

Tables des matières

Introduction	1
Chapitre 1	2
Présentation de la société ALF AL Maghreb	2
I. Présentation de la société	3
I.1 fiche technique de la société	3
I.2 Organigramme de la société ALF AL Maghreb.....	4
Chapitre 2	5
Partie bibliographique	5
I. Alimentation et processus de production.....	5
I.1 Chaque animal son aliment compos.....	6
I.2 Contrôle de qualité au laboratoire de la société.....	6
I.2.a Les analyses physico-chimiques.....	7
I.2.b les analyses bactériologiques.....	9
I.2.c les analyses de sérologie.....	9
I.3 Processus de fabrication.....	10
I.3.a Formulation de recherche de meilleure recette	10
I.3.b Réception des matières premières au sein de l'entreprise	11
I.3.c Le broyage et pré-mélange	11
I.3.d Le mélange	11
I.3.e Fabrication des granules	12
I.3.f l'acheminement de l'aliment jusqu'en l'élevage	12
Chapitre 3	13
Validation des méthodes d'analyses	13
I. Validation d'une méthode d'analyse.....	14
I.1 Validation d'une méthode.....	14
I.1.a validation d'une méthode normalisée.....	15
I.1.b validation d'une méthode d'analyse non normalisée.....	15
II. Les indicateurs statistiques de la performance d'une méthode de mesure.....	16
III. Méthodes d'analyse demandées pour la validation.....	17
III.1 Activité de l'eau	17
III.2 Indicateur de contrôle de la qualité de cuisson du soja	18
III.2.a définition de Graine de soja	18
III.2.b La composition nutritionnelle de la graine de soja	19
III.3 Les tourteaux de soja définition et présentation.....	20
III.3.a Définition	20
III.3.b Obtention des tourteaux après extractions des huiles	20
III.4 Le soja : Un aliment incontournable pour les animaux	21
III.5 Tests indicateurs de la qualité de cuisson :	21

III.5.a Indice de solubilité des protéines dans la soude.....	22
III.5.b Indice de dispersibilité des protéines ou IDP.....	22

Chapitre 4 :	23
Résultats et interprétations	23
I. Validation de l'activité de l'eau	24
I.1 Vérification de la fidélité et justesse	24
Interprétation.....	25
Carte de contrôle et interprétations.....	26
II. Validation de la méthode de détermination de la solubilité des protéines dans KOH	
0.2%	27
1. Champs d'application	27
2. Appareillage	27
3. Réactifs.....	27
4. Mode opératoire.....	27
5. Expression de résultats.....	27
6. Travaux préliminaires	28
7. Objectif de l'étude.....	28
8. Résultats de l'étude	29
7.1 Solubilité des protéines dans KOH 0.2%	29
Choix des facteurs et du domaine de variation	29
Interprétation	30
Justesse.....	30
Fidélité	30
Interprétation	31
Carte de contrôle.....	31
Interprétation	32

Introduction

Pour chaque matière première et produit fini le service qualité définit des paramètres d'analyses qui valorisent la valeur nutritionnelle du produit accompagnée des fréquences d'analyses pour les comparer aux normes spécifiques. Parmi ces méthodes d'analyses :

- 1) Activité de l'eau (Aw)**
- 2) Indice de solubilité des protéines dans KOH (0.2%)**
- 3) Dosage de bases azotées volatiles**

La société ALF AL Maghreb emploie ces méthodes pour le contrôle de la qualité des matières premières et produits finis. Elle utilise des protocoles expérimentaux normalisés. Toutefois, les résultats trouvés par le laboratoire de référence sont discordants par rapport au laboratoire de référence.

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à la validation de ces méthodes d'analyses, afin de minimiser cet écart.

Dans un premier chapitre bibliographique, nous présentons, les procédés de fabrication et les analyses effectués au sein du laboratoire de la société.

Le deuxième chapitre traitera la validation des méthodes d'analyses.

