

Faculté des Sciences
Département de Chimie
Laboratoire de Recherche



Spectrochimie et Pharmacologie Structurale

MEMOIRE DU MASTER EN CHIMIE

Option : Chimie Physique et Analytique

Académique

**Détermination de la capacité antioxydante des huiles
végétales : Huile Afia**

Présenter par : Chekroun Nabila

Date : 12 /09/2013

Membres de Jury :

	Noms et Prénoms	Grade	Université ABB Tlemcen
Président	ZIANI CHERIF C.	Professeur	U .A .B .Tlemcen
Examinatrice	NEGADI L.	Professeur	U .A .B .Tlemcen
Examineur	SELLES C.	CC	U .A .B .Tlemcen
Examineur	DJELLOULI O.	Maitre assistant	U .Bechar
Encadreur	DAHMANI B.	Professeur	U .A .B .Tlemcen

Année Universitaire 2012/2013

Dédicaces

A mes chers parents

A mon mari

A mes chers frères

A toute ma famille.

A tous mes amis

Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Recherche en Spectrochimie et Pharmacologie Structurale à l'Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Sous la direction du professeur et le directeur du laboratoire monsieur Dahmani Benamare, que Je tiens tout d'abord à adresser mes remerciements les plus sincères

Je n'oublie pas de remercier Mr Djellouli Omar d'avoir assister pour examiner et juger ce travail et sa permanente disponibilité, la pertinence et la qualité de ses conseils et avis sur les travaux que j'ai pu mener. Je tiens à lui exprimer mes plus vifs remerciements.

Je tiens à remercier également l'ensemble des membres de mon jury, Mr ZIANI CHERIF Charif en tant que président de jury, Melle NEGADI Latifa et Mr SELLES Chouki pour avoir mobilisé de leur temps pour examiner et juger ce travail, en tant qu'examineurs.

Enfin, J'en viens à remercier les personnes qui se tenaient à côté de moi et ma pris en charge : mon mari, ma mère, mon père, mes frères. Je leurs dédie ce travail et les remercie sincèrement pour le soutien sans faille et l'affection qu'ils m'ont accordés durant cette période

Nabila

Sommaire

Introduction	01
CHAPITRE I : Etude Bibliographique	05
I. LIPIDES	06
1. Définition des lipides	06
2. Classification des lipides	06
3. Composition des lipides	06
3.1. Les constituants majeurs	06
3.1.1. Triglycérides	07
3.1.2. Acides gras	07
3.2. Les constituants mineurs	08
4. Rôles biologiques de quelques lipides	08
5. Principales sources des lipides	08
II. Les huiles végétales	
1. Historique	10
2. Définition de quelques huiles de consommation humaine	10
3. Les huiles alimentaires	10
4. Différents types d'huiles en bouteille	11
5. Composition nutritionnelle des huiles	12
6. Caractéristiques de quelques huiles	12
7. Composition chimique des huiles végétales	13
8. Les huiles alimentaires	14
9. Les différentes huiles commercialisées en Algérie et leur composition	14
III. L'huile AFIA	15
1. L'huile de maïs	15
1.1. Définition	15
1.2. Origine et composition	16
1.3. Propriétés	17
2. L'huile de soja	17
2.1. Définition	17
2.2. Origine	17

2.3.	Composition de l'huile de soja	18
2.4.	Propriétés	19
IV. Procédés de fabrication des huiles		
1.	Extraction des huiles	19
1.1.	Obtention de l'huile brute	19
1.2.	Pressage des huiles	22
1.3.	Production industrielle	23
2.	Raffinage des huiles	24
2.1.	Raffinage chimique	25
2.2.	Le raffinage physique	26
3.	Critères de qualité	26
3.1.	Définition	26
3.2.	Critères organoleptiques	27
3.3.	Les indicateurs d'oxydation	27
3.3.1.	L'indice d'acide	28
3.3.2.	L'indice d'iode	28
3.3.3.	L'indice de peroxyde	28
3.3.4.	Coefficients d'absorption spécifique	28
4.	Techniques instrumentales d'analyse de l'huile	30
4.1.	La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	30
4.1.1.	Principe	30
4.1.2.	LA PHASE MOBILE	30
4.1.3.	Choix du solvant	31
4.1.4.	La chromatographie liquide de haute performance en phase inverse	32
5.	La spectrophotométrie UV-Visible	32
5.1.	Mesure expérimentale de l'absorbance	33
5.2.	Loi de Lambert-Beer	33
V. Les antioxydants		
1.	Les radicaux libres	34
2.	Principaux radicaux libres	34
3.	Rôle des radicaux libre	35
4.	Antioxydants	35
4.1.	Définition	35
4.2.	Utilisation des antioxydants	36
4.3.	Classification des antioxydants	36
4.4.	Tocophérols (vitamine E)	37
4.4.1.	Propriétés physico-chimiques de la vitamine E	39
4.4.2.	Rôle de la vitamine E	40
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES		
1.	Echantillonnage	42

2. Détermination des caractéristiques physico-chimiques	42
2.1. Acidité	42
2.1.1. Dosage	42
2.2. Indice de peroxyde	43
2.2.1. Dosage	43
2.3. Analyse spectrophotométrique dans l'ultra-violet	44
3. Analyse par chromatographie liquide haute performance «HPLC» en phase inverse	45
3.1. Principe de la méthode	45
3.2. Analyse quantitative	49
3.3. Principe de l'étalonnage externe	49
3.3.1. Préparation de la solution mère	50
3.3.2. Préparation des solutions étalon	52
3.3.3. Traitement des échantillons	52
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	55
1. Analyses chimiques	55
1.1. Paramètres analytiques	55
1.1.1. Acidité	55
1.1.2. Indice de peroxyde	55
1.1.3. Absorbances aux rayonnements UV	56
1.2. L'analyse de l' -tocophérol	60
1.2.1. Identification du pic de l' -tocophérol dans l'huile AFIA avec l'étalon pure et L'échantillon dopé	60
1.2.2. la droite d'étalonnage externe	60
2. Résultats de l'analyse RP- HPLC des échantillons	62
Conclusion	65
Références bibliographiques	67

Liste des abréviations

A : Acidité

ACN : Acétonitrile

AG : Acide gras

AGE : Acides gras essentiels

AGI : Acide gras insaturé

AGMI : Acide gras mono insaturé

AGPI : Acide gras poly insaturé

AGS : Acide gras saturé

BHT : butylhydroxytoluene

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

II : Indice d'iode

IP : Indice de peroxyde

MeOH : Méthanol

Nm : Nanomètre

PL : Les phospholipides

RP-HPLC: Chromatographie liquide de haute performance en phase inversée

UV : ultraviolet

Liste des figures

Figure 1.1: triglycéride	7
Figure 1.2 : Différentes huiles commercialisées en Algérie	14
Figure 1.3 : Aspect général de la plante de maïs et le fruit qui contient les graines.	16
Figure 1.4 : Aspect général de la plante de soja et le fruit qui est une gousse qui contient les graines.	18
Figure 1.5: Etapes de l'extraction de l'huile brute (Mustapha et Stauffer, 2002).	20
Figure 1.6 : Schéma de raffinage (Xavier, 2012)	24
Figure 1.7 : Principe de mesure de l'atténuation du rayonnement	33
Figure 1.8 : Structure de la vitamine C	37
Figure 1.9 : Formule développée des tocophérols et tocotriénols	38
Figure 2.1 : Description du système RP-HPLC utilisé	45
Figure 3.1 : l'évolution de l'acidité (%) des huiles végétales	55
Figure 3.2 : l'évolution de l'indice de peroxyde (meq O ₂ /Kg) des huiles végétale	56
Figure 3.3 : Spectre d'absorption UV de l'huile AFIA	57
Figure 3.4 : Spectre d'absorption UV de l'huile LABELLE	57
Figure 3.5 : Spectre d'absorption UV de l'huile de maïs	58
Figure 3.6 : Spectre d'absorption UV de l'huile de soja	58
Figure 3.7 : Identification du pic de l' α -tocophérol	60
Figure 3.8 : Droite d'étalonnage interne.	62
Figure 3.9 : Teneur des tocophérols dans les huiles végétales.	63

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : les principales graines et fruits oléagineux (NJUSSA, 1999).	11
Tableau 1.2 : Caractéristiques physiques de quelques huiles	12
Tableau 1.3 : Pourcentage des acides gras dans quelques huiles végétales (Harwoode Aparico ,2000)	13
Tableau 1.4 : Les différentes compositions des huiles alimentaires fabriquées en Algérie	15
Tableau 1.5 : Composition en acides gras l'huile de maïs	17
Tableau 1.6 : composition en acide gras de l'huile de soja	19
TABLEAU 1.7 : aspects de quelques huiles végétales (NDEYE, 2001)	27
TABLEAU 1.8 : Caractéristiques de la qualité des l'huiles végétales	29
Tableau 1. 9 : Structure des tocophérols et des tocotriénols (Wendy, 1996)	38
Tableau 1.10 : Teneurs en tocophérols et Tocotriénols ($\mu\text{g/g}$) dans les principales huiles végétales (DEMIR, C, 1999)	39
Tableau1.11 : Teneurs en tocophérols ($\mu\text{g}/100\text{g}$) dans quelques principales huiles végétales (Carol Kohler et al ,2001)	40
Tableau 3.1 : résultats des paramètres analytiques.	59
Tableau 3.2 : Résultats de l'analyse UV des solutions	61
Tableau 3.3 : Résultats de l'analyse HPLC des solutions étalons	61
Tableau 3.4 : Résultats de l'analyse RP- HPLC des échantillons.	62

INTRODUCTION

Les huiles et graisses végétales jouent un rôle majeur dans notre alimentation ; nous les consommons directement sous forme d'huile raffinée ou vierge, ou bien indirectement via de nombreux produits de l'industrie agroalimentaire. Le consommateur que nous sommes, se montre de plus en plus exigeant en termes de qualité ; la sécurité alimentaire et les aspects nutritionnels sont au centre des préoccupations sociétales actuelles.

Les huiles végétales offrent un large choix tant au niveau du goût, de l'utilisation, du prix, que de la qualité. Quelle que soit l'huile, la teneur lipidique reste identique. La différence entre les diverses huiles réside dans la qualité des acides gras qui les composent. Selon leur nature, elles sont plus ou moins riches en certains acides gras polyinsaturés qui sont dits "essentiels" car notre organisme ne peut pas les synthétiser. Elles constituent également la meilleure source de vitamine E connue pour ses propriétés antioxydantes

Notre organisme a besoin de lipides pour un bon fonctionnement. Ils lui apportent les acides gras qui ne peuvent pas être transmis. Si nous écartons les graisses de notre alimentation, notre corps peut se trouver dans une situation de déséquilibre nutritionnel. A l'inverse, une consommation excessive de graisses est nuisible. Les lipides devraient apporter environ un tiers de notre énergie quotidienne.

Les huiles végétales sont constituées à 99 % de triglycérides et d'acides gras. Les Composants mineurs sont la vitamine E, les phytostérols, les caroténoïdes, les phénols etc. Les acides gras sont des molécules organiques en fonction du nombre d'atomes de carbone et de la nature des liaisons entre eux. Les huiles alimentaires sont des huiles végétales comestibles, fluides à la température de 15 °C, elles sont constituées d'environ 99% de triglycérides, de lécithines et de vitamine E qui les protège contre l'oxydation.

Chaque huile est caractérisée par sa composition en acides gras de l'espèce végétale dont elle est extraite

Une huile végétale renferme en général plus de 99 % de lipides. Ni glucides, ni protéides, très peu ou pas de cholestérol. Elles possèdent donc toute la même valeur énergétique. Là où elles diffèrent, c'est dans leur composition en acides gras et quelques vitamines et antioxydants liposolubles complètent le pourcentage restant.

Parmi les principaux composés mineurs c'est la vitamine E, qui fait partie de la famille des tocophérols, nom proposé pour la première fois en 1936 par Evans et collaborateurs.

La vitamine E est un antioxydant biologique des acides gras polyinsaturés qui agit principalement au niveau des membranes et des lipoprotéines, par piégeage des radicaux libres. Elle aide à prévenir le vieillissement cutané.

D'autres actions sont citées pour la vitamine E :

- intervention dans la prévention de certains cancers,
- stimulation de la réponse immunitaire chez les personnes âgées,
- réduction du risque de cataracte et retard de la progression des maladies neurovégétatives.

Elle existe sous huit formes, quatre tocophérols et quatre tocotriénols. La forme la plus active est l' α -tocophérol que l'on rencontre le plus fréquemment dans la nature.

Elle est reconnue comme antioxydant, grâce à sa capacité à inhiber les peroxydations lipidiques. A cet égard, elle participe avec nombreuses autres substances, à la lutte contre les formes réactives de l'oxygène, c'est-à-dire la lutte contre les radicaux libres et les éléments non radicalaires produits lors de la formation des radicaux libres.

C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail dont l'objectif est de caractériser ces huiles alimentaires par leur teneur en α -tocophérol en fonction de l'espèce végétale dont elle est extraite et le développement de la chromatographie liquide à haute performance au cours de ces dernières années a en effet permis d'ouvrir de nouveaux horizons pour la conception de méthodes très spécifiques pour le dosage de cette vitamine.

Cette étude est constituée de trois parties :

Tout d'abord, la première partie qui est la bibliographie qui comprend les lipides et en deuxième partie les caractéristiques physico-chimiques de l'huile végétale ainsi que sa composition et leur technique d'extraction et raffinage. La troisième partie présente les techniques instrumentales d'analyse des huiles et la quatrième partie présente les antioxydants et les propriétés de la vitamine E.

Dans la partie matériels et méthode, on a présenté la préparation des échantillons et la méthode d'analyse utilisée dans ce travail, le dosage de la vitamine E par la chromatographie liquide à haute performance.

La partie consacrée à la présentation des résultats et à la discussion est divisée en deux paragraphes, l'un montre les résultats relatifs aux caractéristiques physicochimiques et l'autre évoquera les résultats relatifs au dosage de la vitamine E dans des échantillons d'huile alimentaire d'Algérie par la chromatographie liquide à haute performance.

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les lipides

1. Définition

Alors que la plupart des familles de molécules de base, du monde vivant sont définies par leurs structures chimiques, les lipides (du grec *lipos*, graisse) sont caractérisés par une propriété physique : la solubilité. Ce sont des composés à solubilité nulle ou faible dans l'eau mais par contre élevée dans les solvants organiques non polaires (méthanol, chloroforme, cyclohexane, éther éthylique, acétone...). Les termes d'huiles, beurres, graisses, cires ne désignent que leur état physique liquide ou solide à la température ambiante.

Un lipide est une molécule :

- soit complètement apolaire (lipide neutre)
- soit bipolaire, molécule amphiphile (ou amphipathique), avec une tête polaire liée à une chaîne fortement apolaire (queue).

2. Classification

Basée sur leur structure chimique, on distingue :

- Les acides gras
- Les glycérolipides : glycérides et glycérophospholipides
- Les sphingolipides : amides de la sphingosine
- Les cériques : esters d'alcools à nombre élevé de carbone
- Les stérides : esters de stérol
- Les lipides isopréniques comprenant : Les carbures isopréniques ; les stérols et stéroïdes et les quinones et vitamines liposolubles

3. Composition des lipides

Les **lipides** sont essentiellement constitués de triglycérides (99%) et de constituants mineurs (1%) (ANNEXE1).

3.1. Les constituants majeurs

Ce sont les triglycérides et les acides gras qui peuvent être :

- saturés (AGS), qui ne contiennent aucune double liaison,

- mono-insaturés (AGMI), contenant une seule double liaison (insaturation),
- polyinsaturés (AGPI), contenant deux, trois (ou plus) doubles liaisons (insaturation).

