

# Détermination des médicaments dans les aliments\*

J. ALARY

*Service de Chimie Analytique et Bromatologie, Faculté de Pharmacie de Grenoble, 38700 La Tronche, France*

---

**Abstract:** *Determination of drugs in foods.* In foods, drugs can come from different sources: animal therapeutics, zootechnical feed supplementation or human food additives. The possible consequences arising from the presence of drugs in food are considered. The quantitative determination of drugs in feeds or in human foods must fulfil various requirements, including specificity, sensitivity, accuracy and rapidity. Spectroscopic, electrochemical and chromatographic techniques are discussed. Some examples reported are ipronidazole, pyrimethamine, diethylstilboestrol, decoquinat and chloramphenicol. The need for quality assurance in analysis is also discussed.

**Keywords:** *Animal feeds; additives; ipronidazine; pyrimethamine; antibiotics.*

---

## Introduction

Habituellement, lorsque'un individu reçoit un médicament, c'est à la suite d'une prescription médicale, du conseil de son pharmacien ou par le biais d'une automédication, mais c'est toujours en connaissance de cause.

Que penser par contre de médicaments apportés à l'insu du consommateur, quelquefois de façon régulière et pouvant en outre provoquer des interactions médicamenteuses avec une thérapeutique installée ou encore induire une sensibilisation de l'organisme.

C'est cependant ce qui peut se produire lorsque nous consommons des aliments: (i) soit additionnés directement de substances à activité pharmacologique dans un but de préservation de ces aliments; (ii) soit qui sont contaminés par des résidus de médicaments.

En effet, la consommation de médicaments par les animaux d'élevage peut entraîner l'accumulation de ces produits dans les muscles ou les viscères ou encore leur passage dans le lait et ils se retrouveront par voie de conséquence dans nos aliments. Il importe donc de toute évidence de savoir doser ces résidus de façon sélective dans les aliments, de manière à évaluer les risques et à protéger la santé du consommateur.

---

\* Presented at the 1st International Symposium on Drug Analysis, June 1983, Brussels, Belgium.

### *Définition du médicament*

Lorsque l'on considère la définition légale du médicament, on constate qu'on appelle ainsi toute substance employée dans un but thérapeutique ou pour établir un diagnostic. En effet, le texte législatif stipule: "On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques" [1].

Il en résulte donc que *stricto sensu*, n'est un médicament qu'un produit utilisé habituellement en tant que tel et non toute substance étrangère pouvant se trouver dans un aliment, même si elle possède des propriétés pharmacologiques.

La frontière n'est cependant pas aussi facile à établir qu'il peut le paraître au premier abord. La caféine, par exemple, produit naturel présent notamment dans le café est aussi une substance utilisée en thérapeutique. Doit-on alors la considérer comme un médicament lorsqu'elle est présente dans certaines boissons populaires? De même la quinine, employée comme antimalarique est bien un médicament, c'est cependant aussi un principe amer naturel du quinquina que l'on peut trouver dans des apéritifs ou des boissons toniques. Une autre ambiguïté existe dans le cas de certains conservateurs, antioxydants par exemple, qui possèdent par ailleurs des propriétés pharmacologiques tels que l'acide ascorbique ou les tocophérols, qui sont aussi des facteurs vitaminiques.

De propos délibéré et devant l'ampleur du problème, nous limiterons notre intervention aux seuls médicaments utilisés en tant que tels et dont la présence dans les aliments peut entraîner des conséquences pour la santé du consommateur.

### *Origine de la présence des médicaments dans les aliments*

Essayons tout d'abord d'envisager les origines possibles de la contamination des aliments par les médicaments.

*Thérapeutique vétérinaire.* Les futurs animaux de boucherie peuvent être atteints de diverses maladies au cours de leur élevage et nécessiter l'utilisation d'une thérapeutique vétérinaire. Ce problème est devenu d'autant plus aigu que les animaux sont élevés "en batterie" avec tous les risques correspondant à la promiscuité et au stress [2]. Tous les médicaments classiques et identiques à ceux employés pour l'usage humain peuvent être prescrits. Ils peuvent être employés seuls ou mélangés à l'alimentation ou encore sous forme d'aliment médicamenteux, l'aliment étant alors le véritable support du médicament. Ces médications sont en général de courte durée, prescrites par des vétérinaires ou en principe délivrés par des gens compétents.

