



**Faculté des sciences**

**Département de chimie**

**Laboratoire de spectochimie et pharmacologie structurale**

*Mémoire de Master en Chimie*

*Option : Chimie Physique et Analytique*

*Académique*

**THEME**

***Détermination de la capacité antioxydante des  
huiles végétales : Elio Cévitral***

**Présenté par :** M<sup>elle</sup> BENACHENHOU Charifa Mansourya

**Soutenu le :** 12/09/2013

***Devant le jury :***

<b><i>Président</i></b>	M <sup>r</sup> BENSAOULA A. A. (Maitre de conférences A)	UABB Tlemcen
<b><i>Examineur</i></b>	M <sup>r</sup> ZIANI CHERIF C. (Professeur)	UABB Tlemcen
<b><i>Examineur</i></b>	M <sup>r</sup> HAREK Y. (Professeur)	UABB Tlemcen
<b><i>Examineur</i></b>	M <sup>r</sup> DJELLOULI O. (Maitre assistant A)	U. de Bechar
<b><i>Encadreur</i></b>	M <sup>r</sup> DAHMANI B. (Professeur)	UABB Tlemcen

**Année Universitaire 2012-2013**

# Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer toute ma gratitude à Monsieur DAHMANI Benamar ainsi que Monsieur DJELLOULI Omar Pour leur disponibilité, leur précieux conseils qui m'ont permis d'élaborer ce travail.

Je tiens à remercier Monsieur BANSAOULA Abdelhakim d'avoir accepté de présider le jury de mon mémoire. Qu'il trouve là toute ma reconnaissance pour son dévouement durant notre scolarité.

Je tiens à remercier également Monsieur HAREK Yahia , Monsieur ZIANI CHERIF Chawki et Monsieur DJELLOULI Omar qui ont accepté d'évaluer ce travail et qui m'ont fait l'honneur d'en être les examinateurs.

Je présente toute ma gratitude à l'ensemble des enseignants de la Faculté des sciences de Tlemcen qui nous ont accompagné durant notre cursus universitaire.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance à tout le personnel du Laboratoire Spectrochimie et Pharmacologie Structurale pour son précieux soutien.

Enfin, pour leurs encouragements, leur soutien sans faille, leur support moral et leur compréhension, je tiens à remercier de tout cœur mes parents pour m'avoir permis d'en arriver là, mon frère ainsi que toutes les personnes qui me sont chères, que je respecte énormément et qui m'ont été d'une grande aide pour la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

# Table des matières

Introduction générale.....	1
Chapitre1 :Lipides.....	4
1.1. Définition.....	5
1.2. Rôle des lipidesdansl'organisme.....	5
1.3. Classification des lipides.....	5
1.3.1. Lipides simples outernaires.....	5
1.3.2. Lipides complexes.....	6
1.4. Constituantsmajeurs.....	6
1.4.1. Acidesgras.....	6
1.4.2. Triglycerides.....	8
1.5. Constituantsmineurs.....	8
1.5.1. Phospholipides.....	9
1.5.2. Monoglycérides et diglycéridesouglycéridespartiels.....	9
1.5.3. Insaponifiables.....	9
1.5.4. Cire .....	10
1.6. Propriétésphysico-chimiques des lipides.....	10
1.6.1. Propriétés physiques.....	10
1.6.2. Propriétéschimiques .....	11
1.7. Altération des lipides.....	12
1.8. Mécanismeréactionnel de l'oxydation des lipides.....	14
1.8.1. Amorçage.....	15
1.8.2. Propagation.....	15
1.8.3. Terminaison .....	16

1.9.	Réaction de Maillard.....	16
1.9.1.	Interaction entre réaction d'oxydation lipidique et réaction de Maillard.....	18
1.10.	Méthodes de détermination de la stabilité oxydative des lipides.....	18
1.10.1.	Mesure de l'oxygène absorbé.....	18
1.10.2.	Test de stabilité de Swift.....	18
1.10.3.	Méthode à l'étuve ou test de Schaal .....	18
1.10.4.	Test du rancimat.....	19
1.11.	Conclusion .....	19
Chapitre 2 : Huiles végétales .....		19
2.1.	Introduction .....	20
2.2.	Huile de soja.....	21
2.2.1.	Introduction.....	21
2.2.2.	Composition chimique .....	21
2.2.3.	Procédés d'obtention.....	23
2.2.4.	Vertus de l'huile de soja.....	25
2.3.	Huile de tournesol.....	26
2.3.1.	Introduction.....	26
2.3.2.	Composition chimique.....	26
2.3.3.	Procédés d'obtention.....	27
2.3.4.	Conservation.....	27
2.3.5.	Vertus de l'huile de tournesol .....	30
2.4.	Huile d'argan .....	30
2.4.1.	Introduction.....	30
2.4.2.	Composition chimique .....	30
2.4.3.	Procédés d'obtention.....	31
2.4.4.	Conservation.....	31
2.4.5.	Vertus et utilisation.....	34

2.5. Propriétés physico-chimiques des huiles.....	34
2.6. Qualité des huiles.....	34
2.6.1. Détermination de l'acidité libre.....	34
2.6.2. Détermination de l'indice de peroxyde.....	35
2.6.3. Détermination de l'indice d'iode.....	35
2.6.4. Détermination de l'absorbance et de l'extinction spécifique.....	35
2.7. Techniques instrumentales de l'analyse des huiles .....	35
2.7.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier (FT-IR) .....	36
2.7.2. Chromatographie en phase gazeuse (GC).....	36
2.7.3. Chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	36
2.8. Conclusion.....	37
 Chapitre 3 : Antioxydants.....	 46
3.1. Introduction.....	47
3.2. Radicaux libres.....	48
3.3. Définition des antioxydants .....	48
3.4. Utilisation des antioxydants .....	48
3.5. Classification des antioxydants.....	48
3.5.1. Antioxydants synthétiques.....	49
3.5.2. Antioxydants naturels .....	49
3.5.3. Antioxydants synergiques.....	49
3.5.4. Antioxydants primaires.....	53
3.5.5. Antioxydants secondaires.....	53
3.6. Etapes et facteurs favorisant l'oxydation des lipides.....	53
3.7. Toxicité des antioxydants.....	55
3.8. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	56
3.9. Conclusion.....	57
 Chapitre 4 : Matériel et méthodes.....	 58

4.1.	Introduction .....	59
4.2.	Echantillonnage .....	59
4.3.	Dosage de l'acidité.....	59
	4.3.1. Réactifs .....	60
	4.3.2. Matériel.....	60
	4.3.3. Mode opératoire.....	61
4.4.	Détermination de l'indice de peroxyde.....	61
	4.4.1. Réactifs .....	62
	4.4.2. Matériel.....	62
	4.4.3. Mode opératoire.....	63
4.5.	Détermination de l'absorbance et de l'extinction spécifique.....	63
	4.5.1. Réactifs .....	64
	4.5.2. Matériel.....	64
	4.5.3. Mode opératoire.....	64
4.6.	Analyse quantitative de l' $\alpha$ -tocophérol par RP-HPLC.....	64
	4.6.1. Etalonnage externe.....	65
Chapitre5 :Résultats et discussion.....		73
5.1.	Acidité.....	74
5.2.	Indice de peroxyde.....	75
5.3.	Absorbance et extinction spécifique .....	76
5.4.	Analyse quantitative de l' $\alpha$ -tocophérol.....	79
Conclusion générale.....		83
Références bibliographiques.....		85

# Liste des figures

	Page
Figure 1.0 Formation des triglycéride.....	8
Figure 1.1. Représentation d'un phospholipide.....	9
Figure 1.2. Représentation schématique de l'autoxydation des lipide insaturés.....	14
Figure 1.3. Représentation des étapes de l'auto-oxydation des lipides.....	15
Figure 1.4. Représentation des étapes de la réaction de Millard.....	17
Figure 2.0 : Aspect général de la plante de soja et le fruit qui est une gousse qui contient les graines.....	22
Figure 2.1 : Transformations du soja avec extraction par solvant.....	22
Figure 2.2 : Etapes d'obtention de l'huile de soja.....	26
Figure 2.3 : Aspect général de la plante de tournesol et le fruit qui contient les Graines.....	27
Figure 2.4. Extraction de l'huile de tournesol.....	28
Figure 2.5 : Aspect général de l'arganier et son fruit.....	31
Figure 2.6. Etapes et rendement de la préparation traditionnelle de l'huile d'argan.....	33
Figure 2.7. Représentation d'une séparation de deux pics adjacents.....	38
Figure 2.8. Séparation de deux pics adjacents en fonction de différentes valeurs de Résolution.....	38
Figure 2. 9. Facteurs affectant la résolution.....	39
Figure 2.10 : Influence de la composition de la phase mobile sur la séparation.....	40

Figure 2.11 : Variation de $k'$ en fonction du pH de la phase mobile pour les acides organiques et les acides aminés.....	41
Figure 2.12. Effet du facteur de rétention $k'$ sur la résolution et le temps de rétention.....	43
Figure 2.13. Courbe de Gauss.....	44
Figure 2.14. : Courbe de Van Deemter.....	45
Figure 3.0 : Structure des composés à action vitaminique E (tocophérols).....	51
Figure 3.1. Mécanisme général des réactions d'oxydation des lipides.....	54
Figure 5.1 : Acidité des échantillons analysés.....	74
Figure 5.2 : Indice de peroxyde des échantillons analysés.....	75
Figure 5.3 : Spectre UV de l'échantillon 1.....	77
Figure 5.4: Spectre UV de l'échantillon 2.....	77
Figure 5.5 : Spectre UV de l'échantillon 3 .....	78
Figure 5.6 : Spectre UV de l'échantillon 4.....	78
Figure 5.7. Identification du pic de l' $\alpha$ -tocophérol.....	80
Figure 5.7 : Courbe d'étalonnage externe.....	81
Figure 5.9. Teneurs en $\alpha$ -tocophérol des échantillons analysés.....	81

# Liste des tableaux

	Page
Tableau 1.0 : Classement des acides gras en fonction du degré d'insaturation et du nombre de carbones.....	7
Tableau 1.1 : Teneur en lipides totaux et en acides gras des principales graisses et huiles alimentaires (g/100 g)	
Tableau 2.0 : Composition moyenne des graines entières et de tourteaux .....	8
Tableau 2.0 : Composition de l'huile de soja en acides gras.....	24
Tableau 2.1 : Comparaison des teneurs en tocophérols et phytostérols totaux avant et après raffinage de l'huile.....	29
Tableau 2.2. : Composition physico-chimique des huiles utilisées.....	34
Tableau 2.3. Contribution du facteur de sélectivité dans la résolution.....	39
Tableau 2.4. Contribution du facteur de rétention dans la résolution.....	43
Tableau 2.5. Contribution de l'efficacité dans la résolution.....	44
Tableau 3.0. Teneur en vitamine E pour quelques aliments courants.....	52
Tableau 5.0. Acidité des échantillons analysés.....	74
Tableau 5.1. Valeurs des indices de peroxyde des échantillons analysés.....	75
Tableau 5.2. Valeurs des absorbances spécifiques ainsi que les rapports R et $\Delta K$ .....	79
Tableau 5.3. Résultats de l'analyse RP-HPLC des échantillons d'huile.....	81

# Introduction générale

Le lien entre l'alimentation et la santé ne saurait être considéré comme un fait nouveau, ce lien persiste à travers l'histoire de l'homme. Les régimes préconisés aux différentes époques historiques ont toujours eu pour objectif d'assurer la longévité c'est-à-dire l'expression la plus évidente de la santé.

L'oxygène, élément indispensable à la vie produit en permanence des espèces oxygénées instables et incomplètes appelées radicaux libres. En tentant de se compléter, elles tentent de s'accoupler à des éléments de nos propres cellules, ce qui entraîne des dommages dans l'organisme. Dans ce cas là, une alimentation riche en antioxydants est préconisée.

Sachant que notre régime est très riche en lipides appelés aussi corps gras, graisses ou matières grasses qu'on consomme tous les jours comme huiles de table ou de friture. Cela conduit à se demander si les huiles qu'on consomme sont riches en antioxydants et bénéfiques pour notre santé.

La pertinence de cette problématique est d'ailleurs confirmée au cours des travaux préparatoires de la présente étude : analyse de l'oxydation des huiles comestibles.

Intitulé « Capacité antioxydante des huiles végétales : Elio Cevital », ce mémoire tend ainsi à démontrer que les huiles qu'on consomme répondent aux normes en dosant leur acidité, l'indice de peroxyde ainsi que leur absorbance et leur extinction spécifiques. On a essayé de voir aussi si elles sont riches en antioxydants et en particulier en  $\alpha$ -tocophérol connue sous le nom de vitamine E.

Le dosage de l' $\alpha$ -tocophérol est réalisé par chromatographie liquide de partage à polarité de phases inversée RP-HPLC, qui est considérée comme la méthode analytique la plus utilisée et la plus fiable pour ce dosage.

La quantification de cet élément est réalisée par étalonnage externe afin de limiter les erreurs possibles au long de l'analyse. On a choisi une méthode directe qui consiste à injecter l'échantillon directement après traitement sans qu'il y ait une étape de décantation ou d'évaporation afin de minimiser les pertes d' $\alpha$ -tocophérol au cours de ces étapes.

Le présent manuscrit est réparti en deux parties et cinq chapitres :

La première partie contenant les trois premiers chapitres nous donne un aperçu sur les lipides, les huiles utilisées et leurs propriétés et les méthodes d'analyse ainsi qu'un bref aperçu sur les antioxydants.

La deuxième partie qui est la partie expérimentale explique les méthodes utilisées pour l'analyse de la qualité des huiles ainsi que le dosage de l' $\alpha$ -tocophérol et à la fin nous terminons par une discussion des résultats ainsi qu'une conclusion générale et des perspectives de notre recherche.

# Chapitre 1

## Lipides

## 1.1. Définition

Les lipides (du grec *lipos*, graisse) constituent la matière grasse, principalement constitués de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ils sont caractérisés par leur solubilité nulle ou très faible dans l'eau mais élevée dans les solvants organiques non polaires.

Les huiles, beurres, graisse, cires ne désignent que l'état physique liquide ou solide à température ambiante des lipides qui sont obtenus à partir des graines et de fruits de diverses plantes oléagineuses, par pression, ou par extraction à l'aide de différents solvants.

Les huiles végétales (HV) sont constituées majoritairement d'acide gras de 95 à 98% de glycérides qui sont des esters formés par liaison d'un, deux ou trois acides gras avec le glycerol possédant trois fonctions alcool pouvant se lier chacune avec un acide gras saturé, mono ou polyinsaturé, linéaire ou ramifié

Les huiles végétales qui sont composées par des triglycérides majoritaires et par des composants minoritaires tels que les phosphatides, des cérides (cires naturelles) et la fraction dite insaponifiable : vitamines A, D, E, K, antioxydants naturels qui limitent le rancissement de l'huile.

## 1.2. Rôle des lipides dans l'organisme

Les lipides entrent dans la composition des membranes cellulaires, ils forment une réserve d'énergie et sont stockés dans les cellules adipocytes (graisseuses). Ils servent aussi à transporter les vitamines (liposolubles) et jouent un rôle essentiel dans plusieurs fonctions virales (reproduction, immunité, coagulation, vision.....).

## 1.3. Classification des lipides

### 1.3.1. Lipides simples ou ternaires

Les lipides simples ou ternaires sont des dérivés d'acides gras ne contenant dans leur molécule que du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène. Ils comprennent :

- Les glycérides : où l'alcool estérifiant les acides gras est le glycol ;
- Les cérides : dans les quels l'alcool est une chaîne aliphatique à nombre élevé d'atomes de carbone ;
- Les stérides : dans lesquelles l'alcool est un stérol.

### 1.3.2. Lipides complexes

Les lipides complexes sont constitués des mêmes éléments que les lipides simples mais ils contiennent en plus dans leur molécule un ou plusieurs éléments tels que l'azote, le phosphore, le soufre et les oses. On distingue :

- Les glycérophospholipides : qui sont composés d'une molécule de glycérol estérifiée à deux acides gras et d'un phosphate ;
- Les sphingolipides : dans lesquels l'alcool est de type aminé à longue chaîne appelé sphingosine. Ces sphingolipides sont nombreux et de structure souvent difficile à élucider.

## 1.4. Constituants majeurs

Les lipides sont essentiellement formés d'acides gras composants les triglycérides appelés constituants majeurs.

### 1.4.1. Acides gras

Les acides gras (AG) sont des acides carboxyliques caractérisés par une répétition de groupements méthylène  $-CH_2-$  formant une chaîne carbonée, cette chaîne carbonée confère aux AG leur caractère hydrophobe. Les AG les plus abondants ont un nombre pair d'atomes de carbone compris entre 14 et 22 (16 et 18 prédominant) tandis que l'AG à nombre impair de carbones se trouvent dans les tissus d'animaux marins, les microorganismes et la flore intestinale des animaux tels que les bovins.

Sachant que les AG insaturés sont plus fréquents que les saturés, la plupart des AG monoinsaturés ont une double liaison qui se situe entre  $C_9$  et  $C_{10}$  alors que les AG polyinsaturés ont la première double liaison qui se situe entre  $C_3$  et  $C_{10}$  et les suivantes sont séparées par un groupement méthylique, dans quelques cas elles peuvent être conjuguées. Ces doubles liaisons sont en configuration Cis, et rarement en Trans.

Le tableau 1.1 traite quelques acides gras selon leur saturation et leur nombre d'atomes de carbone [1].

**Tableau 1.1 :** Classement des acides gras en fonction du degré d'insaturations et du nombre de carbones.

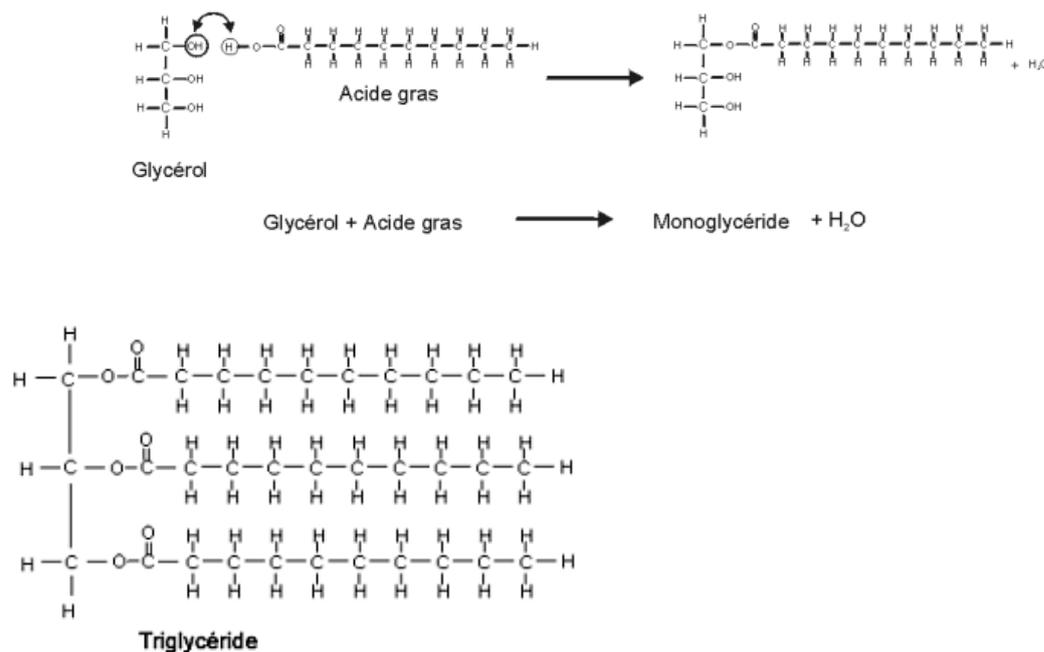
Acidesgras	Nombre de carbones	Formulechimique	Source
<b>Saturés</b>			
Acidebutyrique	4	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> COOH	Beurre
Acidecaproïque	6	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> COOH	Beurre
Acidecaprylique	8	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> COOH	Noix de coco
Acidecaprique	10	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> COOH	Huile de palme
Acidelaurique	12	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> COOH	Noix de coco
Acidemyristique	14	C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> COOH	Huile de muscade
Acidepalmitique	16	C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> COOH	Graisses
Acidestéarique	18	C <sub>17</sub> H <sub>35</sub> COOH	Graisses
Acidearachidique	20	C <sub>19</sub> H <sub>39</sub> COOH	Huile d'arachide
<b>Monoinsaturés</b>			
Acidepalmitoléique	16	C <sub>15</sub> H <sub>29</sub> COOH	Beurre
Acideoléique	18	C <sub>17</sub> H <sub>33</sub> COOH	Huile d'olive
<b>Polyinsaturés</b>			
Acidelinoléique	18	C <sub>17</sub> H <sub>31</sub> COOH	Huile de lin
Acidelinolénique	18	C <sub>17</sub> H <sub>29</sub> COOH	Huile de lin
Acidearachidonique	20	C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> COOH	Huile d'arachide

**Tableau 1.2 :** Teneur en lipides totaux et en acides gras des principales graisses et huiles alimentaires (g/100 g)  
[2]

Graisses et huiles	Lipides totaux	AG saturés	AG monoinsaturés	AG polyinsaturés
Beurre	83.4	52.0	21.0	3.1
Margarine	84.0	50.0	23.0	11.0
Huile d'olive	100	17.2	72.5	9.9
Huile d'arachide	100	19.5	52.5	26.4
Huile de maïs	100	31.3	20.7	47.2
Huile de tournesol	100	15.8	23.5	59.7
Huile de soja	100	7.5	34.0	58.0

### 1.4.2. Triglycérides

Les triglycérides (également appelés triacylglycérols ou triacylglycérides ou TAG) sont formés de l'union d'un glycérol à trois acides gras (figure 1.0) [3]. Ils représentent le constituant principal des huiles végétales (HV) et des graisses animales.



**Figure 1.0 :** Formation des triglycérides

### 1.4. Constituants mineurs

Ce sont des composés qui jouent un grand rôle dans le métabolisme et la structure cellulaire. On distingue trois types :

### 1.5.1. Phospholipides

Ce sont des esters de glycérol dont une fonction alcool est naturellement estérifiée par une molécule d'acide phosphorique, elle-même associée à une amine ou à un sucre (inositol). On parle ainsi de phosphatidylsérine, phosphatidylcholine (ou lécithine), phosphatidylinositol et phosphatidyléthanolamine. Ces molécules sont dites amphiphiles car elles possèdent un pôle hydrophile et un pôle lipophile.

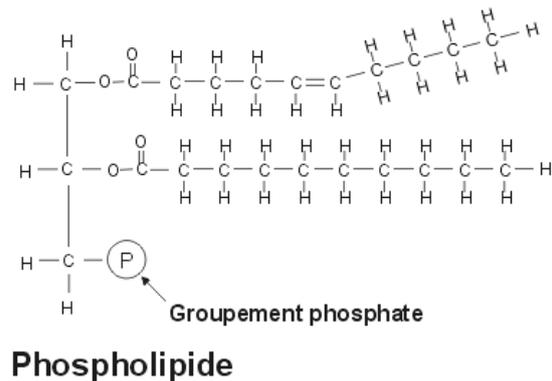


Figure 1.1. Représentation d'un phospholipide [3]

### 1.5.2. Monoglycérides et diglycérides ou glycérides partiels

Ces molécules sont des mono ou des diesters de glycérol et d'acides gras provenant de l'hydrolyse partielle des triglycérides ; leur(s) fonction(s) alcool libre(s) leur confère(nt) une certaine hydrophilie et des propriétés émulsifiantes [4].

