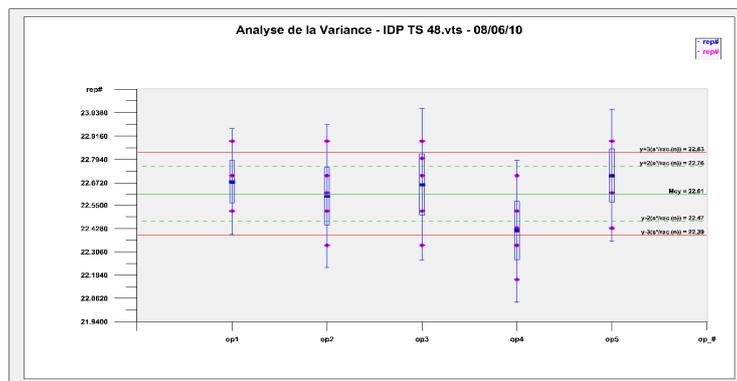
➤ Test de Shapiro et wilk :

D'après le tableau du test de normalité donné par le logiciel, on a $W_{obs}=0.9294$ qui est supérieur à la valeur critique de la table $W_{crit}=0.927$ au risque $\alpha=5\%$ et $N=30$. Donc l'hypothèse nulle est vérifiée et la distribution n'est pas significativement différente d'une loi normale.

b) Analyse de la variance ANOVA :

Source	Somme des Carrés	ddl	Carrés Moyens	Fisher	Confiance %	Risque α %
op_#	0,3254	4	0,0813	2,5411	93,51	6,49
Résidus	0,8002	25	0,032			
Total	1,1256	29				

On a $F_{exp} = 2.5411$ et $F_{th} = 2.76$ donc : F_{exp} est plus petite que la valeur théorique du test de Fisher, donc on garde l'hypothèse H_0 selon laquelle les moyennes sont de même ordre de grandeur, et par la suite on peut dire qu'il n'y a pas d'effet d'opérateurs mis en évidence.



c) Homogénéité des écarts types : Test de Bartlett :

Nombre d'Echantillons	Ecart-Type Fusionné	ddl Fusionné	Loi
5	0,1789	25	Chi ²
E de Bartlett	ddl	Confiance %	Risque α %
0,6476	4	4,2374	95,7626
Les Ecarts-Types ne sont pas significativement différents ils sont donc fusionnables,			

On a $E = 0.6476$ et $\chi^2_{crit} = 9.49$ à 4 ddl et à $\alpha = 5\%$ donc E est bien inférieure à la valeur critique, ce qui montre que les écarts types des répétitions sont homogènes et de même ordre de grandeur.

d) Evaluation de la fidélité :

L'écart type de répétabilité S_r est : $S_r = \sqrt{V_{intra}}$ donc $S_r = 0.1788$

L'écart type de reproductibilité S_R est : $S_R = \sqrt{V_{intra} + V_{op}}$ donc $S_R = 0.2005$

Les valeurs données par le logiciel lumière sont les mêmes que les valeurs calculées :

- Ecart -type de Répétabilité : 0,1789
- Ecart -type de Reproductibilité : 0,2006

On a $F_{exp} = \frac{0.1788^2}{0.2005^2} = 0.795$ et $F_{th} = 2.76$ pour $\alpha = 5\%$ $ddl_1=4$ et $ddl_2=25$

Et puisque $F_{exp} < F_{th}$ on conclue qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux écarts types, donc la méthode est fidèle.

e) La capacité :

On a la tolérance inferieure $T_s = 30\%$ et $S_R = 0.2005$ donc $ICM = 12.28$ ce qui permet de conclure que la méthode est capable.

f) Intervalle de confiance : La valeur vraie μ est encadrée par :

$$\mu = m \pm 2.042 \frac{s}{\sqrt{n}} \text{ pour un degre de confiance de 95\%}$$

