

Collecte, conservation et transformation des échantillons de farine de poisson

I.1- Présentation du site de travail

Le travail s'est effectué au Laboratoire d'Alimentation et de Nutrition Animales (LANA) du Service de Zootechnie-Alimentation à l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EIMSV) de Dakar. Le LANA est un laboratoire de recherche et d'analyses des aliments de bétail et des produits animaux. Disposant d'un équipement assez moderne, il applique des méthodes d'analyses réglementaires et conformes aux normes internationales afin de répondre aux exigences de la qualité. Ses principales activités comprennent les analyses bromatologiques classiques des aliments (matières premières, fourrages, aliments complets, etc.), des produits d'excrétion et de digestion (lait, urine, matières fécales, etc.), la recherche de toxine, la formulation des rations pour les animaux d'élevage.

Le LANA fournit également une assistance technique, un appui-conseil, des formations continues en laboratoire, en matière de formulation des rations et de stratégies d'alimentation des animaux aux acteurs du secteur des productions animales (professionnels d'élevage, unités ou entreprises de production d'aliment bétail, associations de d'éleveurs, etc.).

I. 2- Matériel et équipements d'étude utilisés

La collecte des échantillons de farine de poisson a été réalisée durant la période de septembre 2012 à février 2013. Ces échantillons collectés sont issus à la fois des unités industrielles et artisanales de fabrication de farine de poisson. Ainsi, sur un total de quatre-vingt-dix-neuf (99) échantillons collectés, soixante-treize (73) sont issus de cinq (5) différentes unités artisanales et vingt-six (26) de trois (3) unités industrielles (Tableau VII). Depuis le lieu de production jusqu'à leur analyse au laboratoire, les échantillons de farines de poisson ont suivi la chaîne de prélèvement classique ci-dessous (Figure 6) visant à respecter les normes garantissant la cohérence des résultats des analyses. Arrivés au laboratoire, les échantillons sont broyés (surtout pour les farines grossières) et pré-séchés pendant 24 heures (notamment les farines trop humides) à une étuve réglée à 60°C. Ils sont par la suite transférés dans des sachets spécifiques ou des pots en plastiques puis conservés au réfrigérateur à 6-8°C pour les différentes analyses.

Au plan physique, les échantillons de farine de poisson sont d'aspect, de granulométrie et de couleur variés. Les farines industrielles ont présenté une granulométrie plus fine et une coloration plus claire que les farines artisanales. Elles sont beiges ou brunes et d'odeur légère

contrairement aux farines artisanales qui elles, sont marron-foncé, noirs ou parfois rouges avec une odeur souvent relevée.

Tableau VII: Echantillons de farine de poisson collectés par type d'entreprise de production

Types d'unités ou d'entreprises	Nombre d'unités	Nombre d'échantillons de farine de poisson
Artisanales	05	73
Industrielles	03	26
TOTAL	09	99

