

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID –TLEMSEN

Faculté des Sciences

Département de chimie

LABORATOIRE DE CHIMIE ORGANIQUE SUBSTANCES NATURELLES ET
ANALYSES –COSNA-



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de
Master en Chimie

Option : Chimie Bio-Organique & Thérapeutique

**Extraction et identification des
AGE du lait**

Présenté par : LAZOUNI Imane

Soutenu publiquement le 10/06/2015 devant le Jury composé de :

Mme SEBAA née LEMERINI Wafaa, MAA	Présidente	UAB-Tlemcen
Mr. KAJIMA MULENGI Joseph, Pr	Examineur	UAB-Tlemcen
Mr. BENDIABDELLAH Djamel, MAA	Examineur	UAB-Tlemcen
Mr. MOSTEFA KARA Bachir, Pr	Examineur	UAB-Tlemcen
Mr. MEZRAI Abdelmoumine, Dr	Examineur	UAB-Tlemcen
Mlle. NEGADI Latifa, Pr	Examinatrice	UAB-Tlemcen
Mme. DRICI Wassila, MCA	Examinatrice	UAB-Tlemcen
Mme. KENICHE née SLIMANI Assia, Dr	Examinatrice	UAB-Tlemcen
Mr. ARRAR Zoheir, MCA	Encadreur	UAB-Tlemcen

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A la mémoire de Mon grand-père, que dieu repose son âme en paix.

C'est avec respect et gratitude que je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et ma sympathie

A mes parents,

Pour m'avoir toujours entourée d'affection,
Merci pour tant de patience, de confiance, générosité et de force. Trouvez dans ce travail le fruit de vos indéfectibles efforts et qu'il puisse récompenser votre patience. Puisse Dieu vous accorder santé et longévité.

A mon frère Mohammed Réda, mon exemplaire dans la vie

Qui m'a soutenue, rassurée et aidée,
Et m'a apporté des touches d'humour et de complicité.

Merci de former une famille unie, aimante, qui m'a toujours soutenu et encouragé.

A mon oncle Abderahmane,

Qui m'a toujours encouragée,
Et a toujours gardé confiance malgré mes doutes.

A toute ma grande famille sans exception, mes deux grands-mères, oncles, tantes, cousins et cousines ...

A mes très chères amies et sœurs Samia & Amina,

Pour leur gentillesse, leur écoute et leur soutien aux moments de mes premiers pas dans le monde de la recherche.

Grâce à vous cette année a été ponctuée de moments d'évasion.

A tous mes Amis,

Pour notre amitié et tous les bons moments passés et à venir,
Pour votre présence, vos bons conseils et en particulier à Nadjiya, Imène, Wassila, Esma, Abdelkarim et Amine.

Sans oublier tous les autres ...

Un très grand merci à tous et à toutes.

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de nous a donné le courage, la force, la santé et la persistance.

Mes remerciements à la Direction générale de la recherche scientifique et le développement technologique pour la confiance et l'appui constant durant ces années de formation.

J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche au sein du laboratoire de chimie organique, substances naturelles et analyse (COSNA) de la faculté des sciences de Tlemcen (Abou Bekr Belkaid) sous la direction du professeur KAJIMA MULENGI Joseph. Qu'il retrouve ici l'expression de mes remerciements les plus chaleureux et les plus sincères de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire ainsi que pour son aide, sa patience et ses précieux conseils.

Je remercie mon promoteur Monsieur ARRAR Zoheir enseignant au département de chimie à l'université Abou Bekr Belkaid pour l'honneur qu'il m'a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils et sa patience tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Je remercie, madame LEMERINI Wafaa qui m'a fait l'honneur d'accepter de présider le jury. Hommages respectueux.

J'adresse également mes remerciements à Messieurs J. KAJIMA MULENGI, B. MOSTEFA KARA, D. BENDIABDELLAH, A. MEZRAI ainsi qu'à madame DRICI, madame KENICHE, mademoiselle NEGADI et madame SEBAA d'avoir accepté de juger ce travail.

Il serait vain de citer tous les enseignants ayant participé à ma formation. Je dis merci.

Que mes vifs remerciements aillent à Monsieur CHAABANE SARI Abdelhak pour m'avoir permis de réaliser une partie de mon travail au sein du laboratoire d'analyses physico-chimiques de la Laiterie GIPLAIT El Mansourah.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance et mes sincères remerciements à Madame BENDIMERAD Nihel qui m'a accueillie au sein de son laboratoire d'analyse d'eau et des produits agroalimentaires.

Je témoigne mon profond respect et toute ma gratitude à Monsieur BENDIABDELLAH, pour son aide, sa patience et les conseils qu'il m'a donnés.

Enfin, je tiens à remercier tous les enseignants et étudiants en post-graduation à COSNA pour leur encouragement et leur amitié en particulier à Monsieur Hassane BENARIBA, M^{elle} BENYAMINA Samia, M^{elle} AMOURI Amina, M^{elle} BENYOUCEF Fatima, BOUAZZAOUI Wafaa et M^{elle} Farah BENATTIA, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Sommaire

Liste des figures

Liste des schémas

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction Générale

***Introduction*..... 1**

Première partie : Etude Bibliographique

1. Le lait..... 3

1.1. Définition et législation..... 3

1.2. Composition chimique du lait..... 3

1.3. Les différentes formes de présentation à la consommation du lait et de ses produits dérivés..... 11

1.4. La place du lait et des produits laitiers dans l'alimentation de l'Homme à tous les âges de la vie 17

2. Les acides gras 18

***Introduction*..... 18**

2.1. Définition 19

2.2. Classification..... 19

2.3. Propriétés des acides gras 19

2.4. Acides gras essentiels 21

3. Chromatographie en phase gazeuse 23

***Introduction*..... 23**

3.1. Définition 24

3.2. Principe 24

3.3. Appareillage 25

Deuxième partie : Partie Expérimentale

***I. Matériels et méthodes*..... 30**

***Introduction*..... 30**

1.	Détermination des propriétés physico-chimiques du lait	30
1.1.	Le pH	30
1.2.	La matière sèche totale (MST) ou extrait sec total (EST)	31
1.3.	La densité	31
1.4.	L'acidité titrable du lait.....	32
2.	Extraction de la matière grasse du lait	33
	Introduction	33
2.1.	Méthode (1) : la méthode acido-butyrique de Gerber.....	33
2.2.	Méthode (2) : Dosage de la matière grasse du lait par la méthode Rose-Gottlieb.	34
2.3.	Méthode (3)	35
3.	Extraction des acides gras du lait et transformation en esters méthyliques	43
3.1.	Introduction.....	43
3.2.	Mode opératoire	45
	II. Résultats et discussions	48
1.	Détermination des propriétés physico-chimiques du lait	48
1.1.	Détermination du pH.....	48
1.2.	Détermination de la matière sèche totale	48
1.3.	Détermination de la densité	48
1.4.	Détermination de l'acidité titrable	49
2.	Extraction de la matière grasse du lait	49
2.1.	La méthode acido-butyrique de Gerber	49
2.2.	La méthode de Rose Gottlieb.....	50
2.3.	La méthode (3).....	50
3.	Extraction et estérification des acides gras du lait	61
3.1.	Extraction des acides gras	61
3.2.	Estérification des acides gras	61
	Conclusion Générale	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
	Références Bibliographiques	65

Liste des figures

Figure 1: Formules spatiales des anomères α et β du lactose.....	5
Figure 2: Détail de l'organisation membranaire d'un globule gras	6
Figure 3: Composition de la matière grasse du lait.....	6
Figure 4: Structure de la micelle de caséine.....	7
Figure 5: Structures chimiques de quelques vitamines liposolubles contenues dans le lait.	8
Figure 6: Structures chimiques de quelques vitamines hydrosolubles contenues dans le lait. .	8
Figure 7: Structure chimique de l'acide orotique.	9
Figure 8: Pasteurisateur pour la pasteurisation basse.....	12
Figure 9: Pasteurisateur HTST.....	13
Figure 10: Thermoflach pour pasteurisation flash.	13
Figure 11: Stérilisateur UHT.....	14
Figure 12: Chambre pour la production du lait fermenté (yaourt).....	14
Figure 13: Séchage sur cylindres.	16
Figure 14: Séchage du lait par atomisation.	16
Figure 15: Lyophilisateur.....	16
Figure 16: Micelle.	20
Figure 17: Quelques exemples de composés chimiques de la famille des oméga-3.....	22
Figure 18: Quelques exemples de composés chimiques de la famille des oméga-6.....	22
Figure 19: Principe du chromatographe.	24
Figure 20: Injecteur avec vaporisation directe à chaud.....	25
Figure 21: Injecteur pour injection en mode split / splitless.	26
Figure 22: Colonne remplie.	26
Figure 23: Colonne capillaire.....	27
Figure 24: Principe du détecteur FID.....	28
Figure 25: Détecteur à conductibilité thermique.....	28
Figure 26: La structure du Poly (bicyanopropyl) siloxane.....	52
Figure 27: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait pasteurisé en présence de H_2SO_4	52
Figure 28: Chromatogramme des EMAG après estérification en présence de H_2SO_4	53
Figure 29: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait pasteurisé en présence de H_2SO_4	55
Figure 30: Chromatogramme des EMAG après estérification en présence de BF_3	55
Figure 31: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait pasteurisé (après la 1 ^{ère} estérification).....	61
Figure 32: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait en poudre (après la 1 ^{ère} estérification).....	62
Figure 33: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait pasteurisé (après la 3 ^{ème} estérification).....	62
Figure 34: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait en poudre (après la 3 ^{ème} estérification).....	62

Liste des schémas

<i>Schéma 1:</i> Réaction de transésterification des triglycérides avec l'alcool.....	37
<i>Schéma 2:</i> Réactions successives de la transesterification.....	38
<i>Schéma 3:</i> Mécanisme de la réaction de la transesterification catalysée par un acide fort....	39
<i>Schéma 4:</i> Réaction de la saponification des triglycérides.....	43
<i>Schéma 5:</i> Mécanisme de la réaction de la saponification des triglycérides.....	44
<i>Schéma 6:</i> Réaction acido-basique pour l'obtention des acides gras.....	44
<i>Schéma 7:</i> Mécanisme de l'acidification des sels de Sodium.	45
<i>Schéma 8:</i> Réaction d'estérification.....	45
<i>Schéma 9:</i> Réaction de neutralisation acido-basique.....	59
<i>Schéma 10 :</i> Réaction de la saponification des triglycérides.....	60

Liste des tableaux

<i>Tableau 1:</i> Tableau récapitulatif des différentes difficultés rencontrées dans l'extraction des acides gras.....	46
<i>Tableau 2:</i> Les valeurs du pH des laits.....	48
<i>Tableau 3:</i> Les extraits secs totaux des laits.....	48
<i>Tableau 4:</i> Les valeurs de la densité des laits.....	48
<i>Tableau 5:</i> Acidité des laits.	49
<i>Tableau 6:</i> La teneur en matière grasse des laits.	49
<i>Tableau 7:</i> Caractéristiques des huiles obtenues par la méthode de Rose Gottlieb.	50
<i>Tableau 8:</i> Caractéristiques de l'huile obtenue par la méthode (3).....	50
<i>Tableau 9:</i> Identification et composition moyenne des EMAG obtenus en présence de H ₂ SO ₄	54
<i>Tableau 10:</i> Identification et composition moyenne des EMAG obtenus en présence de BF ₃	57

Liste des abréviations

°D	Degré Dornic.
AA	Acide Arachidonique.
AAI	Acides Aminés Indispensables.
ADH	Acide Docosahéxaénoïque.
AFNOR	Association Française de Normalisation, organisme français.
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments.
AG	Acides Gras.
AGE	Acides Gras Essentiels.
AGL	Acide γ -Linoléique.
AGS	Acides gras saturés.
AL	Acide Linoléique.
ALA	Acide α -Linoléique.
CEE	Communauté Economique Européenne.
CNIEL	Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière.
CPG	Chromatographie en phase gazeuse.
D	densité.
DG	Diglycéride.
DGLA	Acide Dihomo- γ -Linoléique.
DHA	Acide Docosahéxaénoïque.
EMAG	Esters méthyliques d'acides gras.
EPA	Acide Eicosapentaénoïque.
EST	Extrait sec total.
FID	Détecteur à Ionisation de Flamme.
FTIR	Fourier Transform InfraRed spectroscopy (La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier).
G	Glycérol.
HDL	High Density Lipoprotein (Lipoprotéine de Haute Densité).
HTST	High Temperature Short Time.
IA	Indice d'acide.
IE	Indice d'ester.
IR	Infrarouge.
IS	Indice de saponification.
LDL	Low Density Lipoprotein (Lipoprotéine de Basse Densité).
M.G	Matière Grasse.
MG	Monoglycéride.
MST	Matière sèche totale.
pH	Potentiel Hydrométrique.
PNNS	Plan National Nutrition Santé.
SM	Spectrométrie de Masse.
TB	Taux Butyreux.
TG	Triglycéride.
TP	Taux Protéique.
UHT	Ultra haute température.

Introduction Générale

Introduction

Le lait est une denrée ancienne utilisée par l'homme depuis la préhistoire. Il n'a pourtant pas occupé la même place au cours des siècles suivant les pays, la culture et la religion des populations.

Le lait constitue un produit de base dans le modèle de consommation algérien. Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des populations surtout celles à bas âge. Ils constituent une source intéressante en matières grasses et apportent la plus grosse part de protéines d'origine animale. En regard de son contenu en énergie métabolisable, le lait présente une forte concentration en nutriments.

De plus, la consommation en Algérie de lait de vache par an et par habitant ne cesse d'augmenter. Il est couramment incorporé aux recettes de la cuisine algérienne. Mais le lait n'a pas seulement un intérêt alimentaire, il occupe une place centrale dans l'imaginaire des algériens. Ce n'est d'ailleurs pas par hasard qu'il est offert comme signe de bienvenue, traduisant, ainsi par l'acte notre tradition d'hospitalité.

Le corps humain a toujours besoin à un apport calorique pour le bien être en raison de ce besoin le lait est un partenaire important de notre alimentation quotidienne et il joue un grand rôle dans le régime alimentaire des pays consommateurs et représentant une source importante d'éléments minéraux, glucides, protéines et lipides. En raison de besoin de l'homme à la disponibilité du lait, lui a poussé à l'innovation de nouvelles technologies permettant à cet aliment d'être transformé, donnant ainsi naissance à de nombreux produits dérivés (yaourts, fromages, laits de consommation fermentés...).

Le lait est une matière première aux ressources considérables ; et face à l'impératif de la demande croissante et soutenue en produits laitiers, tant sur le plan qualitatif que sur le plan quantitatif, il est indispensable d'exploiter toutes les richesses de cette matière première à la fois si simple en apparence et si complexe dans sa composition.

L'évaluation de la valeur nutritive ainsi qu'à la composition du lait s'avère nécessaire pour mettre en évidence la variabilité de la qualité nutritionnelle lors de la production du lait, évaluer la qualité du lait produit et déterminer les facteurs influents, afin d'améliorer la production et la rentabilité.

Introduction Générale

Cette qualité est mise en évidence à travers la détermination de deux principaux paramètres constituant le lait, à savoir la matière grasse (MG), Taux protéique (TP).

La présence des acides gras dans la composition du lait, en particulier ceux des groupes oméga-3 et oméga-6, joue un rôle de premier plan en ce qui a trait aux propriétés nutritives et organoleptiques des produits. En effet, d'un point de vue nutritionnel, les lipides représentent une grande part de l'apport énergétique du lait et satisfont à une partie du besoin en métabolites essentiels laitiers et donc l'apport en acides gras est intéressant à connaître au point de vue diététique, car il permet de pallier certaines maladies, telles que les maladies coronariennes. D'autre part, du point de vue des transformateurs, les lipides sont responsables des caractéristiques sensorielles des produits laitiers.

En se basant sur ces données bibliographiques, et vu qu'à ce jour peu de recherches ciblent cette matière grasse nous nous sommes fixés comme principal objectif l'extraction et la caractérisation des acides gras essentiels du lait ainsi qu'aux propriétés physico-chimiques de cet aliment.

Première partie :

Etude Bibliographique

1. Le lait

1.1. Définition et législation

1.1.1. Définition générale

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires, glandes spécifiques des mammifères, normalement par la femelle pour la nourriture des petits après la mise bas. Il s'agit d'un fluide aqueux blanc, opaque, plus ou moins jaunâtre selon la teneur en carotène de sa matière grasse à odeur peu marquée et une saveur douceâtre légèrement sucrée constituant un aliment complet et équilibré, d'un pH légèrement acide, proche de la neutralité ⁽¹⁾.

La dénomination « lait » sans indiquer l'espèce animale dont il provient renvoie uniquement au lait de vache.

Sinon, dans le cas d'un lait issu d'une femelle laitière autre que la vache, on emploie la dénomination « lait » suivie du nom de l'espèce animale dont il est issu, à savoir « lait de chèvre », « lait de brebis », etc ⁽²⁾.

1.1.2. Définition légale

Codex Alimentarius ⁽³⁾ a défini ce terme comme étant «la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction », l'origine devant être là aussi précisée si ce n'est pas du lait de vache.

Une autre définition bien plus ancienne, adoptée par le premier Congrès International pour la Répression de la Fraude alimentaire, tenu à Genève en 1908, dit que : "Le lait est un produit intégral de la traite totale et interrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum" ⁽⁴⁾.

1.2. Composition chimique du lait

1.2.1. Les différentes phases de l'évolution naturelle du lait

On définit une phase comme toute partie homogène d'un système. Dans le lait, on en compte quatre types distincts ^(5, 6).

- Une émulsion de matières grasses ou phase grasse constituée de globules gras et de vitamines liposolubles (A, D).
- Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles, lactose, vitamines B et C, sels minéraux).
- Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle.
- Une phase gazeuse composée d'O₂, d'azote et de CO₂ dissous qui représentent environ 5 % du volume du lait.

