

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid
Tlemcen Algérie



جامعة أبي بكر بلقايد

Faculté des sciences

Département de Chimie

Mémoire de Master en Chimie

Option : chimie physique et analytique

Thème :

**Etude comparative par chromatographie de quelques
sirops alimentaires commerciaux : cas du sirop de menthe**

Présenté par :

LACENE NECER Imane

Soutenu le : 02/07/2017

devant le jury :

BELHACHEMI Boucif

MCAU.A.B.B - Tlemcen

Président

LARABI Lahcen

Professeur U.A.B.B – Tlemcen

Examineur

SELLES Chaouki

MCA U.A.B.B – Tlemcen

Encadreur

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Je tiens en premier lieu à remercier Dieu tout puissant pour la volonté, la santé et le courage qu'il m'a donnés pour suivre mes études et de choisir un parcours aussi noble.

Ma reconnaissance, et mes sincères remerciements vont à mon encadreur Monsieur *SELLES Chaouki* pour m'avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail. Ses orientations, ses encouragements, sa compréhension, sa disponibilité constante m'ont été d'une aide précieuse.

Je remercie particulièrement *Dr. BELHACHEMI Boucif* pour avoir accepté de présider le jury.

Je tiens également à présenter mes plus vifs remerciements au *Pr. LARABI Lahcene* en acceptant d'examiner ce travail.

Je tiens à adresser aussi mes remerciements les plus sincères à Monsieur *DAHMANI Benamar* responsable de la spécialité Chimie Physique et Analytique.

J'exprime ma profonde reconnaissance au *Pr. Mohamed el Amine DIB* de m'avoir aidé et pour ses conseils, ses commentaires et sa bienveillance.

Je tiens particulièrement à remercier mes parents qui n'ont pas hésité de m'offrir tous les moyens et de m'avoir encouragée et conseillée.

En fin, je dois remercier tous les membres de ma famille Pour leur soutien surtout ma cousine Wafae et ma chère tante Warda et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail tout d'abord

À mes très chers parents qui m'ont soutenue et encouragée durant toute la période de mes études et à qui je souhaite une longue et heureuse vie, sans oublier mes grands-mères et mes grands-pères.

À mes chers frères : Hichem et Mohamed

À ma chère sœur : la princesse Malek

À toute ma famille paternelle et maternelle

À mon encadreur Monsieur Selles Chaouki

Et à tous mes amis « es ».

SOMMAIRE

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Chapitre I : Étude bibliographique

I. Sirop de menthe	2
I.2. menthe et menthol	2
I.3. Les colorants alimentaires	4
II. Les additifs alimentaires	5
III. Les colorants	8
III.1. Généralités	8
III.2. Historique	9
III.3. Définitions:.....	9
III.4. Structure chimique des colorants	9
III.5. Rôles des colorants	10
III.6. Classification des colorants	11
III.7. Colorants utilisés dans l'alimentation	13
III.8. Toxicité des colorants	15
IV. Méthodes d'analyse	17

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Présentation des échantillons	21
II. Réalisation des spectres d'absorption	22
III. Dosage des colorants par étalonnage	23

IV. Extraction des huiles essentielles de menthe	23
V. Extraction des aromes	24
VII. Extraction des colorants du sirop de menthe	25
V. Méthodes de séparation et d'identification des extraits	27
V.1. Méthodes chromatographiques	28
V.2. Méthodes spectrométriques	30

Chapitre III : Résultats et interprétations

I.Présentation des échantillons	32
II. Réalisation des spectres d'absorption	32
III.Séparation et identification des extraits	34
III.1.Chromatographie sur Couche Mince	34
➤ Sirops et colorants	35
➤ Huile essentielle de menthe	36
III.2.Chromatographie sur colonne	37
III.3. Chromatographie en phase gazeuse	39
IV. Dosage des colorants par étalonnage	41
Conclusion	45

Références bibliographiques

L'annexe

Liste des figures

Figure 1 : Synthèse du menthol

Figure 2 : Structure de colorant azoïques

Figure 3 : La molécule anthraquinone

Figure 4 : Colorant C.I.mordant bleue 9

Figure 5 : Structure des colorants de cuve

Figure 6 : Structure de tartrazine

Figure 7 : Structure de bleu patenté

Figure 8 : Principe de chromatographie sur couche mince

Figure 9 : Principe de la chromatographie sur colonne

Figure 10 : Sirops de menthe étudiés

Figure 11 : Opération de dilution des colorants testés

Figure 12 : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger

Figure 13 : Extraction liquide-liquide du sirop de menthe

Figure 14 : Aromes des sirops obtenus par extraction liquide-liquide

Figure 15 : Fixation des colorants sur la laine

Figure 16 : Evolution de la couleur de la laine

Figure 17 : Colorants extraits des sirops de menthe

Figure 18 : Chromatographie sur colonne d'un sirop de menthe

Figure 19 : Colorants séparés par chromatographie sur colonne

Figure 20 : Etoile des couleurs complémentaires

Figure 21 : CCM de sirop L'exquise

Figure 22 : CCM des sirops Nounours et El-soufra

Figure 23 : CCM du sirop Fruiss

Figure 24 : CCM des sirops Paquito et Teisseire

Figure 25 : CCM du sirop Rahmoun

Figure 26 : CCM du menthol et de l'huile essentielle de menthe

Figure 27 : Structures chimiques du menthol (B) et de la menthone (A)

Figure 28 : Courbe d'étalonnage du bleu patenté E131

Figure 29 : Courbe d'étalonnage du bleu brillant E133

Figure 30 : Courbe d'étalonnage du jaune de tartrazine

Figure 31 : Spectre d'absorption du bleu patenté

Figure 32 : Spectre d'absorption du bleu brillant

Figure 33 : Spectre d'absorption du jaune de tartrazine

Figure 34 : Spectres d'absorption des trois sirops (Rahmoun, Nounours et El-soufra) dilués

Figure 35 : Spectres d'absorption des deux sirops (L'exquise et Fruiss) dilués

Figure 36 : Spectres d'absorption des deux sirops (Paquito et Teisseire) dilués

Figure 37 : Spectres des deux extraits bleu et jaune du sirop Fruiss

Figure 38 : Spectres des deux extraits bleu et jaune du sirop L'exquise

Figure 39 : Spectres des deux extraits bleu et jaune du sirop Rahmoun

Figure 40 : Spectres des deux extraits bleu et jaune du sirop Nounours

Figure 41 : Spectres des deux extraits bleu et jaune du sirop El-soufra

Figure 42 : L'extrait bleu du sirop Paquito

Figure 43 : L'extrait bleu du sirop Teisseire

Figure 44 : La CPG de l'étalon menthol

Figure 45 : La CPG de l'étalon menthone

Figure 46 : La CPG de l'arome du sirop Fruiss

Figure 47 : La CPG de l'arome du sirop L'exquise

Figure 48 : La CPG de l'arome du sirop Rahmoun

Figure 49 : La CPG de l'arome du sirop Nounours

Figure 50 : La CPG de l'arome du sirop El-soufra

Figure 51 : La CPG de l'arome du sirop Paquito

Figure 52 : La CPG de l'arome du sirop Teisseire

Figure 53 : La CPG de l'huile de la menthe

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Principaux groupes chromophores et auxochromes .

Tableau 2 : Composition des sept sirops de menthe.

Tableau 3 : Longueurs d'onde maximales et Absorbances des colorants E131,E133 et E102.

Tableau 4 : longueurs d'onde maximales et Absorbances des colorants des sept sirops de menthe.

Tableau 5 : Rapports frontaux (Rf) des sept sirops et des colorants étalons.

Tableau 6 : Rapports frontaux (Rf) du menthol et de l'huile essentielle de menthe

Tableau 7 : Longueurs d'onde et absorbances des colorants extraits des sept sirops.

Tableau 8 : Temps de rétention du menthol et de la menthone.

Tableau 9 : Temps de rétention des composants des aromes de sirops et de l'huile essentiell de menthe.

Tableau 10 : Concentration en bleu patenté dans les sirops.

Tableau 11 : Concentration en bleu brillant dans les sirops.

Tableau 12 : Concentrations en jaune de tartrazine dans les sirops.

Tableau 13 : Dose Journalière Admise des colorants étudiés selon l'union européenne.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale :

Les colorants alimentaires sont utilisés comme additifs depuis des siècles afin d'améliorer les propriétés organoleptiques des aliments et augmenter l'envie de les consommer.

Les colorants peuvent être d'origine naturelle ou artificielle. L'utilisation abusive de ces derniers pose beaucoup de problèmes de santé publique. D'ailleurs, dans certains pays, le nombre de colorants autorisés et leurs concentrations dans les aliments ont été réglementés.

Le sirop est une denrée alimentaire qui plaît aux adultes et surtout aux enfants. Malheureusement, comme tous les autres sirops, celui de la menthe contient toujours des colorants artificiels comme la tartrazine ; un colorant parmi les plus toxiques et qui est responsable de l'hyperactivité chez les enfants.

De par son abondance et son utilisation abusive, nous nous sommes intéressés au sirop de menthe ; une boisson commercialisée sous différentes formes. Qu'il soit fabriqué localement ou importé, son analyse par différentes techniques est plus que nécessaire. Dans sa composition, les colorants constituent un élément incontournable.

C'est dans le but d'un contrôle de la composition en colorants et en arômes de plusieurs sirops de menthe commercialisés en Algérie que cette étude comparative par chromatographie est réalisée.

La première partie de ce mémoire est une étude bibliographique présentant les colorants alimentaires et leurs utilisations, leur classification et leur toxicité.

La deuxième partie de l'étude aborde la description du matériel et des techniques d'analyse utilisées. Les travaux menés ont pour objectif d'établir les spectres d'absorption des sirops et des colorants qui les composent, séparer ces colorants, extraire les arômes des sirops et l'huile essentielle de menthe puis les analyser en utilisant la chromatographie et la spectrophotométrie comme méthodes.

Les résultats et discussions sont présentés dans la troisième partie de ce travail. Enfin, l'ensemble du travail effectué est résumé dans la conclusion générale.

Chapitre I: Etude bibliographique

Les sirops alimentaires:

C'est un liquide formé d'une dissolution de sucre, à laquelle on ajoute parfois le suc de certains fruits, herbes ou fleurs, et qu'on fait cuire jusqu'à une certaine consistance, sirop d'oranges, d'orgeat, de cassis, de menthe, sirop d'érable et sirop de maïs. [1]

I. Sirop de menthe:

I.1. Définition :

Le sirop de menthe industriel est généralement coloré en vert avec un mélange de deux colorants alimentaires, le jaune de tartrazine E102 et le bleu patenté E131. En outre, l'aromatisation est obtenue non pas directement avec des plantes, mais avec des extraits raffinés, généralement de l'essence de menthe ou du menthol.

On utilise le sirop de menthe vert mélangé avec de la glace pilée pour obtenir la granita.

Outre le sirop de menthe vert avec lequel on fait des boissons comme le diabolo menthe, il existe également un sirop de menthe glaciale (plus fort en menthol) généralement coloré en bleu pâle [2]

I.2. Menthe et Menthol:

I.2.1. La menthe:

Les menthes forment un genre (*Mentha*) de plantes herbacées vivaces de la famille des Lamiacées (Labiées) qui comprend de nombreuses espèces, dont beaucoup sont cultivées comme plantes aromatiques et condimentaires, ornementales ou médicinales.

Si les menthes sont connues et appréciées pour leurs qualités aromatiques depuis l'Antiquité, certaines sont largement utilisées pour la production d'huile essentielle. [3]



I.2.1.1. Composition de la menthe:

- PARTIES UTILISÉES:

C'est la partie aérienne de la plante qui est la plus communément utilisée en phytothérapie dans le traitement des infections de type gastro-entérite.

- PRINCIPES ACTIFS:

L'huile essentielle représente 1,5% de la plante. Les composés les plus fréquents sont le menthol (entre 35 et 55% de celle-ci) et la menthone (10 à 40%).

La préparation de la menthe permet d'obtenir des flavonoïdes, ainsi que des phénols et des triterpènes. La plante contient des enzymes, de la vitamine C et des acides divers (caféique, chlorogénique, férulique, fumarique).[4]

I.2.2. Le menthol :

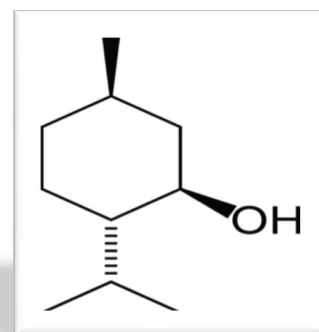
Le **menthol** est un composé organique covalent obtenu soit par synthèse, soit par extraction à partir de l'huile essentielle de la menthe.

Le stéréo-isomère le plus courant du menthol est le (-)-menthol, de configuration (1*R*,2*S*,5*R*). Il appartient à la famille des monoterpénols.

À température ambiante (20 à 25 °C), il se trouve sous forme solide, d'une couleur d'un blanc cireux. Il fond si l'on augmente légèrement la température.

Le menthol a des propriétés anti-inflammatoires et antivirales. Il est d'ailleurs utilisé pour soulager les irritations mineures de la gorge. C'est également un anesthésique local.

Comme beaucoup de produits naturels employés couramment, la demande de menthol excède considérablement l'approvisionnement des sources naturelles. Le menthol est fabriqué comme énantiomère simple par Takasago International Cie sur une échelle de 400 tonnes par an. Le processus implique une synthèse asymétrique développée par une équipe menée par Ryōji Noyori, prix Nobel de Chimie en 2001. [5]



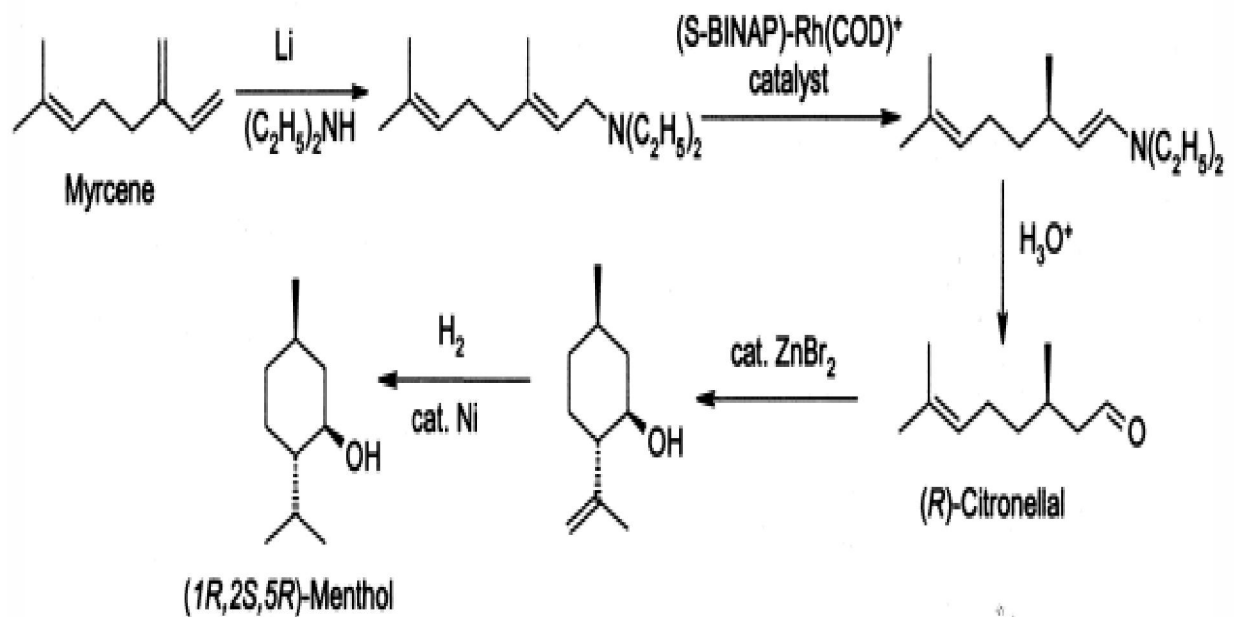


Figure 1 : Synthèse du menthol

I.3. Colorants alimentaires :

Dans le but de donner une couleur à une denrée alimentaire comme les sirops de menthe par exemple, des colorants alimentaires y sont ajoutés. Ces derniers représentent une catégorie des additifs alimentaires.

II. Les additifs alimentaires :

II.1. Définition:

D'après le comité FAO–OMS, un additif alimentaire est défini comme une substance dotée ou non d'une valeur nutritionnelle, ajoutée intentionnellement à un aliment dans un but technologique, sanitaire, organoleptique ou nutritionnel. Son emploi doit améliorer les qualités du produit fini sans présenter de danger pour la santé, aux doses utilisées [6].

II.2. Types des additifs alimentaires :

- ❖ **Les additifs naturels :** Issus du monde minéral, végétal ou animal, ils ne sont pas sans risques pour la santé.
- ❖ **Les additifs synthétiques :** Créés pour se substituer aux substances naturelles plus onéreuses, ils peuvent être dangereux, notamment si leur fabrication exige des solvants qui ne sont pas entièrement éliminés.
- ❖ **Les additifs artificiels :** Absentes à l'état naturel, ces substances sont créées de toutes pièces

II.3. Catégories des additifs alimentaires :

Il existe différentes catégories d'additifs alimentaires :

- ❖ **Les colorants :** Les colorants alimentaires sont utilisés pour ajouter de la couleur à une denrée alimentaire, ou pour en rétablir la couleur originale. On parle de teinture si la substance est soluble dans le milieu qu'il colore, de pigment si elle est insoluble. [7]. Les colorants alimentaires s'échelonnent entre E 100 et E 180. Ils peuvent être d'origine naturelle ou artificielle. [8]
- ❖ **Les conservateurs :** Utilisés pour protéger les aliments des altérations dues aux micro-organismes, ils peuvent avoir une spécificité (ou tout au moins une action prédominante) contre les bactéries, les levures ou les moisissures. Les conservateurs minéraux sont le plus souvent en cause avec les sulfites (E 220 à E 228) et les nitrates et nitrites (E 249 à E 252). Parmi les acides organiques, ce sont l'acide benzoïque et ses sels (E 210 à E 213) qui sont les plus utilisés [9].
- ❖ **Les émulsifiants :** Ce sont les esters d'acide gras (citrique, acétique, lactique ou tartrique), les esters de sorbitane et des sucro esters, et les lécithines (E322) présentes dans le jaune d'œuf et le soja. Ils permettent de stabiliser les sauces, on les retrouve dans le pain, le chocolat, les crèmes glacées, margarine et viande transformée.[10]

- ❖ **Les antioxydants** : Ils prolongent la conservation des aliments en prévenant les altérations de l'oxydation : rancissement des graisses (acides gras insaturés), des produits riches en matières grasses animales ou végétales et brunissement des fruits et légumes frais par les polyphénols et colorants naturels sensibles à l'oxydation. On les utilise en industrie alimentaire, en industrie pharmaceutique et en cosmétologie. [11]

Quelques antioxydants [12]

- Tocophérols (vit. E) **E 306-309**
- Acide ascorbique (vit. C) **E 300 à 302-304**
- Acide citrique **E 330 à 333**

- ❖ **Les exhausteurs de goût** : Les exhausteurs de goût sont des substances organiques qui, sans avoir une saveur propre prononcée, renforcent le goût ou l'odeur d'une denrée alimentaire.[13]
- ❖ **Les arômes** : Ils sont ajoutés aux aliments pour donner une odeur et/ou un goût, exception faite des goûts acides, salés ou sucrés.[14]
- ❖ **Les édulcorants** : Ce sont des composés qui donnent une saveur sucrée, sans favoriser les caries. Ce sont les polyols, sucres naturels ayant subi une transformation à partir d'amidon, de sirop de glucose ou de cellulose : sorbitol (E 420), mannitol (E 421), isomalt (E 953), maltitol (E 965), lactitol (E 966). [15]

Autres additifs à connaître:

- ❖ Acidifiants ; Agents d'enrobage ; Affermissants ; Agents de charge ; Gaz d'emballage ...