### 1.5.3. Insaponifiables

L'insaponifiable est constitué de composés qui après hydrolyse basique sont très peu solubles dans l'eau mais solubles dans des solvants traditionnels des corps gras (cyclohexane, éther éthylique, acétone,...)[4].

La proportion d'insaponifiable varie en fonction de l'origine et des traitements subis par le corps gras (raffinage). On distingue :

#### 1.5.3.1. Stéroïdes

Ce sont des molécules à plusieurs cycles, de poids moléculaire élevé, avec une fonction alcool. Ils se trouvent à l'état libre ou estérifiés par un acide gras. Dans le règne

animal, le principal stérol est le cholestérol ; dans le règne végétal, on parle de phytostérols [5].

### 1.5.3.2. Tocophérols

Ils sont au nombre de quatre isomères ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) constitués d'une chaîne carbonée associée à un groupement quinone ; ils ont essentiellement des propriétés antioxydantes. Ils se trouvent en quantité notable dans les huiles végétales (tournesol, maïs, soja, colza, olives,...) , ils possèdent également une activité vitaminique E, la plus forte étant celle de l' $\alpha$ -tocophérol.

Leur teneur varie de 200 à 1200 mg/kg dans les huiles végétales et de 10 à 20 mg/kg dans les graisses animales [5].

### 1.5.3.3. Pigments

Les carotènes, caroténoïdes et chlorophylles contribuent à la couleur des huiles, ces pigments naturels sont éliminés en grande partie par le raffinage [5].

### 1.5.4. Cire

Les cires sont des esters d'acides gras et de monoalcools aliphatiques (alcools gras principalement). Chez les végétaux, elles contribuent à la formation de pellicules protectrices des graines et des fruits. Il en existe aussi dans le règne animal (principalement cétacés et poissons). Dans les huiles, surtout le tournesol, leur présence est responsable de l'apparition de trouble par début de cristallisation à basse température ou à température ambiante [4].

## 1.6. Propriétés physico chimiques des lipides

### 1.6.1. Propriétés physiques

#### 1.6.1.1. Point de fusion

Le point de fusion des lipides dépend de deux critères :

- **Longueur de la chaîne hydrophobe:** la température de fusion l'AG s'élève avec la longueur de la chaîne carbonée. L'augmentation est de l'ordre de 6,5°C à 9,5°C pour un accroissement de 2 atomes de carbone. Les AG à nombre d'atomes de carbone

inférieur à 10 sont liquides et ceux à nombre d'atomes de carbone supérieur à 10 sont solides [6].

**Exemples** :Acide butyrique (C<sub>4</sub>) : Tf = - 8 C°, Acide palmitique (C<sub>16</sub>) : Tf = + 63C°, Acide stéarique (C<sub>18</sub>) : Tf = + 69C°

- **Taux d'insaturation (liaison π)** : Une augmentation du nombre de doubles liaisons entraîne une diminution de la température de fusion. L'abaissement est plus grand pour les isomères cis par rapport aux isomères trans. Le positionnement de la ou des doubles liaisons influence le point de fusion et ceci d'autant plus grandement que la double liaison se trouve au milieu de la chaîne ou proche de cette position [6].

**Exemples** :Acide stéarique (0Δ) : Tf = + 69C°,Acide oléique (1Δ) : Tf = + 16C° Acide linoléique (2Δ) : Tf = - 5 C°,Acide linoléinique (3Δ) : Tf = - 11 C°

### 1.6.1.2. Solubilité

La solubilité des lipides va dépendre de la classe de ces molécules : lipides simples ou complexes. Dans le cas des triacylglycérols on est en présence de molécules insolubles dans l'eau, dans le cas des lipides complexes la solubilité, plus ou moins grande, va dépendre de la balance entre partie hydrophile et partie hydrophobe [6].

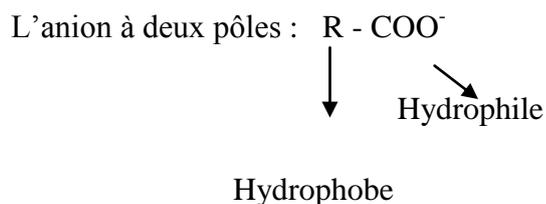
### 1.6.2. Propriétés chimiques

- **Le groupe carboxyle**

Dans les lipides, ce groupement est rarement libre, son pKa est d'environ 4,75 à 25°C. L'acidité libre des lipides est dosable, elle sert de marqueur de la dégradation.

- **Les sels de sodium et de potassium**

Les sels de sodium et de potassium des acides gras sont appelés savons. On les obtient par traitement alcalin des lipides : la saponification. Dans l'eau les savons se dissocient en Na<sup>+</sup>+ R-COO<sup>-</sup>



Ces molécules appelées amphiphiles ou amphipathiques, sont tensioactives, elles abaissent la tension superficielle de l'eau d'où leurs propriétés [4].

- **L'addition d'halogènes**

C'est un procédé de routine d'évaluation de l'insaturation d'un acide gras par addition d'iode dans des conditions particulières qui évitent les substitutions (catalyseur, obscurité).

- **L'hydrogénation**

Ce procédé est utilisé pour transformer des huiles comestibles d'acides gras insaturés en margarine qui est composée d'acides gras saturés qui sont solides à la température ambiante et qui de plus ne s'oxydent pas.

- **L'oxydation chimique**

Les oxydants puissants provoquent la scission de la molécule d'un acide gras insaturé en mono et diacides.

## **1.7. Altération des lipides**

Tous les corps gras subissent au cours de leur conservation ou de leur utilisation des altérations oxydatives. Les principaux composés oxydables sont les acides gras insaturés, à l'état libre ou estérifiés en triglycérides, d'autres composés de nature lipidique sont par ailleurs oxydables : vitamines liposolubles, stérols, ...etc. Le phénomène d'oxydation des acides gras conduit à une dégradation organoleptique, avec apparition d'une saveur caractéristique « rance » qui modifie la qualité marchande du produit [4].

### **➤ Types d'altération des lipides**

L'hydrolyse et l'oxydation sont les principales voies d'altération des lipides au cours de la production, du stockage et de la transformation des huiles [4].

#### **Hydrolyse**

L'hydrolyse c'est la coupure des liaisons esters qui est obtenue soit par voie chimique ou enzymatique, elle se développe surtout sous l'action de la chaleur et de l'humidité.

- **hydrolyse chimique** : appelée aussi saponification, où les lipides peuvent être hydrolysés en milieu acide (acide sulfurique) mais la façon la plus utilisée est celle qui consiste à traiter à chaud (80 à 100°C) et en milieu alcalin (en présence de potasse ou de soude) pour donner l'alcool et l'acide gras qui se retrouve alors sous la forme de sel (savon).
- **L'indice de saponification** : est un des paramètres qui permet d'apprécier la qualité d'une huile végétale. C'est la quantité de potasse (KOH), exprimée en milligrammes, nécessaire à la saponification d'un gramme d'huile.
- **hydrolyse enzymatique** : cette réaction met en jeu un substrat insoluble ou peu soluble dans un milieu aqueux avec une enzyme soluble. Il est donc nécessaire que la réaction s'effectue en présence d'agents émulsifiants qui permettront la fabrication de micelles. La réactivité des lipases va dépendre de la nature du substrat (mono, di ou triacylglycérol), de la nature des acides gras (chaîne courte, moyenne ou longue, présence ou non d'insaturation) et de la stéréochimie du substrat [6].

### Altération thermique

Le chauffage des lipides à des températures supérieures à 100°C voir à 150°C, conduit à la formation de polymères, de composés cycliques ou isomérisés [4].

### Oxydation

L'oxydation des lipides a été reconnue comme un problème majeur affectant les huiles comestibles, ceci en influençant négativement leurs propriétés chimique, nutritionnelle et sensorielle. Initialement, l'oxydation des lipides se fait de manière lente, ensuite, elle augmente soudainement, et la durée de la première étape est appelée « période d'induction » [7].

Les lipides peuvent s'oxyder de différentes façons. On distingue l'auto-oxydation, la photo-oxydation et l'oxydation enzymatique. Toutes ont pour conséquence une dégradation de la qualité des aliments concernés.

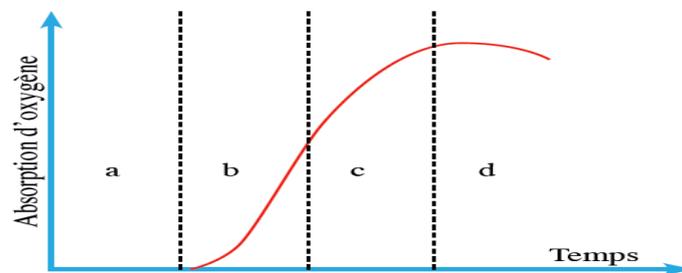
- **L'oxydation enzymatique**

L'enzyme principalement impliquée est la lipoxigénase [8] qui catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé selon une réaction stéréospécifique, et aboutit à

la formation d'hydroperoxydes. Elle agit spécifiquement sur les acides gras non estérifiés. Son activité est donc souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases [4].

- **L'auto-oxydation**

L'auto-oxydation de la matière grasse abandonnée au contact de l'oxygène constitue un ensemble complexe de réactions non encore complètement élucidées. Elles conduisent à la rupture des chaînes carbonées avec le développement de produits pour la plupart volatils, à structure carbonylée. Les propriétés organoleptiques de la matière grasse sont altérées [4]. La figure 1.2 montre le schéma simplifié de l'auto-oxydation.

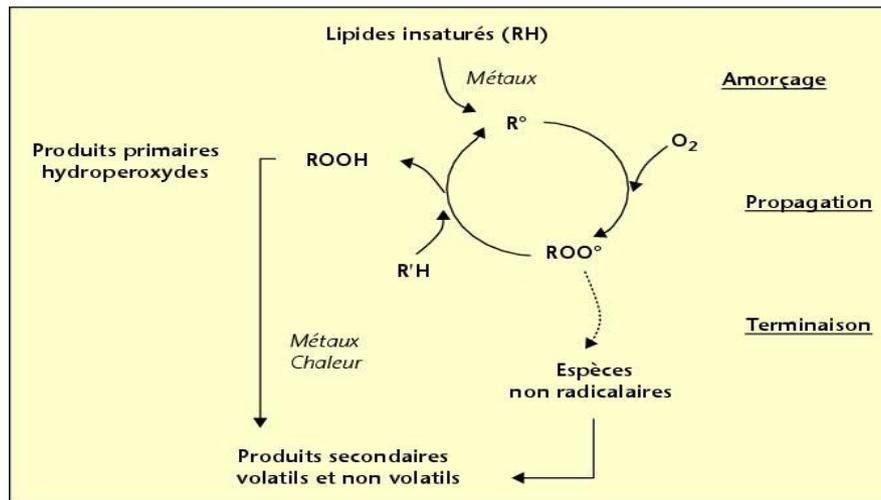


**Figure 1.2.** Représentation schématique de l'autoxydation des lipides insaturés

Avec : (a) Période d'induction, (b) Formation d'hydroperoxydes induisant la réaction en chaîne à radicaux libres, (c) Formation prédominante d'hydroperoxydes et (d) Prédominance de la scission des hydroperoxydes avec formation de radicaux libres.

## 1.8. Mécanisme réactionnel de l'oxydation des lipides

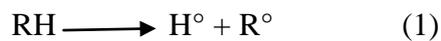
L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant schématiquement en trois étapes : amorçage, propagation et terminaison.



**Figure 1.3.** Représentation des étapes de l'auto-oxydation des lipides [9].

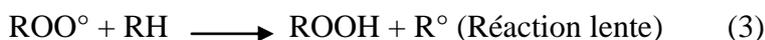
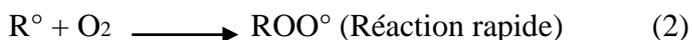
### 1.8.1. Amorçage (initiation)

En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre centré sur le carbone ( $R^\circ$ ) (radical alkyle).



### 1.8. 2. Propagation

Le radical alkyle, très réactif, fixe une molécule d'oxygène, pour former un radical hydroperoxyde instable, centré sur l'oxygène (2). Celui-ci arrache à son tour un hydrogène labile d'un deuxième acide gras, formant un hydroperoxyde non radicalaire plus stable (3), mais générant une nouvelle espèce radicalaire sur le deuxième acide gras.



Comme le montre la figure 1.4 citée ci-dessus, la phase de propagation peut elle-même être décomposée en deux étapes séquentielles [10]:

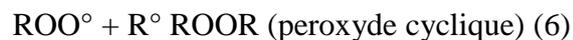
1- La première étape correspond à l'apparition des peroxydes, composés primaires d'oxydation, à partir des radicaux libres instables : la quantité de peroxydes formés peut être évaluée analytiquement grâce à la détermination de l'indice de peroxyde.

2- La deuxième étape se traduit par l'évolution des hydroperoxydes en composés secondaires d'oxydation, par deux voies principales :

- La scission : conduisant par coupure à la libération de composés volatiles (chaînes carbonées courtes et moyennes), notamment aldéhydiques, responsables des saveurs de rance, caractérisés par un seuil de détection très faible.
- Le remaniement : conduisant suite à différents types de pontage intra- ou inter-acides gras ou suite à l'apparition de fonctions oxydées. À ce stade dit de rancissement, le goût rance est bien entendu perceptible.

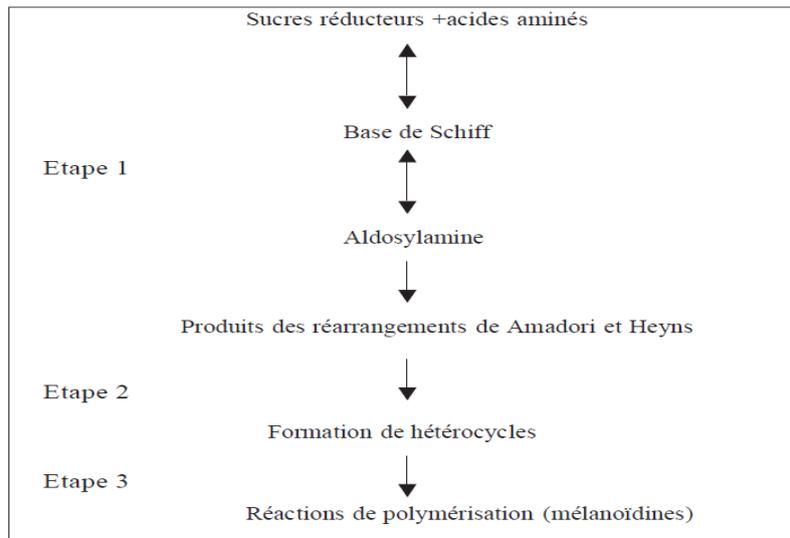
### 1.8. 3. Terminaison

Pendant cette phase, les espèces radicalaires réagissent entre elles pour donner des espèces non radicalaires, mettant ainsi fin aux cycles réactionnels.



## 1.9. Réaction de Maillard

La réaction de Maillard est l'ensemble des interactions résultant de la réaction initiale entre un sucre réducteur et un groupement aminé. Cette réaction a une importance énorme dans la chimie des aliments. Elle est la responsable principale de la production des odeurs, des arômes, des antioxydants [11],[12] et des pigments caractéristiques des aliments cuits. Elle peut aussi donner naissance à des composés cancérigènes [13] et également réduire la valeur nutritionnelle des aliments en dégradant des acides aminés essentiels [14]. Elle a lieu lors du stockage des aliments ou plus fréquemment lors de leur traitement par des processus thermiques.



**Figure 1.4.** Représentation des étapes de la réaction de Maillard [14].

On peut subdiviser la réaction de Maillard en trois étapes principales :

**Etape 1 :** C'est la condensation entre un sucre réducteur dans sa forme ouverte et le groupe amine d'un acide aminé. Les réactions entre carbonyles et amines sont favorisées dans des conditions faiblement acides. Cette phase initiale étant autocatalysée par le groupement acide de l'acide aminé, la vitesse de formation des bases de Schiff est rapide. Cette étape conduit à la formation réversible de glycosylamines qui se réarrangent selon les réarrangements d'Amadori ou de Heyns.

**Etape 2 :** Plusieurs mécanismes de formation ont été proposés pour cette seconde étape de la réaction de Maillard. Certains chemins réactionnels commencent directement à partir des composés d'Amadori et de Heyns, tandis que d'autres impliquent des composés dicarbonylés dérivant indirectement des produits de la réaction initiale.

**Etape 3 :** Les mélanoïdines qui constituent les pigments bruns des aliments sont produites dans cette troisième et dernière étape de la réaction de Maillard. Il s'agit de polymères bruns, de haut poids moléculaire qui contiennent des furanes et de l'azote et qui peuvent contenir des groupes carbonyle, carboxyle, amine, amide, pyrrole, indole, ester, anhydride, éther, méthyle et/ou hydroxyles [15] [16]. Leur formation est le résultat de la polymérisation de composés très réactifs produits au cours de la deuxième étape et spécialement des composés carbonylés insaturés et le furfural.

La température et le temps de réaction, le pH et l'humidité du milieu, la présence de métaux, d'oxygène et d'inhibiteurs ainsi que la nature et la concentration des différents réactifs influencent la vitesse de la réaction de Maillard.

### **1.9.1. Interaction entre réaction d'oxydation lipidique et réaction de Maillard**

La réaction de Maillard génère des radicaux libres et des composés prooxydants, alors que par ailleurs elle est activée par les radicaux libres. De son côté l'oxydation des lipides est favorisée par la présence de radicaux libres, donc par certains produits de Maillard. Mais cette réaction à son tour génère des composés aldéhydiques réactifs vis-à-vis des amines [4].

### **1.9.2. Rôle des produits de la réaction de Maillard dans l'oxydation des lipides :**

Les produits de Maillard favorisent l'oxydation des lipides. De même augmentent l'oxydation des phospholipides. La glycation des phospholipides favorise aussi la peroxydation lipidique. Ceci est vraisemblablement lié à la formation d'intermédiaires radicalaires pro-oxydants tels que le radical pyridinium. Cependant, un effet antioxydant des produits de Maillard a également été montré. Le mécanisme semble pourtant légèrement différent puisqu'il met en jeu les mélanoïdines chélateurs de métaux et de radicaux libres, et donc à activité antioxydante [17].

## **1.10. Méthodes de détermination de la stabilité oxydative des lipides**

### **1.10.1. Mesure de l'oxygène absorbé**

Cette méthode permet de suivre simultanément le cours de l'oxydation et de mesurer l'indice d'oxydation de l'huile traitée. L'oxygène absorbé est mesuré par des méthodes volumétriques ou électrochimiques.

### **1.10.2. Test de stabilité de Swift**

Il est surtout appliqué pour les graisses animales. Dans sa version initiale, ce test consiste à oxyder par l'air, la matière grasse maintenue à 98°C. La mise en évidence de l'oxydation est montrée par la mesure de l'indice de peroxyde en fonction du temps. Cette

façon de faire est assez complexe et peu reproductible. La modification faite à ce test consiste à décolorer un indicateur de pH (rouge de crésol) par les produits volatils acides formés lors de l'oxydation [18]. Le temps (heures) nécessaire à la décoloration de l'indicateur coloré, encore appelé « temps de Swift » mesure la résistance de la matière grasse à l'oxydation [19].

### **1.10.3. Méthode à l'étuve ou test Schaal**

Ce test consiste à oxyder la matière grasse dans une étuve portée à 60°C. La mise en évidence de l'oxydation est montrée par la mesure de l'indice de peroxyde sur des prélèvements faits toutes les 4, 8, ou 24h [18]. Cette méthode présente l'avantage de se rapprocher des conditions réelles de stockage (cas des flacons transparents d'huiles conservés à la lumière du jour et à température ambiante).

### **1.10.4. Test au Rancimat**

Ce test est très utilisé pour évaluer la stabilité oxydative des matières grasses. La spécification de TIR (Temps d'Induction au test Rancimat, exprimé en heures) correspond au temps pendant lequel la matière grasse a résisté à un stress oxydatif. Le principe du test consiste à vieillir prématurément les matières grasses par décomposition thermique à 98°C, sous un bullage intensif d'air. Les acides organiques, produits de dégradation de cette oxydation poussée, sont entraînés par un courant d'air et recueillis dans une cellule de mesure remplie d'eau distillée. Le temps d'induction est déterminé par conductimétrie et correspond au TIR [4].

## **1.11. Conclusion**

Sachant que les lipides constituent toute la matière grasse, et après avoir eu un bref aperçu, nous nous intéressons aux huiles végétales qui sont traitées dans le chapitre suivant.

# Chapitre 2

## Huiles végétales

## **2.1. Introduction**

Les huiles végétales sont des produits issus de la pression à froid des fruits des plantes oléagineuses, elles sont riches en acides gras et en vitamines.

Chaque huile végétale possède une fraction de molécules spécifiques appelées « insaponifiables » qui lui confèrent des propriétés spécifiques.

Les huiles alimentaires sont des huiles végétales comestibles, par définition liquides à la température de 15°C. Elles sont constituées à environ 100 % de lipides (99 % de triglycérides, le reste étant composé principalement de lécithines et de vitamine E), elles ne contiennent pas d'eau et sont très caloriques. Leur teneur élevée en acides gras mono-insaturés ou poly-insaturés est bénéfique pour la santé. Ainsi, chaque huile a une composition en acides gras différents, ce qui justifie les recommandations de varier les sources d'huiles consommées afin de varier les apports.

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

## **2.2. Huile de Soja**

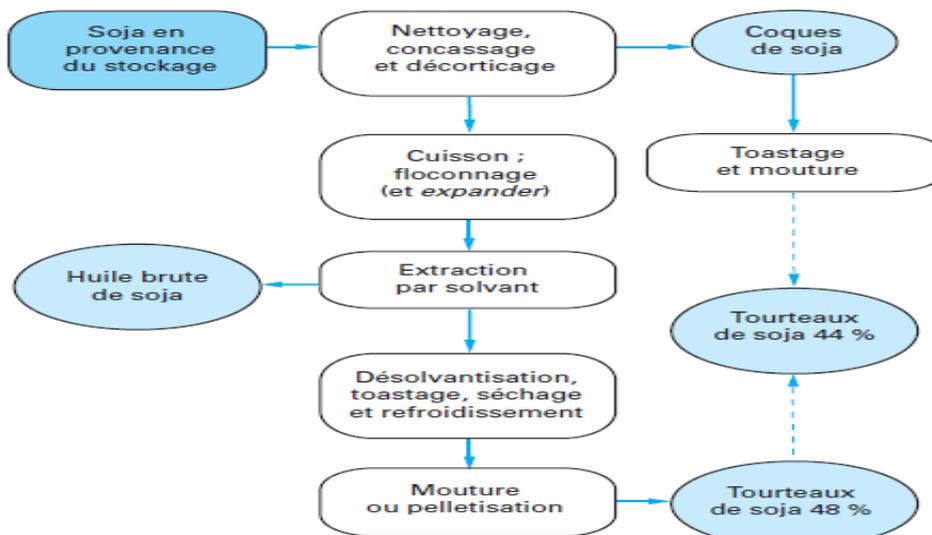
### **2.2.1. Introduction**

Le soja, originaire de Chine et cultivé en Asie depuis des millénaires pour la nourriture, est une légumineuse, cultivée surtout pour ses graines oléagineuses, remarquable par sa grande richesse en protéines, en matières grasses et en minéraux. Les graines sèches sont utilisées de diverses façons pour l'alimentation de l'homme et des animaux.