1.2.2. Composition chimique du lait

Les éléments constituant le lait sont nombreux et forment un mélange à la fois sur le plan physique et chimique ⁽⁷⁾.

Les principaux constituants du lait par ordre croissant sont :

1.2.2.1. Eau

C'est de loin le plus abondant environ (85,5%-89,5%) ⁽⁶⁾. En elle sont dispersés les autres constituants du lait, tous ceux de sa matière sèche, la présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides. La valeur nutritive du lait est particulièrement élevée grâce à l'équilibre entre les nutriments qu'il contient. La quantité d'eau dans le lait reflète cet équilibre.

1.2.2.2. Glucides

Le constituant principal de la matière sèche du lait est le lactose. Son constituant le plus abondant après l'eau de l'ordre de (3,6%-5,5%). Sa molécule C₁₂H₂₂O₁₁ est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. C'est un disaccharide constitué par de l'α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de deux lactoses ⁽⁵⁾.

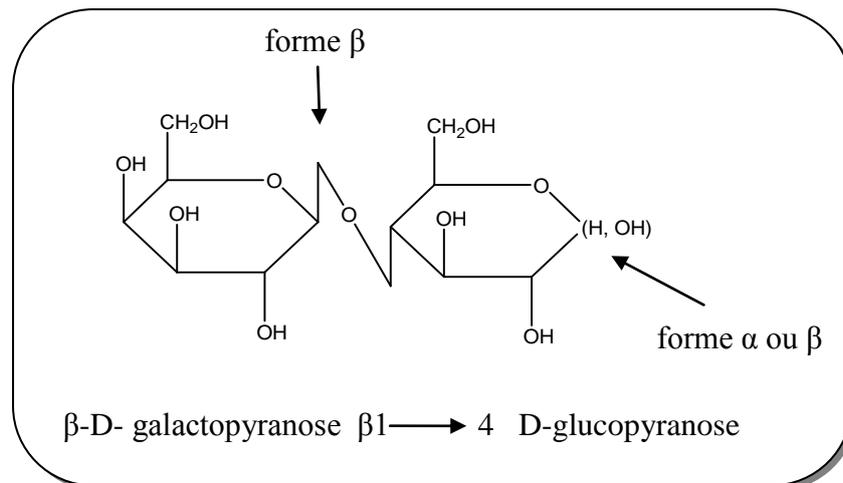


Figure 1: Formules spatiales des anomères α et β du lactose.

Le lactose est synthétisé dans les cellules à partir du glucose sanguin. Celui-ci est en grande partie produit par le foie. Sa teneur est très stable, elle présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait ⁽⁸⁾.

D'autres glucides peuvent être présents en faible quantité, comme le glucose et le galactose qui proviendraient de l'hydrolyse du lactose ; en outre, certains glucides peuvent se combiner aux protéines ⁽⁹⁾.

1.2.2.3. Matière grasse

La matière grasse ou taux butyreux est constituée par les glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), les phospholipides polaires et les substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K ⁽⁵⁾.

(JEANTET et coll. 2008) ⁽¹⁰⁾ rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10 μ m et est essentiellement constituée de triglycérides, sa teneur est de (2,4%-5,5%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée d'acides gras saturés et d'acides gras insaturés.

La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe.

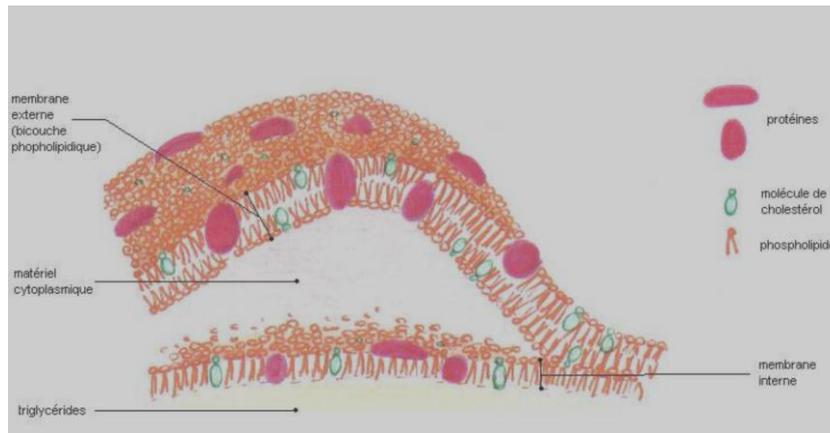


Figure 2: Détail de l'organisation membranaire d'un globule gras ⁽¹¹⁾.

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés ⁽¹⁰⁾.

La matière grasse du lait est produite principalement à partir des acides gras volatils (acides acétique et butyrique). Le premier est formé principalement à partir des glucides des fourrages (cellulose) et le second à partir des glucides rapidement fermentescibles (sucre de betterave). Une partie de la matière grasse du lait provient de la mobilisation des réserves lipidiques de la vache.

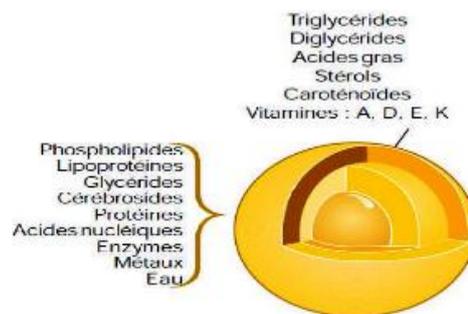


Figure 3: Composition de la matière grasse du lait.

1.2.2.4. Protéines

Les protéines représentent entre 2,9% - et 5,5% de la masse totale du lait ⁽⁶⁾.

1.2.2.4.1. Caséine

(JEAN et DIJON 1993) ⁽¹²⁾ rapportent que la caséine est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine.

Le caséinate de calcium, forme une dispersion colloïdale dans le lait. Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 μm .

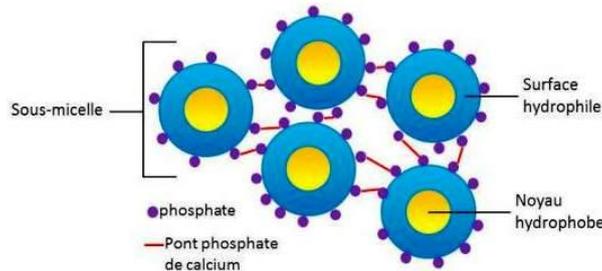


Figure 4: Structure de la micelle de caséine.

1.2.2.4.2. Protéines du lactosérum

Les protéines du lactosérum sont des protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles ⁽¹³⁾.

Ces protéines se composent principalement de :

- L' α -lactalbumine : est une protéine de 123 acides aminés. Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22% des protéines du sérum.
- La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum, c'est une protéine de 162 acides aminés. Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une β -lactoglobuline se fasse également par un pont disulfure.
- Le sérum-albumine est constituée de 582 résidus d'acides aminés.
- Les immunoglobulines : sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines: IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum.
- Protéoses-peptones forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à $\text{pH} = 4.6$ vers 95°C pendant 20 à 30 minutes.

1.2.2.5. Minéraux

La fraction minérale (0,7%-0,9%), bien que mineure, dans la composition des laits est considérée comme très importante tant au point de vue nutritionnel que technologique.

Les composants majeurs sont le potassium, le calcium, le sodium, le magnésium, le phosphate, le citrate et les chlorures⁽¹⁴⁾.

1.2.2.6. Les vitamines

Le lait contient d'une part des vitamines liposolubles (vitamines A, D, E) qui sont généralement fixées à la surface des globules de gras.

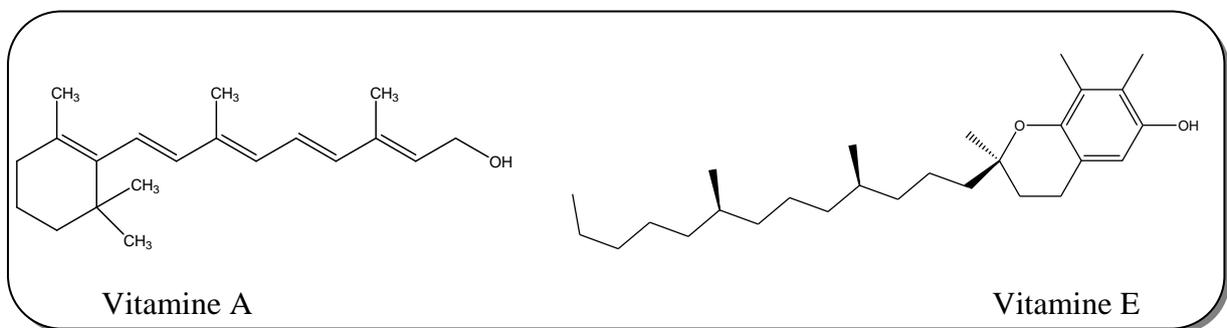


Figure 5: Structures chimiques de quelques vitamines liposolubles contenues dans le lait.

Et d'autre part des vitamines hydrosolubles (vitamine C et vitamine B) diversement complexées avec des protéines ou d'autres groupements⁽¹⁵⁾.

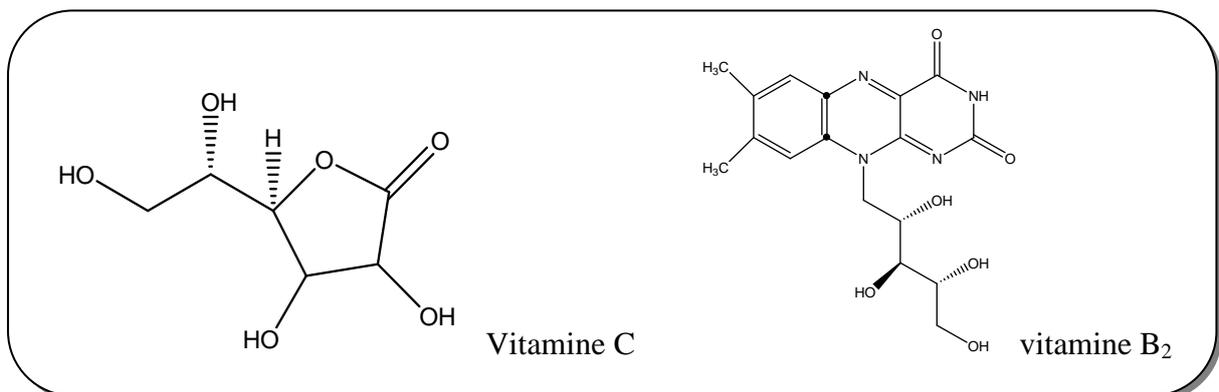


Figure 6: Structures chimiques de quelques vitamines hydrosolubles contenues dans le lait.

1.2.2.7. Autres éléments

- Un acide spécifique du lait est l'acide orotique, produit intermédiaire de la biosynthèse des acides nucléiques pyrimidiques. Ce dernier, comme l'acide urique peut servir d'indicateur lors de la détermination des proportions de lait dans la nourriture ⁽¹⁶⁾.

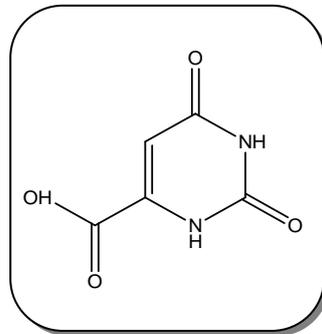


Figure 7: Structure chimique de l'acide orotique.

- Enzymes

POUGHEON (2001) ⁽¹⁷⁾ définit les enzymes comme des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Le lait contient une grande variété dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile.

1.2.3. Facteurs influençant sur la composition du lait

La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs.

1.2.3.1. Facteurs intrinsèques

a. Facteurs génétiques

Il existe indéniablement des variabilités de composition entre les espèces et les races. Les fortes productrices donnent un lait plus pauvre en matières azotées et en matière grasse. Ces dernières sont les plus instables par rapport au lactose ⁽¹⁸⁾.

Il existe de variantes génétiques issues des mutations ponctuelles. Ils donnent des protéines différentes qui ne se distinguent que par l'échange d'un ou deux acides aminés.

b. Age et nombre de vêlage

(**Veisseyre, 1979**)⁽¹⁸⁾, montre que la quantité de lait augmente généralement du 1^{er} vêlage au 5^{ème}, puis diminue sensiblement et assez vite à partir du 7^{ème}.

1.2.3.2. Facteurs extrinsèques

a. Alimentation

L'alimentation joue un rôle important ; elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse et de protéines. Le taux protéique varie dans le même sens que les apports énergétiques, il peut aussi être amélioré par des apports spécifiques en acides aminés (lysine et méthionine). Quant au taux butyreux, il dépend du nombre de repas et le mélange des aliments.

b. Saison et climat

D'après (**POUGHEON et GOURSAUD 2001**)⁽⁴⁾, la saison a une influence importante qui se rajoute aux autres facteurs (alimentation, stade de lactation, âge ...) de façon immuable, le TB passe par un minimum en juin – juillet et par un maximum à la fin de l'automne. La teneur en protéines passe par deux minimums un à la fin de l'hiver et l'autre au milieu de l'été.

1.2.4. Qualité organoleptique du lait

L'aspect, l'odeur, la saveur et la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

1.2.4.1. La couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le β -carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait)⁽¹⁹⁾.

1.2.4.2. L'odeur

L'odeur est caractéristique du lait, du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation, à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

1.2.4.3. La saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer.

1.3. Les différentes formes de présentation à la consommation du lait et de ses produits dérivés

Le lait peut être consommé sous différentes formes et différentes textures. Mais il peut également être transformé en une gamme de produits dérivés tels que les fromages, le lait en poudre... etc. Le lait est soumis à divers procédés afin d'obtenir différents produits dérivés.

1.3.1. Les laits de consommation

Laits de consommation désignent les différentes catégories de laits vendus à l'état liquide. Ces laits sont présentés obligatoirement en emballages fermés jusqu'à la remise au consommateur.

Les laits de consommation sont des laits destinés à être consommés en l'état.

Les laits de vache sont classés en fonction de leur teneur en matière grasse, mais aussi selon le traitement thermique dont ils font l'objet.

1.3.1.1. Lait cru

Le lait cru est un lait qui ne subit aucun traitement thermique autre que la réfrigération immédiate après la traite à la ferme. Il peut être légèrement chauffé pour conserver toutes ses qualités nutritionnelles, la température ne doit pas être supérieure à 40°C soit celle de l'animal. Il peut contenir des germes pathogènes pour l'homme.

1.3.1.2. Lait pasteurisé

1.3.1.2.1. Définition

La pasteurisation a pour objectif la destruction de toutes les formes végétatives des micro-organismes pathogènes du lait.

1.3.1.2.2. Historique

Nicolas Appert avait déjà mis au point et publié en 1831 dans son ouvrage « Le livre de tous les ménages » un procédé de conservation des aliments par chauffage, notamment du lait et de la bière. Il n'avait pas su expliquer scientifiquement l'efficacité de ce procédé ⁽²⁰⁾.

La pasteurisation est un procédé de conservation des aliments mis au point par le chimiste français Louis Pasteur, véritable pionnier dans le domaine bactériologique. Il a notamment découvert la bactérie responsable de la fermentation lactique.

En 1864, il a prouvé que le lait brièvement chauffé à haute température pouvait se conserver ⁽²¹⁾. Cette technique est aujourd'hui connue sous le nom de pasteurisation. Le lait pasteurisé se conserve plus longtemps (entre 7 et 15 jours selon la date indiquée sur l'emballage), mais il perd tant en typicité qu'en qualités physico-chimiques et organoleptiques.

1.3.1.2.3. Procédés de pasteurisation

D'après (JEANTET et coll, 2008) ⁽¹⁰⁾, on distingue trois types de traitements :

a. Pasteurisation basse

Le produit est maintenu au moins trente minutes à 60-65°C dans une enceinte à double paroi dans laquelle se trouve de l'eau chaude. Ce procédé a été abandonné pour le lait.



Figure 8: Pasteurisateur pour la pasteurisation basse.

b. Pasteurisation rapide à haute température

Procédé d'origine américaine, généralement désignée par « HTST » - « high temperature, short time ». Elle consiste à chauffer l'aliment un temps très court, de 15 secondes à 2 minutes, à une température élevée (70-90°C). L'industrie laitière recourt à ce procédé pour préparer le lait pasteurisé. Un aliment pasteurisé doit être conditionné dans un emballage étanche et conservé au froid (+4 °C).



Figure 9: Pasteurisateur HTST.

c. Flash pasteurisation

Ce procédé consiste à chauffer le produit à une température de 85 à 90°C pendant 1 à 2 secondes elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne.



Figure 10: Thermoflach pour pasteurisation flash.

1.3.1.3.Lait stérilisé

(LESEUR et MELIK, 1999) ⁽²²⁾ ont montré que selon le procédé de stérilisation, on distingue le lait stérilisé et le lait stérilisé UHT. Ces laits doivent être stables jusqu'à la date limite de consommation.

a. Lait stérilisé

C'est un lait conditionné- stérilisé après conditionnement dans un récipient hermétiquement clos, étanche aux liquides. La stérilisation est réalisée à une température de 100 - 120°C pendant une vingtaine de minutes.

b. Lait stérilisé UHT

C'est un lait traité par la chaleur, qui doit détruire les enzymes, les microorganismes pathogènes et conditionné ensuite aseptiquement dans un récipient stérile, hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux micro-organismes. Il est réalisé à 135 – 150 °C pendant 2.5 secondes environ.



Figure 11: Stérilisateur UHT.

Toutefois, ce procédé tue tous les micro-organismes et inactive la plus grande partie des enzymes présentes dans le lait, et la très courte durée de traitement permet de n'altérer que faiblement la valeur nutritive du lait.