II.4. Rôles des additifs alimentaires :

II.4.1.Maitriser la nature :

Dominer la nature pour disposer en toute saison d'aliments en quantité suffisante, sains et aussi variés que possible pour assurer sa survie a été une démarche constante de l'homme.

II.4.2. Maîtriser l'évolution technologique :

Les objectifs de l'industrie agro-alimentaire vis-à-vis des consommateurs, ses clients, sont :

- l'accessibilité dans la diversité,
- la commodité,
- une qualité régulière pour un coût raisonnable.

II.4.3. Maîtriser la qualité :

L'additif contribue à la qualité des denrées alimentaires, concept que l'on peut décliner en deux notions essentielles [16]:

II.4.3.1. La qualité hygiénique ou sanitaire :

De nombreux produits alimentaires non conservés à basse température, présentent plus ou moins rapidement, un développement de micro-organismes altérant la qualité du produit et pouvant provoquer des intoxications graves, voire mortelles (botulisme) en cas de consommation. Si les chaînes de froid existent, elles sont mal applicables à certains produits. Dans ce cas l'utilisation de conservateurs permet d'éviter la dégradation sanitaire du produit.

II.4.3.2. La qualité organoleptique:

D'autres additifs sont indispensables au maintien ou à l'amélioration des propriétés sensorielles des aliments tels que l'arôme, le goût, la couleur. Ces qualités organoleptiques rendent les aliments appétents, agréables à consommer et en jouant sur elles on peut aussi jouer sur la diversité des aliments.

II.5. Effets des additifs alimentaires sur la santé

II.5.1. Les effets positifs :

Certains additifs ont des effets bénéfiques après leur consommation.

II.5.1.1. Inhibition du cancer :

Des tests réalisés sur des rats et des souris ont mis en évidence une inhibition de la cancérogenèse chimique grâce à des colorants comme la curcumine ou le β -carotène. Cette inhibition a été observée pour les cancers de l'estomac, du duodénum, du colon, de la peau et de la langue [17]

II.5.1.2.Lutte contre l'obésité :

Le principal intérêt des édulcorants est de donner un goût sucré aux aliments sans apporter de calories. L'apport en glucides simples par les produits alimentaires est donc fortement réduit..

II.5.2- Les effets négatifs :

II.5.2.1Allergies :

Toute une variété de substances sont mises en cause dans les allergies, qui touchent surtout les personnes sensibles. Il existe malgré tout un certain pouvoir allergisant des additifs alimentaires.

III.5.2.2.Problèmes intestinaux :

Les additifs alimentaires, dont les colorants, peuvent provoquer une diminution de l'absorption intestinale et un bouleversement de la flore intestinale.

De même certains émulsifiants (E 338 à E 341, E 460 à E 466 et E 470 à E 477) irritent le tube digestif et perturbent la digestion.

III. Les colorants :

III.1. Généralités :

Les colorants constituent un groupe très diversifié de composés ayant en commun la propriété de colorer d'une manière permanente les tissus, cuirs ou papiers. Tous ces colorants sont des composés aromatiques dont les électrons très délocalisés peuvent absorber la lumière pour certaines longueurs d'ondes [18]

Les propriétés colorantes des composés organiques dépendent de leur structure et de leur composition chimique. En général, les produits utilisés comme colorants sont des composés organiques insaturés et aromatiques [19].

III.2. Historique :

Les colorants alimentaires sont utilisés depuis plusieurs siècles. Les Égyptiens et les Romains étaient les premiers à utiliser les colorants naturels, provenant des végétaux, des animaux et des minéraux, dans le but d'augmenter l'appétit de manger des produits. Plus les siècles passèrent, plus on découvrait de nouveaux colorants naturels.

C'est en 1856 que Sir W.H. Perkins découvrit le premier colorant synthétique (c'est-à-dire fabriqués chimiquement) : la mauvéine. [20]

III.3. Définitions :

Un colorant est une matière colorée par elle-même, capable de se fixer sur un support. La coloration plus ou moins intense des différentes substances est liée à leur constitution chimique [21]

Pour les aliments, les colorants apportent ou redonnent de la couleur aux aliments en colorant la masse et la surface, en colorant la surface, ou par un usage spécifique (coloration de la croûte de fromage par exemple) [22]

III.4. Structure chimique des colorants :

La structure chimique joue un rôle important dans la détermination des propriétés colorantes des composés organiques. En général, ce sont des composés organiques insaturés et aromatiques qui sont utilisés comme colorants. Une molécule type de colorant est constituée de trois parties, c'est-à-dire un chromophore, un auxochrome et un groupe solubilisant. [23]

III.4.1.Le groupement chromophore :

Il permet une absorption importante de lumière dans le domaine du visible ou de l'ultraviolet. Il représente, par conséquent, la portion responsable de la couleur du composé. Pour les colorants organiques, les trois chromophores les plus importants sont l'azobenzène, le triphénylméthane et l'antraquinone (**tableau 1**)

III.4.2.Le groupement auxochrome:

Le déplacement de l'absorption vers les plus grandes longueurs d'onde, dans le domaine du visible, est dû, dans la molécule de colorant, à la présence de groupements auxochromes couplés aux groupements chromophores. L'auxochrome est donc la partie influençant l'intensité de la coloration et il fixe avec efficacité le colorant sur le support (**tableau 1**).

Groupes chromophores	Groupes auxochromes
Azo (-N=N-)	Amine primaire (-NH ₂)
Nitroso (-N=O)	Amine secondaire (-NHR)
Carbonyl (=C=O)	Amine tertiaire (-NR ₂)
Vinyl (-CH=CH-)	Hydroxyl (-OH)
Nitro (-NO ₂)	Alkoxy (-OR)
Sulphure (>C=S)	Donneurs d'électrons (-Cl)

Tableau 1 : Principaux groupes chromophores et auxochromes classés par intensité croissante

III.4.3. Le groupe solubilisant :

Il améliore la solubilité du colorant et ainsi, il peut être appliqué en milieu aqueux.

III.5. Rôles des colorants :

La couleur d'un aliment possède généralement un effet sur notre perception de celui-ci, elle peut augmenter, par exemple, l'appétence du consommateur. Les colorants n'ont aucune valeur nutritive mais permettent, en améliorant l'aspect, de donner envie de consommer cet aliment. Car, ce sont la forme et la couleur qui permettent au premier abord de reconnaître un aliment.

Les colorants sont donc des additifs essentiels pour la consommation et sont ainsi utilisés à différents niveaux par l'industrie alimentaire pour :

- redonner l'apparence originale à un aliment.
- assurer l'uniformité de la couleur
- intensifier la couleur naturelle de l'aliment qui a une influence sur le consommateur[24]

III.6. Classification des colorants :

III.6.1. Classification technologique :

La classification technologique permet à l'utilisateur de connaître le mode d'application du colorant, et donc ses domaines d'utilisation, ses propriétés (solubilité, affinité). Cette classification comprend trois éléments :

- Le nom générique de la classe d'application.
- La couleur.
- Le numéro d'ordre chronologique d'inscription ou " colour index "[25]

III.6.2. Classification technique :

III.6.2.1. Colorants naturels :

Ils sont très répandus, surtout dans les plantes (bois, racines, graines, fleurs et fruits) et même dans les micro-organismes et le corps des animaux [26]. Les colorants naturels sont extraits des éléments naturels par des procédés simples comme le chauffage ou le broyage ; parmi l'ensemble de ces colorants naturels, on distingue deux catégories : les colorants à mordant et les colorants de cuve [27].

III.6.2.2. Colorants synthétiques :

Les colorants synthétiques dominent aujourd'hui le marché surtout que leurs propriétés peuvent être précisément adaptées à leur utilisation [28]. Ils sont de plus en plus utilisés dans les industries de coloration et des textiles grâce à leur synthèse assez facile, à leur production rapide et à la variété de leurs couleurs comparées aux colorants naturels [29].

III.6.3. Classification chimique :

Le classement des colorants selon leur structure chimique repose sur la nature du groupe chromophore, on cite quelques exemples :

III.6.3.1. Colorants azoïques :

Les colorants azoïques sont caractérisés par la présence au sein de la molécule d'un groupement azoïque (-N=N-) reliant deux noyaux benzéniques. Cette catégorie de colorant est actuellement la plus répandue sur le plan de l'application, puisqu'ils représentent plus de 50% de la production mondiale de matières colorantes [30,31]

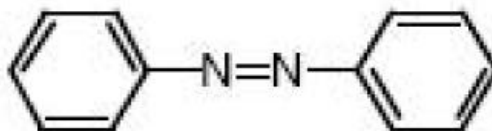


Figure 2: Structure de colorants azoïques

III.6.3.2. Colorants anthraquinoniques :

Les colorants anthraquinoniques sont d'un point de vue commercial, les plus importants après les colorants azoïques. Leur formule générale dérivée de l'anthracène, montre que le chromophore est un noyau quinonique sur lequel peuvent s'attacher des groupes hydroxyles ou amino. Ces produits sont utilisés pour la coloration des fibres polyester, acétate et triacétate de cellulose. [32]

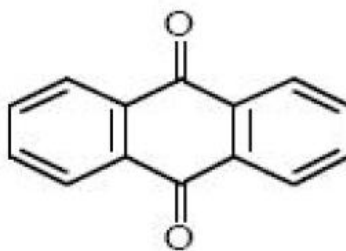


Figure 3 : Anthraquinone

III.6.4 . Classification tinctoriale :

La classification tinctoriale des colorants repose sur la nature du groupe auxochrome, qui détermine le type de la liaison colorant-substrat.

III.6.4.1. Colorants à mordant :

Ceux - ci sont solubles et nécessitent un traitement de mordantage pour pouvoir être fixés sur les fibres textiles par l'intermédiaire d'oxydes de certains métaux (Al, Fe, Co et Cr).[33]

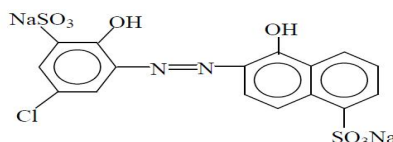


Figure 4 : Colorant C.I.mordant bleu 9

III.6.4.2. Colorants de cuve :

Les colorants de cuve sont insolubles et doivent être transformés en leuco dérivés par réduction alcaline. [34]

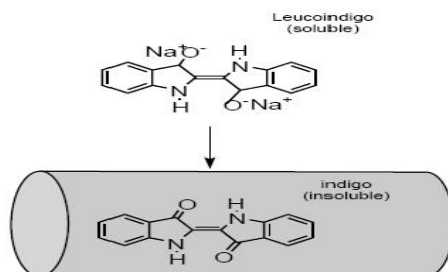


Figure 5 : Structure des colorants de cuve

III.7. Colorants utilisés dans l'alimentation :

Les colorants alimentaires s'échelonnent entre E 100 et E 180. Ils peuvent être d'origine naturelle ou artificielle. Ce sont des colorants minéraux (par exemple oxydes de fer E 172) jaunes, rouges ou noirs, des colorants d'origine végétale (par exemple rouge de betterave E 162, rouge ou bleu selon le pH). Les colorants de synthèse résultent de la reproduction industrielle de substances naturelles ou d'une création artificielle. En fonction de leur structure chimique, on les sépare en colorants azoïques (par exemple la tartrazine E 102) ou non azoïques (par exemple l'érythrosine E 127) [35]. Les colorants de synthèse sont surtout en cause en pédiatrie, particulièrement présents par la consommation par les petits de bonbons et friandises colorées. Les colorants « allergisants » se retrouvent entre E 100 et E 150. Ce sont très certainement les additifs dont on pourrait le plus facilement se passer, mais l'aspect visuel de la nourriture reste très important aux yeux des consommateurs. Parmi les colorants, la tartrazine (E 102), en principe à présent interdite comme l'amarante (E 123), a perdu la place prédominante qu'on lui accordait, au profit de l'érythrosine (E 127) et du jaune orangé (E 110), suivis par le bleu patenté (E 131) [36].

III.7.1. Tartrazine (E102) :

La prévalence de l'intolérance à la tartrazine est inférieure à 0,1 % de la population générale [36]. Utilisé comme colorant alimentaire azoïque de synthèse de couleur jaune, la tartrazine (Sunset yellow) se présente sous forme de poudre ou granule facilement accessible en commerce. Interdite dans certains pays (Autriche, Finlande, Norvège, Tunisie), sa présence

doit être mentionnée sur les étiquetages dans les autres pays. Cependant quelques friandises vendues en vrac semblent échapper à cette règle. [37]

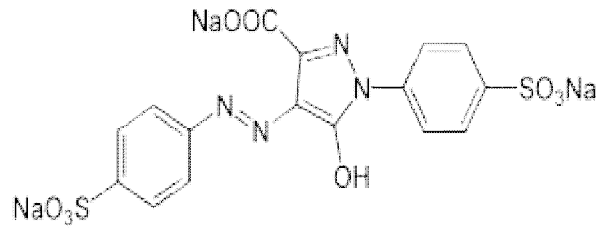


Figure 6: Structure de la tartrazine

III.7.1.1. Utilisation :

On la trouve dans les chips, corn flakes, soupes instantanées, merguez, pickles et moutarde. Elle est utilisée avec le bleu synthétique (E131) pour faire la couleur verte des sirops de menthe. Elle est aussi employée dans l'alcool modifié médical pour le rendre impropre à la consommation. Par ailleurs, on la trouve dans beaucoup de médicaments et certains cosmétiques [37]

III.7.2. Bleu patenté E 131 :

C'est un colorant alimentaire de synthèse bleu foncé (bleu violet) compatible avec une alimentation halal, casher ou végétarienne. Il se présente sous la forme de poudre, de granules bleus foncés ou de solution aqueuse bleue. Il est aussi appelé bleu CI n°5, Acid Blue 3, L-Blau 3, C-Blau 20, Patent blau V et Sky Blue. C'est une substance très soluble dans l'eau et qui contient parfois de l'aluminium (laque aluminique), un métal soupçonné d'aggraver les maladies d'Alzheimer et de Parkinson. La substance pure est dangereuse si elle est ingérée, inhalée ou par contact [38]

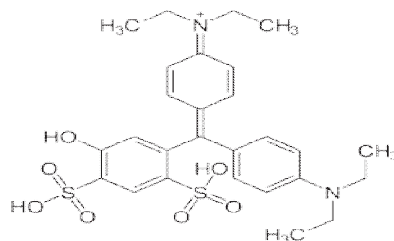


Figure 7: Structure de bleu patenté

III.7.2.1. Utilisation :

Dans le domaine alimentaire, il se trouve dans certains sirops de menthe, desserts instantanés, entremets, flans, pâtes de fruits, confiseries, glaces, crèmes glacées. On le combine avec de la tartrazine (E 102) ou du jaune de quinolène (E 104) pour obtenir du vert. Il est utilisé dans l'industrie pharmaceutique sous l'appellation CI 42051 et en cosmétologie. On le trouve dans certains gels douche, déodorants, dentifrices, crèmes hydratantes, crèmes à raser et colorants capillaires.

Il est utilisé en médecine comme traceur pour les examens radiologiques des voies et des ganglions lymphatiques et en cancérologie. [39]

Il existe sous 2 formes de sel, le sel de sodium et de calcium. Le sel de potassium est également autorisé [40]

- Sel de calcium : $(C_{27}H_{31}N_2O_7S_2)_2Ca$
- Sel de sodium : $C_{27}H_{31}N_2NaO_7S_2$
- Sel de potassium : $C_{27}H_{31}N_2KO_7S_2$

III.8.Toxicité des colorants :

La toxicité des colorants vient de l'ignorance des chercheurs ou des utilisateurs de leurs structures chimiques qui diffèrent d'un type à un autre ainsi que du mode de l'emploi lors de l'utilisation. Beaucoup d'études [41,42] ont montré les effets toxiques et/ou carcinogéniques des colorants azoïques, ce qui signifie que les effluents contenant ces colorants doivent être traités avant d'être rejetés en milieu naturel. Leur toxicité est en fait due à la teneur en groupements cancérigènes tels que les groupements aromatiques, phtalogènes, cyanurés, sel de barium et de plomb. Ces groupements cancérigènes (sous forme électrophile ou radicalaire) attaquent les bases pyrimidiques de l'ADN et de l'ARN et causent par conséquent, une altération du code génétique avec mutation et risque de cancer [43].

III.8.1.Toxicité par les colorants alimentaires :

L'emploi des colorants dans l'industrie alimentaire, particulièrement les synthétiques, se pose depuis plus d'un siècle. L'histoire a montré que l'usage de ces produits répondait à des considérations socio-psychologiques (l'homme a cherché toujours à se vêtir et à se nourrir selon ses goûts) et économiques. Pour ce dernier point, il faut signaler que le profit qui est pratiquement l'unique objectif du producteur, a poussé ce dernier à intégrer plusieurs

colorants dans les divers procédés de fabrication des aliments. Ceci a engendré des problèmes de santé à l'égard de l'humain, à cause de la toxicité de ces composés [44]

Les colorants cationiques qui peuvent également exercer des actions néfastes sur l'organisme humain :

- Le bleu de méthylène peut entraîner des cas d'anémie après une absorption prolongée.
- Les dérivés du triphénylméthane provoquent l'eczéma et des troubles gastriques (diarrhées).

