

115410-779
~~115410-779~~
17540-074

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur
Université de Guelma
Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière
Département des Sciences de la Matière

Mémoire du Projet de fin d'étude
Master 2



Spécialité : CHIMIE PHYSIQUE ET ANALYTIQUE

Présenté par :

Khaled Amira
Grabsi Assia

Étude de la stabilité thermique de l'huile d'olive
« Effet des métaux »

Sous la Direction de :

Dr. Nigri Soraya

Juin 2013



Avant tout

*Louange à Dieu, Seigneur des mondes,
Le très Miséricordieux, le tout Miséricordieux,
Maître du jour de la Rétribution,
C'est toi que nous adorons, et c'est toi dont nous implorons secours,
Guide-nous dans le chemin droit,*

*Le chemin de ceux que tu as comblés de bienfaits,
Non pas de ceux qui ont encouru colère, ni de ceux qui s'égarerent.
Je demande à Allah par ses plus beaux noms et attributs, qu'il mette
de la Sincérité dans ce modeste travail et qu'il m'en fasse bénéficiaire
dans ce Monde, ainsi que ceux qui le lisent, qui le publient et qui le
propagent.*

*Que la paix et la bénédiction d'Allah soient sur notre prophète
Mohammed, ses compagnons, sa famille et sur tous ceux qui le suivent
sur Le bon chemin jusqu'au dernier jour.*

Amen

REMERCIEMENTS

C'est grâce à dieu tout puissant que nous cueillons aujourd'hui le fruit de plusieurs années d'études.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à Melle Nigri Soraya qui nous a encadrées et pour les conseils éclairés qu'elle nous a prodigués durant toute la période de réalisation de ce travail. C'est grâce à son aide permanente, ses encouragements et sa disponibilité que ce travail a été mené à bien.

Veillez trouver dans ce modeste manuscrit le témoignage de notre grande reconnaissance, l'expression de notre haute considération et notre profond respect.

Nous tenons à remercier tous les membres du laboratoire d'Analyses Industrielles et Génie des Matériaux de l'université de Guelma.

Nous remercions également mesdames et messieurs les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'examiner ce travail.

Notre gratitude va aussi à tous les enseignants du département des sciences de la matière (chimie) de l'université de Guelma.

Enfin, nos remerciements s'adressent aussi à nos chères familles pour leurs dévouements et leurs encouragements.

À tous nos amis qui nous ont porté main forte dans l'accomplissement de notre tâche.

Titre	Page
Introduction Générale	P1
Chapitre I : Généralités sur l'huile d'olive	
I-1-Définitions	P3
I-2-L'huile d'olive vierge	P3
I-3- Composition et caractéristiques	P4
I-3-1-Les Acides Gras	P4
I-3-2-Les Triglycérides	P6
I-3-3- Les Tocophérols	P6
I-3-4- Les Pigments	P6
I-3-5- Les Composés Phénoliques	P7
I-3-6- Les Composés Aromatiques	P8
I-3-7- Les Hydrocarbures	P8
I-3-8-Les Stérols	P8
Chapitre II : Peroxydation des lipides (oxydation lipidique)	
II-1-Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides	P9
II-1-1-L'auto-oxydation	P9
A-Initiation	P9
B-Propagation	P10
C-Terminaison	P10
II-1-2-Photo-oxydation	P10
II-1-3-La peroxydation par catalyse enzymatique	P11
II-2-Les facteurs affectant l'oxydation des lipides	P11
II-2-1-Initiation par les formes activées de l'oxygène	P12
II-2-2-Initiation par les métaux	P12
II-3-Rôle du fer dans l'amorçage de la peroxydation des lipides	P12
II-4-Produits formés au cours de l'oxydation des lipides	P13
II-4-1-Produits primaires	P14
II-4-2-Produits secondaires	P15
II-5-Décomposition des peroxydes issus de la peroxydation des résidus d'acides oléique et linoléique	P17
Chapitre III- Spectroscopie Infrarouge	
III-1-Spectroscopie Infrarouge	P21