3.1.1. Triglycérides

Les triglycérides sont des triesters de glycérol. Ce sont les constituants les plus abondants des lipides et la masse essentielle des corps gras. Ils résultent de l'estérification des trois fonctions alcools du glycérol par trois acides gras. Ils peuvent être homogènes lorsque les molécules d'acides gras qui estérifient le glycérol sont identiques et hétérogène ou mixte dans le cas contraire.

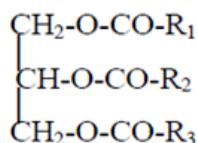


Figure 1.1: triglycéride

Les radicaux R1, R2 et R3 sont des chaînes carbonées linéaires.

3.1.2. Acides gras

Les acides gras peuvent exister à l'état libre dans la nature. Ce sont des composés organiques à base de carbone d'hydrogène et d'oxygène, ils sont formés d'une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue et d'un groupe carboxyle.

La chaîne aliphatique hydrocarbonée peut être saturée ou peut présenter une ou plusieurs doubles liaisons, donc les acides gras diffèrent entre eux par la longueur de leur chaîne aliphatique, le nombre et la localisation des doubles liaisons éventuelles.

- **Acides gras saturés (AGS).**

Les acides gras saturés les plus fréquents dans notre alimentation sont l'acide palmitique (C16:0) et l'acide stéarique (C18 :0), apportés surtout par les produits animaux et l'huile de Palme. Les produits laitiers apportent aussi des acides butyriques et des acides myristique et laurique, également présents dans certaines graisses végétales (cophrah, palmiste).

- **Acides gras mono-insaturés (AGMI).**

Les acides gras mono-insaturés (AGMI) comportent deux familles, n-7 et n-9 dont le représentant principal très répandu est l'acide oléique (C18:1) que l'on trouve dans les huiles végétales (olive, colza, ...) et dans les produits animaux.

- **Acides gras poly-insaturés (AGPI).**

Les acides gras linoléiques (oméga 6) et alpha-linolénique (oméga 3) sont essentiellement apportés par les huiles végétales. Il est indispensable que l'homme se procure ces acides gras par son alimentation car son organisme est incapable de les fabriquer. Ils constituent à ce titre des acides gras essentiels (AGE).

- **L'acide linoléique (oméga 6)**

C'est l'acide principal dans l'huile de pépins de raisin, de tournesol, de soja, de noix, de maïs et de germe de blé. A l'heure actuelle, notre alimentation en apporte suffisamment. En effet, en plus des huiles, on en trouve dans tous les produits animaux terrestres et dans le lait maternel.

- **L'acide -linoléique (oméga 3)**

Moins répandu, on le trouve dans certains fruits oléagineux (noix) et dans les huiles de colza, de noix, de soja et de lin. Contrairement à l'acide linoléique 6, l'alimentation actuelle apparaît déficitaire en acide -linoléique.

3.2. Les constituants mineurs

Ils sont de nature diverse et comprennent les phospholipides, les lipides complexes, et les constituants non glycéridiques tels que la vitamine E (-tocophérol), les phytostérols (matières grasses végétales) ou le cholestérol (matières grasses d'origine animale), les caroténoïdes (-carotène ou provitamine A), les phénols, ...etc. (Annexe1).

4. Rôles biologiques de quelques lipides

Les lipides naturels jouent de nombreux rôles dans le monde vivant :

- 1) réserves intracellulaires d'énergie
- 2) matériaux de structure
 - couches de protection de cellules
 - composants des membranes biologiques
- 3) molécules en concentration faible qui peuvent être :
 - des précurseurs d'activité biologique (hormones stéroïdes, médiateurs)
 - Extracellulaires et messagers intracellulaires, vitamines liposolubles... (kessous, 1987)

5. Principales sources des lipides

Les principales sources des lipides sont :

- Les huiles végétales (arachide, olive, tournesol, maïs...) qui contiennent des AGS et des AGI à chaîne moyenne ou longue, en proportion variable selon l'origine.
- Les graisses végétales (palme, palmiste, coco, karité) qui contiennent surtout des AGS à chaîne courte ou moyenne.
- Les graisses animales qui sont soit apparentes ou visibles (beurre, saindoux, suif), soit cachées ou invisibles (car faisant partie intégrante de la viande).

Ces graisses animales contiennent surtout des AGS sous forme complexe. Il existe d'autres types de lipides dont les plus connus sont: le cholestérol présent dans les graisses d'origine animale et, que le foie est capable de synthétiser, les lécithines présentes en particulier dans le jaune d'œuf très utilisées dans l'industrie alimentaire (Renet, O. 1979).

Les huiles végétales

1. Historique

L'huile est utilisée depuis des siècles, bien que les premières matières grasses utilisées par l'homme proviennent de la graisse fondue des animaux. La première utilisation de l'huile n'avait pas de vocations alimentaires, il s'agissait bien souvent de combustible servant à l'éclairage.

L'huile est une matière grasse, onctueuse et épaisse, souvent liquide à température ambiante. Une huile végétale renferme en général plus de 99 % de lipides, ni glucides, ni protides et très peu ou pas de cholestérol. Quelques vitamines et antioxydants liposolubles complètent le pourcentage restant (1%).

Elles sont indispensables pour les papilles mais également pour la santé car elles apportent les acides gras nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme. De plus que leur goût et leur prix, les huiles végétales diffèrent par leur composition, d'où l'importance de bien choisir ses produits, surtout pour un usage quotidien.

2. Définition de quelques huiles de consommation humaine

- **Les huiles végétales comestibles:** sont des denrées alimentaires qui se composent essentiellement de glycérides d'acides gras exclusivement d'origine végétale. Elles peuvent contenir en faible quantité d'autres lipides comme les phosphatides, des constituants insaponifiables et les acides gras libres naturellement présents dans la graisse ou l'huile (CODEX ALIMENTARIUS, 1993).

- **Les huiles vierges :** sont obtenues exclusivement au moyen des procédés mécaniques, notamment des traitements thermiques. Elles peuvent avoir été purifiées uniquement par lavage à l'eau, décantation, filtrage et centrifugation (CODEX ALIMENTARIUS, 1993)

- **Les huiles pressées à froid** sont obtenues, sans modification de l'huile, exclusivement par des procédés mécaniques, sans utilisation de procédés thermiques. Elles peuvent avoir été purifiées uniquement par lavage à l'eau, décantation, filtrage et centrifugation

3. Les huiles alimentaires

Les huiles et les graisses alimentaires sont préparées à partir de graines ou de fruits oléagineux, germes ou pépins de production végétale diverse et de tissus adipeux d'animaux terrestres ou marins. On différencie généralement les huiles des graisses par leur point de

fusion. Les huiles sont des corps gras liquides à la température de 15°C alors que les graisses sont plus ou moins solides à cette température (Uzzan, 1984).

Dans la catégorie des huiles, nous trouvons principalement l'huile d'olive, de noix, d'arachide, de tournesol, de soja, de colza, des germes de blé, de maïs et des pépins de raisin. Uzzan X. (1992) a subdivisé les huiles et les graisses alimentaires en plusieurs classes :

- **Huiles végétales fluides** : huile d'arachide, de colza, de germes de maïs, de tournesol, de soja et d'olive.

- **Huiles végétales concrètes** (graisses) : coprah (provenant de la noix de coco), huile de Palme

- **Huiles et graisses d'origine animale** : (animaux terrestres) : saindoux (graisse de porc), suif (graisse de bœuf ou de mouton), huile de cheval et graisse d'oie.

Tableau 1.1 : les principales graines et fruits oléagineux (NJUSSA, 1999).

Nom commun	Nom botanique de la plante	famille	Nom de la matière première
Arachide	<i>Arachis hypogaea</i>	Légumineuses	Graine d'arachide
Carthame	<i>Carthamus tinctorius</i>	Crucifères	Graine de carthame
Colza	<i>Brassica napus</i> var oléifera Metzg	Crucifères	Graine de colza
Coprah	<i>Cocos nucifera</i>	Palmiers	Amande de coprah
Coton	<i>Gossypium arboretums</i>	Malvaceae	Graine de coton
Mais	<i>Zea mays</i>	Gramineae	Germe de maïs
Olive	<i>Oléa curopaea</i>	oléaceae	Olive (mésocarpe)
Palme	<i>Elaeis guineensis</i>	Palmiers	Mésocarpe du fruit du palmier à huile
Soja	<i>Glycine max</i> (soja max)	légumineuses	Graine de soja
Raisin	<i>Vertis vinifera</i>	Ampélidaceae	Pépin de raisin
Tournesol	<i>Heliantus anuus</i>	Composés	Graine de tournesol
Noix	<i>Juglans régia</i>	juglandaceae	Noix

4. Différents types d'huiles en bouteille

Huiles vierges :

- Mono-fruits ou mono-graines : olive, noix, noisette, amande, pistache, pignon, colza grillé, tournesol, etc...
- Ou combinées

Huiles raffinées :

- Mono-graines : colza, tournesol, tournesol oléique, soja, maïs, arachide

- Combinées : mélange de différentes huiles végétales (Anonyme. Par Groupe du Lipides ,2008)

5. Composition nutritionnelle des huiles

- Environ 100 % de lipides
- Huiles fluides, donc composées majoritairement d'acides gras insaturés : plus l'huile est fluide, plus elle est riche en acides gras polyinsaturés
- Vecteur naturel de vitamine E
- Pauvre en acides gras trans (inférieur à 1% pour la grande majorité des huiles) (Anonyme. Par Groupe du Lipides ,2008)

6. Caractéristiques de quelques huiles

Parmi les caractéristiques dépendant des acides gras contenus dans les lipides, nous citons:

- Les huiles riches en acides gras saturés et en acide oléique telles que l'huile d'olive avec respectivement 14% et 81%,
- Les huiles riches en acides gras poly-insaturés telles que l'huile de soja avec 58% dont 50 à 60% d'acide linoléique, 20 à 30% d'acide oléique et 5 à 9% d'acide linoléique.
- Les huiles intermédiaires telles qu'huile de colza avec 33% d'acides gras polyinsaturés, 60% d'acide oléique et 7% d'acides gras saturés (Charles et Den, 1997).

Tableau 1.2 : Caractéristiques physiques de quelques huiles

Huile	Point de fusion (°C)	Densité	Viscosité (cSt)
huile de tournesol	-15	0,94	66
huile de maïs	-18 à -10	0,90	65 – 72
huile de soja	- 15	0,91	57-76
huile de colza	< 2	0,91	98

7. Composition chimique des huiles végétales

Les huiles végétales sont principalement des esters d'acides gras et de glycérol, et sont ainsi insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques.

Les huiles végétales comestibles contiennent rarement des acides gras à chaînes ramifiées, avec un nombre impair de carbones, ou des acides gras insaturés dont le nombre de carbone est inférieur à seize ou supérieur à vingt atomes de carbone (Kiritsakis et Christie, 2000).

Le tableau 3 montre la composition en acides gras de quelques huiles végétales.

Tableau 1.3 : Pourcentage des acides gras dans quelques huiles végétales (Harwoode Aparico ,2000)

Acides Gras		Huile d'olive	Huile colza	Huile soja	Huile maïs	Huile tournesol	Huile coton
Acide myristique	C14:0	0,05	0,1-0,2	0-0,1	0-0,3	0-0,1	0,6-1
Acide palmitique	C16 :0	7,5-20,0	3,0-5,0	8-13	9,1-16,8	5,5-7,7	21-26,8
Acide palmitoléique	C16 :1	0,3-3,5	0,2-0,6	0-0,2	0-0,3	0-0,3	0-1,3
Acide heptadécanoïque	C17 :0	0,3	-	-	-	-	-
Acide heptadécénoïque	C17 :1	0,3	-	-	-	-	-
Acide stéarique	C18 :0	0.5-5	1-2	2-5	1,4-3	2,8-6,5	2,0-3,3
Acide oléique	C18 :1	55-83	52-67	20-50	20-38	14-38	14-22
Acide linoléique	C18 :2	3,5-21	16-24,8	35-60	39,5-65	48,2-74,2	46,5-58
Acide linoléinique	C18 :3	0,9	6,5-14	4-10	0,6-1,4	0-0,1	0-0,4
Acide arachidique	C20 :0	0,6	0,2-0,8	0.2-0.5	0,3-0,7	0,2-0,4	0,2-0,5
Acide éicosénoïque	C20 :1	0,4	0,9-2,4	0-0,2	0,2-0,4	0-0,2	0-0,1
Acide béhénique	C22 :0	0,2	0,1-0,5	0.5-1.6	0-0,5	0,7-1,3	0-0,6
Acide lignocérique	C24 :0	0,2	0-0,2	0 -0.5	0-0,3	0-0,4	-

8. Les huiles alimentaires

Ce sont les huiles végétales utilisées en cuisine comme huiles de cuisson ou pour des fritures.

Pour chaque huile, il existe une température critique (ou point de fumage) au-dessus de laquelle il ne faut pas la chauffer. Quand l'huile atteint la température critique, ses composants se dégradent, forment des composés toxiques et l'huile fume. C'est pour cela que certaines huiles comme l'huile de noix dont la température critique est faible sont déconseillées pour la cuisson. (Anonyme, Guide de contrôle des huiles de friture)

9. Les différentes huiles commercialisées en Algérie et leur composition

Il existe sur le marché Algérien différentes marques d'huiles végétales alimentaires, quelles soient pures (huile de soja et de tournesol) ou mélangées, celles-ci sont utilisées pour l'assaisonnement, la cuisson ou la friture.



Figure 1.2 : Différentes huiles commercialisées en Algérie

Les différentes compositions des huiles alimentaires fabriquées en Algérie sont représentées dans le tableau 1.4 ci-dessous (Anonyme, Guide de contrôle des huiles de friture).

Tableau 1.4 : Les différentes compositions des huiles alimentaires fabriquées en Algérie

MARQUE	NATURE DE L'HUILE
Huile ELIO	80% Soja, 20% Tournesol
Huile FLEURIAL	100% Tournesol
Huile AFIA	95% Soja, 5% maïs
Huile HUILOR	100% Soja
Huile BONAL	100% Soja
Huile LYNOR	90% Soja, 10% Palme
Huile SAFIA	100% Soja
Huile LABELLE	100% soja

L' huile AFIA

L'huile Afia est le fruit d'une expertise de plus de 30 ans dans le domaine du raffinage et de production des huiles alimentaires. C'est la seule huile en Algérie qui contient du maïs dans sa formule. L'huile Afia, pure, digeste et 100% végétale est composée d'huiles de maïs et de soja, riche en vitamine E, garantissant ainsi les apports nutritionnels essentiels.

1. Huile de maïs

1.1. Définition

L'huile de maïs, de la famille des graminées, originaire d'Amérique est de couleur ambrée et de saveur douce. Elle ne devrait pas s'appeler ainsi mais l'huile de germe de maïs. C'est le germe du grain de maïs, riche en lipides, qui fournit en fait l'huile. Mais comme il se trouve bien caché à l'intérieur du grain, c'est celui-ci entier qui est traité. Le germe de maïs utilisé pour la fabrication de l'huile représente environ 6% du poids de la graine entière. Les germes contiennent 45 à 50% d'huile (Alfred Thomas, 2002). Cette huile est particulièrement recommandée pour les assaisonnements. Elle peut être utilisée à chaud, mais elle est déconseillée en friture.



Figure1.3 : Aspect général de la plante de maïs et le fruit qui contient les graines.

1.2 Origine et composition

L'huile de maïs est obtenue à partir des germes du grain de maïs qui est composé de 5 éléments: Amidon 66%, Fibre 19%, Germe de maïs 6%, Protéine 5% et Grain de maïs broyé 4%.