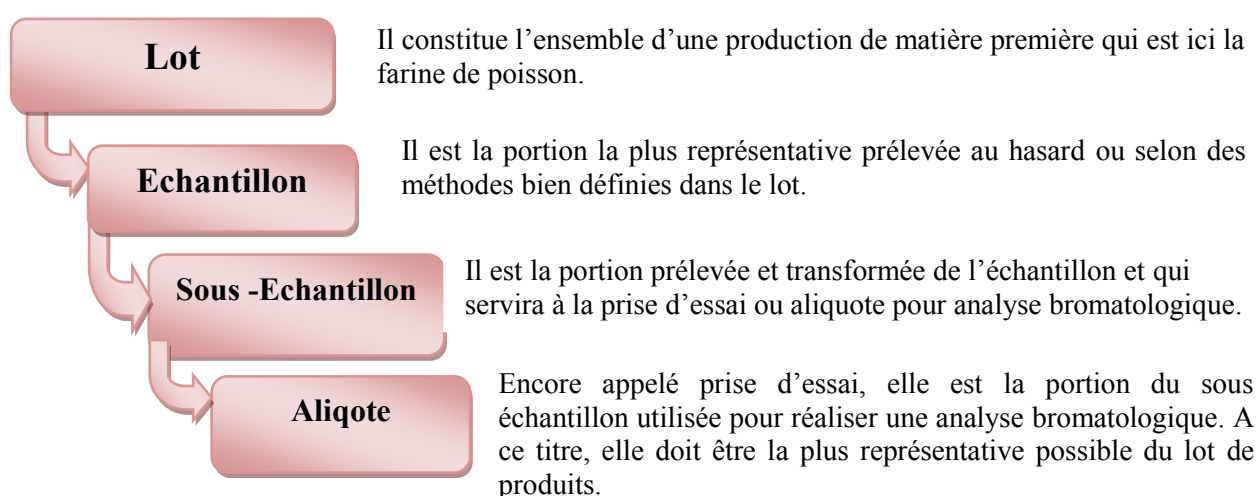


Figure 6: Schéma de la chaîne de prélèvement de produits ou matières premières pour analyse bromatologique (Salghi, Sd)

I.2.2. Analyses bromatologiques des échantillons de farines de poisson

Afin d'évaluer la valeur nutritionnelle des farines de poisson nous avons effectué sur chaque échantillon des analyses bromatologiques. Pour l'ensemble des analyses chimiques réalisées, des appareils, matériels, de la verrerie, des réactifs et produits chimiques divers et spécifiques ont été minutieusement utilisés. Les méthodes employées pour les différents dosages se réfèrent à celles des normes de l'Association Française pour la Normalisation (AFNOR) pour l'alimentation animale. Les dosages réalisés ont concerné la détermination des taux de matière sèche (MS), de cendres totales ou matières minérales brutes (MM), de protéines brutes ou matières azotées totales (MAT), de matières grasses (MG) et d'éléments minéraux tels le calcium (Ca), le sodium (Na), le potassium (K) et le phosphore (P).

1.2.2.1 Dosage de la matière sèche

La matière sèche constitue le résidu de matière complètement dépourvu d'eau. Dans un aliment on retrouve l'eau sous deux formes : l'eau libre (facilement évaporable) et l'eau liée par des ponts hydrogènes aux macromolécules, tels que les polysaccharides et les protéines et qui est difficilement évaporable (**Salghi, Sd**). La détermination de la teneur en matière sèche a été réalisée selon la procédure décrite par **AFNOR (1977)**.

Pour cela **2,5 à 5 g** de matière ont été pesé dans un creuset en porcelaine dont le poids vide (**P₀**) est connu, à l'aide d'une balance de précision (Figure 7). L'ensemble creuset + matière (**P₁**) est ensuite placé dans une étuve isotherme (Figure 8) réglée à **103°C ±1°C**, pour une durée de **4h30 minutes**. Une fois le temps écoulé, le creuset est rapidement sorti de l'étuve et est placé dans un dessiccateur sous vide où il est laissé refroidir pendant une heure environ. Il est rapidement pesé (**P₂**) pour éviter qu'il n'absorbe de l'humidité au contact de l'air. La différence de masse de la matière constatée correspond à la perte en eau de l'échantillon de farine pendant le séchage. Le taux de l'humidité est obtenu selon la formule ci-après ce qui permet d'obtenir celui de la matière sèche par déduction.

$$\text{Humidité (\%)} = [(P_1 - P_2) \times 100] / (P_1 - P_0)$$
$$\text{Matière sèche (\%)} = 100 - \text{Humidité (\%)}$$



Figure 7: Balance de précision utilisée pour la pesée de la prise d'essai



Figure 8: Etuve réglable utilisée pour le dosage de la matière sèche

1.2.2.2 Dosage des cendres ou matières minérales brutes

Les matières minérales ou cendres brutes constituent le résidu minéral obtenu après calcination d'un échantillon de matière d'origine végétale, animale ou synthétique. Ce résidu contient essentiellement des éléments minéraux, mais on peut y retrouver des impuretés

(Salghi, Sd). La détermination du taux de matières minérales ou cendres brutes a été faite suivant la procédure **AFNOR (1977)**.