III-2-Spectroscopie Infrarouge a Transformée de Fourier (IRTF)	P22
III-2-1-Principe	P22
III-3-Application de la spectroscopie moyen infrarouge à l'étude des huiles	P25
A-Etude du degré d'insaturation des lipides	P25
B-Etude de la longueur de chaîne des lipides	P26
C-Dosage des lipides	P26
Chapitre IV-Chimimétrie	
IV-1-L'Analyse en Composantes Principales (ACP)	P27
Chapitre V-Méthode d'analyse et appareillage	
V-1- Préparation des échantillons	P29
V-2-Méthodes et Appareillage	P30
V-2-1-Analyse par Infrarouge	P30
V-2-2 -Analyse par l'Ultraviolet-Visible	P31
1- Détermination de K232 et K270	P31
2- 1-1-Mode opératoire	P31
2-Dosage quantitatif des chlorophylles	P32
2-1-Principe	P32
2-2-Appareillage	P32
2-3-Mode opératoire	P32
3-Dosage des caroténoïdes totaux	P33
3-1-Principe	P33
3-2-Mode opératoire	P33
V-2-3- propriétés physicochimiques	P34
1-Détermination de l'indice de peroxyde	P34
2-Détermination de l'indice d'acide	P35
2-1-Principe	P35
2-2-Mode opératoire	P35
Chapitre VI-Résultats et discussion	
VI-1-Analyse par Infrarouge à Transformé de Fourier	P36
VI-1-1-Comportement de l'huile en présence du Nickel et Témoin exposés à la lumière	P37
VI-1-2-Comportement d'huile en présence du Nickel et Témoin dans l'étuve	P37
VI-1-3-Comportement d'huile en présence du Nickel dans l'obscurité	P38

VI-1-4-Comportement de cuivre dans l'huile d'olive	P39
VI-1-5-Comportement de Chrome dans l'huile d'olive	P40
VI-1-6 -Comportement du Fer dans l'huile d'olive	P40
VI-2-Comparaison entre les différents métaux dans l'étuve et exposé à la lumière à 1746 cm ⁻¹	P41
VI-3-Comparaison entre les différents échantillons en présence des métaux dans l'étuve et exposés à la lumière à 3005 cm ⁻¹ et 722 cm ⁻¹	P43
VI-4- Etude par Ultraviolet-Visible	P44
VI-4-1-Détermination du coefficient d'extinction K232	P44
VI-4-2- Détermination du coefficient d'extinction K270	P44
VI-4-3- Teneur en carotènes	P45
VI-4-4- Teneur en chlorophylles	P46
VI-5-Etude par analyse en composantes principales (ACP)	P47
VI-5-1-Comportement des témoins exposés à la lumière et en présence de l'oxygène libre	P47
VI-5-2-Comportement du témoin exposé à la lumière et dans l'étuve	P47
VI-5-3-Comportement des échantillons en présence du cuivre dans différents conditions	P48
VI-5-4- Comportement des échantillons en présence du nickel dans différents conditions	P49
VI-5-5- Comportement des échantillons en présence du fer dans différents conditions	P50
VI-5-6- Comportement des échantillons en présence du chrome dans différents conditions	P51
VI-5-7-Comparaison des effets des métaux	P52
1- Influence du Cuivre et Nickel sur l'huile d'olive dans l'obscurité	P52
2- Influence du Cuivre et Fer sur l'huile d'olive dans l'obscurité	P53
3-Influence Cuivre et Chrome sur l'huile d'olive dans l'obscurité	P54
4-Influence du Nickel et Chrome sur l'huile d'olive dans l'obscurité	P55
5-Influence du Fer et Chrome sur l'huile d'olive dans l'obscurité	P56
6- Influence du Cuivre et Chrome sur l'huile d'olive exposée à la lumière	P57
7-Influence du Nickel et Chrome sur l'huile d'olive exposée à la lumière	P58
8- Influence du Nickel et Fer sur l'huile d'olive exposé à la lumière	P59
9- Influence du Fer et Chrome sur l'huile d'olive exposée à la lumière	P60

