

REPUBLIQUE ALGERIEN DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABOU BAKKR BELKAID-TLEMCEN-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la
Terre et de l'Univers



Département de Biologie

Laboratoire des produits naturels

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de master en biologie

Option : Sciences des aliments

Thème

**Contribution à l'étude de l'optimisation de l'extraction
solide-liquide des lipides par Soxhlet du caroubier
(*Ceratonia siliqua*) de la région de Tlemcen**

Présenté par :

 Mlle Hamsi nouria

Soutenu le : 03/07/2013

Devant le jury :

Président	Mr Benammar.C	M.C.B	Université de Tlemcen
Promoteur	Mr Baghdad.C	M.C.B	Université Tlemcen
Examinatrice	Mme Bensalah.F	M.A.A	Université Tlemcen



Remerciements

*Ce travail a été réalisé au sein du **Laboratoire des Produits Naturels**, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers; Université A.B.B. de Tlemcen.*

*Je remercie **Mr. BEGHAD C.**, Maître de Conférences, Je tiens vivement à lui exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude pour sa disponibilité, sa patience, sa compréhension, ses qualités humaines et ses intérêts portés pour mon sujet de recherche.*

*J'exprime mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à **Mr. BENAMMAR CHAHID EL Houcine** Maître de conférences, d'avoir accepté d'assurer la présidence du jury de mon mémoire de master.*

*Mes vifs remerciements vont à **Mme Bensalah N.**, Maître de Conférences, pour avoir accepté d'examiner ce travail*

*Je tiens à remercier **Mr CHAABANE SARI D.**, professeur et les membres de son équipe, pour m'avoir permis de travailler au sein de son Laboratoire et d'utiliser tout le matériel dont j'avais besoin, en plus de ses précieux conseils.*



DEDICACES

Je dédie ce mémoire

A

MES TRÈS CHÈRES PARENTS

*EN Témoignage de l'amour, du respect et de la
Gratitude que je leur porte pour leur soutien et leur
Aide qu'ils m'ont apporté durant mes années
D'études. Jamais je ne les remercierai assez de
M'avoir donné le meilleur d'eux-mêmes.*

A mes chères sœurs

Lamia, Nassima, Meriem, FatimaZohra

*En témoignage de l'affection qui nous unit, je leur souhaite
La réussite dans la vie et Beaucoup de bonheur.*

A mes chers frères

*Hadj-Slimane et Sofiane, en témoignage de toute mon affection, je leur
souhaite un avenir rayonnant.*

Mes amis, en particulier :

Fatima Z, fatna, naziha pour leur soutien moral.

Nour

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
<u>PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</u>	
Chapitre I : Extraction solide-liquide	3
Chapitre II : Généralité sur les lipides.....	13
<u>DEUXIEME PARTIE: Matériel et Méthodes</u>	
1- Préparation du matériel biologique végétal	19
2- Généralité sur le caroubier	19
3- Méthodes d'analyses	27
3-1 Détermination de la matière sèche	27
3-2 Extraction de la matière grasse (Soxhlet).....	27
3-2-1 Historique	27
3-2-2 Description	29
3-2-3 Les avantages et les inconvénients de l'extraction par Soxhlet...30	
3-3 optimisations des paramètres d'extraction de la matière grasse.....	30
<u>TROISIEME PARTIE : RESULTATS ETDISCUSSION</u>	
1- Détermination de la matière sèche	32
2- Détermination de la teneur en matière grasse	32
DISCUSION	35
CONCLUSION	37
REFERNECES BIBLIOGRAPHIQUES	38

Liste des abréviations

%: Pourcentage

°C: Degré Celsius

Cm : centimètre

g: Gramme

H : heure

Kg : kilogramme

Km : Kilomètre.

m: Mètre

mg: Milligramme

mm: Millimètre

MS : Matière sèche

V : Volume

introduction général

Historiquement, l'extraction solide-liquide est une opération très ancienne. L'homme a toujours cherché à exploiter les ressources naturelles dont il dispose. Cette opération était utilisée dans la préparation de produits alimentaires, pharmaceutiques, drogues, teintures ou parfums où elle prend des dénominations différentes. De la percolation à l'infusion en passant par la macération ou la concoction, chaque terme évoque une mise en œuvre domestique d'un procédé d'extraction solide-liquide, dont le solvant est généralement de l'eau ou de l'alcool. La simplicité de ces procédés, les outils, les matériaux ou encore les modes de chauffe d'alors faisaient que l'extraction relevait davantage du savoir-faire artisanal que de la science. Aujourd'hui encore et malgré l'utilisation d'automates précis et de matériaux adaptés, malgré les avancées en génie des procédés, en phytochimie et en analytique ou encore les nouvelles technologies d'activation telles que hautes pressions, micro-ondes, ultrasons, etc., la mise en œuvre de l'extraction végétale reste une juste association entre la maîtrise de ces paramètres et la tradition.

L'évolution des techniques est motivée par l'optimisation des conditions d'échange entre phases tout en cherchant à minimiser la consommation de solvant. De ce fait, on pense aux procédés continus fondés sur une circulation à contre-courant des phases à mettre en contact. La conception et le dimensionnement des installations sont des étapes indispensables à l'évaluation de la faisabilité d'un procédé de production. Pour une bonne extraction, il ne suffit pas de prendre en considération la solubilité du soluté désiré ou non désiré. L'extraction solide-liquide à partir de la matrice végétale est une opération unitaire complexe en raison de la nature même du substrat. Les résistances au transfert de matière dues à la structure végétale et la localisation des composés recherchés peuvent être déterminantes.

Le présent travail consiste à l'étude d'optimisation et amélioration de la technique d'extraction solide-liquide (Soxhlet) du caroubier de la région de Tlemcen.

Pour cela, nous avons réalisé ce travail en deux grandes parties :

La première partie comprend une synthèse bibliographique contenant deux chapitres :

- Chapitre 1 : ont traité l'opération d'extraction, ses différents modes et paramètres et les différents prétraitements qui la précèdent.
- Chapitre 2 : généralités sur les lipides.

La seconde partie fait l'objet d'une étude expérimentale, qui consiste à :

Présentation de notre matériel végétal, généralité sur la caroubier, la détermination de la matière sèche, optimisation des paramètres d'extraction de la matière grasse (Soxhlet).
En dernier lieu, nous tirons les conclusions des résultats donnés de notre travail.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : *Extraction solide-liquide*

I.1 Introduction :

Historiquement, l'extraction solide-liquide appelée aussi l'extraction par solvant est l'une des opérations unitaires les plus anciennes. Accomplie couramment à la maison où elle s'apparente directement à la réalisation du café quotidien, elle est aussi très employée en industrie particulièrement en hydrométallurgie (dissolution sélective de minerais ou lixiviation) et dans l'industrie agroalimentaire et des cosmétiques (sucre de betteraves, huiles, essence naturelles.....).

L'évolution des techniques est motivée par la diversité des matières premières et par l'optimisation des conditions d'échange entre phases tout en cherchant à minimiser la consommation de solvant. C'est au cours du 18ème siècle que commence l'utilisation de solvant organique pour l'extraction des matières naturelles.

Le premier brevet utilisant le solvant organique pour extraire la graisse à partir d'arêtes, d'os et de bois a été réalisé par **E. Deisse en 1855**. Une année plus tard, il développa une méthode pour l'extraction des huiles de graines. Depuis cette date, l'extraction par solvant a été mise en œuvre comme procédé industriel dans la récupération de l'huile de nombreuses graines lorsque l'opération mécanique s'avère peu commode (soja, maïs.....) ou pour récupérer davantage d'huile dans des tourteaux appauvris (grignon d'olive.....).

I-2 Principe :

Dans les processus d'extraction et de séparation de molécules spécifiques (molécules actives) présentes dans un milieu solide, l'opération fait souvent appel, d'un point de vue technologique, à la diffusion au sein du solide d'un fluide (liquide) porteur, dit solvant d'extraction ; l'extraction se présente ainsi comme une interaction solide – liquide.

Cependant, le solvant, capable de « mettre en solution » un ou plusieurs composants solides, cristallisés ou liquides, dénommé soluté (**Mafart and Béliard ,1993**), génère une solution ou un extrait (solvant+soluté). Le transfert de ces molécules actives recherchées, vers le milieu extérieur a lieu grâce à une diffusion ayant pour élément moteur le gradient de concentration en soluté entre la solution au voisinage intime de la phase solide (plus concentrée) et la phase liquide. A la fin de l'opération, le système tend vers l'équilibre et la diffusion est quasi nulle. Par contre si la phase liquide est continuellement renouvelée, la diffusion se poursuit jusqu'à épuisement de la phase solide (**Dibert ,1989**).

A la fin de l'opération, le solide épuisé, appelé résidu, inerte ou insoluble, contient très peu ou pas de soluté. En règle générale, c'est la solution qui constitue la phase noble, mais il se peut que ça soit le résidu solide insoluble qui présente la vraie valeur économique (**Bimbenet, Duquenoy et al., 1993**).

L'extraction est une opération ancienne utilisée pour retirer des plantes et de certains organes d'animaux, des produits alimentaires, pharmaceutiques ou odoriférants, sous formes de breuvages, drogues ou parfums. Les solvants utilisés dans ces procédés de séparation des produits végétaux sont généralement l'eau, les alcools, les solvants organiques et/ou chlorés, etc.....

Les opérations d'extraction solide-liquide regroupent plusieurs méthodes différentes consistant toutes à faire interagir le solvant sur le matériau solide afin de dissoudre ses composants solubles :

La percolation : consiste à laisser couler un solvant (généralement très chaud) sur un lit de solides finement divisés. La préparation du café relève de cette opération. (**Leybros and Frémeaux ,1990**).

La décoction : est l'opération dans laquelle le solide est plongé dans le solvant liquide mis en ébullition. Il s'agit d'une opération brutale qui doit être réservée à l'extraction de principes actifs non thermolabiles. Elle est cependant très rapide et parfois indispensable (**Leybros and Frémeaux, 1990**).

L'infusion : est une décoction durant laquelle le solvant est chauffé sans être mis en ébullition, suivie du refroidissement du mélange. La préparation du thé est l'exemple type de cette opération (**Groubert et al., 1984**).

La macération : est une infusion dans un solvant à froid. L'opération bien que généralement longue et à rendement souvent médiocre, est la seule méthode utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles. Pour être efficace, une macération, peut durer de 4 à 10 jours environ ; ceci peut présenter quelques inconvénients, en termes de fermentation, ou de contamination bactérienne notamment si le solvant utilisé est l'eau. Ces phénomènes peuvent entraîner une dégradation rapide des molécules actives. En vue d'éviter ou de réduire ces inconvénients, la macération peut être opérée dans un récipient couvert, le tout à l'abri de la lumière et, dans certains cas, maintenue dans un réfrigérateur (**Groubert et al., 1984**).