Donc $\mu = 22.6127 \pm 0.0735$ et $IC = [22.5392, 22.6862]$

II. Validation de la solubilité des protéines dans le KOH :

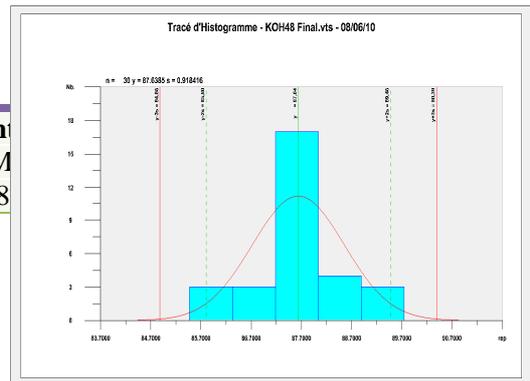
1. La solubilité dans le KOH pour le Tourteau de soja TS_{48} :

Le tableau ci-dessous englobe les résultats obtenus par la manipulation de 5 operateurs avec une répétabilité de 6 fois. On a

- P = 5 operateurs
- n = 6 répétitions
- N= 30 essais

Repetition	Operateur				
	op1	op2	op3	op4	op5
1	89,75	87,3	87,92	87,92	86,09
2	87,3	87,3	88,53	88,53	86,7
3	89,14	87,92	87,92	87,92	87,92
4	87,61	87,61	87,3	86,7	87,3
5	87,92	86,7	88,53	87,92	85,47
6	87,61	87,3	87,92	84,05	88,53

Statistique element				
Taille d'ech	Min	Max	Etendue	M
30	85.47	89.75	4.28	8



a) La normalité de la distribution :

➤ Evaluation graphique :

Si on compare l'allure de la représentation graphique des résultats donnés, avec celle de la courbe de la normalité on constate clairement qu'il y a une différence mise en évidence,

Ce qui nous laisse supposer que peut être la distribution ne suit pas une loi normale, mais on ne peut pas juger seulement à partir d'une visualisation graphique, c'est le test de Shapiro et Wilk qui va soit confirmer cette hypothèse soit nous garantir que la distribution est normale.

➤ Test de Shapiro et Wilk :

H_0 : la distribution n'est pas significativement différente d'une loi normale.

H_1 : la distribution est significativement différente d'une loi normale.

On a $W_{obs} = 0.9532$ et $W_{crit} = 0.927$ pour $\alpha = 5\%$ et $N = 30$ et Puisque W_{obs} est supérieur à la valeur critique du tableau du Shapiro et wilk, on rejette H_1 et on garde H_0 , et par la suite le test de Shapiro et wilk confirme normalité de la distribution.

b) Analyse de la variance ou ANOVA:

Source	Somme des Carrés	ddl	Carrés Moyens	Fisher	Confiance %	Risque α %
op_#	7,8132	4	1,9533	2,4292	92,58	7,42
Résidus	20,1018	25	0,8041			
Total	27,9149	29				

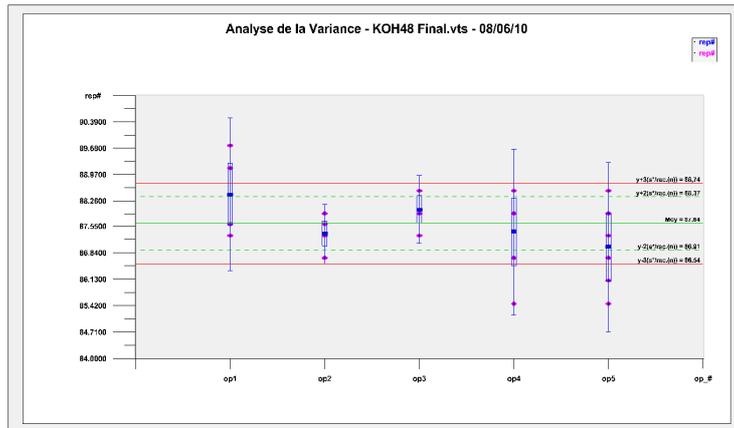
Les hypothèses en concurrence sont :

➤ H_0 : les moyennes ne sont pas significativement différentes.

➤ H_1 : les moyennes sont significativement différentes.

On a $F_{exp} = 2.4292$ et $F_{th} = 2.76$ donc : F_{exp} reste toujours inférieure à la valeur théorique du test de Fisher, donc on garde l'hypothèse H_0 et on peut dire que les moyennes sont de même ordre de grandeur.