Le temps d'attente entre la prise de médicament et la consommation de la viande ou des produits provenant de l'animal traité est réglementé, mais encore faut-il que la législation soit respectée. En outre, la vente des produits vétérinaires est soumise maintenant à l'obtention d'une autorisation de mise sur le marché. Or, dans le dossier toxicologique, il doit être prouvé que le médicament ne laisse pas de résidus dans la viande, le lait ou les oeufs.

*Emploi de médicaments pour rentabiliser l'élevage.* Dans certains cas, les médicaments ne sont pas utilisés dans un but thérapeutique, mais pour augmenter la rentabilité de l'élevage. C'est le cas tout particulièrement de l'emploi des estrogènes. En effet, l'administration d'estrogènes au cours de l'élevage industriel des veaux entre les 45ème

et 60<sup>ème</sup> jour de vie induit un effet anabolisant. Pour la même quantité d'aliments, la prise de poids est de 10% supérieure. L'emploi des estrogènes (17- $\beta$ -estradiol en particulier) ayant été interdit sauf chez les femelles adultes dans un but thérapeutique, les éleveurs se sont mis à utiliser le diéthylstilboestrol en intra-musculaire profonde. En France, un arrêté de 1978 réglemente les résidus d'estrogènes dans les viandes: 0% pour le diéthylstilboestrol, 0.0002 ppm pour les estrogènes naturels chez les jeunes animaux et 0.01 ppm chez les animaux adultes en âge de reproduire (les estrogènes étant présents même en dehors de toute administration).

Le deuxième exemple d'emploi non véritablement thérapeutique des médicaments est celui des antibiotiques, des sulfamides antibactériens ou des antiparasitaires qui sont introduits dans les aliments, donc administrés de façon continue sous forme d'aliments supplémentés. Ces antibiotiques permettent en effet d'accélérer la croissance des animaux, donc de réduire la durée de l'élevage et de diminuer la quantité de nourriture nécessaire. L'antibiosupplémentation est surtout efficace chez les animaux jeunes. C'est une pratique légale, mais la nature des antibiotiques utilisables, ainsi que les concentrations minimales et maximales admises dans les aliments supplémentés et leurs conditions d'utilisation sont réglementées. Certains antibiotiques sont totalement proscrits, notamment le chloramphénicol qui est cependant souvent utilisé en pisciculture surtout dans les élevages de truites, ce qui peut entraîner des résidus inquiétants dans la chair des poissons.

Si une réglementation existe aussi bien en matière d'hormones, que d'antibiotiques, par contre un contrôle systématique des aliments supplémentés n'est absolument pas réalisé et de mauvaises répartitions du médicament dans les aliments ont même provoqué des catastrophes sur le plan de l'intoxication des animaux [3].

*Emploi de certains médicaments en tant qu'additifs alimentaires.* Certains additifs alimentaires et tout particulièrement ceux qui sont employés en technologie alimentaire, pour assurer la conservation des aliments, sont doués de propriétés pharmacologiques et sont même utilisés en thérapeutique. Ce sont donc véritablement des médicaments. En effet, certains antiseptiques (comme l'acide borique ou l'acide benzoïque), certains antioxydants (acide ascorbique, tocophérols) ou les antibiotiques, sont bien également employés à des fins thérapeutiques. Mis à part les antibiotiques, qui sont d'ailleurs proscrits pour la conservation des aliments, les additifs médicamenteux autorisés sont soit parfaitement inoffensifs, soit utilisés à des concentrations absolument sans danger. En revanche, l'utilisation illégale d'antibiotiques (tétracyclines ou nisine par exemple) pour la conservation des poissons ou des viandes est une pratique extrêmement pernicieuse [4].

*Addition de substances actives aux aliments.* Une autre origine de la présence dans les aliments de substances thérapeutiquement actives peut enfin être citée. C'est celle de la supplémentation de ces aliments par des molécules existant normalement dans les aliments — acides aminés et vitamines, par exemple — dont la concentration est tout simplement augmentée et garantie. Cette addition peut effectivement correspondre à une partie de la définition du médicament précédemment citée, puisque ces substances ont bien pour but "de restaurer, corriger ou modifier les fonctions organiques" de l'homme. Dans la partie analytique de cet exposé, nous passerons cependant sous silence cet apport qui n'entraîne pas à proprement parler la présence de résidus de médicaments dans les aliments.