Une des plus graves conséquences de l'usage des colorants synthétiques réside en des effets cancérogènes suite à leur ingestion répétée. Ainsi, beaucoup de ces dangereux composés ont été mis en évidence après une expérimentation rigoureuse sur les animaux. Nous citons quelques exemples :

- Les colorants azoïques, le rouge écarlate, le soudan III, l'orange SS (orange gras TX), l'amarante, le jaune AB, le jaune OB, le rouge ponceau, le soudan I, le rouge citrus...
- Les dérivées du triphénylméthane tels que le vert lumière SF, le vert solide, le vertguinée, le bleu patenté (V), le violet cristallisé etc. ...
- Les dérivées du diphenylamine comme l'auramine.
- Les dérivées de la phthaléine comme l'éosine, la fluorescéine, la rhodamine B etc. ...

III.8.1.1. Tartrazine et toxicité :

En association avec les benzoates elle a été incriminée dans des syndromes d'hyperactivité de l'enfant [45]. La mention « peut causer des troubles de l'attention et du comportement chez les enfants » est obligatoire depuis le 10/07/2010 sur les produits alimentaires contenant de la tartrazine.

III.8.1.2. Tartrazine et allergie :

Depuis de nombreuses années, la tartrazine est régulièrement impliquée dans des tableaux d'asthme, de rhinites, d'urticaires, d'eczéma atopique, de chocs anaphylactiques. Il s'agit souvent de cas isolés comme celui d'un adolescent de 19 ans exploré dont le test de provocation oral était positif dans un contexte d'épisodes d'anaphylaxie avec angioœdème du pénis et du scrotum [46]. Le risque d'allergie/ intolérance croisée tartrazine et salicylés a été étudié chez 156 patients intolérants à l'aspirine par test de provocation en double insu à la tartrazine (25 mg) contrôlés par placebo. Le test n'a été positif que pour 4 patients (2,5 %) [47]. Aucune conclusion en termes de médecine fondée sur les preuves ne peut établir un lien entre tartrazine et asthme [48]. L'étude de Pestana et coll. semble, sinon innocenter la tartrazine, au moins minimiser son rôle en pathologie [49].

III.8.1.3. Toxicité de bleu patenté :

Ce colorant issu de la pétrochimie est interdit ou non listé dans des pays comme les Etats-Unis, l'Australie et le Canada. Il a été interdit en Norvège jusqu'en 2001, date de son entrée dans l'U.E. En Europe, il peut être employé seul ou en combinaison avec d'autres colorants et cela dans certaines limites quantitatives.

Il peut provoquer dans de rares cas de l'asthme, des réactions cutanées, des nausées, des problèmes de tension artérielle, des tremblements et des insomnies. L'innocuité cancérologique du Bleu patenté V n'a pas été démontrée.

Le groupe d'aide aux enfants hyperactifs au Royaume-Uni "H.A.C.S.G." (Hyper Active Children Support Group) recommande d'éviter le colorant E 131.

IV. Méthodes d'analyse :

IV.1. Les méthodes chromatographiques :

Les méthodes chromatographiques sont des méthodes permettant de séparer les éléments d'un extrait végétal en solution plus ou moins complexe. Le mélange à chromatographier est entraîné par une phase mobile qui circule au contact d'une phase stationnaire liquide ou solide. Des interactions physiques ou chimiques s'établissent entre la phase stationnaire, qui possède une très grande surface de contact, et les molécules à séparer. Des échanges rapides et réversibles se produisent dont la force dépend de la nature chimique des molécules à séparer. Celles-ci sont plus ou moins retenues selon l'importance de leur interaction avec la phase stationnaire. Les molécules sont alors entraînées chimiquement, ce qui permet leur séparation. Cette séparation peut être effectuée dans un but analytique quantitatif ou qualitatif ou dans un but préparatif.[50]

IV.2. Classification des méthodes chromatographiques :

On distingue les différentes méthodes chromatographiques selon la nature des phases [51]

- **Phase stationnaire :**

- dans une colonne au travers de laquelle progresse la phase mobile par gravité ou sous l'action d'une différence de pression : **chromatographie sur colonne**
- sur une surface plane : **chromatographie sur couche mince (CCM)**.

▪ **Phase mobile :**

Phase qui se déplace sur ou à travers la phase stationnaire, entraînant avec elle l'analyte. Le processus d'entraînement de cet analyte est appelé élution. La phase mobile peut être un liquide ou un gaz.

IV.2.1. Chromatographie sur couche mince CCM :

La chromatographie sur couche mince est une technique couramment utilisée pour séparer des composants dans un but d'analyse (CCM analytique) ou de purification (CCM préparatrice). Cette technique (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption et d'interaction. La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

Après que l'échantillon ait été déposé, les substances migrent essentiellement par capillarité. La vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la phase stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile. Généralement, en CCM, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires.[52]

Le constant de migration caractéristique de chaque espèce chimique dans un système de phase stationnaire /phase mobile donné est appelée facteur de rétention R_f (rapport entre la distance parcourue par la tache et la distance parcourue par le front du solvant de puis la ligne de dépôt) la comparaison des R_f entre les taches d'extrait avec des témoins connus permet l'identification de la nature des composés [53]

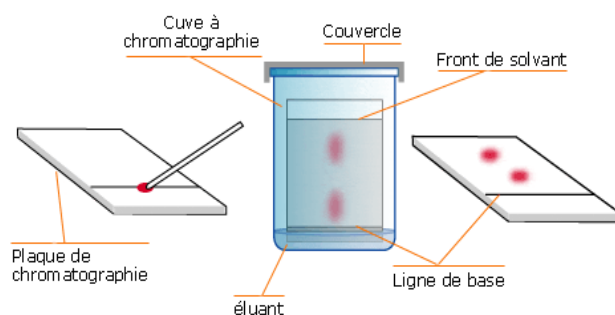


Figure 8 : Principe de la chromatographie sur couche mince

IV.2.1.1. Caractéristiques d'une CCM :

Le succès de la CCM comme méthode de séparation microanalytique ultra-efficace, repose sur de nombreuses propriétés :

- ✓ Possibilité d'analyser un grand nombre d'échantillons en très peu de temps

Approprié aux « screening tests »

- ✓ Permet d'appliquer les résultats à la HPLC et la flash-chromatographie
- ✓ Sauvegarde de l'information de séparation à long terme (la plaque se conserve pour longtemps)
- ✓ Analyse complémentaire des substances séparées possible (par exemple : la spectroscopie IR ou de masse)
- ✓ Optimisation rapide et économique de la séparation par le changement facile des phases mobiles et stationnaires [54]

IV.2.2. Chromatographie sur colonne :

C'est une technique basée sur des phénomènes d'adsorption. La phase solide est le plus souvent d'alumine ou la silice, remplit une colonne de longueur et de section variables ; l'échantillon, en solution concentrée, est déposé en haut de la colonne et la séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'un éluant, traversant la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression.

Les molécules sont entraînées vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour l'adsorbant et leur solubilité dans l'éluant. Le chromatogramme se développe en formant une succession de zones cylindriques qui se séparent en migrant vers le bas. La séparation dépend de l'éluant, de l'adsorbant, de la dimension de la colonne et de la vitesse d'élution [55]

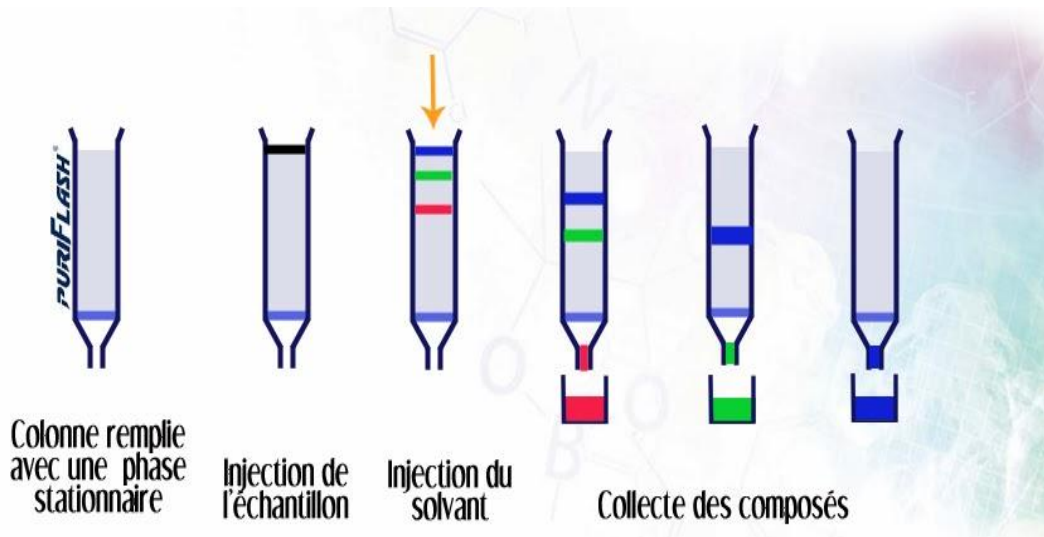


Figure 9 : Principe de chromatographie sur colonne

- Une colonne est remplie avec une phase stationnaire ou fixe
- Une phase mobile, ou solvant organique (ou mélange de solvants) ou éluant, est introduite au sommet de la colonne et entraîne les constituants (ou solutés) du mélange
- Le solvant entraîne les molécules de solutés. Il existe une série de transferts entre les deux phases.
- Les constituants du mélange migrent avec des vitesses différentes. Ils sont élués (déplacés) et recueillis séparément, en solution dans la phase mobile.
- Un chromatogramme présente des pics en fonction du temps

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Présentation des échantillons :

Pour la réalisation de notre travail, sept échantillons de sirops de menthe commercialisés en Algérie dont deux importés de l'étranger (Paquito et Teisseire), ont été étudiés.



Figure 10 : Sirops de menthe étudiés

Nous présentons dans le **Tableau 2**, les compositions des différents sirops inscrites sur l'emballage des sept échantillons.

Sirop	Composition	Origine
Teisseire	Eau, Sucre : Sucre de glucose, Fructose, Arôme naturel de menthe, Colorants : E 160 a (i), E 133	France
Paquito	Eau, Sucre, Arôme naturel de menthe, Colorant : Caramel ordinaire, E 133	France
El-Soufra	Eau, Sucre, Arôme artificielle, Conservateur : E 211, Colorant E 140.	Algérie
Fruiss	Eau, Sucre, Acide Citrique, Arôme, Colorant E 102, E 131.	Algérie
Rahmoun	Eau traitée, Sucre, Arôme menthe, Colorant vert E 141 i, Conservateurs E 202.	Algérie
L'exquise	Eau traitée, Sucre, Arôme menthe naturels, Additif à des fins alimentaires, Benzoate de Sodium : agent de conservation, colorant alimentaire (chlorophylle).	Algérie
Nounours	Eau traitée, Sucre, Acide Citrique E 330, Benzoate de Sodium E 211 : agent de conservation, Colorant E 140, Arôme artificiel.	Algérie

Tableau 2 : Compositions des sept sirops de menthe

II. Réalisation des spectres d'absorption :

Pour la réalisation des spectres d'absorption, nous mesurons l'absorbance des différents sirops dilués sous différentes longueurs d'onde. Pour cela, nous utilisons un spectrophotomètre UV-Visible qui permet un balayage de façon continue des longueurs d'onde. Dans ce travail, la plage des longueurs d'ondes choisie varie de 400 à 800 nm puisque toutes les solutions étudiées absorbent dans le visible.

Nous avons enregistré les spectres d'absorption des sept sirops dilués, des trois colorants étalons à savoir ; le bleu patenté E 131, le bleu brillant E133 et le jaune de tartrazine E102 ainsi que ceux des colorants obtenus après séparation par chromatographie sur colonne. Pour ce faire, après plusieurs essais et selon la nature de ces colorants étalons, des solutions aqueuses de colorant à des concentrations respectives de 60, 1 et 5 mg/100mL ont été préparées [56]

III. Dosage des colorants par étalonnage :

Il consiste à déterminer leur concentration dans une solution. Pour ce faire, nous utilisons l'absorbance qui dépend de la concentration du colorant. Pour cela, nous nous servons d'une gamme de solutions dites "étalons" de concentrations connues et nous mesurons leur absorbance correspondante.

Après le traçage de la courbe d'étalonnage reliant l'absorbance A à la concentration C de la solution, soit la courbe $A = f(C)$, nous en déduisons la concentration recherchée par le report sur cette courbe, de l'absorbance de la solution inconnue.

Par ailleurs, trois courbes d'étalonnage ont été établies afin de déterminer les concentrations respectives des colorants présents dans quelques sirops étudiés : il s'agit du bleu patenté (E131), du bleu brillant (E133) et du jaune de tartrazine (E102)

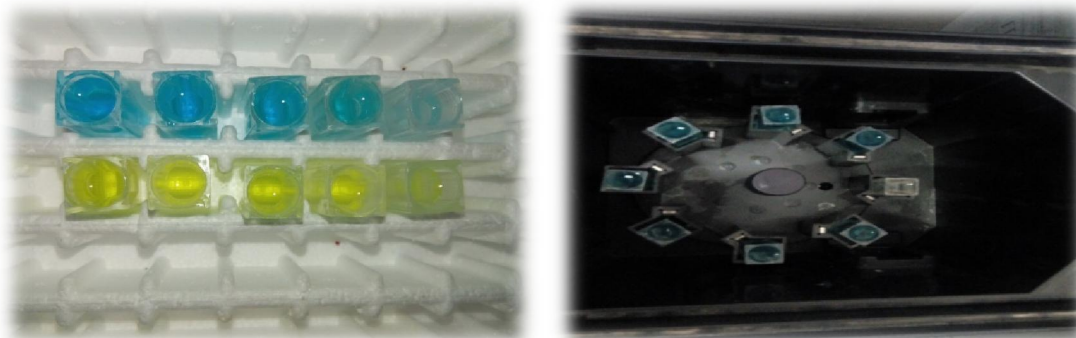


Figure 11 : Opération de dilution des colorants testés

IV. Extraction des huiles essentielles de menthe :

➤ **Hydrodistillation :**

L'hydrodistillation est une méthode, parmi beaucoup d'autres, permettant d'extraire des huiles essentielles à partir de la plante fraîche ou sèche [57]. L'hydrodistillation des feuilles de menthe a été accomplie à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Le montage expérimental est composé d'un chauffe-ballon muni d'un thermostat et surmonté d'un essencier de type Clevenger (figure 12).

Le procédé consiste à plonger la matière végétale directement dans un ballon contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant le remplir pour éviter les débordements de l'ébullition. Le chauffage est mis en marche en opérant une ébullition douce permettant l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. [58]

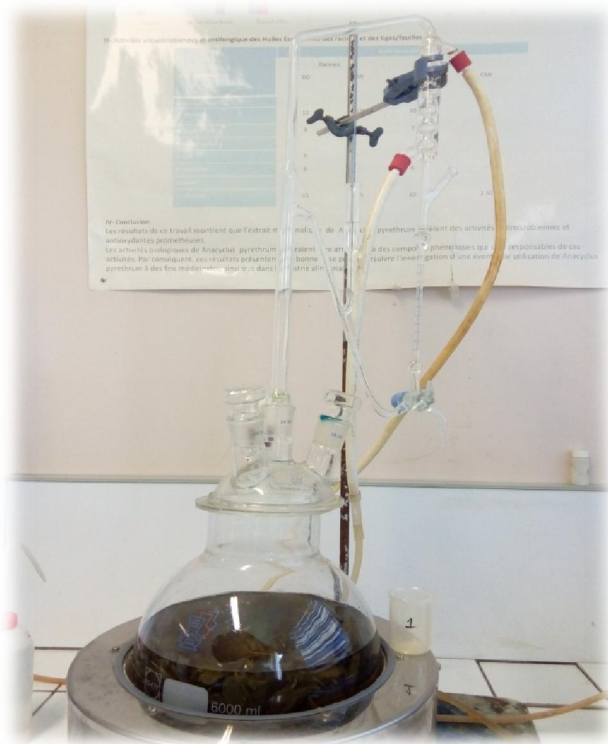


Figure 12 : Montage d'hydrodistillation de type Clevenger.

Le réfrigérant permet de condenser la vapeur condensée conduisant ainsi à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'eau aromatique par décantation [58].

L'extraction peut durer plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter [57].

La récupération de cette huile pour l'analyse chromatographique est effectuée, à l'aide d'une pipette pasteur en introduisant de l'éther diéthylique. Nous faisons agir le sulfate de magnésium anhydre comme desséchant afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue par l'huile.

L'huile essentielle ainsi obtenue est mise dans des piluliers en verre ambré et conservée au congélateur jusqu'à analyse [59]

V. Extraction des arômes :

➤ **Extraction liquide-liquide :**

C'est une opération fondamentale de transfert de matière entre deux phases liquides non miscibles. Elle repose sur la différence d'affinité d'un soluté entre deux phases liquides non miscibles.

Au laboratoire, nous travaillons sur des volumes de sirops à extraire de l'ordre de quelques millilitres. L'ampoule à décanter choisie pour l'extraction est d'un volume, tel que les phases liquides occupent au maximum la moitié de l'ampoule [60]

Tous les sirops ont subi une extraction liquide-liquide au moyen de l'éther diéthylique.



Figure 13 : Extraction liquide-liquide du sirop de menthe

La phase organique contenant l'arome est moins dense que la phase aqueuse. Nous recommençons l'extraction de cette dernière avec le même solvant. Une fois l'opération terminée, toutes les phases organiques sont réunies, séchées puis concentrées.



Figure 14: Aromes des sirops obtenus par extraction liquide-liquide

VII. Extraction des colorants du sirop de menthe :

Le sirop de menthe est un mélange de plusieurs constituants dont les sucres. Leur présence gêne énormément la séparation des colorants par chromatographie sur colonne [61]. Pour pallier à cette contrainte, nous procédons à l'emploi de la laine. La méthode repose sur trois étapes :

a) Préparation de la laine.