L'huile de maïs est assez bien équilibrée en acides gras mono et polyinsaturés. C'est une des plus riches en E. Elle ne prend pas de mauvais goût quand on la chauffe car elle renferme moins de 2 % d'acide alpha-linolénique. L'huile de maïs supporte une chaleur jusqu'à 170 - 180°C mais elle ne convient pas pour les fritures qui exigent une température plus élevée.

Tableau 1.5 : Composition en acides gras l'huile de maïs

Types d'acides gras	Pourcentage %
Acide linoléique (C18: 2)	53.51
Acide oléique (C18: 1)	27.33
Acide palmitique (C16: 0)	10.57
Acide stéarique (C18: 0)	1.84
Acide linoléique (C 18: 3)	1.16
Acide arachidique (C20: 0)	0,50

1.3. Propriétés

L'huile de germe de maïs, protectrice du système nerveux, elle est très riche en graisses polyinsaturées et contient des acides gras qui permettent de lutter contre le cholestérol. Anticholestérol, antidermatoses, anti-oxydante. Sa valeur énergétique est de 899.10 calories au 100 grammes soit 99.90 g de lipides (Alfred Thomas, 2002)

2. Huile de soja

2.1 Définition

L'huile de soja est fluide et d'un jaune plus ou moins foncé suivant la nature des graines et les procédés d'extraction. Fraîche, elle a une saveur assez prononcée d'haricot qui s'atténue peu à peu. Elle est riche en acides gras poly-insaturés et notamment en acide gras essentiel alpha-linolénique. Elle est recommandée pour les assaisonnements.

2.2 Origine

2.2.1. La plante

Le soja appartient à la famille des légumineuses, telle que le haricot, l'arachide. C'est une plante qui est annuelle, herbacée, dressée, et qui peut atteindre une hauteur de 1,5 m. La gousse est droite ou légèrement courbée, d'une longueur de deux à sept centimètres. Elle est formée par les deux moitiés du carpelle, soudées le long de leurs bords dorsal et ventral (Anonyme V, 1996).

2.2.2. La graine

Le grain de soja se compose de 4 éléments : Graine entière, Enveloppe et le germe

La qualité des protéines est idéale en termes de profil d'acides aminés et de digestibilité (Hubert, 2006). Elles sont constituées principalement de globuline (90 % des protéines et 36

% du poids de la graine). La graine de soja contient aussi des glucides non structurés, pour environ 10 % du poids de la graine, avec principalement des sucres solubles (sucrose,...) et peu d'amidon (moins de 3 % du poids des graines) (Pouzet, 1992).



Figure1.4 : Aspect général de la plante de soja et le fruit qui est une gousse qui contient les graines

2.3. Composition de l'huile de soja

La principale différence de l'huile de soja par rapport aux autres huiles végétales, c'est qu'elle se situe au niveau de la forme d'insaturation et de la présence d'acide linoléique (C18 :3) en quantité appréciable. Cet acide gras étant très sensible à l'oxydation, il conviendrait d'éviter au maximum le contact de l'huile avec l'oxygène de l'air.

L'huile brute de soja est définie en termes d'humidité, impuretés, teneur en phosphatides, en acides gras libres et aussi en termes de couleur, caractéristiques d'oxydation et traces métalliques (Platon, 1988).

Tableau 1.6 : composition en acide gras de l'huile de soja

Types d'acides gras	Pourcentage %
Acide palmitique (C16: 0)	11,5
Acide stéarique (C18: 0)	4,0
Acide oléique (C18: 1)	25,0
Acide linoléique (C18: 2)	51,5
Acide linoléique (C 18: 3)	7,5
Acide arachidique (C20: 0)	0,5

2.4. Propriétés

L'huile de soja est une huile riche en acides gras polyinsaturés. Elle contient aussi de la lécithine qui a une action hypocholestérolémiant. Sa richesse en lécithine la rend précieuse pour la reconstitution des cellules nerveuses et cérébrales, sa bonne digestibilité en fait une bonne remplaçante de l'huile d'olive pour ceux qui ne peuvent la tolérer (Cossut *et al.*, 2002). L'huile de soja supporte une chaleur jusqu'à 177 - 200°C.

III. Procédés de fabrication des huiles

1. Extraction des huiles

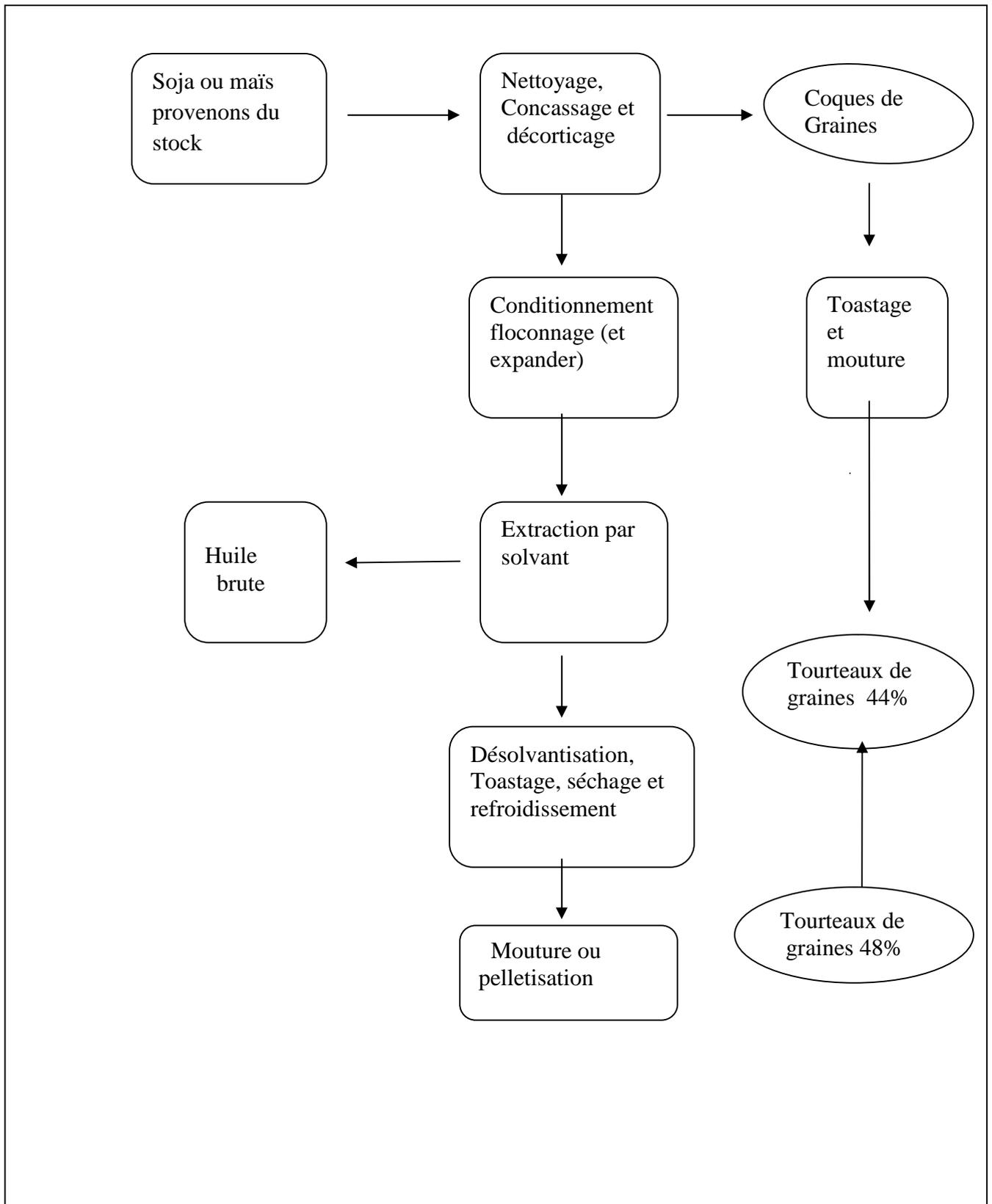
La première étape de l'extraction proprement dite consiste à nettoyer et à décortiquer les graines oléagineuses (soja, maïs, arachides, graines de tournesol, amandes, noisettes, par exemple). On procède ensuite au broyage qui transforme la substance en pâte qui subira alors une extraction mécanique par pressage à froid ou à chaud.

L'extraction de l'huile végétale fut longtemps effectuée de façon artisanale, elle est maintenant réalisée de façon industrielle, à grande échelle. Peu importe la matière de base utilisée, la fabrication de l'huile débute toujours par le nettoyage et le décorticage, suivis du pressage qui varie selon le type d'huile et le raffinage, pour les huiles dites commerciales.

1.1.Obtention de l'huile brute

Les graines sont transformées en huile et en tourteaux pour l'alimentation du bétail. Le traitement des graines qui sont dites pauvres en huile (15 - 20 %), est constitué de: Nettoyage, séchage, maturation, décorticage, aplatis sage, extraction et séchage (Laisney, 1992 ; Debruyne, 2001).

Figure 1.5: Etapes de l'extraction de l'huile brute (Mustapha et Stauffer, 2002).



Nettoyage

Les graines sont soit stockées par l'agriculteur à la ferme, soit transportées aux silos de l'usine, la tâche la plus dure consiste à transporter la récolte d'un lieu de stockage à un autre sans trop nuire à l'état de la graine.

Les graines doivent être bien nettoyées, elles subissent d'abord un dépoussiérage par un courant d'air. Puis le nettoyage se poursuit par un tamisage et un passage sur des électroaimants (Mohtadji- Lamballais, 1989 ; Mustapha et Stauffer, 2002).

Séchage

Il est indispensable que la partie non grasse ne comporte pas une humidité atteignant 15 %. Un séchage est aussi nécessaire pour le décortilage.

Pour le soja, on sèche à niveau de 10 % puis la graine séchée est stockée dans un silo où elle séjourne 1 à 3 jours. Sans cette maturation qui permet l'équilibrage de l'humidité, les coques se séparent mal au décortilage. (Laisney, 1992).

Le décortilage

L'intérêt du décortilage est d'éliminer les matières sans valeur pour l'alimentation animale, mais surtout de faciliter les traitements ultérieurs.

Le décortilage sera réalisé en fonction de la matière protéique et de l'huile contenue dans la graine pour arriver à avoir un tourteau à 44, 48 ou 50 % de matières PROFAT (Protein Fat, Protéines + matières grasses). Pour le soja, la coque se sépare facilement, l'amande et la coque constituent des mélanges qu'il faut dissocier avec des tamis.

Le concassage grossier se fait sur des concasseurs cannelés à 4 cylindres (Laisney, 1992).

Aplatissage

Le concassage est suivi d'un aplatissage sur cylindres lisses. Une température de 65°C est nécessaire pour avoir l'état thermoplastique indispensable pour fournir des flocons qui ne s'effritent pas. Cette température servira d'ailleurs de source de chaleur pour l'extracteur qui,

doit travailler à plus de 52°C pour des raisons de sécurité mais aussi parce que l'extraction est meilleure à chaud qu'à froid (Laisney, 1992).

Extraction

L'exaction de l'huile est effectuée d'abord par pression et ensuite au moyen de solvants.

La matière première est pressée dans des presses à vis, en continu, et l'on obtient d'une part l'huile brute et d'autre part un résidu solide ou tourteau qui contient encore 10 à 20 % d'huile.

1.2.Pressage des huiles

➤ Pressage à froid

Le pressage à froid s'effectue à l'aide de presses hydrauliques. Il fut longtemps le seul procédé utilisé. L'extraction à froid doit se faire avec des graines ou fruits contenant au moins 30 % de matières grasses pour être rentable. Les graines doivent avoir été cultivées selon les principes de la culture biologique. L'extraction mécanique doit se faire de manière à ne pas élever la température à plus de 60°C, l'huile est ensuite décantée et filtrée avant d'être embouteillée dans une bouteille opaque. Les huiles pressées à froid ne subissent pas de raffinage supplémentaire. Il faut souligner que la mention « presse à froid » ne fait l'objet d'aucune définition légale et que les huiles dites « pressées à froid » peuvent ne pas l'être.

Lorsque l'on parle d'huile de "première pression", on fait référence à l'huile obtenue lors de la première extraction: l'huile "extra-vierge" désigne une huile de première pression qui contient moins de 1 % d'acidité, alors que l'huile "vierge" est une huile de première pression qui peut contenir jusqu'à 3 % d'acidité. L'huile "fine" est un mélange des deux.

➤ Pressage à chaud

Le pressage à chaud s'effectue mécaniquement par le passage de la pâte dans des presses à vis chauffées à une température se situant entre 80 et 120°C. L'huile ainsi obtenue est de l'huile brute (aussi appelée huile crue, huile non raffinée et parfois huile naturelle), et le résidu est nommé tourteau de pression. L'utilisation de la chaleur diminue les pertes à environ 5 % et que l'ajout d'un solvant l'abaisse jusqu'à 1 %.

Le tourteau subit ensuite une extraction au moyen d'un solvant qui est souvent l'hexane. Le tourteau préalablement broyé et le solvant circulent à contre courant dans l'extracteur. Le mélange solvant-huile ainsi obtenu est débarrassé du solvant par distillation. Le tourteau déshuilé, qui ne contient plus qu'un % d'huile est imprégné aussi de solvant qui sera éliminé par chauffage. Le solvant est récupéré ensuite pour de nouvelles utilisations et les tourteaux pour l'alimentation animale (Mohtadji-Lamballais, 1989).

Séchage

Il est souhaitable de sécher l'huile pour avoir moins de 0,1 % d'humidité, il se fait toujours par pulvérisation de l'huile chauffée à 80 - 90°C dans une enceinte sous un vide de l'ordre de 50 mmHg (Laisney, 1992).

Les moyens employés pour le séchage et le stockage des graines, ainsi que les procédés de trituration sont susceptibles d'introduire dans les corps gras bruts des substances contaminantes qu'il faut éliminer pour livrer à la consommation humaine un aliment parfaitement conforme à la réglementation relative aux produits alimentaires (Denise, 1992)

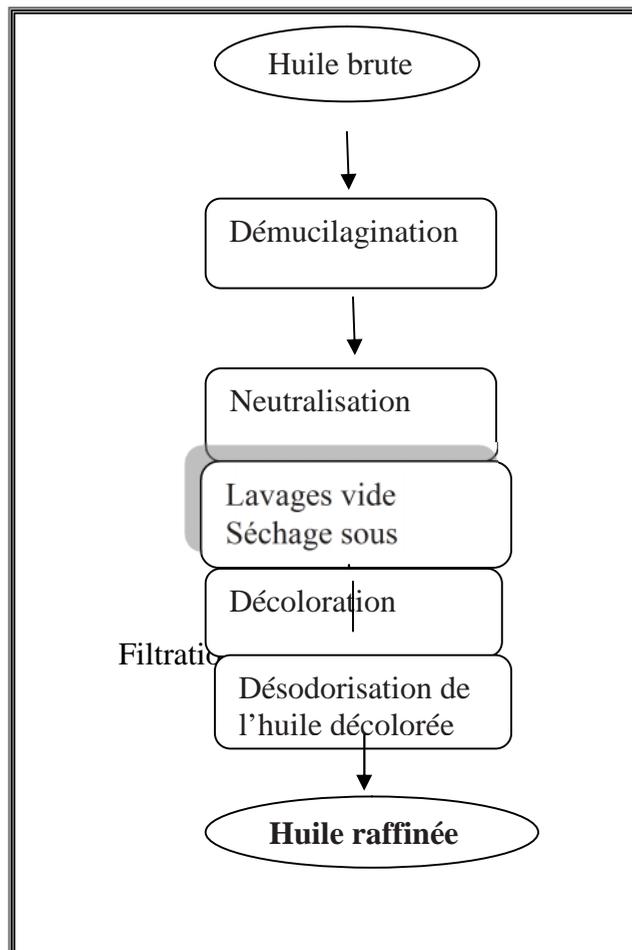
1.3. Production industrielle

La production industrielle s'est inspirée de la fabrication traditionnelle pour perfectionner son appareillage mais le principe de l'extraction est presque le même. Cependant à la différence de la production en milieu rural, l'extraction de l'huile dans l'industrie est suivie de son raffinage. Ce raffinage produit une huile comestible dotée de caractéristiques conformes au désir du consommateur : saveur et odeur neutre, limpidité, couleur claire, stabilité à l'oxydation, possibilité de friture. Les deux principales méthodes de raffinage sont le raffinage chimique et le raffinage physique (distillation à la vapeur, neutralisation) qui sont utilisées pour éliminer les acides gras libres.