10-Témoin et influence du Chrome exposé à la lumière	P61
11-Témoin et huile contenant du Cuivre en présence d'oxygène libre (O ₂)	P61
VI-5-8- Comparaison d'effet des conditions	P62
1-Le comportement de l'huile en présence du Cuivre dans l'obscurité et exposée à la lumière	P62
2-Comportement des échantillons contenant du Cuivre dans l'obscurité et en présence d'oxygène libre	P63
3-Comportement de l'huile en contact direct avec le Cuivre dans l'obscurité et dans l'étuve	P64
4-Comportement de l'huile avec le Cuivre exposé à la lumière est dans l'étuve	P65
5-Comportement de l'huile en présence du Nickel dans l'obscurité et dans l'étuve	P66
Conclusion	P67
Référence Bibliographique	P69

Liste des schémas

Schéma	Titre	Page
Schéma I-1	Structure générale de Triglycérides	06
Schéma-II- 1	Mécanisme proposé pour l'oxydation des acides gras polyinsaturés en présence du Fer	15
Schéma-II-2	Mécanisme de décomposition des monoperoxydes en fonction de leur degré d'insaturation	16
Schéma-II-3	Mécanisme de décomposition des radicaux 8-, 9-, 10- et 11-peroxy oléique (Frankel, 1980)	18
Schéma –II-4	Mécanisme de décomposition du radical 9-peroxy-linoléique	19
Schéma –II-5	Mécanisme de décomposition du radical 13-peroxy-linoléique	20

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
Figure-II- 1	Schématisation de la cinétique d'oxydation des lipides riches en résidus d'acides gras polyinsaturés ; 1- initiation, 2-propagation, 3-terminaison	14
Figure -III-1	Schéma d'un spectromètre à transformée de Fourier	24
Figure-III-2	Interférogramme en sortie du détecteur	24
Figure -V-1	Spectromètre IR à Transformée de Fourier utilisé pour cette étude	30
Figure -VI-1	Spectres d'EVOO exposés à la lumière, dans l'étuve et en présence de l'oxygène libre	36
Figure -VI-2	Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du nickel et du témoin exposés à la lumière	37
Figure -VI-3	Evolution des bandes d'absorbance d'huile contenant nickel et du témoin dans l'étuve à 60°C	38
Figure -VI-4	Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du nickel à l'obscurité	38
Figure -VI-5	Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du cuivre à l'obscurité et exposé à la lumière.	39
Figure -VI-6	Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du cuivre dans l'étuve et en présence d'oxygène libre.	39
Figure -VI-7	Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du chrome à l'obscurité et exposée à la lumière.	40
Figure -VI-8	Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du chrome dans l'étuve et en présence de l'oxygène libre.	40
Figure -VI-9	Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du fer à l'obscurité et exposée à la lumière.	41
Figure -VI-10	Evolution des bandes d'absorbance d'huile en	41

Liste des Figures

	présence du fer dans l'étuve à 60°C.	
Figure -VI-11	Evolution des bandes d'absorbance des huiles en présence du fer, nickel, cuivre, chrome et le témoin à 1746 cm ⁻¹ dans l'étuve.	42
Figure -VI-12	Evolution des bandes d'absorbance des huiles en présence du fer, nickel, cuivre, chrome et le témoin à 1746 cm ⁻¹ exposées à la lumière.	42
Figure- VI-13	Evolution des bandes d'absorbance des échantillons du fer, nickel, cuivre, chrome et le témoin à 3005 cm ⁻¹ exposés à la lumière et dans l'étuve.	43
Figure -VI-14	Evolution des bandes d'absorbance des échantillons en présence du fer, nickel, cuivre, chrome et le témoin à 722 cm ⁻¹ exposés à la lumière et dans l'étuve.	43
Figure -VI-15	Projection du témoin exposé à la lumière et dans l'aire (O ₂) dans le premier plan factoriel.	47
Figure -VI-16	Projection des témoins exposés à la lumière et dans l'étuve dans le premier plan factoriel.	48
Figure -VI-17	Projection des échantillons contenant le cuivre à l'obscurité, exposé à la lumière, mis dans l'étuve et dans l'aire (O ₂) dans le premier plan factoriel.	49
Figure -VI-18	Projection du nickel à l'obscurité, exposé à la lumière, mis dans l'étuve et dans l'aire (O ₂) dans le premier plan factoriel.	50
Figure -VI-19	Projection des échantillons en présence du fer à l'obscurité, exposé à la lumière, mis dans l'étuve et dans l'aire (O ₂) dans le premier plan factoriel.	51
Figure -VI-20	Projection des échantillons en présence du chrome à l'obscurité, exposés à la lumière, mis dans l'étuve et dans l'aire (O ₂) dans le premier plan factoriel.	52