Des brins de laine écrue sont bouillis pendant 2 min dans une solution d'ammoniaque préparée à raison de 10 gouttes d'une solution d'ammoniaque concentrée dans 50 mL d'eau.

La laine est ensuite rincée abondamment à l'eau puis séchée

b) Fixation des colorants sur la laine :

Un milieu acide favorise la fixation des colorants. Pour ce faire, quelques gouttes d'acide acétique pur sont ajoutées à 25 mL de sirop sous la hotte.

Nous introduisons les brins de laine dans le bécher et nous chauffons à ébullition pendant 5 min.

La laine est sortie du bécher à l'aide d'une pince métallique puis rincée à l'eau

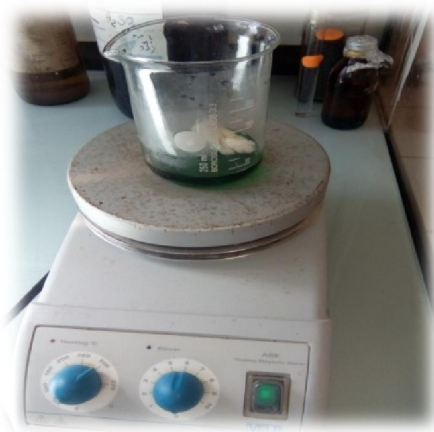


Figure 15 : Fixation des colorants sur la laine

c) **Récupération des colorants :**

L'extraction se fait en milieu basique. En effet, nous devons faire dégorger les colorants qui se sont fixés sur la laine en plaçant celle-ci dans un bécher contenant une solution d'ammoniaque préparée à raison de deux gouttes de solution concentrée dans 20 mL d'eau.

Une ébullition très douce est opérée jusqu'à ce que la solution se colore (ajouter si nécessaire quelques gouttes de solution d'ammoniaque).

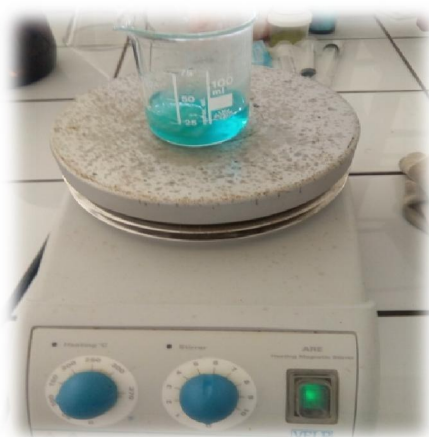


Figure 16 : Evolution de la couleur de la laine

Après avoir retiré la laine à l'aide d'une pince, le volume de la solution est réduit à 10 mL environ par évaporation d'eau sous la hotte.

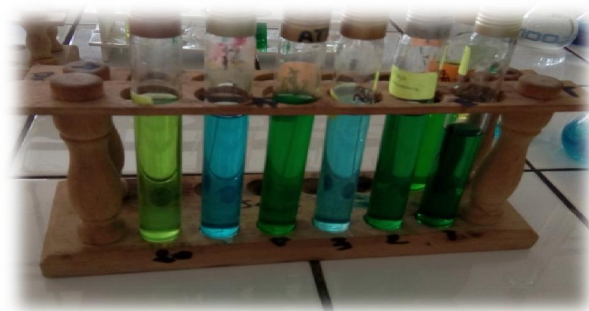


Figure 17: Colorants extraits des sirops de menthe

V. Méthodes de séparation et d'identification des extraits :

V.1. Méthodes chromatographiques :

La chromatographie est une méthode d'analyse chimique qui permet la séparation et l'identification des constituants chimiques d'un mélange (sirop de menthe, huile essentielle de menthe...).

➤ **Chromatographie sur Couche Mince CCM :**

1. Méthodologie :

- Sur la phase fixe, est déposé le mélange en solution.
- C'est la phase mobile (éluant) qui va entraîner différemment les divers constituants du mélange : il s'agit d'une élution
- Après migration des espèces chimiques, une révélation est souvent nécessaire.
- L'identification d'une espèce chimique se fait par comparaison, sur un même chromatogramme, avec une espèce chimique de référence (étalon).

Pour notre part, nous avons réalisé la chromatographie sur couche mince:

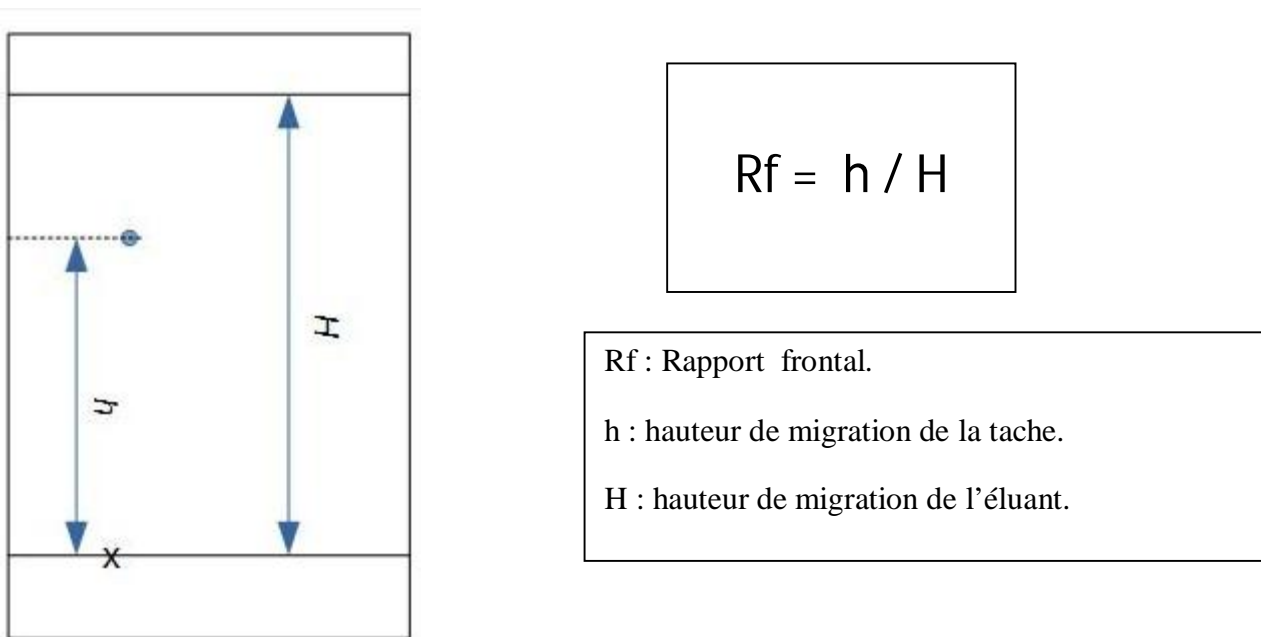
- Des sept sirops commercialisés
- Des colorants extraits des sirops après traitement à la laine, en présence de colorants de référence
- De l'huile essentielle de menthe obtenue par hydrodistillation en présence du menthol

Les plaques CCM utilisées sont des feuilles semi-rigides d'aluminium sur lesquelles sont fixées une phase stationnaire constituée de gel de silice de type 60 G F 254

2. Rapport frontal (Rf) :

Appelé aussi facteur de rétention, c'est une constante de migration qui caractérise chaque colorant dans un système (phase stationnaire -phase mobile) donné.

Elle représente le rapport entre la distance parcourue par la tache et la distance parcourue par le front du solvant. La comparaison des valeurs du Rf des taches du sirop avec celles des colorants connus (témoins) permet l'identification de la nature des composés à séparer [62]



➤ Chromatographie sur Colonne CC :

La réalisation se fait en trois étapes :

1. Préparation de la colonne :

- Une seringue est utilisée à la place d'une colonne de chromatographie(**Figure18**).
- La colonne fixée par une pince, est maintenue de façon verticale à l'aide d'un statif.
- Au fond de la colonne, est placé un morceau de coton au dessus duquel est versé du gel de silice de type 60 G F254
- A l'aide d'une pipette pasteur, le premier éluant est ajouté tout en tapotant, afin de mouiller le gel de silice.
- Après avoir imprégner tout le gel de silice de l'éluant, l'addition de ce dernier continue jusqu'à obtention d'un écoulement goutte à goutte à la sortie de la colonne.
- Une fois le niveau de l'éluant atteint la limite supérieure du gel de silice, la colonne est considérée comme prête à l'emploi.

2. Dépôt de l'échantillon

C'est l'étape la plus délicate. En effet, le dépôt du sirop à analyser se fait avec précaution tout en évitant de toucher les parois de la colonne.

Afin d'aider l'échantillon déposé à pénétrer dans le gel de silice, nous poussons lentement avec le piston.

3. Elution

Un écoulement régulier et continu de l'éluant est effectué jusqu'à recueillir le premier colorant du sirop à analyser dans un tube à essais. Cela est suivi d'un ajout progressif et continu du deuxième éluant jusqu'au recueil du second colorant du sirop dans un autre tube à essais.



Figure 18 : Chromatographie sur colonne d'un sirop de menthe



Figure 19 : Colorants séparés par chromatographie sur colonne

➤ **Chromatographie en Phase Gazeuse CPG :**

A l'aide de cette méthode, nous pouvons séparer mais aussi analyser les constituants d'un mélange. En effet, c'est le temps de rétention qui permet l'identification d'une substance (nature de la molécule et l'aire du pic). La valeur du temps de rétention dépend des conditions expérimentales (phase stationnaire de la colonne et son état, programmation de la température...).

La CPG est une technique qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Pour l'analyse des huiles essentielles, elle reste la méthode la plus utilisée [57].

Pour notre part, nous nous sommes intéressés à l'analyse des arômes extraits des sept sirops de menthe ainsi que l'huile essentielle de menthe par la mise en évidence du menthol et de la menthone ; deux composés susceptibles d'y être fortement présents.

Un chromatographe en phase gazeuse est constitué principalement de trois parties.

1. L'injecteur :

En utilisant une micro seringue, l'huile essentielle est introduite dans la chambre de vaporisation. A l'intérieur de l'injecteur, l'huile est portée à l'état de vapeur, puis amenée dans le flux gazeux en tête de colonne.

2. La colonne :

D'une longueur variable, elle se présente sous la forme d'un tube de silice, enroulée sur lui-même. Elle est située dans un compartiment à température régulée. Entraînée par un gaz vecteur inerte, l'huile est séparée en fonction de la capacité d'interaction de ses constituants avec la phase stationnaire.

3. Le détecteur :

C'est l'enceinte où se fait la détection voire l'identification des composés à la sortie de la colonne.

V.2. Méthodes spectrométriques :

La spectroscopie UV-Visible est une technique basée sur la propriété que possèdent certaines molécules à absorber certaines longueurs d'ondes du spectre UV-Visible. C'est une méthode simple et rapide qui permet d'accéder à des informations qualitatives (nature des liaisons

présentes au sein de l'échantillon) et quantitatives (détermination de la concentration de molécules qui absorbent à des longueurs d'onde déterminées) [63]

A partir d'un spectromètre UV-Visible, le spectre d'un composé traité est donné sous la forme d'un tracé de la transmittance, ou de l'absorbance, en fonction des longueurs d'onde reportées en abscisses

Un spectromètre est composé des éléments suivants:

1. Source de radiation lumineuse

2. Monochromateur : Il permet d'obtenir des radiations monochromatiques par la dispersion du rayonnement polychromatique qui provient de la source.

3. Photomètre : En sortant du monochromateur, la lumière est divisée en deux faisceaux qui traversent les compartiments de la référence et de l'échantillon.

4. Détecteur : Son rôle est de convertir la lumière reçue en courant.

5. Enregistreur : Relié au détecteur, il permet de tracer un spectre d'absorption de l'échantillon à analyser.

Pour notre part, les trois colorants et les sept sirops ont été traités par un spectrophotomètre UV-visible de type Thermo ELECTRON CORPORATION-Evolution 100.

Chapitre III : Résultats et interprétations

I. Présentation des échantillons :

La visualisation des différents sirops de menthe nous a permis de constater des flacons conditionnés différemment. En effet, si les deux sirops importés (Paquito et Teisseire) sont étanches et présentent des emballages opaques en métal inoxydable, tous les sirops de menthe commercialisés en Algérie sont conditionnés dans des bouteilles en plastique transparentes et parfois mal fermées à l'exception du sirop « Fruiss » dont la bouteille est en verre. Exposés à la lumière, ces derniers pourraient subir en quelques jours, une dégradation rapide pouvant être nocive pour le consommateur.

Pour ce qui est de l'étiquetage, il varie d'un sirop à un autre. Toutes les étiquettes ne donnent qu'une composition qualitative du sirop de menthe. Celle-ci est constituée principalement d'eau , de sucre, d'un arôme naturel ou artificiel, d'un conservateur et de colorants différents.

Après ouverture des bouteilles, les sirops de couleur verte ont une odeur mentholée qui est probablement due à la présence du menthol et/ou de la menthone que nous trouvons dans l'huile essentielle de menthe.

II. Réalisation des spectres d'absorption :

Les figures 34 ,35 et 36 en annexe, représentent les spectres d'absorption des solutions diluées des sept sirops de menthe. L'analyse de ces spectres mène à la détermination de la longueur d'onde du maximum d'absorption λ_{\max} . Les valeurs de l'absorbance en cm^{-1} ainsi que de la longueur d'onde maximale de chaque bande exprimée en nanomètre, sont illustrées dans les Tableaux 3 et 4

Le spectre d'absorption de chaque sirop en lumière visible dispose de deux bandes correspondant aux deux colorants présents dans chaque sirop.

Au vu des spectres obtenus et en utilisant l'étoile des couleurs complémentaires (Figure 20), le sirop de menthe apparaît de couleur verte car il absorbe les radiations rouges (la couleur complémentaire est le cyan) et bleues (la couleur complémentaire est le jaune), et laisse essentiellement passer les radiations vertes (couleur qui résulte de la superposition des couleurs cyan et jaune).

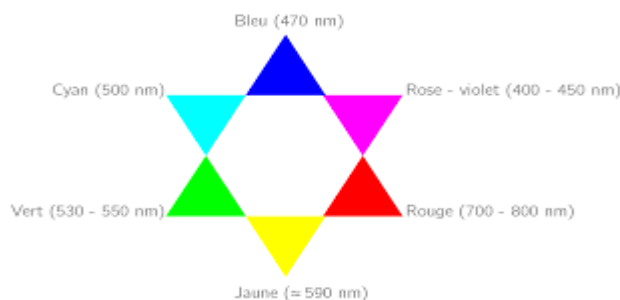


Figure 20:Etoile des couleurs complémentaires

En effet, par comparaison des résultats obtenus pour les longueurs d'onde, le colorant jaune de tartrazine E102 rentre dans la composition des cinq sirops locaux. D'autre part, nous constatons que le bleu brillant E133 est un colorant qui existe dans les cinq sirops (Rahmoun, El soufra, Nounours, Paquito et Teisseire) alors que le bleu patenté E131 rentre seulement dans la préparation des deux sirops Fruiss et l'exquise.

Colorant	Longueur d'onde λ_{\max} (nm)	Absorbance
E 131	637	0.823
E 133	629	0.923
E 102	412	0.796

Tableau 3:Longueurs d'onde maximales et Absorbances des colorants E131,E133 et E102

Sirop	Longueur d'onde $\lambda_{\max 1}$ (nm)	Absorbance (cm^{-1})	Longueur d'onde $\lambda_{\max 2}$ (nm)	Absorbance (cm^{-1})
Fruiss	413	0.477	639	0.696
Rahmoun	412	0.513	630	0.903
El-soufra	419	0.400	630	0.131
Nounours	412	0.630	630	1.087
L'exquise	412	1.594	637	0.664
Paquito	/	/	630	0.458
Teissere	/	/	630	0.696

Tableau 4 : Longueurs d'onde maximales et Absorbances des colorants des sept sirops de menthe

Les spectres sont constitués de bandes larges, et non de pics. En effet, de nombreuses transitions énergétiquement proches sont donc effectuées. La délocalisation des électrons résulte de l'enchaînement d'insaturations π dans la molécule du colorant. Elle traduit la mobilité facile des électrons le long de la molécule et s'accompagne d'un rapprochement des niveaux d'énergies.

Comme la plupart des substances organiques colorées, les colorants E 102, E 131 et E133 présentent dans leurs molécules de nombreuses liaisons conjuguées responsables de l'absorption des radiations correspondant à leur couleur complémentaire.

III.Séparation et identification des extraits :

III.1.Chromatographie sur Couche Mince :

➤ Sirops et colorants :

La chromatographie sur couche mince opérée sur les sept sirops nous a permis de séparer leurs constituants et de les identifier par comparaison avec des colorants connus que nous faisons migrer en même temps que le sirop à analyser. Enfin, une mesure du rapport frontal (Rf) de chaque colorant séparé et sa comparaison avec celui d'un étalon ont été faites.

Les chromatogrammes obtenus sont représentés par les **Figures** allant de **21** à **25** et les résultats sont renseignés dans le **Tableau 5**.

L'interprétation des chromatogrammes permet de conclure que tous les dépôts des sirops de menthe donnent lieu à deux taches et par conséquent contiennent deux colorants différents. Dans le même chromatogramme, les dépôts qui présentent chacun une tache à la même position (même rapport frontal) correspondent au même colorant.