La digestion : est une macération à chaud. Cette opération et la macération sont utilisées particulièrement en pharmacie et en parfumerie. Il s'agit là d'une opération plus rapide que la précédente, ne posant généralement aucun problème de conservation ni de contamination bactérienne (**Groubert et al., 1984**).

L'éluion : consiste à enlever un soluté fixé à la surface d'un solide par simple contact avec un solvant. Elle est fréquemment utilisée dans les méthodes d'analyse (**Leybros and Frémeaux ,1990**).

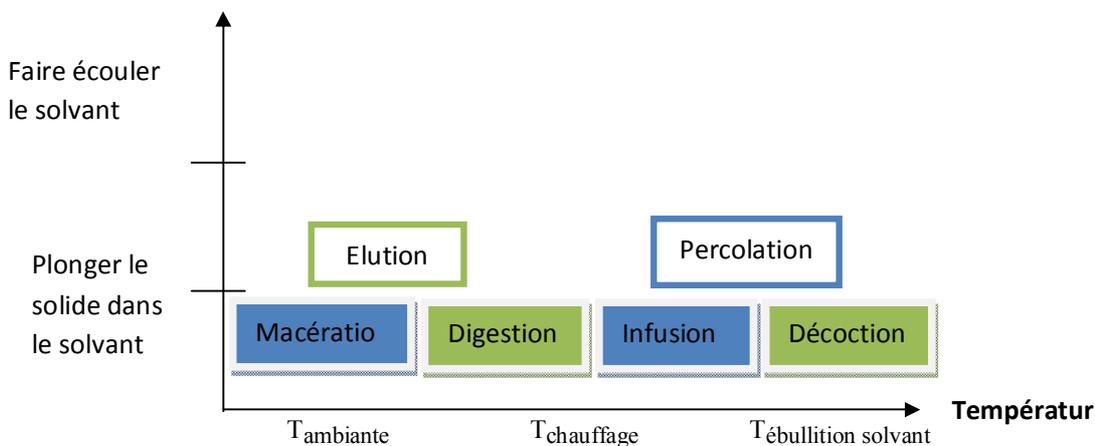


Figure 1: Schéma des différents modes d'extraction en fonction de la température et du contact avec le solvant (**Groubert et al.,1984**)

I-3. Mécanisme de l'extraction :

L'extraction solide/liquide est réalisée par contact intime entre le solide et le solvant. Au cours de l'extraction, la concentration du soluté dans le solide varie sans interruption, ce qui explique un état non stationnaire de transfert de matière. Une série de processus successifs a lieu traduisant l'interaction entre le solide contenant initialement le soluté, et le solvant effectuant la séparation ; ces processus concernent :

1. la diffusion du solvant au sein de la matrice solide.
2. la dissolution du soluté dans le solvant.
3. la diffusion du soluté dissous dans le solvant de la matrice solide vers la surface.
4. le transfert par convection ou diffusion du soluté contenu dans la solution près du solide vers la masse restante du solvant.

L'extraction, souvent étudiée au plan phénoménologique comme une opération unifiée, peut être analysée en termes de cinétique et de rendement total. La cinétique est généralement exprimée en termes de concentration du soluté dans le solide par unité de temps (dx/dt). La nature séquentielle de ces quatre processus fait que l'opération globale d'extraction se déroule à la vitesse du processus le plus lent, qualifiée alors du processus limitant du procédé.

Dans le cas de la plupart des végétaux, c'est l'étape du transfert du solvant à travers la matrice solide qui constitue l'étape limitante. En effet, la microstructure naturelle des végétaux génère une mauvaise aptitude quant à la diffusion interne des liquides. Une relation étroite existe alors entre la vitesse d'extraction et la structure de la matière. Pour mieux analyser cet aspect, il faudrait commencer par aborder les notions théoriques du transfert de masse.

I-4. Facteurs influençant les performances de l'extraction :

- ***Taille des particules :***

Tous les auteurs s'accordent sur l'effet généralement positif du broyage sur les opérations d'extraction. Le broyage du solide permet d'intensifier les phénomènes de transfert du solvant à travers l'augmentation de la surface spécifique (surface d'échange entre le solvant et le solide) mais également la réduction de la distance de pénétration dans le matériel.

Nous pouvons ainsi citer à titre d'exemples que de plus grands rendements d'extraction de composés phénoliques et d'anthocyanes ont été observés avec la diminution de la taille des particules de tourmesol (**Gao and Mazza, 1996**) ; ou des résidus de pression de jus de cassis (**Landbo and Meyer, 2001**).

On est cependant limité dans la finesse des particules : la présence de fines induit une exagération dans ce sens et implique une réduction notable de la perméabilité du lit de solides au solvant, ce qui entraîne l'établissement de courants préférentiels bloquant ainsi le processus d'extraction dans certains endroits où le solvant ne peut plus circuler (**Dibert et al., 1989**).

- ***La nature du solvant :***

Un solvant est, par définition, une substance qui a le pouvoir de former avec d'autres substances une solution homogène (Gerin 2002). Un solvant d'extraction est choisi en fonction de :

- Ses propriétés physiques : densité, viscosité, point d'ébullition, chaleur spécifique, etc. déterminant les conditions de l'épuisement, vitesse d'écoulement et de filtration, conditions de distillation et de concentration, pertes par volatilisation, etc.... (**Vigeneron, 1954**).
- La nature des principes à dissoudre.
- Ses caractéristiques économiques et son prix de revient.

Le solvant doit être sélectif, posséder une grande capacité de dissolution, une température d'ébullition peu élevée, une faible viscosité et être, si possible, non toxique, ininflammable, et non explosif.

• ***Pouvoir de solubilisation :***

Le pouvoir de solubilisation d'un solvant est rattaché à ses caractéristiques moléculaires, définissant notamment sa polarité et son hydrophilie, utilisées en tant qu'indicateurs de l'affinité chimique. Les caractéristiques de polarité et d'hydrophilie sont notamment révélées par :

- La présence de groupes fonctionnels dissociant.
- Le potentiel de liaison hydrogène et la faculté de mise en commun d'électrons.

• ***Le pouvoir extractant :***

L'estimation de l'efficacité d'un solvant ne peut être réduite aux seules propriétés chimiques de polarité et d'affinité vis à vis de l'eau. Nous devons également tenir compte des propriétés physiques déterminant la capacité du solvant à pénétrer dans une matrice poreuse ; nous parlons alors du pouvoir extractant qui est défini par la capacité du solvant à pénétrer et à diffuser dans la structure végétale de telle sorte qu'il rencontre et entraîne les molécules cibles.

• ***La capacité de pénétration :***

Plus la tension superficielle d'un liquide dans lequel on immerge un solide poreux tel qu'un substrat végétal est faible, mieux est assuré le mouillage des pores, et ce, d'autant plus que ces pores sont de petite dimension ; c'est ainsi qu'est assurée une efficacité dans la pénétration du liquide, notamment dans le cas d'une matière à organisation cellulaire. Plus la viscosité est faible, mieux le liquide s'écoule dans les pores et mieux il circule dans les espaces intercellulaires (**Perineau et al., 1989**).

• *La capacité de diffusion :*

Le choix d'un solvant à faible viscosité et à masse volumique peu élevée est recommandé pour accélérer sa diffusion, faciliter son agitation et améliorer la séparation mécanique (**Dibert et al.,1989**).

Pour de nombreuses raisons évidentes, l'eau est le solvant le plus utilisé en Industrie Agroalimentaire. Elle est le solvant le plus universel puisqu'elle convient à l'extraction des sucres, de matières azotées et à celle des sels minéraux (**Bimbenet, Duquenoy et al., 1993**).

Les autres principaux solvants utilisés sont les alcools (méthanol, éthanol), les hydrocarbures (hexane) et les solvants halogénés. Les solvants chlorés qui sont moins sélectifs que les hydrocarbures, ont des diffusivités plus élevées (**Vignerou, 1954**).

Tableau 1 : les caractéristiques de quelques solvants parmi les plus usuels.

	<i>Masse volumique (kg/m³)</i>	<i>solubilité à 15°C dans 100 cm³ d'eau</i>	<i>Polarité (moment dipolaire *10¹⁸)</i>	<i>Tension superficielle mN/m</i>	<i>Point d'ébullition (°C)</i>	<i>Chaleur spécifique (kcal/kg/°C)</i>
non ou peu polaires, utilisés pour l'extraction de molécules non ou peu polaires (huiles, essences, stéroïdes)						
Heptane	679	0.005	0		98	0.507
Hexane	655	0.014	0	18.4	69	0.527
Toluène	862	0.047	0	28.4	110	0.364

Benzène	873	0.073				
Sulfure de carbone	1 260	0.218		33	46.2	
Doués d'une faible polarité						
Chloroforme	1 479	0.621	1.05	27.3	61	0.232
Ether	707	7.42	1.14	17	34	0.521
Acétate d'éthyle	894	8.4	1.86	24.3	77	0.457
Doués d'une forte polarité, pouvant être modifiée par mélanges						
Méthylal	853				42.3	0.521
Acétone	788		2.8	23.7	56	0.514
Alcool méthylique	796		1.68	22.6	64.5	0.59
Eau	1000	-	1,8	71	100	1

Les solvants organiques de polarité faible ou nulle dissolvent les principes dont la structure comporte surtout des chaînes ou groupements hydrophobes : lipides, stérols, terpènes, huiles essentielles. Certains sont ininflammables (chloroforme). La plupart sont inflammables : éther, benzène et produits de rectification du pétrole éther de pétrole, hexane, heptane.

Les solvants polaires tels que l'acétone, l'eau dissolvent les principes riches en groupements hydrophiles : sucres, acides et alcools de faible poids moléculaire, nitrites etc. Certains solvants par mélange avec des proportions variables d'eau agissent comme des agents

tantôt hydrophobes (éthanol absolu, éthanol à 95°) tantôt hydrophiles (éthanol à bas degré) (**Vignerot, 1954**).

- ***La température :***

Il est difficile de cerner de façon simple l'influence de la température sur l'extraction.

Dans la plupart des cas, les gammes élevées de température sont favorables au rendement d'extraction et ceci pour quatre principales raisons :

- La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les parois cellulaires par dénaturation.
- La gamme des hautes températures usuelles, augmente la solubilité des matières à extraire.
- Enfin, elle diminue la viscosité des solvants d'extraction, ce qui facilite non seulement le passage du solvant à travers la masse de substrat solide, mais aussi les opérations ultérieures de séparation.