2. Raffinage des huiles

L'huile brute récupérée doit subir un processus de nettoyage et de raffinage pour enlever toutes ces impuretés et de couleur et de goût ainsi qu'une gamme de produits dégradés et avant de passer par les étapes d'industrialisation alimentaire. Le premier objectif du raffinage de l'huile brute est de se débarrasser des impuretés solubles dans l'huile présentes sous forme d'une vraie solution ou de suspension, afin d'offrir les meilleures spécifications de qualité possibles au niveau du goût, de la couleur, de l'aspect et de la stabilité.

Le raffinage d'un corps gras met en œuvre une série d'étapes qui présentent chacune ses objectifs. Il existe deux types principaux de raffinage : le **raffinage chimique** et le **raffinage physique**. Dans le raffinage chimique, les acides gras libres, la plupart des phospholipides et d'autres impuretés sont éliminés à l'étape de neutralisation avec des solutions de bases, le plus souvent de la soude (cas de l'huile de soja et maïs). Dans le raffinage physique, les acides gras libres sont éliminés par distillation à température élevée. Le choix entre raffinage physique et chimique se fait en fonction de la nature de l'huile, de sa qualité et des objectifs visés (Xavier, 2012) ; Figure 1.6 : Schéma de raffinage (Xavier, 2012)



2.1.Raffinage chimique**Démucilagination**

La démucilagination ou dégomme des huiles brutes consiste à leur appliquer un traitement à l'eau, aux acides dilués (citrique ou phosphorique) ou, plus rarement, à la soude diluée afin d'en éliminer les phospholipides et les matières mucilagineuses. Cette étape est nécessaire car les phospholipides forment en présence d'eau des précipités peu souhaitables dans le produit et provoquent des problèmes de coloration de l'huile au cours de son chauffage. Enfin, ils présentent une augmentation des pertes au raffinage.

Les phospholipides (PL) sont présents dans les huiles végétales dans des proportions variables suivant la nature de l'huile et leurs conditions d'obtention.

On peut distinguer :

- les huiles peu riches en PL (coprah, palme de 0,02 à 0,1 % en PL) ;
- les huiles à teneur moyenne en PL (tournesol 0,5 à 1,3 %, colza 0,5 à 2 %) ;
- les huiles riches en PL (**soja** 1 à 3 %, coton 1 à 2,5 %, **maïs** 0,7 à 2 %).

Neutralisation

Les huiles prétraitées sont à cette étape débarrassées de leurs acides gras libres par saponification. Industriellement, on introduit dans l'huile, dégomme ou conditionnée à l'acide, une quantité calculée de lessive basique, généralement de la soude.

Les lignes industrielles sont continues et comprennent :

- un échangeur de chaleur pour chauffer l'huile vers 85 °C environ ;
- un mélangeur statique et/ou dynamique pour réaliser un mélange efficace ;
- une centrifugeuse qui assure la séparation de l'huile neutralisée (phase légère) et des savons ou (phase lourde).

La quantité de soude et la concentration de sa solution par rapport à l'acidité faut qu'elle atteigne une acidité après neutralisation inférieure à 0,1 % exprimée en acidité oléique. (Xavier.2012)

En sortie de la première centrifugeuse, l'huile contient des savons qui sont éliminés par un ou deux lavages successifs avec de l'eau adoucie (vers 85 °C). Chaque étape de lavage est suivie d'une centrifugation.

Au final, l'huile est séchée sous vide dans un sécheur continu, son humidité résiduelle est de l'ordre de 0,05 à 0,1 %. (Xavier.2012)

Décoloration

Le but de la décoloration n'est pas seulement de produire une huile de couleur conforme au cahier des charges des huiles raffinées (plutôt peu à très peu colorée) mais aussi de la débarrasser de différents composés indésirables et contaminants éventuels tels que : composés d'oxydation, traces de phospholipides, de savons, etc.

Cette opération présente donc également un rôle « nettoyant » essentiel dans la purification des huiles. Elle procède par traitement avec un adjuvant puis séparation par filtration.

Le principe physique mis en jeu est l'adsorption régie par ses lois classiques.

L'huile est chauffée vers 90°C dans un réacteur en présence de 0,2 à 2 % d'un adjuvant pulvérulent pendant 30 min environ sous vide .Il suit une filtration le plus souvent sur filtre à débâtissage automatique. (Xavier.2012)

Désodorisation

Si l'huile obtenue après décoloration est utilisée comme huile à salades, elle doit subir un processus de désodorisation pour permettre d'enlever les odeurs et les arômes indésirables causés par un nombre de composants toujours présents dans l'huile. Ces composants sont relativement volatiles, et peuvent être éliminés en dégageant de la vapeur ou de l'azote. Ainsi, la désodorisation est effectuée sous vide pour faciliter le dégagement ces composants volatiles, éviter l'oxydation et l'hydrolyse de l'huile, et tirer le maximum de profit de la vapeur. Après désodorisation, l'huile est refroidie, et stockée. (Xavier.2012)

2.2. Le raffinage physique

Appelé aussi désacidification, consiste en un entraînement à la vapeur d'eau et une distillation sous vide des acides gras libres. Cette opération est généralement conduite sur huile brute dégommée à l'eau, prétraitée à l'acide (phosphorique ou citrique), traitée sur terres décolorantes (cas de l'huile de tournesol).

3. Critères de qualité**3.1.Définition**

La qualité d'un aliment est l'absence de défaut et de falsification pour ce dernier. Elle repose sur des propriétés attendues telles que des qualités organoleptiques ou nutritionnelles (FAO, 2004).

La qualité d'un aliment ou d'un produit alimentaire est une notion subjective, elle varie en fonction du consommateur, principal instrument d'évaluation. Cependant des critères objectifs d'évaluation de la qualité ont été mis au point. Dans la plupart des cas, il s'agit de comparer la qualité d'un produit à celle d'un autre pris comme référence.

3.2. Critères organoleptiques

Les critères organoleptiques varient d'une huile à l'autre. En effet chaque huile présente des caractères qui lui sont propres. La qualité d'une huile de friture peut être appréciée relativement sur la base de sa viscosité, sa couleur et son odeur. L'huile de palme par exemple est de teinte rouge contrairement aux autres qui ont des teintes allant du jaune, jaune/clair au jaune très foncé. Cette différence de coloration peut s'expliquer par la différence de composition de ces huiles (FAO/OMS, 1993).

Sur le plan de la consistance, par définition, une huile est sous forme liquide à température ambiante. Dans le cas de l'huile de palmiste, elle peut se trouver à l'état solide, c'est pourquoi certains auteurs parlent de graisse de palmiste.

L'odeur de l'huile est caractéristique du type d'oléagineux utilisé pour la fabrication. On peut parfois noter une certaine ambiguïté pour la reconnaissance d'une huile. Ce qui s'explique d'une part par l'addition de deux huiles différentes. D'autre part, par une utilisation d'oléagineux altérés lors de la fabrication de l'huile.

TABLEAU 1.7 : aspects de quelques huiles végétales (NDEYE, 2001)

Aspects désignation	Huile Maïs	Huile Soja	Huile d'arachide	Huile de Tournesol
Consistance	Liquide limpide	Liquide	Liquide	Liquide
Couleur	Jaune pâle à jaune	Jaune foncé	Jaune foncé	Jaune foncé
Odeur	relativement inodore	quasi sans odeur	Franche de la graine	Franche de la graine

3.3. Les indicateurs d'oxydation

On utilise comme indicateur d'oxydation différents indices, dont chacun a une signification dans sa propre limite, c'est-à-dire qu'ils ne peuvent pas tenir compte de l'ensemble du phénomène de rancissement qui comporte beaucoup trop de réactions complexes, mais qui tout de même donnent une idée sur l'état d'oxydation des acides gras.

On distingue ainsi :

3.3.1 L'indice d'acide

L'indice d'acide est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un gramme de corps gras (NJUSSA, 1999). Cet indice permet de mesurer la quantité d'acide gras libres résultant des réactions d'hydrolyse et d'oxydation des triglycérides (NDEYE, 2001). Les huiles destinées à la consommation doivent contenir moins de 1% d'acides libres (MAMBAP, 1989).

3.3.2 L'indice d'iode

L'indice d'iode est le nombre de grammes d'iode fixé sur les doubles liaisons de 100 grammes de matières grasses. Il exprime le degré d'insaturation d'un corps gras et par suite sa prédisposition à l'oxydation (DJOM, 1993). Un corps gras est plus sensible à l'oxygène lorsqu'il est constitué d'un nombre élevé de doubles liaisons.

3.3.3 L'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est le nombre de microgrammes d'oxygène actif pour un gramme de matière grasse (NJUSSA, 1999). Il permet d'apprécier le degré d'oxydation d'une huile. Cet indice permet de suivre l'état de conservation d'une huile ou état d'avancement de l'oxydation (DJOM, 1993). Lorsqu'une huile n'est pas soumise à de bonnes conditions de conservation ou à un bon traitement, sa qualité peut se détériorer de diverses manières, mais le plus souvent par hydrolyse ou par oxydation. Elle devient ainsi impropre à la consommation (NDEYE, 2001).

3.3.4 Coefficients d'absorption spécifique (valeurs d'absorbance UV) (K_{232} et K_{270})

La détermination des coefficients d'absorption spécifique (extinction spécifique) dans le domaine de l'ultraviolet est nécessaire pour l'estimation de la phase d'oxydation de l'huile . L'absorption à des longueurs d'onde spécifiées à 232 nm et 270 nm dans la région ultraviolette est liée à la formation de diènes conjugués et triène dans le système de l'huile , du fait des procédés d'oxydation ou de raffinage. Les composés de l'oxydation des diènes conjugués contribuent à K_{232} alors que les composés d'oxydation secondaire (aldéhydes, cétones, etc) contribuent à K_{270} (Kiritsakis, et al. 2002).

TABLEAU 1.8 : Caractéristiques de la qualité des l'huiles végétales

Type	Huile Maïs	Huile Soja	Huile Tournesol
Acidité (%)	Max. 0.5	Max .0.3	Max.03
Indice d'iode	103-135	124-139	118-141
Indice de peroxyde (méq O2/kg)	Max. 10.0	Max.10	Max .10

4. Techniques instrumentales d'analyse de l'huile

L'analyse des huiles est réalisée au moyen de techniques chromatographiques, parmi ses techniques on trouve :

4.1. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

4.1.1. Principe

L'HPLC est un outil basé sur la chimie de quantification et de l'analyse des mélanges de composés chimiques, qui permet de connaître la quantité d'un composé chimique dans un mélange d'autres substances chimiques. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) a la capacité de séparer, identifier et quantifier les composés qui sont présents dans un échantillon qui peut être dissouts dans un liquide.

C'est une méthode physico-chimique basée sur les différences d'interactions entre les molécules à séparer et les phases mobile et stationnaire. Préalablement, les solutés sont mis en solution dans la phase mobile (solvant). Après son injection, ce mélange passe sous haute pression au travers de la colonne qui renferme la phase stationnaire. Celle-ci est constituée de micro particules de silice, elle est très sensible aux impuretés, il est donc essentiel de purifier et de filtrer l'échantillon avant son injection en tête de colonne.

La phase stationnaire interagit plus ou moins selon la nature des molécules de solutés, ce qui permet leur séparation. Selon leur affinité, elles se répartissent entre la phase mobile et la phase stationnaire. Les mécanismes d'échange sont basés sur les coefficients de partage. Les diverses molécules sont éluées à des instants différents en fonction de la polarité de la phase mobile, ces temps sont dits de « rétention », ils dépendent donc de la nature de la phase stationnaire, de la composition de la phase mobile et des conditions analytiques. Les composés sont identifiés grâce à un détecteur (absorptiométrique, réfractométrique, fluorimétrique, etc...) qui enregistre un signal et le transmet sous forme de pic. Si la séparation est satisfaisante, chaque pic représente un constituant du mélange à séparer. Le chromatogramme représente l'ensemble des pics enregistrés (Rosset R, 1991)

4.1.2. La phase mobile

En HPLC la séparation des composés se fait par des interactions entre la phase stationnaire et avec la phase mobile. Ces interactions sont primordiales. Une bonne séparation d'un mélange dépendra donc d'une bonne adéquation soluté-phase stationnaire-phase mobile. De nombreux solvants sont disponibles, mais seuls quelques uns pourront être utilisés car en chromatographie liquide il existe de nombreuses limitations.

- compatibilité avec le système de détection : On utilisera des solvants qui absorberont peu aux longueurs d'onde où les solutés absorbent.
- miscibilité des solvants et solubilité des solutés : Si la phase mobile est constituée par plusieurs solvants, ceux-ci doivent être totalement miscibles et les composés à analyser doivent y être solubles.
- viscosité : La viscosité de la phase mobile a une influence :
 - sur la cinétique de transfert de masse : une augmentation de la viscosité diminue les coefficients de diffusion et de transfert de masse des solutés c'est-à-dire qu'elle diminue le nombre de plateaux théoriques.
 - sur la pression en tête de colonne. La pression d'entrée de colonne augmente proportionnellement à la viscosité de la phase éluant.
- température d'ébullition :

Dans la mesure du possible, on évite des solvants trop volatils à la température ambiante car il peut se produire un phénomène de dégazage au niveau du système de détection, ce qui rend la détection impossible. Le solvant passe alors d'une pression très élevée (100 – 200 bars) à la pression atmosphérique.

- pureté des solvants

La pureté des solvants est indispensable pour la chromatographie liquide pour améliorer le seuil de détection.

- toxicité

De façon générale, les solvants utilisés sont modérément toxiques. Des précautions particulières doivent être prises avec les solvants chlorés et les solvants aromatiques. (Véronique Jacob, 2010)

4.1.3. Choix du solvant

Le choix du solvant se fera en fonction des interactions soluté-solvant. En général ces interactions sont dues à des forces de Van der Waals (interactions dipôle-dipôle ou électrostatiques...) et aux liaisons hydrogène qui vont définir les paramètres de solubilité des composés dans la phase mobile.

On classe donc les solvants par leur polarité, et la modification de la polarité. Parmi les solvants utilisés on a l'hexane (ou les hydrocarbures saturés (pentane, cyclohexane...) pour

les solvants les moins polaires et l'eau pour les solvants le plus polaire. Entre les deux, on a toute une série de composés qui peuvent être utilisés.

Pour modifier la polarité de la phase mobile, on peut réaliser des mélanges de solvants (à condition que ceux-ci soient miscibles). (Véronique Jacob, 2010)

Il y a deux méthodes de séparation majeures en HPLC utilisés pour séparer la plupart des composés:

- ❖ la chromatographie liquide de haute performance en phase normale (HPLC en phase normale);
- ❖ la chromatographie liquide de haute performance en phase inversée (RP-HPLC) ;

4.1.4. La chromatographie liquide de haute performance en phase inverse

La Chromatographie en phase liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC) est actuellement la technique la plus populaire et fiable pour la détermination des composés phénoliques. De nombreuses phases mobiles ont été employées avec des modificateurs différents, qui comprennent le méthanol, l'acétonitrile ou le tétrahydrofurane... ,ect. (Ryan et al. 1999).