La prise d'essai (**P₁ = 2 à 5 g**) mise dans un creuset en porcelaine de poids vide (**P₀**) préalablement relevé est incinérée dans un four à moufle (Figure 9) réglé à **550°C ± 1°C** pendant **7 heures** environ. Après l'arrêt du chauffage et abaissement de la température du four, le creuset est retiré à l'aide d'une pince et mis au dessiccateur pour refroidissement pendant une heure. Le creuset refroidi et contenant de cendres de couleur variable (Figure 10) est pesé (**P₂**). La perte de matière constatée pendant la calcination correspondant aux matières organiques, la teneur en matières minérales brutes exprimée en % de poids la matière sèche, est déterminée suivant la formule ci-après (**P₃**) :

$$\text{Matières minérales brutes (\% MS)} = [(P_2 - P_0) \times 100] / P_1$$

Avec **P₁** en PMS



Figure 9: Four à moufle utilisé pour l'incinération des prises d'essai



Figure 10: Creusets contenant des cendres gris-claire (à gauche) et gris-sombre (à droite) de farine de poisson

I.2.2.3 Dosage des protéines brutes

A la différence des glucides et des lipides, les protéines contiennent de l'azote et cette propriété est exploitée pour doser le taux de matières azotées totales dans les produits (Salghi, Sd). La détermination du taux de protéines brutes a été réalisée suivant la méthode de Kjeldahl décrite par **AFNOR (19977)** et comporte trois (3) étapes à savoir:

- **la minéralisation** qui consiste à dégrader la matière par l'attaque de l'acide sulfurique concentrée à chaud en présence d'un catalyseur (sulfate de sélénium). Ainsi la prise d'essai (**0,5 à 2 g**) est mise dans un tube minéralisateur à laquelle sont rajoutés un comprimé du catalyseur et 20 ml d'acide sulfurique concentré. L'ensemble placé sous une hotte, est monté dans un bloc minéralisateur (figure 11) réglé à **420°C** pendant environ **1h 30 mn**. Pendant

cette phase, l'azote organique est complètement transformé en azote minéral sous forme d'un sel d'ammonium ($N_{\text{organique}} \rightarrow NH_4^+$). A la fin de la minéralisation, les tubes d'un contenu vert-clair, sont retirés du bloc et laissés refroidir sous hotte avant la distillation.

- **La distillation** a été faite à l'aide d'un distillateur Kjeldal BUDHI-B 324 (Figure 11) programmé pour 10 minutes de distillation et sur lequel sont montés les tubes contenant la solution de prise d'essai minéralisé. Légèrement diluée par l'eau et additionnée d'une solution de soude à 30% (100 ml), la solution de prise d'essai minéralisé libère pendant la distillation de l'ammoniac sous forme de vapeur ($NH_4^+ + NaOH \rightarrow Na^+ + NH_3 + H_2O$) et qui piégé dans 60ml d'une solution d'acide borique à 4% saturée par deux indicateurs colorés, le rouge de méthyl (7ml/l) et le vert de bromothimol (14ml/l). L'ammoniac réagit avec l'acide borique pour former des sels de borates d'ammonium ($NH_3 + H_3BO_3 \rightarrow NH_4^+ + H_2BO_3^-$). Le distillât d'une couleur verte et contenant les ions ammonium, est recueilli dans un bécher de 250ml pour être par la suite titré avec une solution d'acide sulfurique 0,1N.