La limite supérieure de la température est imposée par le point d'ébullition du solvant, par les risques de :

- Dégradation thermique du soluté.
- Risques d'extraire des composés nuisibles (**Leybros and Frémeaux , 1990**).

- ***Temps d'extraction :***

Les quantités de substances extraites sont fonction du temps de séjour du matériel au sein du solvant (temps nécessaire à la pénétration du solvant à l'intérieur des vacuoles, dissolution du composé etc...).

Généralement, une élévation de la température traduisant l'agitation moléculaire permet de diminuer les temps de contact et ce, sans diminution notable du rendement.

A titre indicatif, une méthode comme la macération dure environ 8 à 10 jours, par contre des méthodes comme la décoction ne nécessitent que des temps de contact rapides de l'ordre d'une dizaine de minutes (**Groubert, 1984**).

- **Degré d'agitation :**

L'agitation mécanique des particules dans le solvant, qui permet leur maintien en suspension et l'homogénéisation du milieu, a un effet toujours favorable sur l'opération.

Dans le cas de l'extraction aqueuse, l'agitation permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide liquide (couche limite) et d'augmenter le coefficient de transfert.

Si l'agitation est maintenue durant une longue période, elle va favoriser les chocs entre les différentes particules et permettre ainsi l'éclatement de certaines cellules qui vont libérer leur contenu cellulaire dans le milieu (**Dibert et al., 1989**).

I-5 Les différentes méthodes d'extraction:

I-5-1 Extraction par la méthode Folch :

Pour la méthode de Folch est basée sur le mélange du méthanol et du chloroforme. (**Folch et al., 1957**).

a) Les Avantages de la méthode Folch : C'est une méthode standard et bien établie à déterminer lipides totaux.

b) Les inconvénients :- Les effets néfastes du chloroforme sur l'environnement.

I-5-2 Extraction assistée par micro-ondes :

Les micro-ondes peuvent pénétrer les matières biologiques et agir sur les molécules polaires telles que l'eau pour leur communiquer un mouvement de fluctuation ce qui se traduit donc par une augmentation de la température de la matière en question à la profondeur de pénétration.

L'extraction assistée par Micro-ondes (EAM) offre un transfert rapide d'énergie et un chauffage simultané de l'ensemble « solvant et matrice végétale solide ». En absorbant l'énergie des micro-ondes, l'eau présente dans la matrice végétale favorise la rupture des cellules facilitant ainsi la libération des produits chimiques de la matrice et améliorant leur extraction (**Kaufmann, Christen et al., 2001**).

I-5-2 Extraction assistée par ultrason :

Au-delà de 20 kHz, les ondes sonores génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. À la différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent propager dans une matière et elles impliquent des cycles d'expansion et de compression lors de la propagation dans le milieu. L'expansion peut créer des bulles qui se forment, se développent et s'effondrent dans un liquide. Près d'une surface solide, l'effondrement de cavité est asymétrique et produit un jet de liquide à grande vitesse. Le jet liquide a un fort impact sur la surface solide **(Luque-Garcia and Luque de Castro,2003)**.

Il existe deux conceptions générales des extracteurs assistés par ultrason: les bains ultrasoniques ou les extracteurs fermés équipés d'un capteur ultrasonique. Les effets mécaniques des ultrasons induisent une plus grande pénétration du solvant dans les matériaux cellulaires et améliorent le transfert de masse. Les ultrasons dans l'extraction peuvent également perturber les parois cellulaires, facilitant la libération de leur contenu. Par conséquent, l'efficacité de rupture des cellules et du transfert de masse sont cités en tant que deux facteurs principaux menant aux bonnes performances de l'extraction avec la puissance ultrasonique **(Mason, Paniwnyk et al., 1996)**.

I-5-3 Extraction par Soxhlet : (voir matériel et méthodes)

Chapitre II : Généralité sur les lipides

II-1-Définition :

Les corps gras désignés aussi sous le nom de lipides font partie d'un ensemble complexe de Composés organiques. Les lipides sont caractérisées par leur insolubilité dans l'eau et leur solubilité dans les solvants organiques tels que l'hexane, l'éther éthylique, chloroforme,...

Les graisses (solides) et les huiles (liquides) sont les principales formes de stockage énergétique de nombreux organismes ; ces lipides ont un intérêt alimentaire certain en raison de leurs rôles :

-Réserve d'énergie : stockés sous forme de triglycérides dans les tissus adipeux, les lipides constituent ainsi une réserve énergétique mobilisable (1 g de lipide donne environ 9,3 Kcal).

-Un rôle structural : les acides gras servent à la synthèse d'autres lipides, notamment les phospholipides qui forment les membranes autour des cellules et des organelles. La composition en acides gras de ces phospholipides donne aux membranes des propriétés physiques particulières (élasticité, viscosité).

-Un rôle de messenger : les acides gras sont les précurseurs de plusieurs messagers intra et extracellulaires. Par exemple, l'acide arachidonique est le précurseur des eïcosanoïdes, hormones intervenant dans l'inflammation, la coagulation sanguine, etc.

-Un rôle de transport de vitamines : les corps gras alimentaires véhiculent quatre vitamines liposolubles : A, D, E et K. (DJADOUN S, 2012)

II-2- Composition des corps gras :

Les corps gras, qu'ils soient d'origine animale ou végétale, correspondent à la partie « graisses neutres » de la fraction lipidique totale. Du point de vue chimique, les corps gras sont constitués de carbone, d'oxygène et d'hydrogène. Ils appartiennent à la catégorie des esters, combinaison d'un trialcool (le glycérol) et d'acides organiques particuliers (les acides gras). Ils ont pour constituants majeurs les triglycérides et pour constituants mineurs les phospholipides, les

cérides et les composants de l'insaponifiables. (DJADOUN S, 2012)

II-2-1-Constituants majeurs :

Les constituants majeurs des corps gras sont les triglycérides

a)Triglycérides

Les triglycérides sont les constituants les plus abondants des lipides simples et constituant la masse essentielle des corps gras. Ils résultent de l'estérification des trois fonctions alcools du glycérol par trois acides gras (figure2). Ils peuvent être homogènes lorsque les molécules d'acides gras qui estérifient le glycérol sont identiques et hétérogènes ou mixte dans le cas contraire. . (DJADOUN S, 2012)

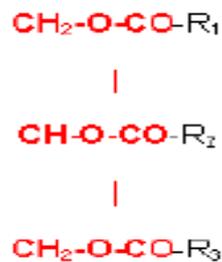


Figure 2 : *Représentation schématique d'un triglycéride*

b) Acides gras :

Ce sont des acides carboxyliques portant des chaînes carbonées. Ils sont rarement à l'état libre dans la nature et ils se trouvent essentiellement sous forme estérifiés. Ce sont des composants pondéralement majoritaires des triglycérides. Ils représentent 90 à 96 % de la masse molaire des lipides totaux (Maudat M, 1992). En règle générale, ces acides gras sont mono carboxyliques à chaîne linéaire non ramifiée comprenant un nombre paire d'atomes de carbone compris entre 4 et 24. Ils peuvent être saturés ou insaturés. .

b-1) Acides gras saturés :

Ils ont pour formule générale $\text{CH}_3\text{---}(\text{CH}_2)_n\text{---COOH}$, sont solides à température ambiante. Les plus rencontrés sont l'acide palmitique ($\text{C}_{16} : 0$) et l'acide stéarique ($\text{C}_{18} : 0$).

b-2) Acides gras insaturés :

Ils sont fluides à température ambiante, on a deux catégories :

* Acides gras mono insaturés : deux atomes de carbone consécutifs de la molécule sont unis par une double liaison exemple : l'acide oléique (C₁₈:1).

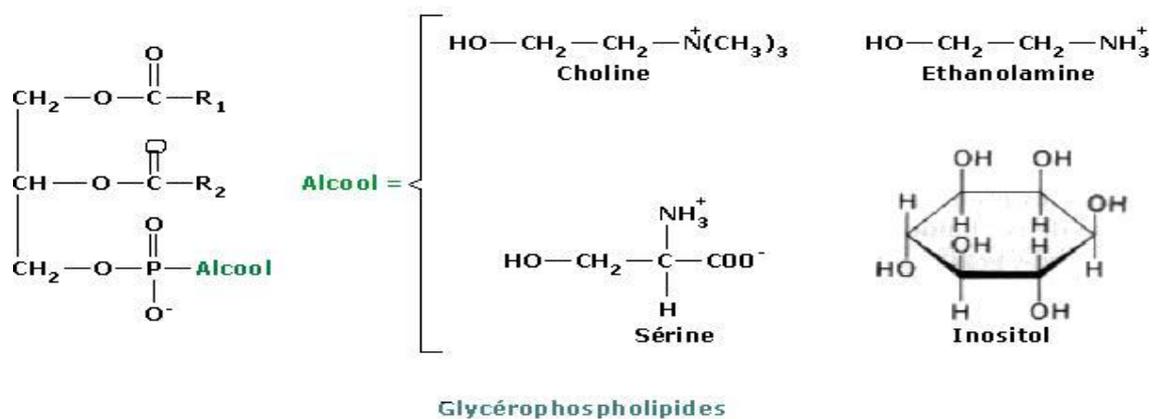
* Acides gras polyinsaturés : plusieurs atomes de carbone consécutifs de la molécule sont unis par des doubles liaisons exemple : l'acide linoléique (C₁₈:2) ; l'acide linoléique (C₁₈:3) .

II-2-2 Constituants mineurs :

En plus des triglycérides qui sont les constituants majoritaires, les corps gras contiennent des constituants mineurs dont la teneur est très faible et dont l'intérêt n'est pas moindre. On peut citer les phospholipides, les cérides, les substances insaponifiables. . (DJADOUN S, 2012)

A) Les phospholipides :

Ce sont des diesters d'acides gras et de glycérol dont la troisième fonction alcoolique est liée à un acide phosphorique qui lui même peut être associé à une base alcoolique azotée ou un acide



aminé (figure3). Ce sont les constituants principaux des membranes biologiques Parmi les phospholipides nous distinguons: phosphatidylaminoalcool, Phosphatidylpolyols.

Figure 3: les constituants des phospholipides

b)Cérides :

On désigne par ce nom général des esters d'acides gras et de mono ou dialcools de masse moléculaire suffisamment élevée pour que ces alcools soient insolubles dans l'eau.