1.3.2. Lait fermenté

D'après **(FREDOT, 2006)** ⁽⁶⁾ le lait fermenté le plus consommé dans les pays occidentaux est le yaourt. Le lait subit alors un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation. La coagulation des laits fermentés ne doit pas être obtenue par d'autres moyens que ceux qui résultent de l'activité des micro-organismes qui sont pour la plupart du pro-biotique c'est-à-dire bénéfique pour la santé.



Figure 12: Chambre pour la production du lait fermenté (yaourt).

1.3.3. Lait concentré

Selon (JEANTET et coll, 2008) ⁽¹⁰⁾ le lait concentré est un lait dont 60% de l'eau a été évaporée sous vide, de texture plus crémeuse, avec des arômes de caramel.

1.3.4. Lait en poudre

1.3.4.1. Définition

Lait en poudre, poudre de lait, lait déshydraté ou farine de lait toutes ces dénominations désignent un lait dont la quasi-totalité de l'eau a été éliminée. Stocké sous un volume réduit, il se conserve beaucoup plus longtemps que le lait liquide.

Selon la loi sur les aliments et drogues du Canada, les poudres de lait sont des produits résultants de l'enlèvement partiel de l'eau du lait ⁽²³⁾. C'est un lait qui a perdu la quasi-totalité de son eau (environ 96%) pour ne conserver que son extrait sec.

1.3.4.2. Méthodes de préparation

1.3.4.2.1. Concentration

Le lait est donc préalablement concentré par évaporation. L'ébullition se fait sur une surface chaude. Cette étape permet d'atteindre un taux de matière sèche de 50 à 60%. Cette étape est réalisée grâce à une installation d'évaporation fonctionnant sous vide ce qui permet de limiter la température de chauffe entre 45 et 75°C. Le lait ainsi concentré passe ensuite à l'étape de séchage.

1.3.4.2.2. Séchage

Divers procédés commerciaux de fabrication du lait en poudre ont été successivement adaptés. Actuellement, seuls le « séchage sur cylindres » et la « dessiccation par atomisation » restent d'emploi courant, mais la « lyophilisation » pourrait être un procédé d'avenir.

a. Séchage sur cylindres

Le séchage sur cylindre ou procédé HATMAKER est le plus ancien des procédés commerciaux satisfaisants. Essentiellement simple, il consiste à chauffer un mince film de lait pendant 2 à 3 secondes sur une surface métallique chauffée à 145°C.



Figure 13: Séchage sur cylindres.

b. Séchage par atomisation

Le procédé par atomisation ou « Spray Process », le lait est pulvérisé en brouillard de très fines gouttelettes sous haute pression dans une tour. Les gouttelettes sont séchées puis sont recueillies en bas de la tour ⁽²⁴⁾.

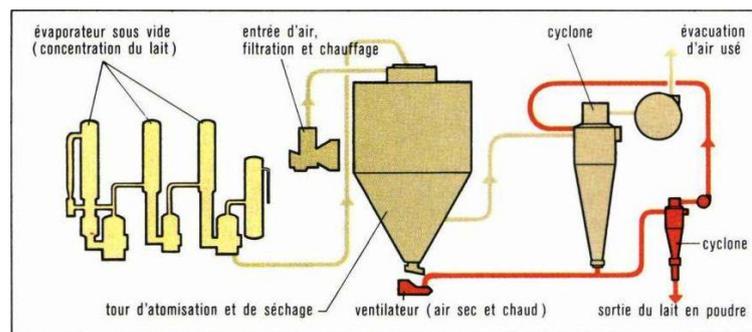


Figure 14: Séchage du lait par atomisation.

c. La lyophilisation

C'est un procédé de dessiccation faisant appel au froid. Le produit est d'abord congelé à très basse température puis soumis à un vide accompagné d'une remontée lente de la température, ce qui entraîne une évaporation de l'eau (sublimation) et enfin la poudre est séchée. La lyophilisation est la technique de séchage qui paraît respecter le mieux la structure et la composition de la matière traitée mais le cout de l'opération est élevé ⁽²⁵⁾.



Figure 15: Lyophilisateur

1.4. La place du lait et des produits laitiers dans l'alimentation de l'Homme à tous les âges de la vie

L'homme est un mammifère omnivore dont les besoins en macro et micronutriments indispensables n'ont pas varié au sein de l'espèce. Par contre, les aliments susceptibles de couvrir les besoins en ces nutriments ont pu changer suivant les régions du monde, le climat et les ressources alimentaires à disposition. Ainsi, il existe plusieurs modèles alimentaires auxquels appartiennent ou pas le lait et ses produits dérivés suivant les populations ⁽²⁶⁾.

Les protéines de lait sont des protéines animales, ce qui leur confère une grande digestibilité et des teneurs élevées en acides aminés indispensables. Ces protéines sont donc bien adaptées dans des situations nécessitant des besoins accrus (croissance, grossesse, exercice ...). Dans le lait, les protéines sont souvent associées à des matières grasses comme dans les fromages. De plus, des nutriments sont apportés en quantité plus ou moins importante comme le calcium des produits laitiers ⁽²⁷⁾.

Le lait et les produits laitiers doivent faire partie d'une alimentation équilibrée. Selon le Plan National Nutrition Santé (PNNS), il est conseillé de consommer trois ou quatre produits laitiers par jour selon l'âge et la taille des portions. C'est pourquoi une campagne de communication basée sur le slogan « trois produits laitiers par jour » a été lancée depuis fin 2009 par le CNIEL.

Aliment indispensable à la croissance, le lait est immédiatement associé à l'apport de deux éléments principaux : les protéines et le calcium. Les protéines apportées possèdent en plus une haute valeur biologique, de part leur profil en acides aminés proche de celui des besoins humains permettant un apport complet en acides aminés indispensables (AAI). De plus, le lait est riche en calcium de qualité et en vitamines. Sa composition en acides aminés indispensables confère aux protéines lactières une très bonne valeur nutritionnelle.

L'autre particularité est qu'un demi-litre de lait couvre 75% de la ration calcique journalière d'un adulte. Le calcium du lait est rendu efficace notamment grâce à son juste équilibre avec le phosphore.

Le lactose, principal glucide du lait joue un rôle important en favorisant l'absorption du calcium et en limitant la multiplication de bactéries pathogènes au niveau de la flore

intestinale. La présence dans le lait de lactose, de peptides et de phosphore permet d'améliorer l'absorption du calcium déjà présent sous une forme soluble.

Des oligoéléments tels que le fer, le sélénium, l'iode ou le zinc sont présents dans le lait et indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. Le lait et ses produits dérivés constituent la première source de zinc dans l'alimentation des adultes et des enfants.

En ce qui concerne la matière grasse, elle remplit différentes fonctions importantes. Elle apporte tout d'abord de l'énergie, participe également à l'apport en vitamines liposolubles et au transport de ces vitamines dans l'organisme, protège les organes et agit comme isolant contre le froid.

La proportion importante d'acides gras saturés (AGS) est une caractéristique de la matière grasse laitière dont certains d'entre eux possèdent des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles spécifiques.

Dans la cellule animale et humaine, ils assurent tout d'abord une part importante de l'apport énergétique. Les acides gras saturés sont aussi constituants des triglycérides de réserve.

Les laitages contiennent des vitamines surtout hydrosolubles mais également liposolubles. Cependant, suivant la quantité de matière grasse du lait consommé, la teneur en vitamines liposolubles sera plus ou moins importante. Certains laits sont enrichis ou à teneur garantie en vitamines ⁽²⁸⁾.

2. Les acides gras

Introduction

Nous entendons souvent dire qu'il faut éliminer le plus possible les matières grasses de notre alimentation. La matière grasse est, parmi les composants importants du lait, celui qui est le plus variable en proportion ainsi qu'au niveau de sa composition. Elle se présente sous forme globulaire et dispersée. Les matières grasses jouent cependant plusieurs rôles importants dans notre organisme. En effet, elles sont une bonne source d'énergie (deux fois plus de calories que les protéines et les glucides) et permettent le transport des vitamines A, D, E et K, car celles-ci sont liposolubles et nécessitent la présence de gras pour voyager

dans l'organisme. Les matières grasses fournissent des acides gras essentiels (oméga-3 et oméga-6), que l'organisme ne peut pas produire lui-même et que nous devons aller chercher dans l'alimentation et qui sont indispensables pour le maintien de l'organisme.

2.1.Définition

Les acides gras représentent les constituants majeurs des différentes classes de lipides ⁽²⁹⁾.

Les acides gras sont des acides carboxyliques à longue chaîne carbonée ayant un nombre pair d'atomes de carbone, une extrémité acide carboxylique (-COOH) et une extrémité méthyle (-CH₃) ⁽³⁰⁾.

La nomenclature des AG repose sur le nombre d'atomes de carbone et le nombre de doubles liaisons. Par convention, la notation des AG est la suivante : (C n : x ω -y).

Où : n : représente le nombre d'atomes de carbone.

x : représente le nombre de doubles liaisons dans la molécule.

y : la position de la double liaison la plus proche de l'extrémité méthyle.

2.2.Classification

Les AG peuvent être classés de différentes manières selon leur structure :

- *En fonction de la longueur de la chaîne carbonée* qui varie de 4 à plus de 24 carbones. Les AG à chaîne moyenne ou courte ont un nombre d'atomes de carbone compris entre 4 et 10. A partir de 12 atomes de carbone, on parle d'AG à longue chaîne.
- *En fonction de leur degré d'insaturation* : c'est à dire du nombre de doubles liaisons carbone-carbone dans la molécule. On distingue alors les AG saturés, mono-insaturés (une seule double liaison) et polyinsaturés (plusieurs doubles liaisons).

2.3.Propriétés des acides gras

Les propriétés des acides gras sont déterminées par la longueur et le degré d'insaturation de la chaîne carbonée.

2.3.1. Propriétés physiques

2.3.1.1. Le point de fusion ⁽³¹⁾

L'état physique des acides gras en fonction de la température peut avoir des conséquences vitales pour les organismes vivants. De manière générale :

- La longueur de la chaîne des acides gras saturés élève la température de fusion (passage à l'état liquide) ;
- L'insaturation de la chaîne carbonée diminue la température du point de fusion.

2.3.1.2. Solubilité

La solubilité dans l'eau des acides gras diminuera lors de l'augmentation du nombre de carbones en-dessus de C₄ et C₅, les acides gras sont insolubles et s'organisent en micelles (émulsion). Ils sont solubles dans les solvants organiques apolaires tel que : benzène, chloroforme, ...

2.3.2. Propriétés chimiques

2.3.2.1. Formation d'ester

La fonction acide carboxylique peut estérifier une fonction alcool (le glycérol et le cholestérol) pour former un ester d'acides gras.

2.3.2.2. Formation de sels

Les sels de sodium et de potassium des acides gras sont des savons à propriétés moussantes et émulsionnantes. On les obtient par traitement alcalin des lipides : la saponification.

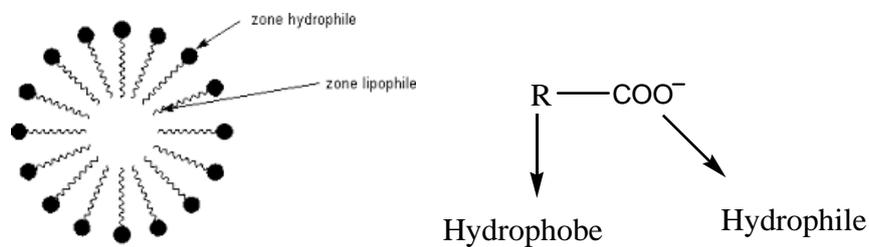


Figure 16: Micelle.

2.4. Acides gras essentiels

2.4.1. Définition

Les acides gras sont dits indispensables (ou sous l'influence de l'anglais « essentiels »), car l'organisme n'est pas capable de les synthétiser⁽³²⁾. Par conséquent, il est impératif de les apporter par le biais de l'alimentation. Ils sont également parfois appelés vitamine F.

2.4.2. Classification des acides gras essentiels

Les AGE comportent deux familles distinctes nommées selon la position de la première double liaison à l'extrémité méthyle terminal, leur formule générale est $H_3C - (CH_2)_n - HC=CH - (CH_2)_p - COOH$.

Elles sont indépendantes puisqu'il n'y a pas de passage d'une famille à l'autre, ces deux acides sont les oméga-6 ($n = 4$) et les oméga-3 ($n = 1$). Ce sont des acides gras indispensables, l'alimentation doit être équilibrée entre les apports en oméga-3 et en oméga-6 car ces deux acides gras empruntent des voies métaboliques communes.

Actuellement les recommandations émises par l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) sont d'un rapport d'1 g d'oméga-3 pour 5 g d'oméga-6.

2.4.2.1. Famille des oméga-3⁽³³⁾

L'acide α -linoléique (ALA) est le précurseur de la famille des oméga-3 présent dans plusieurs graines comme : les noix. Grâce à des enzymes, l'acide α -linoléique (18 :3 n-3) va être transformé en acide eicosapentaénoïque (EPA) (20 :5), lui-même précurseur de deux groupes de molécules:

- ❖ Les eicosanoïdes (20 :4) (dérive de l'acide eicosapentaénoïque (C20 :5 ω -3) comme certaines prostaglandines.
- ❖ L'acide docosahexaénoïque (DHA) (22 :6) qui est présent dans certains poissons gras.

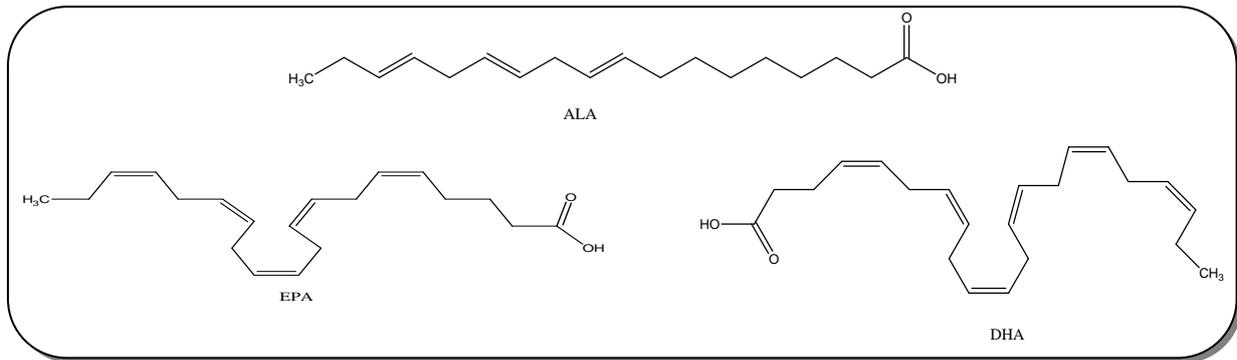


Figure 17: Quelques exemples de composés chimiques de la famille des oméga-3.

2.4.2.2. Famille des oméga-6 ⁽³³⁾

L'acide linoléique (AL) est le précurseur de la famille des oméga-6. Toujours sous l'action d'enzymes, l'acide linoléique (18 :2 n-6) est transformé en acide γ -linoléique (AGL) (18 :3), que l'on peut trouver directement dans l'alimentation.

L'acide γ -linoléique (AGL ou GLA) est lui-même précurseur de l'acide dihomogamma-linoléique (DGLA) (20 :3), constituant très important des phospholipides de la membrane cellulaire et acide gras à son tour précurseur :

- ❖ De l'acide arachidonique (AA) (20 :4), le jaune d'œuf et les gras animaux en sont des sources directes. C'est le précurseur des eicosanoïdes (20 :4) de série 2 (qui dérivent de l'acide arachidonique).

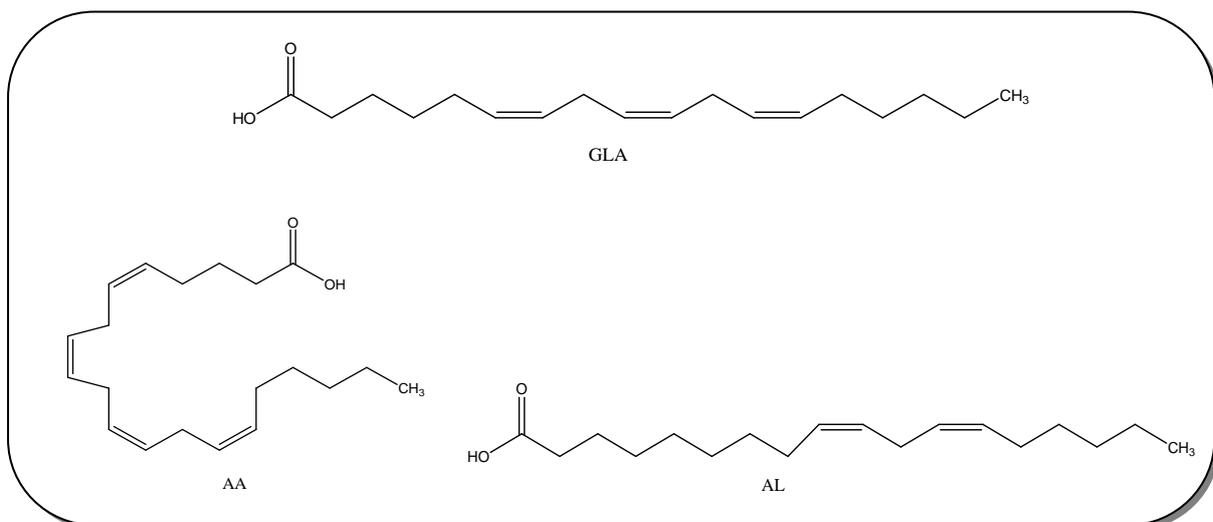


Figure 18: Quelques exemples de composés chimiques de la famille des oméga-6.

