

Annexe 1

Analyses physiques et chimiques

Toutes les mesures ont été répétées 3 fois pour chaque échantillon.

1. Caractères chimiques :**1.1 Indice d'acide (I A) :**

1.1.1. Définition : L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires pour la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme de corps gras (Lion, 1995).

1.1.2. Principe : il consiste à neutraliser les acides libres par une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium titrée.

1.1.3. Détermination du facteur "F" de la solution de potasse alcoolique :

On prend un volume exact d'acide oxalique (C: H₂ O⁺) de normalité présumée 0,1 N et on le dose avec de la potasse alcoolique (KOH) préparée à 0,1 N de la phenophtaléine.

Le facteur E est alors donné par la relation :

$$F = \frac{\text{Volume exact de C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \text{ à } 0,1 \text{ N}}{\text{Volume titré de KOH à } 0,1 \text{ N}}$$

F est toujours compris entre 0,99 et 1.5

1.1.4. Mode opératoire :

- Peser 2g d'huile dans un erlenmeyer. -Ajouter 75ml d'éthanol à 95°.
- Neutraliser le mélange en présence de quelques gouttes de phénophtaléine à 1%.
- Agiter énergiquement et titrer avec la solution d'hydroxyde de potassium (la solution éthanoïque titrée est à 0, 1 N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rosé persistante.
- Noter le volume de la solution éthanoïque de KOH ajout

1.1.5. Méthode de calcul :

1.1.5.1. Indice d'acide :

$$IA = 56,11 \cdot V \cdot N \quad (\text{mg de KOH / g d'huile}) \quad (\text{Wolff, 1968}).$$

P : masse (g) de la prise d'essai

56,11 : masse molaire, exprimée en g/mole , d'hydroxyde de potassium

V : volume en ml de potassium utilise

N : normalité de la solution de potasse (0, 1 N)

1.1.5.2. Pourcentage en acide oléique :

L'acidité exprimée en % en masse est égale a :

$$A\% = \frac{282 \cdot N \cdot V \cdot 100}{p \cdot 1000} \quad (\text{Wolff.1968}).$$

P : masse (g) de la prise d'essai

V : volume en ml de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée

N : normalité de la solution de potasse (0, 1 N) .

282 : poids moléculaire de l'acide oléique

1.3. Indice de Peroxyde (I P):

1.3.1. Définition : l'indice de peroxyde ou indice de « LEA » est une mesure permettant d'estimer la quantité de peroxydes présents dans une matière grasse. Les peroxydes, constituants caractéristiques de l'oxydation des acides gras insaturés sont déterminés en se basant sur leur propriété de libérer l'iode de l'iodure de potassium dans les milieux acides

L'iode libère est mesuré par la réaction avec le thiosulfate. Sachant que 1 ml de thiosulfate à 0,01 N correspond à une quantité de 80 mg d'oxygène fixé sur les acides gras (**Lion, 1955**).

1.3.2. Principe : il est basé sur le traitement de l'huile en solution dans de l'acide acétique et de chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI), c'est le titrage de l'iode libère par une solution titré de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$).

1.3.3. Préparation des solutions :

1.3.3.1 Empois d'amidon :

-Peser 1 g d'amidon et le dissoudre dans 100 ml d'eau distillée tiède.

> 1.3.3.2. Solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$) à 0,01 N :

-Dissoudre 2,48 g de $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3 \cdot 5(\text{H}_2\text{O})$ dans 1 litre d'eau distillée.

• 1.3.3.2.1. Détermination du facteur "F" de la solution de $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$ (0.01N) :

On établit le facteur "F" de la solution de thiosulfate de sodium d'après l'oxydant ;

$\text{K}_2 \text{Cr}_2 \text{O}_7$ à 0,01 N.

On n'utilise pas la réduction directe de l'oxydant par le thiosulfate de sodium. Préalablement, on oxyde KI (solution saturée) par celui-ci dans le milieu acide (solution 2N : d'acide chlorhydrique) ou d'acide sulfurique ($\text{H}_2 \text{SO}_4$)

La détermination de la normalité de la solution de $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$ d'après $\text{K}_2 \text{Cr}_2 \text{O}_7$ est basée sur la réaction suivante :



-L'équivalent gramme de $\text{K}_2 \text{Cr}_2 \text{O}_7$ est égal à $\frac{1}{6}$ mole.