La phase inverse est majoritairement composée de silice greffée par des chaînes linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C₈ et C₁₈). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire (ACN, MeOH, H₂O). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier. Contrairement à une phase normale, il n'y a pas d'évolution de la phase stationnaire au cours du temps, et la qualité de la séparation est donc maintenue constante

HPLC est la méthode la plus couramment utilisée pour l'analyse des tocophérols et tocotriénols. Elle présente de nombreux avantages d'application : l'étude de constituants peu ou pas volatils, elle combine vitesse d'analyse, sensibilité et résolution performante. L'analyse se fait généralement à température ambiante ce qui évite les réarrangements thermiques des composés durant la séparation (composés thermosensibles). La détection est généralement basée sur la mesure du rayonnement ultraviolet (UV) absorption.

5. La spectrophotométrie UV-Visible

Cette technique d'absorption moléculaire est une des méthodes spectroscopiques employées pour la détermination de la structure des molécules. Un spectre UV-Visible est une

courbe précisant les variations d'absorption d'énergie d'une substance soumise aux rayonnements ultraviolet et visible. Les substances chimiques interagissent avec la lumière dans différentes gammes de longueur d'onde.

Dans le cas de la spectroscopie UV-visible, c'est-à-dire pour des longueurs d'onde comprises entre environ 280 nm et 900 nm, habituellement à 280 nm, ce qui représente un bon compromis car la plupart des phénols absorbent considérablement à cette longueur d'onde, l'interaction entre la matière et la lumière met en jeu les électrons de valence de la molécule. Ainsi, un photon entrant en collision avec une molécule peut être absorbé, l'énergie du photon étant utilisée pour faire passer un électron de valence de la molécule de son état fondamental à un état excité (plus haut en énergie)

5.1. Mesure expérimentale de l'absorbance

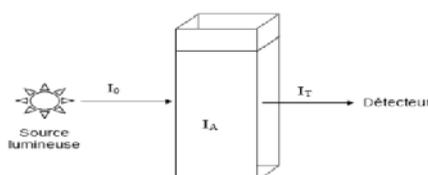


Figure 1.7 : Principe de mesure de l'atténuation du rayonnement

Lorsqu'un faisceau lumineux monochromatique traverse une cuvette contenant un composé en solution, l'intensité de la lumière incidente I_0 est diminuée si le composé absorbe une certaine quantité de lumière

Si I_0 représente l'intensité du rayon incident et I_T l'intensité de la lumière transmise, la transmittance T de milieu est définie comme la fraction du rayonnement incident qui est transmise par ce milieu, elle est définie comme suit :

$$T = \frac{I_T}{I_0}$$

5.2. Loi de Lambert-Beer.

Pour un milieu de longueur L , contenant une substance absorbante à la concentration C , l'absorbance de cette substance vérifie la loi de Lambert-Beer :

$$A = \epsilon L C$$

Cette loi n'est valable que pour les milieux assez dilués. Si la concentration devient trop grande, A ne varie plus linéairement en fonction de C, mais présente une asymptote horizontale ; c'est le phénomène de saturation

L'utilisation du spectrophotomètre UV reste une nécessité majeure pour déterminer avec précision les concentrations des solutions des composés purs. Pour quantifier l' - tocophérol dans son échantillon réel, il faut le séparer. Pour éliminer toute interférence, le système RP-HPLC avec un détecteur UV offre cet avantage (R .Laouer)

Les antioxydants

1. Les radicaux libres

Pour les spécialistes, cette expression désigne une molécule ou un groupe d'atomes portant un électron célibataire sur sa périphérie et pouvant se former par la perte ou le gain d'un électron lors de la rupture d'une liaison. Les mouvements électroniques suivent des règles désormais bien connues qui régissent leur positionnement à distance du noyau. La plupart du temps, les deux électrons qui forment la liaison chimique se retrouvent, lors de la rupture, sur le même fragment de molécule, ce qui donne des ions, particules bien plus stables que les radicaux, dont les électrons non appariés ne demandent qu'à réagir.

2. Principaux radicaux libres

- L'anion superoxyde : la molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde .Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réaction.
- Le radicale hydroxylmbyl : **OH'** .Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.
- Le radical peroxyde : **ROO'**
- L'oxygène singulet : **O'₂** forme « excitée » de l'oxygène moléculaire, est souvent assimilé à un radical libre en raison de sa forte réactivité (Hadi ,2004)

3. Rôle des radicaux libre

Les radicaux libres sont principalement produits par des sources endogènes, telles que les chaînes de transport d'électron, eroxysomes et le système de cytochrome. Ces radicaux sont responsables de l'altération de l'ADN, du vieillissement cellulaire qui est à la base de certaines maladies comme l'athérosclérose, le cancer, maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (Favier, 2003).

4. Antioxydants

De nombreuses espèces oxydantes sont produites et bien qu'elles soient souvent indispensables à l'organisme, elles ne sont pas moins responsables de dégâts importants. Pour faire face à ces produits oxydants délétères, le corps humain possède tout un arsenal de défenses que l'on qualifie d'antioxydants. Mais bien que le terme « antioxydant » soit fréquemment utilisé, il est difficilement définissable car il couvre un large nombre de molécules et des domaines très divers comme l'alimentation, l'industrie chimique, l'industrie pharmaceutique (Halliwell et Gutteridge, 1999).

4.1. Définition

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substances biologiques (Boyd et al ..2003), se sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (Vansant, 2004).

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulet et le radical hydroxyle collectivement connu sous le nom l'oxygène actif (Boyd et al . 2003).

D'un point de vue biologique les composés antioxydants peuvent protéger les systèmes cellulaires des effets des processus potentiellement nocifs qui causent l'oxydation excessive, il sont la stratégie préventive la plus prometteuse contre la formation cataractes (Hale,2003).

Les antioxydants sont aussi largement utilisés comme additifs dans les matières grasses et les huiles de l'industrie alimentaire, pour empêcher ou retarder l'altération des aliments. Le fait d'ajouter des ingrédients alimentaires contenant beaucoup d'antioxydants naturels peut améliorer à la fois la qualité et la valeur nutritionnelle des aliments. D'un autre côté, les

antioxydants, tout comme n'importe quel autre constituant alimentaire, ne sont plus sains lorsqu'ils sont consommés en excès, il est donc nécessaire d'imposer des réglementations aux fabricants.

4.2. Utilisation des antioxydants

- Les antioxydants sont des composés puissants qui peuvent neutraliser les radicaux libres impliqués dans la dégradation cellulaire, et nous aident ainsi à garder une vie active et saine. Quelques antioxydants sont fabriqués par le corps humain, d'autres telles les vitamines et poly phénols, doivent être apportés par notre alimentation
- La plupart des études d'observation montrent un effet protecteur d'une alimentation riche en antioxydants sur le risque de maladies cardiovasculaires ou de cancers.
- Une autre vertu des antioxydants concerne la peau. En réduisant les effets nocifs des radicaux libres, les antioxydants limitent le vieillissement cutané.

4.3. Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés selon leur origine en antioxydants naturels ou synthétiques.

➤ **Antioxydants synthétiques**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la gallate propylée (PG) et le tétra-butylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture (Lisu *et al.* 2003).

➤ **Antioxydants synergistes**

Par définition, ce sont des substances qui ne sont guère actives en tant qu'antioxydants, et dont les propriétés apparaissent surtout en présence des autres antioxydants. Il en est ainsi des lécithines, des acides citrique et tartrique, des acides aminés, de certains flavonoïdes. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose.

➤ **Antioxydants naturels**

Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus important

d'antioxydants naturels comprend la vitamine E (tocophérol), les vitamines A (sous forme de béta-carotène), C et E, le zinc, le sélénium et des polyphénols.

❖ La vitamine C

La vitamine C est un antioxydant, car elle peut réagir avec un oxydant pour le neutraliser. Elle aide à protéger la vitamine E et les acides gras de l'oxydation. La vitamine C agit principalement sur la vitamine E, qui joue un rôle clé dans la protection des membranes lipidiques et doit être régénérée en permanence. La vitamine C est apportée essentiellement par les fruits et les légumes.

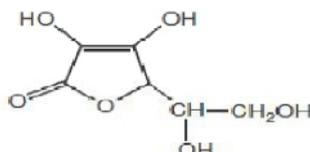


Figure 1.8 : Structure de la vitamine C

❖ Vitamine A (sous forme de béta-carotène)

C'est le béta-carotène qui a un rôle antioxydant. Il intervient dans la protection des membranes des cellules en bloquant les radicaux libres. Le béta-carotène est présent dans les fruits et les légumes fortement colorés. Dans les carottes, les épinards, le melon, la mangue, les abricots, les tomates...

❖ Le zinc

Son rôle d'antioxydant passe par différents mécanismes. Il joue notamment un rôle structural au niveau d'une des enzymes (la superoxyde dismutase) qui aide l'organisme à lutter contre les radicaux libres. La disponibilité du zinc varie en fonction des aliments. Elle est en général plus élevée pour les produits d'origine animale que pour ceux d'origine végétale.

❖ Le sélénium

Le sélénium entre dans la constitution d'enzymes antioxydants (notamment, la glutathion Peroxydase). Les enzymes constituent une des principales lignes de défense contre les agressions des radicaux libres. L'activité de ces enzymes est proportionnelle à l'apport de sélénium. L'association de vitamine E et de sélénium est à favoriser car la vitamine E a une action complémentaire à celle du sélénium. Le sélénium est apporté principalement par les viandes, les poissons et les œufs.

4.4. Tocophérols (vitamine E)

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique propre, qui sont nécessaires à l'organisme et que l'homme ne peut synthétiser en quantité suffisante. Elles

doivent donc être fournies par l'alimentation. Parmi elles, on distingue la vitamine E qui est une vitamine liposoluble de formule brute $C_{29}H_{50}O_2$ et de masse molaire 430g.

Vitamine E est le terme générique utilisé pour désigner les différents tocophérols qui se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique (Le Grusse, 2003). Le tableau 7 résume la structure des tocophérols

Leur Principales sources : les huiles végétales (tournesol, pépin de raisin, maïs, ...), les légumes et fruits frais (amande, noisette, fenouil, mûre, avocat, épinard, ...), les aliments d'origine animale (crevette grise cuite, cervelle, ...)

Tableau 1. 9 : Structure des tocophérols et des tocotriénols (Wendy, 1996)

	Formule brute	Masse molaire	R1	R2	R3
	$C_{29}H_{50}O_2$	430,7	CH3	CH3	CH3
	$C_{28}H_{48}O_2$	416,7	CH3	H	CH3
	$C_{28}H_{48}O_2$	416,7	H	CH3	CH3
	$C_{27}H_{46}O_2$	402,6	H	H	CH3

Cette différence structurale minime conduit à des pouvoirs antioxydants différents. Le tocophérol est souvent considéré comme le plus efficace mais leur activité relative dépend de la température et de la nature du substrat et un ordre différent a parfois été obtenu (Jung et Min, 1990).

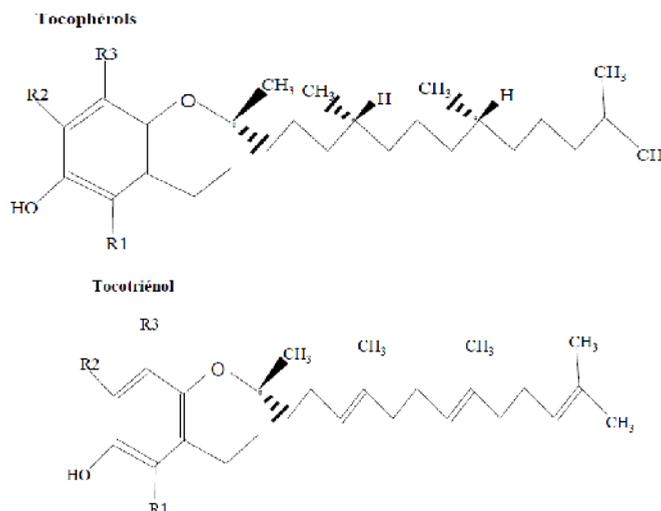


Figure 1.9 : Formule développée des tocophérols et tocotriénols

4.4.1. Propriétés physico-chimiques de la vitamine E

A la température ambiante, les tocophérols se présentent sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques (éthers, acétone, chloroforme, méthanol, alcools méthyliques et éthyliques). Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases. Les esters de tocophérols et notamment l'acétate de dl- α -tocophérol sont relativement stables [36].

Tableau 1.10: Teneurs en tocophérols et Tocotriénols ($\mu\text{g/g}$) dans les principales huiles végétales (DEMIR, C, 1999)

Huiles	Tocophérols				Tocotriénols			
Maïs	282	54	1 034	54	49	8	161	6
soja	100	8	1021	421	-	-	-	-
Tournesol	670	27	11	1	-	-	-	-
colza	202	65	490	9	-	-	-	-
palme	89	-	18	-	128	323	72	630

Tableau1.11 : Teneurs en tocophérols ($\mu\text{g}/100\text{g}$) dans quelques principales huiles végétales
(Carol Kohler et al ,2001)

L'huile	Teneur en mg pour 100g
Huile de tournesol	48,7
Huile de soja	9- 30
Huile de Maïs	27-45

4.4.2. Rôle de la vitamine E

La vitamine E est un antioxydant important qui protège les cellules contre les dommages associés aux radicaux libres et par conséquent, prolonge la vie cellulaire tout en ralentissant le processus de vieillissement et la diminution de l'athérosclérose (Maydani .2000) .La vitamine E joue un rôle important dans l'agrégation de la β -amyloïde (A β), d'ailleurs, les données cliniques ont prouvé que les patients d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par la vitamine E (Pieroni et al . ;2002).

CHAPITRE II :
MATERIELS ET
METHODES

Au cours de ce travail, nous avons d'abord contrôlé la qualité des huiles commerciales disponibles sur le marché (acidité, indice de peroxyde, Analyse spectrophotométrique dans l'UV-Visible), ensuite nous avons procédé à la détermination de la teneur en α -tocophérol par RP-HPLC.

1. Echantillonnage

Les échantillons sont des huiles de consommation humaine :

- L'huile AFIA : Une huile végétale alimentaire raffinée de cuisson (95% soja et 5% maïs)
- L'huile LABELLE : Une huile végétale alimentaire raffinée de cuisson 100% soja
- L'huile de maïs : l'huile végétale raffinée extraite des graines de germe de maïs
- L'huile de soja : l'huile végétale raffinée extraite des graines de soja

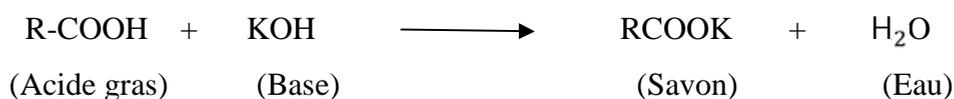
2. Détermination des caractéristiques physico-chimiques

2.1. Acidité

L'acidité correspond à la teneur en pourcentage d'acide gras (exprimée en acide oléique) présent dans l'huile, elle représente un paramètre important dans l'évaluation de la qualité des huiles. On définit l'indice d'acide comme étant le nombre de milligramme de potasse nécessaire pour neutraliser les acides gras libres d'un gramme de corps gras.

La méthode utilisée est celle décrite par la norme AFNOR (1984). Cette méthode consiste à mettre une prise d'essai dans un mélange de solvant (éthanol / éther diéthylique), puis on titre les acides gras présents à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium en présence de la phénolphtaléine comme indicateur coloré.