**Figure 2.0 :** Aspect général de la plante de soja et le fruit qui est une gousse qui contient les graines

De très nombreuses variétés de soja sont cultivées aujourd’hui, adaptées aux climats les plus divers. Il existe des sojas à graines vertes ou jaunes. C’est surtout le soja à graines jaunes qui est cultivé en grande quantité comme produit commercial pour la production d’huile et de tourteaux. Le schéma 2.1 ci-dessous représente les transformations du soja ainsi que l’extraction par solvant.



**Figure 2.1 :** Transformations du soja avec extraction par solvant [20].

A maturité, la graine de soja est composée essentiellement d'environ, 10 % de Lipides, 32 % de Protéines, 37% de Glucides, 4% de Minéraux, 14% d'eau [20].

Le tableau 2.0 ci-dessous nous donne la composition moyenne des graines de soja entières sèches et décortiquées ainsi que celle des tourteaux [20].

Tableau 2.0 : Composition moyenne des graines entières et des tourteaux

	Graines entières Sèches	Graines décortiquées	Tourteaux 48% Déshuilés
Huiles.....(% Masse)	18	20	Max.1
Protéines.....(% Masse)	37	38	48
Cendres.....(% Masse)	5	5	5
Phospholipides...(% Masse)	2	2	
Humidité.....(% Masse)	11	9	10
Glucides.....(% Masse)	27	26	36

L'huile de soja est une huile très polyinsaturée (indice d'iode de 129 à 132). Comme toute huile végétale, elle est exempte de tout cholestérol et très pauvre en acides gras saturés comme le montre le tableau 2.0 ci-dessous. Celle ci offre une combinaison unique de deux acides gras, l'acide alpha-linolénique C18:3w3 (acide gras n-3) et l'acide linoléique C18:2w6 (acide gras n-6).

### 2.2.2. Composition chimique

L'huile de soja est composée typiquement de 96% de triglycérides, de 2% de phospholipides, de 1,6 % d'insaponifiable et de 0,4 % d'acides gras libres ainsi que de faibles quantités de pigments de caroténoïdes.

La teneur relativement élevée en phospholipides dans les huiles de soja s'explique par la faible taille des corpuscules lipidiques résultant ainsi en une plus grande surface par unité

de masse de lipide et la fraction insaponifiable contient essentiellement des tocophérols et des stérols [21].

Le tableau 2.0 nous donne la composition de l'huile de soja en acides gras [20].

**Tableau 2.0** : Composition de l'huile de soja en acides gras.

<b>Acides Gras</b>		<b>Teneur</b> (% Masse) (1)	<b>Teneur moyenne</b> (% Masse) (1)
<b>Saturés</b>	Laurique	C12	0,1
	Myristique	C14	<0.5
	Palmitique	C16	7 à 12
	Stéarique	C18	2 à 5,5
	Arachidique	C20	1,0
	Béhénique	C22	0,5
	<b>Total</b>		<b>10 à 19</b>
<b>Insaturés</b>	Palmitoléique	C16.1	<0.5
	Oléique	C18.1	20 à 50
	Linoléique	C18.2	35 à 60
	Linoléinique	C18.3	2 à 13
	Eicosénoïque	C20.1	1,0
	<b>Total</b>		<b>81 à 90</b>
(1) % masse équivalent d'acideoléique			

### **2.2.3. Procédés d'obtention**

Le procédé d'extraction est presque le même que pour toutes graines oléagineuses. Il existe des procédés traditionnels et des méthodes modernes selon les équipements utilisés. En voici les différentes étapes :

#### **Etape 1 : Le décortilage de la graine**

Le décortilage de la graine a pour but d'obtenir la partie de la graine la plus riche en huile.

#### **Etape2 : La réduction**

Elle consiste à réduire les graines décortiquées en poudre ou en pâte fine pour permettre d'attaquer la graine dans toutes ses parties profondes au cours des phases d'humidification, de chauffage et de pressage.

#### **Etape 3 : Humidification et chauffage**

Elle consiste à affaiblir les parois de la cellule végétale de manière à obtenir un produit où l'huile se trouve dans un état tel qu'il est facile de la détacher du reste du corps de la cellule par chauffage traditionnel au feu de la pâte humectée. Pour cette phase de préparation qui est une des plus importantes, la température et la durée de chauffage sont des facteurs-clés. Plus on chauffe, mieux ça vaut, mais éviter de griller la pâte.

#### **Etape 4 : Le pressage**

Son but est de séparer l'huile du reste du corps de la graine. La qualité de l'huile obtenue ainsi est brute, c'est-à-dire qu'elle contient des impuretés et de l'eau.

#### **Etape 5 : Stérilisation-purification**

Son but est de séparer l'huile pure des impuretés et de l'eau dont les graines étaient imbibées et qui sont passées avec l'huile au cours du pressage. Cette étape débute par un chauffage à une température élevée pour faire évaporer l'eau ; décantation pour séparer l'huile stérilisée des impuretés. L'huile ainsi obtenue est prête à la consommation et peut être conservée pendant plus de six mois.

La figure ci-dessous schématise les 5 étapes d'obtention de l'huile de soja [22].

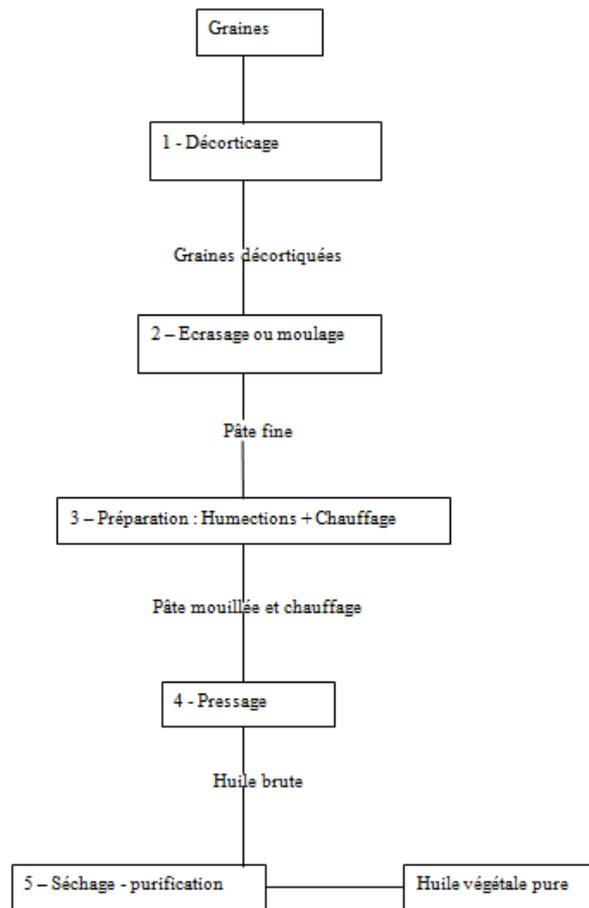


Figure 2.2 : Etapes d'obtention de l'huile de soja.

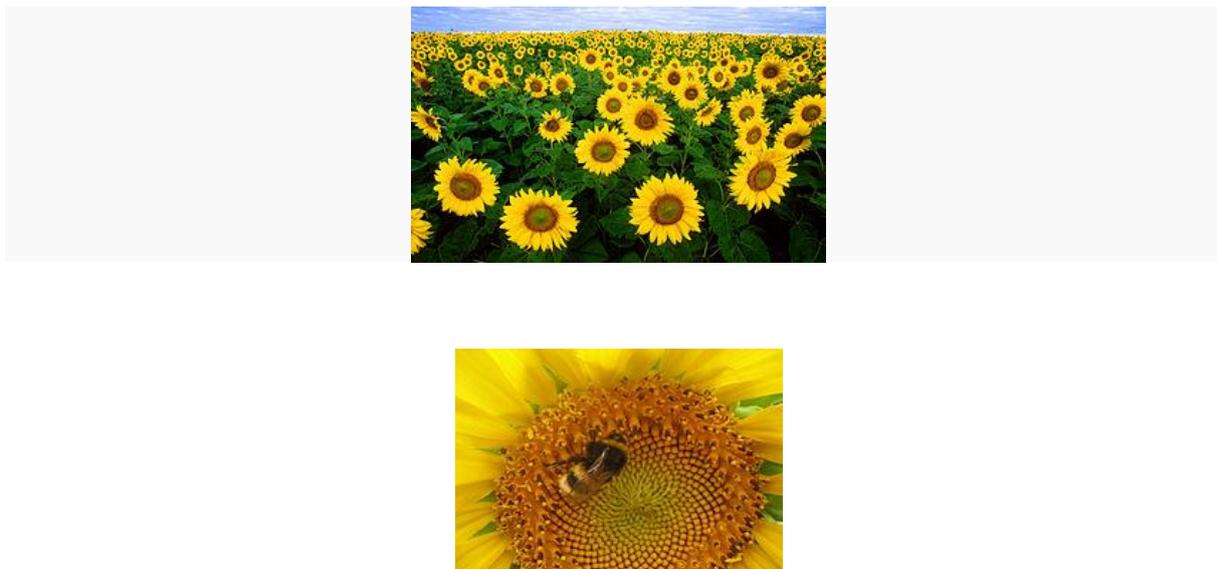
## 2.2.4. Vertus

Les propriétés bénéfiques des huiles végétales sont connues depuis l'antiquité, et parmi ces huiles végétales, l'huile de soja qui a de grands effets bénéfiques sur le corps humain puisqu'elle aide à lutter contre l'artériosclérose, le cholestérol, le diabète ainsi que l'hypertension et les troubles cardio-vasculaires et cérébraux [23].

## 2.3. Huile de tournesol

### 2.3.1. Introduction

Le tournesol, originaire d'Amérique du Nord, est une plante connue depuis l'antiquité. Les Amérindiens, fascinés par sa beauté et son aptitude à suivre le soleil, lui reconnaissaient des vertus médicinales et nutritionnelles. Ils vénéraient la fleur et furent les premiers à la cultiver, enfin l'huile de tournesol est extraite à partir des graines de tournesol.



**Figure 2.3 :** Aspect général de la plante de tournesol et le fruit qui contient les graines

### **2.3.2. Composition chimique de l'huile de tournesol**

L'huile de tournesol se compose essentiellement de triglycérides et de composés appelés composés mineurs. Elle est classée dans les huiles hautement polyinsaturées [24]. Elle comprend 12 % d'acides gras saturés, 21 % d'acides gras mono-insaturés, dont 19,7 % d'acide oléique et 67 % d'acides gras polyinsaturés comprenant essentiellement l'acide linoléique, précurseur de la famille des acides gras oméga 6.

### **2.3.3. Procédés d'obtention des huiles de tournesol**

Les différentes étapes industrielles d'obtention de l'huile de tournesol commencent par la trituration des graines (procédé d'extraction de l'huile brute) et se poursuivent par le raffinage permettant d'obtenir une huile de qualité. Il existe de multiples alternatives pour certaines étapes du procédé, en particulier pour le raffinage des huiles brutes. Cependant, il existe deux grands processus de fabrication de l'huile.

#### **2.3.3.1. Méthode mécanique**

Cette méthode permet d'obtenir l'appellation « huile vierge » où l'huile est issue d'une seule pression à froid (Figure 2.4). Après nettoyage des graines et décorticage, les akènes sont pressés dans une presse à vis tournant lentement afin d'éviter l'échauffement mécanique de l'huile. Enfin, après centrifugation, clarification, décantation et filtration, une huile avec une

odeur, une saveur et une couleur très marquée est obtenue. Selon ce procédé, cette huile conserve ainsi tous ses nutriments tels que les omégas 3 et 6 et les vitamines [25].

### 2.3.3.2. Méthode industrielle

Cette méthode permet d'obtenir des huiles raffinées, obtenues par pressage ou extraction au solvant à haute température puis d'un raffinage (Figure 2.4). Ces huiles brutes ainsi obtenues contiennent des éléments indésirables (matières colorantes et odorantes, acides gras libres) qui influent négativement sur le goût, l'odeur, la qualité visuelle et la capacité de conservation. Pour cela, un raffinage chimique est conventionnellement appliqué et comprend quatre étapes. Tout d'abord, le dégommeage qui consiste à éliminer les résidus solides, les stérols et les lécithines conférant un goût amer. Puis, un processus de désacidification suivie d'une neutralisation permet d'éliminer les acides gras libres. L'huile est ensuite décolorée à l'aide d'une terre décolorante. La séparation, où des éléments traces métalliques, des stérols, des hydroperoxydes et des matières colorantes sont éliminés. Enfin, La dernière étape est une désodorisation de l'huile au cours duquel les composantes olfactives et gustatives sont supprimées. Lors de cette étape des températures élevées (100-250°C) peuvent être atteintes. Des substances telles que les peroxydes, les pesticides, les tocophérols et autres matières volatiles peuvent être éliminée [25].

La figure ci-dessous nous résume les deux méthodes d'extraction mécanique et industrielle [24] :

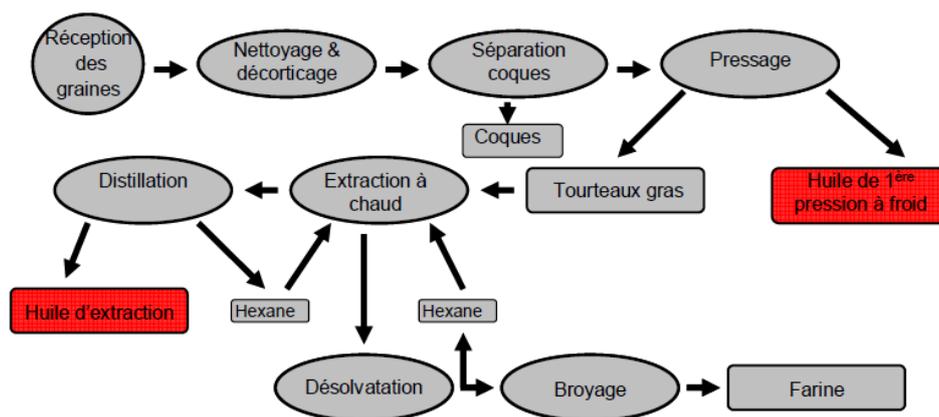


Figure 2.4. Extraction de l'huile de tournesol.

L'ensemble de ces différents traitements d'extraction et surtout de raffinage des huiles brutes génèrent des effluents et des résidus (savons, terres, charbons usagés...) qui sont difficilement valorisables et dont le retraitement est de plus en plus coûteux.

### 2.3.3.3. Effet des procédés sur la qualité et la stabilité de l'huile

Les procédés industriels permettent d'extraire quasiment toute l'huile, mais les différentes opérations d'extraction au solvant suivi du raffinage, altèrent la composition de l'huile en diminuant les composés bénéfiques tels que les antioxydants, vitamine E et en faisant apparaître des acides gras *trans*, très néfastes pour la santé [25] [26]. Ainsi, la qualité et la stabilité d'une huile dépend d'une part de ces caractéristiques chimiques telles que sa composition en acides gras (plus le degré d'insaturations est élevé, plus l'huile est instable) et de sa teneur en antioxydants (tocophérols, tocotriénols, flavonoïdes,...). De plus, la stabilité de l'huile est influencée par les différents procédés d'extraction et de raffinage et les conditions de stockage en présence de lumière et/ou d'oxygène [27].

Bien que le but du raffinage de l'huile soit d'étendre la durée de conservation d'une huile en enlevant les composés indésirables, les pertes en tocophérols et en phytostérols pendant le procédé sont conséquentes (Tableau 2.1). L'étape la plus déterminante est la phase de désodorisation ; le distillat contient des acides gras libres, des tocophérols, des glycérides, des stérols estérifiés et libres qui peuvent être valorisés.

**Tableau 2.1** : Comparaison des teneurs en tocophérols et phytostérols totaux avant et après raffinage de l'huile [28] [29] [30].

Huile	Teneur en tocophérols (mg.kg <sup>-1</sup> d'huile)			Teneur en phytostérols (mg.100g <sup>-1</sup> d'huile)		
	Brute	Raffinée	Perte (%)	Brute	Raffinée	Perte (%)
<b>Maïs</b>	1114	715	<b>36</b>	850	730	<b>14</b>
<b>Colza</b>	820	393	<b>52</b>	820	770	<b>6</b>
<b>Tournesol</b>	779	502	<b>36</b>	430	350	<b>19</b>
<b>Soja</b>	359	295	<b>18</b>	350	260	<b>26</b>

La teneur en tocophérols est significativement affectée par le procédé de raffinage. En effet, les principaux facteurs affectant cette perte sont la température, la durée du chauffage, la pression et le flux d'air. De plus, ces composés sont sensibles à la lumière, au milieu alcalin et aux métaux. Pendant les différentes étapes de raffinage, la synergie de ces facteurs peut conduire à des pertes de 25 à 70% de la teneur totale en tocophérols [30] [31]. Cependant, les tocophérols sont des éléments clés pour la stabilité

oxydative d'une huile ; la richesse d'une huile en  $\alpha$ -tocophérol permet de limiter son oxydation [32].

Cependant, l'amélioration des procédés de raffinage a permis de diminuer la perte en tocophérols des huiles et ainsi promouvoir des huiles plus riches en tocophérols conférant une stabilité oxydative de l'huile et un pouvoir vitaminique pour l'homme.

### **2.3.4. Conservation**

A garder dans un récipient fermé, à l'abri de l'air et de la lumière, à température inférieure à 25°C.

### **2.3.5. Vertus de l'huile de tournesol**

L'huile de tournesol est connue depuis long temps pour ces vertus, celle-ci nourrit, adoucit, assouplit la peau et les cheveux ; fortifie la vision et les angles, réduit le taux de cholestérol et régularise le système nerveux.

Par ailleurs, le tournesol est extrêmement riche en vitamine E. De ce fait, elle se conserve bien mieux que certaines autres huiles [33].

## **2.4. Huile d'argan**

L'huile d'argan est une huile alimentaire diététique obtenue à partir des amandons torréfiés selon un protocole rigoureux et ancestral dont la connaissance est réservée aux femmes. Les populations berbères consomment l'huile d'Argan quasi quotidiennement. Cette habitude a permis, depuis toujours, à ces populations vivant souvent dans des zones pauvres et difficiles de satisfaire en totalité leur demande métabolique en besoins lipidiques.





**Figure 2.5 :** Aspect général de l'arganier et son fruit

## **2.4.1 Composition chimique**

Les acides gras constitutifs des triglycérides rencontrés dans l'huile d'argan sont à 80% des acides gras insaturés. L'acide oléique représente près de 48% de ces acides gras. L'acide linoléique est présent à une hauteur de 32%. Les acides gras saturés sont l'acide palmitique (environ 13%) et l'acide stéarique (environ 5%), les autres acides gras rencontrés sont présents à l'état de traces [34].

La spécificité de l'huile d'argan est sa forte teneur en acide linoléique (acide gras essentiel de la série oméga 6). La fraction insaponifiable de l'huile d'argan renferme en quantité égale (20%) des stérols et des triterpènes. Enfin, l'huile d'argan est riche en dérivés phénoliques parmi lesquels les composés majoritaires sont les tocophérols (7,5 %), composés aussi appelés vitamine E. La teneur en tocophérols de l'huile d'argan est deux fois supérieure à celle de l'huile d'olive. En particulier, l'huile d'argan contient des taux élevés en  $\gamma$ -tocophérol, le tocophérol le plus protecteur contre les radicaux libres. Avec les polyphénols rencontrés dans l'huile d'argan à l'état de traces, les tocophérols participent sans aucun doute à la conservation de l'huile d'argan et à ses propriétés anti-oxydantes [34].

## **2.4.2. Procédés d'obtention**

### **2.4.2.1. Préparation traditionnelle**

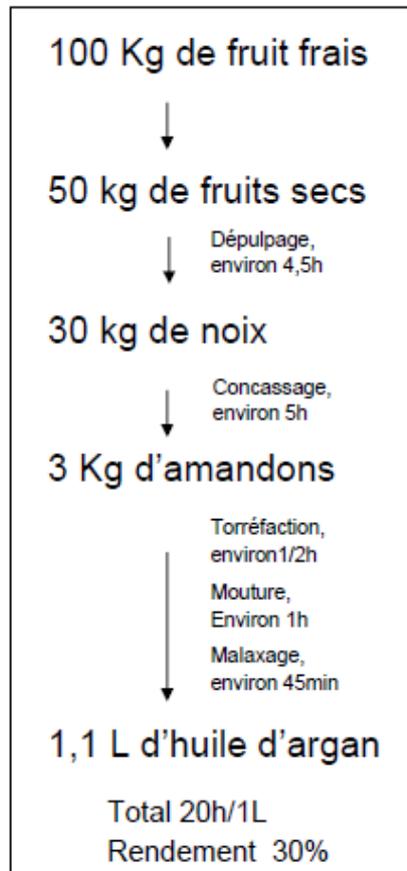
La préparation traditionnelle de l'huile d'argan nécessite de longues heures d'un travail physique pénible. Le dépulpage des fruits récoltés entre juillet et septembre est la première étape de la préparation de l'huile. Il faut ensuite procéder à l'étape de concassage des noix. Celle-ci réalisée à l'aide de pierres: une plate qui sert de support et une allongée qui fait office de marteau.

La torréfaction des amandons n'est effectuée que pour la préparation de l'huile d'argan alimentaire. Cette étape lui donne son parfum unique et caractéristique de noisette. Le broyage des amandons torréfiés est ensuite accompli dans un moulin à bras et il conduit à une pâte lisse et de couleur beige à marron clair qui est recueillie. Des petites quantités d'eau chaude sont alors ajoutées progressivement à la pâte et les femmes malaxent ce mélange longuement à la main. Petit à petit le mélange durcit et l'huile se sépare progressivement de la pâte. En moyenne, le broyage puis le malaxage de la pâte obtenue à partir de 6,5 kg d'amandons permet d'obtenir 2 litres à 2,5 litres d'huile d'argan et demande 3 heures de travail.

L'huile préparée artisanalement est généralement ensuite versée dans des bouteilles en plastique usagées et elle est utilisée dans un délai de deux à trois mois.

Des problèmes sanitaires peuvent accompagner la production artisanale d'huile d'argan. Lors des périodes de sécheresse, il arrive que l'eau utilisée pour l'extraction de l'huile soit de l'eau pluviale récupérée. En conséquence, des modifications techniques et sanitaires ont été apportées à la préparation de l'huile et ces méthodes modernes ont été implantées dans des coopératives de femmes.

La figure ci-dessous nous résume les étapes de la préparation traditionnelle de l'huile d'argan ainsi que le temps de préparation et le rendement ;



**Figure 2.6 :** Etapes et rendement de la préparation traditionnelle de l’huile d’argan [35].

#### 2.4.2.2. Préparation dans les coopératives

La création des coopératives de femmes pour fabriquer l’huile d’argan a été motivée par l’idée de sauvegarder l’arganier, de produire une huile de grande qualité. Pour accomplir ce dernier objectif, quelques modifications ont été apportées au procédé de fabrication.