✚ L'éluant : eau salée (solution de NaCl20 g/L)

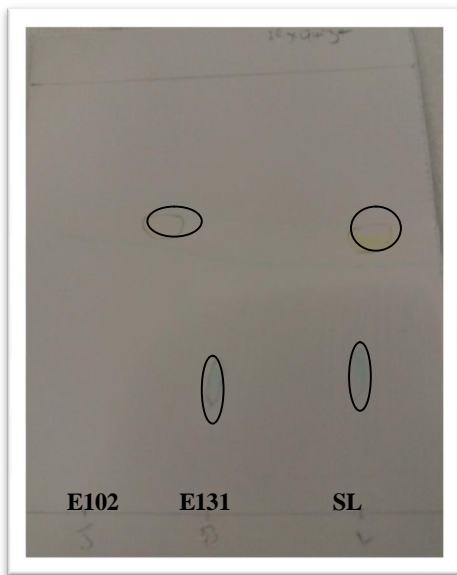


Figure 21 :CCM du sirop L'exquise

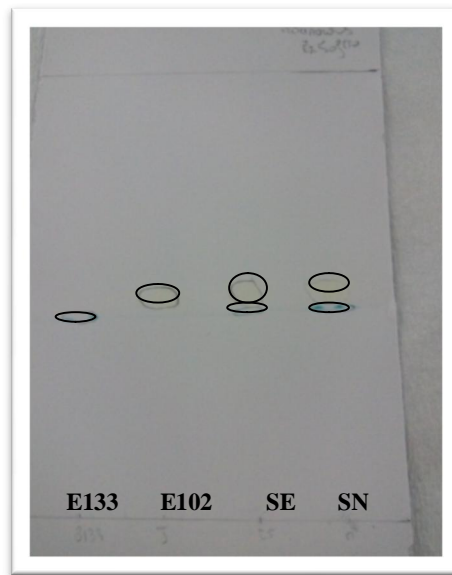


Figure 22 : CCM des sirops Nounours et El-soufra



Figure 23 :CCM du sirop Fruiss

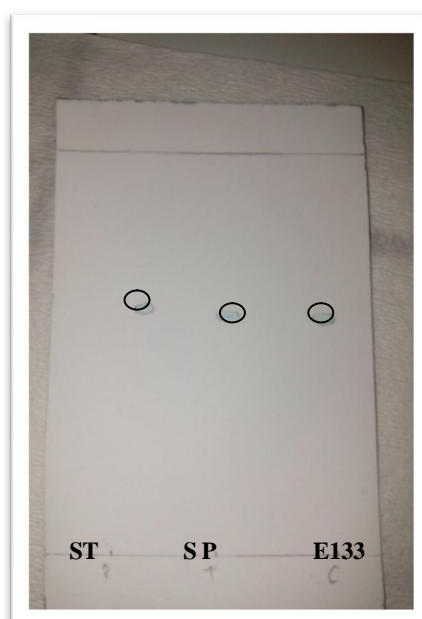


Figure 24 : CCM des sirops Paquito et Teisseire



Figure 25 :CCM du sirop Rahmoun

N°	Sirop/Colorant étalon	Couleur de la tache	Rapport frontal(Rf)	Colorant du sirop
1	- L'exquise	- Bleue	0.33	- E131
		- Jaune	0.61	- E102
	- E131	- Bleue	0.33	
	- E102	- Jaune	0.61	
2	- Nounours	- Bleue	0.45	- E133
		- Jaune	0.50	- E102
	- El-soufra	- Bleue	0.44	- E133
		- Jaune	0.50	- E102
	- E133	- Bleue	0.44	
	- E102	- jaune	0.50	
3	- Fruiss	- Bleue	0.39	- E131
		- Jaune	0.71	- E102
	- E131	- Bleue	0.40	
	- E102	- Jaune	0.71	
4	- Paquito	- Bleue	0.59	- E133
	- Teisseire	- Bleue	0.58	- E133
	- E133	- Bleue	0.58	
5	- Rahmoun	- Bleue	0.66	- E133
		- Jaune	0.72	- E102
	- E133	- Bleue	0.66	
	- E102	- Jaune	0.72	

Tableau 5: Rapports frontaux (Rf) des sept sirops et des colorants étalons

➤ **Huile essentielle de menthe :**

Le chromatogramme de cette huile donne lieu à trois taches dont une, est à la même position que celle du menthol utilisé comme référence.

Contrairement aux taches produites lors de la CCM des sirops, l'huile essentielle de menthe donne lieu à des taches incolores qui nécessitent une révélation. Pour ce faire, nous utilisons une lampe UV à deux longueurs d'onde différentes.

Il ressort du **Tableau 6** que le menthol (Rf = 0.43) est bien présent dans la composition chimique de l'huile essentielle de menthe.

✚ L'éluant : Dichlorométhane

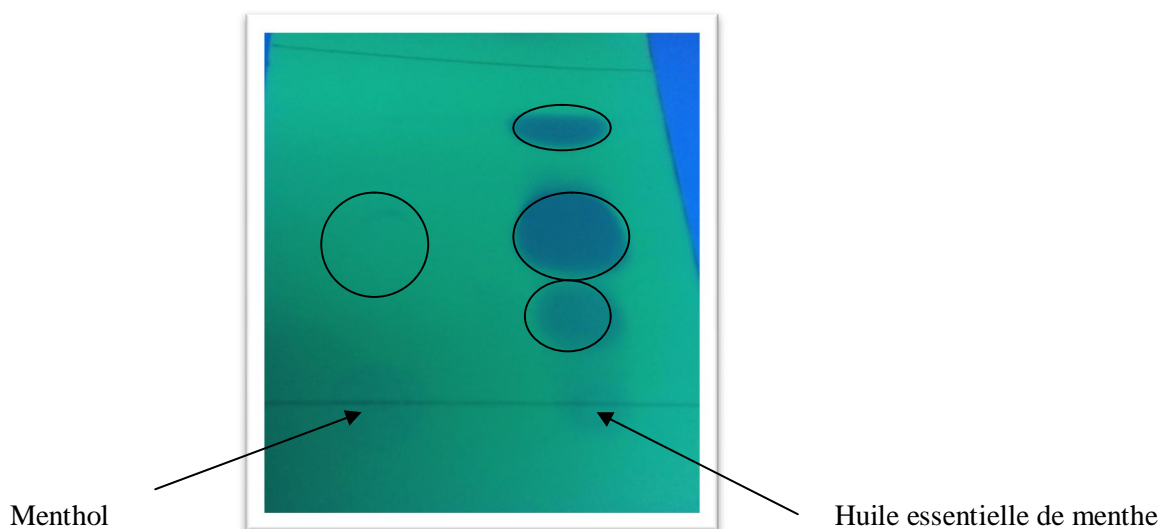


Figure 26 : CCM du menthol et de l'huile essentielle de menthe

N°	Huile essentielle/Etalon	Couleur de la tache	Rapport frontal(Rf)	Constituant de l'huile essentielle
6	- Menthe	- Incolore	0.21	- Non identifiée
		- Incolore	0.43	- Menthol
		- Incolore	0.83	- Non identifiée
	- Menthol	- Incolore	0.43	

Tableau 6 : Rapports frontaux (Rf) du menthol et de l'huile essentielle de menthe

III.2. Chromatographie sur colonne :

Après avoir essayé de réaliser directement une chromatographie sur colonne du sirop de menthe, l'opération s'avère difficile voire impossible à cause des sucres qui y sont présents. Nous avons procédé à l'utilisation de la laine écrue selon le protocole explicité précédemment. En effet, parmi tous les autres constituants du sirop, seuls les colorants, ont une affinité chimique vis-à-vis des molécules qui constituent la laine.

Dans la première étape, en milieu acide, nous assistons à la fixation des colorants sur la laine qui se teint en vert. Dans l'étape suivante, le milieu basique favorise la décoloration de la laine. Nous obtenons une solution verte que nous concentrons et analysons par la suite par chromatographie sur colonne.

Comme éluant, nous avons commencé par une eau salée qui permet d'entraîner un colorant jaune qui sera recueilli en premier. Ce dernier est moins absorbé par le gel de silicique le colorant bleu qui, à son tour sera entraîné par un deuxième éluant qui est l'éthanol. Les deux colorants sont récupérés séparément.

Si nous avons pu récupérer deux fractions de couleurs différentes pour les sirops fabriqués localement, la chromatographie sur colonne des sirops importés n'a donné lieu qu'à une seule fraction colorée en bleu.

Les résultats de la chromatographie de tous les sirops de menthe suivie d'une analyse par spectrométrie UV-Visible des colorants extraits sont illustrés dans le **Tableau 7**.

Sirop	Extrait bleu		Extrait jaune	
	Longueur d'onde (nm)	Absorbance (cm ⁻¹)	Longueur d'onde (nm)	Absorbance (cm ⁻¹)
Fruiss	638	1.518	421	0.629
L'exquise	637	1.597	421	1.536
Rahmoun	629	0.984	421	0.646
Nounours	629	0.947	421	1.051
El-soufra	628	0.569	421	1.495
Paquito	628	0.935	/	/
Teisseire	628	1437	/	/

Tableau 7 : Longueurs d'onde et absorbances des colorants extraits des sept sirops

A la lecture de ces valeurs, tout en nous reportant au **Tableau 7**, nous confirmons la concordance entre les longueurs d'onde de ces deux extraits et ceux obtenues précédemment. En effet, tous les sirops locaux analysés renferment le jaune de tartrazine E102.

Pour l'extrait bleu, seuls les deux sirops Fruiss et l'exquise contiennent le bleu patenté E131. Par contre, les cinq sirops restants renferment le bleu brillant E133.

Par ailleurs, nous pouvons dire que le colorant vert E140 qui rentre dans la composition des deux sirops El-soufra et Nounours, n'est qu'un mélange de deux colorants alimentaires ; le jaune de tartrazine E102 et le bleu brillant E133. De même pour le colorant vert E141i du sirop Rahmoun : il constitue semble-t-il, un mélange de deux colorants : le jaune de tartrazine E102 et le bleu brillant E133.

III.3. Chromatographie en phase gazeuse :

Après injection de deux étalons (le menthol et la menthone) afin d'identifier leurs temps de rétention, nous avons procédé à l'injection des arômes extraits des sirops de menthe ainsi que l'huile essentielle des feuilles de menthe et ce, dans les mêmes conditions opératoires qui suivent.

- Programmation de température : de 60 à 230 °C à 2°C /min
- Température de l'injection : 280 °C
- Température de détecteur : 280°C
- Injection : mode split (1 :50).
- Gaz vecteur : Hélium (1mL/min)
- Volume injecté : 0.2 µL

Les analyses ont été faites à l'aide d'un chromatographe Perkin-Elmer (Waltham ,MA ,USA) Auto system XL, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et deux colonnes capillaires en silice fondue, polaire (Rtx-wax, polyéthylène glycol) et apolaire Rtx-1 (DB5), polydiméthylsiloxane)

L'évaluation de la proportion de menthol et de la menthone dans les deux extraits a permis d'obtenir les résultats consignés dans les **Tableaux 8 et 9** et illustrés par les chromatogrammes (**Figures de 44 à 53**)

A l'exception de l'huile essentielle de la menthe et de l'arôme de sirop Rahmoun dont les chromatogrammes laissent apparaître un seul pic , de temps de rétention comparable à celui du menthol, nous remarquons deux pics très proches l'un de l'autre sur tous les autres chromatogrammes. Les deux pics correspondent bien au menthol (composé B) et à la menthone (composé A) : deux composés intéressants. En effet, le menthol connu pour ses propriétés anti-inflammatoires et antivirales est utilisé pour soulager les petites irritations de la gorge.



Figure 27: Structures chimiques du menthol (B) et de la menthone (A)

Tableau8: Temps de rétention du menthol et de la menthone

Etalon	Temps de rétention (min)
Menthol	2.163 ± 0.05
Menthone	2.113 ± 0.05

	Temps de rétention (min)	Temps de rétention (min)
Arome de sirop	Pic 1	Pic 2
Fruiss	2.013 ± 0.05	2.117 ± 0.05
L'exquise	1.990 ± 0.05	2.083 ± 0.05
Rahmoun	/	2.120 ± 0.05
Nounours	1.877 ± 0.05	1.983 ± 0.05
El-soufra	1.997 ± 0.05	2.090 ± 0.05
Paquito	1.980 ± 0.05	2.087 ± 0.05
Teisseire	2.053 ± 0.05	2.103 ± 0.05
Huile essentielle de menthe	/	2.157 ± 0.05

Tableau 9: Temps de rétention des composants des aromes de sirops et de l'huile essentielle de menthe

IV. Dosage des colorants par étalonnage :

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés au dosage des trois colorants :E102 (Jaune de tartrazine),E131(bleu patenté)et E133 (bleu brillant).

Pour réaliser le dosage de la tartrazine dans le sirop, nous devons nous placer à une longueur d'onde λ qui soit la plus proche (légèrement supérieure) du maximum d'absorbance pour le colorant jaune et pour laquelle, l'absorbance du colorant bleu soit nulle.

La longueur d'onde $\lambda = 420$ nm vérifie ces deux conditions contrairement à la longueur d'onde $\lambda_{\max}=412$ nm où l'absorbance du bleu patenté n'est pas nulle.

Pour déterminer la concentration en bleu patenté ou en bleu brillant dans le sirop de menthe, nous devons travailler à des longueurs d'onde allant de 450 à 675 nm où seule cette espèce absorbe mais, pour plus de précision, il est préférable de choisir la longueur d'onde où l'absorbance est maximale ($\lambda_{\max} = 637$ nm pour E131 et $\lambda_{\max} = 629$ nm pour E133)

En suivant le protocole énoncé précédemment, les courbes d'étalonnage obtenues par mesure d'absorbance de solution étalons de concentrations connues en colorant, ont été établies (**Figures 28, 29 et 30**).Les résultats des concentrations en colorant sont donnés dans les **Tableaux 10,11 et 12**

Les courbes d'étalonnage $A = f(C)$ sont des droites linéaires de coefficient de régression R^2 proche de l'unité en conformité avec la loi de Beer-Lambert qui assure la proportionnalité entre l'absorbance et la concentration.

En mesurant l'absorbance des différents sirops préalablement dilués au 1/10, la détermination graphique permet d'aboutir à la concentration massique de chaque colorant dans le sirop de menthe correspondant.

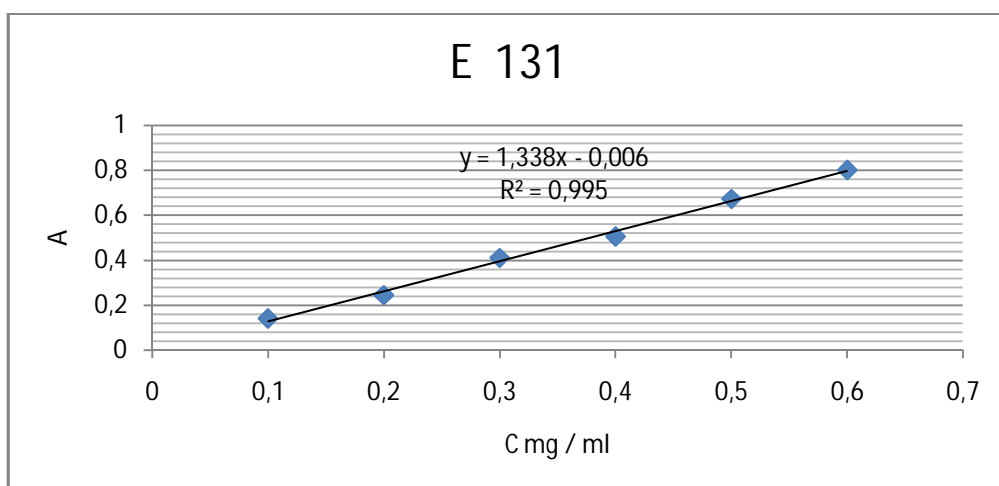


Figure 28 : Courbe d'étalonnage du bleu patenté E131

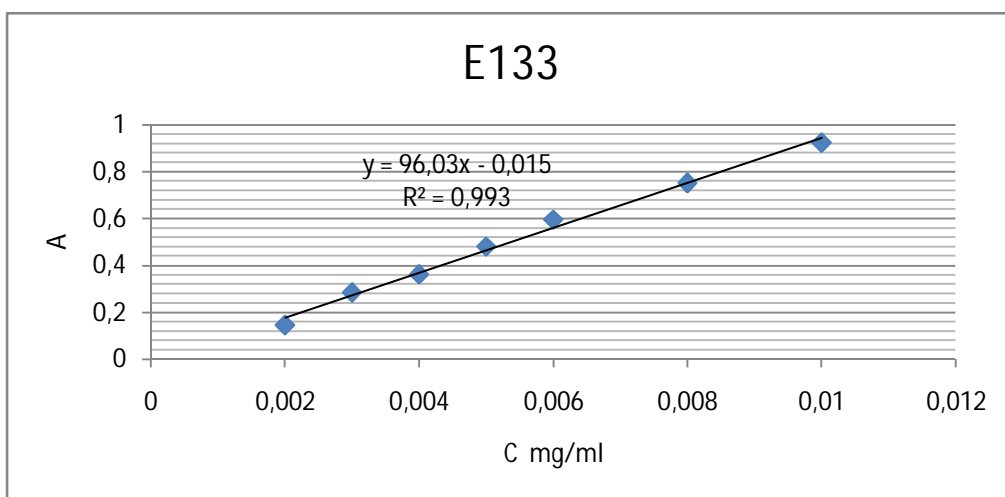


Figure 29: Courbe d'étalonnage du bleu brillant E133

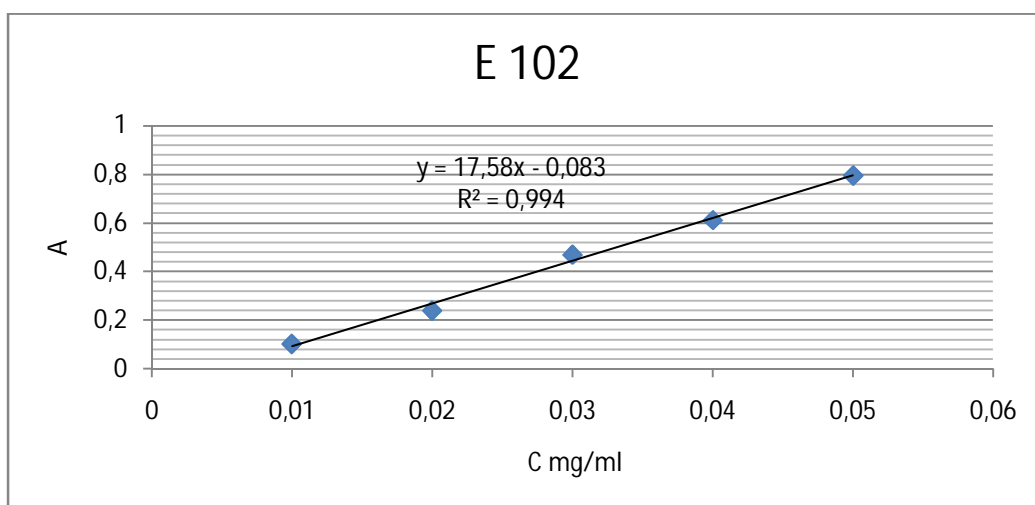


Figure 30: Courbe d'étalonnage du jaune de tartrazine

Sirop	Concentration (g/L)
Fruiss	0.50
L'exquise	0.48

Tableau 10 : Concentration en bleu patenté dans les sirops

Sirop	Concentration(g/L)
Paquito	0.0048
Teisseire	0.0076
Nounours	0.0100
El-soufra	0.0019
Rahmoun	0.0097

Tableau 11 : Concentration en bleu brillant dans les sirops

Sirop	Concentration(g/L)
Fruiss	0.030
L'exquise	0.060
Nounours	0.040
El-soufra	0.028
Rahmoun	0.034

Tableau 12 : Concentrations en jaune de tartrazine dans les sirops

Pour ce qui est du bleu patenté, sa concentration dans les deux sirops Fruiss et l'exquise est pratiquement la même. Comparée aux concentrations très faibles du bleu brillant existant dans les autres sirops, elle est nettement supérieure.