Liste des Figures

Figure -VI-21	Projection des échantillons contenant le cuivre et le nickel à l'obscurité dans le premier plan factoriel.	53
Figure- VI-22	Projection des échantillons contenant le cuivre et le fer à l'obscurité dans le premier plan factoriel.	54
Figure -VI-23	Projection des échantillons contenant le cuivre et le chrome à l'obscurité dans le premier plan factoriel.	55
Figure -VI-24	Projection des échantillons contenant le nickel et le chrome à l'obscurité dans le premier plan factoriel.	56
Figure -VI-25	Projection des échantillons contenant le fer et le chrome à l'obscurité dans le premier plan factoriel.	57
Figure -VI-26	Projection des échantillons contenant le cuivre et le chrome exposée à la lumière dans le premier plan factoriel	58
Figure -VI-27	Projection des échantillons contenant le nickel et le chrome exposée à la lumière dans le premier plan factoriel	59
Figure -VI-28	Projection des échantillons contenant le nickel et le fer exposés à la lumière dans le premier plan factoriel.	60
Figure -VI-29	Projection des échantillons contenant le fer et le chrome exposée à la lumière dans le premier plan factoriel.	60
Figure -VI-30	Projection des échantillons contenant le témoin et le chrome exposée à la lumière dans le premier plan factoriel.	61
Figure -VI-31	Projection des échantillons contenant le témoin et le cuivre dans l'air dans le premier plan factoriel.	62
Figure -VI-32	Projection des échantillons d'huile en présence du cuivre à l'obscurité et exposée à la lumière dans le premier plan factoriel	63
Figure -VI-33	Projection des échantillons d'huile avec le cuivre à l'obscurité et en présence d'oxygène dans le premier plan factoriel	64

Liste des Figures

Figure -VI-34	Projection des échantillons d'huile avec le cuivre à l'obscurité et dans l'étuve dans le premier plan factoriel	65
Figure -VI-35	Projection des échantillons cuivre exposé à la lumière et dans l'étuve dans le premier plan factoriel	65
Figure -VI-36	Projection des échantillons contenant du nickel à l'obscurité et dans l'étuve dans le premier plan factoriel	66

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I-1	Données physico-chimiques de classification des huiles	04
Tableau I-2	Composition en acides gras de l'huile d'olive	05
Tableau-I- 3	Structure des tocophérols et des tocotriénols	06
Tableau-V-1	Composition de 100 g de l'huile étudiée	29
Tableau-V-2	Mesures des absorbance à $\lambda= 232$ et $\lambda=270$ nm	32
Tableau-V-3	Mesures des absorbance à $\lambda= 470$ et $\lambda=670$ nm	34
Tableau VI-1	Paramètres physico-chimiques de l'huile d'olive extra vierge étudiée.	36
Tableau VI-2	Mesures des coefficients spécifiques K232 et K270.	45
Tableau VI-3	Mesures des teneurs en carotène et en chlorophylle.	46

INTRODUCTION

Introduction

L'oxydation des lipides constitue un des facteurs responsables de la détérioration des aliments complexes. C'est un problème qui touche les produits industriels. L'impact de l'oxydation des lipides est triple : impact nutritionnel et organoleptique qui se traduit par dégradation des vitamines liposolubles et des acides gras essentiels ; développement de saveurs anormales, changement de couleur. Une diminution de la qualité sanitaire par la formation des radicaux libres qui favorisent le développement de certaines maladies telle que l'artériosclérose. L'impact économique se manifeste sous forme de perte de la valeur marchande suite à l'oxydation qui déprécie la qualité du produit. C'est le cas, par exemple, des huiles d'olive vierges dont le prix est fonction de la qualité : « extra », « fine », « courante » et « lampante ». Cette oxydation est accélérée par la chaleur, la lumière, l'humidité ou la présence de métaux de transition.