D'autre part, la valeur de la probabilité du test de Fisher est supérieure à 0.05, ce qui prouve qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les moyennes et qu'il n'y a pas d'effet d'opérateur. Autrement dit l'hypothèse d'égalité des moyennes est vérifiée et pas d'effet d'opérateur mis en évidence.



c) Homogénéité des écarts types : Test de Bartlett

Nombre d'Echa.	Ecart-Type Fusionné	Ddl Fusionné	Loi
5	0,8967	25	Chi ²
E de Bartlett	ddl	Confiance %	Risque α %
7,8082	4	90,1137	9,8863
Les Ecart-Types ne sont pas significativement différents ils sont donc fusionnables			

On a $E = 7.8082$ et $\chi^2_{crit} = 9.49$ à 4 ddl et à $\alpha = 5\%$ donc E est inférieure à la valeur critique, ce qui montre que les écarts types des répétitions sont homogènes et de même ordre de grandeur.

d) Evaluation de la fidélité de la méthode :

L'écart type de répétabilité S_r est : $S_r = \sqrt{V_{intra}}$ donc $S_r = \sqrt{0.8041} = 0.8967$

L'écart type de reproductibilité S_R est : $S_R = \sqrt{0.8041 + 0.1915} = 0.9978$.

Les valeurs données par le logiciel lumière sont les mêmes que les valeurs calculées :

- Ecart -type de Répétabilité : 0,8967
- Ecart -type de Reproductibilité : 0,9978

On a $F_{exp} = \frac{0.9978^2}{0.8967^2} = 1.238$ et $F_{th} = 2.76$ pour $\alpha = 5\%$ et $ddl_1=4$ et $ddl_2=25$ et puisque $F_{exp} < F_{th}$ on conclue qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les deux écarts types, donc la méthode est fidèle.

e) La capacité :

On a la tolérance inférieure $T_i = 70\%$ et $S_R = 0.9987$, on peut calculer donc l'indice de capacité de la méthode ICM avec la relation :

$$ICM = \frac{\bar{X} - T_i}{3 S_R} \quad ICM = 5.89$$

Ce qui permet de conclure que la méthode est bien capable

f) **Intervalle de confiance** : La valeur vraie μ est encadrer par :

$$\mu = m \pm 2.042 \frac{s}{\sqrt{N}} \text{ pour un degre de confiance de 95\%}$$

Donc

$$\mu = 87.6423 \pm 0.3657 \quad \text{et} \quad IC = [87.2766, 88.008]$$

2. La solubilité dans le KOH pour le Tourteau de soja 44 TS₄₄ :

Les mêmes étapes et le même traitement que le tourteau de soja TS₄₈ et les résultats de l'analyse se présentent comme suit :

Repetitions	Operateur				
	op1	op2	op3	op4	op5
1	78,03	76,98	78,32	80,99	75,65
2	77,65	76,98	78,32	76,98	77,65
3	78,32	76,31	77,65	78,32	77,65
4	78,32	77,65	78,99	79,99	76,31
5	76,98	77,65	76,31	78,32	76,98
6	78,99	77,65	78,32	78,32	78,32

Statistique elementaire						
Taille d'ech	Min	Max	Etendue	Moyenne	Ecart type	CV%
29	75.65	79.99	4.34	77.6979	0,9329	1.2006

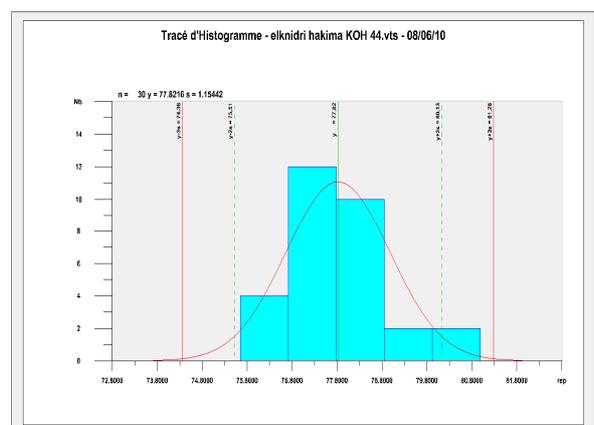
a) La normalité de la distribution :

➤ Evaluation graphique :

La visualisation graphique des résultats donne l'histogramme présent dans la figure ci contre.