Dans le troisième chapitre nous présenterons les résultats obtenus ainsi que les procédures réalisées en vue de valider les méthodes d'analyses.

Présentation de la société

La société ALF AL Maghreb, 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 Chaouni à SIDI BRAHIM à FES avant de se déplacer au nouveau site, situé au lotissement ENNAMAÉ au quartier industriel BENSOUDA. 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 pré mélange appelé prémix ; ce sont des concentrés d'oligoéléments, des vitamines et de minéraux. Ils sont associés en faible pourcentage à différentes matières premières pour constituer l'aliment complet à la destination du bétail (Annexe).

1. Fiche technique de la société :

Raison sociale	Société EL ALF
Forme juridique	Société anonyme (S.A)
Directeur de l'entreprise	Mr Ali BERBICH
Date de création	1974
Capital	50.000.000 DH
Tél	035728895
Fax	0 55 65 56 08
Siège social	Lotissement ENNAMAÉ, Quartier industriel BENSOUDA, Fès
Superficie	6000 m ² dont 2500 couverts
Activités	Fabrication des aliments composés pour bovins, ovins et volailles.
Capacité de production	700 tonnes
Destination des produits	Fermes propres à l'entreprise, Revendeurs et Eleveurs
effectifs	144 permanentes 52 temporaires
Certification	ISO 9001 version 2008 et OHSAS 18001
Positionnement	Parmi les leaders nationaux

2. Organisme de la société ALF AL Maghreb :

Chapitre I
Partie bibliographique

Introduction

Les animaux doivent trouver dans leurs alimentations des apports quotidiens en énergies, en protéines, en vitamines, en minéraux et en fibres végétales. Ils les trouvent dans les aliments composés ou 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. Alimentation animale

Les besoins nutritionnels des animaux dépendant de l'espèce, de l'âge, du sexe et de ce qu'ils produisent. En fonction de ces besoins, la formulation, compose pour chacun une recette adaptée : un assemblage spécifique de matières premières... Un aliment nutritionnel équilibré doit aussi être facile à consommer. Pour cela les fabricants adaptent la forme de présentation de l'aliment : Farine (poussin, poule), miette (volailles), petit ou gros granulé (porc, bovins) sont distribués aux animaux en fonction de leur taille et leur morphologie.

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

- Les besoins d'animaux. Cette reconnaissance 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, les contrôles, ainsi que les procédures d'organisation, de documentation et de libération qui garantissent que les analyses nécessaires et appropriés ont réellement été effectués 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 celles des matières premières utilisées, les différentes analyses de contrôle de qualité du laboratoire sont les suivantes :

2.1 Analyses physico-chimiques

Pour chaque matières premières et des produits finis le service qualité définit des paramètres d'analyse (humidité, température, activité de l'eau) qui visent la valeur nutritionnel du produit, accompagnée des fréquences d'analyse de contrôle de qualité pour les comparer avec des normes prédéfinis.

- **Détermination de l'humidité**

Après broyage et conditionnement éventuel, la méthode consiste à un séchage du produit à une température 103°C (ou autre selon le produit) pendant 4 heures.

- **Dosage des cendres brutes**

On entend par cendres brutes, le résidu obtenu après incinération dans les conditions de la norme. La teneur de la 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.

- **Détermination de la teneur en protéines brutes**

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

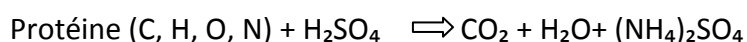
Après minéralisation, tout l'azote se trouve dans le minéralisât sous une même forme minérale, après une alcalisations de produits de la réaction puis distillation, l'azote est ensuite dosé par une solution titrée d'acide sulfurique.

La détermination des protéines par la méthode de kjeldahl s'effectue en trois étapes :

Etape 1 : minéralisation de l'échantillon

Pendant l'étape de la minéralisation, l'azote protéique est transformé en azote ammoniacal par oxydation de la matière organique dans l'acide sulfurique à haute température, en présence d'un catalyseur.