L’étape particulièrement pénible de dépulpage des fruits séchés a été mécanisée grâce à l’utilisation d’une “dépulpeuse-gratteuse”. Si aucune amélioration n’a pu être apportée à l’étape de concassage, l’étape de torréfaction a été standardisée par l’emploi de torréfacteurs à gaz. Finalement, l’étape de malaxage/pressage a été améliorée par recours à des presses mécaniques. Celles-ci présentent le double avantage de supprimer l’addition d’eau qui représente une source de contamination bactérienne potentielle et de permettre l’extraction de quantités beaucoup plus grandes d’huile. L’huile obtenue avec les presses présente maintenant des capacités de conservation identiques à celles des autres huiles alimentaires et le rendement en huile a été augmenté de 20% [34].

### 2.4.3. Conservation

L'huile d'argan se conserve dans les mêmes conditions que les autres huiles alimentaires, c'est-à-dire dans un récipient fermé à l'abri de la lumière et à une température inférieure à 25°C

### 2.4.4. Vertus et utilisation

L'huile d'argan est connue comme étant fortifiante, nourrissante et assouplissante pour la peau et les cheveux car elle soigne les cheveux ternes et fatigués ainsi que les peaux sèches et déshydratées.

## 2.5. Propriétés physico-chimiques des huiles

Le tableau ci-dessous nous donne quelques propriétés physico-chimiques des trois huiles précédentes :

**Tableau 2.2** : Propriétés physico-chimiques des huiles utilisées.

Propriétés physico-chimiques	Huiles		
	Soja	Tournesol	Argan
Indice d'iode	129-132	125-144	99-102
Indice de saponification	187-192	188-194	189-193
Température de fusion (°C)	-16	-15	-8
Indice de réfraction		1.466	1.4711

## 2.6. Qualité des huiles

La qualité des huiles alimentaires est définie comme étant une combinaison des attributs ou des caractéristiques des produits qui ont une signification en déterminant le degré d'acceptabilité de ces produits par l'utilisateur ». Elle peut aussi être définie à partir de ces valeurs nutritionnelles, organoleptiques ou commerciales.

Afin de répondre aux attentes des consommateurs, un contrôle de qualité doit être assuré dans le cadre de la production et de la ligne de stockage par la mesure de certains paramètres analytiques dont les limites de certaines valeurs sont définies.

### **2.5.1. Détermination de l'acidité libre**

La méthode permet de déterminer la quantité d'acides gras libres présents dans l'huile, qui est exprimé en pourcentage (en poids) d'acide oléique. La quantité des acides gras libres est une mesure de la qualité de l'huile, et reflète le soin apporté à la réalisation des processus de stockage de l'huile.

### **2.5.2. Détermination de l'indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde est une mesure du nombre total des peroxydes dans l'huile, exprimée en milliéquivalent de  $O_2 \cdot kg^{-1}$  d'huile (mEq  $O_2$  / kg d'huile). La méthode officielle de l'UE est basée sur le titrage de l'iode libéré de l'iodure de potassium par les peroxydes présents dans l'huile. En d'autres termes, la valeur de peroxyde est une mesure de l'oxygène actif présent dans les chaînes organiques du corps gras sous forme d'époxyde ou d'hydro peroxyde.

Plus la valeur est élevée, plus la dégradation est due à l'oxydation. L'indice de peroxyde augmente habituellement de façon graduelle au fil du temps après le pressage pour atteindre un pic puis diminue avec l'état d'oxydation avancée.

### **2.5.3. Détermination de l'indice d'iode**

L'indice d'iode est utilisé pour contrôler l'oxydation des lipides. C'est la mesure du taux d'insaturations global, exprimé en termes de pourcentage c'est-à-dire gramme de  $I_2 \cdot 100 g^{-1}$  d'huile ( $g I_2 / 100 g$  d'huile). Les indices d'iode sont expérimentalement déterminés par la méthode de Wijs ou par les méthodes Hanus.

### **2.5.4. Détermination de l'absorbance et de l'extinction spécifique**

La détermination des coefficients d'absorption spécifique (extinction spécifique) dans le domaine de l'ultraviolet est nécessaire pour l'estimation de la phase d'oxydation de l'huile. L'absorption à des longueurs d'onde spécifiées à 232 et 270 nm dans la région ultra-violette est liée à la formation de diènes conjugués et triènes dans l'huile, dus aux procédés

d'oxydation ou de raffinage. L'extinction spécifique à 232 nm peut être considérée comme un indicateur de fraîcheur de la matière première de l'huile alors que la valeur à 270 nm est plus difficile à interpréter rendant compte à la fois de la formation de produits secondaires d'oxydation, mais éventuellement aussi de l'ajout d'huiles raffinées dans le cas des huiles vierges.

## **2.6. Techniques instrumentales de l'analyse des huiles**

Plusieurs techniques instrumentales sont utilisées pour l'analyse des huiles comestibles, au cours de ce travail on a donné un bref aperçu des trois techniques les plus utilisées.

### **2.6.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier (FT-IR) :**

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique d'analyse qui peut contenir des informations importantes sur les composants individus des mélanges complexes. L'infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) est en mesure d'améliorer considérablement les capacités d'analyse quantitative de la spectroscopie IR et qui a un rôle important dans l'analyse des huiles comestibles en étant une technique simple et rapide pour la détermination des paramètres de qualité des huiles commun et l'identification des structures moléculaires. De ce fait, la spectroscopie FT-IR présente plusieurs avantages par rapport à la technique infrarouge dispersive et ce dans l'amélioration du rapport signal-sur-bruit, la résolution, la précision dans la mesure des longueurs d'onde, ainsi que des avantages dans le stockage et la manipulation des données, entre autres. Finalement, l'application de la spectroscopie FT-IR acquiert une grande préoccupation dans l'étude des graisses et huiles comestibles [36].

### **2.6.2. Chromatographie en phase gazeuse (GC)**

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est un outil puissant et largement utilisé pour la séparation, l'identification et la quantification des composants dans un mélange. Dans cette technique, un échantillon est converti à l'état de vapeur et un courant circulant de gaz porteur balaye l'échantillon dans une colonne thermiquement contrôlée. Lorsque l'échantillon se déplace à travers la colonne, composants de l'échantillon qui interagissent fortement avec la phase stationnaire passent plus de temps dans la phase stationnaire par rapport à la phase gazeuse mobile et nécessitent donc plus de temps à se déplacer à travers la colonne. Ainsi, le temps de rétention est défini comme étant le temps écoulé entre l'injection de l'échantillon et le maximum du pic du composé élué. De ce fait, les composants présentant une volatilité plus

élevée ont tendance à passer plus de temps dans la phase gazeuse en mouvement et ont donc tendance à avoir des temps de rétention plus courts et après avoir quitté la colonne des composants séparés sont détectés et une réponse de détecteur est enregistrée.

Le champ d'application de la GC dans l'analyse des huiles est la détermination des esters méthyliques d'acides gras. Le but de cette évaluation est de déterminer le pourcentage de composition des acides gras dans l'huile qui n'est pas seulement un indicateur de qualité, mais est également utilisé pour la classification et la caractérisation des huiles. En dehors de la composition en acides gras, les stérols, les triglycérides et les composés volatils sont également analysés par GC. Par exemple, la technique GC-MS a été utilisée pour la détection de phénols, secoroides et des stérols [37] [38].

### **2.6.3. Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)**

L'HPLC est un outil basé sur la séparation moléculaire pour quantifier et analyser des mélanges de composés chimiques, elle a la possibilité de séparer, d'identifier et de quantifier les composés qui sont présents dans n'importe quel échantillon qui peut être dissout dans un liquide. Ainsi, l'HPLC joue un grand rôle dans l'analyse des huiles où plusieurs composants mineurs des huiles comme les composés phénoliques, les pigments, les stérols, les tocophérols et les triacylglycérols pouvant être identifiés et quantifiés.

La chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (RP-HPLC) est actuellement la technique la plus répandue et fiable pour la détermination des composés phénoliques dans les huiles où de nombreuses phases mobiles ont été employées avec des modificateurs différents, qui comprennent le méthanol, l'acétonitrile, le tétrahydrofurane, et des acides (Acétique ou l'acide formique) et / ou de sel (phosphate d'ammonium) [39]. La détection est généralement basée sur la mesure de rayons ultraviolets (UV) d'absorption, le plus souvent à 280 nm, ce qui représente un bon compromis car la plupart des phénols absorbent beaucoup à cette longueur d'onde [40].

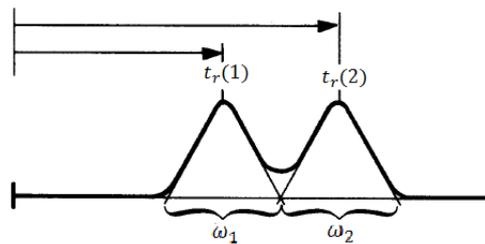
#### **2.6.3.1. L'optimisation en HPLC**

L'optimisation en HPLC consiste à mieux séparer les composants à « meilleure résolution », à une séparation rapide « temps de rétention plus court », à voir plus de « limite

inferieure de détection », et finalement à séparer à moindre cout. Le but de la chromatographie est d'obtenir la meilleure résolution dans le temps le plus court.

- **Amélioration de la résolution**

La résolution (R), en termes simples, est la grandeur qui caractérise l'aptitude d'un système chromatographique à séparer deux solutés, représentée dans la figure ci dessous. Pour une séparation complète de deux pics voisins, la résolution doit être supérieure à 1,5.



**Figure 2.7.** Représentation d'une séparation de deux pics adjacents [41].

$$R = \frac{2(t_r(2) - t_r(1))}{\omega_1 + \omega_2}$$

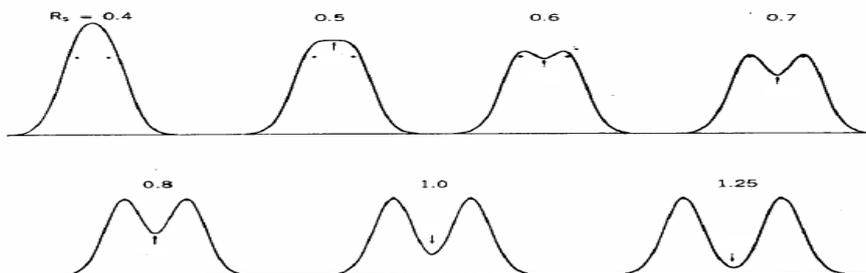
Où :

$t_r(1)$  : Temps écoulé entre l'injection et le moment où le constituant (1) sort de la colonne.

$t_r(2)$  : Temps écoulé entre l'injection et le moment où le constituant (2) sort de la colonne.

$\omega_1, \omega_2$  : Largeur à la base des pics 1 et 2.

La figure ci-dessous représente la séparation de deux pics adjacents en fonction de différentes valeurs de la résolution.

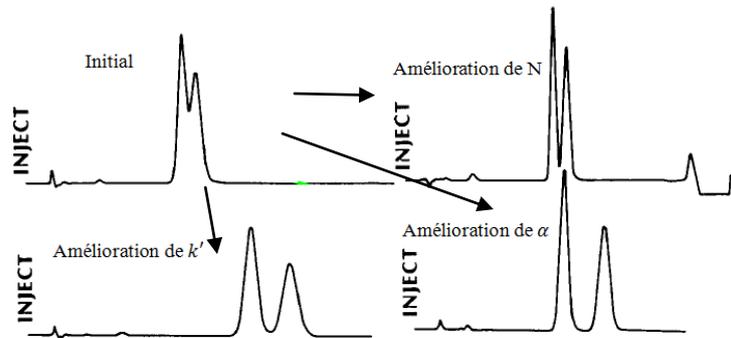


**Figure 2.8.** Séparation de deux pics adjacents en fonction de différentes valeurs de résolution [41].

La résolution est aussi fonction de l'efficacité de la colonne (N), de la sélectivité ( $\alpha$ ) et du facteur de capacité ( $k'$ ) :

$$R = \frac{1}{4} \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) (\sqrt{N}) \left( \frac{k'}{k' + 1} \right)$$

La figure ci-dessous représente les améliorations apportées à la séparation de deux pics chromatographiques lors de la modification des trois paramètres :  $\alpha$ ,  $N$  et  $k'$



**Figure 2. 9** : Facteurs affectant la résolution [41].

- $\alpha$  : Rapport de distribution du constituant (2) le plus retenu sur le rapport de distribution du constituant (1) le moins retenu (1er pic).

$$\alpha = \frac{K_B}{K_A} = \frac{k'_B}{k'_A}$$

Car :

$$K_A = [A]_S/[A]_M \text{ et } K_B = [B]_S/[B]_M$$

$$k'_A = K_A \cdot V_S/V_M \text{ et } k'_B = K_B \cdot V_S/V_M$$

Avec :

$K_A, K_B$ : Rapports de distributions des solutés A et B

$[A]_S, [B]_S$ : Concentration en mol.L<sup>-1</sup> des solutés A,B dans la phase stationnaire.

$[A]_M, [B]_M$ : Concentration en mol.L<sup>-1</sup> des solutés A,B dans la phase mobile.

$V_S$ : Volume de la phase stationnaire =  $V_{\text{Colonnevide}} - V_M$

$V_M$ : Volume de la phase mobile

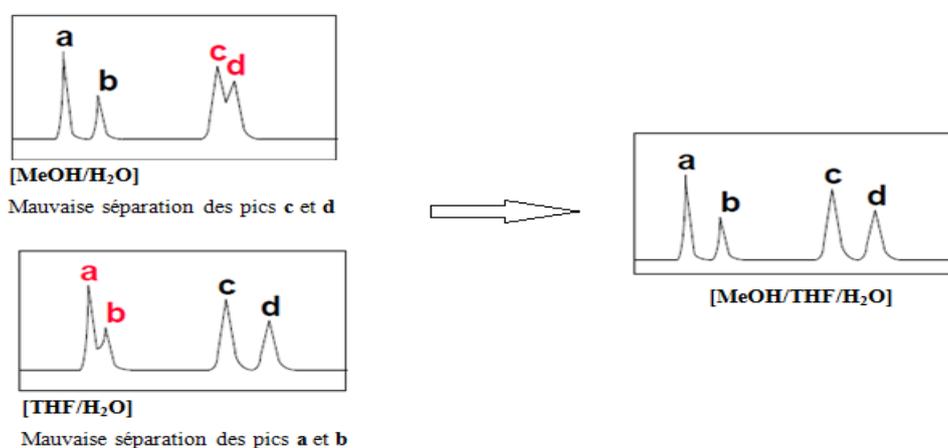
Le tableau ci-dessous représente l'influence du facteur de sélectivité sur la résolution.

**Tableau 2.3.** Contribution du facteur de sélectivité dans la résolution

$\alpha$	$(\alpha - 1/\alpha)$	Contribution
1	0/1	0.000
2	1/2	0.500
3	2/3	0.667
10	10/11	0.909
13	12/13	0.923
17	16/17	0.941
20	19/20	0.950
100	99 /100	0.990

### Comment améliorer ?

On peut améliorer la sélectivité en changeant :La phase mobile ou sa composition.

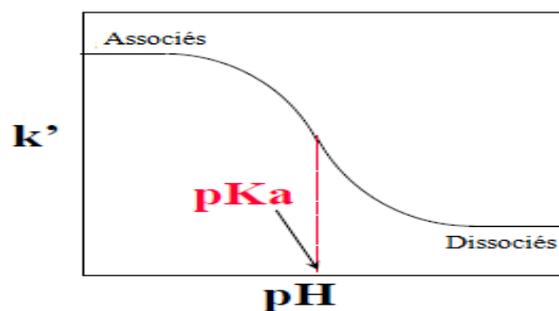


**Figure 2.10 :** Influence de la composition de la phase mobile sur la séparation [41].

Si un solvant organique ne fournit pas une bonne résolution, une combinaison de plusieurs phases mobiles s'avère nécessaire afin d'obtenir une meilleure résolution. Pour cela, on peut utiliser le mode gradient d'élution et ainsi minimiser le temps d'analyse.

- Le pH.

Le temps de rétention des échantillons contenant des composants acides ou basiques ainsi que les facteurs de rétention  $k'$  des acides organiques ou aminés varient avec le pH de la phase mobile, et l'ajustement de ce pH s'avère nécessaire afin d'avoir une bonne répétabilité. La figure ci-dessous représente la variation de  $k'$  des acides organiques ou aminés en fonction du pH de la phase mobile :



**Figure 2.11** : Variation de  $k'$  en fonction du pH de la phase mobile pour les acides organiques et les acides aminés [41].

**Remarque :**

Sur l'intervalle de  $pK_a$  plus ou moins 1.5 , une relation linéaire entre  $k'$  et pH existe.

- Lorsque le pH de la phase mobile est très proche du  $pK_a$  cible de l'échantillon, le réglage du pH doit être très prudent car le pH de la phase mobile va influencer  $k'$ .
- La température de la colonne.

A basse température, l'influence de la phase mobile recule dans le fond et les propriétés individuelles de la phase stationnaire viennent à l'avant-plan.

Si la température est réduite, la cinétique de la réaction diminue, et donc le nombre de plateaux aussi, les pics s'élargissent et d'autre part, la sélectivité augmente généralement. Donc la meilleure résolution pour des séparations difficiles est souvent obtenue à basse température.

- Le matériau de remplissage de la colonne.

Les paramètres à prendre en considération pour le choix d'une colonne sont :

-la nature chimique de la phase stationnaire, sa rétention, la taille des particules de silice et ses dimensions. Le choix de la phase stationnaire est l'étape la plus importante et doit tenir compte de la solubilité de l'échantillon et des propriétés chimiques des analytes visés.

-Les phases pour HPLC en phase inverse (ex. : alkyle, phényle, cyano) sont idéales pour les composés solubles dans l'eau. Certaines phases stationnaires intègrent des groupements polaires et apolaires, elles peuvent ainsi être utilisées en phase inverse ou en phase normale. Les phases stationnaires à chaîne alkyle linéaire (ex. :  $C_{18}$ ) sont les plus couramment utilisées.

-La taille des particules de silice et les dimensions de la colonne sont aussi des critères importants. Le choix de la taille des particules doit être fait en tenant compte de l'effet sur l'efficacité et de la pression dans la colonne.

Utilisées dans les mêmes conditions, une colonne contenant des particules de silice de  $3\mu\text{m}$  est approximativement 50% plus efficace qu'une colonne de  $5\mu\text{m}$ . Théoriquement, selon l'équation de Van Deemter, l'efficacité est inversement proportionnelle à la taille des particules. Il faut noter aussi que la pression dans la colonne augmente avec la diminution de la taille de particules. Les dimensions de la colonne dont il faut tenir compte sont le diamètre interne et la longueur. Le diamètre de la colonne n'a théoriquement pas d'effet sur la résolution et la pression tant que la vitesse linéaire de la phase mobile reste inchangée [43].

➤  $k'_A, k'_B$  : Facteurs de rétention des constituants A ,B.

Un composé de masse  $m_T$  se répartit en  $m_M$  dans la phase mobile et  $m_S$  dans la phase stationnaire. Si les conditions opératoires ne changent pas  $m_M$ , et  $m_S$  restent constantes au cours de la migration dans la colonne. Leur rapport est indépendant de la masse  $m_T$ . Il est appelé facteur de rétention (recommandé par IUPAC) plutôt que facteur de capacité. Ce n'est pas une constante, il exprime mathématiquement la capacité plus ou moins grande de la colonne à retenir chaque constituant.

$$k' = \frac{m_S}{m_M} = \frac{C_S \cdot V_S}{C_M \cdot V_M} = K \frac{V_S}{V_M}$$

Avec le rapport de phase  $\beta = V_M/V_S$  On aura :  $K = \beta \cdot k'$

Si  $K = 0$ , le soluté migre aussi vite que le solvant.

Si  $K = \infty$  le soluté reste sur la colonne.

$k'$  est aussi fonction du temps:  $k' = \frac{t_r - t_0}{t_0} = \frac{t'_r}{t_0}$

Avec :  $t'_r$  : Temps de rétention réduit.

Sachant que :  $\frac{2t_0 - t_0}{t_0} = 1$

- Si  $t_r < 2t_0$  alors  $k' < 1$  : élution très rapide, difficile à étudier.

- Si  $t_r > 2t_0$  alors  $k' > 20$  ou  $30$  : durée d'éluion très longue.

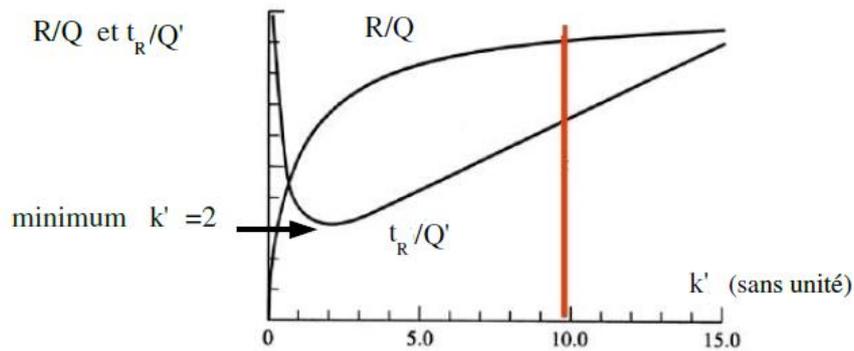
En HPLC, la séparation est optimale pour  $2 < k' < 10$  afin que le temps de passage des constituants ne soit pas trop long, et donc  $k'=5$  reste la valeur optimale.

Le tableau ci-dessous présente l'influence des facteurs de rétention sur la résolution :

**Tableau 2.4 :** Contribution du facteur de rétention dans la résolution.

$k'$	$(k'/k' + 1)$	Contribution
1	$1/2$	0.500
2	$2/3$	0.667
3	$3/4$	0.750
4	$4/5$	0.800
10	$10/11$	0.909
20	$20/21$	0.952
50	$50/51$	0.980
100	$100/101$	0.990

La figure ci-dessous représente l'effet de  $k'$  sur la résolution et le temps de rétention.



**Figure 2.12.** Effet du facteur de rétention  $k'$  sur la résolution et le temps de rétention [42].

Avec :  $Q = \frac{1}{4} \left( \frac{\alpha-1}{\alpha} \right) (\sqrt{N})$  et  $Q' = 16 \frac{R^2 H}{u} \left( \frac{\alpha}{\alpha-1} \right)^2$

➤  $N$  : efficacité ou nombre de plateaux théoriques.

L'efficacité d'une colonne de chromatographie peut s'exprimer par le nombre  $N$  de plateaux théoriques qu'elle possède. Plus le nombre de plateau est élevé, plus la colonne est efficace.

On définit également la hauteur équivalente de plateaux théoriques (HEPT) par :

$$H = L/N$$

Avec,  $L$  : la longueur de la colonne.

Plus la hauteur des plateaux théoriques  $H$  est faible, plus la colonne est efficace.