➤ Test de Shapiro et wilk :

La statistique calculée par lumière est la suivante : $W_{obs} = 0.9367$ et la valeur critique du Shapiro et wilk $W_{crit} = 0.927$ pour un degré de confiance de 95 % et $N=30$.



Puisque W_{obs} est supérieur à la valeur critique du

tableau du Shapiro et wilk, on rejette H_1 et on garde H_0 , et par la suite le test de Shapiro et wilk confirme normalité de la distribution.

b) Analyse de la variance ou ANOVA:

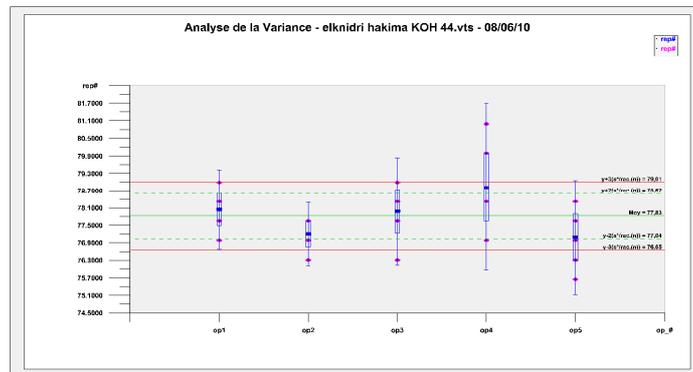
Source	Somme des Carrés	ddl	Carrés Moyens	Fisher	Confiance %	Risque α %
op_#	11,9231	4	2,9808	3,2199	97,09	2,91
Résidus	23,1431	25	0,9257			
Total	35,0662	29				

Les hypothèses à tester sont :

- H_0 : les moyennes ne sont pas significativement différentes.
- H_1 : les moyennes sont significativement différentes.

On a $F_{exp} = 3.2199$ et $F_{th} = 2.76$ donc : F_{exp} est supérieur à la valeur théorique du test de Fisher, donc on rejette l'hypothèse H_0 et les moyennes ne sont plus de même ordre de grandeur.

D'autre part la valeur de la probabilité du test de Fisher est inférieure à 0.05, ce qui prouve qu'il y a une différence statistiquement significative entre les moyennes et qu'il y'a un effet d'opérateur mis en évidence.



En fait une synthèse des moyennes pour détecter l'opérateur qui a la moyenne la plus grande ou la plus petite.

D'après le tableau donné par lumière on constate que la moyenne d'opérateur la plus éloignée de la moyenne pondérée est celle de l'opérateur 4, donc on va chercher s'il y a une valeur aberrante qui fausse les résultats sinon on va éliminer l'opérateur 4.

Le maximum des résultats se trouve parmi les répétitions de l'opérateur 4. On va chercher à l'aide du test de Dixon si le

Synthèse des Moyennes	
Liste des Modalités	rep#
op1 - op1	78,0483
op2 - op2	77,2033
op3 - op3	77,985
op4 - op4	78,82
op5 - op5	77,0933
Moyennes Pondérées	77,83

maximum est aberrant. Donc on va calculer les deux limites suivantes :

$$Q_1 = \frac{R_2 - R_1}{R_{n-2} - R_1} \quad \text{et} \quad Q_2 = \frac{R_n - R_{n-2}}{R_n - R_2}$$

On trouve $Q_1 = 0.1976$ et $Q_2 = 0.4274$

Et on a la valeur limite de Dixon $Q_{crit} = 0.376$ et $Q_2 > Q_{crit}$ donc le maximum est aberrant.