L'acide sulfurique concentré a pour but d'oxyder la matière organique et de transformer l'azote protéique en ammoniacque (NH₃). Il sert également à piéger l'ammoniac gazeux sous forme de sulfate d'ammoniac, par action de la base avec l'acide :



Validation des méthodes d'analyses

Etape 2 : distillation de l'ammoniac :

Avant de distiller l'ammoniac à la vapeur d'eau, on doit libérer l'ammoniac sous forme de sel $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ par l'addition d'une solution concentrée de NaOH en excès.

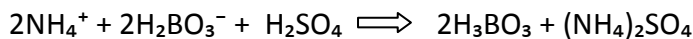


L'ammoniac est ensuite distillé par la vapeur d'eau et piégé dans une solution d'acide borique. L'ammoniac réagit avec l'acide borique pour former des sels de borate d'ammonium :



Etape 3 : titrage de l'ammoniac

L'ammoniac sous forme de borates d'ammonium est titré directement à l'aide d'une solution standardisée d'acide sulfurique (H_2SO_4) :



On fait un essai à blanc en mettant tous les réactifs sauf l'échantillon, pour soustraire l'ammoniac contenu dans les réactifs de l'ammoniac contenu dans l'échantillon.

Calcul du % des protéines dans l'échantillon :

$$\frac{(\text{Va} - \text{Vb}) \times \text{N} \times 0.014 \times 100 \times 6.25}{\text{m}(\text{échantillon})}$$

Va : Volume du titrage en ml de l'échantillon testé selon la méthode de kjeldahl.

Vb : Volume de titrage en ml du test en blanc réalisé selon la méthode de kjeldahl.

N : la normalité de la solution du titrage dans la méthode de 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 brutes (100g de protéines brutes égale à 16 d'azote de kjeldahl).

100g de protéines brutes \rightleftharpoons 16g d'azote de kjeldahl

X \rightleftharpoons 1g d'azote de kjeldahl

0.014 : 14 (la masse molaire d'azote) multiplié par 0.001 (pour l'unité du volume en litre).

- **Dosage de la matière grasse :**

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.

2.2 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 péptonnée.

- **Recherche des salmonelles**

On procède à la recherche de salmonelle par la méthode classique en passant par pré-enrichissement dans le bouillon sélénite, puis l'ensemencement sur le vert brillant.

2.3 Analyses de sérologie

- **Recherche des mycotoxines**

Se 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 sans 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 mycotoxines : l'aflatoxine total ou AFT, le déoxynivalénol ou DON et Fumonisine FUM.

Mycotoxine	Denrées	Champignon producteur	Conséquence de l'ingestion
Aflatoxine	Mais, Arachides	<i>Aspergillus</i>	Potentiellement cancérogènes chez l'homme. Effets néfastes sur divers animaux et en particuliers les poulets.
Déoxynivalénol	Blé, Mais et Orge	<i>Fusarium culmorum</i>	Intoxications humaines. Toxiques pour les animaux et en particuliers les porcs.

Les mycotoxines dans les grains et graines de bases

3. 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 caractéristiques des matières premières sont rigoureusement étudiés dans les laboratoires et les centres de recherches afin d'assembler les ingrédients dans des proportions adaptées.

3.1 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 ou 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.

3.2 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'un 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 des 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 .

3.3 Broyage et Pré mélange

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 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 .

3.4 Mélange

Après avoir pesées, broyées et pré mélange, les matières premières sont dirigés vers une mélangeuse qui permet, suivant la formule à réaliser, l'addition des compléments, des additifs et des liquides nécessaires tels que : l'huile, la choline, méthionine et vitamines. Cette étape 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 mélasse qui assure l'ajout du mélasse de betterave selon la formule. La fabrication des produits utilisés sous forme de farine se termine à cette étape. La fabrication des granulés nécessite une étape supplémentaire de pressage pour l'obtention des granulés.