L'action la plus connue (et reconnue) des oméga-3 réduit le risque des maladies cardiovasculaires. Ils diminuent le taux de triglycérides dans le sang, ils ont un rôle bénéfique sur la fluidité du sang, abaissent la pression artérielle et préservent la présence du cholestérol-HDL («bon cholestérol»). De façon générale, ces acides gras ont pour effet de diminuer le cholestérol sanguin, particulièrement le cholestérol-LDL («mauvais» cholestérol), lorsqu'ils remplacent les acides gras saturés dans l'alimentation ⁽³⁴⁾.

Une étude in vitro de 2013 indique que l'ALA pourrait limiter le développement de cellules cancéreuses sans altérer celui des cellules saines ⁽³⁵⁾.

Les acides gras oméga-3 sont des composants importants des membranes des cellules nerveuses. Ces acides aident les cellules à communiquer entre elles, ce qui est essentiel au maintien d'une bonne santé mentale. L'acide docosahéxaénoïque (ADH) est impliqué dans une multitude de processus touchant les cellules nerveuses, les apports élevés des oméga-3 contribuent à la diminution des taux de dépression majeure. L'apport adéquat en acides gras essentiels, et plus particulièrement en EPA et DHA est important pour le développement et la maturation fœtale, l'EPA pourrait également avoir un effet dans la prévention de tumeurs colorectales ainsi qu'il peut prévenir la survenue de maladies inflammatoires en agissant sur différents mécanismes de la réponse inflammatoire ⁽³⁶⁾. Ils représentent une source d'énergie.

3. Chromatographie en phase gazeuse

Introduction

L'analyse chimique de référence pour déterminer la composition en acides gras repose sur l'emploi de la chromatographie en phase gazeuse qui a été découverte par Archer John Porter MARTIN et Richard Laurence Millington SYNG ⁽³⁷⁾. Cette technique d'analyse nous permet d'individualiser et de doser les acides gras après estérification complète de l'extrait lipidique qui permet la transformation des composés en produits plus volatils.

3.1.Définition

C'est une méthode de séparation de composés susceptibles d'être vaporisés par chauffage (sans décomposition) et l'échantillon à séparer est soumis à une distribution compétitive de deux phases :

- Une phase mobile gaz vecteur qui s'écoule à travers l'ensemble stationnaire.
- Une phase stationnaire liquide uniformément répartie sous forme d'une pellicule mince sur un solide inerte de grande surface spécifique.

3.2.Principe

Les échantillons à analyser étant peu concentrés, ils sont injectés en totalité dans le chromatographe, le soluté volatilisé dans l'injecteur est entraîné par le gaz vecteur. Il se recondense en tête de colonne sous forme d'une bande étroite.

La phase stationnaire est un liquide constitué d'un film de silicone chimiquement déposé sur la paroi intérieure du tube capillaire. Sur la colonne, les différents composés se séparent selon leur polarité décroissante ⁽³⁸⁾. Les molécules sont analysées à la sortie de la colonne par le détecteur à ionisation de flamme. Celui-ci fournit un signal dont la réponse (aire des pics du chromatogramme) est proportionnelle à la quantité de composés détectés.

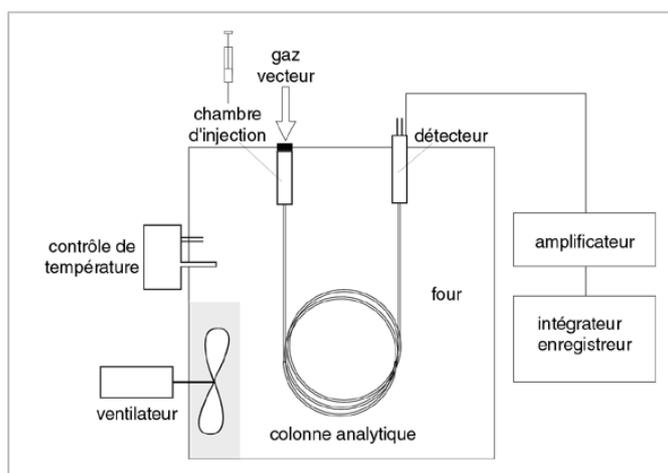


Figure 19: Principe du chromatographe.

3.3.Appareillage

3.3.1. Injecteur

Il sert à l'introduction du mélange à analyser dans la colonne.

Cette opération est faite à l'aide d'une micro seringue pour les liquides et les solutions et à l'aide d'une vanne à boucles pour les mélanges gazeux.

La chambre d'injection doit être à une température plus élevée que celle de la colonne pour faciliter l'évaporation des échantillons. Le choix de l'injecteur est dicté par le type de colonne utilisée (remplie ou capillaire) et par la nature des produits à séparer (leur résistance à la décomposition lorsqu'ils sont soumis à de hautes températures).

Il y a essentiellement deux techniques d'injection, si on ne tient pas compte de la vanne à boucles: la vaporisation directe "dans la colonne" et l'introduction dans la colonne d'une fraction de ce qui est injecté (split/splitless). Cette dernière technique est utilisée avec les colonnes capillaires.

3.3.1.1.L'injection à chaud avec vaporisation directe dans le corps de l'injecteur

Ce type d'injection présente l'inconvénient de favoriser la décomposition des substances fragiles car la température de l'injecteur est passablement plus élevée que celle de la colonne. Surtout utilisées avec les colonnes remplies.

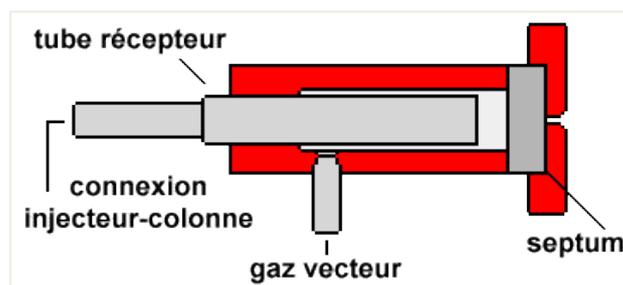


Figure 20: Injecteur avec vaporisation directe à chaud.

3.3.1.2. Injecteur split/splitless

Ce type d'injecteur ne laisse entrer dans la colonne qu'une petite partie du volume injecté. Cette fraction est ajustable. Il est aussi équipé d'une purge de septum qui joue deux rôles :

- Celui de compenser l'augmentation de volume lors de l'évaporation de l'échantillon;
- Celui de laisser sortir le surplus de gaz provenant de l'injection précédente.

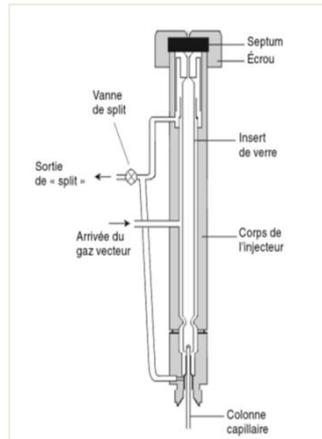


Figure 21: Injecteur pour injection en mode split / splitless.

3.3.2. Colonnes

Il existe deux types de colonnes avec des variantes :

- Colonnes remplies ou à garnissage;
 - Diamètre interne : (3,2 mm) ou (6,4 mm),
 - Longueur : 0,5 à 3 mètres,
 - Tube : acier inoxydable - assez inerte et bon conducteur de chaleur.

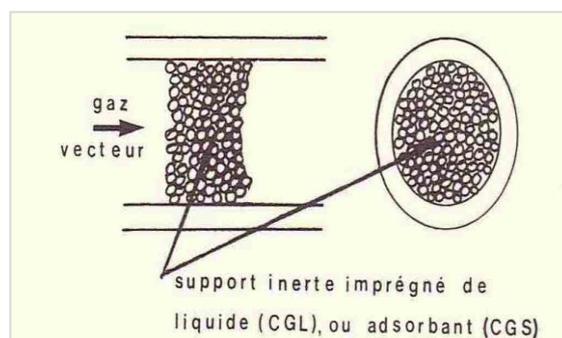


Figure 22: Colonne remplie.

- Colonnes capillaires
- Longueur : 15 à 100 mètres
- Tube : silice fondue recouvert d'une mince couche de polyimide.

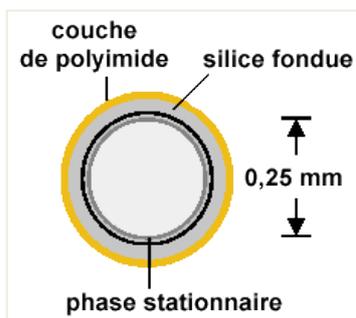


Figure 23: Colonne capillaire.

3.3.3. Détecteurs

Le détecteur est un appareil de mesure physico-chimique qui doit donner un signal au passage de chacun des constituants du mélange en cours d'analyse, et cela, sans aucune interaction avec le gaz vecteur.

Il existe un grand choix de détecteurs. Cependant au cours de ces différents rappels, nous nous limiterons aux deux types de détecteurs les plus couramment utilisés, pour des analyses concernant les acides gras.

3.3.4. La détection par ionisation de flamme (FID)

Actuellement, le détecteur le plus couramment utilisé en analyse organique est le détecteur à ionisation de flamme. L'effluent pénètre dans une flamme obtenue par combustion d'un mélange d'hydrogène et d'air. Les composés organiques sont alors ionisés et forment des ions collectés par deux électrodes, entre lesquelles on applique une différence de potentiel. Il en résulte un courant électrique recueilli par un électromètre qui le transforme en courant que l'on peut enregistrer.

Le passage de chaque composé sera traduit par un signal électrique, directement proportionnel à la concentration de ce dernier. Le rassemblement de l'ensemble des signaux permet d'obtenir le courant ionique total (= chromatogramme).

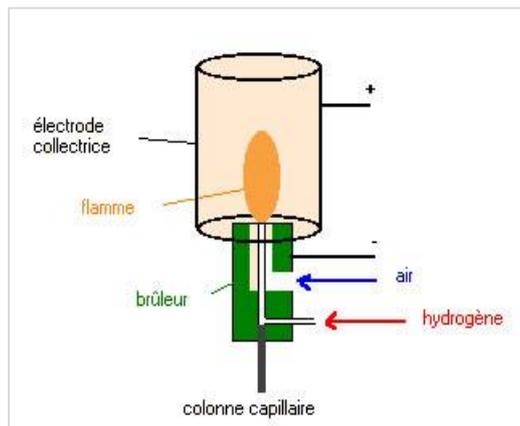


Figure 24: Principe du détecteur FID.

3.3.5. Détecteur à conductibilité thermique –catharomètre-

Une résistance sensible à la température - tungstène, platine ou thermistance - est placée dans un flux gazeux. Un équilibre thermique est atteint quand le refroidissement de cette résistance provoqué par le passage du gaz vecteur compense son réchauffement au moyen d'un courant électrique. Cet équilibre est modifié par l'arrivée d'un soluté entraîné par le gaz vecteur (à condition que la conductibilité du soluté soit différente de celle du gaz vecteur) car la capacité de refroidissement du mélange, différente de celle du gaz vecteur seul, entraîne une variation de la résistance.

Cette résistance est un élément d'un pont de Wheatstone opposé à une autre résistance où ne circule que le gaz vecteur. Le déséquilibre de ce pont génère un signal qui indique la présence d'un soluté.

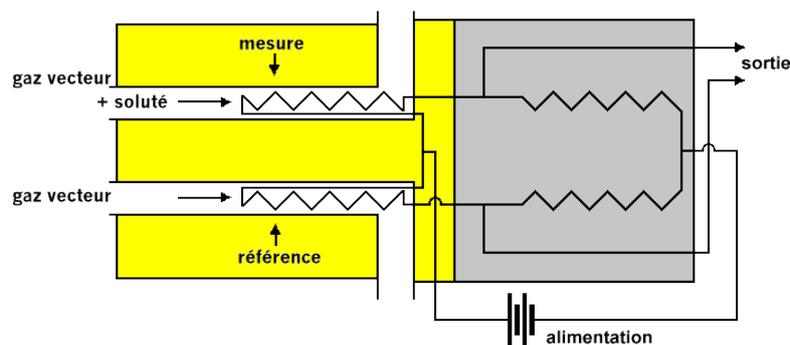


Figure 25: Détecteur à conductibilité thermique.

D'autres moyens de détection sont aussi utilisés :

- Le détecteur à capture d'électrons.
- Les détecteurs spectraux tel que:
 - ❖ La détection par la spectrométrie de masse (SM),
 - ❖ La détection par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).

Deuxième partie :

Partie Expérimentale

I. Matériels et méthodes

Introduction

Notre travail consiste en la détermination des propriétés physico-chimiques du lait de vache (acidité, densité,.... etc.) ainsi que la détermination des acides gras présents dans le lait et leur identification. Cette deuxième partie se fera par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Les échantillons de lait dans notre étude proviennent de :

- Lait pasteurisé entier commercial,
- Lait reconstitué entier préparé à partir du lait en poudre entier.

Les mesures sont effectuées directement sur les laits sans aucun traitement particulier.

1. Détermination des propriétés physico-chimiques du lait

1.1. Le pH

1.1.1. Définition

Le pH est une grandeur sans unité qui exprime le caractère acide ou basique d'un produit. Suivant la valeur de ce pH, le produit est acide, neutre ou basique.

1.1.2. Principe

Après avoir étalonner le pH mètre à l'aide d'une solution tampon, on plonge l'électrode dans le bécher contenant les deux types du lait.

1.1.3. Mode opératoire

- Etalonner le pH à l'aide des deux solutions tampons.
- Introduire l'électrode dans le bécher contenant le lait à analyser.
- A chaque détermination du pH, retirer l'électrode, rincer avec l'eau distillée et sécher.

De même on fait pour le lait reconstitué.

1.2. La matière sèche totale (MST) ou extrait sec total (EST)

1.2.1. Définition

On entend par matière sèche du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites par la présente norme (AFNOR, 1985) ⁽³⁹⁾.

1.2.2. Principe

Dessiccation par évaporation d'une certaine quantité de lait et pesée du résidu.

1.2.3. Mode opératoire

- Dans une boîte de pétri séchée et préalablement tarée P_1 peser environ 5g de lait P_2 ;
- Placer la boîte de pétri découverte pendant 30 minutes sur le bain marie ;
- L'introduire dans l'étuve pendant 3 heures ;
- Mettre ensuite la boîte de pétri dans le dessiccateur et laisser refroidir pendant 20 minutes.
- Repeser P_3 .

La matière sèche totale exprimée en g/L est alors donnée par le théorème suivant :

$$EST = \frac{P_3 - P_1}{P_1} * 1000$$

Où :

- P_1 : masse de la boîte de pétri vide,
- P_2 : masse de la prise d'essai,
- P_3 : masse de la boîte de pétri étuvée.

1.3. La densité

1.3.1. Définition

La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau ⁽⁴⁰⁾.

1.3.2. Principe

La densité est déterminée à 20°C par lactodensimètre muni d'un thermomètre.

1.3.3. Mode opératoire

Mettre l'échantillon dans une éprouvette de 250 mL. Ensuite, plonger le thermo-lactodensimètre dans l'éprouvette pleine qui débordera pour éventuellement éliminer la mousse. Il faut maintenir l'appareil verticalement et lire quand il est immobile au sommet du ménisque.

1.4.L'acidité titrable du lait

1.4.1. Définition

Selon (**JEAN et DIJON, 1993**) ⁽¹²⁾, l'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques et de l'acidité développée due à l'acide lactique formé dans la fermentation lactique.

Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (°D).
 $1^{\circ}\text{D} = 0.1\text{ g d'acide lactique par litre de lait.}$

1.4.2. Principe

Titration de l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

1.4.3. Mode opératoire

Introduire dans un bécher de 50 mL, un volume $V=10$ mL de lait à 20°C et quelques gouttes de phénolphtaléine fraîchement préparé (1% (m/v) dans l'éthanol à 96%). Doser par la soude N/9 contenue dans un acidimètre jusqu'à la coloration rose qui persiste une dizaine de secondes.

2. Extraction de la matière grasse du lait

Introduction

La matière grasse du lait est en grande majorité sous forme d'émulsion de globules gras, qui est stable du type "huile dans l'eau". La surface des globules gras est couverte par une couche adsorbée communément dénommée "membrane de globule gras". Cette membrane contient des phospholipides et des protéines sous forme d'un complexe. En plus de son rôle de stabilisation de l'émulsion de la matière grasse, le complexe de phospholipides - protéines joue un rôle important dans de nombreux procédés.

L'extraction des lipides du lait et de ses produits peut se faire par des procédés différents. Nous avons suivi trois procédés pour l'extraction de la matière grasse du lait :

2.1.Méthode (1) : la méthode acido-butyrique de Gerber

2.1.1. Définition

Méthode de dosage de la matière grasse du lait utilisant le butyromètre de Gerber. L'acide sulfurique dissout la caséine pour libérer la matière grasse.

2.1.2. Principe

Les constituants du lait autres que la matière grasse sont dissous par l'acide sulfurique (H_2SO_4). Et grâce à la force centrifuge et l'ajout d'une petite quantité d'alcool amylique ($C_5H_{11}OH$) qui dissout la matière grasse, cette dernière se sépare et monte au sommet du butyromètre ⁽³⁹⁾.

2.1.3. Mode opératoire

Garnir le butyromètre: en utilisant un doseur mettre d'abord 10 ml d'acide sulfurique en s'assurant de ne pas mouiller le haut de l'appareil. Ensuite, mettre 11 ml de lait en évitant le mélange avec l'acide pour ne pas augmenter la température du butyromètre. Puis, mettre 1 ml d'alcool amylique et quelques gouttes d'eau (pour faciliter la lecture) et enfin boucher le butyromètre à l'aide d'un bouchon sec.

Agiter le butyromètre pour mélanger le lait, l'acide et l'alcool pour favoriser l'attaque acide. Au début du mélange l'acide coagule les caséines, agiter pour dissoudre le caillé. Pour agiter, retourner le butyromètre.