Le principe de la détermination de l'acidité d'une huile consiste en un dosage acido-basique correspondant à la neutralisation dont le schéma réactionnel est le suivant :



2.1.1. Dosage

Le dosage de l'acidité consiste à mesurer la quantité d'hydroxyde de potassium(0.1N) nécessaire pour neutraliser 2g de matière grasse en présence de 50 ml de solvant organique (25 ml d'éthanol à 96% et 25 ml d'éther diéthylique) plus un indicateur coloré

phénolphtaléine (10g dans un 1L d'éthanol 96%). La solution vire au rose persistant pour un volume de KOH correspondant à l'équilibre acido-basique .

L'acidité, exprimée en pourcentage est égale à :

$$\text{Acidité \%} = \frac{N \times M \times V}{m \times 1000} \times 100$$

où :

V : volume en mL de la solution titrée de KOH utilisé.

N : normalité de la solution de KOH en mol/L.

M : masse molaire de l'acide oléique (égale à 282 g /mol).

m : masse de la prise d'essai en g.

2.2. Indice de peroxyde

C'est la quantité de peroxyde présent dans l'échantillon, exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans un kilogramme de produit, oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode. L'indice de peroxyde nous permet d'évaluer l'état de fraîcheur de l'huile.

Le principe repose sur le titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

2.2.1. Dosage

1g d'huile d'olive est pesé dans un erlenmeyer de 250mL auquel on ajoute 10ml de dichloroforme et 15ml d'acide acétique ainsi que 1ml d'Iodure de potassium (KI) sont ajoutés. Le mélange est agité pendant 1mn et laissé reposer pendant 5mn à l'abri de la lumière. 75mL d'eau distillée sont additionnés suivi d'un titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium (0,01N) en agitant vigoureusement et en employant la solution d'amidon (1g/100mL) comme indicateur jusqu'à disparition de la couleur.

Un essai à blanc est effectué simultanément.

L'indice de peroxyde en milliéquivalent d'O₂/kg est calculé selon l'équation :

$$\text{Indice de peroxyde} = \frac{(V - V_0) \cdot N}{m} \times 1000 \quad \text{où :}$$

V : est le volume de thiosulfate de Na de l'échantillon

V₀ : est le volume requis pour titrer le blanc

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium .

m : est la prise d'essai en grammes.

2.3. Analyse spectrophotométrique dans l'ultra-violet

Les diènes et les triènes conjugués sont à doser dans l'huile. Cet examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse. La détermination de l'absorbance à 232 nm et au voisinage de 270 nm permet la détection des produits d'oxydation des acides gras insaturés, lorsqu'ils ont une structure diénique conjuguée (exp : hydroperoxyde linoléique C18 : 2), et des produits secondaires d'oxydation ayant une structure triénique (dans le cas de la présence d'acides gras à trois doubles liaisons).

Les échantillons d'huile (0.05 g) sont dilués dans du hexane (5 ml), jusqu'à l'obtention de densités optiques (DO) inférieures à 1. La lecture des absorbances est effectuée dans une cuve en quartz par rapport à celle du solvant, sur un spectrophotomètre visible de marque Thermo Electron corporation (Nicolet Evolution 100) équipé d'une fibre optique d'1 cm d'épaisseur. La lecture des absorbances est effectuée dans une cuve en quartz par rapport à celle du solvant,

La loi de Beer Lambert précise que, pour un corps donné en solution à une longueur d'onde λ , l'absorption A est proportionnelle à l'épaisseur de la couche liquide traversée (l'épaisseur de la cuve) par le faisceau lumineux et à la concentration C du corps dans la solution.

$$A(\lambda) = \epsilon \cdot l \cdot c$$

Avec : A () : l'absorbance à la longueur d'onde λ .

C : la concentration, en grammes par 100 ml, de l'échantillon.

l : longueur de la cuve.

ϵ : coefficient d'extinction molaire.

Les valeurs sont exprimées comme extinction spécifique $E^{1\%}$ notée de façon conventionnelle par K et exprimé comme suit :

$$k = A(\lambda) / C \times S$$

A(λ): Absorbance à la longueur d'onde λ ,

C : Concentration de la solution en g/100ml,

S : chemin optique (1cm).

En vue de déterminer la variation de l'extinction spécifique (K), on mesure les absorbances de l'échantillon d'huile d'olive aux longueurs d'onde 264 nm et 274 nm. Les valeurs d'extinctions spécifiques à 232 nm et 270 nm et le K sont calculées selon la formule suivante :

$$k = k_{270} - \frac{1}{2}(k_{264} + K_{274})$$

K_{232} : extinction spécifique à $\lambda = 232$ nm ; K_{270} : extinction spécifique à $\lambda = 270$ nm

K_{264} : extinction spécifique à $\lambda = 264$ nm ; K_{274} : extinction spécifique à $\lambda = 274$ nm

3. analyse par chromatographie liquide haute performance

«HPLC» en phase inverse

3.1.Principe de la méthode

L'analyse des tocophérols est réalisée par HPLC en phase inverse équipé d'un détecteur UV-visible. Pour réaliser une séparation d'un mélange on le fait diluer notre échantillon dans un solvant puis on injecte un volume connu dans le système chromatographique à travers la boucle d'injection. Les composés du mélange sont transportés par la phase mobile dont laquelle ils sont solubles vers la colonne siège de la phase stationnaire. Sous l'influence des deux effets antagonistes : effet d'entraînement exercé par la phase mobile, effet de rétention exercé par la phase stationnaire, les constituants du mélange se déplacent à des vitesses différentes et sont séparés. Cette séparation est basée sur la différence d'affinité des composés du mélange vis à vis de la phase stationnaire, le constituant qui a plus d'affinité sera le plus retenu. Au niveau de détecteur, chaque composé du mélange sortant de la colonne est détecté donnant un signal, ce dernier est enregistré par le système de traitement des données sous forme d'un pic. L'ensemble des pics forme un chromatogramme (Rosset, R.1991)



Figure 2.1 : Description du système RP-HPLC utilisé

Système HPLC du Laboratoire de Recherche « Spectrochimie et Pharmacologie Structurale »

- **Réservoirs de la Phase mobile**

Les solvants utilisés comme phase mobile en chromatographie de partage sur phase stationnaire apolaire, doivent répondre à certaines exigences :

Pureté

La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants qui doit être de pureté analytique et filtré pour éliminer les particules solides qui risqueraient d'endommager la pompe ou de bloquer la colonne. Le filtre, en acier inoxydable d'une porosité de 2 μm , est placé à l'extrémité dans le réservoir à solvant

Compatibilité avec le système de détection

Il faut utiliser des solvants qui n'absorbent pas à la même longueur d'onde que l'analyte. Les limites de détection des solvants utilisés comme phase mobile dans l'étude de la vitamine E, sont très inférieures à 292 nm qui est la longueur d'onde maximale d'adsorption de la vitamine E.

Miscibilité des solvants

Si la phase mobile est constituée d'un mélange de solvants, ceux-ci doivent être complètement miscibles. En plus le soluté à séparer doit y être soluble.

- **Dégazeur**

La phase mobile devra être dégazée. Afin d'assurer une analyse stable à tout moment. La phase mobile passe à travers une tuyauterie spéciale faite de films de résine. Le dégazage est réalisé par réduction de la pression entourant cette tuyauterie. Cet élément peut dégazer séparément, jusqu'à 4 lignes.

- **Pompe**

C'est une pompe d'échange à deux têtes ayant de petites chambres (10 μL . par course), Cette pompe permet de déplacer la phase mobile avec deux pistons qui fonctionnent en alternance, et des clapets anti-retour, qui sont synchronisés avec la commande de piston pour remplir et vider la phase mobile de chaque chambre. Elle doit être inerte à la corrosion des solvants utilisés, offrir un bon choix de débits et être conçue pour réduire les pulsations au minimum. Cette pompe peut livrer un débit constant de 0,001 à 9,999 mL par minute, avec des pressions allant de 10 à 392 bars. La gamme de température de fonctionnement est de 4 à 35°C.

- **Injecteur**

Comme la pression dans le circuit pompe-colonne est très élevée, on utilise un moyen indirect pour introduire l'échantillon à l'entrée de la colonne. Celui-ci est d'abord introduit à l'aide d'une seringue dans un injecteur à boucle externe, cette boucle contient deux positions :

LOAD (charger) : On injecte toujours un volume supérieur à celui de la boucle, en prenant soin de ne pas introduire de bulles d'air dans la boucle. L'excès du liquide injecté est évacué par l'ouverture de vidange.

INJECT (injecter) : En tournant la valve vers cette position, seul le contenu de la boucle est dirigé en tête de colonne à travers la phase mobile. Dans cette position, on peut rincer les canaux des déviations de la vanne ; le solvant du lavage est évacué par une autre ouverture de vidange. Cette méthode d'injection a l'avantage de donner des résultats très reproductibles, d'une injection à l'autre.

- **Colonne de garde**

Une colonne de garde peut être placée entre le dispositif d'injection et la colonne analytique. Comme son nom l'indique, cette dernière est utilisée pour protéger la colonne analytique contre la perte d'efficacité, qui peut être provoquée par la présence de matière particulaire. Elle doit être remplie avec la même phase stationnaire que celle de la colonne analytique.

- **Colonne analytique : RP-HPLC**

Elle est constituée par un tube en acier inoxydable rempli par une phase stationnaire, qui se compose de greffons organiques apolaires (octadécyle C18), fixés sur des particules de silice. C'est une phase inverse, RP-HPLC (Reversed Phase – High Performance Liquid Chromatography). La qualité de la séparation dépend de la géométrie de la colonne, de la granulométrie des particules qui constituent la phase stationnaire et de la qualité du remplissage. Cet élément représente le noyau du système chromatographique. Les caractéristiques de la colonne utilisée sont les suivants :

- ✓ Longueur = 25 cm.
- ✓ Diamètre des particules = 5 μ m.
- ✓ Diamètre interne = 4,6 mm.

- **Détecteur**

C'est un détecteur UV-Visible, dispersif à longueur d'onde variable. Il mesure l'absorbance pendant l'élution de l'échantillon de la colonne. Il offre deux modes de détection, détection à longueur d'onde fixe ou détection en mode dual, La source utilisée est une lampe de deutérium, elle fournit la gamme de longueur d'onde 190 à 600 nm [34]. La longueur du chemin optique de la cellule est 10 mm, et son volume est 8 μ L. La température de fonctionnement est 4 à 35°C

- **Système de traitement des données**

C'est un ordinateur menu du logiciel, LC solution. Celui-ci permet d'enregistrer et de visualiser le signal de sortie du détecteur du système HPLC. Les données traitées peuvent être

imprimées. Le logiciel LC solution offre deux types d'applications qui intègrent la plupart des fonctions pour l'analyse : analyse en temps réel et analyse en différé.

a) Analyse en temps réel (LC Real Time Analysis) :

Elle nécessite la mise en marche du système, et le contrôle en mode software grâce au logiciel LCsolution.

b) Analyse en différé (Post-run analysis) :

L'analyse est effectuée sans que le système soit relié. Cette option permet d'éditer des dossiers de méthodes ou des fichiers séquentiels pendant l'acquisition des données.

3.2. Analyse quantitative

L'analyse quantitative en chromatographie à phase liquide est essentiellement une méthode comparative, elle est basée sur la relation reliant l'aire (A_i) ou la hauteur (H_i) du pic de l'analyte à sa concentration. Cette relation est établie par le détecteur qui mesure les variations des signaux selon les équations suivantes :

$$C_i = K_i \cdot A_i \quad \text{ou} \quad C_i = K_i \cdot H_i$$

Avec K_i : coefficient de réponse du détecteur

La stabilité des conditions d'analyse laisse le coefficient constant, ce qui donne une linéarité entre la variation des paramètres et les différentes concentrations de l'analyte. Cette linéarité est la base des différentes méthodes qui permettent la détermination de la concentration d'un échantillon inconnu. Parmi ces méthodes, la méthode d'étalonnage qui est la plus utilisée en CPL. Son principe est de tracer une courbe représentant la variation de signal (aire ou hauteur) en fonction de la quantité d'analyte.

Cette courbe est traduite par l'équation :

$$Y = a \cdot x + b$$

a: pente de la droite

b: ordonné à l'origine

Le dosage de l' -tocophérol par RP-HPLC est généralement réalisé par la méthode d'étalonnage externe ou interne en mesurant l'aire de pic de l'analyte.

3.3.Principe de l'étalonnage externe

Consiste à réaliser l'injection d'un volume reproductible et identique des solutions étalons, préparées avec des concentrations bien précises à partir du l'étalon de pureté connu. Les valeurs des aires des pics correspondants à chaque concentration sont représentées sur une droite d'étalonnage d'équation de type :

$$A_r = f(C_r)$$

Si cette droite est linéaire, son équation peut être écrite comme suit :

$$A_{ét} = a \cdot C_{ét} + b$$

Où :

$A_{ét}$: Aire du pic de l'étalon pur ; a : Pente de la droite.

$C_{ét}$: Concentration de l'étalon pur ; b : Ordonnée à l'origine.

Pour déterminer la concentration de l'analyte dans un échantillon inconnu, il suffit d'injecter le même volume de celui-ci après traitement, et dans les mêmes conditions. La concentration $C_{éch}$ est calculée à partir de l'aire de pic obtenu ($A_{éch}$) par deux manières :

- Soit par l'équation de la droite suivant la relation :
$$C_{éch} = \frac{A_{éch} - b}{a}$$
- Soit par projection de la valeur d'aire sur la droite en utilisant un logiciel approprié.

La précision des résultats dépend :

- Des pesées de la substance de référence et de l'échantillon.
- Des dilutions, de la reproductibilité du volume de l'injection.

L'avantage de la méthode est que le volume de l'injection n'a pas une grande importance à condition qu'il demeure constant lors de l'étalonnage et l'analyse dans des conditions chromatographiques strictement invariantes (Rosset R, 1991)

Dosage

Une solution-mère de référence de α tocophérol est préparée dans du éthanol. La détermination de leur concentration est effectuée par UV lors de chaque série d'analyses. Pour chaque série, une solution étalon à injecter est préparée à partir de chaque solution-mère de α tocophérol et la détermination de leur concentration est effectuée par UV.

3.3.1. Préparation de la solution mère

o Procédure

L' α -tocophérol commercial est obtenu de la compagnie Fluka dans un petit flacon en verre ambré de 25g, le test par spatule montre que c'est un solide visqueux de couleur jaune claire qui ne coule pas et qui colle, difficile à peser.

La préparation de la solution-mère est faite par la manière suivante :

Par la spatule on fait un prélèvement d'une masse de l' α -tocophérol pure et diluer dans un volume de 10mL d'éthanol de grade HPLC. Avec la micropipette, on prend un volume de cette solution et compléter à 10mL d'éthanol puis on mesure l'absorbance de cette solution en appliquant la « méthode scan » du spectrophotomètre. Cette absorbance va nous permettre de calculer les concentrations de la solution préparée en appliquant la loi de Beer Lambert. Pour vérifier la pureté de notre produit on injecte une solution de concentration un peu élevée dans le système chromatographique.

○ Matériel et réactifs

- 2 fioles jaugées de 10 ml. (Pour les solutions de l' α -tocophérol)
- Micropipettes (50-200 μ L, 100-1000 μ L)
- 2 béchers de 25 ml,
- 2 flacons de 15 ml,
- Tubes Eppendorf,
- Papier d'aluminium,
- Spectrophotomètre UV-Visible,
- Cuvette en quartz
- Ethanol qualité HPLC,
- Solution- mère de l' α -tocophérol (C = 3210 μ mol/L),

○ Préparation

Prélever avec la micropipette 145 μ L de la solution mère de l' α -tocophérol et compléter le volume de la fiole jaugée de 10 mL avec l'éthanol qualité HPLC, Transférer la solution dans un flacon de 15 ml, emballer avec du papier aluminium, étiqueter et stocker au frais.