3.5 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 d'acier perforé de petits trous qui permet à la pâte de sortir sous forme bâtonnets qui sont ensuite cassés en morceaux de quelque mm et refroidis, ce sont les granulés. Le tamisage des granulés est l'ultime étape avant le stockage permettant d'éliminer les différentes poussières.

3.6 Acheminement de l'aliment jusqu'en l'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 nutritionnels, le mode d'emploi et tous les éléments de traçabilité permettant de remonter à la formule fabriquée et aux matières premières incorporés .

Chapitre II
Validation d'une méthode d'analyse

1. 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.

1.1 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.

1.1.a Validation 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

1.1.b 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.

1. 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.

Validation des méthodes d'analyses

Justesse C'est l'étroitesse de l'accord 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'étroitesse d'accord 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...

III. Méthodes d'analyse demandées pour la validation

III.1. Activité de l'eau

L'activité de l'eau (a_w) indique la disponibilité de l'eau d'un produit pour des réactions chimiques, biochimiques, un changement d'état ou un développement de micro-organismes.

L'activité de l'eau (a_w) correspond au rapport entre la pression de la vapeur d'eau de l'aliment (pression de la vapeur d'eau à la surface du produit) et la pression de la vapeur d'eau pure à la même température.

La valeur de l'activité de l'eau varie entre 0 (produit sec au point que toute l'eau est liée à l'aliment, et donc sans qualité réactive) et 1 (eau pure et sans soluté, difficile à atteindre et surtout à maintenir).

L'activité de l'eau est mesurée à l'aide d'un activimètre.

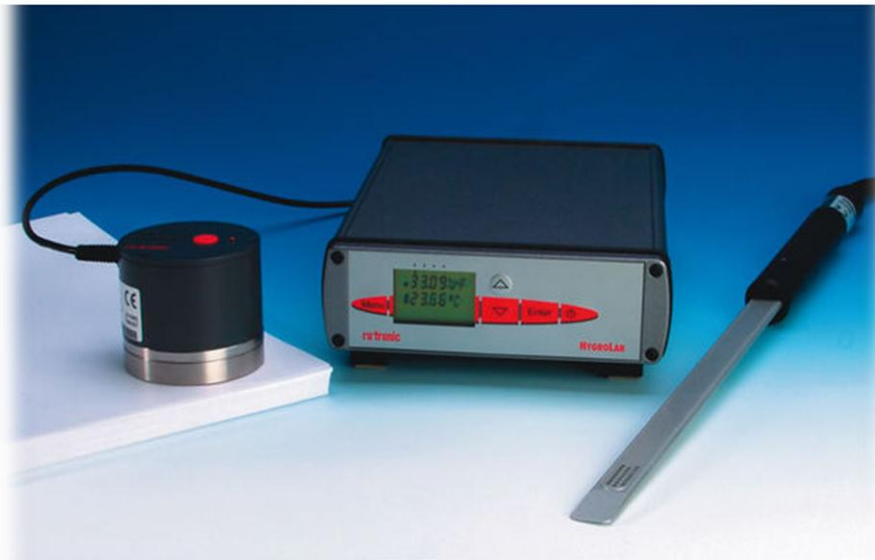


Figure 1 : activimètre

III.2. Indicateur de contrôle de la qualité de cuisson du soja

III.2.a Définition de Graine de soja



Figure 2 : 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.

III.2.b 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.

III.3. Tourteaux de soja

III.3.a 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.

II.3.b 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.

III.4 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.

III.5 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 manières adéquates.

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
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 surcuit	inf. à 15	inf. à 70

Tableau 1 : les différentes spécifications concernant les tests pratiqués sur le soja

Chapitre III
Résultats et Interprétations

I. Validation de l'activité de l'eau

I.2. Vérification de la fidélité et justesse

Justesse :

Lors les analyses effectuées au laboratoire à la société ALF AL Maghreb, nous avons constaté qu'il n'y a pas un écart considérable entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur de référence ou autrement la valeur attendue.

