

6. EXPRESSION DES RESULTATS

L'ABVT. est exprimé en ammoniac ($\text{NH}_3 = 17$). Le résultat est rapporté à 100 g de produit. Soit n le nombre de ml d'acide sulfurique 0,1 N utilisé pour la neutralisation.

On a :

$$\text{ABVT (mg/100g)} = 1,7 \times n \times 10 = 17n$$

-----★-----

Arrêté du 12 Joumada Ethania 1427 correspondant au 8 juillet 2006 rendant obligatoire la méthode de détermination de la teneur en histamine dans les produits de la pêche par chromatographie liquide haute performance.

Le ministre du commerce,

Vu le décret présidentiel n° 06-176 du 27 Rabie Ethani 1427 correspondant au 25 mai 2006 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce ;

Vu le décret exécutif n° 04-189 du 19 Joumada El Oula 1425 correspondant au 7 juillet 2004 fixant les mesures d'hygiène et de salubrité applicables aux produits de la pêche et de l'aquaculture ;

Arrête :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire la méthode de détermination de la teneur en histamine dans les produits de la pêche par chromatographie liquide haute performance.

Art. 2. — Pour la détermination de la teneur en histamine dans les produits de la pêche par chromatographie liquide haute performance, les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet doivent employer la méthode décrite en annexe.

Cette méthode doit être également utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 12 Joumada Ethania 1427 correspondant au 8 juillet 2006.

Lachemi DJAABOUBE.

ANNEXE

METHODE DE DETERMINATION DE LA TENEUR EN HISTAMINE DANS LES PRODUITS DE LA PECHE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE HAUTE PERFORMANCE

1. OBJET

Cette méthode décrit le dosage de l'histamine dans le thon, la sardine, le maquereau, les anchois ou tout produit de la mer à l'état frais, congelé, fumé, séché, appertisé ou ayant subi tout autre traitement.

L'histamine est une amine provenant de la dégradation de l'histidine par décarboxylation. Sa présence, à des teneurs supérieures à 10 mg/100g dans des poissons, est susceptible de provoquer des phénomènes d'intoxication.

2. PRINCIPE

L'histamine est solubilisée dans de l'acide trichloroacétique, complexée avec l'ortho-phthalaldéhyde, séparée par chromatographie liquide haute performance (CLHP) sur phases inverses, puis détectée par fluorométrie.

3. APPAREILLAGE

- broyeur ;
- balance ;
- pompe isocratique pour chromatographie liquide ,
- injecteur type RHEODYNE avec boucle d'injection de 20 μl ;
- colonne C18 (20 cm x 4 mm) : silice sphérique 5 μm greffée C18 avec éventuellement une pré-colonne ;
- détecteur fluorométrique à flux continu avec une cellule de 20 μl ;
- enregistreur intégrateur ;
- utilisation éventuelle d'un auto-préparateur - injecteur automatique.

4. REACTIFS

- solution d'acide trichloroacétique 20% (TCA 20%) ;
- dichlorhydrate d'histamine (184,07 mM) ;
- solution d'histamine à 3,33 mg/ml.

Dissoudre 165,6 mg de dichlorhydrate d'histamine dans 100 ml de TCA 10 %.

Diluer au 1/3 puis au 1/100 :

- solution d'orthophthalaldéhyde (OPA) à 10 mg/ml dans du méthanol ;
- solution de soude 2 N ;
- solution d'acide chlorhydrique 3 N ;
- acétonitrile pour CLHP ;
- solution 1 mM de di-potassium hydrogène-phosphate (K_2HPO_4).

Dissoudre 174,2 mg de K_2HPO_4 dans un litre d'eau ultra pure :

- solution éluante pour la chromatographie : 40 % d'acétonitrile et 60 % de solution 1 mM de K_2HPO_4 ;
- filtre 5 μm ;
- papier filtre plissé n° 127.

5. MODE OPERATOIRE

5.1 Préparation du défécât trichloroacétique

Broyer et homogénéiser un échantillon représentatif de 200 g environ et prélever immédiatement la prise d'essai.

5.1.1 Cas des poissons frais et congelés

Homogénéiser 100 g d'échantillon avec 50 ml d'eau dans un broyeur puis ajouter 50 ml de solution TCA à 20 %, mélanger de nouveau et filtrer sur filtre en papier plissé n° 127.

5.1.2 Cas des poissons en conserve

Même procédé avec 50 g de chair égouttée, 50 ml d'eau et 50 ml de solution TCA à 20 %.

5.1.3 Cas des semi-conserves

Même procédé avec 40 g de chair, 100 ml d'eau et 50 ml de solution TCA à 20 %.

5.2 Réaction de complexation avec l'OPA

Diluer au 1/10 dans de l'eau déminéralisée une fraction aliquote du filtrat et filtrer sur filtre de 5 μm .

La suite de la réaction peut se faire manuellement ou à l'aide d'un auto-préparateur-injecteur.

Prélever 100 μl de la solution au 1/10, ajouter 900 μl d'eau ultra-pure, alcaliniser avec 200 μl de NaOH (2N) puis ajouter 100 μl de solution d'OPA (10 mg/ml), attendre quatre minutes puis bloquer la réaction en ajoutant 150 μl d'HCl (3N).

Bien agiter le tube après addition de chaque réactif et respecter rigoureusement les quatre minutes de temps de complexation.

5.3 Passage en chromatographie

- débit : 1 ml/min ;
- solvant d'éluion : 40 % d'acétonitrile et 60 % de solution 1 mM de K_2HPO_4 ;
- volume injecté : 20 μl ;
- détection fluorométrique : longueur d'onde d'excitation 360 nm et longueur d'onde d'émission 450 nm ;
- enregistrement et intégration des aires des pics d'histamine ;
- le temps d'éluion est d'environ 6 minutes.

Etalonnage externe (avec auto-préparateur)

- 100 μl d'une solution d'histamine à 3,33. 10⁻³ mg/ml ;
- 900 μl d'eau ;

- 200 μl NaOH 2N ;
- 100 μl OPA 10 mg /ml, attendre 4 minutes;
- 150 μl HCl 3N, passage en CLHP.

Les 20 μl injectés renferment 4,6 mg d'histamine.

Si la teneur en histamine est faible, faire la réaction de complexation sur le défécât TCA non dilué, ou faiblement dilué, par contre, si celle-ci est élevée, diluer le défécât de sorte à obtenir une lecture chromatographique proche de la solution étalon.

Effectuer deux déterminations sur le même défécât préparé.

6. EXPRESSION DES RESULTATS

6.1 Calcul

La teneur en histamine exprimée en mg pour 100 g d'échantillon est :

$$H = \frac{6,66 \times A}{As} \quad \text{poisson frais ou congelé}$$

$$H = \frac{10 \times A}{As} \quad \text{poisson en conserve}$$

$$H = \frac{15,83 \times A}{As} \quad \text{poisson semi-conserve}$$

où :

As = aire du pic d'histamine de l'échantillon standard ;
A = aire du pic d'histamine de l'échantillon à analyser.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations si les conditions de répétabilité sont remplies.

Exprimer le résultat à :

- 0,5 mg près (valeur absolue) pour des teneurs inférieures à 10 mg/100g ;
- 1 mg près (valeur absolue) pour des teneurs supérieures à 10 mg/100g ;

6.2 Répétabilité

La différence entre les résultats de deux déterminations effectuées par le même analyste ne doit pas excéder 5% en valeur relative.

6.3 Seuil de détection

- Poisson frais ou congelé : 0,5 mg/100g ;
- Poisson en conserve: 0,75 mg/100g ;
- Poisson semi-conserve: 1 mg/100g.