En ce qui concerne le jaune de tartrazine, sa concentration dans tous les sirops est de l'ordre de 0.03 g/L à l'exception du sirop l'exquise dont la concentration est deux fois plus grande.

Par ailleurs, en tenant compte des valeurs de la dose journalière admise (DJA) fixées par l'union européenne, pour les trois colorants en question (**Tableau 13**), nous pouvons confirmer que les concentrations en colorant trouvées dans les différents sirops sont loin de présenter un quelconque danger sur la santé du consommateur.

En effet, à titre d'exemple, pour qu'une personne de 70 kg atteigne cette DJA en bleu patenté, le volume de sirop de menthe Fruiss concentré pouvant être consommé par jour est de 2.86 L.

Colorant	Bleu patenté E131	Bleu brillant E133	Tartrazine E102
DJA (mg/kg/jour)	2.5	10.0	7.5

Tableau 13: Dose Journalière Admise des colorants étudiés selon l'union européenne

Conclusion générale

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion

Le travail qui fait l'objet de ce mémoire consiste à l'étude comparative par des techniques chromatographiques de sept sirops de menthe commercialisés en Algérie dont deux importés de France.

Un contrôle physique des différents échantillons et la vérification des informations portées sur chaque sirop ont montré que seuls les sirops importés sont convenablement conditionnés. D'autre part, les étiquettes apposées sur tous les sirops ne donnent qu'une composition qualitative.

L'étude commence par un traitement par spectrophotométrie UV-Visible des trois colorants à savoir ; le bleu patenté E131, le bleu brillant E133 et le jaune de tartrazine E102 ainsi que tous les sirops préalablement dilués. L'analyse de ces spectres a montré que chaque sirop de menthe en lumière visible, dispose de deux grandes bandes correspondant à deux colorants jaune et bleu. En effet, par comparaison des longueurs d'onde, le colorant jaune de tartrazine E102 rentre dans la composition des cinq sirops locaux. D'autre part, nous constatons la présence du bleu brillant E133 dans les cinq sirops (Rahmoun, El soufra, Nounours, Paquito et Teisseire) alors que le bleu patenté E131 rentre seulement dans la préparation des deux sirops Fruiss et l'exquise.

L'application de la chromatographie sur couche mince à tous les sirops de menthe en présence de colorants étalons nous a permis de séparer leurs constituants et de les identifier. Par ailleurs, l'huile essentielle de menthe obtenue par hydrodistillation a été soumise à une chromatographie sur couche mince en présence du menthol comme étalon. L'interprétation du chromatogramme a permis de confirmer la présence de ce composé dans cette huile.

En outre, la réalisation directe de la chromatographie sur colonne des sirops de menthe s'est avérée impossible. Pour ce faire, les colorants sont d'abord extraits de leurs sirops par la méthode de la laine écrue puis soumis à une séparation par chromatographie sur colonne. Les fractions colorées récupérées et analysées par spectrophotométrie UV-Visible correspondent aux deux extraits obtenus précédemment. En effet, tous les sirops locaux analysés renferment le jaune de tartrazine E102. Pour l'extrait bleu, seuls les deux sirops Fruiss et l'exquise contiennent le bleu patenté E131 alors que les cinq sirops restants renferment le bleu brillant E133.

L'étude est suivie par l'analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de menthe ainsi que des arômes extraits des sirops de menthe et ce, en présence de deux étalons ; le menthol et la menthone. Tous les chromatogrammes obtenus laissent apparaître les deux pics qui correspondent au menthol et à la menthone à l'exception de l'huile et de l'arôme du sirop Rahmoun où un seul composé a été mis en évidence : le menthol.

Enfin, le dosage par étalonnage des trois colorants identifiés dans les sept sirops a donné lieu à des concentrations qui, comparées à la dose journalière admise, ne présentent aucun danger sur la santé du consommateur.

Par ce travail, nous espérons avoir apporté notre contribution à l'analyse par chromatographie d'un sirop alimentaire ; le sirop de menthe.

Références bibliographique



Références bibliographiques

- [1] <http://dicocitations.lemonde.fr/dico-mot-definition/126455/sirop.php>
- [2] https://fr.wikibooks.org/wiki/Livre_de_cuisine/Boissons/Sirop_de_menthe
- [3] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Menthe>
- [4] <http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/menthe.htm#la-recherche-sur-la-menthe>
- [5] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Menthol>
- [6] Dutau G, Rancé F, Fejji S, Juchet A, Brémont F, Nouilhan P. Intolérance aux additifs alimentaires chez l'enfant : mythe ou réalité. Rev Fr Allergol 1996;36:129–42.
- [7] C. Gallena, J. Plab, Allergie et intolérance aux additifs alimentaires Allergy and intolerance to food additive,2013s,s12
- [8] T. Bourrier, Revue générale Intolérances et allergies aux colorants et additifs 'Intolerance and allergy to colorants and additives', Reçu le 20 octobre 2005 ; accepté le 19 novembre 2005,p71
- [9] T. Bourrier, Revue générale Intolérances et allergies aux colorants et additifs, 19 novembre 2005,p73
- [10] C. Gallena, J. Plab. Allergie et intolérance aux additifs alimentaires Allergy and intolerance to food additives.2013,s17.
- [11] T. Bourrier, Revue générale Intolérances et allergies aux colorants et additifs, 19 novembre 2005,p75
- [12] Dr Yann Berger,les additifs alimentaires Utilisation et législation,p10
- [13] C. Gallena, J. Plab, Allergie et intolérance aux additifs alimentaires Allergy and intolerance to food additive,2013s,s14
- [14] Taylor SL, Dormedy ES. Flavorings and colorings. Allergy 1998 ;53(Suppl46):80–2
- [15] Hedge V, Mahesh PA, Venkatesh YP. Anaphylaxis caused by mannitol in pomegranate (Punicagranatum). ACI International 2002;14:37–9.
- [16] PH GUION ., DOSSIER SCIENTIFIQUE DE L'IFN N° 10' LES ADDITIFS', Septembre 1998,p28.pdf
- [17] E. ArabTehrany et de C. Gaiani, Les additifs alimentaires 'le meilleur et le pire',pdf
- [18] J.A. Moore, «Chimie organique moderne, travaux pratiques», MASSON, (1975)
- [19] K. Mehdjoubi, M.Belmimouni « Essais d'élimination d'un colorant basique en solution aqueuse synthétique par certains matériaux déchets traités», Université de Tlemcen,(2010)

- [20] Chloé Beutler, LES COLORANTS ARTIFICIELS DANS LES DENREES ALIMENTAIRES DESTINEES AUX ENFANTS, Le 7 novembre 2011, p6
- [21] J. MAJAULT, « Textiles chimiques, fibres modernes». Editions Eyrolles, 161.
- [22] T. Bourrier, Revue générale, Intolérances et allergies aux colorants et additifs, Intolerance and allergy to colorants and additives, p71
- [23] Zhenwang L., Zhenlu C., Jianyan L. 15th World Conference on Non-Destructive Testing, 15-21 October 2000, Rome
- [24] Chloé Beutler, LES COLORANTS ARTIFICIELS DANS LES DENREES ALIMENTAIRES DESTINEES AUX ENFANTS, Le 7 novembre 2011, p9.
- [25] Procédés de Séparation et d'Oxydation Avancée PDF M2, thème « ETUDE CINETIQUE DE LA DEGRADATION D'UN COLORANT PAR OXYDATION »
- [26] BENAÏSSA Akila épouse KACEM CHAOUICHE, thèse de doctorat « Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif », 2010/2011, p26
- [27] G. Simont. Guide des techniques de l'ennoblissement textile. Chapitre 11, édition industrie textile (1982)
- [28] J. Griffiths. Developments in the light absorption properties of dyes—color and photochemical reaction, Society of Chemistry Industry, Oxford, pp 1-30. (1984).
- [29] Robert D., Parra S., Pulgarin C., Krzton A., Weber J.V. Appl. Surf. Sci. 167, 51-58. (2000)
- [30] Guillard C., Lachheb H., Houas A., Ksibi M., Elaloui E., Herrmann J.M., J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 158 27-36. (2003)
- [31] M. Capon, V. Courilleu, C. Valette, Chimie des couleurs et des odeurs, Nantes, Culture, et technique, (1999)
- [32] ALLIOUCHE Sihem, magister en chimie : " Etude de l'élimination d'un colorant par différentes méthodes photochimiques en milieu aqueux " , 18 février 2007, p13
- [33] Lamri NAÏDJA, magister en chimie : " élimination du colorant orange en solution aqueuse, par voie photochimique et par adsorption " , p24
- [34] ALLIOUCHE Sihem, magister en chimie : " Etude de l'élimination d'un colorant par différentes méthodes photochimiques en milieu aqueux " , 18 février 2007, p16
- [35] Taylor SL, Dormedy ES. Flavorings and colorings. Allergy 1998;53 (Suppl 46):80–2.
- [36] Dutau G. Colorants. In: Dutau G, editor. Le dictionnaire des allergènes. 3^{ème} éd. Paris; 2002. p. 61-2.
- [37] C. Gallena, J. Plab, Allergie et intolérance aux additifs alimentaires, Allergy and intolerance to food additives, s13

[38] <http://www.avenir-bio.fr/additif,E131,bleu-patente-v-food-blue-5-sulphan-blue.html>

[39][PDF] Commission des Communautés européennes (1995) Directive 95/45/CE établissant des critères de pureté spécifiques pour les colorants pouvant être utilisés dans les denrées alimentaires JO L 226 du 22.9.199 p. 1-42

[40] A. Anliker, *Ecotoxicol. Environ.Safety*, vol 3, pp 59-74. (1979)

[41] K.T.Chung., G.E. Fulk., A.W. Andrew, *Appl. Environ. Microbiol.*,vol 42, pp 641-648. (1981)

[42] H. Zollinger. *Color Chemistry – syntheses, proprieties and applications of organic dyes and pigments*. VCH Publications, New York, N.Y(1991)

[43] Jean Lederer. *Encyclopédie de l'hygiène alimentaire Tome IV Edition Nauwewearts. Malone S.A. Edition (1986).*

[44] Mc Cann D, Barret A, Cooper A, Crumpler D, Dalen L, et al. Food additives an hyperactive behaviour in 3-years-old and 8-9 years-old children in the community : a randomised, double blinded, pacebocontrolled trial. *Lancet* 2007;370(9598):1560-156.

[45] Asero R. A strange case of « tuna allergy ». *Allergy* 1998;53:816-7.

[46] Wirchow C, Szczeklik A, Bianco S, Schmitz-Schumann M, Juhl E, et al. Intolerance to tartrazine in aspirine-induced asthma: results of a multicenter study. *Respiration* 1988; 53(1):20-3.

[47] Dutau G. Tartrazine : un risque d'intolérance ou d'allergie largement surévalué ? *Pédiat.Prat* 2013; 2012;237:15.

[48] Pestana S, Moreira M, Olej B. Safety of ingestionof yellow tartrazin by double blind placebocontrolled challenge in 26 atopic adults. *Allergol et Immunopathol* 2010;38(3):142-6.

[49] HAINQUE B. BRUNO B. ET PHILIPPE L, 2008- appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire.

[50] Pr. Franck DENAT,Chromatographie,p4,pdf.

[51] ANDRIA MIALIHARISOA R.F., 2011- Metabolites secondaires particuliers des feuille de cinq populations de mascarocoffea Et des endophytes des feuilles de CoffeaspA315, mémoirede magiter, Université D' Antananarivo.

[52] HAINQUE B. BRUNO B. ET PHILIPPE L. 2008- appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire.

[53] www.mn-net.com/ccm

[54] 1ère ES/L – Sciences Physiques et Chimiques Chapitre 3,1ère Partie : Représentation visuelle Document 1, Extraction de pigments et colorants, La chromatographie

[55] MariePauleBassez, NOTIONS FONDAMENTALES DE CHROMATOGRAPHIE,pdf

[56] [vcorbex.pagesperso-orange.fr/spécialité /chimie/TP2.pdf](http://vcorbex.pagesperso-orange.fr/spécialité/chimie/TP2.pdf)

[57] SELLES Chaouki, Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen *Anacycluspyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H_2SO_4 0.5M, Doctorat d'état. 30 Juin 2012,p68

[58] Fatima Zahra BENOMARI, CARACTERISATION CHIMIQUE ET ACTIVITES BIOLOGIQUES DES VOLATILS DE *Menthaaquatica*L. (DOMRANE) DE L'OUEST ALGERIEN, Mémoire de master. 27/05/14,p12

[59] S. Sutour, "Etude De La Composition Chimique D'huiles Essentielles Et D'extraits De Menthe De Corse Et De Kumquats," Université De Corse, 2010.

[60] <http://www.lachimie.fr/analytique/chromatographie/CPG/CPG.php>

[61] www.sciences-physiques-au-lycee.net/Ressources/1520928620.pdf

[62] HAINQUE B. BRUNO B. ET PHILIPPE L. 2008- appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire.

[63] Adlen, B., 'Etude phytochimique et de la phase butanolique de l'espèce *Inulacrithmoides*. Université Mentouride Constantine, faculté des sciences exactes ,mai 2008

L'annexe

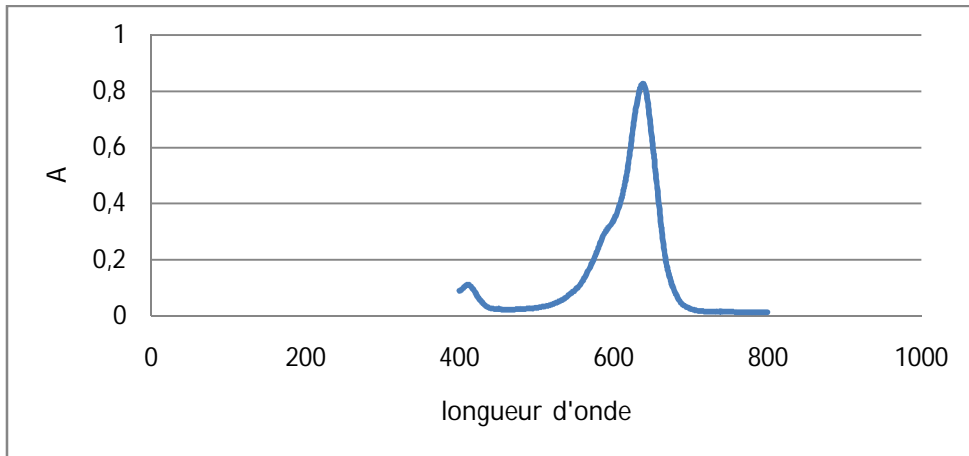


Figure31 : Spectre d'absorption du bleu patenté

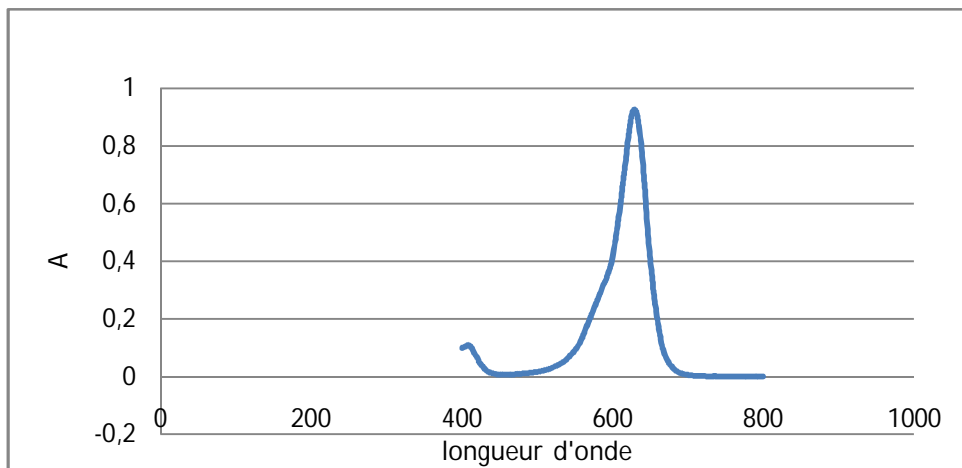


Figure32: Spectre d'absorption du bleu brillant

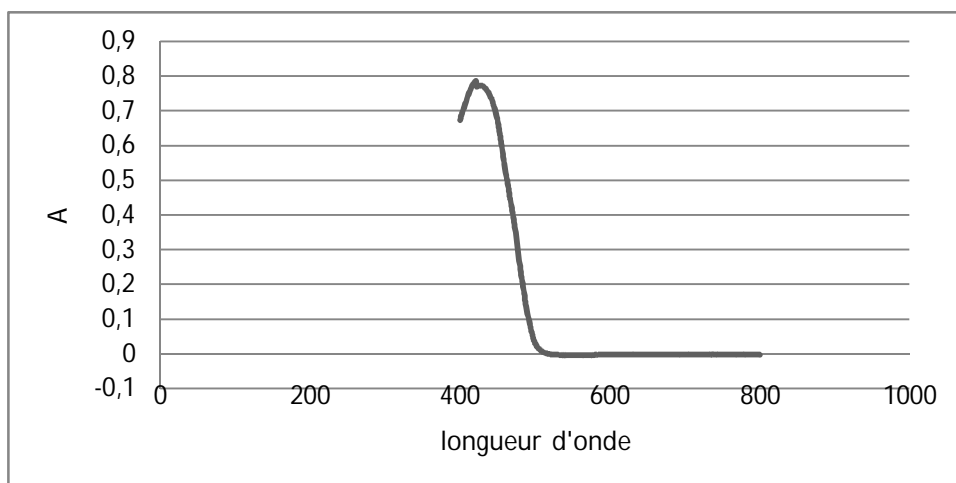


Figure 33 : Spectre d'absorption du jaune de tartrazine

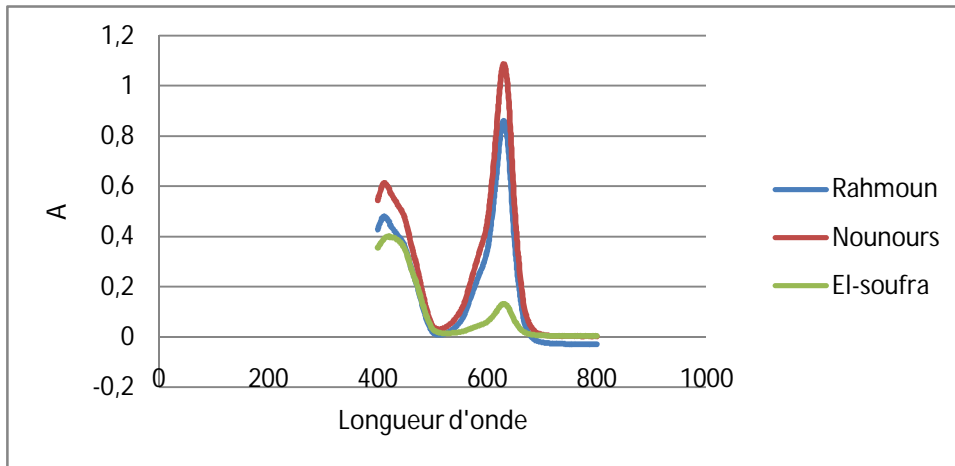


Figure 34: Spectres d'absorption des trois sirops dilués (Rahmoun, Nounours et El-soufra)