Valeur attendu : 0.7

Moyenne des résultats : 0.698

Fidélité :

Répétabilité

Echantillon	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Aw	0.697	0.701	0.697	0.7	0.701	0.7	0.696	0.694	0.696	0.697

Nous avons effectué des mesures sur les différents échantillons (A, B, C, D, E, F, G, H, J)

Interprétation :

Nous remarquons qu'il y a **une étroitesse de l'accord** entre les résultats individuels successifs obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire, exécuté par le même analyste avec le même appareil pendant le même jour.

Reproductibilité :

Dans ce cas les résultats de laboratoire ALF AL Maghreb seront comparés à celle du laboratoire de référence.

Echantillon	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Labo ALF	0.686	0.688	0.689	0.686	0.682	0.686	0.679	0.686	0.685	0.687
Labo REF	0.653	0.666	0.667	0.667	0.669	0.666	0.667	0.667	0.667	0.665
Ecart	0.033	0.022	0.022	0.019	0.013	0.020	0.012	0.019	0.018	0.022

Interprétations :

Les résultats que nous avons obtenus au laboratoire de la société montrent un écart par rapport à ceux du laboratoire de référence. En effet, la différence entre les valeurs ne doit pas dépasser 0.02.

Afin de remédier à cette problématique et chercher les réglages des paramètres de cette méthode pour minimiser l'écart entre les valeurs trouvées au laboratoire ALF AL Maghreb et celle de référence nous avons choisi de jouer sur l'un des paramètres précisant la valeur de l'activité de l'eau.

En concertation avec le responsable du laboratoire de la société ALF AL Maghreb, nous avons essayé de déterminer le facteur susceptible d'influencer l'écart entre les résultats trouvés par le laboratoire ALF AL Maghreb et celle du laboratoire de référence de la méthode d'analyse.

Questions :

Nous nous sommes posé plusieurs questions.

- La méthode n'est peut-être pas valable ?
- Le temps est-il un facteur important ?
- La température est-elle un facteur important ?

Pour répondre à ces questions nous avons agi dans un premier temps sur **le facteur de temps et sur les récipients en plastique**

Au lieu de travailler jusqu'à la stabilisation de l'appareil dont la durée varie de 45min jusqu'à 60min, on la diminue à 20min. D'autre part on rajoute des récipients en plastiques qui assurent la stabilisation des résultats avec **une température de 25 °C**. Les résultats obtenus seront comme suit :

Echantillon	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
Labo ALF	AL	0.693	0.696	0.694	0.696	0.692	0.698	0.696	0.693	0.699	0.691
Labo REF		0.697	0.701	0.697	0.7	0.701	0.7	0.702	0.694	0.696	0.697
Ecart		0.004	0.005	0.003	0.004	0.009	0.002	0.006	0.001	0.003	0.006

Interprétation :

Les résultats obtenus montrent une diminution notable de l'écart entre les résultats trouvés par le laboratoire ALF AL Maghreb et ceux du laboratoire de référence.

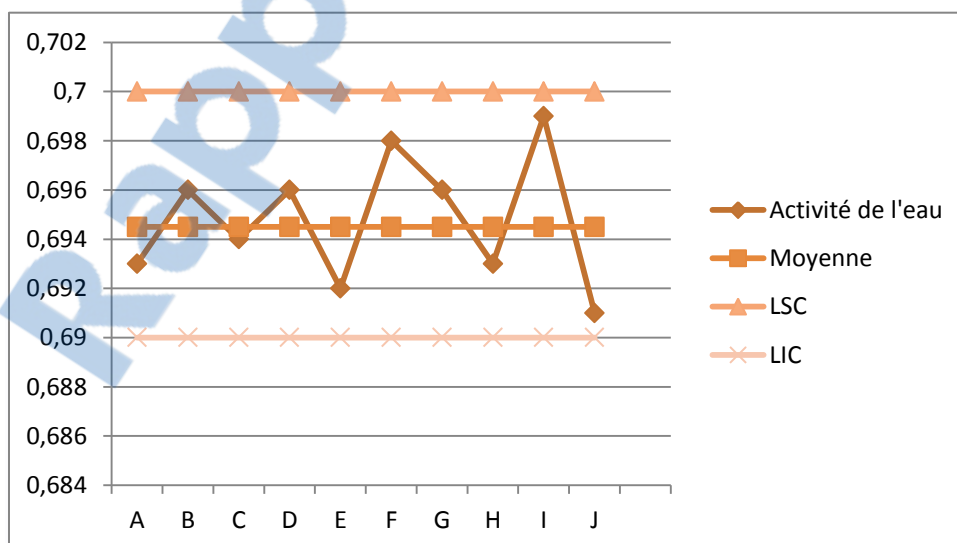
Le paramètre de temps permet donc de réduire l'écart.