Centrifugation : introduire le butyromètre dans la centrifugeuse (à 1200 tours/minute) avant son refroidissement en équilibrant celle-ci.

Centrifuger pendant 5 minutes.

2.2.Méthode (2) : Dosage de la matière grasse du lait par la méthode Rose-Gottlieb

2.2.1. Définition

La méthode ROSE-GOTTLIEB correspond à un dosage des lipides par pesée après extraction éthéro-ammoniacale.

2.2.2. Principe ⁽⁴¹⁾

Les lipides étant, dans le lait, associés notamment aux protéines, il faut déstabiliser cette association. Pour cela il faut utiliser de l'éthanol qui dénature les protéines et de l'ammoniaque qui permet de les solubiliser de nouveau, afin qu'elles ne gênent pas l'extraction des lipides par l'éther.

Extraire ensuite ces lipides par l'éther. Après extraction, le solvant organique contient les lipides, de l'éthanol mais encore une faible quantité d'eau. Afin d'éliminer au maximum la présence d'eau dans le milieu ensuite il faut ajouter de l'éther de pétrole qui permet le relargage de l'eau. Les couches éthero-alcooliques réunies sont évaporées à sec, et le résidu de matière grasse est pesé.

2.2.3. Mode opératoire

Dans une ampoule à décanter introduire et mélanger en agitant par rotation:

- 10 cm³ de lait
- 1.5 cm³ d'ammoniaque à 25% et mélanger convenablement.
- 10 cm³ d'éthanol à 95% et mélanger les liquides doucement.

Mettre ensuite le mélange dans l'ampoule à décanter et ajouter :

- 25 cm³ éther diéthylique et agiter plusieurs fois.

Laisser reposer l'ampoule jusqu'à séparation nette des deux phases, la phase supérieure doit être limpide.

- 25 cm³ éther de pétrole et agiter plusieurs fois en dégazant de temps en temps.

Récupérer alors la phase inférieure dans un bécher. Récupérer alors la phase supérieure et la mettre dans un erlenmeyer.

La phase aqueuse inférieure peut encore contenir des lipides ce qui nécessite une deuxième extraction qui sera réalisée de la même manière que la première en ajoutant sur cette phase, successivement:

- 15 cm³ éther diéthylique, et agiter.
- 15 cm³ d'éther de pétrole et agiter. Récupérer comme précédemment la phase supérieure dans la capsule ou le bécher.

Éliminer les solvants par évaporation, ensuite, chauffer le flacon pendant 1 heure environ dans l'étuve (à 100°C).

Retirer le flacon de l'étuve, le laisser refroidir et enfin le peser.

2.3.Méthode (3)⁽⁴²⁾

2.3.1. Principe

Le lait est versé dans un bécher au lieu d'un verre à montre et mis dans l'étuve à une température de 103°C, la surface de contact du lait contenu dans le bécher avec la chaleur de l'étuve n'est pas grande comme lorsqu'on utilise le verre à montre, donc l'eau contenue dans le lait va devenir sous forme de bulles qui vont monter pour s'évaporer.

Mais ce n'est pas toute la partie de l'eau qui est évaporée et donc on ne va pas obtenir toute la matière sèche mais plutôt on va obtenir 3 couches :

- 1^{ère} phase plus au moins calciné qui peut contenir une très faible quantité de la matière grasse,
- 2^{ème} phase représente la matière grasse puisqu'elle est moins dense que l'eau,
- 3^{ème} phase tout ce qui n'est pas matière grasse d'après l'analyse effectuée auparavant.

2.3.2. Mode opératoire

Dans un bécher de 250 mL. On verse un volume $V=150$ mL de lait et on le met dans une étuve chauffé à 103°C sans interruption pendant 48 heures.

2.3.3. Cas du lait reconstitué

2.3.3.1. Essai (1)

J'ai mis le lait dans l'étuve à 103°C pendant 24 heures sans interruption, j'ai obtenu deux phases :

- Une couche supérieure solide pratiquement calcinée,
- Un liquide de couleur marron clair.

2.3.3.2. Essai (2)

J'ai prolongé le temps du chauffage 48 heures au lieu de 24 heures sans interruption et je n'ai obtenu que deux phases :

- La phase supérieure pratiquement calcinée de couleur marron foncé,
- La phase inférieure qui avait un aspect pâteux de couleur marron foncé.

Il y avait apparition que d'une très faible quantité de la phase huileuse que je n'ai pas pu l'extraire (je n'ai obtenu que quelques gouttes).

2.3.4. Cas du lait pasteurisé

2.3.4.1. Essai (1)

J'ai laissé le lait dans l'étuve pendant 24 heures sans interruption, le lait s'est décomposé en donnant trois phases totalement distinctes :

- Une couche supérieure solide pratiquement calcinée,
- Une substance liquide légèrement huileuse de couleur jaunâtre,
- Une substance pâteuse de couleur marron clair.

J'ai fait l'extraction de la phase huileuse en utilisant une seringue ordinaire (de volume de 5 mL), je l'ai mise dans un flacon marron foncé et je l'ai conservée dans le réfrigérateur.

2.3.4.2.Essai (2)

Puisque la phase jaunâtre était très légère j'ai pensé à refaire la même expérience mais en prolongeant la durée du chauffage c'est-à-dire j'ai laissé le lait dans l'étuve pendant 48 heures et j'ai obtenu le résultat suivant :

- Une couche supérieure solide de couleur marron foncé,
- Une substance huileuse de couleur jaunâtre et plus dense que celle obtenue lors du premier essai,
- Une substance pâteuse de couleur marron plus foncé que la précédente.

Donc ce qui m'a conduit à supposer que la phase huileuse obtenue dans le premier essai contenait encore de l'eau.

2.3.4.3.Analyse des acides gras contenus dans la phase huileuse

Pour connaître la composition d'une huile en l'analysant par C.P.G, on la transestérifie par le méthanol et on transforme les triesters du glycérol qui constituent le corps gras en des monoesters du méthanol ayant des points d'ébullition moins élevés. L'analyse par C.P.G. peut se faire alors à des températures plus basses.

Il s'agit de la réaction d'un ester sur un alcool pour donner un autre ester selon la réaction indiquée dans le schéma (1) :

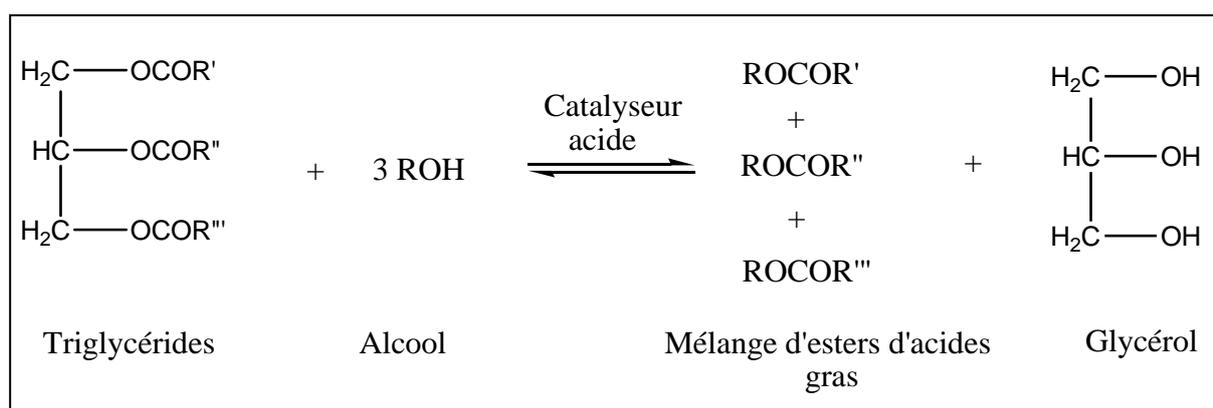


Schéma 1: Réaction de transésterification des triglycérides avec l'alcool.

La réaction de transestérification se fait en trois étapes successives :

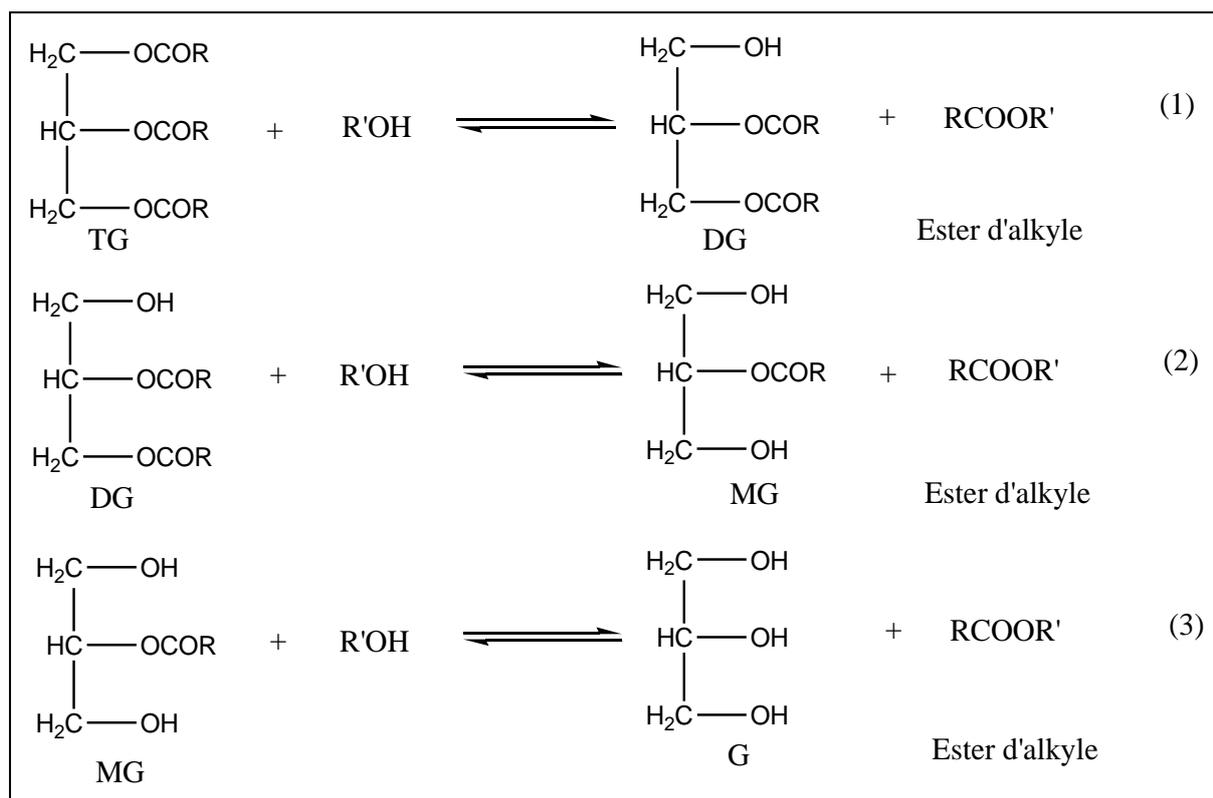


Schéma 2: Réactions successives de la transestérification.

La réaction de transestérification est chimiquement équilibrée. Les étapes (1) et (2) sont rapides car les fonctions esters primaires sont transestérifiées en premier alors que l'étape (3) est plus lente^(43, 44).

Pour la réaction de la transestérification des triglycérides contenus dans la phase huileuse, deux méthodes ont été appliquées⁽⁴⁵⁾ :

2.3.4.3.1. La transestérification par le méthanol en présence d'un acide fort (H₂SO₄) :

Mode opératoire

1 g de matière grasse est pesée dans un bicol de 250 mL. On y ajoute 10 mL de méthanol sulfurique (1 %). Le mélange est alors porté à ébullition pendant 25 minutes avec un réfrigérant à reflux et une garde à CaCl₂. Après avoir arrêté le chauffage on verse environ 10 mL d'eau distillée. Après refroidissement le contenu est transvasé dans une ampoule à décanter et le bicol est rincé plusieurs fois en utilisant en tout 20 mL d'eau distillée puis 20 mL de chloroforme qui sont versés à leur tour dans l'ampoule à décanter.

On extrait trois fois la phase aqueuse avec 25 mL de chloroforme, les esters méthyliques se rassemblent dans la phase organique.

On réunit les phases organiques qui vont être lavées avec une solution saturée de bicarbonate de Sodium pour éliminer les traces d'acide sulfurique ensuite avec de l'eau distillée, séchées sur Sulfate de Sodium. Ensuite, on filtre puis on chasse le chloroforme à l'évaporateur rotatif.

➤ Mécanisme de la réaction de transestérification en milieu acide :

Ce mécanisme est identique à celui de l'estérification:

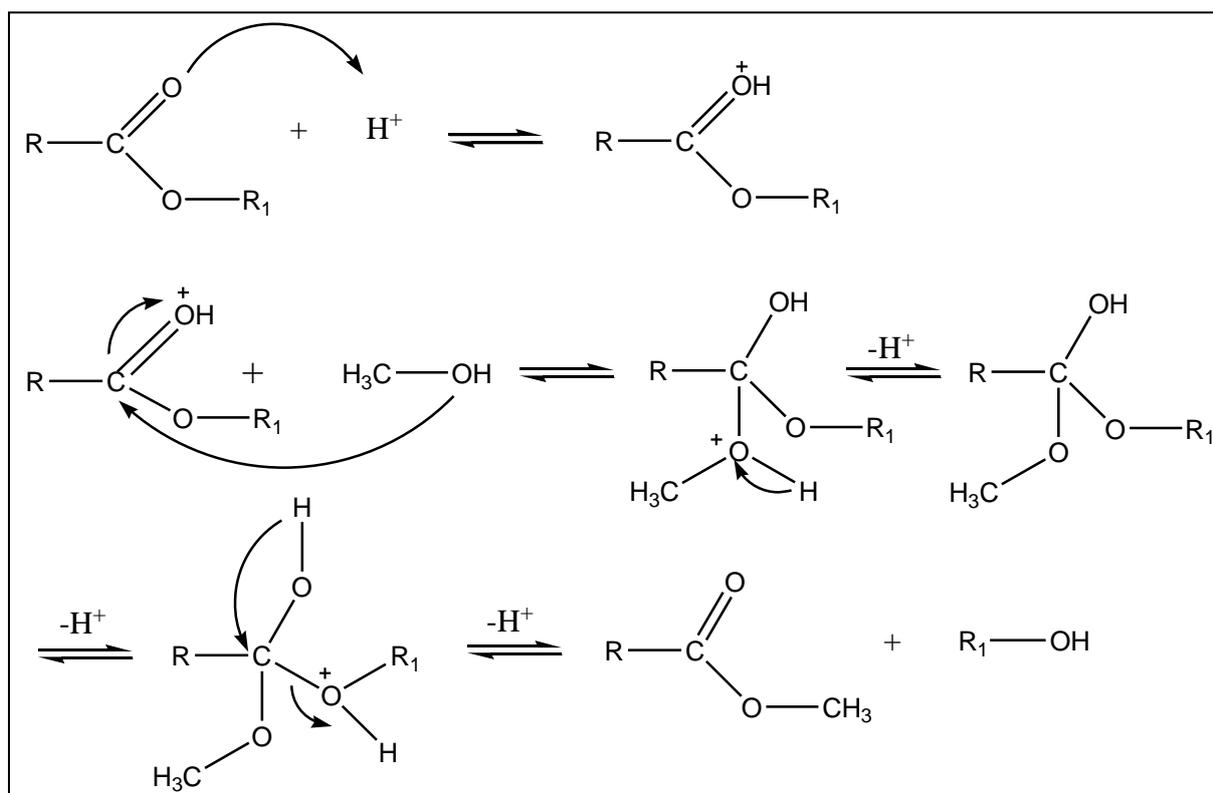


Schéma 3: Mécanisme de la réaction de la transestérification catalysée par un acide fort.

2.3.4.3.2. La transestérification par le méthanol en présence de trifluorure de bore :

Mode opératoire

0.6 g de matière grasse sont pesées dans un bicol de 250 mL. On y ajoute 15 mL de solution méthanolique de fluorure de bore (14 %). On porte alors à ébullition à reflux pendant 2 minutes en utilisant un réfrigérant et une garde à CaCl_2 . Après avoir arrêté le chauffage on verse un volume d'environ 10 mL d'eau distillée.

Après refroidissement le contenu est transvasé dans une ampoule à décanter et le bicol est rincé plusieurs fois en utilisant en tout 20 mL d'eau distillée puis 20 mL de chloroforme qui sont versés à leur tour dans l'ampoule à décanter. On extrait trois fois la phase aqueuse avec 25 mL de chloroforme, les esters méthyliques se rassemblent dans la phase organique.

On réunit les phases organiques qui vont être lavées, séchées sur Sulfate de Sodium. Ensuite, on filtre puis on chasse le chloroforme à l'évaporateur rotatif.

2.3.4.4. Propriétés physico-chimiques de l'huile extraite

2.3.4.4.1. Propriété physique

- La densité

a. Définition

La densité représente le rapport entre la masse volumique de la substance liquide et celle de l'eau. C'est une grandeur physique qui caractérise les corps liquides par unité de volume ⁽⁴⁶⁾.

b. Mode opératoire

- Dans un bécher, on met un volume précis de l'huile et on le pèse.
- Dans le même bécher, on mesure le même volume de l'eau distillée et on pèse en notant la température.

2.3.2.2.2. Propriétés chimiques

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. Les méthodes utilisées

pour la détermination des caractéristiques physico-chimiques sont celles décrites dans la norme du Règlement CEE n°2568/91 ⁽⁴⁷⁾.

On distingue ainsi :

- Indice d'acide

- a. Introduction

Les acides gras s'hydrolysant naturellement donnent naissance à des acides gras libres et à du glycérol. La mesure de l'indice d'acide d'un corps gras est un des meilleurs moyens de déterminer son altération par hydrolyse.