- la **titration** ($NH_3 + H_3O^+ \rightarrow NH_4^+ + H_2O$), dernière étape du processus est arrêtée et le volume (V) d'acide sulfurique écoulé noté, dès l'observation du virage de la solution au rose. La teneur en protéines brutes de la farine analysée est obtenue en multipliant la teneur en azote par le coefficient usuel 6,25 (les protéines contenant 16% d'azote). Sachant qu'1ml d'acide sulfurique (0,1N) écoulé correspond à 1,4008 mg d'azote, le taux de protéines brutes est alors calculé suivant la formule ci-après.

$$\text{Teneur en protéines brutes (\% MS)} = [(V \times 1,4008 \times 100) / \text{PMS}] \times 6,25$$



Figure 11: Dispositifs de minéralisation (à gauche), de distillation (au milieu) et de titration (à droite) utilisés lors du dosage des protéines brutes

I.2.2.4 Dosage des matières grasses

Les lipides ou matières grasses étant solubles uniquement dans les solvants organiques tels que, l'éther éthylique ou l'éther de pétrole, cette propriété est mise à profit pour les extraire des échantillons d'aliments (**Salghi, Sd**). La détermination de la teneur en matières grasses brutes dans les échantillons de farine de poisson a été réalisé avec la méthode référence d'extraction sous reflux de soxhlet décrite par **AFNOR (1977)**.

A cet effet, la prise d'essai (**P₁**), d'environ **2,5 à 5 g** est introduite dans une cartouche d'extraction en cellulose bouchée par du coton hydrophile. La cartouche est alors placée dans un tube d'extraction sous un réfrigérant supporté par un ballon dont le poids à vide (**P₀**) a été initialement relevé. Après avoir disposé l'ensemble sur un bain-marie réglé à 80°C (figure 12), 140 ml d'éther éthylique ont été rajoutés à la cartouche du tube d'extraction afin que celle-ci avec la prise d'essai soit complètement imbibée et trempée. Sous l'effet de la chaleur, le solvant s'évaporant se condense sous le réfrigérant, trempe, rince la cartouche et son contenu et en entraînant avec lui les matières grasses qui s'accumulent progressivement dans le ballon. Au bout de **4-6 heures** de temps, cette opération d'extraction (trempage, rinçage, évaporation), la cartouche est retirée, l'éther éthylique évaporé et récupéré et le ballon contenant les lipides extraits, est mis à l'étuve pendant environ une heure pour un séchage complet. Après refroidissement au dessiccateur, le ballon avec son contenu est pesé (**P₂**) et le taux de matières grasses est calculée suivant la formule suivante :

$$\text{Taux de matières grasses (\% MS)} = [(P_2 - P_0) \times 100] / P_1$$

Où **P₁** exprimé en **PMS**



Figure 12: Appareil de soxhlet ou dispositif d'extraction des matières grasses contenues dans les échantillons de farines de poisson

I.2.2.5- Dosage du sodium, du potassium et du calcium

La teneur en sodium (Na), potassium (K) et calcium (Ca) des différents échantillons de farines de poisson analysées a été déterminée par la méthode d'absorption photométrique à flamme décrite par **AFNOR (1984)**.

La prise d'essai (environ **2,5 g**) a été minéralisée par voie sèche à **550°C** pendant **7 heures**, puis les cendres obtenues ont été transférées dans un Becher de 250 ml, à l'aide de l'eau distillée complétée par 12 ml d'acide chlorhydrique concentré. Le mélange ainsi obtenu est placé sur une plaque chauffante à 175°C pour une ébullition douce jusqu'à évaporation à sec. Dans une seconde phase, on ajoute 10 ml d'acide nitrique concentré au contenu du bécher et on réalise évaporation partielle pendant environ 2-3 minutes. Le béchers est alors retiré et son contenu est recueilli après adjonction de quelques millilitres d'eau chaude, dans une fiole de 250 ml puis complété à l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