⇒ **La méthode est donc conforme.**

Cartes de contrôles

Il est très important que tous le processus de mesure soient sous contrôle statistique. Ceci permet à l'analyste d'avoir une certaine assurance sur la fiabilité des résultats. Ce qui consiste à reproduire une carte de contrôle.

Echantillon	Activité de l'eau	Moyenne	LSC	LIC
A	0,693	0,6945	0,7	0,69
B	0,696	0,6945	0,7	0,69
C	0,694	0,6945	0,7	0,69
D	0,696	0,6945	0,7	0,69
E	0,692	0,6945	0,7	0,69
F	0,698	0,6945	0,7	0,69
G	0,696	0,6945	0,7	0,69
H	0,693	0,6945	0,7	0,69
I	0,699	0,6945	0,7	0,69
J	0,691	0,6945	0,7	0,69



Interprétations :

La carte de contrôle montre que le procédé est sous contrôle statistique parce que tous les points sont entre les deux limites d'avertissement (inférieure et supérieure). D'où : "pas de source d'inquiétude"

II. Validation de la méthode de détermination de la solubilité des protéines dans 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

4. 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 centrifuger 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.

5. 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 :

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

- 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 % :

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

6. Objectif de l'étude

Dans le cadre de validation des méthodes d'analyses utilisées au laboratoire ALF AL Maghreb, il s'est avéré que les méthodes d'analyses de cuisson de tourteaux de soja nécessitent une optimisation.

En effet, ces méthodes utilisées jusqu'à présent donnent des résultats différents à ceux du laboratoire de référence.

Afin de remédier à ce problème, nous avons dans notre étude optée pour son optimisation. Cette dernière consiste à trouver les conditions opératoires qui garantissent des résultats fiables et comparables à ceux du laboratoire de référence.

7. Travaux préliminaires :

Lors des analyses effectuées au laboratoire ALF AL Maghreb, nous avons constaté un écart important entre les résultats des analyses de solubilité des protéines dans le KOH 0.2% et les résultats d'un laboratoire de référence.

Solubilité des protéines dans le KOH 0.2%
(laboratoire ALF AL Maghreb) en (%)

Solubilité des protéines dans le KOH 0.2%
(laboratoire ALF AL Maghreb) en (%)

30.82

79.3

Interprétations :

Les résultats que nous avons obtenus au laboratoire de la société ALF AL Maghreb montrent un écart à ceux du laboratoire de référence.

Afin de remédier à cette problématique et chercher les réglages des paramètres de cette méthode d'analyse pour minimiser l'écart entre les valeurs trouvées au laboratoire ALF AL Maghreb et celle du laboratoire de référence, nous avons choisi la méthodologie de validation des méthodes d'analyses.