- b. Définition

C'est le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour neutraliser l'acidité de 1g de corps gras ⁽⁴⁵⁾.

- c. Principe

Le principe consiste à titrer l'huile en solution dans un mélange d'éthanol et de solvant par une solution alcoolique de potasse.

- d. Mode opératoire

Dans un erlenmeyer, verser successivement 10 ml d'éthanol (96%), 10 mL de chloroforme, 2 gouttes de phénolphtaléine et une masse d'environ 0,4 g d'huile. Agiter avec l'agitateur magnétique jusqu'à dissolution, ensuite réaliser le dosage avec la potasse alcoolique (10^{-2} mol/L) jusqu'à apparition d'une coloration rose persistante ⁽⁴⁵⁾.

- Indice de saponification

- a. Définition

Il représente le nombre de milligrammes de potasse caustique nécessaire pour transformer en savon les acides gras et les glycérides d'un gramme ⁽⁴⁵⁾.

- b. Principe

Il s'agit d'un dosage en retour. On fait réagir à chaud une solution d'acide gras avec un excès de potasse KOH. Cet excès est ensuite dosé par une solution d'acide chlorhydrique (HCl).

c. Mode opératoire

Les corps gras étant insolubles dans l'eau, il faut les dissoudre dans un solvant organique approprié. Commencer par peser une masse connue et voisine de 0.5 g dans un bécher. Ajouter 12.5 mL de solvant constitué à 50% d'éthanol et de chloroforme. Agiter pour dissoudre le corps gras.

Introduire dans un erlenmeyer de 250 mL un volume $V=10$ mL de cette solution. Ajouter 25 mL de potasse alcoolique de concentration 0,5 mol/L. Mettre au bain marie bouillant pendant 60 minutes. Ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphaléine. Doser l'excès de potasse par l'acide chlorhydrique à une concentration de 0,5 mol/L en agitant jusqu'à la disparition de la coloration de la phénolphaléine. Effectuer dans les mêmes conditions un essai à blanc.

- Indice d'ester.

C'est le poids en mg de potasse nécessaire pour saponifier les esters contenus dans 1g de matière grasse⁽⁴⁵⁾.

Cet indice n'est pas mesuré, il est calculé par la formule suivante :

Indice d'ester = indice de saponification - indice d'acide.

3. Extraction des acides gras du lait et transformation en esters méthyliques

La plupart des réactions sont réalisées avec des réactifs et des solvants commerciaux, ainsi le méthanol a été distillé avec un traitement de Mg et I₂ et conservé sur un tamis moléculaire (4A°).

3.1. Introduction

La préparation des esters méthyliques est réalisée en trois étapes :

- ❖ La saponification des lipides,
- ❖ La libération des acides gras,
- ❖ Estérification des acides gras.

3.1.1. Saponification des lipides

Au cours de la réaction de saponification, les corps gras sont hydrolysés en milieu alcalin par la soude (NaOH) en chauffant le milieu réactionnel. La température élevée sert à accélérer la réaction de saponification car c'est un facteur cinétique. La saponification des corps gras produit du glycérol et un mélange de carboxylates de sodium qui constitue le savon.

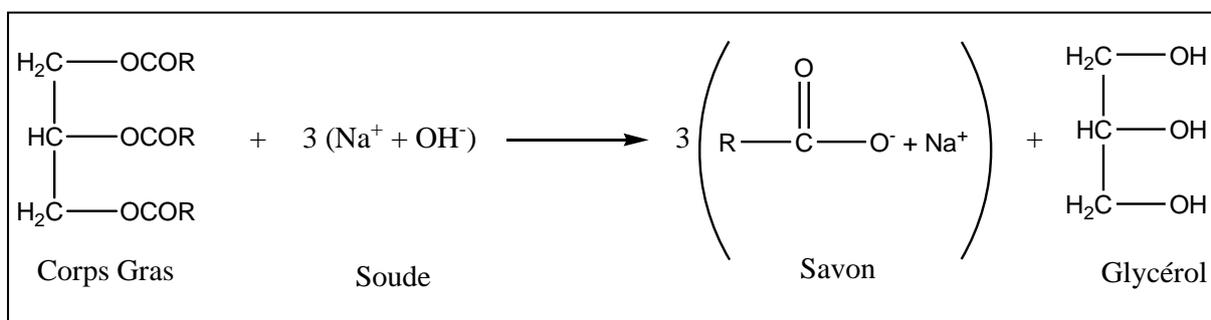


Schéma 4: Réaction de la saponification des triglycérides.

- Mécanisme de la réaction de saponification

Il se décompose en trois étapes :

- a. Attaque nucléophile :

La réaction commence par une attaque de l'ion HO⁻ sur le site électrophile de la molécule d'ester.

b. Elimination du groupe alcoolate.

Cette étape forme un acide carboxylique, acide faible et une base très forte, l'ion alcoolate. Il y a donc forcément une réaction acido-basique entre l'acide le plus fort et la base la plus forte, donc transformation de l'acide carboxylique en ion carboxylate.

c. Réaction acido-basique entre l'acide carboxylique et l'ion alcoolate.

L'ion alcoolate est une base très forte qui arrache un proton à l'acide carboxylique.

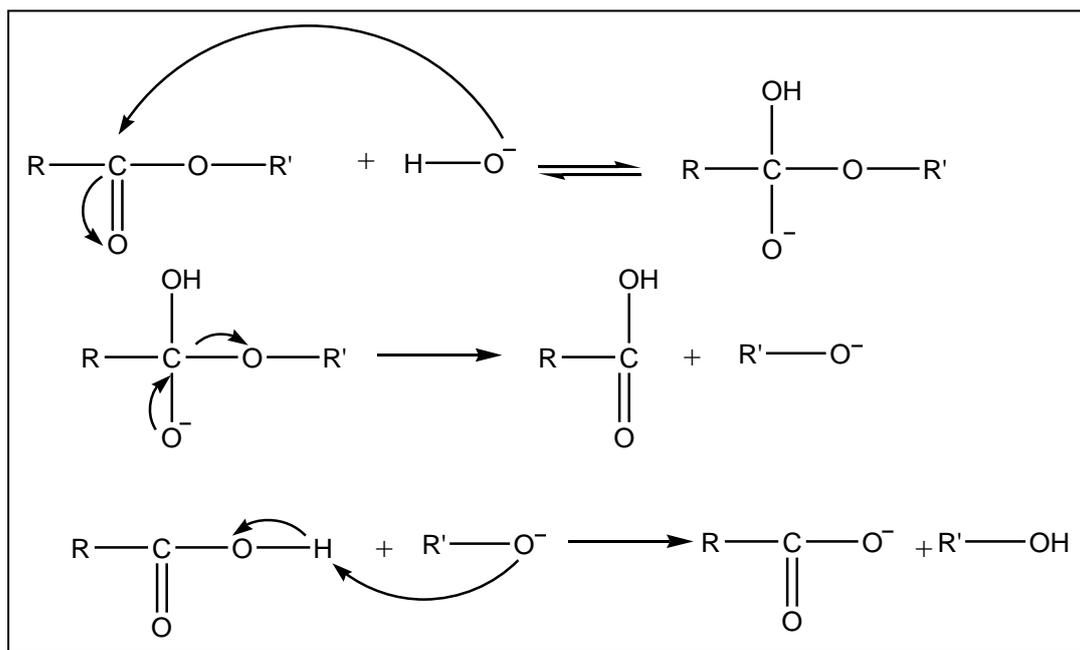


Schéma 5: Mécanisme de la réaction de la saponification des triglycérides.

3.1.2. La libération des acides gras

Pour obtenir un acide carboxylique, il faut acidifier le milieu par un acide concentré :

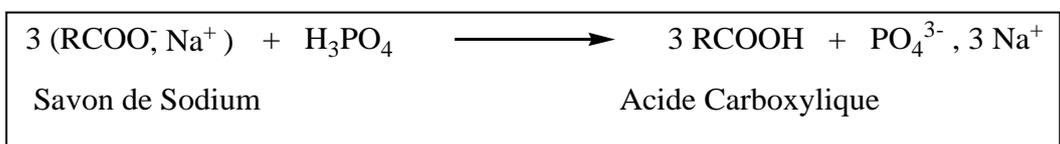


Schéma 6: Réaction acido-basique pour l'obtention des acides gras.

Le mécanisme de l'acidification de l'ion carboxylate est représenté dans le schéma (7) :

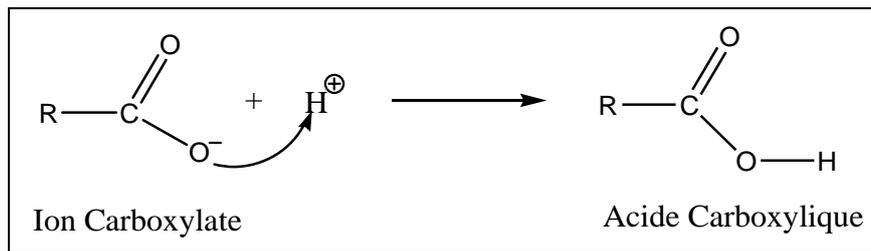


Schéma 7: Mécanisme de l'acidification des sels de Sodium.

3.1.3. Estérification des acides gras

La réaction d'estérification est la réaction entre un acide carboxylique et un alcool conduisant à la formation d'un ester et l'eau. Les réactions d'estérification sont lentes cela nécessite la présence d'un catalyseur acide.

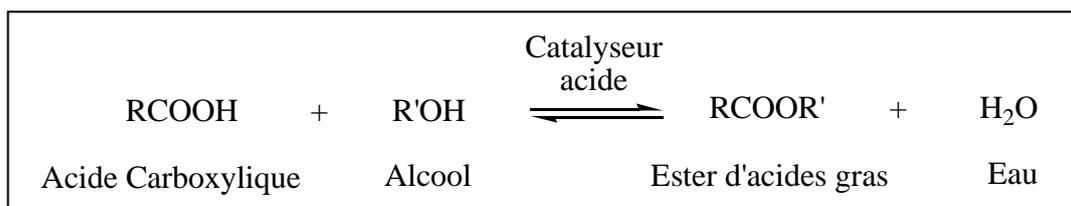


Schéma 8: Réaction d'estérification.

3.2. Mode opératoire ⁽⁴⁸⁾

20 g de l'extrait sec total (la méthode de sa préparation est décrite dans 1.2) est saponifié par 5 g de NaOH dans 200 mL de méthanol absolu pendant 5 heures à la température d'ébullition du mélange, sous un réfrigérant à reflux muni d'une garde à CaCl_2 .

Les savons formés sont dissous en ajoutant environ 50 mL d'eau distillée à la liqueur de saponification. Une fraction des constituants du lait n'est soluble qui est constituée probablement par des alcools à très longue chaîne moléculaire, saponifiés ou non par le traitement précédent est filtrée. La séparation des savons et de l'insaponifiable se fait par extraction plusieurs fois à l'hexane.

Pour la libération des acides gras, la phase aqueuse contenant les sels de sodium (c'est-à-dire le savon basique) est acidifiée par de l'acide phosphorique concentré jusqu'au

pH=1 (le papier pH indique une couleur rouge), ensuite, le mélange est extrait plusieurs fois à l'hexane.

Les phases organiques sont ensuite lavées plusieurs fois à l'eau et ensuite séchées par le sulfate de calcium et enfin on procède à une évaporation du solvant en utilisant un évaporateur rotatif or on utilisant cet appareil, on réalise une évaporation sous vide en une trompe à eau. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain d'huile de silicone chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide.

Expérimentalement, un certain nombre de difficultés s'est présenté. Nous avons donc été obligés de procéder à plusieurs essais, ces derniers sont regroupés dans le tableau (1) :

Difficultés rencontrées dans la réaction	Solutions appliquées
Filtration de l'insaponifiable.	Ajouter une grande quantité d'eau distillée pour renforcer la solubilité des savons de Sodium.
Solubilité de l'insaponifiable dans l'hexane.	Utiliser un autre solvant : le chloroforme.
Solubilité des acides gras dans l'hexane.	Utiliser le chloroforme comme solvant d'extraction.

Tableau 1: Tableau récapitulatif des différentes difficultés rencontrées dans l'extraction des acides gras.

- Estérification des acides gras extraits

Pour analyser les acides gras obtenus en CPG, on doit tout d'abord les estérifiés dans le but de rendre les AG volatils. On réalise l'estérification de la manière suivante ⁽⁴⁵⁾ :

250 mg d'acides gras sont chauffés à reflux (en utilisant un réfrigérant muni d'une garde à CaCl₂) en présence de 7.5 mL d'une solution méthanolique de BF₃ (14 %) pendant 5 minutes. Après dilution à l'eau (environ 7.5 mL), les esters méthyliques d'acides gras sont extraits plusieurs fois au chloroforme. La phase organique est ensuite lavée avec de l'eau distillée et après avoir vérifié la neutralité du milieu la phase organique est ensuite séchée

Partie expérimentale

avec le sulfate de Sodium. Après filtration, le chloroforme est évaporé en utilisant l'évaporateur rotatif.

- ❖ Les mêmes modes opératoires ont été appliqués pour le lait en poudre.

II. Résultats et discussions

1. Détermination des propriétés physico-chimiques du lait

1.1. Détermination du pH

La détermination du pH, a été faite au sein du laboratoire COSNA, à l'aide d'un pH-mètre PHE-17 à affichage numérique. Les résultats sont représentés dans le tableau (2) :

Type du lait	Lait pasteurisé	Lait reconstitué
pH	6.61	6.79
Température	17.6	20.1

Tableau 2: Les valeurs du pH des laits.

Les valeurs du pH représentent l'état de fraîcheur du lait, plus particulièrement en ce qui concerne sa stabilité.

D'après les résultats obtenus nous remarquons que le pH des deux types du lait est dans les normes puisque leur valeur n'est pas inférieure à 6.5 ⁽¹⁶⁾ et le fait que le pH du lait reconstitué est légèrement supérieur à celui du lait pasteurisé cela lui confère une longue conservation c'est-à-dire une plus grande stabilité.

1.2. Détermination de la matière sèche totale

La détermination de l'extrait sec total a été faite au sein du laboratoire d'analyse d'eau et des produits agro-alimentaires et les résultats sont représentés dans le tableau (3).

Type du lait	Lait pasteurisé	Lait reconstitué
EST (g/L)	111.3	172.2
EST (%)	11.113	17.22

Tableau 3: Les extraits secs totaux des laits.

Les résultats illustrés dans le tableau (3) montrent que le lait reconstitué est plus riche en EST que le lait pasteurisé qui a une valeur très proche de celle décrite dans le journal officiel de la république Algérienne qui est de 11.5 g/L.

- La détermination de la densité et de l'acidité titrable a été réalisée au laboratoire des analyses physico-chimiques de l'industrie laitière de GIPLAIT El Mansourah.

1.3. Détermination de la densité

Type du lait	Lait pasteurisé	Lait reconstitué
Densité à 20 °C	1.030	1.032

Tableau 4: Les valeurs de la densité des laits.

La densité du lait pasteurisé est légèrement inférieure à celle du lait reconstitué car la densité varie dans le même sens que la richesse en matière sèche du lait c'est-à-dire qu'un lait plus riche sera a priori plus lourd. Ceci explique en partie le taux élevé de la M.S.T du lait reconstitué déterminée en (1.2).

1.4.Détermination de l'acidité titrable

Les résultats de ce dosage sont regroupés dans le tableau (5) :

Type du lait	Lait pasteurisé	Lait reconstitué
Acidité (en °D)	16	14

Tableau 5: Acidité des laits.

L'acidité titrable du lait ne renseigne pas sur la quantité d'acide lactique dans le lait mais sur son acidité globale qui repose sur l'ensemble de ses constituants acides et sur sa teneur en matière sèche. Elle doit être comprise entre 15 et 18°D. Donc d'après les résultats indiqués dans le tableau (5), on peut dire que l'acidité du lait pasteurisé est dans les normes alors que celle du lait reconstitué est légèrement inférieure et cela est dû à une possibilité de conservation plus longue.

2. Extraction de la matière grasse du lait

2.1.La méthode acido-butyrique de Gerber

La détermination de la matière grasse du lait par cette méthode a été effectuée au sein du laboratoire des analyses physico-chimiques de l'industrie laitière GIPLAIT, ainsi qu'au laboratoire d'analyse d'eau et les produits agro-alimentaires.

La méthode acido-butyrique de Gerber repose sur la lecture directe sur un butyromètre la quantité de matière grasse contenue dans le lait, les résultats de cette mesure sont illustrés dans le tableau (6) :

Type du lait	Lait pasteurisé	Lait reconstitué
Aspect	Liquide limpide	Liquide limpide
Couleur	Jaune	Jaune
MG (g/L)	31	28

Tableau 6: La teneur en matière grasse des laits.

La teneur en matière grasse du lait entier est comprise entre 28 g/L et 35g/L ⁽⁶⁾, donc selon les résultats obtenus nous remarquons que le lait pasteurisé a pratiquement une valeur très proche de la moyenne alors que la teneur de la matière grasse du lait reconstitué obtenue est identique

à celle indiquée dans le sachet du lait en poudre qui elle-même appartient à l'intervalle cité précédemment.

2.2.La méthode de Rose Gottlieb

Type du lait	Aspect	Couleur	Masse obtenue (g)
Pasteurisé	Liquide limpide (aspect huileux)	Jaune	0.27
Reconstitué	Liquide limpide (aspect huileux)	Jaune	0.20

Tableau 7: Caractéristiques des huiles obtenues par la méthode de Rose Gottlieb.

D'après les masses obtenues des deux types du lait et en se basant sur les résultats de la méthode d'extraction précédente nous pouvons dire que la méthode de Rose Gottlieb permet une extraction quasi-complète de la matière grasse du lait.