Les densités optiques des différentes solutions aliquotes et étalons sont alors mesurés au spectromètre à flamme (Figure 13) pour déterminer les concentrations de ces différents minéraux dans les solutions aliquotes grâce à l'équation de régression de la courbe d'étalonnage établie. Le taux de chacun des éléments minéraux dans les échantillons analysés a été calculé selon la formule :

$$\text{Na, K ou Ca (\% MS)} = \frac{\text{Concentration en Na, K ou Ca (\mu g /ml)} \times \text{Dilution (ml)} \times 100}{\text{PMS}}$$

Avec PMS = prise d'essai en MS (μg)



Figure 13: Photomètre à flamme utilisé pour les mesures de densité optique lors du dosage du sodium (Na), potassium (K) et de calcium (Ca) dans les échantillons de farine de poisson

I.2.2.6 Dosage du phosphore total

La teneur en phosphore total a été déterminée par la méthode spectrophotométrique d'absorption à 430 nm décrite par **AFNOR (1980)**. En dehors de la minéralisation par voie

sèche où il a été ajouté 1g de carbonate de calcium à la prise d'essai (2,5 g) avant la mise au four, les cendres ont subi le même traitement que dans le cas du dosage des minéraux précédents. Après l'obtention des solutions aliquotes (figure 14), il a été ensuite réalisé une réaction de mission en mettant dans un tube à essai 2 ml de solution aliquote ou étalon plus un volume équivalent du réactif Vanodo-Molybdate., Il se développe après agitation au bout de 10 mn, une coloration jaune dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de phosphore présente dans la solution. Les densités optiques des solutions étalons et aliquotes des tubes à essai sont alors mesurées au spectrophotomètre réglé à 430 nm (figure 14) afin de déterminer à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage, les concentrations en phosphore (C_x) des solutions aliquotes et le taux de phosphore des échantillons de farine analysés selon la formule suivante :

$$\text{Phosphore total (\% MS)} = \frac{\text{Concentration en P (\mu g /ml)} \times \text{Dilution (ml)} \times 100}{\text{PMS}}$$

Avec PMS = Prise d'essai en MS (μg)



Figure 14: Fioles contenant les solutions aliquotes (à gauche), tubes permettant la réaction de mission et spectrophotomètre utilisé pour la lecture des densités optiques lors du dosage du phosphore total dans les échantillons de farine de poisson.

I.2.2.7- Dosage ou détermination de la teneur en énergie des échantillons de farine de poisson

La teneur en énergie brute, EB (kcal/kg MS) des farines de poisson a été déterminée à partir de la valeur calorifique des éléments organiques (5,5 kcals pour 1 g de protéines et 9,4 kcals pour 1 g de lipides) qu'elles renferment. Leur concentration en énergie métabolisable (EM) pour volaille « coq adulte » a été calculée à partir de l'équation ($\text{EM} = 39,5 \text{ PB} + 64,5 \text{ MGB}$) de Opstvedt établie pour la farine de poisson (Bourdon *et al.*, 1984).

I.2.3- Traitement et analyses statistiques des données

Les résultats obtenus pour les différents éléments chimiques et l'énergie déterminés dans les différents échantillons de farines de poisson des unités industrielles (03) et artisanales (05) ont été saisis dans un tableur Excel. Pour apprécier la qualité des farines de poisson produites et

leur fréquence par type d'entreprise, il a été procédé à une codification et une classification typologique basée respectivement sur les taux de protéines brutes, de matières grasses, de matières minérales et de l'énergie métabolisable des différents échantillons de farines de poissons analysés. Ainsi, la classification standard de l'INRA basée sur les taux de protéines a été rallongée suivant le même modèle standard de classification que ce dernier jusqu'au type 35 (Tableau VIII). En fonction du taux des matières grasses, trois types de farines de poisson ont été définis à savoir : les types maigres (contenant 1-9% de lipides), gras (9-15% de lipides) et très gras (dont le taux lipides > 15%).