6

A -mode opératoire :

Après neutralisation de l'iodure de potassium (KI) par le thiosulfate de sodium, verser successivement 40ml de solution 2N d'acide sulfurique (H_2SO_4) et par l'éprouvette 30ml de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (0.01 N).

Boucher erlenmeyer avec un verre de montre afin d'éviter les pertes dues à la volatilisation de I_2 (l'iode). Agiter et laisser le mélange reposer 5 minutes. Ensuite dissoudre le mélange dans 150ml d'eau distillée (à cette étape l'iode est libéré).

Titre l'iode libère par la solution étalon de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0.01 N), d'abord sans indicateur jusqu'à ce que la solution se colore en jaune clair. Ajouter 3ml d'empois d'amidon et continuer le titrage 01: le thiosulfate jusqu'à la disparition de la coloration bleue de la solution

La solution ne se décolore pas complètement parce que les ions Cr^{3+} confèrent à la solution une coloration verdâtre.

b-calcul du facteur « f » :

Le facteur F est alors donné par la relation :

$$F = \frac{\text{Volume exact de } \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7}{\text{Volume titré de } \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ à } 0,01 \text{ N}}$$

Volume titré de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ à 0,01 N

F est toujours compris entre 0,99 et 1,5.

1.3.4. Mode opératoire :

-Peser 2g d'huile dans un flacon

-Ajouter 10ml du chloroforme et dissoudre ainsi la prise d'essai en agitant

-Ajouter 15ml d'acide acétique, puis 1 ml de la solution d'iodure de potassium

-Boucher aussitôt le flacon, l'agiter durant 1 mn

-Laisser le flacon 5mn exactement à l'abri de la lumière et à une température comprise entre 15 et 25°C

-Ajouter ensuite 75ml d'eau distillée

- Titrer par la solution de thiosulfate l'iode libéré en agitant vigoureusement en présence de Quelques gouttes d'empois d'amidon
- Effectuer de la même façon un essai à blanc.

1.3.5. Méthode de calcul :

L'indice de peroxyde est donné comme suit :

$$IP = \frac{V - V_0}{P} \times 10 \quad \text{en milliéquivalents/kg}$$

$$IP = \frac{V - V_0}{P} \times 5 \quad \text{en millimoles /kg}$$

$$IP = \frac{V - V_0}{P} \times 80 \quad \text{en microgrammes/g}$$

Avec :

V_0 : volume (ml) de $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$ (0,01 N) nécessaire pour titrer l'essai à blanc.

V : volume (ml) de $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$ (0,01 N) nécessaire pour titrer l'échantillon.

P : prise d'essai (g) de l'échantillon.

N.B: 1 millimole/kg = 2milliequivalents/kg = 16 microgrammes/g.

-Après, noter l'aspect de la solution.

-S'il y a présence d'huile semi siccative, il se forme une floculation d'importance variable

Selon le pourcentage d'adultération et la nature de l'huile adultérante.

La solution reste limpide et transparente dans le cas des huiles d'olives authentiques.

2. Caractères physiques :

2.1. Densité (d_{20}^{20}) :

2.1.1. Définition : C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C. et la masse d'un volume égal d'eau distillée a la même température (**Lion. 1955**).

2.1.2. Principe: a l'aide d'une balance analytique, effectuer des pesées successives de volume égaux d'huile et d'eau a la température de 20°C.

2.1.3. Mode opératoire :

-Nettoyer soigneusement le pycnomètre au moyen d'éthanol puis d'acétone et le sécher en Faisant passer un courant d'air sec, si nécessaire.

-Déterminer la masse m_0 du pycnomètre vide.

-Peser 2g d'eau distillée et laisser 30mn dans un bain marie à 20°C.

-Déterminer la masse m_1 du pycnomètre rempli d'eau distillée.

-Nettoyer et sécher le pycnomètre.

-Peser 2g d'huile et laisser 30mn dans un bain marie à 20°C.

-Déterminer la masse m_2 du pycnomètre contenant l'huile d'olive.