(Abraham and RIAS, 2006) Parmi les cérides, on a :

b-1) Les cires :

ce sont des esters d'acides gras et de mono alcools aliphatiques. Les cires sont présents aussi bien dans les lipides animaux que dans les lipides végétaux. Chez les végétaux, les cires contribuent à la formation des pellicules protectrices des graines et des fruits.

b-2) Les stérides :

Ce sont des esters d'acides gras et de stérols. Les stérols sont des alcools tetracycliques rattachés au groupe des stéroïdes. Les esters de cholestérol sont les seuls stérides des tissus animaux dans lesquels ils sont très réponsus, tandis que dans les tissus végétaux renferment des esters de nombreuses stérols différents.

c) Les substances insaponifiables :

La fraction insaponifiable d'un corps gras donné comprend l'ensemble de ses constituants, qui après hydrolyse basique (saponification), sont très peu soluble dans l'eau et soluble dans les solvants organiques (hexane, heptane, éther de pétrole, chloroforme...).

La proportion de ces composées dans un corps gras dépend de son origine, des traitements qu'il a subis ainsi que la nature du solvant de l'extraction (Soulie et al., 1992). Cette fraction représente 0,2 à 2 % des lipides totaux du corps gras (Schwartz P, 1992). Les principaux constituants de l'insaponifiable sont: les hydrocarbures divers : des composés terpéniques : des alcools triterpéniques et stérols, alcools gras, les vitamines liposolubles (A, D, E), Les composés phénoliques.

II-3-Définition d'oxydation :

Les principaux facteurs déterminant la durée de vie des lipides sont les réactions d'oxydation.

Les substrats de ces réactions sont principalement les acides gras insaturés. Ils s'oxydent en général plus vite lorsqu'ils sont libres et insaturés. Les acides gras saturés ne s'oxydent qu'à une température supérieure à 60°C, tandis que les acides polyinsaturés s'oxydent même lors de l'entreposage des aliments à l'état congelé.

Les principaux problèmes posés par l'oxydation des lipides résident dans la dégradation des propriétés organoleptiques (formation de composés volatils d'odeur désagréable : rancissement) et nutritionnelles (par interaction des produits d'oxydation avec les acides aminés de l'aliment).

L'oxydation des lipides conduit également à la formation des peroxydes qui sont des molécules cancérogènes. (DJADOUN S, 2012)

II-4-Facteurs influençant l'oxydation des lipides :

Les principaux facteurs impliqués dans l'oxydation des lipides au cours des procédés de transformation et de conservation des aliments sont: (DJADOUN S, 2012) la température, la lumière et la pression partielle en oxygène, et les traces métalliques.

II-4-1 Température :

Une élévation de température favorise l'oxydation des lipides. Ainsi, les opérations de cuisson sont bien connues pour avoir un effet pro-oxydant marqué. Au contraire, la congélation est un bon moyen pour augmenter la durée de conservation des aliments, car la vitesse d'oxydation des lipides est notablement réduite à faible température.

II-4-2 Oxygène :

Son incidence est donc à la fois sur la durée de conservation du produit et sur la nature des odeurs perçues quand le produit est oxydé. Plus l'huile est aérée c'est-à-dire la surface de contact est accrue, plus la réaction d'oxydation est avancée.

II-4-3 La lumière :

L'énergie lumineuse accélère le processus d'oxydation des lipides. Elle favorise la formation de radicaux libres. Les radiations visibles et ultraviolettes sont les plus actives, elles ont une action catalytique très intense sur la détérioration des acides gras polyinsaturés.

II-4-4 Traces métalliques :

La décomposition des lipides peut être accélérée de manière significative par la présence des métaux lourds tels que le cuivre, le fer et le cobalt.

II-5-Propriétés physiques des lipides :

Les principales caractéristiques physiques des corps gras sont :

II-5-1 Etat physique :

Les corps gras sont liquides ou solides à la température ambiante suivant leur composition chimique. Les glycérides sont d'autant plus solides qu'ils sont saturés et que leur poids moléculaires est élevé.

II-5-2 Point de fusion :

La valeur de point de fusion d'un acide gras diminue avec le degré d'insaturation et augmente avec la longueur de la chaîne carbonée. Les graisses et les huiles naturelles ne présentent jamais un point de fusion, mais une zone de fusion à cause de la diversité de triglycérides qu'elles contiennent.

II-5-3 Viscosité :

La viscosité d'un corps gras augmente avec le poids moléculaire et diminue avec l'augmentation du nombre d'insaturation (doubles liaisons) et de la température.

II-5-4 La solubilité :

Elle croit avec l'augmentation du degré d'insaturation. Les corps gras sont insolubles dans l'eau même à chaud et soluble dans les solvants organiques (hexane, éther...) mais peu solubles dans quelque alcools à froid.

II-5-5 la densité :

Elle augmente au fur et à mesure que le poids des acides constituant le corps gras diminue et que leurs insaturations augmentent. La densité des huiles végétales varie de 0,915 à 0,964 et celle des corps gras animaux varie de 0,866 à 0,933.

****les travaux antérieurs :***

- Virot M., Tomao V., Colnagui G., Visinoni F. and Chemat F. (2007). New microwave-integrated Soxhlet. An advantageous tool for the extraction of lipids from food products. *Journal of Chromatography A*, 1174: 138-144.

- Szentmihalyi K., Vinkler P., Lakatos B., Illes V. and Then M. (2002). Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods. *Bioresource Technology*, 82: 195-201.
- Gaouar naila.(2011). Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés Algériennes.

Matériel et Méthodes

1. Préparation du matériel biologique végétal :

Notre choix s'est porté sur le caroubier (*Ceratonia siliqua L*) car il fait partie d'un projet de recherche (PNR) dans le cadre de l'optimisation et de l'amélioration des techniques d'analyses notamment l'extraction des molécules bioactives des végétaux comme les lipides.

Des gousses du caroubier mûres ont été récoltées en avril 2013 d'une exploitation située dans la région de Ghazouat à 60 Km au Nord ouest de Tlemcen.

Au laboratoire, nous avons séparé la pulpe de la graine des gousses afin de déterminer la teneur de la matière grasse à la fois de la pulpe et de la graine. Ensuite, les deux échantillons ont été broyés, séchés et conservés à l'abri de la lumière dans des flacons en verre pour des analyses ultérieures.(figure4)

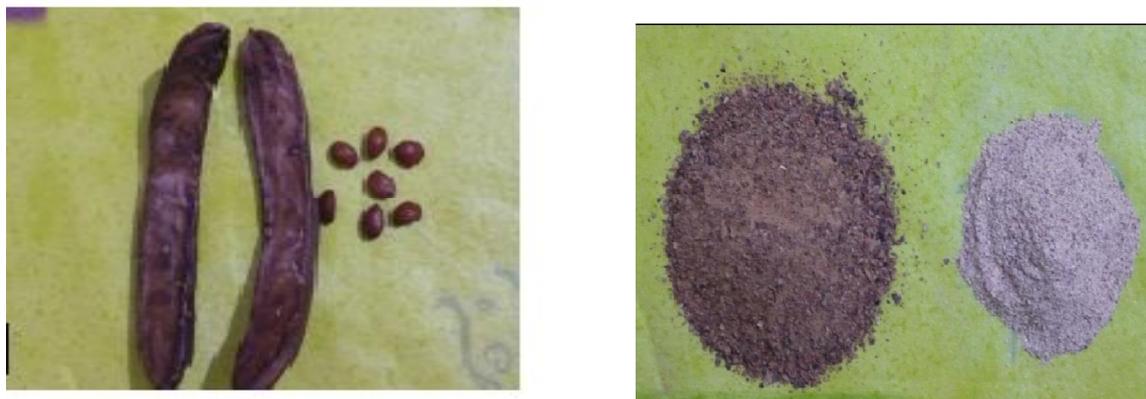


Figure 4 : Gousses et graines et pulpe et graines broyées du caroubier

2. Généralité sur le caroubier :

Le nom *Ceratonia siliqua L* dérive du grec *keras* et du latin *siliqua*, faisant allusion à la forme de son fruit qui ressemble à la 'corne' de bouc (Bolonos, 1955). Par ailleurs, le nom dialectal *kharouv*, originaire d'hébreu, a donné lieu à plusieurs dérivés tels *Kharroub* en arabe, *algarrobo* en espagnol, *carroubo* en italien, *caroubier* en français (Rejeb, 1995).

Le genre *Ceratonia* appartient à la famille des fabacae (légumineuses) de la sous famille des caesalpinoidae(tableau 2), l'ordre des fabalae (rosales), classe magnoliopsida (Quezel et Santa ,1962).

Tableau 2 : classification classique du caroubier (Quezel et Santa,1962).

<i>Règne</i>	Plantae
<i>Sous-règne</i>	Tracheobionta
<i>Division</i>	Magnoliophyta(angiosperme)
<i>Classe</i>	Magnoliopsida(dicotylédones)
<i>Sous-classe</i>	Rosidae
<i>Ordre</i>	Fabales
<i>Famille</i>	Fabaceae
<i>sous-famille</i>	caesalpinoïdeae
<i>genre</i>	Ceratonia
<i>Espèce</i>	Ceratonia siliqua

Le caroubier est un arbre ou arbuste à croissance lente (Quezel et Santa ,1962), qui peut atteindre 7 à 20 m de hauteur et une circonférence à la base du tronc de 2 à 3m (Figure5). Il a une écorce lisse et grise lorsque la plante est jeune ; et brune et rugueuse à l'âge adulte. Son bois de couleur rougeâtre est très dur. Le caroubier peut vivre jusqu'à 200 ans (Ait Chitt et al., 2007).

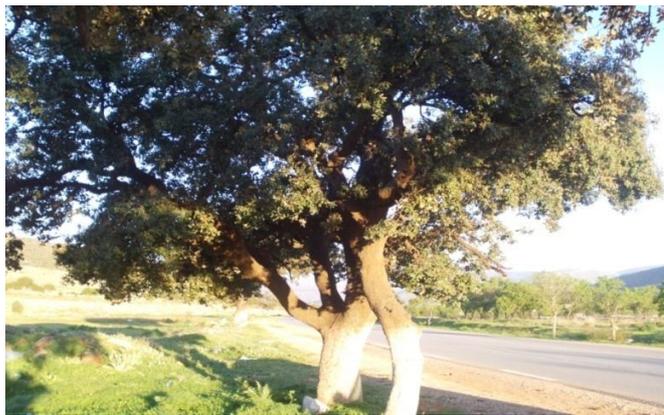


Figure 5 : l'arbre du caroubier

Les feuilles persistantes, de 10 à 20cm long, se caractérisent par un pétiole sillonné sur la face interne et un rachis portant 8 à 15 folioles, opposées, de 3 à 7 cm (**Figure 6**), elles sont coriaces, entières, ovales à elliptiques, paripennées, légèrement échancrées de couleur verte (**Ait Chitt et al., 2007**).

Les fleurs sont verdâtres, de petite taille (6 à 16 mm de longueur), spiralées et réunies en un grand nombre pour former des grappes droites et axillaires, plus courtes que les feuilles à l'aisselle desquelles elles se sont développées (**Battle et Tous, 1997**).