Plusieurs relations dans le cas de pics symétriques (gaussien) (Figure 2.11) permettent de calculer le nombre de plateaux théoriques en fonction des grandeurs de rétention utilisées :

$$N = \left(\frac{t_r}{\sigma}\right)^2 = 16 \left(\frac{t_r}{\omega}\right)^2 = 5.54 \left(\frac{t_r}{\delta}\right)^2$$

Avec :

$\sigma$  : écart-type, c'est-à-dire la demie largeur du pic à la hauteur des points d'inflexion à 60,6% de la hauteur.

$\omega$  : largeur à la base du pic, c'est-à-dire largeur mesurée à 15,5% de la hauteur.

$\delta$  : largeur du pic à mi-hauteur.

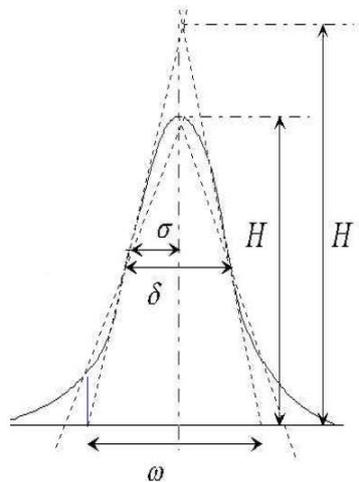


Figure 2.13. Courbe de Gauss [42].

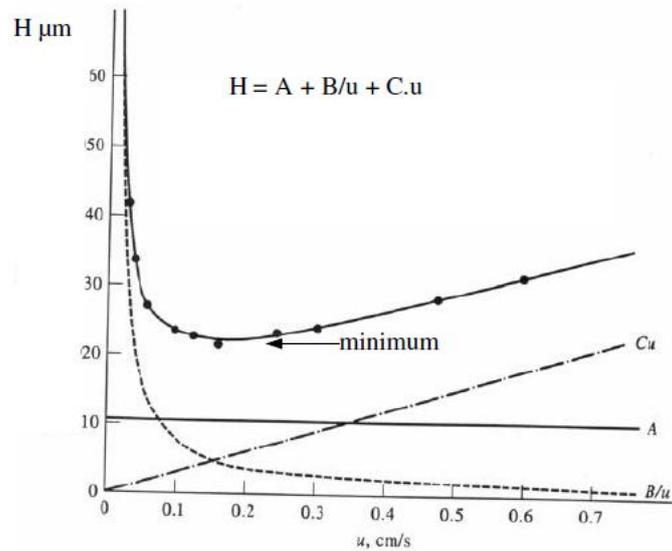
Le tableau ci-dessous représente l'influence de l'efficacité sur la résolution :

**Tableau 2.5.** Contribution de l'efficacité dans la résolution.

N	$(N)^{1/2}$	Contribution
8000	89	
10000	100	0.12
15000	122	0.37
20000	141	0.58
30000	173	0.94

## Courbe de Van Deemter

La courbe de van Deemter qui représente la hauteur équivalente des plateaux théoriques  $H$  en fonction de la vitesse optimale  $u$  est une hyperbole. Il existe un minimum de  $H$  correspondant à une efficacité maximale de la colonne, pour une vitesse  $u$  optimale (ou un débit optimal) et pour un nombre de plateaux théoriques  $N$  maximal.



**Figure 2.14.** : Courbe de Van Deemter [42].

Avec :

**A** : Diffusion turbulente, due aux irrégularités d'écoulement de la phase mobile à travers la phase stationnaire.

$$A = 2\lambda d_p$$

Avec  $\lambda$  : Paramètre d'irrégularité du remplissage et  $d_p$  : Diamètre des particules de remplissage.

**B** : Diffusion longitudinale des molécules de soluté dans une direction parallèle à l'axe de la colonne.

$$B = 2\gamma D_M$$

Avec  $\gamma$  : Facteur de tortuosité et  $D_M$  : Coefficient de diffusion du soluté dans la phase mobile.

**C** : Résistance au transfert de masse des molécules de soluté entre la phase stationnaire ( $C_S$ ) et la phase mobile ( $C_M$ ).

$$C = C_S + C_M$$

## 2.7. Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté trois types d'huiles végétales celle du soja, du tournesol et d'argan avec leurs propriétés physicochimiques et les méthodes analytiques pour évaluer leurs caractéristiques. Pour notre étude nous nous intéressons à la capacité antioxydante des huiles végétales, ainsi, après avoir traité les lipides et les huiles végétales et les techniques instrumentales de l'analyse des huiles, nous nous intéressons dans le chapitre suivant aux antioxydants.

# Chapitre 3

## Antioxydants

### 3.1. Introduction

L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydo-réduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant et cette réaction peut produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices. Ainsi, les antioxydants sont capables de stopper ou de retarder ces réactions en chaîne en se réduisant avec les radicaux libres et annihilant ainsi leur action. Enfin, ces propriétés se trouvent beaucoup dans les familles des thiols et des phénols.

### 3.2. Radicaux libres

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons des autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité. Ainsi, plusieurs éléments peuvent être à l'origine des radicaux libres dont les sources sont nombreuses, il existe deux grandes voies de formation de ces derniers :

- Pour la première voie, un transfert d'électrons catalysé par les métaux de transition (Fe, Cu) transforme les  $H_2O_2$  en radicaux hydroxyles ( $OH\bullet$ ) encore plus toxiques, et accélère la peroxydation lipidique.
- Enfin, la deuxième voie se fait au niveau de la scission homolytique des liaisons covalentes des molécules, cette voie nécessite de l'énergie qui pourra être fournie par les radiations ionisantes, par la lumière, la chaleur et les ultrasons.

### 3.3. Définition des antioxydants

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation des substances chimiques. Il est défini par Halliwell [44] comme étant « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». Ainsi, c'est une molécule qui est capable de neutraliser les formes actives de l'oxygène et permet de maintenir au niveau de la cellule et de l'organisme des niveaux non cytotoxiques de radicaux libres.

## 3.4. Utilisation des antioxydants

Les antioxydants ont diverses applications dans l'industrie où ils évitent le durcissement du caoutchouc, en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation, ils évitent aussi le rancissement des corps gras en industrie agroalimentaire, ou bien ils évitent l'oxydation des colorants au soufre ou des colorants de cuve lors de la teinture dans l'industrie teinturerie.

## 3.5. Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés selon leur origine en antioxydants naturels ou synthétiques et selon leur mode d'action en antioxydants primaires ou secondaires.

### 3.5.1. Antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la gallate propylée (PG) et le tétra-butylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés étant efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture [45].

### 3.5.2. Antioxydants naturels

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydant *in vivo*, elles incluent le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, etc. Ainsi, elles ont le pouvoir de stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et également la capacité de lier les acides gras libres [46] [47].

#### 3.5.2.1. Tocophérols

En 1922, l'embryologiste Herbert Evans et son assistante Katharine Bishop, de l'université de Californie à Berkeley, constatent que chez des rats soumis à un régime appauvri en lipides, les femelles peuvent tomber enceintes mais aucun fœtus ne se développe. Cependant, les grossesses arrivent à terme quand le régime est supplémenté avec des feuilles de laitue ou du germe de blé. Les deux scientifiques soupçonnent l'existence d'un composé lipophile, qu'ils nomment *Facteur X*, indispensable au développement du fœtus.

En 1924, indépendamment des recherches de Herbert Evans et Katharine Bishop, Bennett Sure, de l'université de l'Arkansas, montre qu'un composé retiré d'un régime alimentaire induit la stérilité chez les rats mâles. Bennett Sure nomme ce composé *Vitamine E*, les lettres *A*, *B*, et *C* étant déjà utilisées, et la lettre *D* étant pressentie pour un facteur antirachitique. La vitamine E reçoit aussi le nom de tocophérol, du grec *tokos* : progéniture et *pherein* : porter.

Herbert Evans et Oliver Emerson réussissent à isoler la vitamine E à partir de l'huile de germe de blé en 1936, et Erhard Fernholz en a déterminé la structure en 1938. La même année, le Prix Nobel de chimie Paul Karrer réalise la synthèse de l'*alpha* tocophérol racémique. Ce n'est qu'en 1968 que la vitamine E est reconnue comme un élément nutritif essentiel pour l'homme par le National Research Council des États-Unis

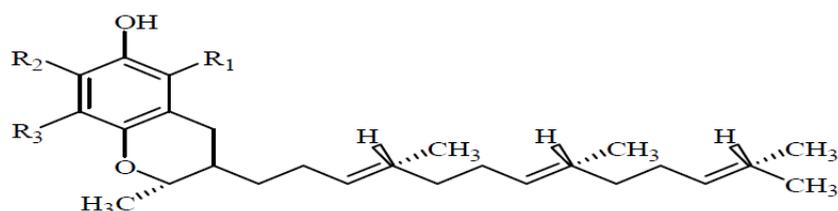
La grande stabilité des huiles végétales, dans les conditions d'oxydation, est due à la présence d'un taux élevé d'antioxydants naturels dont les plus importants sont les tocophérols qui se présentent sous quatre formes isométriques :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  et  $\gamma$ . Ces tocophérols protègent les huiles contre l'oxydation naturelle des acides gras, en particulier les acides gras polyinsaturés (AGPI). Sebie K. et al. [48] ont signalé qu'une molécule de tocophérol peut protéger 103 à 106 molécules d'AGPI. Son activité anti-oxydante repose principalement sur l'existence du système de réduction tocophérol - tocophérylquinone. En effet, une molécule de tocophérol peut réduire deux radicaux lipidiques en formant une molécule d' $\alpha$ tocophérylquinone, en revanche, deux radicaux tocophéryls peuvent s'associer entre eux afin de former des dimères qui peuvent avoir des propriétés antioxydantes.

Certains auteurs ont démontré, en utilisant des analyses statistiques appropriées, qu'il y a une corrélation positive entre l' $\alpha$ tocophérol et l'acide linoléique (C18:2) et probablement entre le  $\gamma$ -tocophérol et l'acide linoléique (C18:3), dans les huiles végétales. Par ailleurs, il y a une indépendance complète entre les teneurs en tocophérols et les taux des acides gras saturés (C16:0 et C18:0) et monoinsaturés (C16:1 et C18:1) [48].

### **3.5.2.1.1 : la vitamine E**

La vitamine E est un antioxydant majeur liposoluble. C'est un composé amphiphile, ayant la capacité de s'insérer dans les membranes cellulaires : globules rouges, cellules endothéliales, cellules musculaires, neurones (c'est le seul antioxydant du système nerveux central).

Par ailleurs, Il existe dans la nature plusieurs dérivés de la vitamine E à activités différentes ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - tocophérol, tocotriénols, ...). En effet, ils sont différenciés par les substituants du noyau chromanol qui est un noyau benzyle associé à un hétérocycle à six carbones substitués par un hydroxyle et par une chaîne latérale ramifiée saturée s'il s'agit de tocophérol ou insaturée s'il s'agit de tocotriénols. La figure 3.1 ci-dessous montre la structure des composés à action vitaminique E.



Nom	R1	R2	R3
$\alpha$ -tocophérol	Me	Me	Me
$\beta$ -tocophérol	Me	H	Me
$\gamma$ -tocophérol	H	Me	Me
$\delta$ -tocophérol	H	H	Me

**Figure 3.0** : Structure des composés à action vitaminique E (tocophérols) [4].

A température ambiante, les tocophérols se présentent sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les graisses, les huiles ainsi que les solvants organiques comme les éthers, l'acétone, le chloroforme, le méthanol ainsi que les alcools méthyliques et éthyliques. Les tocophérols sont peu sensibles à la chaleur, la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases.

La vitamine E joue principalement son rôle d'antioxydant dans les membranes biologiques. Les mitochondries, qui sont génératrices de radicaux libres, contiennent de forts taux de vitamine E dans leur membrane lipidique, constituée d'acides-gras polyinsaturés et soumis au stress oxydant. Elle est souvent utilisée comme conservateur alimentaire pour éviter le rancissement des aliments par les radicaux libres. Et une fois oxydé, l' $\alpha$ -tocophérol peut être régénéré par l'acide ascorbique (vitamine C) ou l'ubiquinol [49] et peut ralentir la formation des radicaux libres et des peroxydes [50].

Le tableau ci-dessous présente les aliments possédant la plus importante teneur en vitamine E. Les valeurs sont indiquées en mg de vitamine E pour 100 g d'aliment.

**Tableau 3.0.** Teneur en vitamine E pour quelques aliments courants.

Aliment	Teneur en mg/100g
Huile de germe de blé	133.0
Huile d'argan	90.0
Huile de tournesol	48.7
Huile de soja	18.0
Huile de colza	18.4
Huile d'olive	5.1
Noisettes et amandes sèches	20.0
Germe de maïs	15.0
Soja	11.0
Soja sec	8.5
Thon	6.3
Margarine	25.0
Crème fraîche	3.5
Epinard	2.0
Persil	1.8
Œufs et fromage	1.0
Beurre	1.5
Tomate et chou	1.0
Farine de blé complète	1.0

En plus de son rôle antioxydant, la vitamine E évite l'agrégation excessive des plaquettes responsables des thromboses, a une action protectrice sur les globules rouges et pourrait prévenir, par ce biais les maladies cardio-vasculaires. En pratique, cependant, aucune action en ce sens n'a été démontrée. Elle a également un effet bénéfique sur le taux de cholestérol. Bien que les observations de Evans [50] aient montré l'importance de la vitamine E sur la fécondité de certains animaux, aucun effet n'a été mis en évidence chez l'homme.

La vitamine E est présente dans les huiles végétales, on la trouve aussi en moindre quantité dans les céréales, les amandes, les légumes verts, le beurre, la margarine, les poissons gras. Les carences en vitamine E sont rarement observées. D'une part, l'alimentation couvre largement les besoins journaliers (de l'ordre de 15 mg/jour chez l'adulte), d'autre part, cette vitamine stockée par le foie et dans les graisses est peu détruite par l'organisme. Pour les cas de carence, on trouve cependant dans les circuits pharmaceutiques de l'acétate de tocophérol à raison de 500 mg par capsule à prendre quotidiennement pendant un mois.

### 3.5.2.2. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont, avec la chlorophylle et les anthocyanes, les pigments les plus répandus dans la nature. A ce jour, plus de 600 caroténoïdes ont été identifiés, mais seule une quarantaine est retrouvée régulièrement dans l'alimentation humaine. Une trentaine de caroténoïdes et de leurs métabolites a été identifiée dans le plasma et les tissus humains, mais seuls six caroténoïdes sont majoritaires : le  $\beta$ -carotène, le lycopène, la lutéine, la  $\beta$ -cryptoxanthine, l' $\alpha$ -Carotène, et la zéaxanthine [51].

### 3.5.3. Antioxydants synergiques

Ce sont des substances qui ne sont guère actives en tant qu'antioxydants, et dont les propriétés apparaissent surtout en présence d'autres antioxydants. Il en est ainsi des lécithines, des acides citrique et tartrique, des acides aminés (lysine et arginine), de certains flavonoïdes.

Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux comme le fer et le cuivre qui ont un effet pro-oxydant à faibles doses. Certains de ces produits ont un effet inhibiteur de la décomposition des hydroperoxydes, et d'autres semblent régénérer des antioxydants, comme les tocophérols ou les dérivés de l'acide ascorbique à partir de leurs formes oxydées [52].

### 3.5.4. Antioxydants primaires

Ils englobent les composés qui interfèrent avec l'oxydation lipidique en convertissant les produits d'oxydation lipidiques ( $L\cdot$ ,  $LOO\cdot$ ,  $LO\cdot$ ) en produits plus stables (LH, LOOH, LOH) grâce à leur propriété de donneurs de protons actifs. Le radical ( $A\cdot$ ) dérivé de l'antioxydant se convertit en produit stable [53].

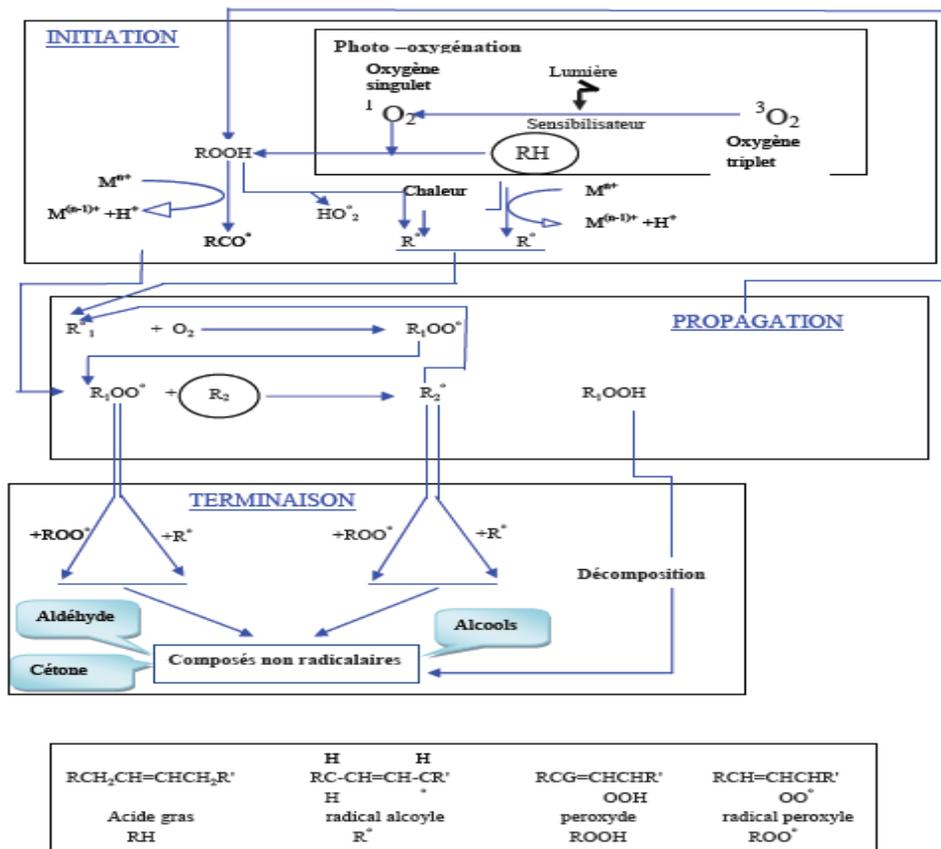
### 3.5.5. Antioxydants secondaires

Selon Gordon [54], les antioxydants secondaires sont des composés qui retardent l'oxydation lipidique selon différents modes d'action :

- Absorption des radiations ultraviolettes ;
- Inactivation de l'oxygène singulet ;
- Chélatation des métaux ;
- Décomposition des hydroperoxydes.

### 3.6. Etapes et facteurs favorisant l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides est une réaction dont les principaux mécanismes sont aujourd'hui bien décrits ainsi que les cinétiques et les facteurs de variation qui sont globalement connus [55] [56]. En effet, c'est une réaction radicalaire en chaîne généralement schématisée en trois étapes (figure 3.1) :



**Figure 3.1.** Mécanisme général des réactions d'oxydation des lipides [57].

-La première de ces étapes est l'étape d'amorçage, ou initiation, au cours de laquelle il y a génération des premiers radicaux alkyle ( $R^\bullet$ ) à partir des acides gras insaturés (RH). Cette première étape peut être modulée par de nombreux facteurs, notamment les traitements subis, comme le chauffage ou l'exposition à la lumière [58], les métaux présents à l'état de traces dans les matières premières ou apportés par les procédés de transformation [59]. Ces conditions correspondent à des conditions courantes de conservation de nombreux aliments [57].

-La deuxième étape réactionnelle étant l'étape de propagation, au cours de laquelle les radicaux alkyles précédemment formés réagissent avec l'oxygène moléculaire pour former des radicaux peroxydes (ROO•) [58][60]. Ces derniers réagissent à leur tour avec des acides gras et forment des hydroperoxydes (ROOH) et de nouveaux radicaux alkyles, engageant ainsi de nouveaux cycles réactionnels [61]. Les hydroperoxydes, étant des produits primaires de la réaction, sont des molécules instables ils se décomposent sous l'effet de la chaleur ou des métaux en donnant naissance à des produits secondaires. Parmi ces derniers, les composés volatils sont à l'origine de la modification de l'odeur des produits oxydés [62].

-Enfin, la troisième étape est la terminaison où les espèces radicalaires réagissent entre elles pour donner des espèces non radicalaires comme les cétones, les aldéhydes et les alcools responsables de l'altération organoleptique mettant ainsi fin aux cycles réactionnels [63].

La connaissance des mécanismes réactionnels de l'oxydation des lipides reste cependant incomplète. De ce fait, les connaissances actuelles ne suffisent pas à maîtriser parfaitement le phénomène qui demeure difficile à prévenir [64].

Garantir la durée de vie des aliments sensibles à l'oxydation demeure ainsi parfois une gageure, même en ayant recours de façon massive aux antioxydants [64] qui soient utilisés dans des industries diverses et jouent un rôle prépondérant dans l'industrie alimentaire. Certains d'entre eux, les tocophérols, sont présents de façon naturelle dans les huiles et corps gras, mais le plus souvent, il est nécessaire d'en ajouter pour améliorer la conservation des aliments, en particulier celle des corps gras [59]. Ainsi, un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques [65] en réagissant avec les radicaux libres pour les rendre ainsi inoffensifs [66] [67].

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxyde ( $O_2$ ), le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), l'oxygène singulet ( $1/2 O_2$ ) et les radicaux hydroxyle ( $HO\bullet$ ), collectivement connu sous le nom d'oxygène actif [65] [68].

### **3.7. Toxicité des antioxydants**

Les premières indications des effets possibles des antioxydants sur la santé datent des années 1970, alors que des chercheurs ont constaté que l'incidence réduite de certains cancers et maladies coronariennes allait pair avec une diète riche en fruits, légumes et herbes.

Or, il s'avère que ces végétaux regorgent des antioxydants [69]. Ainsi, l'intégration de molécules d'antioxydants à des denrées alimentaires constitue tous de même un défi, on reconnaît la fragilité à la chaleur de la vitamine C, qui est par ailleurs l'un des plus puissants antioxydants [62]. L'ajout de vitamine E peut également poser des problèmes si on n'a pas prévu un emballage qui prévient l'oxydation par la lumière. De plus la surconsommation d'antioxydants peut entraîner une déficience des systèmes naturels de protection de l'organisme (système immunitaire) et cela peut nuire la santé en altérant de nombreuses fonctions vitales. Certains antioxydants sont responsables aussi à des réactions allergiques, des hypersensibilités, des troubles digestifs, etc. [70].

Selon Alaiset *al.* [59], les produits de synthèse ont été beaucoup étudiés sur le plan de la toxicologie chez l'animal. Des résultats variant avec les espèces ont été donnés : effet sur les poumons, le foie, la thyroïde, la coagulation sanguine ou l'action cancérogène qu'on peut extrapoler à l'homme, mais on est porté à réduire leur emploi dans l'alimentation humaine.

### **3.8. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante**

Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire [71].