Pour confirmer les concentrations par test UV qui est comme suit :

- A partir de menu charger l'option "fixed",
- Commander la lecture de l'absorbance à une seule longueur d'onde, entrer la valeur de l'absorbance maximale pour la solution analysée (l' α -tocophérol:292 nm) et valider, Sauvegarder la méthode dans la librairie, Remplir le $\frac{3}{4}$ du volume de la cuvette de quartz par l'éthanol absolu,
- Placer la cuvette dans l'appareil et appuyer sur le bouton « Zéro base »
- Rincer la cuvette avec une petite quantité de la solution à analyser et remplir ensuite $\frac{3}{4}$ de son volume par la même solution,
- Essuyer avec un papier doux les parois externes de la cuvette,
- Lancer le test en appuy sur le bouton « run », la valeur de l'absorbance S'affichera sur l'écran,

Répéter l'opération trois fois pour avoir trois lectures d'absorbance pour chaque solution analysée,

- Sauvegarder les valeurs de l'absorbance *Abs 1*; *Abs2* et *Abs3* affichées sur l'écran pour calculer les concentrations.

3.3.2. Préparation des solutions étalon

Les solutions étalon ont été préparées dans 5 tubes eppendorf différents on combinant les volumes des solutions secondaires comme suit :

- 0 ; 50 ; 70 ; 100 ; 130 ; 150 μ L de solution de l' α -tocophérol,
- Compléter le volume à 1 ml avec la solution de l'éthanol,
- Fermer les tubes, emballer dans le papier aluminium, étiqueter et stocker au frais .
- mettre en marche le système HPLC selon les conditions suivantes :
- mode d'élution gradient,
- phase mobile CH₃OH/CH₃CN (70% :30%),
- débit 1.5 mL/min,
- volume d'injection 20 μ L,
- longueur d'onde 292 nm,
- atténuation 0,005 AUFS,
- injecter les solutions étalon

3.3.3. Traitement des échantillons

On a les 4 échantillons à analyser. La première étape de processus analytique consiste en une préparation de l'échantillon avant l'analyse. La réalisation de cette étape dépend de deux performances :

Le volume de la prise d'huile d'olive traité et le solvant ou mélange de solvants pour l'extraction de l' α -tocophérol.

On a utilisé 2 méthodes, méthode d'évaporation et méthode directe, avec la méthode d'évaporation on consommé beaucoup de temps et de solvant, donc on a choisie 2^{ème} méthode qui est plus simple et élimine le risque de perte ou de dégradation de la vitamine E suite au chauffage. Puis on a procédé comme suit :

- Classement des échantillons de la série à analyser sur la paillasse.
- Préparation en double les tubes eppendorff, selon le nombre d'échantillons prévus,
- Etiquetage les tubes deux à deux,
- Pesage de 360 mg du premier échantillon dans le premier tube par une balance analytique.
- Refaire la même opération pour l'ensemble des échantillons de la série,
- préparation d'un échantillon d'huile de concentration connue 27 μ mol /l
- Ajout de 300 μ L d'isopropanol ,

- Centrifugation à 13000 rpm, pendant 5 min.
- Mise en marche du système HPLC,
- Prélèvement du surnageant (à l'aide de la seringue conçue pour l'injection), sans toucher les parois du tube ou le précipité et charger la boucle d'injection,
- Et enfin, Injection des échantillons (Anna Gliszczynska- Świąło, Ewa Sikorska, 2004)

CHAPITRE III :
RESULTATS ET
DISCUSSION

1. Analyses chimiques

1.1 Paramètres analytiques

1.1.1 Acidité

D'après les résultats consignés dans le figur 3.1, nous remarquons que toutes les valeurs d'acidité exprimées en (% d'acide oléique) oscillent entre (0.28 et 0.46%) qui sont dans l'intervalle des caractéristiques de la qualité des huiles végétales qui est au maximum de 10% et on remarque aussi que les huiles AFIA et LABELLE ont les valeurs les plus élevées . Ces deux huiles sont extraites à partir des systèmes de pressage et le raffinage. Par ailleurs, les deux autres huiles sont des huiles non raffinées.

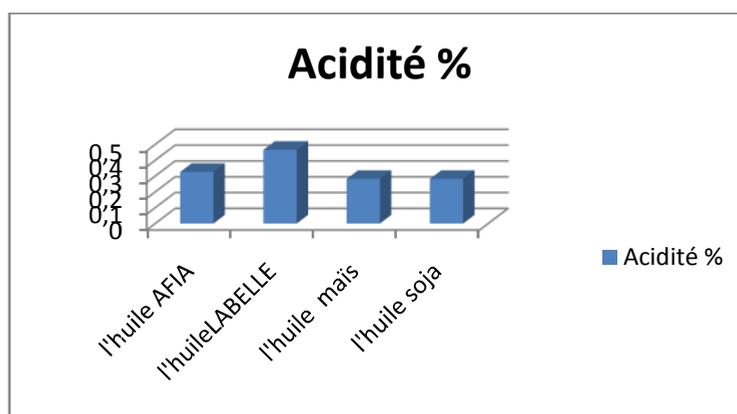


Figure 3.1 : l'évolution de l'acidité (%) des huiles végétales.

1.1.2. Indice de peroxyde

L'oxydation de l'huile commence après que les grains soient cueillis, et continue pendant le stockage des fruits et leur traitement. Les premiers produits formés par l'attaque de l'oxygène, activé sur les doubles liaisons des chaînes d'acides gras, sont des composés peroxydés instables, et des hydroperoxydes dont la structure va dépendre de la nature des acides gras attaqués (acides mono-, di-, tri- ou polyinsaturés).

Ces huiles présentent des teneurs en indice de peroxyde allant de 2.93 à 9.61 (mécq O₂/Kg d'huile).

Nous remarquons que l'huile Labelle est la moins peroxydée en la comparant avec les autres valeurs d'indice de peroxyde à cause de la durée de conservation, Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet synergique et par la structure de l'acide gallique qui a trois fonctions phénols pouvant par ailleurs céder trois hydrogènes aux radicaux peroxydes (RO^o) et aux

radicaux hydroperoxydes (ROO°). Par conséquent, il est susceptible de stabiliser trois fonctions radicalaires.

Ainsi, le corps gras extrait peut en effet être oxydé au cours de l'extraction et/ou lors de la distillation par solvant, totalement protégé de l'air, ou au contraire les peroxydes qu'il contient peuvent être détruits si la matière grasse est portée au cours des manipulations à plus de 130°C .

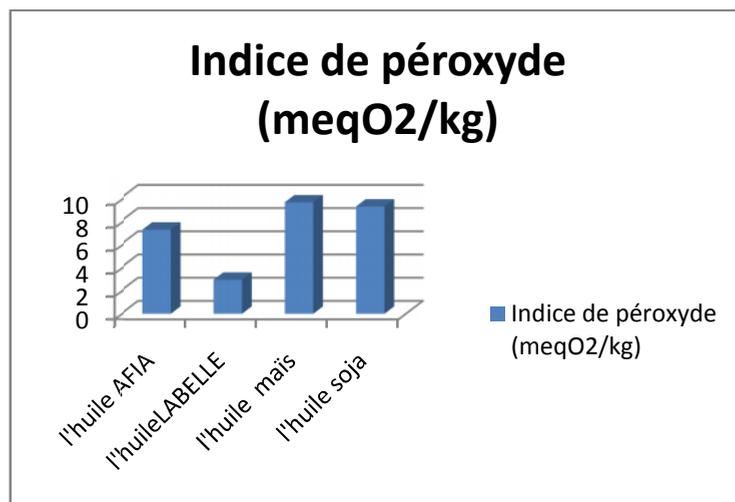


Figure 3.2 : l'évolution de l'indice de peroxyde (meq O₂/Kg) des huiles végétale

1.1.3. Absorbances aux rayonnements UV

Les réactions d'isomérisation aboutissent à la formation de diènes et de triènes conjugués qui absorbent la lumière dans le domaine UV entre 232 et 270 nm (Yadav, M. K., 2004)

En effet, les diènes conjugués et les produits primaires d'oxydation des acides gras se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical alkyle des acides gras polyinsaturés, qui lorsqu'ils ont une structure diénique conjuguée tel que l'hydroperoxyde linoléique, absorbent la lumière au voisinage de 232 nm. Les triènes conjugués (dans le cas de la présence d'acides gras à trois doubles liaisons) et les produits secondaires d'oxydation tels que les aldéhydes et cétones - insaturés, absorbent la lumière vers 270 nm. La détermination des absorbances au voisinage de 232 nm et au voisinage de 270 nm permet de détecter et d'évaluer les quantités des produits d'oxydation : plus l'extinction à $\lambda = 232$ nm est forte, plus elle est peroxydée. De même plus l'extinction à $\lambda = 270$ nm est forte, plus elle est riche en produits d'oxydation secondaires et traduit une faible aptitude à la conservation (Wolff J.P ;1968)

Le rapport $R=E_{232}/E_{270}$ qui est en général supérieur à 10 ou 20 dans les corps gras vierges et est inférieur à 2 dans les corps gras raffinés

On peut utiliser pour mettre en évidence les triènes conjugués :

-l'aspect caractéristique du spectre UV vers 270 nm

-l'évaluation des triènes conjugués par la mesure de Δk . Et d'après ces spectre on conclu que l'huile AFIA contient des produits d'oxydation tandis que Labelle, soja et maïs contiennent des triènes conjugués.

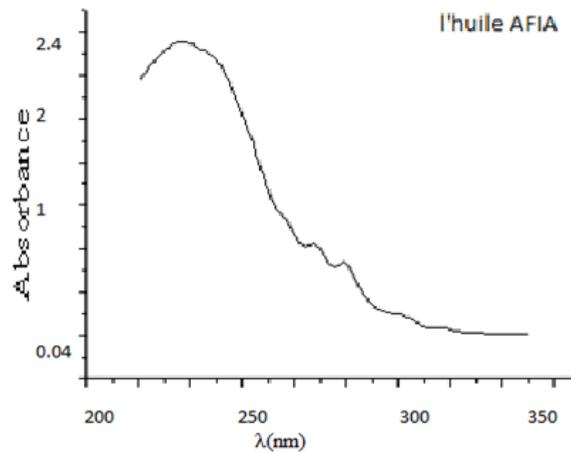


Figure 3.3 : Spectre d'absorption UV de l'huile AFIA

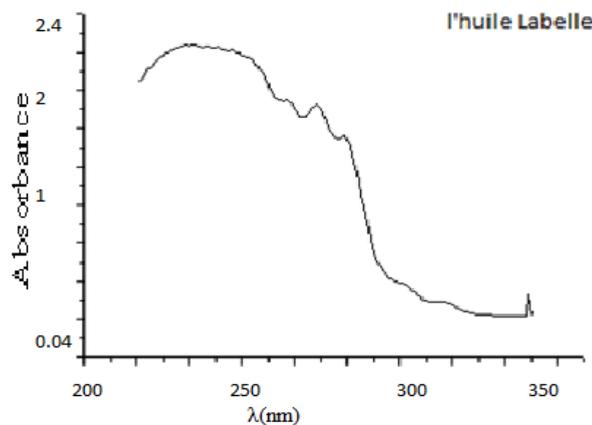


Figure 3.4 : Spectre d'absorption UV de l'huile LABELLE

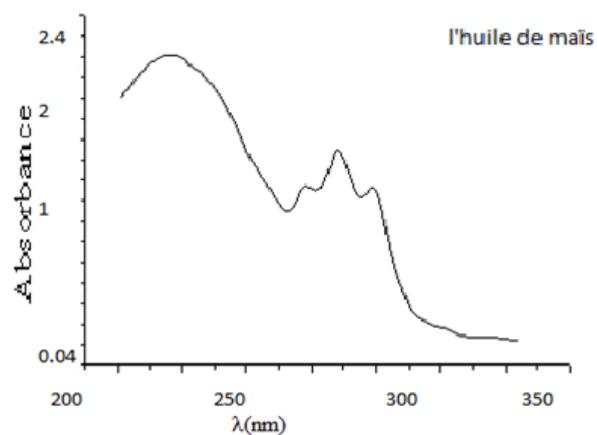


Figure 3.5 : Spectre d'absorption UV de l'huile de maïs

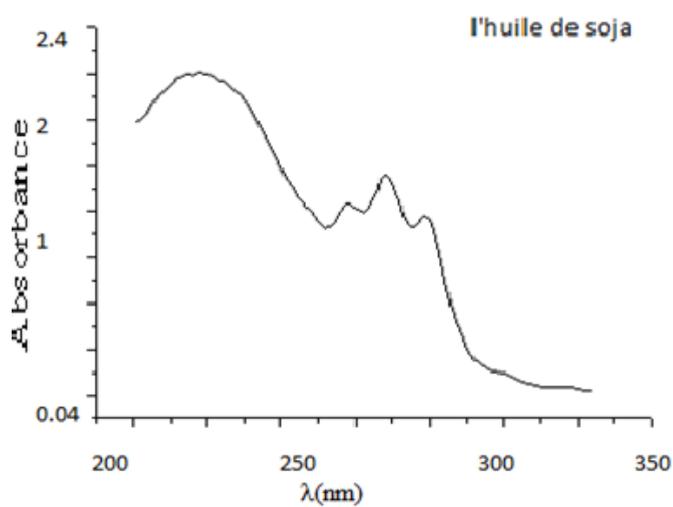


Figure 3.6 : Spectre d'absorption UV de l'huile de soja

Les résultats obtenus dans l'analyse des paramètres analytiques sont regroupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3.1 : résultats des paramètres analytiques.

	Acidité (%)	Indice de Peroxyde (meq O₂/Kg)	K232	K270	K264	K274	k	R
L'huile Afia	0.3266	7.2583	3.165	0.996	1.03	0.81	0.076	3,179
L'huile Labelle	0.4661	2.9373	3.545	2.753	2.662	2.437	0.204	1,287
L'huile de maïs	0.2820	9.6185	3.009	2.281	2.007	1.841	0.357	1,319
L'huile de soja	0.2828	9.2592	3.105	2.318	2.089	1.881	0.333	1,339

1. 2. L'analyse de l' -tocophérol**1.2.1. Identification du pic de l' -tocophérol dans l'huile AFIA avec l'étalon pur et l'échantillon dopé**

L'Identification est réalisée par HPLC, le principe est basé sur la comparaison de temps de rétention du pic de l'analyte dans l'échantillon d'huile Afia avec le même échantillon dopé avec l'étalon pur.

Le chromatogramme suivant représente la comparaison des pics obtenus :

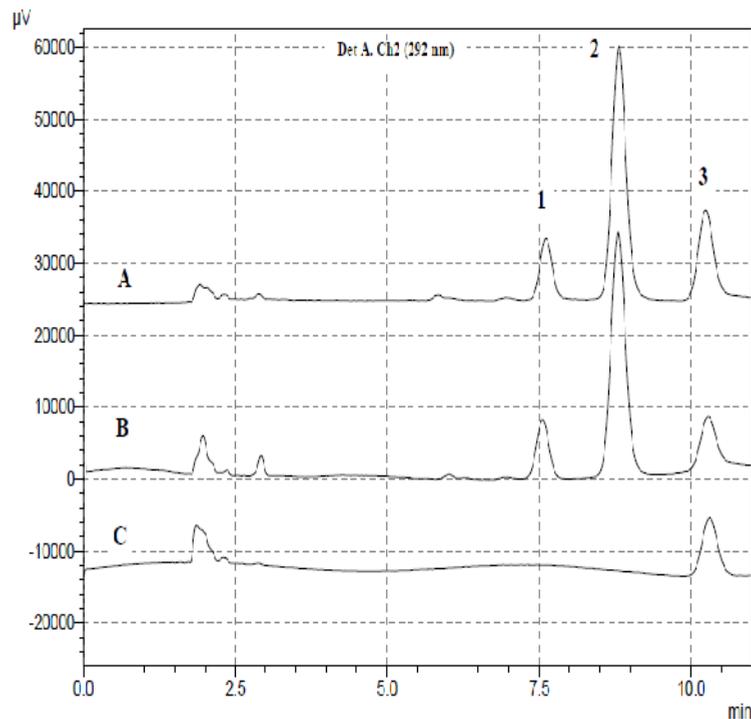


Figure 3.7 : Identification du pic de l' -tocophérol (1 : γ -tocopherols, 2 : (β + γ)- tocophérol.