La stabilité oxydative des lipides dépend de leur composition et de l'environnement auquel ils sont exposés, de la concentration de trois facteurs, le substrat, les catalyseurs de l'oxydation et des antioxydants. L'équilibre est cependant perturbé par les paramètres environnementaux qui vont favoriser l'oxydation ou l'empêcher. L'oxydation lipidique peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs.

L'auto-oxydation de la matière grasse 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.

La plupart des tests d'oxydation d'huiles conduisent rarement à une image globale du processus d'oxydation et prennent beaucoup de temps. Parmi les méthodes d'analyse utilisées, le moyen infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) s'est avéré très performant en apportant une information globale.

Le but de ce travail est de développer par IRTF une méthode simple et rapide pour suivre l'évolution de la composition d'une huile d'olive extra vierge ayant subi une oxydation contrôlée (effet des métaux, chauffage, oxygène libre et la lumière) et évaluer l'impact de

quelques métaux de transition tel que le fer, le cuivre, le chrome et le nickel. Des indices spectroscopiques peuvent être utilisés pour comparer l'influence de présence de chaque métal.

Des analyses par UV-visible ont été réalisées pour évaluer la réactivité de l'huile d'olive extra vierge vis-à-vis des conditions oxydatives en se basant sur des indices spectrométriques : K232, K270, les teneurs en chlorophylles et caroténoïdes.

Une Analyse en Composantes Principales (ACP) peut différencier les différents stades de l'oxydation et impact de chaque métal.

Nous commencerons par consacrer le premier chapitre aux généralités sur l'huile d'olive qui fait l'objet de notre étude. Dans le deuxième chapitre, nous présenterons l'oxydation et les mécanismes de dégradation de l'huile d'olive. Le chapitre trois sera réservé pour l'infra rouge et ces applications dans le domaine des huiles. Dans le chapitre quatre, nous présenterons les méthodes chimiométriques, l'outil statistique utilisé dans cette étude. Les méthodes d'analyses et l'instrumentation utilisées dans ce travail et la préparation des échantillons seront décrites dans le chapitre cinq. Nous détaillerons dans le chapitre six la discussion des résultats trouvés.

Chapitre I :

Généralité sur l'huile d'olive

I-Généralités sur l'huile d'olive :

I-1-Définitions :

L'huile d'olive est l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

I-2-L'huile d'olive vierge :

Elle est obtenue de fruit de l'olivier uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques dans des conditions, thermiques notamment, qui n'entraînent pas d'altération de l'huile, et n'ayant subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration.

I-2-1 Caractéristiques qualitatives des huiles vierges

Certains organismes proposent une classification rapide des huiles en fonction de leur acidité libre. Cependant les critères de sélection ou d'exclusion d'une huile dans une catégorie sont très nombreux. Ils peuvent être spécifiques à une catégorie d'huile ou plus généraux. Le suivi de ces différents critères est nécessaire car une dégradation de la qualité de l'huile peut avoir de nombreuses conséquences tant d'un point de vue nutritionnel que d'un point de vue risque sanitaire. En effet, certains composés tels que les acides gras poly-insaturés (acides gras essentiels) ou la vitamine E sont parmi les acteurs principaux de l'intérêt nutritionnel de l'huile d'olive, mais ils sont très sensibles à l'oxydation. Une huile oxydée aura un intérêt nutritionnel plus faible qu'une huile bien conservée. Les produits d'oxydation des acides gras (radicaux peroxydes) pourraient potentiellement entraîner des mutations génétiques à l'origine de certains cancers.