Les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant peuvent être qualitatives ou quantitatives. Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydante des composés, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants, l'une des méthodes utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie en phase liquide (HPLC)

En ce qui concerne l'évaluation quantitative, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydante. Les méthodes principales comportent, le balayage des radicaux de superoxyde ( $O_2\bullet$ ) ; le balayage de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) ; le balayage d'acide hypochloreux ( $HOCl$ ) [72] ; le balayage du radical d'hydroxyle ( $HO\bullet$ ) ou le balayage du radical du peroxyde ( $ROO\bullet$ ). Parmi ces méthodes, la méthode de PIEGE (paramètre total d'antioxydant de radical en piégeage) [73] ; la méthode d'ORAC (capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) [74] ; la méthode d'ABTS (le balayage du radical 2,2-azinobis-éthylbenzothiazoline-6 sulphonate) [75] ; le balayage du

radical stable 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (la méthode du radical DPPH•) [76] [77] ; la méthode de DMPD (le balayage du radical N,N'-p-di-méthylque-phénylènediamine) [78] ou la méthode de Photochemiluminescence (PLC) [79].

### **3.9. Conclusion**

Les antioxydants ayant une grande importance dans notre vie courante, que ce soit dans l'industrie ou l'alimentation, ils font objet de différents thèmes de recherche.

# Chapitre 4

## Matériel et méthodes

## 4.1. Introduction

La détermination de l'acidité et des indices de peroxyde a été effectuée par titrimétrie volumétrique utilisant un matériel constitué de verreries classiques (burettes, fioles, pipettes, béchers), d'une balance analytique OHAUS avec une précision de  $10^{-4}$  g. Pour la détermination de l'indice de l'absorbance et de l'extinction spécifique, on a utilisé un appareil UV-Visible Thermo électron, de type Nicoletevolution 100 équipé d'une cellule de 1 cm d'épaisseur ; pour le dosage de la vitamine E dans les huiles végétales un appareil HPLC Shimadzu constitué d'un dégazeur DGU-14A, d'une unité de gradient FCV-10ALvp, d'une pompe LC-10ADvp, d'un mixeur, d'un injecteur, d'une colonne de garde, d'une colonne analytique, RP-HPLC , Agilent, d'un détecteur SPD-10Avp et d'un logiciel LCsolution offrant deux types d'applications qui intègrent la plupart des fonctions pour l'analyse, analyse en temps réel et analyse en différé ; sachant que tous les réactifs chimiques utilisés sont de qualité conforme pour analyse.

## 4.2 Échantillonnage

Des échantillons d'huiles alimentaires raffinées disponibles dans le marché ont été achetés, le tableau ci-dessous présente les huiles achetées ainsi que leur provenance (marque) et leur date de fabrication.

**Tableau 4.0:** les huiles achetées ainsi que leur provenance

Code	Huile	Marque	Conditionnement	Date de fabrication
1	Tournesol/ Soja	Elio (Cevital)	Bouteille d'1L en plastique transparent	10/2012
2	Soja	OléorAlgérie	Bouteille de 2,25L en plastique transparent	11/2012
3	Tournesol	LaboratoireZazia	Bouteille de 100mL en plastique ambré	07/2012
4	Argan	LaboratoireZazia	Bouteille de 100mL en plastique ambré	01/2013

## 4.3. Dosage de l'acidité

La détermination de l'acidité des huiles a été effectuée conformément à la norme AFNOR NF T60-204 de Décembre 1985. Elle consiste à mesurer la quantité d'hydroxyde de sodium nécessaire pour neutraliser quelques grammes de matière grasse en présence de

solvant organique dont le principe consiste en un dosage acido-basique correspondant à la neutralisation dont le principe est le suivant :



Expression des résultats :

$$\text{Acidité (\%)} = \frac{N * V * 282.5}{m * 1000} * 100$$

m : Masse de la prise d'essai en gramme ;

N : Normalité de la solution d'hydroxyde de potassium en eq.g/l;

V : Volume de titrage en ml ;

282.5g/mol : Masse molaire de l'acide oléique.

#### 4.3.1. Réactifs

- Etherdiéthylique
- Ethanol à 96 % en volume
- Solution d'hydroxyde de potassium (0,1 N)
- Phénolphtaléine (1 g dans 100 mL d'éthanol 96 %)
- Echantillons d'huile

#### 4.3.2. Matériel

- Une burette de 10 mL ;
- Une éprouvette graduée de 25 mL ;
- Un erlenmeyer de 250 mL ;
- Une plaque chauffante avec agitation ;
- Un barreaumagnétique ;
- Balance électronique OHAUS d'une précision de  $10^{-4}$  g.

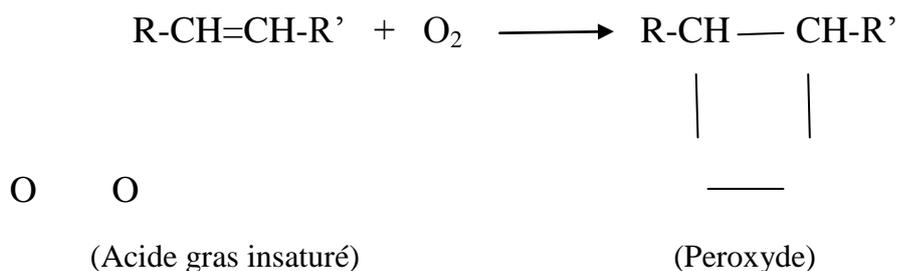
### 4.3.3. Mode opératoire

Après avoir pesé 2g de matière grasse, on ajoute 50 mL de solvant organique (25 mL d'éthanol et 25 mL d'éther diéthylique) et quelques goutte de l'indicateur coloré (phénolphtaléine) puis on démarre l'agitation magnétique et on commence notre dosage avec l'hydroxyde de sodium jusqu'à apparition de la couleur fuchsia.

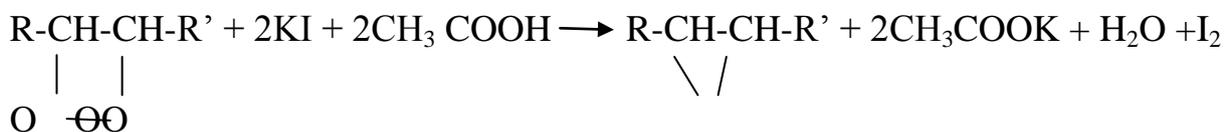
### 4.4. Détermination de l'indice de peroxyde

La détermination de l'indice de peroxyde a été effectuée conformément à la norme AFNOR NF T60-220 de décembre 1968. Elle consiste à mesurer en microgramme l'oxygène actif présent dans 1 g de matière grasse et qui est l'oxygène existant sous forme de peroxyde, d'hydro peroxyde ou d'époxyde dont le principe est le suivant :

En présence de l'oxygène de l'air, les acides gras insaturés s'oxydent en donnant lesperoxydes selon la réaction suivante :



Sur une molécule de peroxyde, une molécule d'oxygène est fixée. Sur les deux atomes d'oxygène fixés, un seul est actif et est capable d'oxyder les iodures selon la réaction suivante:



Expression des résultats:

$$IP(\mu\text{g/g}) = \frac{(V - V_0) * N * 8000}{P}$$

V<sub>0</sub> : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en mL ;

V : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la prise d'essai en mL ;

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium ;

P : Masse de la prise d'essai en gramme.

Dans le cas où  $P=2\text{g}$ , l'indice de peroxyde IP peut alors s'exprimer de trois façons :

- $IP = (V - V_0) \times 2,5$  en millimoles/kg ;
- $IP = (V - V_0) \times 5$  en milliéquivalents/kg ;
- $IP = (V - V_0) \times 40$  en microgrammes/g.

#### 4.4.1. Réactifs :

- Chloroforme ;
- Acide acétique ;
- Solution saturée d'iodure de potassium (15g de KI dans 10 mL d'eau distillée) récemment préparée ;
- Solution de thiosulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (0.01N) ;
- Empois d'amidon (solution aqueuse à 1%) ;
- Huile.

#### 4.4.2. Matériel :

- Deux erlenmeyers de 250 mL ;
- Une éprouvette graduée de 25 mL ;
- Une éprouvette graduée de 5 mL ;
- Une éprouvette graduée de 100 mL ;
- Une burette de 10 mL ;
- Deux barreaux magnétiques ;
- Deux plaques chauffantes avec agitation ;
- Balance électronique OHAUS d'une précision de  $10^{-4}$  g.

#### 4.4.3. Mode opératoire :

Après avoir pesé 1g d'huile dans un erlenmeyer, on ajoute 10mL de chloroforme, 15 mL d'acide acétique et immédiatement après, 1mL de la solution aqueuse saturée d'iodure de potassium puis on agite pendant 1min et on met à l'obscurité. Après 5 min, on ajoute 75

mL d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur, puis on procède au dosage par la solution de thiosulfate de sodium 0,01N. Un essai à blanc sans le corps gras est effectué parallèlement.

#### 4.5. Détermination de l'absorbance et de l'extinction spécifique

Dans cette partie, les absorbances et les coefficients d'extinctions spécifiques sont déterminés par rapport au solvant pur à partir des lectures spectrophotométriques. Les valeurs obtenues sont exprimées comme extinction spécifique notée  $K$ , sachant que :

$$K = A_{\lambda} / C * S$$

$A_{\lambda}$ : Absorbance à la longueur d'onde  $\lambda$  ;

$C$  : Concentration de la solution en g/100mL, dans notre cas elle est égale à 1g/100mL ;

$S$  : Chemin optique.

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

$$A_{\lambda} = \varepsilon * l * C$$

$A_{\lambda}$ : Absorbance à la longueur d'onde  $\lambda$  ;

$C$  : Concentration de la solution en g/100mL, dans notre cas elle est égale à 1g/100mL ;

$l$  : longueur de la cuve ;

$\varepsilon$ : coefficient d'extinction molaire.

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

$$\Delta K = K_{270} - \frac{1}{2}(K_{266} + K_{274}) \text{ et le rapport}$$

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

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

$K_{266}$  : extinction spécifique à  $\lambda = 266$  nm

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

#### 4.5.1. Réactifs

- Hexane pur.

#### 4.5.2. Matériel

- Tubes à essai en verre ;
- Une éprouvette de 5 mL ;
- Une balance électronique OHAUS d'une précision de  $10^{-4}$  g ;
- Un spectrophotomètre UV-Visible Thermo électron, Nicolet evolution 100 équipé d'une cellule de 1 cm d'épaisseur ;
- Une cuve en quartz.

#### 4.5.3. Mode opératoire

Après avoir pesé 0.05g d'huile et dilué dans 5mL d'hexane, on a procédé à la lecture des absorbances sur un spectromètre UV-Visible dont les valeurs sont exprimées comme extinction spécifique  $E^{1\%}$  notée de façon conventionnelle par  $K$ .

### 4.6. Analyse quantitative de l' $\alpha$ -tocophérol par RP-HPLC

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

$$C_i = K_i * A_i \text{ et } C_i = K_i * H_i$$

$K_i$  : coefficient de réponse du détecteur.       $C_i$  : concentration de l'analyte  $i$ .

$A_i$  : aire du pic de l'analyte  $i$ .       $H_i$  : hauteur du pic de l'analyte  $i$ .

La stabilité des conditions d'analyse laisse le coefficient constant, ce qui donne une linéarité entre la variation des paramètres et les différentes concentrations de l'analyte. Cette linéarité est la base des différentes méthodes qui permettent la détermination de la concentration d'un échantillon inconnu. Parmi ces méthodes, la méthode d'étalonnage qui est

la plus utilisée en CPL dont le principe est de tracer une courbe représentant la variation de signal (aire ou hauteur) en fonction de la quantité d'analyte. Cette courbe est traduite par l'équation :  $y = ax + b$

Avec a: pente de la droite et b: ordonné à l'origine

Généralement le dosage de l' $\alpha$ -tocophérol par RP-HPLC est réalisé par deux méthodes d'étalonnage, interne et externe. Dans notre étude on a utilisé la méthode de l'étalonnage externe dont la précision dépend strictement des pesées et des dilutions lors de la préparation des étalons ainsi que des échantillons.

#### 4.6.1. Etalonnage externe

L'étalonnage externe consiste à réaliser l'injection d'un volume reproductible et identique des solutions étalons, préparées avec des concentrations bien précises à partir de l'étalon de pureté connue (solution mère) et les valeurs des aires de pics correspondants à chaque concentration sont représentées sur une droite d'étalonnage d'équation de type :

$$A_i = f(C_i)$$

Avec  $C_i$  : Concentration d'un étalon i et  $A_i$  : Aire du pic de l'étalon i.

Sachant que l'équation est linéaire, donc elle peut s'écrire comme suit :

$$A_{ét} = a * C_{ét} + b$$

$A_{ét}$ : Aire du pic de l'étalon pur .  $C_{ét}$ : Concentration de l'étalon pur ;

a : Pente de la droite. b : Ordonnée à l'origine.

Pour déterminer la concentration de l'analyte dans un échantillon inconnu, il suffit d'injecter le même volume de celui-ci après traitement, et dans les mêmes conditions dont la courbe d'étalonnage a été réalisée. Ainsi, la concentration ( $C_{éch}$ ) sera calculée à partir de l'aire de pic obtenu ( $A_{éch}$ ) suivant deux manières différentes :

- Soit par l'équation de la droite suivant la relation :

$$C_{éch} = \frac{A_{éch} - b}{a}$$

- Soit par projection de la valeur d'aire sur la droite d'étalonnage en utilisant un logiciel approprié.

Dans cette méthode, la précision des résultats dépend essentiellement des pesées de la substance de référence et de l'échantillon ainsi que les dilutions, et de la reproductibilité du volume d'injection. Son avantage c'est que le volume d'injection n'a pas une grande importance à condition qu'il demeure constant lors de l'étalonnage et l'analyse dans des conditions chromatographiques strictement invariantes.

#### **4.6.1.1. Réactifs**

- Isopropanol pur.
- Solution d' $\alpha$ -tocophérol pure.
- Ethanol pur.
- Méthanol grade HPLC.
- Acétonitrile grade HPLC.

#### **4.6.1.2. Matériel :**

- Un appareil HPLC équipé d'une colonne C<sub>18</sub> ;
- Un spectrophotomètre UV-Visible ;
- Cuvette en quartz ;
- Tubes eppendorff ;
- Micro pipette Accumax (50 - 200 ) ;
- Une fiole jaugée de 10 mL ;
- Un flacon en verre de 15 mL.

#### **4.6.1.3. Description du système RP-HPLC utilisé**

Le système RP-HPLC utilisé dans notre étude est constitué de :

- **Réservoirs de la Phase mobile** où les solvants utilisés doivent répondre à certaines exigences comme la pureté, ils doivent être de grade HPLC, la miscibilité c'est-à-dire qu'ils doivent être miscibles entre eux ainsi que les solutés à séparer doivent y être solubles et la compatibilité avec le système de détection car il faut utiliser des solvants qui n'absorbent pas à la même longueur d'onde que l'analyte. Les limites de détection des solvants utilisés comme phase mobile dans l'étude de la vitamine E, sont très inférieures à 292 nm qui est la longueur d'onde maximale d'absorption de la vitamine E. Un filtre en acier inoxydable d'une porosité de 2  $\mu\text{m}$  est placé à l'extrémité dans le réservoir à solvants afin d'éviter le passage de toute particule qui peut endommager le système.
- **Dégazeur DGU-14A, N° 228-35359-9, Shimadzu**  
 Afin d'assurer une analyse stable à tout moment, la phase mobile doit être dégazée en passant à travers une tuyauterie spéciale faite de films de résine entourée d'une basse pression.
- **Unité de gradient FCV-10ALvp, Shimadzu, N° 228-39500-91**  
 Permettant de commuter jusqu'à 4 phases mobiles, l'unité de gradient doit être installée avant la pompe pour réduire au minimum le volume mort ainsi que le délai de gradient.
- **Pompe LC-10ADvp, Shimadzu**  
 C'est une pompe d'échange à deux têtes ayant de petites chambres de 10  $\mu\text{L}$  qui peut livrer un débit constant de 0,001 à 9,999 mL par minute, avec des pressions allant de 10 à 392 bars avec une gamme de température de fonctionnement allant de 4 à 35°C.
- **Mixeur, N° 228-28000-91**  
 C'est un accessoire qui permet de mélanger efficacement la phase mobile dans le cas d'élution en mode gradient.
- **Injecteur**  
 Comme la pression dans le circuit pompe-colonne est très élevée, on utilise un moyen indirect pour introduire l'échantillon à l'entrée de la colonne. Celui-ci est d'abord

introduit à l'aide d'une seringue dans un injecteur à boucle externe qui contient deux positions :

- LOAD (charger) : On injecte toujours un volume supérieur à celui de la boucle, en prenant soin de ne pas introduire de bulles d'air dans la boucle. L'excès du liquide injecté est évacué par l'ouverture de vidange.
  - INJECT (injecter) : En tournant la valve vers cette position, seul le contenu de la boucle est dirigé en tête de colonne à travers la phase mobile. Cette méthode d'injection a l'avantage de donner des résultats très reproductibles d'une injection à une autre
- **Colonne de garde**

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

- **Colonne analytique : RP-HPLC ,Agilent**

Elle est constituée d'un tube en acier inoxydable rempli d'une phase stationnaire, qui se compose de greffons organiques apolaires (octadécyle C18), fixés sur des particules de silice. La qualité de la séparation dépend essentiellement de la géométrie de la colonne, de la granulométrie des particules qui constituent la phase stationnaire et de la qualité du remplissage. Cet élément représente le noyau du système chromatographique. Les caractéristiques de la colonne utilisée sont les suivants :Longueur = 25 cm, Diamètre interne = 4,6 mm et Diamètre des particules = 5 µm.

- **Détecteur SPD-10Avp, Shimadzu**

C'est un détecteur UV-Visible, dispersif à longueur d'onde variable. Il mesure l'absorbance pendant l'élution de l'échantillon dans la colonne. Il offre deux modes de détection, la détection à longueur d'onde fixe ou la détection en mode duel avec une lampe de deutérium utilisée comme source, elle fournit la gamme de longueurs d'onde allant de 190 à 600 nm [80]. La longueur du chemin optique de cette cellule est de 10

mm, et son volume est de 8  $\mu\text{L}$  avec une température de fonctionnement allant de 4 à 35°C.

- **Système de traitement des données**

C'est un ordinateur muni d'un logiciel, LC solution. Celui-ci permettant d'enregistrer et de visualiser le signal de sortie du détecteur du système HPLC. Les données traitées peuvent être imprimées. Le logiciel LCsolution offre deux types d'applications qui intègrent la plupart des fonctions pour l'analyse : analyse en temps réel et analyse en différé.

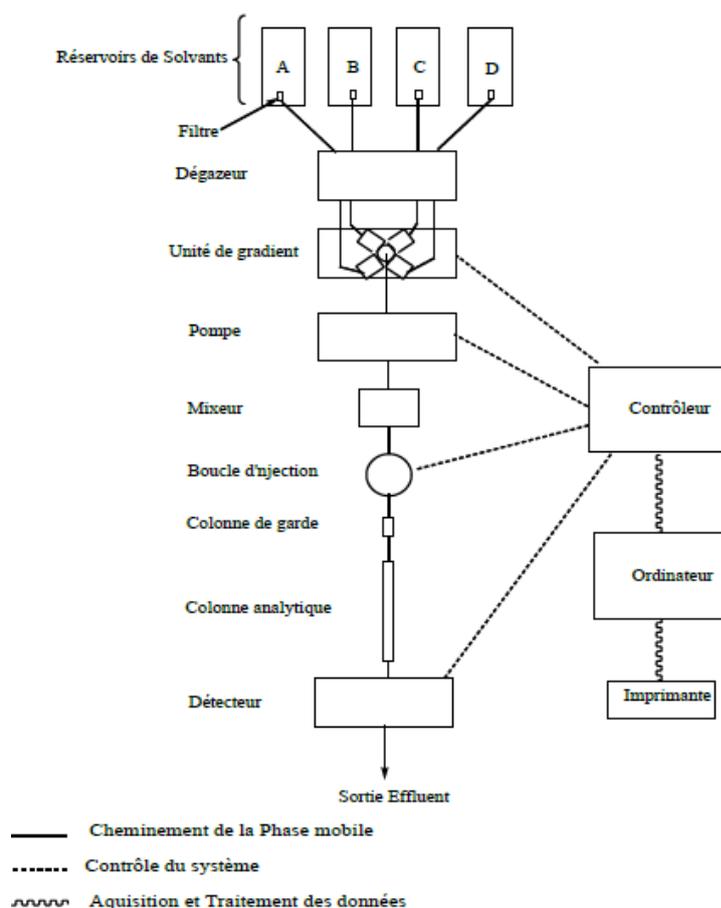
- Analyse en temps réel (LC Real Time Analysis) :

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

- Analyse en différé (Post-runanalysis) :

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

La figure ci-dessous représente le schéma simplifié de notre système HPLC utilisé :



**Figure 4.1** : Schéma simplifié du système HPLC utilisé.

#### 4.6.1.4. Mode opératoire

##### a. Préparation d'une solution pure d' $\alpha$ -tocophérol

Après avoir pesé 0.1384 g d' $\alpha$ -tocophérol commerciale pure prélevée à partir d'un flacon de 25g en verre ambré de la compagnie Fluka, on a dilué cette quantité dans 10mL d'éthanol pure de grade HPLC, puis on a mesuré son absorbance en utilisant « la méthode scan » du spectrophotomètre, ce qui nous a permis de calculer la concentration réelle de la solution préparée en appliquant la loi de Beer Lambert. Afin de vérifier la pureté de notre produit, on a injecté une quantité dans notre système chromatographique dans les conditions optimales.

##### b. Préparation de la droite d'étalonnage externe

Pour préparer la courbe d'étalonnage externe, on a commencé tout d'abord par préparer 10 mL d'une solution fille de 400  $\mu\text{mol/L}$  à partir de la solution d' $\alpha$ -tocophérol pure préparée précédemment, par simple dilution à l'éthanol. C'est à partir de cette solution fille dont on a

mesuré l'absorbance trois fois avec le spectrophotomètre en utilisant « la méthode fixed » à une longueur d'onde de 292 nm et de laquelle on a fait des prélèvements afin de préparer notre série d'étalons dans des tubes Eppendorff et complété jusqu'à 1 mL avec de l'isopropanol pur. Le tableau ci-dessous présente les volumes de la solution fille prélevés, les volumes d'isopropanol ajoutés ainsi que les concentrations théoriques ciblées.

**Tableau 4.1.** Préparation des étalons.

$V_{\text{prélevé}}(\mu\text{L})$	50	70	100	130	150	300
$V_{\text{isoprop.}}(\mu\text{L})$	950	930	900	870	850	700
$C_{\text{cible}}(\mu\text{mol/L})$	20	28	40	52	60	120

Après avoir préparé les solutions étalons, on a mis en marche le système HPLC selon les conditions suivantes :

- Mode d'élution gradient ;
- Phase mobile  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_3\text{CN}$  (70% :30%) ;
- Débit 1.5 mL/min ;
- Volume d'injection 20  $\mu\text{L}$  ;
- Longueur d'onde 292 nm ;
- atténuation 0,005 AUFS.

Puis on a fini par injecter nos solutions étalon.

### **c. Dosage de l' $\alpha$ -tocophérol dans les échantillons d'huile**

On a au total, quatre échantillons d'huile à analyser dont la première étape du processus analytique consiste en une préparation de l'échantillon avant l'analyse .La réalisation de cette étape dépend de deux performances :

- Le volume ou la masse de l'huile traitée.
- Le solvant ou le mélange de solvants pour l'extraction de l' $\alpha$ -tocophérol.