### *Conséquences possibles de la présence de médicaments dans les aliments*

Ces médicaments ajoutés à l'aliment lui-même ou qui se retrouveront dans les aliments provenant d'animaux traités, peuvent-ils avoir des conséquences graves? Si le médicament est un additif alimentaire, il sera évidemment présent en quantité correspondant à cet apport et sans possibilité d'élimination. Si au contraire, il s'agit de thérapeutique vétérinaire ou d'aliments supplémentés par des médicaments, la quantité introduite dans l'organisme animal ne se retrouvera qu'en partie dans la viande ou les productions animales, car il y a élimination et métabolisation. En effet, selon Pantaleon [5], l'animal joue le rôle de filtre biologique entre le médicament et le consommateur. Il importe donc d'établir un bilan métabolique du médicament ou de l'additif pour connaître ce que est résorbé, puis stocké [6].

Dans le cas des aliments supplémentés, les doses maximales d'utilisation ont été établies en tenant compte de la proportion de résidus et de la dose journalière admissible pour l'homme pour une absorption prolongée. Des tableaux officiels existent pour les médicaments anticoccidiens, antiparasitaires ou antibactériens ainsi que pour les antibiotiques. De plus, le nombre de substances autorisées est limité, et ces produits ont été choisis de manière à éliminer les produits dangereux (streptomycine ou chloramphénicol, par exemple) ou laissant des résidus importants.

Si la législation est bien respectée, le risque le plus tangible reste le risque allergologique. C'est surtout la pénicilline qui est à incriminer, mais aussi les aminosides et certains coccidiostatiques comme la nitrofurazone. Or, ce sont des médicaments utilisés aussi en médecine humaine et chez un individu sensibilisé, il suffit ensuite de doses très faibles pour entraîner des réactions allergiques. Il serait évidemment souhaitable de n'utiliser que des additifs exclusifs, c'est-à-dire réservés à l'alimentation animale. En outre, il est évident que lorsque les règlements ne sont pas suivis, tout est possible.

Il faut également citer le risque d'apparition de résistances bactériennes induites par les résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale. Pour les éviter, des limites de tolérances ont été établies, basées sur la concentration minimale inhibitrice [7]. Par ailleurs, l'utilisation d'un antibiotique, même à faible dose, par voie orale modifie la flore digestive et peut favoriser l'apparition de levures pathogènes comme *Candida albicans*.

Dans le cas des anabolisants hormonaux, qui sont interdits actuellement comme nous l'avons déjà dit, en tant qu'aliments supplémentés, leur toxicité à long terme porterait sur la fonction hépatique, la thrombogénèse, la peau. Les estrogènes de synthèse (en particulier le diéthylstilboestrol) auraient également des propriétés cancérigènes et foetotoxiques que peuvent s'expliquer par les processus métaboliques [8].

### **Dosage des médicaments dans les aliments**

Deux éventualités peuvent se présenter à l'analyste: (i) l'analyse d'aliments pour animaux, supplémentés en divers additifs; (ii) l'analyse des résidus de médicaments dans les aliments provenant d'animaux traités.

Dans les deux cas de figure, les problèmes restent les mêmes. En effet, il faut extraire de façon quantitative le médicament, il faut ensuite le doser à très faible concentration. La méthode analytique retenue devra donc satisfaire à un certain nombre de critères [9]:

*spécificité*: la substance doit en effet être dosée dans des milieux complexes au sein desquels il importe de l'identifier et de la doser exclusivement;

*sensibilité*: il faut atteindre dans le cas le plus général des quantités très faibles de médicaments, particulièrement lorsqu'ils s'agit de déterminer des résidus;  
*précision*: le résultat doit bien évidemment être le reflet exact des quantités présentes;  
*rapidité*: la méthode doit permettre d'analyser dans un temps réduit un nombre important d'échantillons et la réponse doit pouvoir être rapidement rendue.

Parmi l'éventail des méthodes physicochimiques d'analyse répondant au moins à certains de ces critères, figurent les techniques d'absorption moléculaire: spectrophotométrie ou colorimétrie, l'émission de fluorescence: spectrofluorimétrie, la polarographie et les méthodes chromatographiques en phase gazeuse ou en phase liquide sous pression. Considérons tout d'abord les avantages et les limites de chaque type de technique, pour envisager par la suite quelques exemples d'application caractéristiques de chacune d'elle.