Tableau VIII: Classification des farines de poissons par type protéique en fonction du pourcentage

Classe protéique	Type 70	Type 65	Type 60	Type 55	Type 50	Type 45	Type 40	Type 35
PB (%)	75-68	68-63	63-58	58-53	53-48	48-43	43-38	<38

Aussi, par rapport à aux teneurs en matières minérales ou cendres brutes et en énergie métabolisable (EM) pour volaille, trois classes de farines de poisson ont été définies. Il s'agit respectivement des farines à teneurs faibles, moyennes et élevées en cendres brutes ou en énergie métabolisable (tableaux IX).

Tableau IX: Catégorisation des farines de poisson en fonction de leurs teneurs en matières minérales brutes et en énergie métabolisable (EM).

Catégories ou types de farine de poisson en fonction de :	Faible	Moyenne	Elevée
Teneur en cendres brutes (%)	< 25	25 à 40	> 40
Teneur en EM (kcal/kg MS)	< 2000	2000 à 3000	> 3000

Les différentes données ainsi obtenues ont été exportées vers le logiciel SPSS, « Statiscal Package for Social Science » où elles ont fait l'objet d'une analyse statistique descriptive (diagramme de dispersion, moyennes, écart-types, fréquences des types nutritionnels).

Les farines artisanales ont été comparées aux farines industrielles grâce au test *t* de *student*. Le test de ANOVA a permis d'analyser la variance des éléments constitutifs des farine de poisson au sein des unités artisanales comme industrielles et lorsque la variation a été significative ($p < 0,05$), le test *t* de *Student* a complété cette analyse pour les deux (2) types d'entreprises.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II.1 Diagramme de dispersion de la composition chimique et énergétique des farines de poisson artisanales et industrielles produites au Sénégal

Les différents constituants chimiques pour l'ensemble des 99 échantillons de farines de poisson artisanales (73) et industrielles (26) analysées sont illustrés à la figure 15. De l'analyse de ce diagramme, il ressort que les protéines et les cendres brutes sont les constituants de la matière sèche les plus représentés, suivis des matières grasses et des éléments minéraux comme le calcium et le phosphore. Le sodium et le potassium sont eux des éléments qui se retrouvent en très faible proportion dans les farines analysées qu'elles soient artisanales ou industrielles. Le taux de matière sèche (MS) a varié dans les deux types de farines, mais de façon beaucoup plus prononcée dans les farines artisanales. Alors que les farines de poisson industrielles ont leur taux de protéines brutes nettement plus élevé que celui des cendres brutes, avec une teneur relativement importante en lipides, celles artisanales ont pour la plupart des taux de protéines brutes et de cendres brutes sensiblement proches accompagnés d'un taux de gras nettement plus élevé que celui des premières. La différence de variabilité des taux de protéines brutes, de matières grasses et de matières minérales ou cendres brutes a été plus significative dans les farines artisanales que celles industrielles. Aussi l'augmentation du taux de gras dans les farines a été accompagnée de celle de l'énergie (figure 15), alors que les teneurs élevées en cendres brutes dans les farines artisanales n'ont pas été suivies de celles des éléments minéraux qui sont restés relativement faibles aussi bien dans les farines artisanales qu'industrielles (figure 15). Ces observations sont similaires à celles faites au Sénégal par **Ngom (2004)** et au Kenya et en Ouganda par **Bastianelli et al. (2009)** avec des farines de poisson artisanales. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les cendres brutes des farines de poisson analysées contiennent en plus des éléments minéraux, des impuretés, notamment la silice traduisant ainsi les contaminations dues aux mauvaises conditions de fabrication surtout pour les farines artisanales mais aussi le caractère frauduleux de certains fabricants qui n'hésiteraient pas à rajouter d'autres déchets solides autres que ceux provenant des poissons utilisés pour augmenter les quantités de cette matière première tant prisée, d'autant plus que pour des farines industrielles à taux de cendres relativement faibles, **Ngom (2004)** avait trouvé des teneurs relativement élevées en éléments minéraux.