Tableau-I-1 : Données physico-chimiques de classification des huiles [1]

Classe	Acidité (% acide oléique)	Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	Extinction spécifique à 270 nm E _{1cm} [%]
Huile d'olive extra vierge	<1.0	< 20	< 0.25
Huile d'olive vierge	<2.0	< 20	<0.30
Huile d'olive vierge ordinaire	<3.3	< 20	< 0.30
Huile d'olive raffinée	<0.3	< 5	< 1.10
Huile d'olive	<1.5	< 15	< 0.90
Huile de grignon d'olive raffinée	<1.5	< 5	< 2.00
Huile de grignon d'olive	<1.5	< 15	< 1.70

I-3- Composition et caractéristiques :

L'huile d'olive contient un grand nombre de composés structurellement hétérogènes dont les principaux sont les triacylglycérols (>95%), une faible quantité d'acides gras libres, du glycérol, des pigments, et un grand nombre de composants dits «mineurs» présents en faibles quantités (0,5 à 1,5%) et qui ont des effets bénéfiques. On peut séparer ces composés en tocophérols, phénols, composés aromatiques, hydrocarbures et stérols [2].

Aparicio et ses collaborateurs [3] ont estimé la contribution des composés phénoliques, acides gras, l' α -tocophérol et les pigments dans la stabilité de l'huile, à environ 30%, 27%, 11% et 6% respectivement. De nombreux facteurs affectent la caractérisation de l'huile d'olive, rassemblés dans quatre groupes principaux : environnemental (sol, climat), agronomique (irrigation, fertilisation), culture (maturité et récolte du fruit d'olive) et technologique (entreposage après la récolte, système d'extraction) [4].

I-3-1-Les 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 estérifiée. Ils représentent 90 à 96% de la masse molaire des lipides [5]. En règle générale, ces acides gras sont mono carboxylique à chaîne linéaire non ramifiée comprenant un nombre paire d'atome de carbone compris entre 4 et 24. Ils peuvent être saturé ou non saturé :

A-Les acides gras saturés :

Ils ont pour formule générale CH₃-(CH₂)_n-COOH, sont solide à température ambiante. Les plus rencontrés sont l'acide palmitique (C₁₆ : O) et l'acide stérique (C₁₈ : O).

B-Les acides gras insaturés :

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

➤ **Les acides gras mono-insaturés :**

Deux atomes de carbone consécutifs de la molécule sont unis par une double liaison exemple : l'acide oléique (C₁₈ :1).

➤ **Les acides gras poly-insaturés :**

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) [6].

La composition en acides gras de l'huile d'olive joue un rôle important au niveau de sa qualité nutritionnelle, avec la présence en grande quantité d'acide oléique (acide gras mono insaturé). C'est l'importance de l'apport d'acides gras mono-insaturés avec un taux d'acide oléique pouvant atteindre 83%, qui confère son originalité à l'huile d'olive, ainsi que ses vertus en termes de santé notamment au niveau des maladies cardiovasculaires [4].

Tableau-I-2: Composition en acides gras de l'huile d'olive [7]

Acides Gras	Structure	Limites (%)
Acide myristique	C14:0	0- 0,1
Acide palmitique	C16 :0	7,5-20,0
Acide palmitoléique	C16 :1	0,3-3,5
Acide heptadécanoïque	C17 :0	0- 0,5
Acide heptadécénoïque	C17 :1	0- 0,6
Acide stéarique	C18 :0	0,5-5,0
Acide oléique	C18 :1	55,0-83,0
Acide linoléique	C18 :2	3,5-21,0
Acide linoléique	C18 :3	0- 1,5
Acide arachidique	C20 :0	0- 0,8
Acide eicosénoïque	C20 :1	Non spécifié
Acide béhénique	C22 :0	0- 0,2
Acide lignocérique	C24 :0	0- 0,1

I-3-2-Les Triglycérides :

Ce sont des esters dérivés du glycérol, cet alcool possède trois fonctions hydroxyles (schéma I-1).

Si une seule de ces fonctions hydroxyles est libre, il s'agit de diglycérides et si deux des fonctions hydroxyles sont libres, on parle de monoglycérides [8].

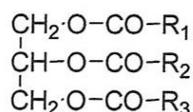


Schéma-I-1 : Structure générale de Triglycérides.