Le fruit de caroubier, appelé aussi caroube ou carouge, est une longue gousse indéhiscente à bords irréguliers, de forme allongée, rectiligne ou courbée, 1,5 à 3 cm de largeur et de 1 à 2,5 cm d'épaisseur (**Battle et tous, 1997 ;Ait chitt et al .,2007**).

La gousse est composée de trois parties : l'épicarpe, et les graines, elle est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses. Le développement du fruit est très long. Pour arriver à maturité en été, il met généralement entre 9 et 10 mois. Il est de grande taille : de 10 à 20 cm de longueur, et de 2 à 3 cm de largeur. Il est vert puis brun et au moment de la maturité, brun foncé à noir (**Figure 6**). Il est sinueux sur les bords, aplati et présente un tissu pulpeux, sucré, rafraîchissant renfermant de 12 à 16 graines brunes soit 10 à 20 % du poids de la gousse en fonction de cultivar et du climat (**Rejeb, 1995**).



Fleurs



Feuilles



Gousses vertes



Gousses mûrs

Figure 6: Feuillage, le fruit du caroubier (**The nature conservancy, 2001**)

Originaire du Mo yen-Orient, le caroubier est un arbre essentiellement méditerranéen d'importance écologique, industrielle et ornementale indiscutable (**Hariri et al., 2009**). On le rencontre à l'état naturel principalement en Espagne, Portugal, Maroc, Grèce, Italie, Turquie, Algérie, Tunisie, Égypte, et Chypre. Il a été introduit aussi en Australie, en Afrique d u Sud, aux États-Unis et en Amérique du Sud (**Figure7**), (**Sbay e t Abo uro uh, 2006**).

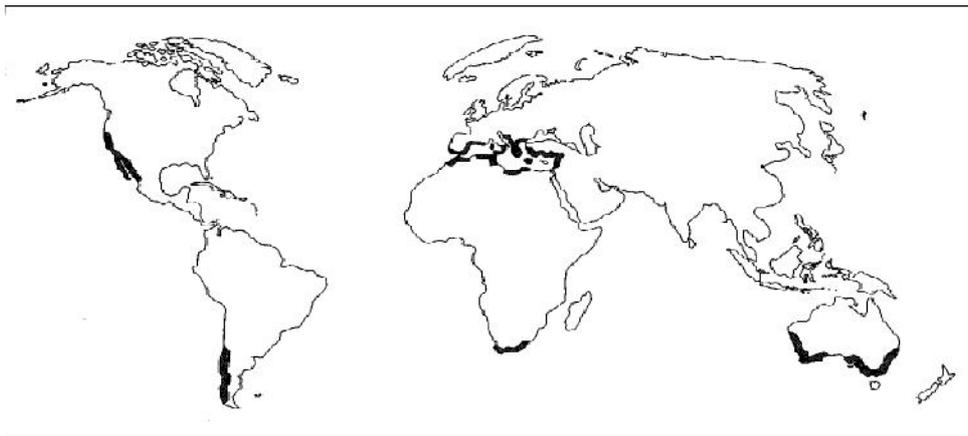


Figure 7: Centres d'origine et distribution du caroubier dans le monde (**Battle et Tous, 1997**)

En Algérie, le caroubier est fréquemment cultivé dans l'Atlas Saharien et il est commun dans le tell (**Que zel et Santa, 1962**). On le trouve à l'état naturel en association avec l'amandier, *Olivier* et *Pistachier* dans les étages semi-arides chauds, subhumides et humides, avec une altitude allant de 100m à 1300m dans les vallons frais qui le protègent de la gelée ; avec une température de 5°C jusqu'à 20°C et une pluviométrie de 80mm à 600mm/an (**Rebour, 1968**).

Suivant ces critères climatiques ; on a établi l'aire de répartition du caroubier en Algérie (**figure8**) et à Tlemcen dans les régions suivantes : Sidi M'djahed, Sebra, Henaya, Tlemcen, Aïn Tellout, Sidi Abdli, Remchi, Ben Sekran, Aïn Yousef et de Beni Saf jusqu'à Marsat Ben M'hidi.

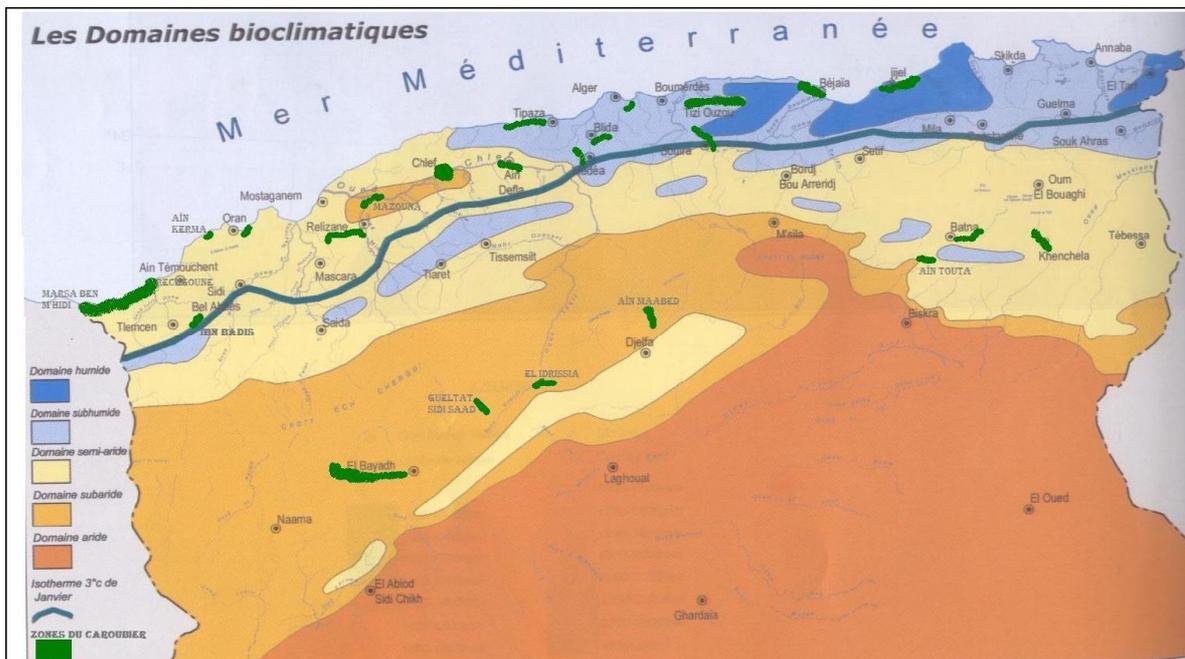


Figure 8 : Distribution du caroubier en Algérie suivant les domaines bioclimatiques (A.N.R.H, 2004)

La pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total. Selon plusieurs auteurs, la composition chimique de la pulpe dépend en général, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte (**Orphanos et Papaconstantinou, 1969**)

La pulpe est très utilisée soit comme aliment diététique, soit comme remplaçant du chocolat ou encore en alimentation animale. Elle est très riche en sucre (48- 56%), en particulier, sucrose, glucose, fructose et maltose (Tableau 3), mais pauvre en protéines (2- 6%) et en lipides (0.4- 0.6%) dont les acides saturés et insaturés sont en proportions égales (Puhan et Wieling, 1996) tableau .

la pulpe présente également une teneur très élevée en fibres (27- 50%) et une quantité non négligeable en tanins (18- 20%) (Saura- Calixto, 1987; Puhan et Wielinga, 1996). Par ailleurs, l'analyse minéralogique faite, par Puhan widingaga (1996), sur la pulpe, a révélé une composition (en mg/100g de pulpe) de K= 1100, Ca= 307, Mg= 42, Na= 13, Cu= 0.23, Fe= 104, Mn= 0.4, Zn= 0.59.

Tableau 3:Composition moyenne de la pulpe de caroube (Batlle et Tous, 1997)

Constituant	%
Sucres totaux	48 – 56
Sucrose	32 – 38
Glucose	5 – 6
Fructose	5 – 7
Pintol	5 – 7
Tannins	18 – 20
Polysaccharides non amines	18
Cendre	2 – 3
Lipides	0.2 – 0.6

La graine est composée de 30 à 33% d'enveloppe tégumentaire, de 42 à 46% de l'albumen et de 23 à 25% d'embryon (Neukom 1988).

La valeur nutritionnelle de la gousse du caroubier est considérée similaire à celle de la plupart de céréales (Coit 1962; NAS 1979). Selon Noblet et *al.*, (1989), la valeur d'énergie métabolique (EM) de la farine de caroube est estimée à 13.1MJ EM/kg de produit frais.

Le caroubier est un arbre d'importance écologique, industrielle et ornementale indiscutable. En termes de produits, l'arbre et toutes ses composantes (feuilles, fleurs, fruits, graines, bois, écorce et racine) sont utiles et ont des valeurs dans plusieurs domaines (Aafi, 1996).

La farine issue de pulpe peut servir comme ingrédient de certains menus de pâtisseries: gâteau, pain, bonbon, crème glacée, boisson (Vidal, 1985) ou utiliser comme substituant du cacao dans le chocolat, car elle est moins calorifique et ne contient ni caféine ni théobromine (Whiteside,

1981; Craig et Nguyen, 1984). En Egypte, les sirops à base de fruits de caroube constituent une boisson populaire (**Battle et al., 1997**). Tableau

Par ailleurs, la farine de caroube joue un rôle effectif dans la suppression des parasites intestinaux (**Min et Hart 2003**) et dans le traitement de diarrhée (**Serrari- Béji et al., 2000**) selon certains auteurs, les fibres solubles de la pulpe peuvent avoir un effet préventif ou curatif sur la santé humaine et animale, grâce à la réduction du risque de thrombose par le biais de la diminution de la pression sanguine et le niveau de cholestérol dans le sérum (**Williams et al., 1995 ;Beagge et al., 1996**).

Les graines de caroube sont bien appréciées et recherchées pour leurs qualités et multiples usages industriels. L'utilisation possible dans l'industrie alimentaire, de polyphénol antioxydant contenu naturellement dans l'enveloppe tégumentaire a soulevé d'énormes intérêts au même titre que la production industrielle de gomme de caroube (**Batista et al., 1996 ;Makris et Kafalas, 2004**). La gomme issue de l'endosperme constitue le 1/3 du poids total de graine et 100kg de graines produisent en moyenne 20kg de gomme pure et sèche (**Jones, 1953**).

Cette gomme mucilagineuse est utilisée dans plusieurs produits commerciaux comme agent stabilisateur, épaississeur, agglomérant et gélifiant (**Battle, 1997**). En plus, elle est utilisée en industrie alimentaire pour la fabrication d'un grand nombre de denrées alimentaires: crème glacée, soupe, sauce, biscuit, tourte, confiserie, produits de boulangerie et nourriture des animaux. (**Tous et Battle, 1990**).