2.1.4. Méthode de calcul :

La densité relative d_{20}^{20} est donnée par la formule :

$$d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \quad (\text{Wolff, 1968})$$

m_0 : masse (g) du pycnomètre vide.

m_1 : masse (g) du pycnomètre remplie d'eau.

m_2 : masse (g) du pycnomètre remplie d'huile d'olive.

Indice de réfraction (n_D^t) :

Définition : l'indice de réfraction d'une huile est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile à la température constante (**Lion, 1955**).

Principe : suivant le réfractomètre utilisé, soit mesuré directement l'angle de réfraction d'isotropisme et de transparence.

Mode opératoire :

- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant du papier Joseph
- Etalonner l'appareil par de l'eau distillée dont l'indice de réfraction est égale à 1.33
- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant du papier Joseph
- Déposer quelques gouttes d'huiles dans la lame du réfractomètre et régler le cercle de chambre sombre et claire dans la moitié, et effectuer la lecture des résultats en prenant compte de la température.
- Renettoyer la lame du réfractomètre en utilisant toujours du papier Joseph
- Il faut étalonner l'appareil par de l'eau distillée entre la mesure de deux échantillons.

Méthode de calcul :

L'indice de réfraction est calculé comme suit :

$$n_{\text{d}}^{20} = n_{\text{d}}^t + 0.00035 \cdot (t-20) \quad (\text{Wolff, 1968})$$

Avec :

n_{d}^t : valeur de lecture à la température (t) à laquelle a été effectuée la détermination.

n_{d}^{20} : l'indice de réfraction à la température 20.

t : la température à laquelle la détermination a été effectuée.

Teneur en eau :

Définition : on entend par « teneur en eau » la perte de masse. Elle s'exprime en pourcent en masse.

Mode opératoire :

- Sécher une boîte de pétrie dans l'étuve à 105°C pendant 30mn puis laisser refroidir dans le dessiccateur et peser.
- Peser 2g d'huile d'olive dans la boîte de pétrie préalablement tarée.
- Maintenir la boîte de pétrie contenant la prise d'essai pendant 3h dans l'étuve à 105°C.
- Laisser ensuite refroidir dans un dessiccateur, puis peser.
- Répéter la même opération dans les mêmes conditions, mais avec des séjours successifs dans l'étuve pendant 1 h seulement jusqu'à l'obtention d'un poids constant de deux pesées Successives.

2.3.3. Méthode de calcul :

La teneur en eau en pourcent en masse de l'échantillon est égale à :

$$\frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

Avec :

m_0 : masse (g) de la boîte de pétrie vide.

m_1 : masse (g) de la boîte de pétrie avec la prise d'essai avant le chauffage à l'étuve.

m_2 : masse (g) de la boîte de pétrie avec la prise d'essai après le chauffage à l'étuve.

2.4. Absorbance dans l'ultraviolet : (C.C.E, 1991)

L'oxydation des corps gras, en particulier ceux contenant l'acide linoléique, conduit à la formation d'hydroxypéroxyde linoléique, diène conjugué qui absorbe au voisinage de 232 nm

Si l'oxydation se poursuit, il se forme "des produits secondaires " en particulier des dicétones et des cétones insaturés qui absorbent vers 270nm.

L'extinction à 232nm et à 270nm d'un corps gras brut peut donc être considérée comme une

Image de son état d'oxydation.

Plus l'extinction à 232nm est forte, plus l'huile est riche en produits secondaires d'oxydation.

2.4. 1- Mode opératoire :

- Peser 0.5g d'huile dans une fiole de 50ml.

- Compléter au trait de jauge avec du cyclohexane ou l'hexane.

- Introduire l'échantillon ainsi préparé dans une cuve de 1 cm et procéder à la détermination de son absorbance par rapport à celle du hexane ou cyclohexane dans la cuve témoin.

- Les absorbances sont déterminées aux longueurs d'ondes 270 nm et 232 nm.

- Si F absorbance est inférieure à 0.2, recommencer la mesure sur une solution plus concentrée.

- Si elle est supérieure à 0,8 recommencer la mesure sur une solution plus diluée.

Méthode de calcul :

L'extinction spécifique aux longueurs d'ondes précisées est calculée par la formule suivante :

$$E = \frac{A_{\lambda}}{C}$$

A_{λ} = l'absorbance mesurée à la longueur d'onde (λ)

C = la concentration en g/100 ml de la solution