Au cours de cette étude critique, il ne faut pas perdre de vue que l'analyse peut être le fait du laboratoire industriel lui-même qui en quelque sorte sait ce qu'il a introduit dans son aliment et s'intéresse surtout à l'aspect quantitatif. Il lui importe en effet surtout de vérifier la bonne incorporation et la bonne répartition dans l'aliment de manière à éviter les erreurs.

Par contre, si le laboratoire d'analyse est un laboratoire officiel, il doit mettre en doute *a priori* la composition du produit analysé, donc la nature des substances de supplémentation ou celle des résidus. Ce laboratoire officiel n'a donc que des présomptions et la méthode d'analyse doit permettre à la fois l'identification et le dosage.

### **Méthodes physicochimiques d'analyse**

#### *La spectrophotométrie d'absorption et la colorimétrie*

Ce sont des techniques faciles à utiliser; l'appareillage nécessaire est classique et la sensibilité peut dans certains cas être suffisante. Cependant, pour un laboratoire officiel, un certain nombre de critiques peuvent être présentées.

*Le manque de spécificité.* L'absorption mesurée peut être faussée par un fond continu important; des substances voisines peuvent présenter des absorptions identiques. Ce sera particulièrement le cas lorsque l'on est en présence de métabolites. Il faut alors faire précéder le dosage de techniques de purification rigoureuses. Pour les dosages colorimétriques, l'emploi de filtres de bandes passantes relativement larges, intensifie encore ces risques d'interférence.

*La manque de rapidité.* La nécessité de purifications préalables allonge considérablement le temps d'analyse. Par ailleurs, les réactions colorées mettent en jeu des réactifs souvent instables qu'il faut préparer extemporanément, des temps de contact plus ou moins long et des mesures à effectuer dans certains cas après un temps bien précis qui rendent difficiles des mesures en séries. Il importe donc souvent de rechercher des méthodes plus spécifiques, plus sensibles et plus rapides.

#### *La spectrofluorimétrie*

La spectrofluorimétrie s'applique surtout aux molécules aromatiques polycycliques (hydrocarbures polycycliques ou hétérocycles accolés à des cycles aromatiques). Si le médicament à doser n'est pas directement fluorescent, une réaction d'oxydation ou de condensation peut réaliser cette polycyclisation indispensable. La spécificité est

supérieure à celle des méthodes d'absorption, car pour qu'il y ait interférence, il faut que la substance absorbe dans l'UV (ce qui est très général), mais soit en outre fluorescente, donc qu'elle présente une réémission de fluorescence, sans qu'il y ait compétition avec les phénomènes concurrents (émission simple — conversion interne — relaxation vibrationnelle et phosphorescence). Il faut enfin, pour qu'il y ait interférence, que cette réémission se fasse à la même longueur d'onde que celle de la substance à doser. La sensibilité de la spectrofluorimétrie est bien supérieure à celle des techniques d'absorption et s'applique donc beaucoup mieux à l'analyse de résidus.

En revanche, diverses influences peuvent intervenir sur le rendement quantique de fluorescence. Il importe donc de bien maîtriser les paramètres correspondants. C'est ainsi que le pH du milieu intervient puisqu'il conditionne l'état d'ionisation de la molécule. Or, l'émission de fluorescence peut être le fait de la molécule neutre ou au contraire de l'ion correspondant. Le solvant peut lui-même intervenir en concurrençant le phénomène de fluorescence. Enfin, la présence de substances étrangères peut entraîner des inhibitions ou exaltations de fluorescence. La purification s'avère alors indispensable ou l'emploi d'une méthode des additions standards permettant de reproduire les interférences de la matrice.

#### *La polarographie*

La polarographie pourra s'appliquer aux molécules qui sont électrochimiquement réductibles. Ce sont les techniques de polarographie à tension sinusoïdale surimposée ou de polarographie à impulsion d'amplitude constante qui semblent alors les mieux adaptées.

Le signal est en effet dans les deux cas en forme de pic et le potentiel de pic, caractéristique de la molécule considérée, est plus facile à repérer qu'un potentiel de demi-vague en polarographie classique. Le pouvoir séparateur est également supérieur.

Ces techniques polarographiques ont donc l'avantage de permettre l'identification et le dosage simultané, l'intensité du courant étant proportionnelle à la concentration. Dans le cadre du dosage des médicaments dans les aliments, la technique a surtout été appliquée à des dérivés nitrés qui se réduisent en amines; la réaction mettant en jeu quatre ou six électrons, le dosage peut être réalisé avec une bonne sensibilité (de l'ordre de  $10^{-6}$  mol l<sup>-1</sup>) [9, 10].