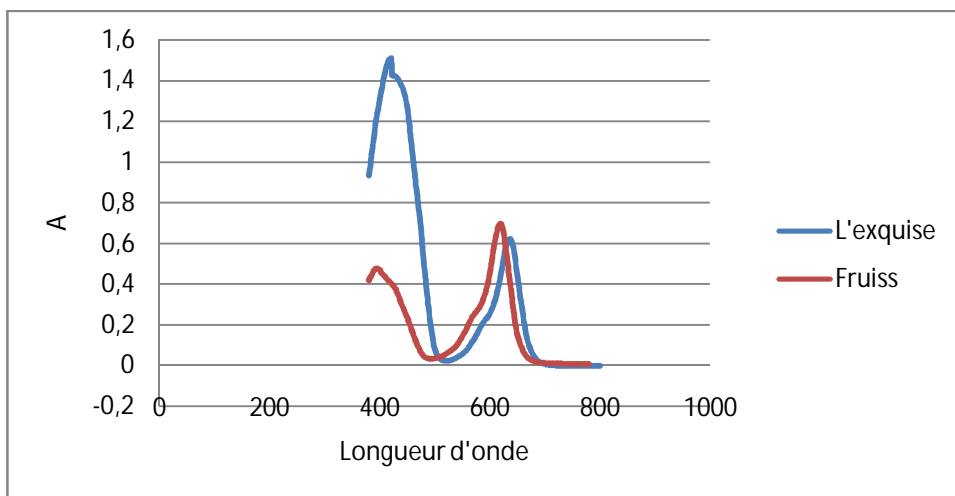


Figure 35: Spectres d'absorption des deux sirops dilués (L'exquise et Fruiss)

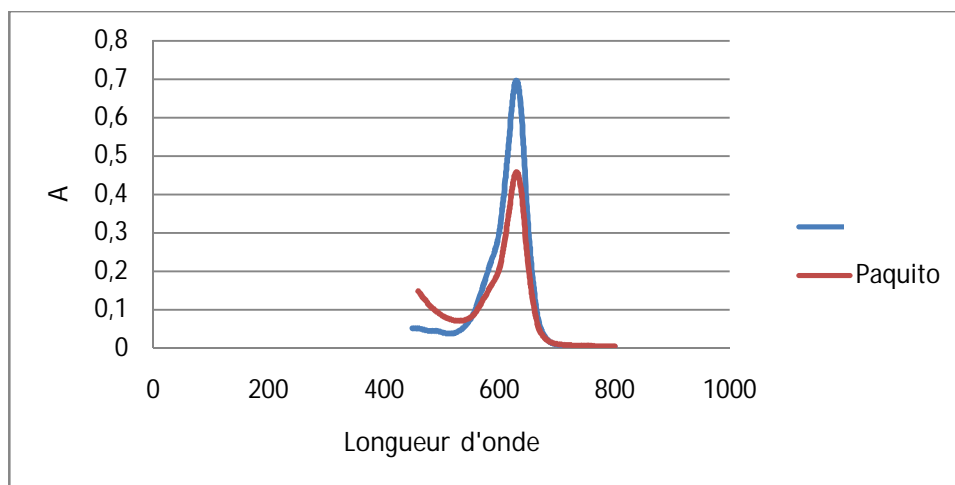


Figure 36 : Spectres d'absorption des deux sirops dilués (Paquito et Teisseire)

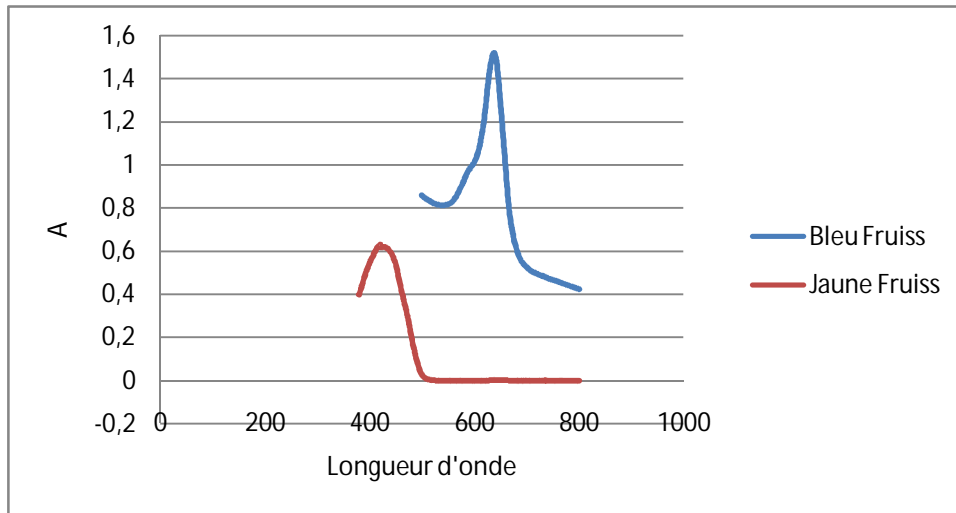


Figure 37: Spectres d'absorption des deux extraits bleu et jaune du sirop Fruiss

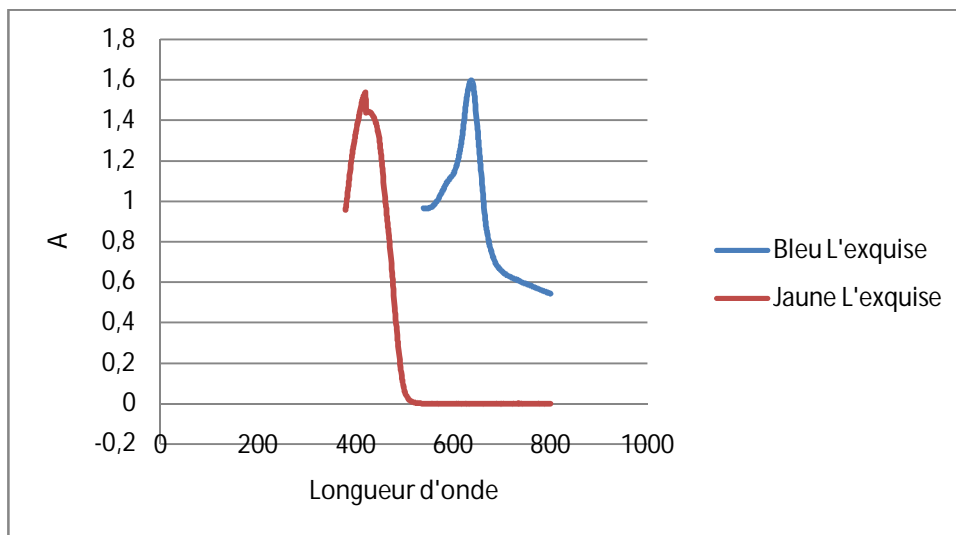


Figure 38: Spectres d'absorption des deux extraits bleu et jaune du sirop L'exquise

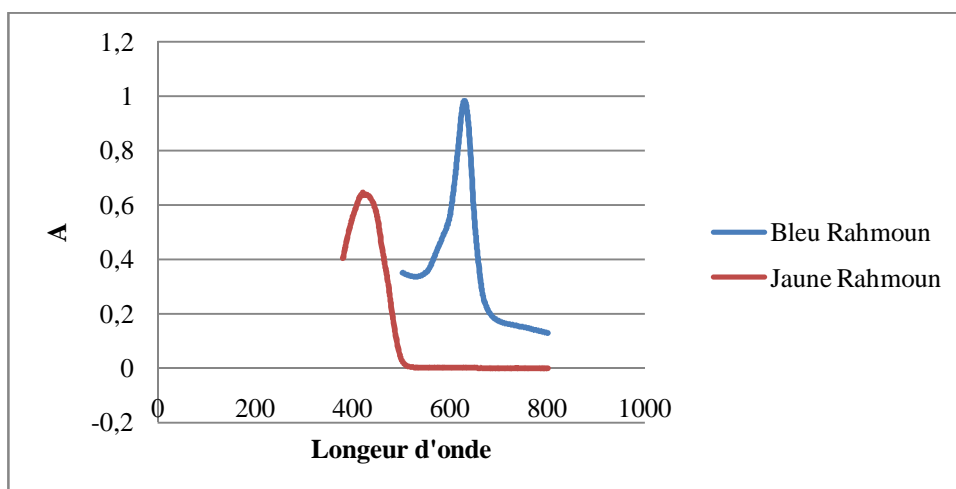


Figure 39: Spectres d'absorption des deux extraits bleu et jaune du sirop Rahmoun

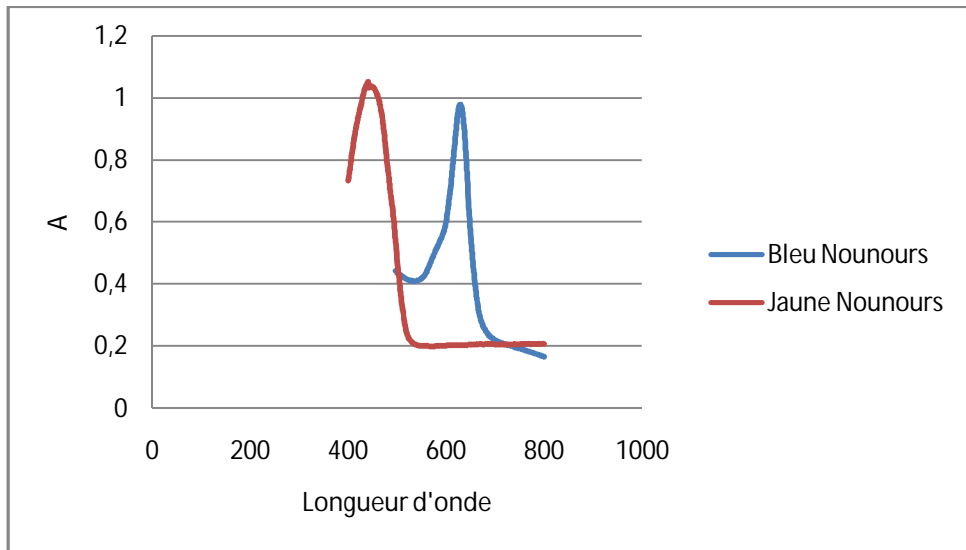


Figure 40: Spectres d'absorption des deux extraits bleu et jaune du sirop Nounours

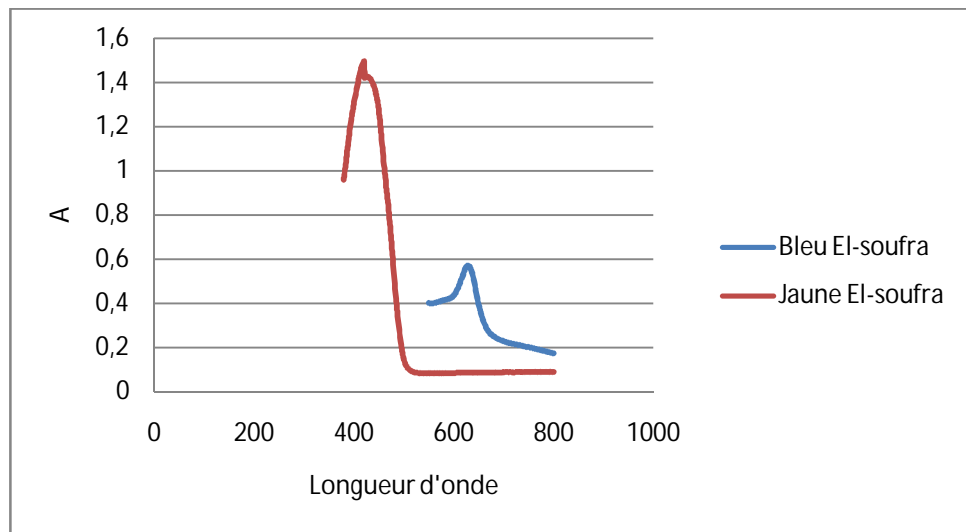


Figure 41: Spectres d'absorption des deux extraits bleu et jaune du sirop El-soufra