Parmi les différents solvants et mélanges proposés dans la littérature pour ce type de méthode, le solvant isopropanol proposé par Anna Gliszcznska-Swiglo et EwaSikirska [81] qui est très pratique et répond parfaitement à notre but.

Après avoir préparé en double les tubes Eppendorff selon le nombre d'échantillons prévus et étiqueté, on a pesé 0.036 g d'huile dans chacun des tubes dans lesquels on a ajouté par la suite 300  $\mu$ L d'isopropanol, agité pendant 10 min avec un Vortex, laissé au repos pendant 10 min puis centrifugé à 13000 tour/ minute pendant 5 min. Enfin, on a prélevé soigneusement le surnageant (à l'aide de la seringue conçue pour l'injection), sans toucher les parois du tube ou le précipité et chargé la boucle d'injection, puis injecté l'échantillon.

# Chapitre 5

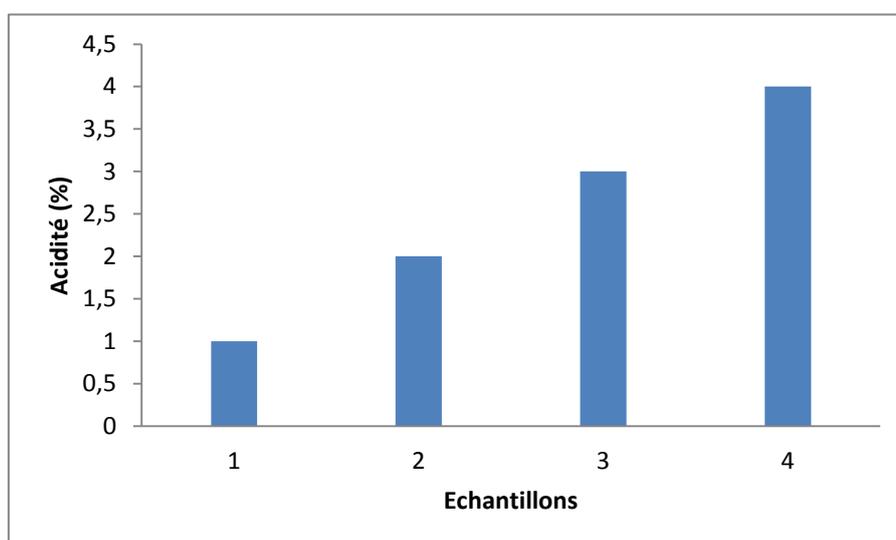
## Résultats et discussion

## 5.1. Acidité

Les valeurs de l'acidité des quatre échantillons analysés en % (équivalent au mg de KOH/g d'huile) sont mentionnées dans le tableau 5.1 ci-dessous :

**Tableau 5.0.** Acidité des échantillons analysés.

Echantillon	1	2	3	4
Acidité (%)	0.320	0.280	0.294	0.287



**Figure 5.1:** Acidité des échantillons analysés.

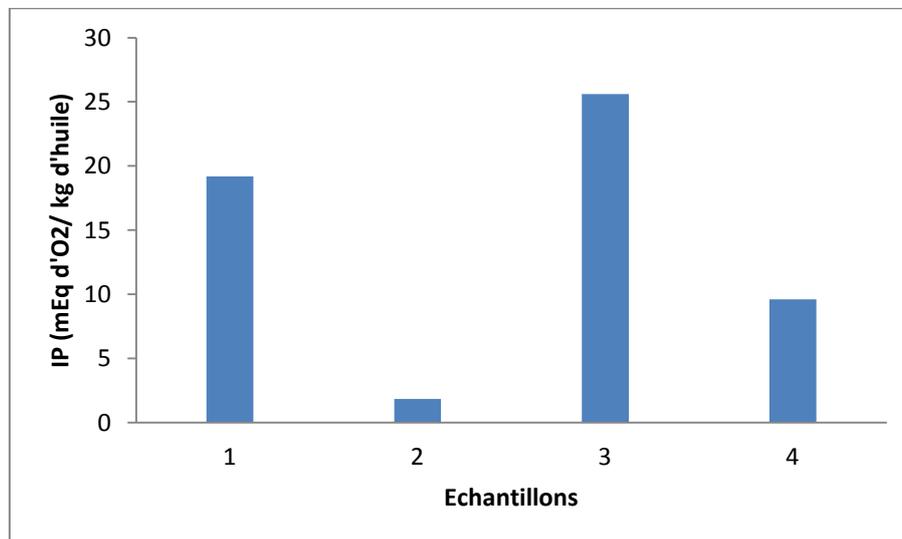
Les valeurs d'indice d'acide trouvées sont très proches et varient entre 0.28 et 0.32 %. Elles sont en conformité avec les normes du Codex Alimentarius dont la valeur maximale pour une huile végétale raffinée est de 0.6 mg de KOH/ g d'huile. L'acidité libre peut provenir de la présence éventuelle de carboxyles appartenant à différents types d'acides : acides organiques (acide citrique, acide malique, acide malonique, acide oxalique, ...), une huile à acides gras à chaîne carbonée courte provenant de l'oxydation des liaisons éthyléniques d'un lipide ou encore d'acides gras libres présents dans les extraits végétaux [82].

## 5.2. Indice de peroxyde

Les valeurs de indices de peroxyde des quatre échantillons en mEq d'O<sub>2</sub>/kg d'huile sont données dans le tableau 5.2 ci-dessous :

**Tableau 5.1.** Valeurs des indices de peroxyde des échantillons analysés.

Echantillon	1	2	3	4
IP (mEq d'O <sub>2</sub> /kg d'huile)	19.2	1.84	25.6	9.6



**Figure 5.2:** Indices de peroxyde des échantillons analysés.

L'indice de peroxyde (IP) permet d'apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative de l'huile. Par définition, l'IP est le nombre de mEq d'oxygène actif de peroxyde contenu dans 1g de corps gras susceptible d'oxyder l'iodure de potassium avec libération d'iode [82]. Les échantillons ont été analysés sur leurs indices de peroxyde, ils sont dosés selon la méthode de l'IUPAC. Les résultats obtenus montrent que deux échantillons 2 et 4 dont les IP sont respectivement 1,84 et 9,61 mEq d'O<sub>2</sub>/kg d'huile répondent aux normes du Codex Alimentarius et ne dépassent pas les 10 mEq d'O<sub>2</sub>/kg d'huile.

Les IP correspondants aux échantillons 1 et 3 sont respectivement 19,2 et 25,2 mEq d'O<sub>2</sub>/kg d'huile et qui sont élevés par rapport aux normes du Codex Alimentarius. Ce phénomène

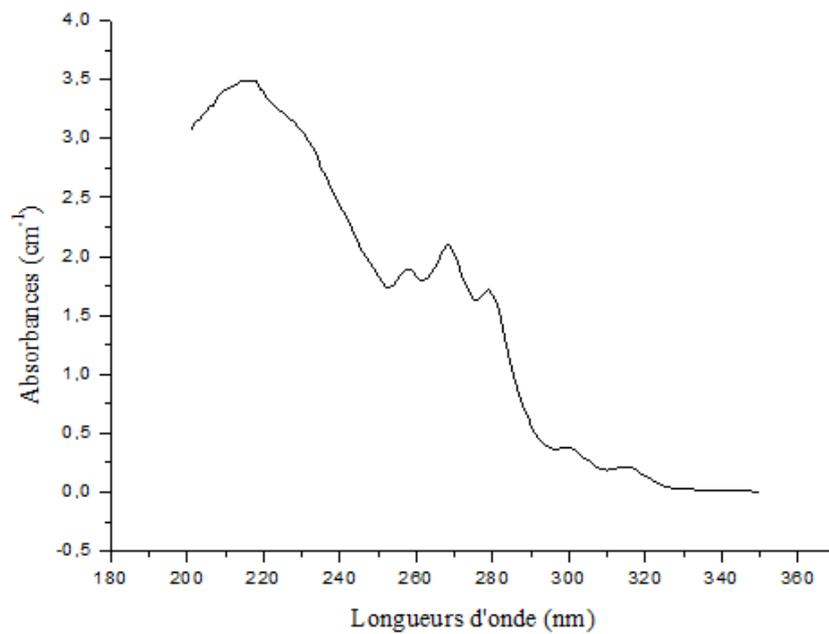
chimique est dû à la succession dans le temps de différentes réactions chimiques conduisant à plusieurs familles de produits réactionnels et finaux irréversibles et alternatifs. L'attaque des huiles par l'oxygène atmosphérique conduit à des dégradations organoleptiques et fonctionnelles affectant directement la qualité des huiles [83].

### **5.3. Absorbance et de l'extinction spécifique**

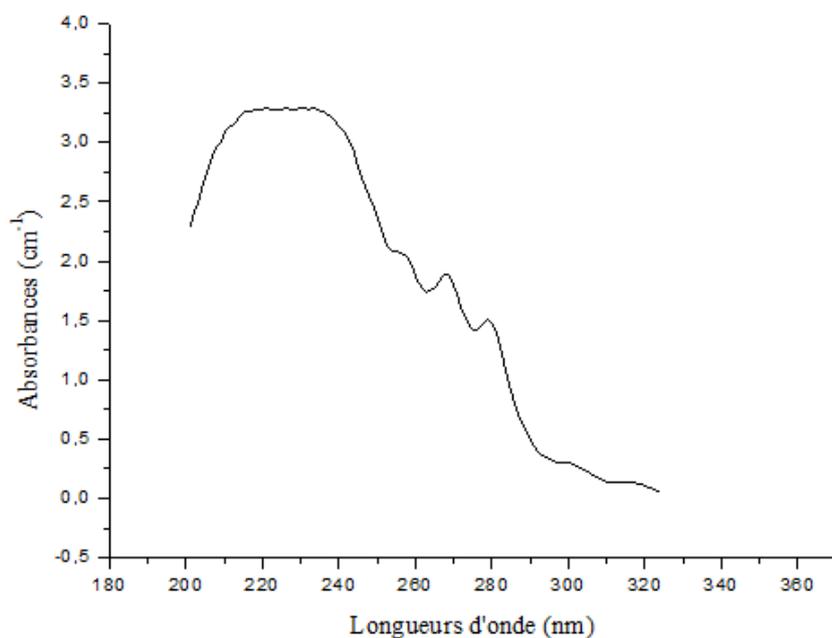
Tous les corps gras contiennent des époxydes et des hydroperoxydes en quantités plus ou moins importantes.

Les réactions d'isomérisation aboutissent à la formation de diènes et de triènes conjuguées qui absorbent la lumière dans le domaine UV entre 225 nm et 280 nm [84]. En effet, les diènes conjugués et les produits primaires d'oxydation des acides gras se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical alkyle des acides gras polyinsaturés, lorsqu'ils ont une structure diénique conjuguée tel que l'hydroperoxyde linoléique, absorbent la lumière au voisinage de 232 nm. Les triènes conjugués (dans le cas de la présence d'acides gras à trois doubles liaisons) et les produits secondaires d'oxydation tels que les aldéhydes et cétones  $\alpha$ -insaturés, absorbent la lumière vers 270 nm.

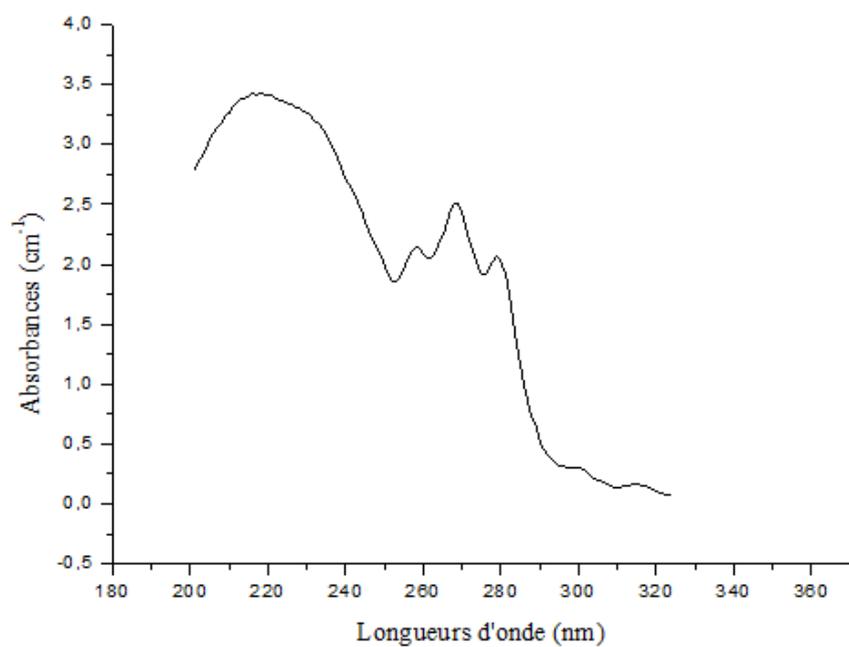
La détermination des absorbances au voisinage de 232 nm et au voisinage de 270 nm permet de détecter et d'évaluer les quantités des produits d'oxydation : plus l'extinction à  $\lambda=232$  nm est forte, plus elle est peroxydée. De même plus l'extinction à  $\lambda=270$ nm est forte, plus elle est riche en produits d'oxydation secondaire et traduit une faible aptitude à la conservation [85]. Le rapport R est d'autant plus faible que l'huile contient plus de produits secondaires d'oxydation. Les figures ainsi que le tableau ci-dessous nous montrent respectivement les allures des spectres UV des échantillons analysés ainsi que les valeurs des absorbances à 232, 264, 270, 274 nm ainsi que les rapports R et  $\Delta K$  des quatre échantillons d'huile analysés.



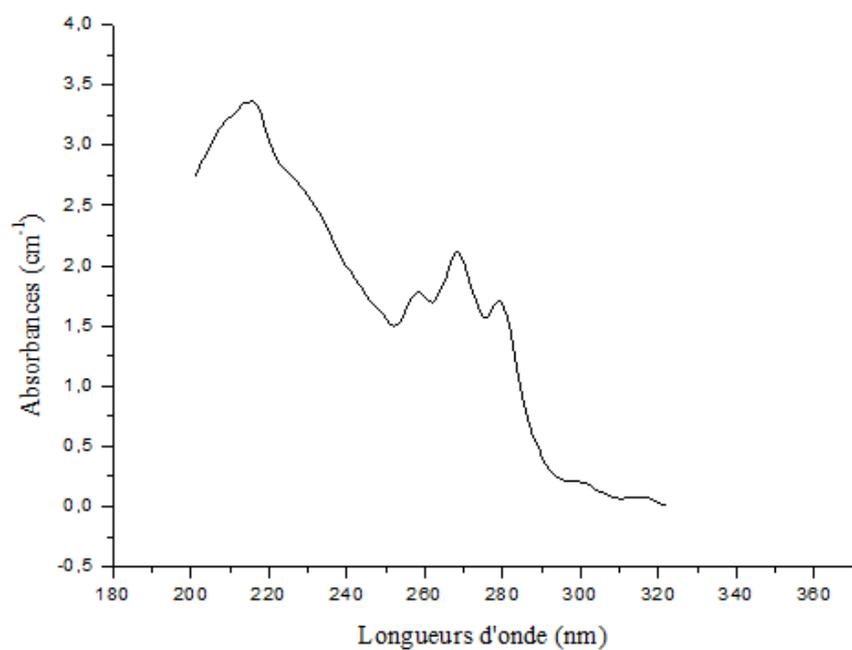
**Figure 5.3 :** Spectre UV de l'échantillon 1



**Figure 5.4:** Spectre UV de l'échantillon 2



**Figure 5.5** : Spectre UV de l'échantillon 3



**Figure 5.6** : Spectre UV de l'échantillon 4

**Tableau 5.2.** Valeurs des absorbances spécifiques ainsi que les rapports R et  $\Delta K$ .

Echantillon	$K_{232}$	$K_{266}$	$K_{270}$	$K_{274}$	R	$\Delta K$
1	2.982	1.996	2.027	1.672	1.4711	0.193
2	3.281	1.831	1.803	1.452	1.8197	0.1615
3	3.203	2.362	2.433	1.974	1.3164	0.265
4	2.491	1.975	2.038	1.614	1.2222	0.2435

On remarque que les absorbances à 232 nm sont comprises entre 2,491 et 3,281 et à 270 nm entre 1,803 et 2,433 et qui sont supérieures aux limites fixées par le COI (2003) [86] et qui sont  $K_{232} \leq 2,50$  et  $K_{270} \leq 0,22$ . L'oxydation des lipides croît avec l'augmentation de la concentration en composés résultant de la dégradation des hydroperoxydes, cela est confirmé par une augmentation des valeurs de l'absorbance à 270 nm [87]. Le rapport R doit être inférieur à 2 dans les corps gras raffinés et c'est le cas des quatre échantillons d'huile analysés car les valeurs de R oscillent entre 1,22 et 1,81.

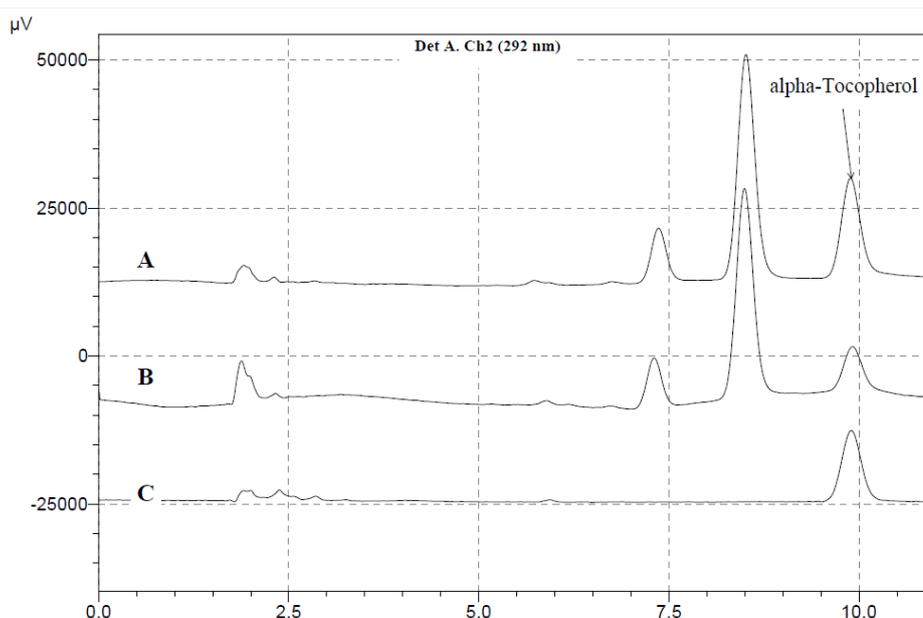
Les valeurs de  $\Delta K$  sont comprises entre 0,16 et 0,26 alors qu'elles doivent être nulles dans les huiles raffinées se traduit par la présence de triènes conjugués, ce qu'on a pu confirmer par la présence du pic secondaire à 280 nm dans les spectres UV des quatre échantillons.

Sachant que la stabilité des corps gras dépend en partie de leur conditionnement. L'imperméabilité à l'air et à la lumière ultraviolette de l'emballage assure une durée de conservation plus grande aux corps gras [88].

## 5.4. Analyse quantitative de l' $\alpha$ -tocophérol

L'identification est réalisée par HPLC, le principe est basé sur la comparaison de temps de rétention du pic de l'analyte dans l'échantillon d'huile avec le même échantillon dopé avec l'étalon pur [89].

Le chromatogramme ci-dessous présente l'identification du pic de l' $\alpha$ -tocophérol dans les échantillons d'huile.



**Figure 5.7.** Identification du pic de l' $\alpha$ -tocophérol

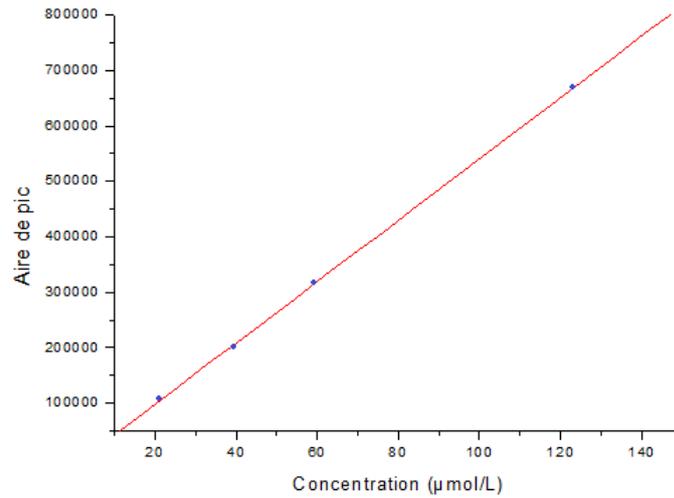
Sachant que le chromatogramme C est celui de l'étalon pur, B celui de l'échantillon pur et A celui de l'échantillon d'huile dopé avec l' $\alpha$ -tocophérol. On a remarqué qu'un pic du chromatogramme B apparaît au même temps de rétention que le pic de l'étalon pur et une fois l'échantillon dopé avec de l' $\alpha$ -tocophérol dans le chromatogramme A, on a observé une augmentation de l'aire de ce pic et de là on peut conclure que le pic est bien celui de l' $\alpha$ -tocophérol.

On a remarqué la présence de deux pics voisins de celui de l' $\alpha$ -tocophérol dans les échantillons d'huile, et d'après l'étude faite par Gliszczynska-Swiglo A. et Sikorska E. [81], on peut dire que le pic du milieu représente le ( $\beta + \gamma$ ) tocophérol et celui de la gauche représente la  $\delta$ -tocophérol.

Notre travail consiste à quantifier l' $\alpha$ -tocophérol dans les échantillons d'huiles végétales raffinées.

Les concentrations de l' $\alpha$ -tocophérol dans les échantillons ont été quantifiées par une droite d'étalonnage externe dont l'équation est :

$$y = 5662,298 x - 18048,833$$

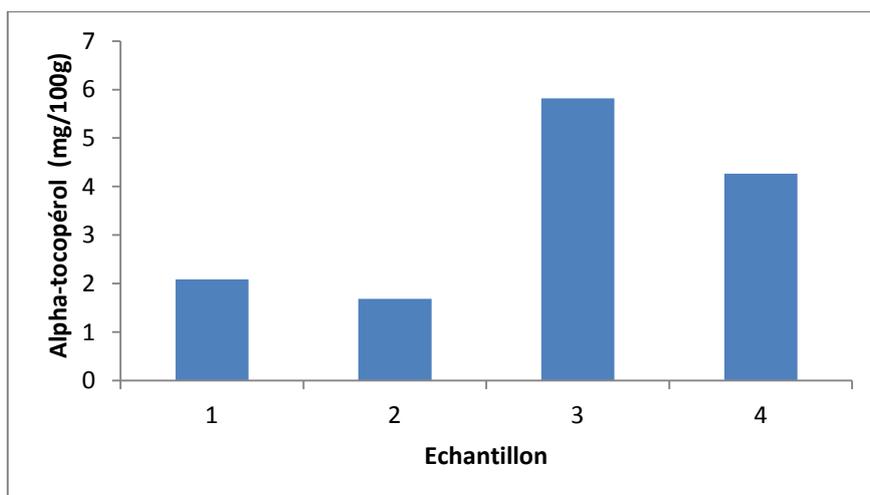


**Figure 5.8:** Courbe d'étalonnage externe

**Tableau 5.3.** Résultats de l'analyse RP-HPLC des échantillons d'huile.

Echantillon	Aire de pic	Concentration	
		µmol/L	mg /100g
1	234849	44.663	2.090
2	186013	36.038	1.687
3	685423	124.237	5.816
4	501487	91.753	4.268

La figure ci-dessous représente les teneurs en  $\alpha$ -tocophérol des échantillons d'huile analysés.