2.3.La méthode (3)

- Le lait pasteurisé

Type du lait	Aspect	Couleur
Lait pasteurisé	Liquide limpide (huileux)	Jaune

Tableau 8: Caractéristiques de l'huile obtenue par la méthode (3).

En comparant avec les deux méthodes d'extraction précédentes, nous avons remarqué que cette méthode ne donne pas un bon rendement c'est-à-dire ce n'est pas toute la matière grasse qui est extraite (peut être qu'une partie d'elle est dans la phase supérieure) car pour 150 mL du lait nous avons obtenu qu'environ 2 g de matière grasse.

Donc j'ai supposé qu'il fallait la laisser plus de temps dans l'étuve (environ 72 heures) pour extraire le maximum d'huile.

Les trois phases signalées auparavant ont été obtenues même dans le cas du lait de vache cru ⁽⁴²⁾.

2.3.1. Transestérification des triglycérides contenus dans la matière grasse

La chromatographie en phase gazeuse (C.P.G) est la principale technique pour déterminer le profil d'acides gras du lait.

Toutefois étant donné que les acides gras sont naturellement estérifiés sous forme de triglycérides, leur séparation par la chromatographie en phase gazeuse est très difficile vu que ce type de chromatographie est utilisé pour la séparation de molécules de faible masse moléculaire et apolaires ou faiblement polaires.

- Mode opératoire

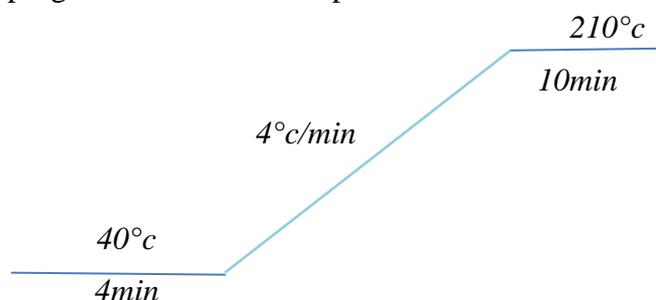
A l'aide d'une micro seringue de 1 μl , un volume de 0,5 μl des acides gras estérifiés est injecté dans la colonne. La séparation est faite en gradient de température à l'aide d'un chromatographe SHIMADZU modèle GC 17-A, instrument lié à un intégrateur enregistreur avec les conditions opératoires suivantes de la (CPG/ FID):

Gaz vecteur : N_2 (Azote)

Type de colonne : colonne capillaire type **TR-CN100**

Structure de la colonne utilisée : **Poly (bicyanopropyl) siloxane.**

- Température maximum de la colonne : **220°C.**
- Température de l'injecteur : **250°C.**
- Température du détecteur : **280°C.**
- Longueur : **30m.**
- Diamètre intérieur : **0,25 mm.**
- Epaisseur du film : **0,20 μm .**
- Vitesse du gaz vecteur : **34 cm/sec.**
- Débit total du gaz vecteur : **25 mL/min.**
- Débit du gaz vecteur dans la colonne : **1,5 mL/min.**
- Mode d'injection : **Split.**
- Rapport split : **14 :1**
- Débit du gaz dans le split : **20 mL/min.**
- Débit de la purge : **3 mL/min.**
- Fuite du septum : **2 mL/min.**
- Pression : **600 kPa.**
- La programmation de la température est faite comme suit :



- Temps total de l'analyse : **60 min.**

- La structure du Poly (bicyanopropyl) siloxane est représentée dans la figure ci-dessous :

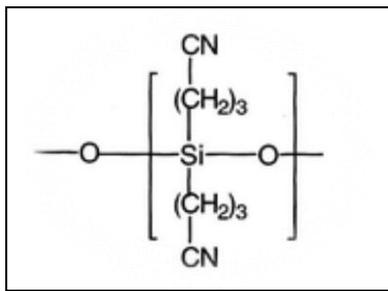


Figure 26: La structure du Poly (bicyanopropyl) siloxane.

L'identification des pics des acides gras est faite par comparaison avec des chromatogrammes références (chromatogrammes des étalons) dans les mêmes conditions de travail.

a. Transésterification en présence d'acide sulfurique

Avant de faire l'analyse par la CPG, il fallait s'assurer de la présence de l'ester donc il fallait procéder à une analyse par infrarouge.

Les spectres d'absorption infrarouge (IR) ont été effectués au Centre de mesures du Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) à l'aide d'un spectromètre « Perkin Elmer L1600300 SPECTRUM TWO » en utilisant des pastilles de KBr, les valeurs de fréquences sont exprimées en cm^{-1} .

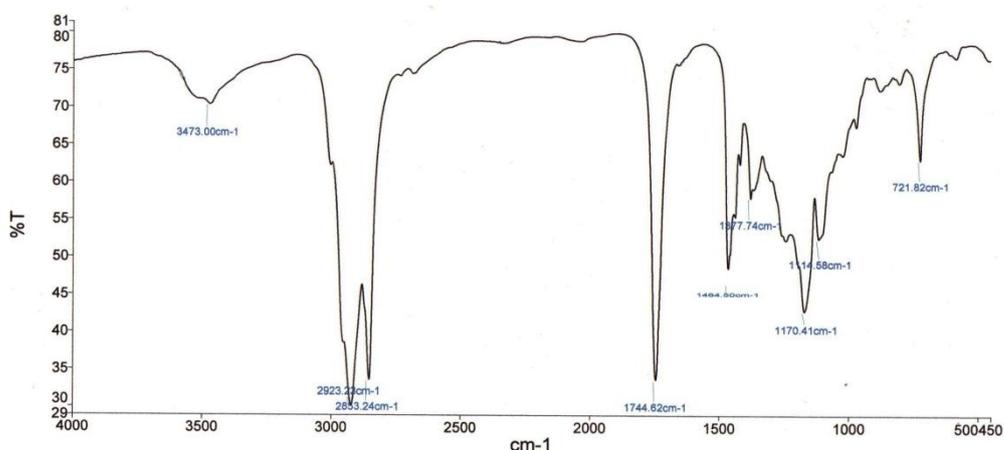


Figure 27: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait pasteurisé en présence de H_2SO_4 .

Laurate de méthyle	C12 :0	24.402	6.42
Palmitate de méthyle	C16 :0	28.911	20.49
Tétradécanoate de méthyle	C14 :0	30.131	2.63
Pentadécanoate de méthyle	C15 :0	30.948	1.52
*Palmitoléate de méthyle	*C16 :1	33.268	18.37
*Myristoléate de méthyle	*C14 :1	37.328	3.46
Oléate de méthyle	C18 :1	37.954	11.15
Arachidate de méthyle	C20 :0	41.914	0.93
*Linoléate de méthyle	*C18 :2	44.400	0.79
Heneicosanoate de méthyle	C21 :0	45.37	1.87
*Arachidonate de méthyle	*C20 :4	47.490	5.60

Tableau 9: Identification et composition moyenne des EMAG obtenus en présence de H₂SO₄.

b. Transestérification par le trifluorure de bore

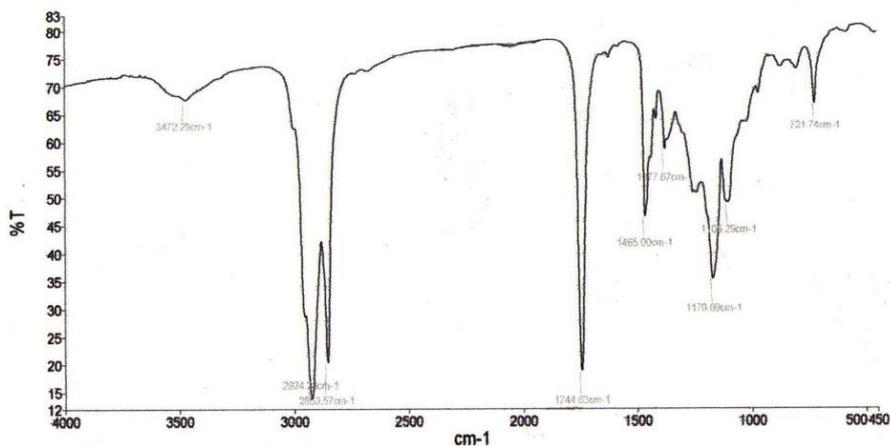


Figure 29: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait pasteurisé en présence de BF₃.

Données spectrales: 1744.63 cm⁻¹ (C=O ester), 1170.69 cm⁻¹ (C-O-C), 2924.24 cm⁻¹ et 2853.57 cm⁻¹ (C-H aliphatique).

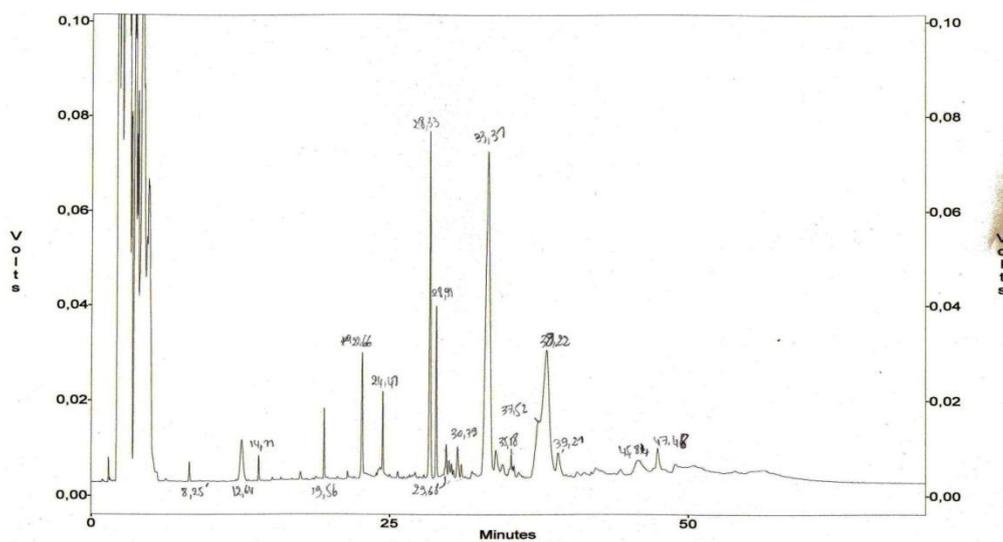


Figure 30: Chromatogramme des EMAG après estérification en présence de BF₃.

Esters d'acides	Nombre d'atomes de Carbones	Temps de rétention des EMAG de l'échantillon (min)	Composition en EMAG du lait (%)
Hexanoate de méthyle	C6 :0	8.249	0.45
Inconnu	/	12.669	3.08
Octanoate de méthyle	C8 :0	14.112	0.51
Décanoate de méthyle	C10 :0	19.575	1.35
Inconnu	/	22.735	3.88
Laurate de méthyle	C12 :0	24.442	2.40
Palmitate de méthyle	C16 :0	28.418	11.06
Tétradécanoate de méthyle	C14 :0	28.925	4.30
Inconnu	/	29.641	1.53
Pentadécanoate de méthyle	C15 :0	30.698	1.26
*Palmitoléate de méthyle	*C16 :1	33.328	35.17
Heptadécanoate de méthyle	C17 :0	35.231	1.32

Myristoléate de méthyle	*C14 : 1	37.540	5.46
Oléate de méthyle	C18 :1	37.640	22.05
Linoléate de méthyle	C18 :2	38.211	2.32
Heneicosanoate de méthyle	C21 :0	45.834	2.45
*Arachidonate de méthyle	*C20 :4	47.477	1.41

Tableau 10: Identification et composition moyenne des EMAG obtenus en présence de BF₃.

➤ Interprétation des deux chromatogrammes :

D'après les tableaux (9) et (10) nous constatons que les acides gras saturés, à nombre pair de carbone, dominent très largement puisqu'ils représentent à eux seuls près de la majorité des acides gras contenus dans le lait, la raison pour laquelle nous avons donné des suppositions concernant les AG dont les étalons n'ont pas été identifiés.

Les acides gras saturés de faible poids moléculaire (C₄-C₁₀) sont présents en quantités modestes alors que les acides gras insaturés sont très variés.

Les acides gras polyinsaturés n'existent qu'en proportions faibles. Il en découle que les acides gras essentiels sont peu présents dans le lait (de l'ordre de 3%) dont le plus abondant c'est l'acide linoléique (C18 :2).

D'après les résultats des tableaux, nous remarquons que l'acide palmitique (C16 :0), l'acide Palmitoléique (C16 :1) et l'acide oléique (C18 :1) sont très abondants, ils sont considérés comme de bons fournisseurs d'énergie, l'acide oléique à son tour est le précurseur de dérivés à très longues chaînes (notamment à 24 atomes de carbone), il réduit aussi la cholestérolémie ce qui constitue un point positif indiscutable pour le lait.

Nous pouvons dire que nos résultats sont comparables avec ceux de la littérature ⁽⁴²⁾.

➤ Comparaison entre les deux catalyseurs (BF₃ et H₂SO₄)

Nous avons remarqué que le chromatogramme des EMAG obtenu en présence du trifluorure de Bore présente de légères différences puisque la composition centésimale fait apparaître la présence d'autres acides gras tel que l'acide heptadécanoïque avec une moyenne de 1.31% et l'acide linoléique avec une moyenne de 2.32%.

Les deux chromatogrammes en diffèrent notamment en ce qui concerne la concentration des acides gras restants dont en présence de l'acide sulfurique les pourcentages étaient plus au moins élevés par rapport à ceux obtenus en présence de BF₃ et cela est dû à la forte intensité des AG majoritaires c'est ce qui nous conduit à dire que la séparation du 2^{ème} échantillon était meilleure que celle du 1^{er}, en plus la réaction avec le BF₃ prend moins de temps qu'avec H₂SO₄ et donc le catalyseur le plus convenable pour la transestérification des acides gras est le trifluorure de Bore.

2.3.2. Détermination des propriétés physico-chimiques de l'huile extraite

2.3.2.1. La densité

Le calcul de la densité est donné par la formule suivante :

$$d = \frac{\rho (\text{huile})}{\rho (\text{eau})} = \frac{\frac{m}{V}}{\frac{m'}{V'}}$$

Où :

m : la masse de l'huile en (g)

V : le volume de l'huile en (mL)

m' : la masse d'eau en (g)

V' : le volume de l'eau en (mL)

La densité de la matière grasse du lait est de 0.830 à 24°C, notre huile possède une densité inférieure à celle de l'eau, c'est la caractéristique de la majorité des huiles animales et végétales.

2.3.2.2. L'indice d'acide

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 indiqué dans le schéma (9) :

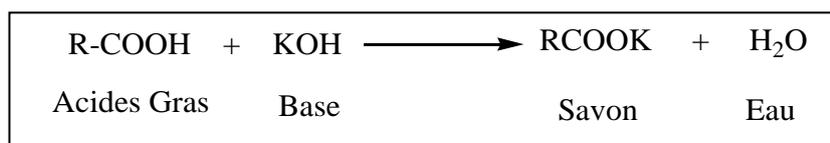


Schéma 9: Réaction de neutralisation acido-basique.

Le calcul de l'indice d'acide est effectué par la formule suivante :

$$I.A = \frac{M * V * C}{m}$$

Avec :

- **M** : la masse molaire de KOH (56.11 g/mol).
- **V** : le volume de KOH au point d'équivalence (mL).
- **C** : la concentration de KOH (mol/L).
- **m** : la masse de l'huile dosée.

Pour déterminer l'indice d'acide, nous avons procédé à un dosage d'une solution contenant l'huile, le chloroforme et l'éthanol avec du KOH à 0,01M. La valeur obtenue pour l'indice d'acide de notre huile est de $I.A = 4.53 \text{ mg KOH/g}$, elle est légèrement élevée d'après Williams K. A⁽⁴⁹⁾ qui renseigne sur des valeurs oscillantes entre 2.5. mg et 4.30 mg KOH/g. L'augmentation de cet indice est le signe du degré d'hydrolyse plus ou moins prononcé de la matière grasse. Donc une bonne huile possède un faible taux d'acidité qui contribue à lui donner une forte stabilité face à l'oxydation.

2.3.2.3.L'indice de saponification

Pour déterminer l'indice de saponification on a fait réagir une solution d'huile avec un excès de KOH (0,5M) selon la réaction qui est indiquée dans le schéma (10):

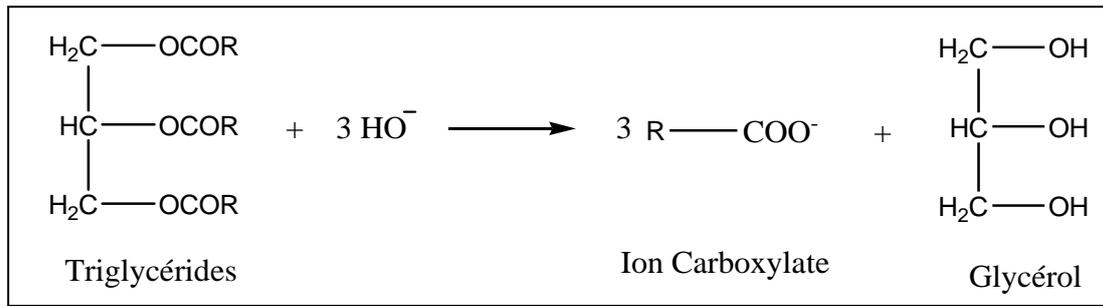


Schéma 10: Réaction de la saponification des triglycérides.

L'excès de la solution potassique est dosé par la suite avec du HCl à 0,5M.

Le calcul de l'indice de saponification se fait comme suit :

$$I.S = \frac{M * (V_t - V_e) * C}{m}$$

Où :

- **M** : la masse molaire de KOH (56.11 g/mol).
- **V_t** : le volume versé du témoin en ml
- **V_e** : le volume de l'essai en ml
- **C_{HCl}** : la concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/l
- **m** : la masse d'huile exactement pesée en g.