3 : α –tocophérols (Anna Gliszczyńska- Świąło*, Ewa Sikorska ,2004)

A : Echantillon d'huile Afia de concentration connue

B : Echantillon d'huile Afia

C : Etalon pur

1.2.2.la droite d'étalonnage externe

Les concentrations finales des solutions secondaires sont calculées d'après la loi de Beer Lambert et après détermination du degré de pureté de chaque substance par RP-HPLC, comme suit :

- Calcul de l'absorbance moyenne de la solution secondaire diluée dans l'éthanol :

Tableau 3.2 : Résultats de l'analyse UV des solutions

	Absorbances				concentration
	Abs1	Abs2	Abs3	Abs moy	en ($\mu\text{mol/L}$)
L' α -tocophérol	1,335	1,343	1,344	1,340	410,617

Tableau 3.3 : Résultats de l'analyse HPLC des solutions étalons

Etalon	concentration ($\mu\text{mol/l}$)	Aires du pic	Hauteur
<i>α - tocophérole</i>			
1	0	0	0
2	20.729	111068	6435
3	41.459	205476	11855
4	62.189	326224	18766
5	62.189	329063	19105
6	123,185	624264	38210

Les résultats cités dans le tableau précédant nous permettent de tracer la droite d'étalonnage externe en utilisant le logiciel « origine ». Cette courbe est représentée dans la figure suivante :

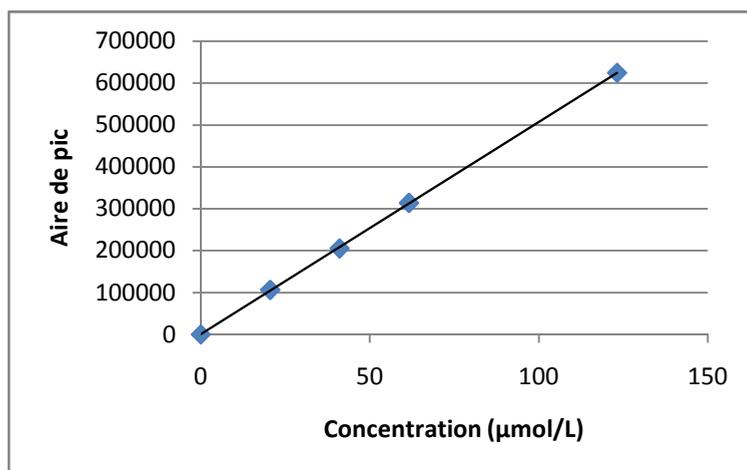


Figure 3.8 : Droite d'étalonnage interne.

2. Résultats de l'analyse RP- HPLC des échantillons :

Les concentrations des échantillons de la série sont quantifiées par une droite d'étalonnage externe dont l'équation est la suivante :

$$y = 5065 x + 338.9$$

Tableau 3.4 : Résultats de l'analyse RP- HPLC des échantillons.

Echantillon d'huile	Aire du pic	Concentration (mg/100g)
Afia	150816	1.391
Labelle	162507	1.499
Mais	833614	7.629
Soja	683265	6.305

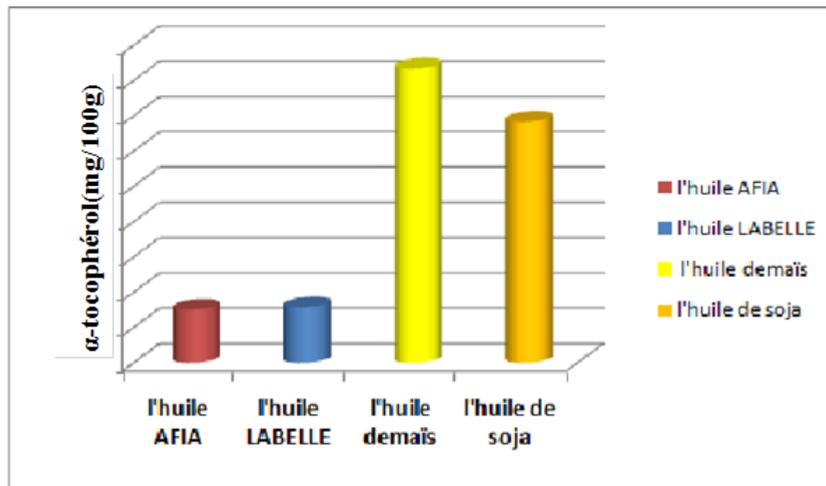


Figure 3.9 : Teneur des tocophérols dans les huiles végétales.

L'analyse des tocophérols indique des teneurs élevées en α -tocophérol (entre 1.391 et 7.62905 mg/100g). Néanmoins, des différences significatives sont souvent notées entre les échantillons d'huiles, les huiles alimentaires raffinés l'huile Afia et l'huile Labelle se distinguent par une faible quantité en α -tocophérol et les autres huiles végétales renferment les teneurs les plus élevées en α -tocophérol.

CONCLUSION

L'objectif de cette étude est d'étudier principalement la teneur de la vitamine E dans quelques échantillons d'huiles végétales algériennes sous le thème «Détermination de la capacité antioxydante des huiles végétale» et on a fait des analyses chimiques des paramètres physico-chimiques.

L'acidité est significativement plus élevée dans les huiles Afia et Labelle ainsi que les huiles de maïs et de soja ; l'huile Afia se caractérise par des valeurs en indice de peroxyde assez grandes, extraites à partir des systèmes de pressage respectivement.

Les mesures spectrophotométriques dans l'UV Visible montrent que l'huile Afia étudiée est une huile lampante raffinée.

Ce travail est une étude analytique, qui nous a permis de déterminer la teneur en α -tocophérol dans les huiles végétale alimentaire algériennes d'origines différentes au moyen de la chromatographie liquide à haute performance (RP-HPLC).

La détermination de l' α -tocophérol dans les huiles alimentaire semble être difficile en raison de la complexité de la matrice utilisée. L'extraction de ces éléments par le solvant isopropanol proposé par Anna Gliszczynska-Świgło et Ewa Sikorska a répondu à notre but. La quantification est réalisée par l'étalonnage externe et la compensation des erreurs a été largement vérifiée tout au long de cette étude.

Les premiers résultats de l'étude indiquent que la teneur en α -tocophérol des huiles végétales alimentaires en d'Algérie est assez variable. L'huile de soja et de maïs, renferment les teneurs les plus élevées en α -tocophérol avec 7.6 mg /100g suivi par les huiles Afia et Labelle avec un taux de 1.4 mg/100g.

D'après l'ensemble des résultats obtenus, nous pouvons conclure que la proportion de α -tocophérol est fonction de plusieurs facteurs tels que la nature de l'huile, l'origine géographique, le climat, la culture, la méthode d'extraction, le raffinage et le stockage.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alfred Thomas,(2002),

Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 6th Edition, Fats and Fatty Oils

Anna Gliszczynska- Świąło, Ewa Sikorska(2001),

Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils, *Journal of Chromatography A*, 1048 (2004) 195–198

ANNEXE1.

Composition des lipides (Information des lipides nutritionnels sur les lipides) 13- 16-17

Anonyme

Par direction générale du contrôle économique et de la répression des Fraudes(*DGCERF*).
Guide de contrôle des huiles de friture

Anonyme V. (1996).

La biologie du Glycine *max* (L.) Merr. (soja). Cahier parallèle à la Directive 94-08, Critères d'évaluation du risque environnemental associé aux végétaux à caractères nouveaux: 4-5.

Anonyme ,

Licence STE – Biochimie 1 : les lipides , p1 .

Anonyme .

Les huiles.Com : Les huiles et les acides gras

Anonyme .LIPIDE .DOC .

STRUCTURE ET PROPRIETES DES LIPIDES.1p

Anonyme. (2008).

Par Groupe du Lipides Huilerie du France, les huiles végétales consommation directe.7-9
Azoulay ; Paris : 259-266.

Boyd B ,Ford C,Koepke Michael C,Gary K ,Horn E , Mcanalley S,et Mcanalley B.(2003) .

Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé .*Glycoscience and nutrition* .4(6) ;p7

Carol Kohler,Philippe Msika ,Antoine Piccirilli ,(2001)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Huile végétale naturelle concentrée en insaponifiable comme ingrédient alimentaire, EP 1280420 A1, WO2001070046A1

Charles, A. et Den G.(1997) .

Abrégé de Biochimie alimentaire. 4eme Edition : Masson, Paris, 225-232.

CODEX ALIMENTARIUS (1993).

Annexe V, avant-projet de norme pour les huiles végétales portant un nom scientifique. compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité en chimie,*

Cossut, J., Defrenne, B., Desmedt, C., Ferroul, S., Garnet, S., Roelstraete, L., Vanuxeem, M. et Vidal, D. (2002).

Les Corps Gras: Entre Tradition et Modernité. Gestion de la Qualité Nutritionnelle et Marketing des Produits Alimentaires. pp: 2 1-64.

Debruyne, I.(2001).

Soja: transformation et aspects industriels. Techniques de l'ingénieur. F6030. pp: 1-12.

DEMIR, C., CETIN, M., (1999).

Determination of tocopherols, fatty acids and oxidative

Denise, J. (1992).

Raffinage des corps gras. *In* Manuel des corps gras. Volume 2. Ed. Tec et doc Lavoisier. pp: 789-881.

DJOM J. H. (1993).

Suivi de la palmisterie du processus de fabrication de l'huile de palme et contrôle de qualité des produits finis. Mémoire de fin d'étude. ENSIAAAC .Université de Ngaoundéré. **52 P**

FAO/OMS (1993).

Les graisses et huiles dans la nutrition humaine : Rapport d'une commission mixte d'experts, Rome 19-26 Oct 1993.

Favier, A. (2003).

Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la

Hadi M.(2004)

La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro- oxydant ou capteur de radicaux libres : études et applications thérapeutiques .Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en science de l'université Louis Pasteur Domaine : Pharmacochimie.155p

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hale A .L.(2003)

Screening potato genotypes for antioxidant activity, Identification of the responsible compound, and differentiating russet norkotah strains using a flp and microsatellite marker analysis .Office of graduate studies of Texas A and M University. Genetics. 260p

Halliwell, B; Gutteridge, J.M.C. (1999).

Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.

Harwood, J. et Aparicio, R. (2000)

Handbook of olive oil – Analysis and properties, An Aspen publication, Aspen Publishers,

Hubert, J. (2006).

Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja- Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse: 13-52.

Isabelle Hininger-Favier. 2010-2011.

Les lipides et dérivés. Université Joseph Fourier DE GRENOBLE .1-2.

Johnson (D.R.) et Gu (L.C.) ,(1988).

In: Autoxydation and Antioxydants, John Wiley, New York, pp. 433-448.

Jung, M. et Min, D. (1990)

Effects of α , β and γ tocopherols on oxidative stability of soybean oil. J. Food Sci, 55: 1464-1465

kessous .C .(1987) .

Biochimie structurale, édition OPU .2p

Kiritsakis, A.K. (1998).

Flavour components of olive oil—A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 75(6):673-681.

Kiritsakis, A.K. et Christie, W.W. (2000)

Analysis of Edible Oils. In: Handbook of Olive Oil – Analysis and Properties – An Aspen Publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, USA, 129-158.

Laisney, J. (1992).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Obtention des corps gras. *In* Manuel des corps gras. Volume 1. Ed. Tec et doc. Lavoisier. pp: 695-768.

Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L. et Wul M.J., (2003).

Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of food and Drug Analysis*. 11(1) : 60-66.

MAMBAP S. R. (1989).

Etude chimique et valorisation des graines de soja. Mémoire de fin d'études. ENS université de Yaoundé. Page 8
maturation. *International Journal of Food Science and Technology* 34:265–274.

Maydani M ,(2000)

vitamin E and prevention of heart disease in high-risk patients. *Nutr Rev*.58 ,278-281

Mohtadji-Lamballais, C. (1989).

Les aliments. Ed. Maloine. pp: 94-102.

Mustapha, A. et Stauffer, C. (2002).

Les matières grasses destinées aux produits de boulangerie. *American Soybean Association*. N°23: 4-20.

Mustapha, A. et Stauffer, C.(2002).

Les matières grasses destinées aux produits de boulangerie. *American Soybean Association*. N°23: 4-20

NDEYE A. K. (2001).

Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées aux SENEGAL. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en pharmacie.

NDEYE A. K. (2001).

Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées aux SENEGAL. Thèse pour l'obtention du grade de docteur en pharmacie.

Nihad Nia. (2008).

Suivi et comparaison des paramètres physico-chimiques de l'huile de soja raffinée chimiquement et enzymatiquement, produites par Cévital . Université Abderrahmane Mira , Béjaïa .2P

NJUSSA M. (1999).

Etude des propriétés physico-chimiques des huiles végétales camerounaises. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du D.I.P.E.S.II, **50 P.**

NJUSSA M. (1999).

Etude des propriétés physico-chimiques des huiles végétales camerounaises. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du D.I.P.E.S.II, **50 P.**

Platon, J. F. (1988).

Raffinage de l'huile de soja. *American Soybean Association* N°19: 3-30.

Pouzet, A.(1992).

Sources et monographies des principaux corps gras. In Manuel des corps gras. Volume 1. Ed. Tec et Doc. Lavoisier. pp: 131-136

R .Laouer,

Développement de la méthode RP-HPLC pour le dosage de la vitamine E plasmatique des enfants d'âge préscolaire de la wilaya de Tlemcen, , CHU Tlemcen. Thèse de magister, U.Tlemcen

RENE O. et PATRICE J. (1979).

L'équilibre alimentaire : le document de la croix rouge française paris, Flammarion, 245P.

Rosset R., Cande M., Jardy A. (1991),

Chromatographie en phase liquide et supercritique, Masson, Paris,,

Ryan, D., Robards, K., Lavee, S. '(1999)

Changes in phenolic content of olive during stability of pecan, walnut and sunflower oils. *Deutsche Leb.Runds.* 95, 278-282

Uzzan, A. (1984)

Propriétés et emploi des huiles et graisses. In «Manuel d'alimentation humaine» JACQUOT.R, et al. Tome 2, Edition : ESF, Paris, 226-230.

Uzzan, A. (1992)

Olive et huile d'olive. In «Manuel des corps gras» Karleskind, A. Tome 1, Ed :Lavoisier, Paris, 221-228.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

vansant G.(2004)

radicaux libres et antioxydants :principe de base .symposium « Antioxydants et, alimentation » Institut Danone.

Véronique Jacob, (2010),

La Chromatographie Liquide haute Performance (HPLC), laboratoire de Génie Analytique

Wendy, B.W. (1996)

Activités antioxydante et antiradicalaire de composés phénoliques et d'extraits végétaux en systèmes modèles et en cuisson-extrusion. Thèse de Docteur en Sciences, Spécialité Science Alimentaires, E.N.S.I.A, Massy, 112 pages.

Wolff J.P ;(1968).

Méthodes générales d'analyse ; dosage des produits d'oxydation. Ed ;

Xavier PAGÈS-XATART-PARÈS.(2012) .

Technologies des corps gras (huiles et graisses végétales). Techniques de l'Ingénieur . F 6 070 – 10

Yadav.M.K., Chudasama.C.D., Jasra.R.V. (2004).

Isomerisation of α -pinene using modified montmorillonite clays, J. Mol. Catal. A Chem., 216, 51-59.