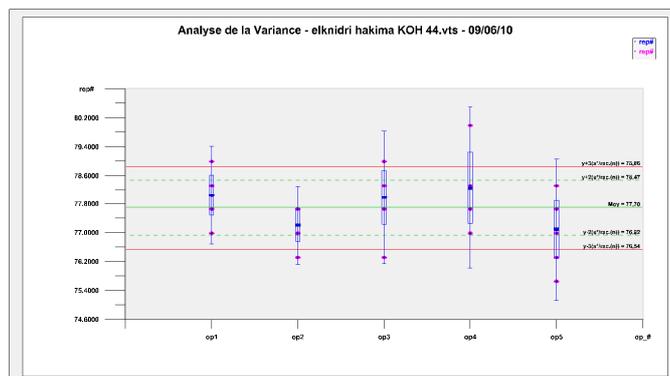
On supprime le maximum puis on refait l'analyse.

➤ ANOVA après la suppression du maximum :

Source	Somme des Carrés	ddl	Carrés Moyens	Fisher	Confiance %	Risque α %
op_#	6,4271	4	1,6068	2,1495	89,44	10,56
Résidus	17,94	24	0,7475			
Total	24,3671	28				

On a $F_{exp} = 2.1495$ et $F_{th} = 2.78$ donc : F_{exp} est inférieur à la valeur théorique du test de Fisher, donc on garde l'hypothèse H_0 et les moyennes sont de même ordre de grandeur.

D'autre part la valeur de la probabilité du test de Fisher est supérieur à 0.05, ce qui prouve qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les moyennes et qu'il n'y a pas d'effet d'opérateur mis en évidence.



c) Homogénéité des écarts types : Test de Bartlett

Nombre d'Echantillons	Ecart-Type Fusionné	ddl Fusionné	Loi
5	0,8646	24	Chi ²
E de Bartlett	ddl	Confiance %	Risque α %
2,6925	4	38,9477	61,0523

Les Ecart-types ne sont pas significativement différents, ils sont donc fusionnables

On a $E = 2.6925$ et $\chi^2_{crit} = 9.49$ à 4 ddl et à $\alpha = 5\%$, donc E est inférieur à la valeur critique, ce qui montre que les écarts types des répétitions sont homogènes et de même ordre de grandeur.

d) **Evaluation de la fidélité de la méthode :**

- L'écart type de répétabilité S_r est : 0.8646
- L'écart type de reproductibilité S_R est : 0.9464

On a $F_{exp} = \frac{0.9464^2}{0.8646^2} = 1.198$ et $F_{th} = 2.78$ pour $\alpha = 5\%$ et $ddl_1=4$ et $ddl_2=24$

Et puisque $F_{exp} < F_{th}$ on conclue qu'il n'y a pas de différence statistiquement significative entre les deux écarts types ; donc la méthode est fidèle.

e) **La capabilité :**

On a la tolérance inférieure $T_i = 70\%$ et $S_R = 0.9464$, on peut calculer donc l'indice de capabilité de la méthode ICM avec la relation :

$$ICM = \frac{\bar{X} - T_i}{3 S_R} \quad ICM = 2.75$$

Ce qui permet de conclure que la méthode est juste capable

f) **Intervalle de confiance :** La valeur vraie μ est encadrer par :

$$\mu = m \pm 2.045 \frac{s}{\sqrt{N}} \text{ pour un degre de confiance de 95\%}$$

Donc $\mu = 77.6979 \pm 0.3542$ et $IC = [77.3434, 78.0521]$

Conclusion

La norme internationale ISO 17025, définissant « les prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais », précise que les laboratoires doivent, lorsqu'ils mettent en œuvre une méthode analytique usuelle, s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Pour cela, elle indique plusieurs étapes. La première consiste à définir les exigences de la clientèle concernant le paramètre considéré, afin de déterminer, par la suite, si la méthode utilisée répond bien à

celles-ci. La seconde étape intègre, pour des méthodes non normalisées, modifiées ou développées par le laboratoire, une validation initiale.

Lors de la mise en place d'une nouvelle méthode usuelle, le cas par exemple de la mise en place des indicateurs de la qualité de cuisson du soja, le laboratoire met en œuvre un protocole qui comprend plusieurs étapes. L'étape la plus importante, appliquée une seule fois de façon initiale, ou de façon périodique, est la validation de la méthode. Celle-ci est suivie d'un contrôle qualité permanent.

Mon projet effectué au sein du laboratoire d'EL ALF, m'a permis de travailler sur deux types de validation : La première consiste à valider une méthode normalisée, il s'agit d'une vérification d'une méthode normalisée, permettant de s'assurer que ces caractéristiques sont compatibles avec celles définies par la norme. C'est le cas du dosage du calcium par la méthode titrimétrique.