#### *La chromatographie*

Les méthodes chromatographiques restent cependant les méthodes de choix pour doser les médicaments dans les aliments grâce à leur triple rôle: séparation, identification et dosage. La chromatographie gaz-liquide se heurte cependant à un certain nombre de difficultés. Les médicaments sont en général peu volatils et ils présentent des polarités élevées par suite de la présence fréquente de groupements aminés ou hydroxylés. Leur extraction entraîne en outre de nombreuses autres substances qu'il faut s'efforcer d'éliminer par une purification préalable. Une transformation chimique des groupements polaires sera ensuite réalisée (estérification, silylation, etc . . .) avant l'injection de la prise d'essai. Cette technique garde cependant tout son intérêt lorsqu'il s'agit de doser des molécules pour lesquelles une technique de détection très sensible existe et notamment dans le cas des dérivés chlorés. On utilisera alors un détecteur à capture d'électrons.

La chromatographie en phase liquide sous pression tend à devenir une technique extrêmement précieuse dans le domaine qui nous préoccupe. Il n'y a plus de problème de

volatilité, les phénomènes variés qui peuvent être mis en jeu (adsorption, partage, échange d'ions) permettent de réaliser d'excellentes séparations dans des temps relativement brefs et les techniques spectrales ou polarographiques décrites précédemment peuvent être retenues comme moyen de détection en sortie de colonne. De très nombreux travaux sont réalisés actuellement particulièrement dans le cadre de la recherche de résidus d'antibiotiques, problème particulièrement préoccupant, comme nous l'avons déjà souligné.

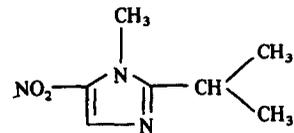
### Exemples d'applications

Pour illustrer l'intérêt de cet éventail de méthodes, prenons quelques exemples d'applications:

#### *Dosage de l'ipronidazole [11]*

Il s'agit d'un médicament utilisé pour le traitement du 'black-head' chez les volailles et de la dysenterie porcine. Le black-head est une affection causée par des protozoaires qui affecte les poulets, dindons, cailles, etc. . . et se traduit par une infection entéro-hépatique. Le traitement est réalisé par des dérivés nitrés du thiazole, du furazole et de l'imidazole (comme l'ipronidazole):

Isopropyl-2 méthyl-1 nitro-5 imidazole: Ipronidazole



Ce dérivé nitré est présenté sous forme de prémélanges à 20% avec une céréale ou de la chaux.

L'extraction est réalisée par le chloroforme puis la molécule absorbant dans l'UV, la mesure est faite directement à 318 nm par rapport à un témoin. Il s'agit cependant d'une molécule photodégradable et toutes les opérations doivent être conduites à l'abri de la lumière, les prémélanges eux-mêmes devant être conservés à l'obscurité.

Si cette méthode est excellente pour le dosage du médicament dans les prémélanges, elle ne convient pas à la détermination de résidus qui pourraient par contre bénéficier de la polarographie, plus sensible, grâce à la présence du groupement nitré réductible.

La même molécule peut aussi être dosée dans les aliments préparés [12] donc en plus faible concentration, de l'ordre de 0.003%. Deux méthodes sont utilisables: la spectrophotométrie après purification et la chromatographie en phase gazeuse. Pour la spectrophotométrie d'absorption dans l'UV, l'extraction est réalisée par l'acide chlorhydrique 0.2 N, puis la phase aqueuse est purifiée par passage sur colonne d'oxyde de magnésium ou de terre de diatomées. L'éluat alcalinisé est ensuite extrait par le chloroforme, puis dosé à 318 nm. Un blanc est réalisé en parallèle en éliminant le médicament par volatilisation à 75°C et les substances interférentes sont mesurées dans les mêmes conditions.

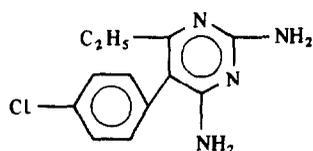
Pour la chromatographie en phases gazeuse, la phase de purification n'est pas nécessaire et l'extraction de l'ipronidazole est réalisée directement par le benzène à partir de la phase extractive aqueuse acide, après simple alcalinisation. La chromatographie est réalisée directement, en utilisant une phase stationnaire polaire (Carbowax 20 M à 5% sur Chromosorb G 100-120 mesh); le gaz vecteur est l'azote; il s'agit d'une

chromatographie isotherme à 180°C et le détecteur retenu est un détecteur à capture d'électrons. La méthode permet une bonne distinction de l'ipronidazole et du dimétriazole (molécule voisine ayant un méthyle en 2), ce qui n'est pas le cas pour la spectrophotométrie.