Tableau 4: Principaux produits dérivés de la gousse (pulpe et graines) et quelques majeures utilisations (Batlle et Tous, 1997)

Produit	Traitement subi	Usage
<i>Pulpe</i> Brute	Aucun	Alimentation animale (chevaux et ruminants)
	Moulu	Alimentation humaine et animale
	Extraction et purification	Sucre
	Fermentation et distillation	Production d'alcool et protéine bactérienne
Poudre	Lavage, séchage, torréfié et moulu	Ingrédient d'aliment; substituant de cacao préparation des produits diététiques et pharmaceutiques
<i>Graines</i> Endosperme	Meuler	Additives d'aliments; fibres diététiques; aliments choyés; produits pharmaceutiques et cosmétiques
Embryon	Meuler	Substrat microbien; nutrition humaine et animale
Enveloppe tégumentaire	Extraction	Tannins pour tanner les cuirs

3. méthodes d'analyses :

3.1 Détermination de la matière sèche : (Audigie et al., 1980)

a. Principe :

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve aux températures de 100°C à 105°C, sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur.

b. Mode opératoire :

Introduire dans chaque vase de tare 2g de l'échantillon frais : c'est le poids P1 ; Placer les dans une étuve réglée à 105 c° pendant trois heures ; Peser les vases de tare et répéter l'opération avec une heure d'intervalle entre chaque pesée jusqu'au poids constant ou à une différence de 2mg entre deux pesées successives ;

c. Expression des résultats :

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante:

$$\text{Teneur en eau (\%)} = (P - P1) / M \cdot 100$$

P : masse en g de la prise d'essai avant séchage.

P1 : masse en g de la prise d'essai après séchage.

M : masse du matériel biologique.

A partir de la teneur en eau, on détermine le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = 100 - \text{teneur en eau (\%)}$$

3-2 Extraction de la matière grasse (SOXHLET) :

Historique :

La procédure généralement analytique pour des huiles ou des graisses des produits alimentaires comporte deux étapes : extraction (extraction de Soxhlet avec de l'hexane comme solvant) et analyse (chromatographie en phase gazeuse avec la détection d'ionisation de la flamme ou couplée à la spectrométrie de masse). Alors que la dernière étape est terminée après 30 min à 1 h, l'extraction prend au moins plusieurs heures. Il est souvent fait par le Soxhlet Procédé d'extraction. (Matthieu Virost et al., 2007).

La technique d'extraction de Soxhlet a été inventée en 1879 par **Franz Von Soxhlet** (figure9) à l'origine utilisé pour la détermination de la graisse du lait puis elle a été généralisée pour l'extraction en chimie agricole avant de devenir l'outil le plus utilisé pour l'extraction de solide-liquide dans beaucoup de domaines comme l'environnement, les produits alimentaires ,et également pharmaceutique. De nos jours, l'appareillage de Soxhlet est toujours courante dans les laboratoires et a été la méthode de norme et de référence pour l'extraction de solide-liquide dans la plupart des cas . De nombreux travaux ont été réalisés pour améliorer l'extraction Soxhlet. En 1974, Randall a développé une meilleure extraction de Soxhlet dispositif, qui a proposé une extraction en trois étapes, à savoir: l'ébullition, rinçage et l'élimination du solvant.

La méthode de Randall était plus rapide que la méthode classique de Soxhlet parce que l'échantillon à extraire a été immergé dans le solvant chaud. Il induit une amélioration dans le transfert de masse, un plus grand taux de solubilité et de diffusion, et une meilleure cinétique de la désorption et de la solubilisation.(**Mathieu Virot et al., 2007**).

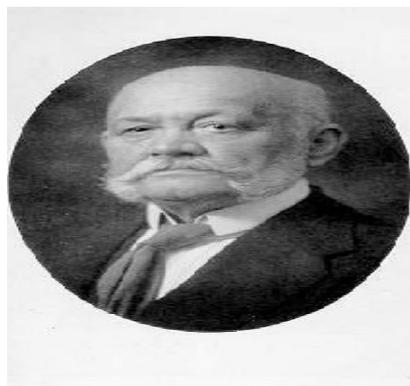


Figure 9 : Franz Ritter von Soxhlet (1848-1926). (**William B. Jensen,2010**)

3.3 Description :

L'extraction par Soxhlet, qui a été employé pendant longtemps, est une technique standard et la référence principale pour évaluer la performance d'autres méthodes d'extraction solide-liquide. L'extraction par Soxhlet est une technique générale et bien établie, et qui dépasse en

performance les autres techniques conventionnelles d'extraction, excepté dans le cas de l'extraction des composés thermolabiles (**Luque deCastro and Garcia-Ayuso 1998**).

Dans un système conventionnel de Soxhlet comme montré dans la figure10, la matière végétale est placée dans une cartouche, et remplie de solvant frais condensé à partir d'un ballon à distiller. Quand le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et la décharge de nouveau dans le ballon à distiller, portant les corps dissous extraits dans le liquide en bloc. Dans le ballon, le corps dissous (soluté) est séparé du solvant par distillation. Le soluté reste dans le flacon et le solvant frais passe de nouveau dans le lit de solide. L'opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction complète soit réalisée. (**Luque-Garcia and Luque de Castro 2004**).

L'extraction par Soxhlet dépend fortement des caractéristiques de la matrice solide et de la dimension des particules vu que la diffusion interne est souvent l'étape limitante pendant l'extraction. Pour l'extraction de l'huile totale des graines oléagineuses, une extraction pendant 2h a donné une efficacité de rendement d'extraction de 99% si la dimension particulière était de 0.4 millimètre, alors que 12h extraction étaient nécessaires pour obtenir la même efficacité si la dimension particulière était de 2.0 millimètres (**Luque-Garcia and Luque de Castro 2004**).



Figure 10 :Appareil Soxhlet

3.4 Les avantages et les inconvénients de l'extraction par Soxhlet :

✚ Avantages :

Le déplacement de l'équilibre de transfert en mettant à plusieurs reprises le solvant frais en contact avec la matrice solide.

Le maintien d'une température relativement élevée d'extraction avec la chaleur du ballon à distiller.

Aucune nécessité de filtration après l'extraction. En outre, la méthode de Soxhlet est très simple et bon marché. (ALLAF K, 2008)

Inconvénients

Le temps d'extraction est long et une grande quantité de solvant est nécessaire, Il est impossible d'accélérer le processus par agitation, La grande quantité de solvant utilisée exige une étape d'évaporation /concentration.

La possibilité de dégradation thermique des composés cible ne peut pas être ignorée vu que l'extraction s'opère habituellement au point d'ébullition du solvant pendant un temps assez long.

La grande quantité de solvant ainsi que la longue durée de l'opération ont conduit à de larges critiques de cette méthode. (ALLAF K, 2008)

4- Optimisation des paramètres d'extraction de la matière grasse par Soxhlet :

4-1 Principe :

L'extraction de la matière grasse total (MGT) effectuée par les solvants organiques (Hexane, éther de pétrole, chloroforme) a été réalisée avec trois temps d'extraction (4h, 6h et 8h) par un appareil de type Soxhlet. Après évaporation de solvant, le taux de matière grasse brute est déterminé gravimétriquement selon la méthode directe qui consiste à peser l'huile obtenue directement après évaporation du solvant organique.

4-2 Mode opératoire : (Iso659 octobre1998)

- Placer, dans l'appareil à extraction la cartouche contenant la prise d'essai broyée (pulpe 30g, graine 10g).
- Verser dans le ballon la quantité nécessaire (150ml) de solvant (Hexane, éther de pétrole ou chloroforme).
- Adapter le ballon à l'appareil à extraction sur le bain à chauffage électrique.
- Après une extraction d'une durée de 8 h, 6h ou 4h, éteindre l'appareil et laisser refroidir.
- Eliminer le solvant par évaporation dans un rotavapeur et peser le ballon contenant le résidu huileux.

4-3 Expression des résultats :

Le taux de la matière grasse est calculé par la formule suivante :

$$\text{MG (\%)} = \frac{\text{P1} - \text{P2}}{\text{ME}} \times 100$$

P2 : poids du ballon vide.

P1 : poids du ballon après évaporation.

ME : masse de la prise d'essai.

MG : taux de la matière grasse.

100: pour le pourcentage.

RESULTATS ETDISCUSSION

1-Détermination de la teneur en matière sèche :

L'appréciation de la matière sèche repose sur la détermination de la teneur en eau des Échantillons à analyser ; l'analyse a été réalisée sur des échantillons qui ont été récoltés en avril 2013,,ce qui explique l'expression des résultats en matière sèche.

Matière sèche (%)

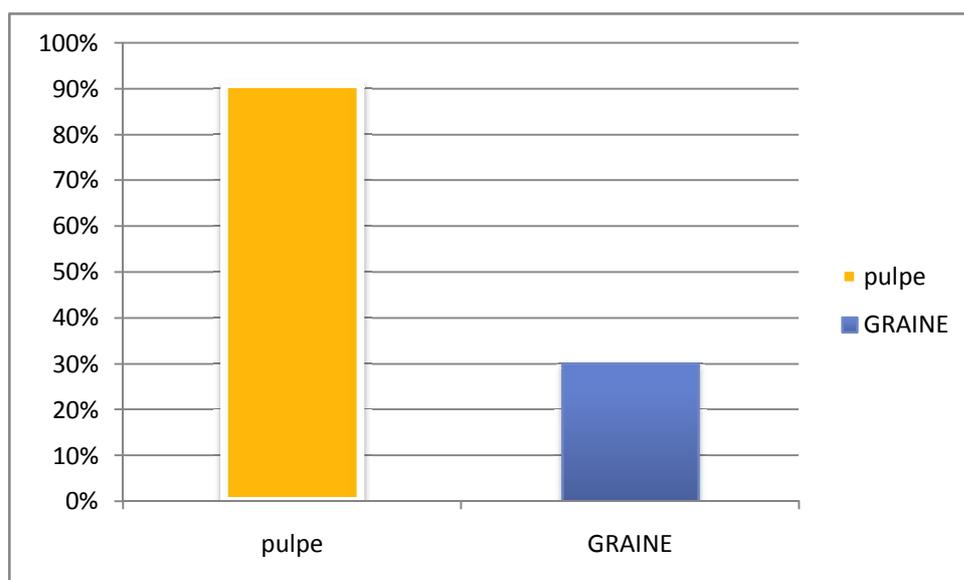


Figure n°11 : taux de la matière sèche exprimé en pourcentage de la pulpe et la graine de caroube

On remarque selon la figure que le taux de matière sèche est important dans la pulpe que la graine dans la pulpe est 91% et dans la graine 30%.