La deuxième consiste à valider une méthode connue, mais adaptée aux conditions de laboratoire, dans le but de prouver que la méthode en question est bien apte à l'emploi qu'on prévoit d'en faire. C'est le cas des analyses indiquant la qualité de la cuisson du soja.

La validation de ces méthodes d'analyse a permis d'en déterminer les performances ainsi que les limites. Les deux types de validation ont été effectués en évaluant les caractéristiques suivantes :

- ✚ Normalité
- ✚ Fidélité : répétabilité et reproductibilité
- ✚ ANOVA pour tester l'homogénéité des moyennes.
- ✚ Capabilité de la méthode d'analyse.
- ✚ Détermination de l'intervalle de confiance

Bibliographie

- Optimisation du chauffage et valeurs nutritionnelle et fonctionnelle des protéines de soja
Optimal heating and nutritional and functional value of soy proteins
Auteur(s) / Author(s) :
BAU H.-M. ; VILLAUME C. ; GIANNANGELI F.; NICOLAS J.-P ; MEJEAN L.
- Revue / Journal : Cahiers de nutrition et de diététique ISSN 0007-9960 CODEN CNDQA
- APEAN : Association des Producteurs Européens d'Aliments Naturels à base de Soja
- La validation des méthodes d'analyses, une approche chimiométrique de l'assurance qualité au laboratoire, MAX FEINBERG, Masson Paris 1996.

- Validation de méthode d'analyse, Mr Jacques LESIANT
- Guide sur la vérification et la validation des méthodes d'essais et d'étalonnage selon l'ISO/CEI 17025
- https://www.lareal.com/module_externe/information_scientifique/document_73.pdf
- <http://home.scarlet.be/~be022366/pdi/PDI-VOS.pdf>
- <http://www.poultry.uga.edu/soybeans/protsol.htm>
- Syndicat national de l'industrie de la nutrition animale SNIA.
- Sciences des Aliments. An international journal of food science and technology ARTICLE VOL 21/2 - 2001 - pp.133-147
TITRE : Optimisation des qualités des protéines de soja

Les Annexes

Table du Chi Deux

V Degré de liberté	P = 95 %	P = 99 %
1	3.84	6.63
2	5.99	9.21
3	7.81	11.3
4	9.49	13.3
5	11.1	15.1
6	12.6	16.8
7	14.1	18.5
8	15.5	20.1
9	16.9	21.7
10	18.3	23.2
11	19.7	24.7
12	21.0	26.2
13	22.4	27.7
14	23.7	29.1
15	25.0	30.6
16	26.3	32.0
17	27.6	33.4
18	28.9	34.8
19	30.1	36.2
20	31.4	37.6
21	32.7	38.9
22	33.9	40.3
23	35.2	41.6
24	36.4	43.0
25	37.7	44.3
26	38.9	45.6
27	40.1	47.0
28	41.3	48.3
29	42.6	49.6
30	43.8	50.9
40	55.8	63.7
50	67.5	76.2
60	79.1	88.4

70	90.5	100.4
80	101.9	112.4

Valeurs limites de W Test de Shapiro et Wilk

N	W 95%	W 99%
10	0.842	0.781
11	0.850	0.792
12	0.859	0.805
13	0.856	0.814
14	0.874	0.825
15	0.881	0.835
16	0.837	0.844
17	0.892	0.851
18	0.897	0.858
19	0.901	0.863
20	0.905	0.868
21	0.908	0.873
22	0.911	0.878
23	0.914	0.881
24	0.916	0.884
25	0.918	0.888
26	0.920	0.891
27	0.923	0.894
28	0.924	0.896
29	0.926	0.898
30	0.927	0.900
31	0.929	0.902
32	0.930	0.904
33	0.931	0.906
34	0.933	0.908
35	0.934	0.910
36	0.935	0.912
37	0.936	0.914
38	0.938	0.916
39	0.939	0.917
40	0.940	0.919
41	0.941	0.920
42	0.942	0.922
43	0.943	0.923
44	0.944	0.924
45	0.945	0.926
46	0.945	0.927
47	0.946	0.928
48	0.947	0.929