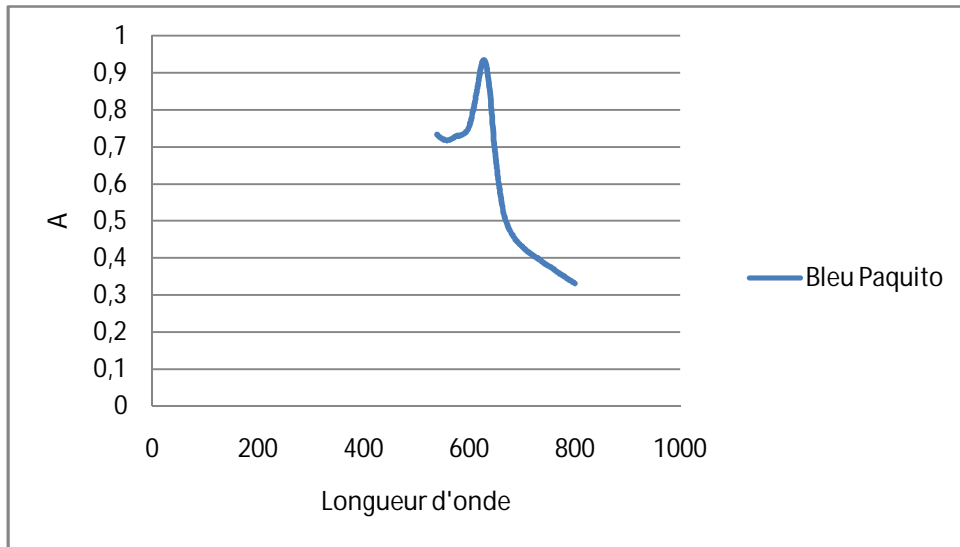


Figure 42 : Spectre d'absorption de l'extrait bleu du sirop Paquito

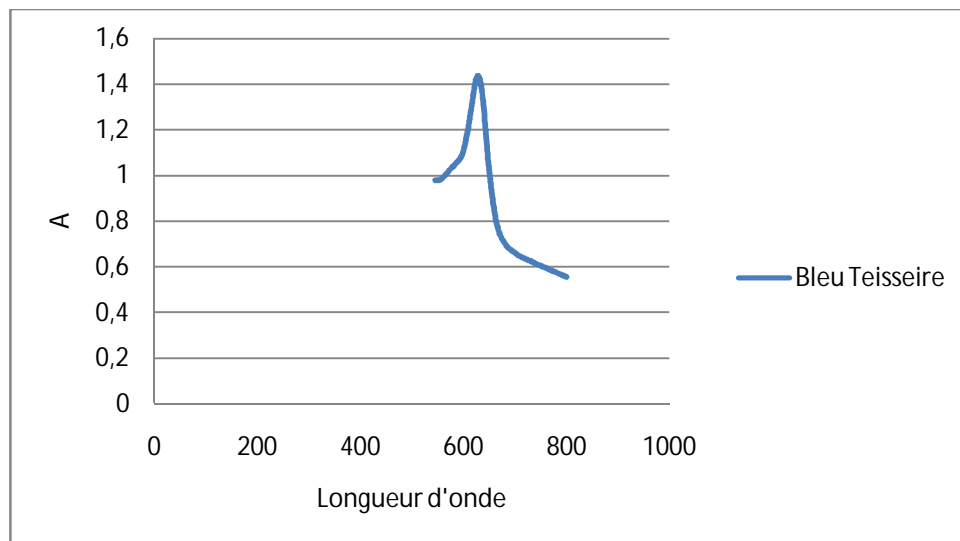


Figure 43: Spectre d'absorption de l'extrait bleu du sirop Teisseire

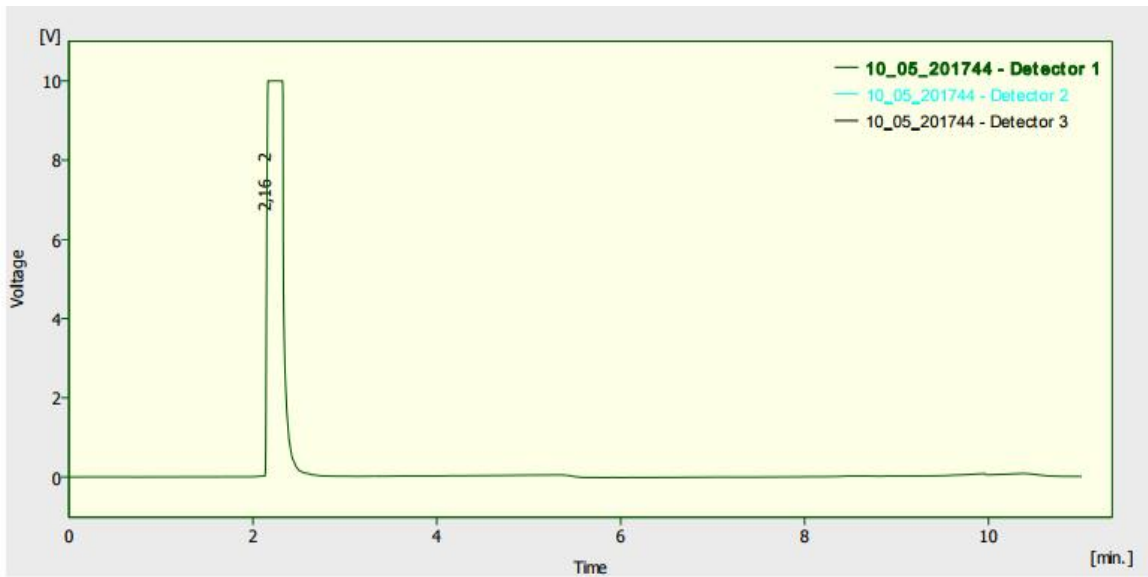


Figure 44 : CPG du menthol

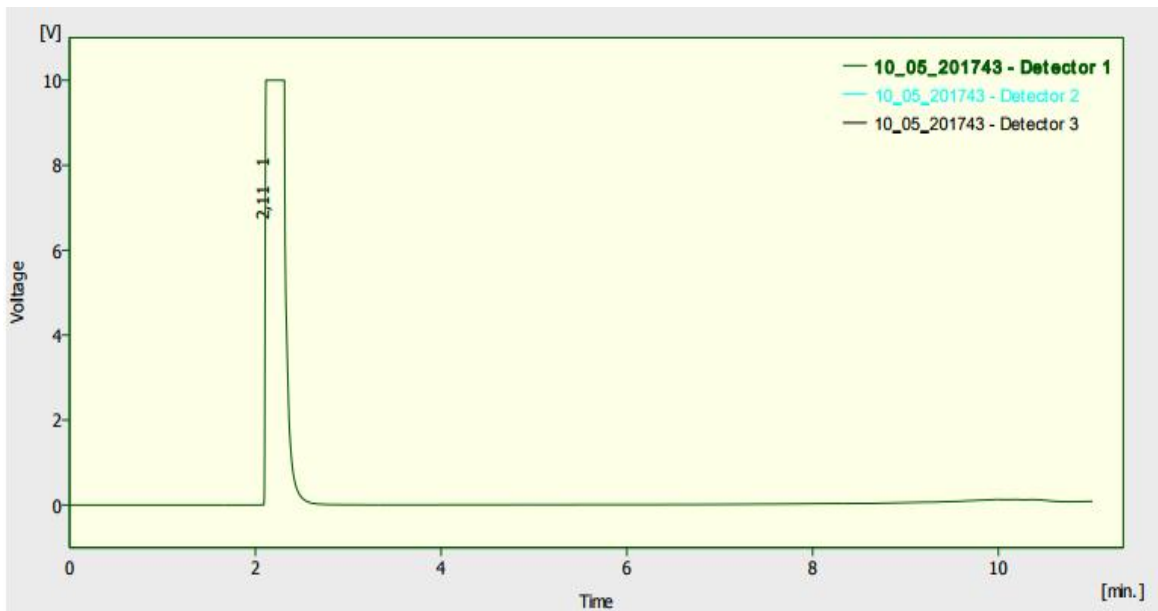


Figure 45 : CPG de la menthone

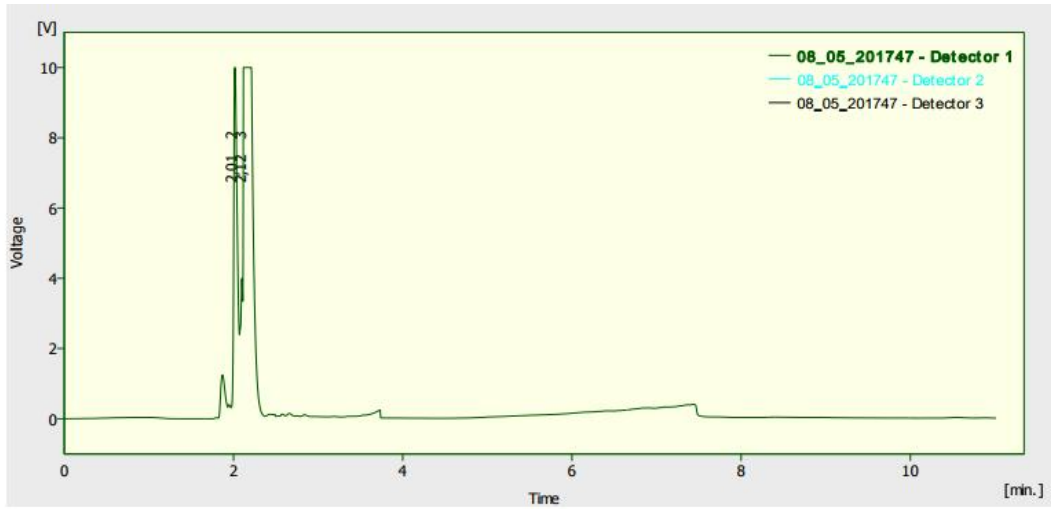


Figure 46 : La CPG de l'arome du sirop Fruiss

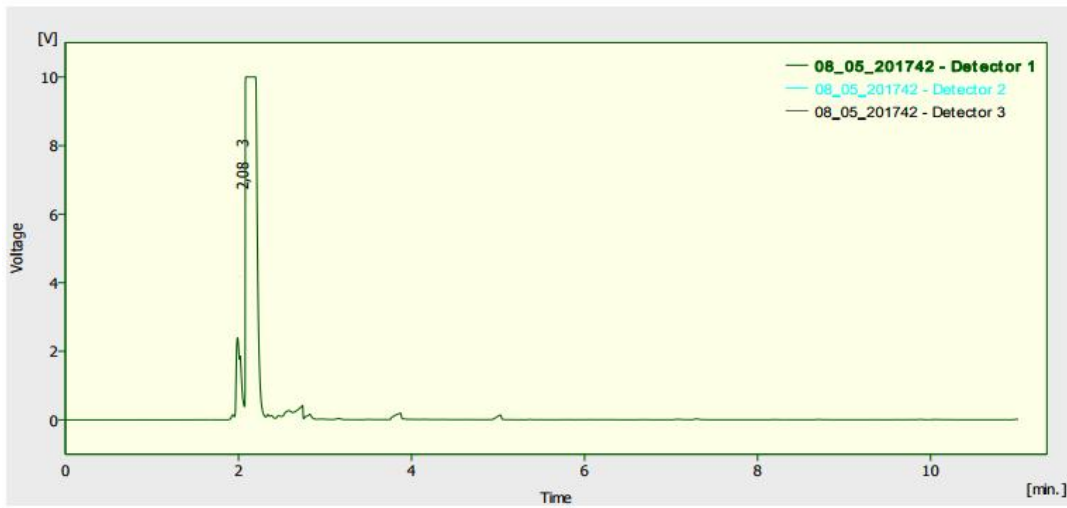


Figure 47 : CPG de l'arome du sirop L'exquise

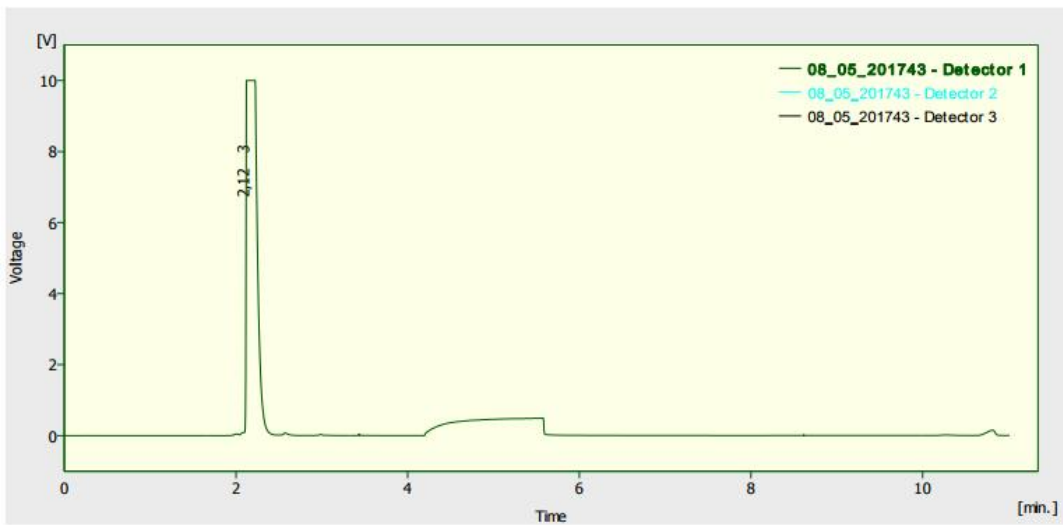


Figure 48 : CPG de l'arome du sirop Rahmoun

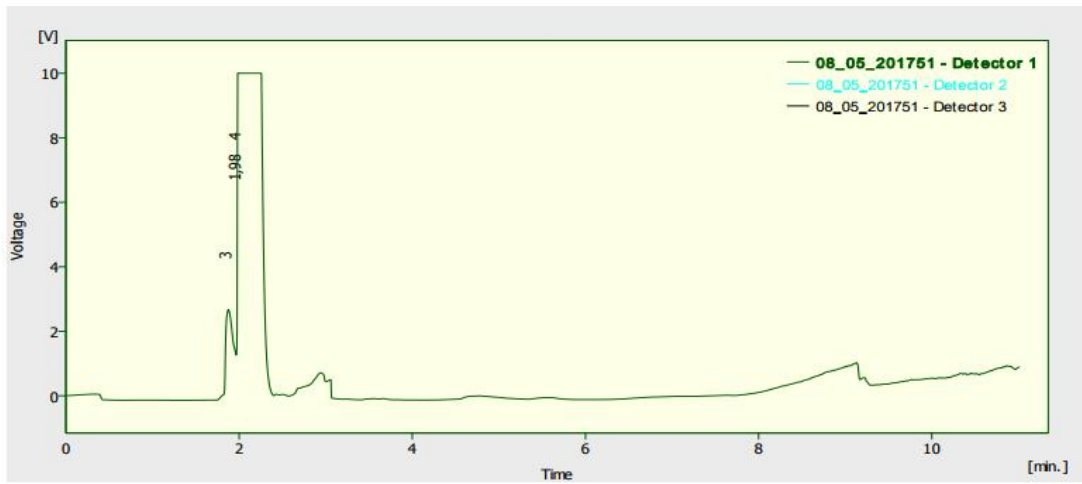


Figure 49 : CPG de l'arome du sirop Nounours

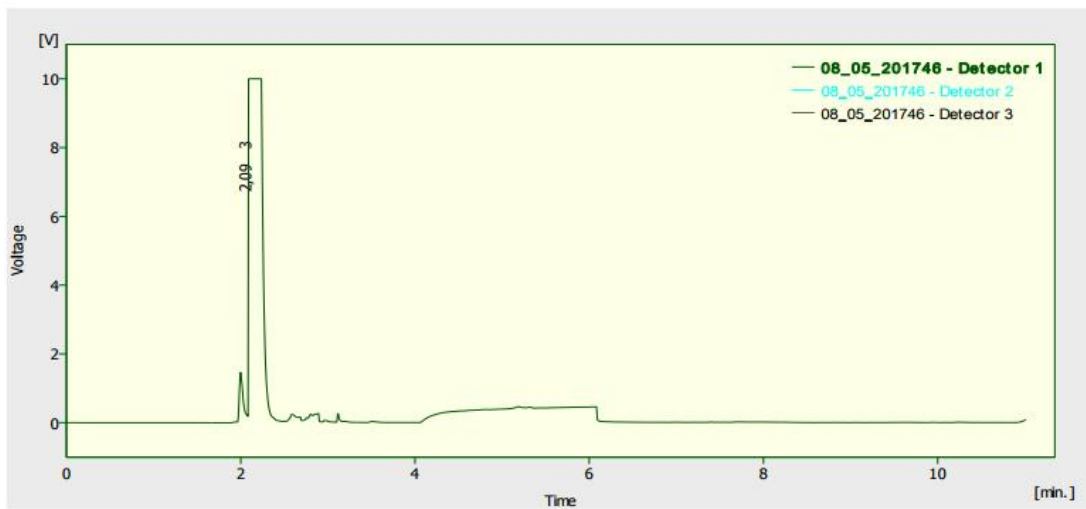


Figure 50: CPG de l'arome du sirop El-soufra

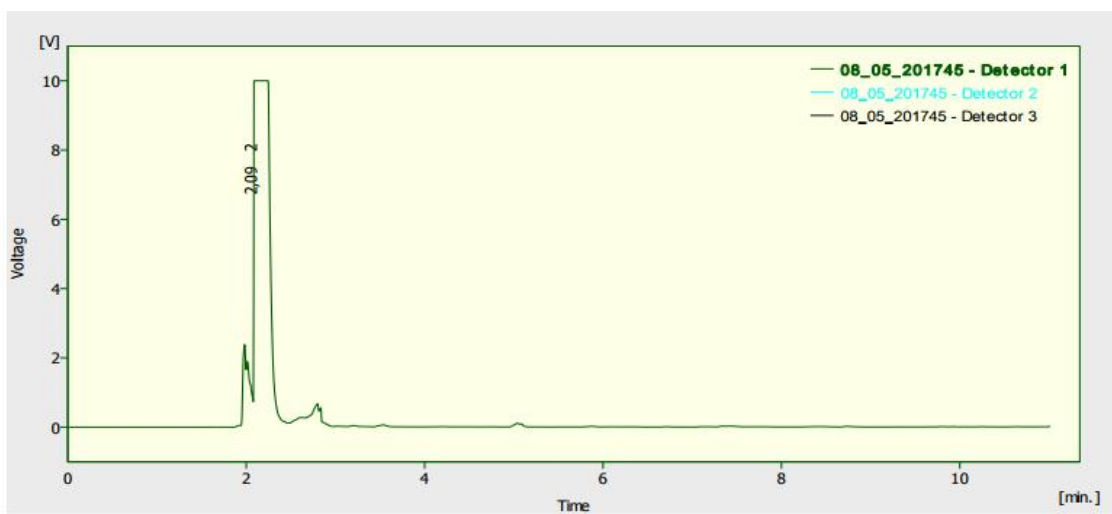


Figure 51 : CPG de l'arome du sirop Paquito

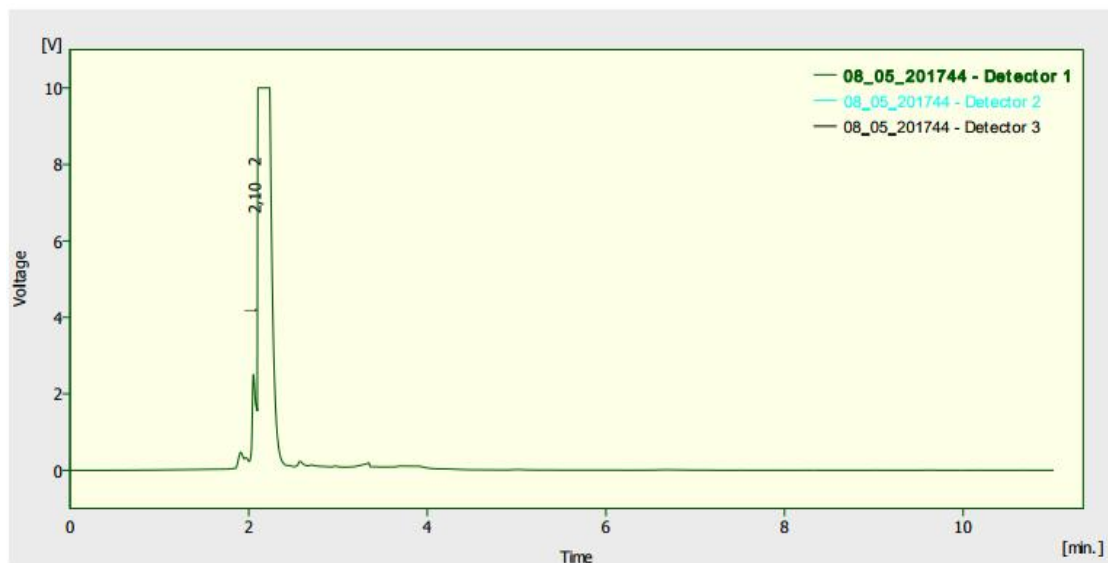


Figure 52 : CPG de l'arome du sirop Teisseire

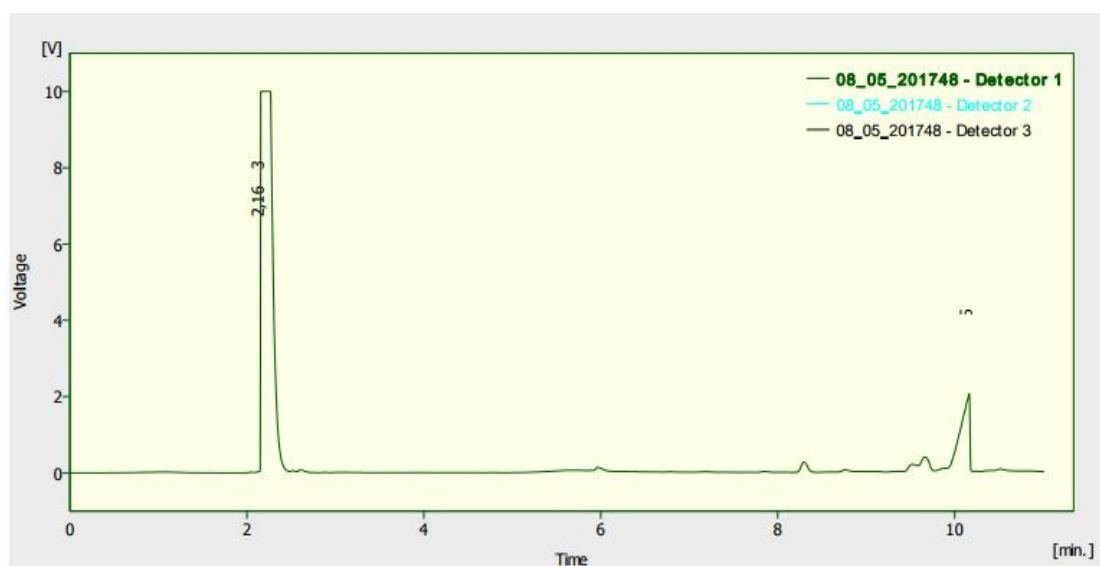


Figure 53 : CPG de l'huile essentielle de menthe