La valeur de l'indice de saponification est de 132.218 mg KOH/g.

L'indice de saponification nous informe sur la longueur de la chaîne carbonée des acides gras qui constituent les triglycérides, plus cet indice est faible plus la chaîne carbonée est longue. L'indice de notre huile est de 132.218 mg KOH/ g, ceci montre qu'elle possède des acides gras à longue et moyenne chaîne.

2.3.2.4.L'indice d'ester

L'indice d'ester est déterminé par la formule suivante :

$$I.E = I.S - I.A$$

Donc la valeur de l'indice d'ester est de 127.688 mg KOH /g.

L'indice d'ester est un indicateur renvoyant directement à la qualité de l'huile étudiée. L'huile extraite est caractérisée par un indice d'ester élevé ce qui ne permet pas une longue durée de conservation.

3. Extraction et estérification des acides gras du lait

3.1. Extraction des acides gras

3.1.1. Essai (1)

Après évaporation du solvant je n'ai rien obtenu donc j'ai supposé que j'ai perdu mon produit dans la phase aqueuse lors de l'extraction des AG par différents solvants or j'ai utilisé un mélange d'eau-chloroforme (je n'avais une quantité suffisante pour faire l'extraction) ensuite j'ai utilisé le dichlorométhane.

3.1.2. Essai (2)

En utilisant le chloroforme j'ai obtenu une masse de 0.25 g d'AG pour l'EST du lait pasteurisé et 0.53 g pour le lait en poudre à la fin de la réaction.

3.2. Estérification des acides gras

Après avoir effectué l'analyse des deux échantillons par spectroscopie infrarouge j'ai obtenu les spectres suivants :

➤ Spectre des EMAG du lait pasteurisé

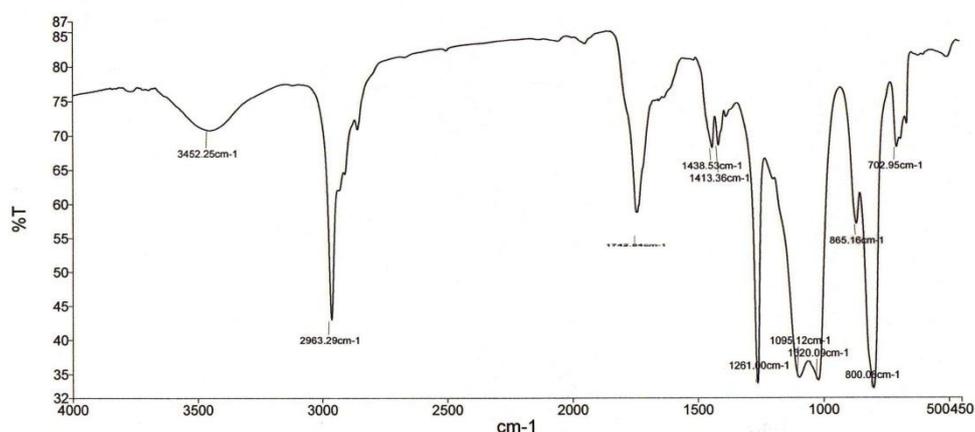


Figure 31: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait pasteurisé (après la 1^{ère} estérification).

Les bandes caractéristiques : 3452.25 cm^{-1} (O-H acide carboxylique : faible parce qu'une partie des acides carboxyliques n'est pas estérifiée), 1745.45 cm^{-1} (C=O acide carboxylique parce que celle de l'ester est beaucoup plus intense), $2962,92\text{ cm}^{-1}$ (C-H aliphatiques).

➤ Spectre des EMAG du lait en poudre

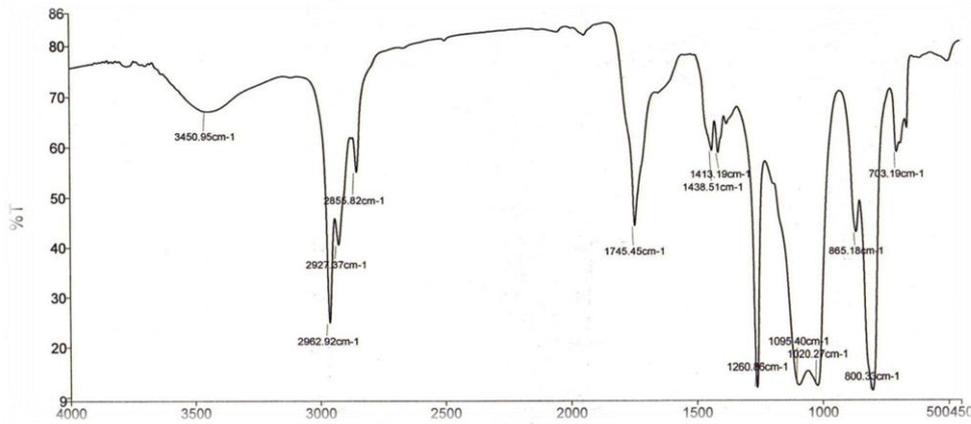


Figure 32: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait en poudre (après la 1^{ère} estérification).

Les bandes caractéristiques :

Pratiquement les mêmes bandes caractéristiques ont été observées pour le 2^{ème} spectre.

Donc puisqu'il y avait toujours les traces d'acide carboxylique dans les échantillons j'ai pensé à les estérifier une deuxième fois mais j'ai obtenu le même résultat ce qui m'a conduit à faire une troisième estérification en prolongeant le temps du reflux c'est-à-dire 10 minutes au lieu de 5 minutes et après l'analyse j'ai obtenu les résultats suivants :

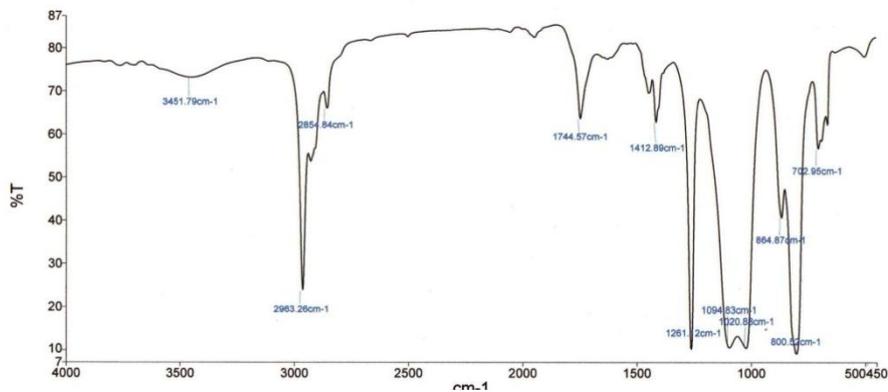


Figure 33: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait pasteurisé (après la 3^{ème} estérification).

Données spectrales : 3451.73 cm^{-1} (O-H acide carboxylique moins intense que la précédente), 1744.57 cm^{-1} (C=O acide carboxylique), 2963.25 cm^{-1} (C-H aliphatique).

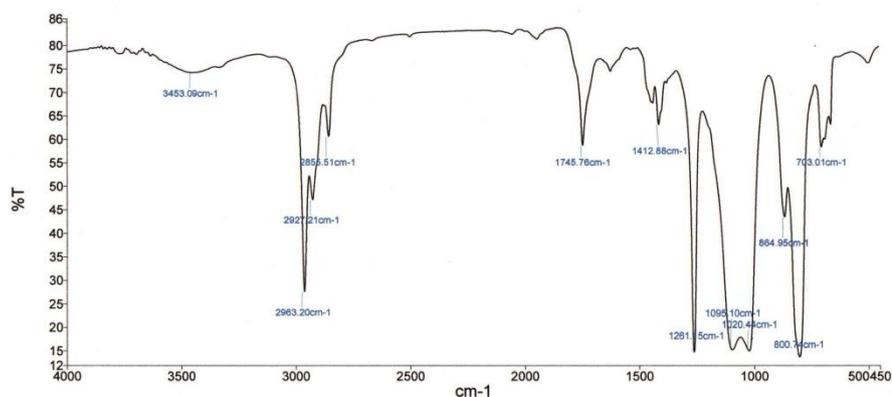


Figure 34: Vérification de la formation de la fonction ester dans les EMAG du lait en poudre (après la 3^{ème} estérification).

Données spectrales : pratiquement les mêmes bandes caractéristiques ont été observées pour les deux types du lait.

Puisque la bande de C=O n'était pas intense c'était impossible d'analyser les échantillons par la CPG à cause de la présence des traces d'acides dans le milieu réactionnel et cela est dû peut-être parce que le temps du reflux est peut être insuffisant pour estérifier tous les acides gras.

Conclusion générale

Après une étude bibliographique où nous avons introduit le lait, sa définition, sa composition chimique ainsi que les différents laits commercialisés et leurs modes de préparation, nous avons déterminé les différentes caractéristiques physico-chimiques de nos deux échantillons de lait.

Sur le plan physico-chimique les résultats ont été compris dans des intervalles proches des normes internationales retenues pour cet aliment.

Nous avons essayé ensuite de déterminer la composition chimique de ces derniers.

Il s'est avéré que l'extraction de la matière grasse ainsi que l'estérification des acides gras par deux méthodes différentes et les essais d'analyse et d'identification ne sont pas si aisées qu'il apparaît.

Nous avons néanmoins réussi à le faire partiellement.

Nous avons trouvé que le lait est riche en acides gras saturés possédant un nombre d'atomes de carbone alors qu'il est pauvre en acides gras essentiels.

Nous nous sommes, dans le cadre de ce modeste travail, familiarisé avec la réalité du laboratoire ainsi que ses aléas. Nous avons appris à maîtriser deux méthodes d'analyse à savoir l'infrarouge et la chromatographie en phase gazeuse.

Ce travail pourrait être plus complet en refaisant les extractions plusieurs fois afin de nous assurer que nous avons la totalité des acides gras et par une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse afin d'identifier de façon certaine tous nos extraits.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques

- [1] : Alais, C. Science du lait. Principes des techniques laitières. 4^{ème} ed. Paris : Editions Sepaic, **1984**, 814 pages.
- [2] : Code de la consommation. Lait, produits laitiers. Editions Dalloz. Paris, **2001** , pp. 827-837.
- [3] : Codex Alimentarius. Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie, **1999**, pp. 1-4.
- [4] : Pougheon, S., Goursaud, J. Le lait -caractéristiques physicochimiques. In DEBRY G. Lait nutrition et santé. Paris : Tec et Doc, **2001**, p.6 (566 pages).
- [5] : Luquet, F.M. Lait et produits laitiers: 1- Les laits de la mamelle à la laiterie, **1985**, ed Lavoisier, Paris.
- [6] : Fredot, E. Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, **2006**, ed Lavoisier: 25 (397 pages).
- [7] : Alais, C., Linden, G., Miclo, L. Biochimie alimentaire. 5^{ème} ed. Paris : Dunod, **2003**. 250 pages.
- [8] : Linden, G., Lorient, D. Biochimie agro-alimentaire. Ed. Masson. Paris : Valorisation alimentaire de la production agricole, **1994**, pp. 141-163.
- [9] : Amiot, J., Fournier S., Lebeuf, Y., Paquin, P., Simpson, R., Turgeon, H. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. In VIGNOLA C.L. Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, **2002**, 600 pages.
- [10] : Jeantet, R., Croguennec, T., Mahaut, M., Schuck, P., Brule, G. Les produits laitiers, 2^{ème} ed Lavoisier, Paris **2008**, pp. 1-3-13-14-17 (185 pages).
- [11] : Mathieu, J. Initiation à la physicochimie du lait, **1999**, ed Lavoisier, Paris.
- [12] : Jean, C., Dijon, C. Au fil du lait, **1993**. ISBN 2-86621-172-3.
- [13] : Debry, G. Lait, nutrition et santé. Paris : Tec et Doc, **2001**, pp. 21 (566 pages).

Références Bibliographiques

- [14] : Mahaut, M.; Jeantet, R, et Brulé, G. Initiation à la technologie Fromagère, **2003** ed Lavoisier, Paris.
- [15] : Leclercq, A. Intérêt nutritionnel du lait pour l'Homme. Thèse de doctorat vétérinaire. Créteil : Faculté de médecine, Créteil, **1999**, 58p.
- [16]: Belitz, H-D, Grosch, W. Milk and dairy products. In Food chemistry. 2^{ème} ed. Berlin: Editions Springer-Verlag, **1999**, pp. 470-512.
- [17]: Pougheon, S. Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Ecole Nationale Vétérinaire, Toulouse, **2001**, p.34 (102 pages).
- [18] : Veisseyre, R. Technologie du lait constitution, récolte, traitement et transformation du lait. 3^{ème} ed. Paris : la maison rustique, **1979**.
- [19] : Fredot, E. Connaissance des aliments : Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. **2005**, ed Lavoisier. Paris, pp.10-14 (397 pages).
- [20] : Appert, N. Le livre de tous les ménages, **1831**, p. 84, 130, 168.
- [21] : Debré, P. Louis Pasteur, **1994**, pp. 259-260.
- [22] : Leseur, R., Melik, N. Lait de consommation. In LUQUEE F.M. Lait et produits laitiers vache brebis chèvre. Paris : Tec et Doc, **1999**, p. 5 (637 pages).
- [23] : Pouliot, M., vallerand C. Lait de consommation. In VIGNOLA C. L. Science et technologie du lait-transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, **2002**, ISBN:298 (600 pages).
- [24] : Luquet, F.M. Lait et produits laitiers – vache, brebis, chèvre, 2^{ème} ed, Paris : Edition Lavoisier, **1990**. 637 p.
- [25] : Legrand G., Frangne R. Dictionnaire de Biochimie et de Nutrition, **1981**, Technique et Documentation, 125p.
- [26] : Chaumont, P. Lait, produits laitiers, nutrition et santé : de la science à l'idéologie. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, **2005**. Vol, 40, pp. 64-66.

Références Bibliographiques

- [27] : Martin, A. Apports nutritionnels conseillés pour la population française, 3^{ème} ed. Paris : Editions Tec & Doc, **2000**. 605 p.
- [28] : Galantier M, Bernard B. Connaissance et place du lait et des produits laitiers dans une alimentation équilibrée. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, **2005**. Vol. 40, pp. 57-63.
- [29]: Fahy E, Subramaniam S, Brown A, et al. A comprehensive classification system for lipids: *J Lipid Res*, **2005**. 46, 839-61.
- [30] : Guesnet, P., Alessandri, J.M., Astorg, P., et al. Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI) : Oléagineux, Corps gras et Lipides, **2005**. 12, 333-43.
- [31]: Weinman, S., Méhul, P. Toute la biochimie, Paris: Dunod, **2004**.
- [32]: Robert, S., Shils, E. Modern Nutrition in Health and Disease, 6^{ème} ed, Philadelphie: Lea and Febinger, **1980**, pp. 134–138.
- [33] : Martin A. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Paris: Tec & Doc, **2000**.
- [34]: Sacks FM, Katan M. Randomized clinical trials on the effects of dietary fat and carbohydrate on plasma lipoproteins and cardiovascular disease, **2002**. 30; 113.
- [35]: Deshpande, R., Mansara, P., Suryavanshi, S., Kaul-Ghanekar, R. Alpha-linolenic acid regulates the growth of breast and cervical cancer cell lines through regulation of NO release and induction of lipid peroxidation , *Journal of Molecular Biochemistry*,**2013**, pp.17-6 .
- [36]: Courtney, E.D., Matthews, S., Finlayson, C., Di Pierro, D., Belluzzi, A., Roda, E., Kang, J.Y., and Leicester, R.J. Eicosapentaenoic acid (EPA) reduces crypt cell proliferation and increases apoptosis in normal colonic mucosa in subjects with a history of colorectal adenomas. *Int. J Colorectal Dis*, **2007**.
- [37]: Synge R.L.M. A new form of chromatogram employing two liquid phases. A theory of chromatography, **1941**, pp. 1358-1368.
- [38]: M. Mehran, M., Cooper, W.J. et al. Elution order in gaz chromatography, *Journal of High Resolution*, **1991**. Vol, 14.

Références Bibliographiques

- [39] : AFNOR. Contrôle de la qualité des produits laitiers. Analyses physiques et chimiques, 3^{ème} ed. Paris : AFNOR, **1985**, p. 107-121-125-167-251(321 pages).
- [40]: Pointurier, H. La gestion matière dans l'industrie laitière, France: Lavoisier, 2003, pp. 64 (388 pages).
- [41]: Gottlieb, R. Official methods of analysis, 9^{ème} ed, Washington, **1960**.
- [42]: Arrar, Z. Analyse physico-chimique du lait. Thèse de Magister, Tlemcen : Université de Tlemcen, **1994**, 72 p.
- [43]: Freedman, B., Pryde, E. H., Mounts, T. L. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **1984**, Vol. 61, pp. 1638-1643.
- [44]: Freedman, B., Butterfield, R.O., Pryde, E.H. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **1986**, Vol. 63, pp. 1375-1380.
- [45] : Wolf. J.P. Manuel d'analyse des corps gras, **1968**, Ed. Azoulay, Paris.
- [46]: Carré, P., *Precis de technologie et de chimie industrielle*, Edition Bailliere, Vol. 3, **1953**.
- [47] : CEE. Characteristics of olive and olive pomace oil and their analytical methods, EEC Regulation 1989/2003. *Official Journal of the European communities*, **2003**, Vol. 295, pp. 57-66.
- [48]: Porschmann, J., Welsch, T., Herzsuh, R., Engewald, W., Muller, K. Analysis of fatty acids by combined application of chemical, chromatographic and spectroscopic methods. *Journal of chromatography*, **1982**, Vol.241, pp. 73-87.
- [49]: Williams, K. A. *Fats and Fatty Foods*. 4^{ème} ed, London: Churchill Jond A End **1966**, pp. 133-177.