Tableau du F de Fisher Snedecor

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.8	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0	249.1	250.1	251.1	252.2	253.3	254.3
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.35	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45	19.45	19.46	19.47	19.48	19.49	19.50
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.89	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.09	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.88	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.36
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.21	4.21	4.15	4.10	4.05	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.79	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.50	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.29	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.14	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.01	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	2.91	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.83	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.76	2.7	2.70	2.65	2.62	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.71	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.66	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.61	2.61	2.55	2.46	2.45	2.38	2.31	2.23	2.19	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.58	2.58	2.51	2.49	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.54	2.54	2.48	2.46	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.51	2.51	2.45	2.42	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.49	2.49	2.42	2.39	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.46	2.46	2.40	2.37	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.44	2.44	2.37	2.34	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.42	2.42	2.36	2.32	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.40	2.40	2.34	2.30	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.39	2.39	2.32	2.28	2.22	2.15	2.07	1.99	1.95	1.90	1.85	1.80	1.75	1.69
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.37	2.37	2.31	2.27	2.20	2.13	2.06	1.97	1.93	1.88	1.84	1.79	1.73	1.67
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.36	2.36	2.29	2.25	2.19	2.12	2.04	1.96	1.91	1.87	1.82	1.77	1.71	1.65
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.35	2.35	2.28	2.24	2.18	2.10	2.03	1.94	1.90	1.85	1.81	1.75	1.70	1.64
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.33	2.33	2.27	2.22	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.25	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.17	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.09	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.01	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00



Les valeurs limites de Dixon

Critical values for r_{11}								
N	a=0.001	a=0.002	a=0.005	a=0.01	a=0.02	a=0.05	a=0.1	a=0.2
8	0.799	0.769	0.724	0.682	0.633	0.554	0.480	0.386
9	0.750	0.720	0.675	0.634	0.586	0.512	0.441	0.352
10	0.713	0.683	0.637	0.597	0.551	0.477	0.409	0.325
Critical values for r_{21}								
N	a=0.001	a=0.002	a=0.005	a=0.01	a=0.02	a=0.05	a=0.1	a=0.2
11	0.770	0.746	0.708	0.674	0.636	0.575	0.518	0.445
12	0.739	0.714	0.676	0.643	0.605	0.546	0.489	0.420
13	0.713	0.687	0.649	0.617	0.580	0.522	0.467	0.399
Critical values for r_{22}								
N	a=0.001	a=0.002	a=0.005	a=0.01	a=0.02	a=0.05	a=0.1	a=0.2
14	0.732	0.708	0.672	0.640	0.603	0.546	0.491	0.422
15	0.708	0.685	0.648	0.617	0.582	0.524	0.470	0.403
16	0.691	0.667	0.630	0.598	0.562	0.505	0.453	0.386
17	0.671	0.647	0.611	0.580	0.545	0.489	0.437	0.373
18	0.652	0.628	0.594	0.564	0.529	0.475	0.424	0.361
19	0.640	0.617	0.581	0.551	0.517	0.462	0.412	0.349
20	0.627	0.604	0.568	0.538	0.503	0.450	0.401	0.339
25	0.574	0.550	0.517	0.489	0.457	0.406	0.359	0.302
30	0.539	0.517	0.484	0.456	0.425	0.376	0.332	0.278
35	0.511	0.490	0.459	0.431	0.400	0.354	0.311	0.260
40	0.490	0.469	0.438	0.412	0.382	0.337	0.295	0.246
45	0.475	0.454	0.423	0.397	0.368	0.323	0.283	0.234
50	0.460	0.439	0.410	0.384	0.355	0.312	0.272	0.226
60	0.437	0.417	0.388	0.363	0.336	0.294	0.256	0.211
70	0.422	0.403	0.374	0.349	0.321	0.280	0.244	0.201
80	0.408	0.389	0.360	0.337	0.310	0.270	0.234	0.192
90	0.397	0.377	0.350	0.326	0.300	0.261	0.226	0.185
100	0.387	0.368	0.341	0.317	0.292	0.253	0.219	0.179