8. Résultats de l'étude

7.1 Solubilité des protéines dans KOH 0.2%

Choix des facteurs et du domaine de variation :

En concertation avec le responsable du laboratoire de la société ALF AL Maghreb, nous avons choisi les facteurs susceptibles à influencer l'écart entre les résultats trouvés par le laboratoire ALF AL Maghreb et celle du laboratoire de référence de la méthode d'analyses

	Facteurs	Nombre niveaux	de Niveaux
U1	Vitesse d'agitation	2	70
			100
U2	Temps d'agitation	2	15
			25
U3	Volume de NaOH	2	80
			95
U4	Température	2	15
			25

Validation des méthodes d'analyses

Après réalisation des essais, nous avons obtenu les résultats dans le tableau ci-dessous :

<i>N° Exp</i>	<i>Vitesse d'agitation</i>	<i>Temps d'agitation</i>	<i>Température</i>	<i>Volume de NaOH</i>	<i>Insolubilité des protéines dans KOH</i>
<i>Unité</i>	<i>%</i>	<i>min</i>	<i>°C</i>	<i>ml</i>	<i>%</i>
1	100	25	15	97	74.79
2	70	25	25	80	34.75
3	70	15	25	97	73.67
4	100	15	15	80	36.45

Interprétation

- La vitesse d'agitation, le temps d'agitation et la température ont des effets très faible voir négligeable.
- Le volume de NaOH a un grand effet positif sur les résultats obtenus.

Etapas de validation

Justesse

Lors les analyses effectuées au laboratoire à la société ALF AL Maghreb, nous avons constaté qu'il n'y a pas un écart considérable entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et une valeur de référence ou autrement la valeur attendue.

Valeur attendu : entre 67% et 85%

Moyenne des résultats : 74.86%

 **Fidélité :**

✓ **Répetabilité :**

Echantillon	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
KOH %	74.47	75.82	74.49	75.95	74.81	75.25	76.41	75.44	75.57	75.25

Interprétation

il y a **une étroitesse de l'accord** entre les résultats individuels successifs obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans le même laboratoire, exécuté par le même analyste avec le même appareil pendant le même jour.

✓ **Reproductibilité :**

Dans ce cas les résultats de laboratoire ALF AL Maghreb seront comparés à celle du laboratoire de référence.

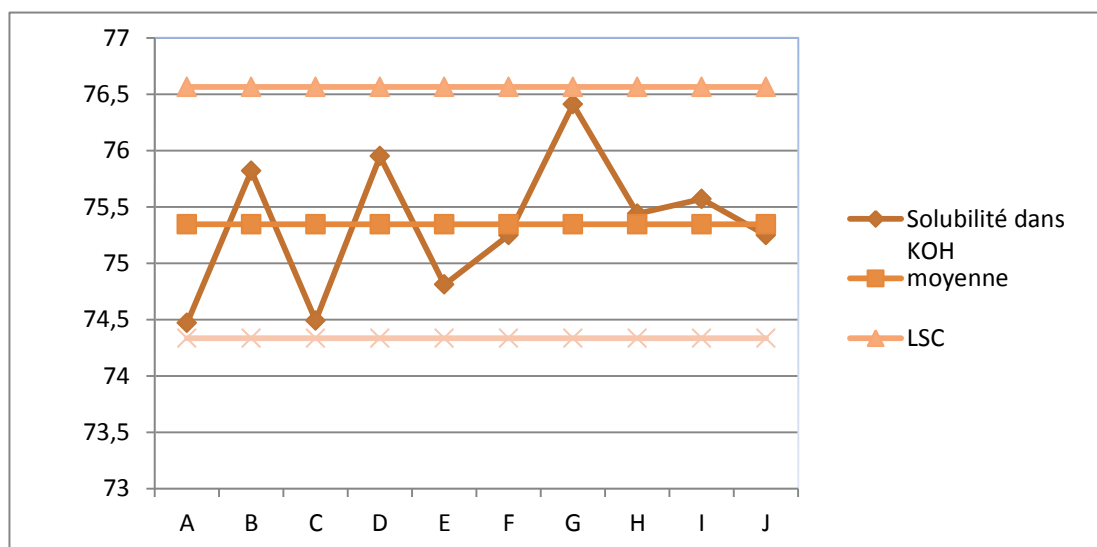
Echantillon	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Labo AL ALF	73.47	75.42	74.49	75.95	74.81	75.45	76.41	75.44	75.57	75.25
Labo REF	73.06	74.55	74.08	75.22	74.11	75.23	75.95	74.90	75.13	74.62
Ecart	0.41	0.87	0.41	0.73	0.71	0.22	0.22	0.46	0.44	0.62

Interprétation : il y a **une étroitesse de l'accord** entre les résultats individuels successifs obtenus sur le même échantillon soumis à l'essai dans un laboratoire différent, exécuté par un analyste, un appareil et jour différents.