#### *Dosage de la pyriméthamine*

Notre deuxième exemple sera celui du dosage d'un coccidiostatique, la pyriméthamine, qui est un antimicrobien synergique des sulfamides et souvent associé à ces derniers, notamment à la sulfaquinoxaline. La coccidiose est une parasitose habituelle des volailles et des lapins, qui affecte leur tractus digestif entraînant des hémorragies mortelles. Les coccidiostatiques sont donc très employés en traitement préventif ou curatif.

Diamino-2,4 *p*-chlorophényl-5 éthyl-6 pyrimidine: Pyriméthamine



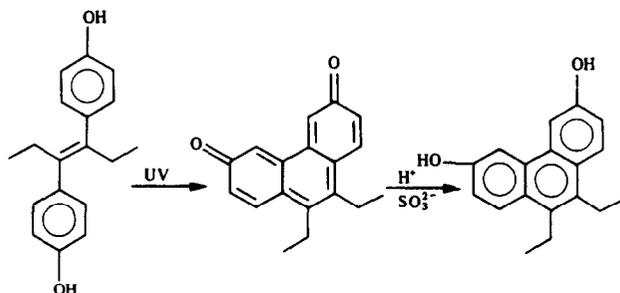
Dès 1972 [13] une technique de chromatographie en phase gazeuse sur Versamid (polyamide) à 240°C est proposée par Royère en utilisant un détecteur à capture d'électrons mettant à profit le fait qu'il s'agit d'une molécule chlorée, dosable avec une grande sensibilité. Cette technique a été reprise par Harris, améliorée en ce qui concerne l'extraction [14], et rendue plus précise grâce à l'emploi de la méthode de l'étalon interne (diamino-2,6 chloro-4 pyrimidine). La méthode a finalement été adoptée par les experts de la C.E.E. en 1981 [15], en raison de sa spécificité. Les autres coccidiostatiques présents dans les aliments n'interfèrent pas en effet.

#### *Dosage des estrogènes*

Les estrogènes naturels ou de synthèse et tout particulièrement le diéthylstilboestrol peuvent être dosés avec une très bonne sensibilité par des méthodes biologiques, mais celles-ci sont très longues, difficiles à mettre en oeuvre et ne signent que la nature hormonale sans permettre l'identification précise de la molécule. Pour les méthodes physicochimiques, l'extraction préalable et la purification représentent une phase capitale. Cette extraction se fait au moyen d'un solvant organique (éther, chloroforme, etc. . .) choisi en fonction de l'échantillon et de la substance à doser.

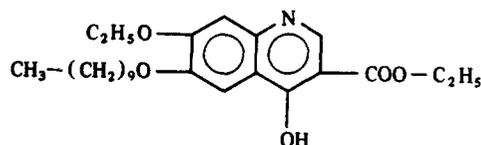
Une hydrolyse acide ou enzymatique accompagne souvent l'extraction; cette hydrolyse permettant de libérer l'estrogène de ses formes sulfo- ou glycurono-conjuguées. Les estrogènes sont souvent extraits de la phase organique par une phase aqueuse alcaline et purifiés par passage sur colonne de silice.

Parmi les techniques analytiques utilisables, la spectrofluorimétrie offre l'intérêt de sa très grande sensibilité. Elle peut s'appliquer en particulier au dosage du diéthylstilboestrol dans les viandes. Cette molécule n'est pas directement fluorescente, mais peut le devenir par irradiation UV à 254 nm, suivie d'une réduction en dihydroxy-3,5 diéthyl-9,10 phénanthrène fluorescent. L'excitation est réalisée à 320 nm et la fluorescence est mesurée à 410 nm. La recherche des estrogènes est le plus souvent réalisée par CCM, le dosage n'étant mis en oeuvre qu'en cas de réaction positive.



### Dosage du décoquinone

Comme nous l'avons signalé précédemment, la chromatographie en phase liquide sous pression est en train de se tailler une place de choix dans l'analyse des médicaments dans les aliments ou pour la détermination des résidus. Cette méthode a été proposée notamment pour doser un coccidiostatique dans les aliments pour volailles: le décoquinone [16].