**Figure 5.9.** Teneurs en  $\alpha$ -tocophérol des échantillons analysés.

A partir des résultats obtenus, on a remarqué que les teneurs en  $\alpha$ -tocophérol varient entre 1.687 et 5.816 mg/100g. La teneur la plus importante est celle de l'échantillon d'huile de tournesol, suivie de l'huile d'argan qui représentent environs le doubles des concentrations des échantillons d'huile de soja ainsi que le mélange tournesol/ soja.

La concentration de l' $\alpha$ -tocophérol dans l'échantillon d'huile 2 qui est le soja est environs 3.5 fois plus petite que celle et l'échantillon d'huile 3 qui est le tournesol ce qui va parfaitement avec les résultats trouvés par Gliszczynska-Swiglo A. et Sikorska E. [81] lors de l'analyse des tocophérols dans les huiles végétales comestibles par RP-HPLC.

On a remarqué aussi que pour l'échantillon 1 qui est le mélange tournesol / soja, la teneur en  $\alpha$ -tocophérol est presque égale à celle du soja seul et trois fois plus petite que celle du tournesol seul ce qui peut être dû aux graines, ce qu'ont démontré Nolasko S. M. et all. [90] ,au procédé de fabrication [91], ainsi qu'au conditionnement sachant que les tocophérols sont dégradables à la lumière, ce qu'ont démontré Christina M. Sabliov et all.[92] lors de l'étude des effets de la température et de la lumière UV sur la dégradation de l' $\alpha$ -tocophérol,sachant que le flacon dans le quel l'huile est commercialisée est en plastique transparent.

La teneur en  $\alpha$ -tocophérol dans l'échantillon d'huile 4 qui est l'argan est proche des résultats trouvés par Drissi A. et all. [93], 35 mg/kg (3.5 mg/100g) et Matthauss B. et all. [94],  $30 \pm 3$  mg/kg ( $3 \pm 0.3$  mg/100g).

Une fois oxydé, l' $\alpha$ -tocophérol peut être régénéré par l'acide ascorbique et peut ralentir la formation des radicaux libres et des peroxydes [50].

# Conclusion générale

L'objectif de ce travail était d'étudier la capacité antioxydante de quelques huiles végétales comestibles disponibles sur le marché algérien.

L'analyse de l'acidité des huiles étudiées a montré que les valeurs sont proches et que les huiles répondent aux normes du CODEX Alimentarius.

Les valeurs de l'indice de peroxyde pour les échantillons d'huile, mélange soja/tournesol ainsi que l'huile de tournesol, sont dans les normes contrairement aux échantillons d'huile de soja et d'argan qui sont supérieures aux normes du CODEX Alimentarius, ce qui est dû à une détérioration oxydative c'est-à-dire la présence de composés peroxydés.

Les mesures spectrophotométriques dans l'UV-Visible ont montré que les valeurs des absorbances à 232 nm et 270 nm sont supérieures aux normes fixées par le Conseil Oléicole International, 2003 (COI) pour toutes les huiles, ce qui signifie qu'elles sont peroxydées et riches en produits d'oxydation secondaire.

Le rapport  $\Delta K$  devrait être nul pour les huiles raffinées or ce n'est pas le cas pour les quatre huiles, ce qui s'explique par la présence de triènes conjugués.

Les rapports R sont plus ou moins proches de la limite supérieure qui est égale à 2 pour les huiles raffinées, ce qui signifie la présence de produits secondaires d'oxydation mais qui restent tout de même dans les normes.

L'étude analytique qui nous a mené à déterminer la concentration de l' $\alpha$ -tocophérol dans nos échantillons semble être difficile en raison de la complexité de la matrice utilisée. Le traitement d'échantillon direct par l'isopropanol proposée par Gliszczynska-Swiglo A. et Sikorska E. a répondu à notre objectif.

Les résultats de l'étude ont démontré que la concentration en  $\alpha$ -tocophérol diffère d'une huile à une autre, la teneur la plus basse (valeur 1) correspond à l'huile de soja (Oléor) suivie par celle (Valeur 2) du mélange tournesol/soja (Elio). Les teneurs les plus élevées (Valeurs 3) sont celle de l'huile de tournesol et l'huile d'argan qui représentent le double des teneurs précédentes.

De là, on peut conclure que la concentration en  $\alpha$ -tocophérol est fonction de plusieurs facteurs tels que la nature de l'huile et son origine ainsi qu'aux méthodes d'extraction, de conditionnement et de stockage.

Ce travail nous ouvre de nouvelles perspectives comme l'étude de l'évolution de la qualité des huiles végétales comestibles au cours du stockage et au cours du chauffage puisqu'elles sont souvent utilisées pour des fritures, par l'emploi de différentes méthodes analytiques et spectroscopiques dans le but d'étudier leur effet sur la prévention sanitaire.

## Références bibliographiques

- [1] Dion M., « Matériaux de contactologie », Collège Edouard Montpetit : CCDMD, 554, 2010.
- [2] Henry S., « L'huile d'olive, son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique », *thèse de doctorat*, université Henri Poincaré - NANCY 1, faculté de pharmacie, 2003.
- [3] Bourbonnais G., « Molécules de la vie », cour. Cégep de Sainte-Foy, Canada.
- [4] Bouhadjra K., « Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge », *mémoire de magister*, université Tiziouzou, 2011.
- [5] V.01, Fiche d'information. Généralités corps gras, 2001.
- [6] Bouquelet S., « La matière grasse alimentaire », université des sciences et technologie – LILLE1, 2008.
- [7] Velasco J., Douberganes C., « Oxydative stability of virgin olive oil », *Eur.J.Lipidsc. Technol.* 104 661-676, 2002.
- [8] St. Angelo J.A.; « Lipid oxidation in foods », *Critical reviews in food, science and nutrition* 36 (3). 175-224, 1996.
- [9] Villière A., Genot C., « Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsion », John Libbey Eurotext, Volume 13, mars-juin 2006.
- [10] Judde A., « Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications ? » *oclvol.* 11 N° 6, novembre-décembre 2004.
- [11] Griffith T., Johnson J.A., « Relation of the browning reaction to storage of sugar cookies », *Cereal Chem.*, 34, 159-169, 1957.
- [12] Manzocco L., Calligaris S., Mastrocola D., Nicoli M.C., Lericci C.R., « Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods », *Trends Food Sci. Technol.*, 11, 340-346, 2001.

- [13] Nagao M., Takahashi Y., Yamanaka H., Sujimurat , «Mutagens in coffee and tea», *Mutat. Res.*,68, 101-106,1979.
- [14] Kaanane A., Labuza T.P., « The Maillard reaction in food», in : The Maillard reaction in aging, diabetes, and nutrition : proceedings of a NIH Conference on the Maillard reaction in Aging, Diabetes, and Nutrition, held in Bethesda, Maryland, September 22-23, 1988. A.R. Liss : New York, 301-327,1989.
- [15] Ledl F., Schleider E., « New aspects of the Maillard reaction in foods and in the human body». *Angew. Chem.*, 29, 565-594,1990.
- [16] Tressl R., Wondrack G.T., Garbe L.A., Kruger R.P., Rewicki D., «Pentoses and hexoses as sources of new melanoidin like Maillard polymers», *J. Agric. Food Chem.*, 46, 1765-1776, 1998.
- [17] Yaacoub R., « Impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux ,intérêt de la fluorescence comme outil de contrôle des composés néoformés », *Thèse de doctorat*; Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech), 2009.
- [18]- Wolff J.P., « Manuel d'analyse des corps gras », Azoulay éditeur, Paris,1968.
- [19]- Rialland, J.P., « Proposition d'amélioration du test accéléré d'oxydation. Application aux suifs de boeuf», *Rev.Fse Corps Gras* 1 : 37-42,1972.
- [20]- Debruyne I., «Soja: transformation et aspects industriels», *Techniques de l'ingénieur*, f6030,2001.
- [21]- Berk Z., « Technologie de production de farines alimentaires et de produits proéiques issus du soja », Rome, 1993.
- [22]- Glycine Max L., « L'extraction d'huile de soja»,Synthèse technique.
- [23]- Jolivet E. et all, «huiles alimentaires », Equipe :Neurobiologie des lipides, *Centre de recherche INRA ,Laboratoire de nutrition et sécurité alimentaire*,2004.

- [24]- AyerdiGotor A., « Étude des variations des teneurs et de la variabilité des compositions en tocophérols et en phytostérols dans les akènes et l'huile de tournesol (*Helianthus annuus* L.) », *Thèse de doctorat*, Institut national polytechnique de TOULOUSE, 2008.
- [25]- Bredvan M. I. V., Carelli A. A., Crapiste G. H., «Changes in composition and quality of sunflower oils during extraction and degumming», *Grasas Y Aceites* 51(6): 417-423, 2000.
- [26]- De Greyt W., Petrauskaite V., Kellens M. J., Huyghebaert A. D., «Analysis of tocopherols by gas-liquid and high-performance liquid chromatography : a comparative study», *Food/Lipid* 100: 503-507, 1998.
- [27]- Verleyen T., « Stability of minor components during vegetable oil refining. Applied biological sciences: chemistry », *University of Gent. Gant.* 277, 2002.
- [28]- Ferrari R. A., Schute E., Esteves W., Bruhl L., Mukherjee K. D., « Minor constituents of vegetable oils during industrial processing », *Journal of the American Oil Chemists Society* 73: 587-592, 1996.
- [29]- Fernandes P., Cabral J. M. S., « Phytosterols: Applications and recovery methods », *Bioresource Technology* 98(12): 2335-2350, 2007.
- [30]- Tasan M., Demirci M., «Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining», *European Food Research and Technology* 220(3-4): 251-254, 2005.
- [31]- Alpaslan M., Tepe S., Simsek O., «Effect of refining processes on the total and individual tocopherol content in sunflower oil». *International Journal of Food Science and Technology* 36(7): 737-739, 2001.
- [32]- Warner K., Neff W. E., Eller F. J., «Enhancing quality and oxidative stability of aged fried food with gamma-tocopherol». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(3): 623-627, 2003.
- [33]- AMSOL, PROLEA . "L'huile de tournesol», Février 2002.
- [34]- Charrouf Z., Guillaume D., « L'huile d'argan une production devenue adulte ». *Les technologies de laboratoire* N°6, Octobre 2007.

- [35]- Charrouf Z., «Valorisation de l'huile d'argane pour une gestion durable de l'arganeraie», *Université Mohamed V-Agdal, RABAT, MAROC*, 2003.
- [36]- Yildirim G., «Effect of storage time on olive oil quality», *Master of science In food ingeenering IZMIR, TURKEY*, 2009.
- [37]- Cinquanta L., Esti M., La Notte E., «Evoulation of pheolic compounds in virgin olive oil during storage», *Journal of American Oil Chemists' Society* 74:1259- 1264, 1997.
- [38]- Angerosa, F., D'alessandro N., Konstantinou P., Di Giacinto L., «GC-MS evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil», *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43:1802-1807, 1996.
- [40]- Ryan D., Robards K., «Phenolics compounds in olives». *Analyst* 123:41-44, 1998.
- [39]- Ryan D., Robards K., Lave S., «Changes in phenolic content of olive during maturation», *International Journal of Food Science and Technology* 34:265–274, 1999.
- [41]- Shimadzu, «Development & optimization of HPLC method»
- [42]- Bassez M.P. «Notions fondamentales de chromatographie », *Université de STRASBOURG* , <http://chemphys.u-strasbg.fr/mpb>.
- [43]- Restek «Colonnes HPLC», [www.restek.fr](http://www.restek.fr)
- [44]- Halliwell B., «How to characterize a biological antioxidant», *Free Radic. Res. Commun*, 9, 1-32, 1999.
- [45]- Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L., Wul M.J., «Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbonucifera* Gertn) », *Journal of food and Drug Analysis*: 11(1) : 60-66, 2003.
- [46]- Svoboda K.P., Hampson J.B., «Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidants, anti-inflammatory and other related pharmacological activities», *Plant biology department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, U.K.*, KA6 5HW, 1999.

- [47]- Mohammadi Z., « Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen », *Thèse de magistère, Université TLEMCEM*, Département de biologie, 2006.
- [48]- Sebei K., Boukhchina S., Kallel H., «Évolution des tocophérols en relation avec les acides gras insaturés au cours de la maturation des graines de colza de printemps (Brassic napus L.) », *C. R. Biologies* 330, 55–61, 2007.
- [49]- Gille L., Rosenau T., Koslov A.V., Gregor W., «Ubiquinone and tocopherol: Dissimilar siblings», *Biochemical Pharmacology* 76(3):289-302, 2008.
- [50]- Evans J. C., Kodali D. R., Addis P. B., «Optimal tocopherol concentrations to inhibit soybean oil oxidation», *Journal of the American Oil Chemists Society* 79(1): 47-51, 2002.
- [51]- Rock E., «stress oxydant, micronutriments et santé» ,INRA – CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments , 63122 st genèschampanelle.
- [52]- Morelle J., «Peroxydes lipidiques, radicaux libres, vieillissement et lipoprotéines : Parfums, Cosmétiques, Arômes», (79) : 71-78, 1988.
- [53]- Kim D.k., Lee C.Y., «Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free Radical and its Structural Relationship», *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.(44) : 253–273, 2004.
- [54]- Gordon M.H., «The mechanism of antioxidant in vitro», *Food antioxidants* : Ed. HUDSON B.J.F. pp: 1-18, 1990.
- [55]- Labuza TP., « Kinetics of lipid oxidation in foods», *CRC Critical Reviews Food Technology*, (2) : 355-405, 1971.
- [56]- Frankel E.N., « Lipid oxidation», Bridgewater : The Oily Press LTD, 2005.
- [57]- Alais C., Linden G., Midlo L., «Biochimie alimentaire», Ed : Dunod, 245 (5) : 51-71, 2003.
- [58]- Karleskind A., «Manuel des Corps Gras», Ed. Tech&Doc, Paris, Tome 1 et Tome

II,1579 p,1992.

[59]- Villière A. et Genot C., « Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsions», INRA-France, 152-159,2006.

[60]- Fazzalari F.A., «Odor and taste threshold values data», PHILADELPHIA :*American society for testing and materials*,1978.

[61]- Grosch W.,«Lipid degradation products and flavour», Morton ID, Macleod AD, eds. *Food flavours*. Amsterdam : Elsevier : 325-98,1982.

[62]- Lehucher-Michel M.P., Lesgards J.F., Delubac O., Stocker P., Durand P., Prost M., «Stress oxydant et pathologies humaines», *La Presse médicale*. (30) : 1076-108, 2001.

[63]- Kohen R. et Nyska A., «Oxidation of biological systems : oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification», *Toxicologic Pathology*. (30) : 620-650,2002.

[64]- Villière A., Genot C., « Interactions protéines-métaux et stabilité à l'oxydation d'émulsions stabilisées par des protéines. 16èmes rencontres Agoral», NANTES , PARIS : Tec. et Doc., Lavoisier, 32-39,2004.

[65]- Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnalley S., McAnalley B.,«Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé», *Glycoscience & Nutrition*, 4(6) : 7-14, 2003.

[66]- Dupin H., Cuq J.L., Maleviak M. I., Leynaud-Rouaud C., Berthier A.M., «Alimentation et nutrition humaine», Ed: ESF, Paris, 1515p,1992.

[67]- Neve J.,«Human selenium supplementation as assessed by changes in blood selenium concentration and glutathione peroxidase activity», *Trace Elements Med. Biol.* (9) : 65-73,1995.

- [68]- Hadi M., «La quercétine et ses dérivés : molécule à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques», *Thèse de Doctorat en Sciences*, Université Louis Pasteur Domaine : Pharmacochimie, 155p, 2004.
- [69]- Berger M.M., «Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances» *,Nutrition Clinique et Métabolisme (20) : 48-53, 2006.*
- [70]- Roberfroid M., «Aliments Fonctionnels», Ed : Lavoisier, PARIS, 475p, 2002.
- [71]- Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P., «Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments», *médecinesciences*, (20) : 458-463, 2004.
- [72]- Sanchez-Moreno C., «Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems», *International Journal of Food Science and Technology*. (8) : 121-137, 2002.
- [73]- Brasseur L., Yherond P., Legrand A., «Pouvoir antioxydant total du plasma», *Act. Pharm. Bid. Clin.* (8) : 239-244, 1995.
- [74]- Cao G.H., Alessio H.M., Cutler R.G., «Oxygen – radical absorbency capacity assay for antioxidants», *Free Radic. Biol. Med.* 14 : 303-311, 1993.
- [75]- Duthie G.G., Ganzalez B.M., Morrice P.C., Arthur J.R., *Free Rad. Res. Comms*, 15 : 35-40, 1991. Cite par Maamri S., «Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens». *Thèse de Magister en Biologie*, option : Biochimie et Microbiologie Appliquées. Université M'Hamed Bougara, BOUMERDES, 108 p, 2008.
- [76]- Blois E., «Déterminations antioxydantes par utilisation d'un radical libre stable», *Nature*, (181) : 1199-2000, 1958.
- [77]- Uchiyama M., Suzuki Y., Fukuzawa F., «Etude biochimique de la fonction physiologique du tocopheronolactone», *Yakugazu Zasshi* (88) : 678-683, 1968.
- [78]- Li C., Oldham C.D., May S.W.N., «N-Dimethyl-1,4- phenylenediamine as alternative reductant for peptidylglycine-amidating mono-oxygenase catalysis», *Biochem. J.*

(300) : 31-36, 1994.

[79]- Magin D.V., Lewin G., Popov I.N., Izmailov Yu D., Vladimirov Yu A., «Photochemiluminescence as a tool to determine the antioxidant activity in biological systems, Mathematic modeling», *Lavoisier*, 419p, 2000.

[80]- Cossut J., Defrenne B., Desmedt C., Ferroul S., Garnet S., Humbert S., Roelstraete L., VanexeemM.,Vidal D., «Les corps gras : Entre Tradition et Modernité. Projet en Gestion de la qualité Nutritionnelle et Marketing des produits alimentaires»,139p, 2002.

[81]- Gliszczyńska- Świąło A., Sikorska E., «Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils», *Journal of Chromatography A*, 1048 , 195–198,2004.

[82]- M'baye B. K., Alouemine S. O., Lô B. B., Bassene E., «Etude physico-chimique des huiles consommées en Mauritanie», *ScienceLib Editions Mersenne* : Volume 4 , N ° 120101 ISSN 2111-4706,2011.

[83]- Rossignol-Castera A.,CoustilleJ.,Mazette S.,Bouvarel I., «Etude de la composition et de la qualité des huiles acides industrielles en vue d'une meilleure connaissance de leur valeur nutritionnelle », *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole, St MALO*, 30 et 31 mars 2005.

[84]- Yadav M.K., Chudasama C.D., Jasra R.V., «Isomerisation of  $\alpha$ -pinene using modifiedmontmorilloniteclays», *J. Mol. Catal. A Chem.*, 216, 51-59,2004.

[85]-Wolff J.P. « Méthodes générales d'analyse ; dosage des produits d'oxydation», *Ed. Azoulay*, PARIS : 259-266, 1968.

[86]- Conseiloléicole international, 2003.

[87]- Mendez A. I., Falqué E., « Effect of storage time and container type on the quality of extra virgin olive oil», *Food control* 18 521-529,2007.

[88]- Multon JL., Guthmann J. F., «Analyse des constituants alimentaires», FRANCE: *Paris Tech& Doc-Lavoisier*, 1991.

[89]- Rosset R., Caude M., Jardy A., « Chromatographie en phase liquide et supercritique», *Masson*, PARIS, 1991.

[90]- Nolasco S. M., Aguirrezábal L. A. N., Crapiste G. H., «Tocopherol Oil Concentration in Field-Grown Sunflower Is Accounted for by Oil Weight per Seed», *JAOCS*, Vol. 81, N° 11, 2004

[91] – Tasan M., Demirci M., «Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining». *Eur Food Res Technol.* 220:251–254, 2005.

[92]- Sabliov M., Fronczek C., Astete C. E., Khachatryan M., Khachatryan L., Leonardi C., «Effects of Temperature and UV Light on Degradation of  $\alpha$ -Tocopherol in Free and Dissolved», *J. Am. Oil Chem. Soc.* 86:895–902, 2009.

[93]- Drissi A., Girona J., Cherki M., Godàs G., Derouiche A., El Messal M., Saile R., Kettani A., Solà R., Masana L., Adlouni A., «Clinical Nutrition» ,23, 1159–1166, 2004.

[94]- Matthäus B., Guillaume D., Gharby S., Haddad A., Harhar H., Charrouf Z., « Effect of processing on the quality of edible argan oil», *Food Chemistry* 120, 426–432, 2010.

## ملخص:

من خلال هذه المذكرة نعرض تحديد القدرة المضادة للأكسدة للزيوت النباتية من خلال قياس حموضتها و قيمة البيروكسيد و كذلك الإمتصاصية و معاملات الإنقراض. حددنا كذلك كمية الفيتامين (هـ) التي تم تحقيقها باستعمال تقنية الكروماتوغرافيا تحت الضغط العالي بمجس فوق بنفسجي و التي تتميز بالحقن المباشر للسائل المتحصل عليه بعد معالجة العينات ب  $C_3H_8O$  باستعمال الفيتامين (هـ) كمعيار خارجي. عملية الفصل تمت بواسطة مزيج ثابت التركيب ( $70\% CH_3OH, 30\% C_2H_3N$ ).  
**الكلمات المفتاحية:** مضادات الأكسدة, الكروماتوغرافيا, الزيوت النباتية, الفيتامين (هـ).

## Résumé :

Ce mémoire présente la détermination de la capacité antioxydante des huiles végétales par la mesure de l'acidité et l'indice de peroxyde, la détermination des absorbances et coefficients d'extinction spécifiques ainsi que le dosage de la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) qui est réalisé par chromatographie liquide haute performance à phase inverse « RP-HPLC » doté d'un détecteur UV , par l'injection directe de l'échantillon après traitement par le  $C_3H_8O$  en utilisant une phase mobile ( $70\% CH_3OH, 30\% C_2H_3N$ ) à débit constant.

**Mots clé :** Antioxydant, Chromatographie, Huile végétale, Vitamine E, Capacité antioxydante.

## Abstract :

This report presents the determination of the antioxidant capacity of vegetable oils by measuring acidity and peroxide value, the determination of absorbance and specific extinction coefficients and the determination of vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) is achieved by high performance liquid Chromatography by reversed phase "RP-HPLC" with a UV detector, by direct injection of the sample after treatment with  $C_3H_8O$  using a mobile phase ( $70\% CH_3OH, 30\% C_2H_3N$ ) constant rate.

**Keywords:** Antioxidant, Chromatography, vegetable oil, Vitamin E, antioxidant capacity