Cartes de contrôles

Il est très important que tous le processus de mesure soient sous contrôle statistique. Ceci permet à l'analyste d'avoir une certaine assurance sur la fiabilité des résultats. Ce qui consiste à reproduire une carte de contrôle.

Echantillon	Solubilité dans KOH(%)	moyenne	LSC	LIC
A	74,47	75,346	76,565	74,335
B	75,82	75,346	76,565	74,335
C	74,49	75,346	76,565	74,335
D	75,95	75,346	76,565	74,335
E	74,81	75,346	76,565	74,335
F	75,25	75,346	76,565	74,335
G	76,41	75,346	76,565	74,335
H	75,44	75,346	76,565	74,335
I	75,57	75,346	76,565	74,335
J	75,25	75,346	76,565	74,335



Interprétations :

La carte de contrôle montre que le procédé est sous contrôle statistique parce que tous les points sont entre les deux limites d'avertissement (inférieure et supérieure). D'où : "pas de source d'inquiétude".

Conclusion

Dans le cadre du projet de fin d'études, j'ai effectué mon stage au sein du laboratoire de la société ALF AL Maghreb, je me suis intéressé à la validation de trois méthodes d'analyses qui visent la qualité des matières premières et des produits finis. À savoir :

- 1) Activité de l'eau (A_w)**
- 2) Indice de solubilité des protéines dans KOH (0.2)**
- 3) Dosage de bases azotées volatiles**

Nous avons pu grâce aux Indicateurs statistiques de la performance d'une méthode de mesure à savoir : justesse, fidélité, reproductibilité, Répétabilité et cartes de contrôle valider les deux premières méthodes.

Concernant la troisième méthode, je n'ai malheureusement pas pu la valider à cause de difficultés concernant la programmation d'emploi de l'appareil.

Finalement, ce stage était très bénéfique pour moi de point de vue aussi bien professionnel que personnel.

Références bibliographiques

- Optimisation du chauffage et valeurs nutritionnelle et fonctionnelle des protéines de soja : optimal heating and nutritional and functional value of soyproteins.

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.
- Syndicat national de l'industrie et 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 : Validation des méthodes d'analyses de tourteaux de soja ;

- Validation de méthode d'analyse, Mr jacques LESIANT
- https://www.lareal.com/module_externe/information_scientifique/document_73.pdf
- La validation des méthodes d'analyses, une approche chimométrique de l'assurance qualité au laboratoire, MAX FEINBERG, Masson Paris 1996.
- Guide sur la vérification et la validation des méthodes d'essais et d'étalonnage selon l'ISO/CEI 17025

Annexe

Tableau : le rôle du prémix

Type	Rôle
Oligo-éléments	-Amélioration de la valeur nutritive de l'aliment : sulfate de cuivre, carbonate de sodium, oxyde de magnésium ...
Vitamines	-Amélioration de la valeur nutritive de l'aliment : B6, B12, A, K3, E ...
Acides aminés	-ils sont indispensables à la croissance, à la production et à la reproduction des animaux : lysine, méthionine, thréonine
Anticoccidiens	-prévenir la coccidiose des intestins
Facteur de croissance (les poulets)	-augmente l'indice de consommation - gain de poids
Enzymes	-libère le phosphore -casse les liaisons des sucres
Levures (pour les ruminants)	-stabilise le ph du tube digestif -améliore la digestibilité
Charbon végétal	-Anti-diarrhées et régulation de la fonction intestinale
Support : CaCO ₃ , mais , son de blé , remoulage	-Faciliter l'homogénéisation