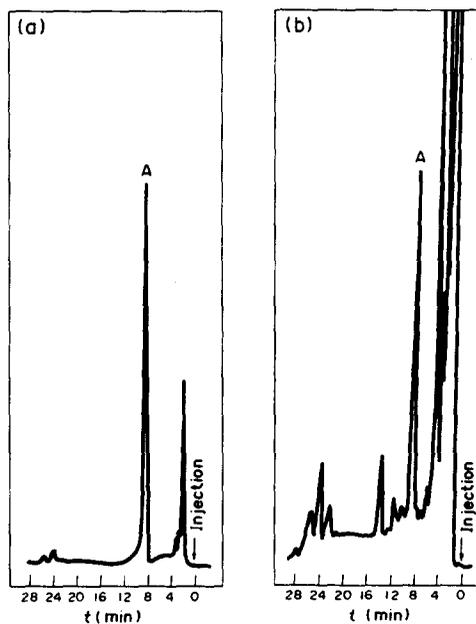
Hydroxy-4 décyloxy-6 éthoxy-7 quinoléine carboxylate d'éthyle-3: Décoquinone

Les méthodes de dosage du décoquinone font appel successivement à une extraction par solvant, puis à une purification de l'extrait par une technique chromatographique, pour terminer par une technique spectrofluorimétrique, après hydrolyse de la fonction ester, pour augmenter la sensibilité. Cependant, d'autres coccidiostatiques dérivés de la quinoléine (buquinolate et néquinone) peuvent entraîner des interférences. La chromatographie en phase liquide sous pression sur Sphérisorb ODS 3- $\mu$ m, avec une phase mobile correspondant à un gradient de 5:95 v/v à 95:5 v/v avec méthanol (renfermant 0.01% d'acide acétique et 1% de sulfate de magnésium)-méthanol pur. La détection peut être faite par un détecteur fluorescent qui permet d'obtenir un enregistrement bien plus net, les composés non fluorescents n'apparaissant pas (Fig. 1). La méthode permet la séparation des autres dérivés quinoléiniques qui interféraient en spectrofluorimétrie directe (Fig. 2). Elle est parfaitement valable jusqu'à 1 mg/kg, mais pour le dosage de résidus, il faudrait atteindre quelques  $\mu$ g par kilo, ce qui nécessite une concentration préalable, à étudier.

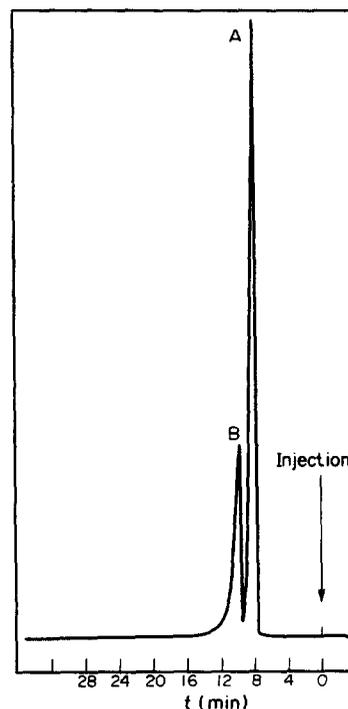
### Dosage des antibiotiques

La chromatographie en phase liquide sous pression est actuellement étudiée sur une très grande échelle pour le dosage des antibiotiques. Des comparaisons sont faites avec les méthodes microbiologiques. Il s'agit en général de composés très peu volatils et instables. Leur extraction est obtenue au moyen de différents solvants, une concentration étant réalisée avant l'injection [17]. La chromatographie est conduite soit sur silice, soit sur phase inverse et pour la plupart des antibiotiques, la détection est réalisée grâce à un détecteur UV à longueur d'onde variable, pour optimiser la réponse.

**Figure 1**  
Chromatogramme d'un extrait provenant d'un aliment renfermant 10 mg/kg de décoquinatate sur Sphérisorb ODS [16]. (a) Détecteur fluorescent, (b) détecteur UV.



**Figure 2**  
Chromatogramme d'un mélange de décoquinatate, néquinatate et buquinolate [16]. Pic A: néquinatate + buquinolate, Pic B: décoquinatate.