2-Détermination de la teneur en matière grasse :

Les lipides sont des constituants biologiques nutritionnellement importants du point de vue calorique et apport en acide gras essentiels ainsi qu'en vitamines liposolubles. Ce sont des matières organiques insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques.

De multiples paramètres influent sur le taux de matière grasse comme la granulométrie, l'humidité, la nature du solvant et la méthode d'extraction utilisée.

Dans les Tableaux n°5 et 6 ci-dessous sont illustrées les teneurs en lipides de la pulpe et la graine de caroubier étudiées, exprimées en pourcentage de matière sèche (MS).

Les résultats obtenus montrent que les graines de caroube contiennent plus de matière grasse que les pulpes et ceci dans tous les essais effectués lors de ce travail. Ces résultats sont en accord avec ceux de la bibliographie puisque les graines sont les parties de stockage chez les végétaux et donc ce sont les endroits les plus riches en lipides et en d'autres composés de stockage comme les protéines, les glucides, ...

(Tableaux)

Tableau n°5 : Rendements de matière grasse dans la pulpe du caroubier en % de MS.

Solvants	Temps d'extraction	Rendements
Hexane	8h	4.43%
	6h	4.39%
	4h	3.77%
Ether de pétrole	8h	4.02%
	6h	3.96%
	4h	3.44%
Chloroforme	8h	3.11%
	6h	2.97%
	4h	2.53%

Tableau n° 6: Rendements de matière grasse dans la graine du caroubier en % de MS.

Solvants	Temps d'extraction	Rendements
Hexane	8h	6.33%
	6h	6%
	4h	4.33%
Ether de pétrole	8h	5%
	6h	4.66%
	4h	3.66%
Chloroforme	8h	3.66%
	6h	3.33%
	4h	2.66%

La figure n°12 nous montre les rendements de la matière grasse à la fois de la pulpe et de la graine par l'hexane en fonction du temps. On remarque que le rendement pour 8h (la pulpe à 4.43% et la graine à 6.33%) sont très proches de ceux trouvés pour 6h (la pulpe à 4.39% et la

graine à 6%). Par contre, les rendements obtenus pour la pulpe (3.77%) et la graine (4.33%) pour 4h sont plus faibles.

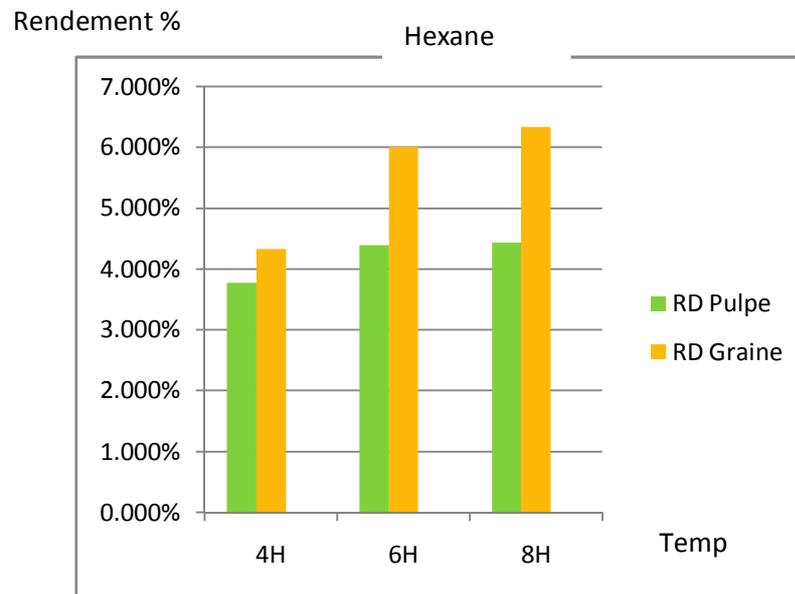


Figure n°12 : les rendements de la matière grasse à la fois de la pulpe et de la graine par l'hexane en fonction du temps

Concernant la figure n°13 représente aussi les rendements de la matière grasse à la fois de la pulpe et de la graine par l'éther de pétrole en fonction du temps. Les quantités de lipides trouvés pour 8h (la pulpe à 4.02% et la graine à 5%) sont très proches de celles pour 6h (la pulpe à 3.96% et la graine à 4.66%). Cependant on note la même remarque concernant la quantité de lipides pour 4h (la pulpe à 3.44% et la graine à 3.66%) à savoir qu'elles sont plus faibles.

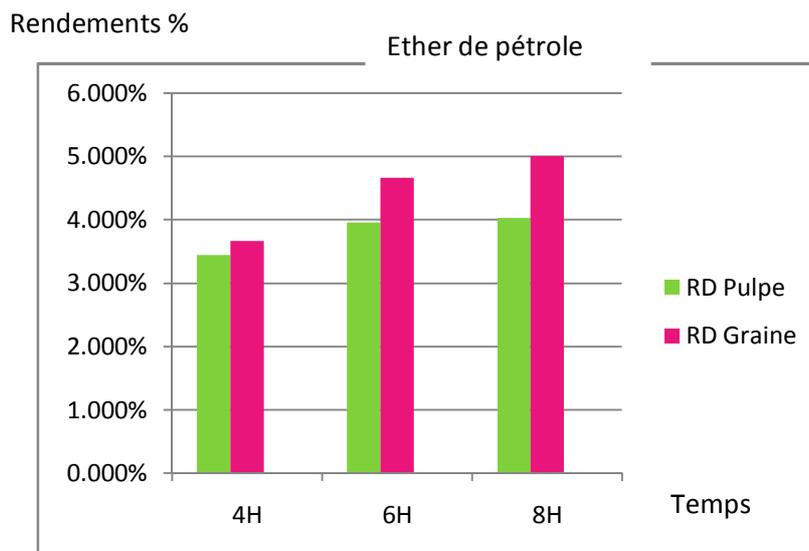


Figure n°13 : les rendements de la matière grasse à la fois de la pulpe et de la graine par l'éther de pétrole en fonction du temps

La figure n° 14 représente les rendements de la matière grasse à la fois de la pulpe et de la graine par le chloroforme en fonction du temps. Les résultats obtenus présentent la même évolution que ceux des deux solvants analysés précédemment à savoir que ce soit pour 8h (la pulpe à 3.11% et la graine à 3.66%) ou pour 6h (la pulpe à 2.97% et la graine à 3.33%) les rendements en lipides sont très proches. Alors que pour 4h (la pulpe à 2.53% et la graine à 2.66%) sont plus faibles.

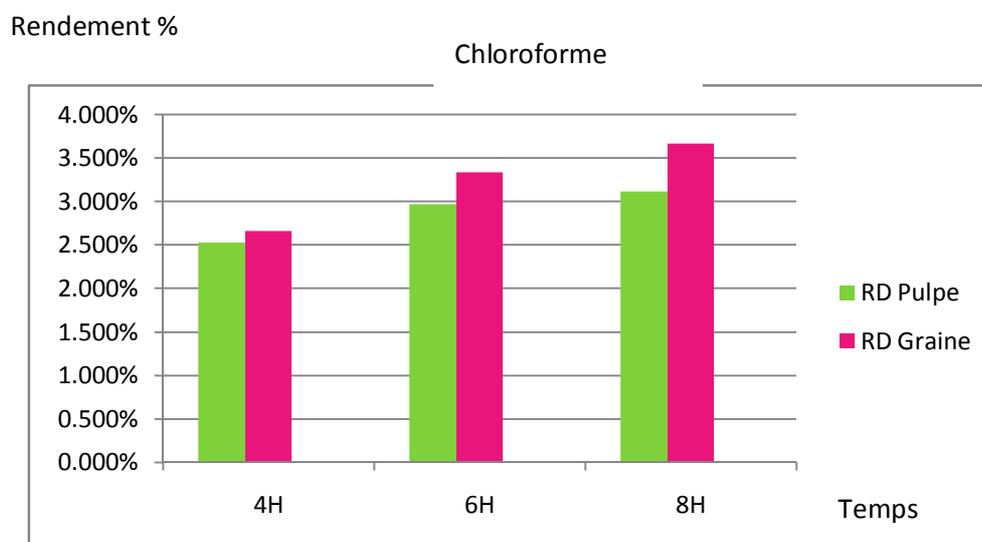


Figure n°14 : les rendements de la matière grasse à la fois de la pulpe et de la graine par le chloroforme en fonction du temps

3-Discussion général :

Si on commence par comparer les rendements des trois solvants utilisés dans ce travail pour le temps d'extraction 8h car c'est la durée d'extraction de référence utilisée par Soxhlet. On peut affirmer que l'hexane est le meilleur solvant que ce soit pour la pulpe ou la graine avec des rendements de 4.43% et 6.33% respectivement. Cependant pour la même comparaison, on peut dire que c'est le chloroforme qui est le mauvais solvant dans l'extraction des lipides pour la pulpe et la graine avec des rendements de 3.11% et 3.66% respectivement.

Dans ce cas, on peut préconiser l'hexane pour la détermination des rendements en matière grasse et le chloroforme pour le dégraissage des échantillons riches en lipides, le dégraissage étant une procédure préliminaire pour l'extraction et la détermination des différents métabolites primaires et secondaires.

Concernant l'éther de pétrole comparé à l'hexane, l'écart entre les résultats des deux solvant est très minime de l'ordre de 0.41% pour la pulpe (pauvre en lipides) et un peu plus élevé de l'ordre de 1.66% pour la graine (riche en lipides). A la vue de ces résultats, on peut affirmer que l'éther de pétrole peut être utilisé pour la détermination de la matière grasse des plantes pauvres en lipides, alors que l'hexane sera utilisé pour les plantes riches en lipides.

L'analyse des résultats de ces trois solvants incluant les temps d'extraction (8h et 6h), nous montre qu'il n'y a pas une très grande différence entre les rendements utilisant l'hexane et l'éther pétrole puisqu'elle est de 0.04% pour l'hexane et de 0.06% pour l'éther de pétrole au niveau de la pulpe. De ce fait, on conseillera d'utiliser lors de la détermination des lipides par Soxhlet, un temps d'extraction de 6h au lieu de 8h ce qui permettra de gagner un peu plus d'énergie et donc ce sera un geste important pour l'écologie.

Enfin, on peut conclure cette discussion pour dire que l'hexane est le meilleur solvant utilisé pour l'extraction des lipides chez les végétaux. Sauf qu'il est connu comme une substance très polluante et donc toxique pour l'homme. Pour cela, lors de sa manipulation on doit suivre des règles de sécurité rigoureuses qui devenant très contraignantes, on peut utiliser à sa place l'éther de pétrole qui est une substance beaucoup moins dangereuse que l'hexane. Récemment on vient de découvrir un solvant obtenu à partir de l'écorce des agrumes appelé le limonène qui complètement bio et aussi efficace que l'hexane.