Prenons l'exemple du chloramphénicol et de la recherche des résidus correspondants dans la viande. Son apport peut provenir de la thérapeutique ou d'un emploi illicite dans les aliments pour animaux. Russell [18] propose une extraction par l'acétonitrile après division de la viande par un ultra-Turrax en présence de sulfate de sodium. L'acétonitrile est extrait par de l'hexane pour éliminer les substances apolaires, puis après

concentration, l'acétonitrile est injecté sur une colonne renfermant du Nucléosil-1-NO<sub>2</sub>. L'éluant est un mélange de diisopropyléthér-méthanol (85:15 v/v) et le détecteur un ensemble détecteur UV et spectrofluorimètre; la limite de détection est de 0.01 ppm, mais on ne peut pas toujours affirmer avec certitude l'absence de chloramphénicol dans la viande car des constituants de la viande peuvent gêner. D'autre part, le rendement extractif n'est que de 71%. Nous pouvons par cet exemple entrevoir les difficultés rencontrées pour la détermination de traces infimes de résidus de médicaments dans la viande.

### Conclusions

Les méthodes physicochimiques permettent donc de doser les médicaments dans les aliments, avec une bonne précision et un bon rendement lorsqu'il s'agit de médicaments dans les aliments supplémentés. Le problème du dosage des résidus, compte-tenu des très faibles concentrations présentes et de l'existence de métabolites reste encore très délicat.

Il est important de réaliser des analyses en collaboration entre plusieurs laboratoires pour bien établir la fiabilité des méthodes. Dans un même laboratoire, selon Horwitz *et al.* [19], les coefficients de variations sont différents selon le domaine de concentration et pour un même laboratoire, il y a amélioration des performances au cours du temps jusqu'à un certain niveau qui reste ensuite stable.

Un problème général peut se poser, c'est celui des standards de référence permettant de tester les méthodes (standards certifiés ou standards propres du laboratoire). C'est ainsi par exemple que le dosage microbiologique des standards de vitamines ou d'antibiotiques est peu spécifique et n'offre pas une véritable garantie.

L'assurance de qualité du rendement extractif passe par le contrôle des résultats grâce à des standards de référence, la nouvelle analyse d'échantillons déjà dosés précédemment, l'emploi de la méthode des additions standards et des contrôles sur des échantillons témoins préparés au laboratoire. Ce type d'analyse n'est donc jamais un problème simple.

### Bibliographie

- [1] R. A. Dehove, *La réglementation des produits alimentaires et autres*. Commerce Editions Paris (1981).
- [2] W. Bruhann, *Disch. Apoth. Ztg.* **111**, 535-537 (1971).
- [3] G. Lorgue, *Bull. Trav. Soc. Pharm.* (à paraître).
- [4] G. G. Fowler, *Rev. Ferment. Industr. Aliment.* **34**, 157-159 (1979).
- [5] J. Pantaleon, *Bull. Tech. Inf. Ministère Agr.* **287**, 75-81 (1974).
- [6] G. Bories, J. Tulliez et J. M. Wal, *Méd. Nut.* **15**, 123-129 (1979).
- [7] G. Pepin, M. C. Esselin-Lichle, E. Meissonnier, R. Oliver, M. Puygrenier et J. P. Scheid, *Labo Pharma. — Problèmes et Techniques*, No. 308, 265-269 (1981).
- [8] M. Metzler, *J. Toxicol. Environ. Hlth Suppl.* **1**, 21-35 (1976).
- [9] J. G. Faugère et H. Debruyne, *Ann. Fals. Exp. Chim.* **66**, 260-295 (1973).
- [10] H. Hocquelet, *Analisis* **1**, 192-201 (1972).
- [11] Analytical Methods Committee, *Analyst* **107**, 577-578 (1982).
- [12] M. Osadca, W. Mergens, M. Araujo and E. De Ritter, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **53**, 35-39 (1970).
- [13] G. Royère, J. Dufour et J. Fuare, *Analisis* **1**, 362-364 (1972).
- [14] J. R. Harris, P. G. Baker and J. W. Munday, *Analyst* **102**, 873-876 (1977).
- [15] Analytical Methods Committee, *Analyst* **106**, 1208-1209 (1981).
- [16] A. Hobson-Frohock, *Analyst* **107**, 1195-1199 (1982).
- [17] T. N. Tweeten and C. B. Euston, *Food Technol.* **34**, 29-37 (1980).
- [18] H. A. Russell, *Chromatographia* **11**, 341-343 (1978).
- [19] W. Horwitz, L. R. Kamps and K. W. Boyer, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **63**, 1344-1354 (1980).

[Received 10 June 1982]