Pouvoir extractant :

hexane>éther de pétrole>chloroforme

conclusion

L'extraction solide-liquide est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire, de séparer ou de dissoudre soit par immersion soit par percolation dans un liquide, un ou plusieurs composants (solide ou liquide) mélangé à un solide.

C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide qui contient la matière à extraire et une phase liquide, le solvant d'extraction.

Les résultats obtenus montrent que les graines 6.33% de caroube contiennent plus de matière grasse que les pulpes 4.43% et ceci dans tous les essais effectués lors de ce travail

L'analyse des résultats de ces trois solvants incluant les temps d'extraction nous montre qu'il n'y a pas une très grande différence entre les rendements par l'hexane et l'éther pétrole des durées d'extraction de 6h et 8h.

A la vue de ces résultats, on affirme qu'on peut utiliser l'éther de pétrole pour la détermination de la matière grasse des composants de la plante pauvres en lipides, alors que l'hexane sera utilisé pour la détermination de la matière grasse des composants de la plante riches en lipides

De ce fait, on conseillera d'utiliser lors de ces analyses un temps d'extraction de 6h au lieu de 8h ce qui permettra de gagner un peu plus d'énergie et donc ce sera un geste important pour l'écologie.

D'après nos résultats c'est l'hexane qui est le meilleur solvant utilisé pour l'extraction des lipides chez les végétaux. Sauf que l'hexane est connu comme une substance très polluante et donc toxique pour l'homme. On peut utiliser à sa place l'éther de pétrole qui est une substance beaucoup moins dangereuse.

Pour compléter notre analyse d'autres paramètres peuvent être ajoutés dans le cadre de l'optimisation d'extraction des lipides comme : taille des particules, la température, degré d'agitation.

REFERNECES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Aafi A. (1996)**, Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*), Centre Nationale de la Recherche Forestière, Rabat (Maroc), pp. 10.
- **Abraham Endrias, (2006)**. Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à l'*Hibiscus sabdarif* L. et à l'*Artemisia annua*. Thèse doctorat .p32.
- **Ait Chitt M., Belmir M. et Lazrak A., (2007)**, Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. Transfert de technologie en Agriculture, N°153, IAV Rabat, pp.1-4.
- **Batista M. T., Amaral M. T. and Proença Da Cunha A. (1996)**. Carob fruits as source of natural antioxidant. *In* Proceeding of the III International Carob Symposium. Cabanas-Tavira, Portugal.
- **Battle I., Tous J., (1997)**, Carob tree *Ceratonia siliqua L.*, Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17, Gatersleben: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Rome: International Plant Genetic Resources Institute, pp. 92.
- **Beagger M., Andersen O., Neilsen J. D. and Rytting K. L. (1996)**. Dietary fibre reduce blood pressure serum total cholesterol and platelet aggregation in rats. *British J. Nutr.* 75: 483- 493.
- **Bolonos M. (1955)**. Rapport sur le caroubier. Instituto forestal de Investigaciones y experiencias Madrid (Espagne) 9p.
- **Bouthaina BEN AMOR .(2008)**. MAITRISE DE L'APTITUDE TECHNOLOGIQUE DE LA MATIERE VEGETALE DANS LES OPERATIONS D'EXTRACTION DE PRINCIPES ACTIFS ; TEXTURATION PAR DETENTE INSTANTANEE CONTROLEE DIC. THÈSE pour obtenir le grade de DOCTEUR L'UNIVERSITÉ DE LA ROCHELLE.pp11.
- Binbenet, J. J., A. Duquenoy, et al. (1993). Génie des procédés alimentaires des bases aux applications. Paris.
- **D. P, Schwartz, (1992)**. Manuel des corps gras, tome 1, Lavoisier, Paris.
- **Dibert K. (1989)**. contribution à l'étude de l'extraction solide-liquide de l'huile et de l'acide chlorogénique du café vert. LYON, Claude Bernard LYON I.

- **DJADOUN SADIA**, (2012). Influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive assistée par micro-ondes. Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. Pp 4-13.
- **Hariri A, N.Ouis, Sahnouni F et D.Bouhadi (2009)**, mise en oeuvre de la John Libbey Eurotext, Paris, pp. 79-85.
- **Jones D. K. (1953)**. Carob culture in Cyprus. FAO 53/2/1225. FOA. Rome.
- **Kaufmann, B., P. Christen, .(2001)**. "Parameters affecting microwave-assisted extraction of withanolides." *Phytochemical Analysis* 12: 327-331.
- **Luque de Castro, M. D. and L. E. Garcia-Ayuso (1998)**. "Soxhlet extraction of solid
- **Luque-Garcia, J. L. and M. D. Luque de Castro (2004)**. "Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: An expeditive approach for solid sample treatment-Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds." *Journal of Chromatography A* 1034: 237-242.
- **Luque-Garcia, J. L. and M. D. Luque de Castro (2003)**. "Ultrasound: A powerful tool for leaching." *Trends in Analytical Chemistry* 22: 41-47.
- **Leybros, J. and P. Frémeaux (1990)**. "Extraction solide-liquide aspects théoriques." *techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J1 077 06*
- **Landbo, A.-K. R. and A. B. S. Meyer (2001)**. Enzymatic enhancement and oxidant activities of anthocyanins and other phenolic compounds in black currant juice. *Biologically-active phytochemicals in food*. Cambridge UK, Royal Society of Chemistry:354-356.
- **Makris D. P. and Kefalas P. (2004)**. Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidant. *Food Technol. Biotechnol.* 42: 105- 108.
- **Matthieu Viroat a, Val'erie Tomaooa,, Giulio Colnagui ,Franco Visinoni Farid Chemata(2007)** New microwave-integrated Soxhlet extraction An advantageous tool for the extraction of lipids from food products *Journal of Chromatography A*
- **Min B. R. and Hart S. P. (2003)**. Tannins for suppression of intestinal parasites. *J. Anim. Sci.* 81:102-109.
- **Mason, T. J., L. Paniwnyk, et al. (1996)**. "The uses of ultrasound in food technology." *Ultrasonics Sonochemistry* 3: 253-260.
- **Mafart, P. and E. Béliard .(1993)**. *Génie Industriel Alimentaire techniques éparatives*. Paris, Techniques et Documentation-Lavoisier
- **Naudet M, (1992)**. *Manuel des corps gras tome 1*, Lavoisier, Paris.

- **Neukom H. (1988).** Carob bean gum: properties and application. Pp. 551- 555 in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain.
- **Noblet J., Fortune H., Dubois S. and Henry Y. (1989).** Nouvelles méthodes d'estimation de teneur en énergie digestible, métabolisable et nette des aliments pour le porc. INRA ed., Paris. 106p.
- **Orphanos P. I. and Papaconstantinou J. (1969),** The carob varieties of Cyprus, Tech. Bull. 5. Cyprus Agricultural Research Institute, Ministry of Agriculture and Natural Resource, Nicosia.
- **Puhan Z. and Wielinga M. W. (1996).** Products derived from carob pods with particular emphasis on carob bean gum (CBG). Report Technical Committee of INEC (unpublished).
- **Quezel P et Santa S (1962),** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (tome1), Editions du centre national de la recherche scientifique, pp.557
- **Rebour H. (1968),** fruits Méditerranéen, la maison rustique Paris, 330pp.
- **Rejeb M. N. (1995),** Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives Resources Institute, pp. 92.
- **Sbay H. et M. Abourouh, (2006).** Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable : cas du pin pignon et du caroubier, Centre de Recherche Forestière Haut-Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, Rabat, pp.1-9
- **Serairi-Beji R., Mekki-Zouiten L., Tekaya-Manoubi L., Loueslati M. H., Guemira F. and Ben Mansour. (2000).** Can carob powder be used with oral rehydration solution for the treatment of acute diarrhea. *Med. Top.* 60:125.
- **Groubert, A. (1984).** techniques d'extraction végétale. Montpellier, pharmacie.
- **Gao, L. and G. Mazza. (1996).** "Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflowerhulls." *J. Food sci.* 61: 600-603.
- **Soulier J et Farinez M, (1992).**Manuel des corps gras, tome 1, Lavoisier, Paris.
- **Tous j. and Baltte I. (1990).** El algarrobo. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- **Vidal D. (1985).** El troceado como etapa previa al aprovechamiento industrial de la garrofa *In* Jornadan sobre la garrofa. Liria (Valencia) (unpublished).
- **Vigneron, M. (1954).** Fractionnements par solvants. Paris, VIGOT Frères.

- **Whiteside L. (1981).** The carob cookbook. Ed. Thorsons Publishers Limited, Wellingborough. Northamptonshire.
- **William B. Jensen (2009).** The Origin of the Soxhlet Extractor *J. Chem. Educ.*

Résumé :

Pour optimiser l'extraction de la matière grasse par soxhlet nous avons choisit deux paramètres la nature du solvant et la durée d'extraction, nous avons trouvées que le meilleur solvant c'est l'hexane pour la pulpe 4.43% et la graine 6.33%.Cependant nous pouvons utilisées à la place de l'hexane l'éther de pétrole car il est tout d'abord moins toxique Il a donné presque les mêmes résultats que l'hexane surtout pour la pulpe 4.43% par l'hexane et 4.02% par éther de pétrole. Nous avons notés aussi que le temps d'extraction le plus approprié est de 6h ce qui permet de gagner non seulement du temps mais aussi économiser de l'énergie.

Summary

To optimize the extraction of fat by soxhlet we chose two parameters on the solvent and extraction time, we found that the best solvent is hexane to 4.43% pulp and seed 6.33% . However we used instead of hexane petroleum ether because it is first less toxic. He gave almost the same results as hexane especially for pulp by 4.43% and 4.02% hexane by petroleum ether. We also noted that the most suitable extraction from 6am this time which saves not only time but also save energy.

ملخص:

لتحسين استخراج الدهون عن طريق سوكسلت اخترنا معلمتين على الوقت المذيبات واستخراج، وجدنا أن أفضل المذيب هو الهكسان إلى اللب ٤.٤٣٪ والبذور ٦.٣٣٪ ومع ذلك استخدمنا بدلا من اثير البترول الهكسان لأنه هو أول أقل سمية. أعطى تقريبا نفس النتائج على النحو الهكسان وخاصة بالنسبة للعجينة بواسطة ٤.٤٣٪ و ٤.٠٢٪ الهكسان بواسطة اثير البترول. ولاحظنا أيضا أن استخراج أنسب من هذا الوقت ٦:٠٠ مما يوفر الوقت فحسب، بل أيضا توفير الطاقة.