I-3-3- Les Tocophérols :

Les vitamines sont des substances organiques, sans valeur énergétique propre, qui sont nécessaires à l'organisme et que l'homme ne peut synthétiser en quantité suffisante [9]. En effet, ces composés sont des antioxydants naturels et leur présence confère une certaine stabilité à l'huile d'olive. Parmi ceux-ci, nous pouvons citer comme exemple l' α -tocophérol, le β -tocophérol, le δ -tocophérol et le γ -tocophérol. La teneur en tocophérol dans l'huile d'olive varie entre 50 et 150 mg/Kg [8]. Le tableau I-3 résume la structure des tocophérols.

Tableau-I-3: Structure des tocophérols et des tocotriénols [10]

Formule Brute	Masse molaire g/mol	R₁	R₂	R₃
α : C ₂₉ H ₅₀ O ₂	430,7	CH ₃	CH ₃	CH ₃
β : C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416,7	CH ₃	H	CH ₃
γ : C ₂₈ H ₄₈ O ₂	416,7	H	CH ₃	CH ₃
δ : C ₂₇ H ₄₆ O ₂	402,6	H	H	CH ₃

I-3-4- Les Pigments :

La couleur de l'huile d'olive est essentiellement liée à la présence des chlorophylles, de la phéophytine ainsi qu'aux caroténoïdes [11]. La chlorophylle est un chlorine (quatre noyaux pyrroles en cercle), chélatant un atome de magnésium au centre, ainsi qu'un alcool à longue chaîne, le phytol. Elle présente une structure comparable à celle de l'hème (présente dans les globules rouges sanguins). C'est la présence, dans sa structure, de nombreuses doubles liaisons conjuguées qui permet une absorption du rayonnement lumineux. Les chaînes

latérales de chlorine sont variables et ceci entraîne une modification du spectre d'absorption entre les différentes familles de chlorophylles [12]. La composition et la teneur totale des pigments naturellement présents dans l'huile, sont des paramètres importants parce qu'elles sont corrélées à la couleur, qui est un attribut de base pour évaluer la qualité d'huile d'olive. Les pigments sont également impliqués dans les mécanismes de l'auto-oxydation et de la photo-oxydation. Leur contenu dans l'huile d'olive s'étend entre 1 et 20 ppm [13] mais change selon la variété, la température et la durée du traitement thermique de l'olive [14], ainsi que la culture, le sol, le climat, et le degré de maturation du fruit [13]. Par ailleurs, Mínguez-Mosquer et ses collaborateurs [15] ont constaté qu'environ 80% et 40% de chlorophylle et de caroténoïde respectivement, sont perdus pendant l'extraction de l'huile olive. Cependant, la teneur des pigments chlorophylliens est plus élevée dans l'huile d'olive extraite par centrifugation et percolation, en raison de l'utilisation des broyeurs métalliques dans le meulage d'olive. Les broyeurs brisent les cellules de la pulpe d'olive, ainsi, les pigments sont libérés et les huiles obtenues sont plus vertes [16]. De plus, l'huile d'olive particulièrement riche en chlorophylles, est plus sensible à l'oxydation [17].

A la lumière, la chlorophylle favorise la formation des radicaux de l'oxygène et accélère l'oxydation mais dans l'obscurité, la chlorophylle agit en tant qu'antioxydant.

I-3-5- Les Composés Phénoliques:

La pulpe de l'olive contient des composés phénoliques simples et complexes qui passent dans l'huile en augmentant ainsi sa stabilité oxydative et en améliorant le goût. Owen et ses collaborateurs [18] ont évalué le potentiel antioxydant de différents composés phénoliques de l'huile d'olive et observé qu'un grand nombre d'entre eux, ont des propriétés antioxydantes ; c'est le cas notamment de l'acide vanillique, l'acide gallique, l'acide caféique, le tyrosol, l'hydroxytyrosol, du 1-acétoxypinorésinol et de l'oleuropéine [19]. Par ailleurs, des études ont montré que les phénols simples et les acides phénoliques comme les flavonoïdes jouent un rôle capital dans l'élimination et la détoxification des radicaux libres, et permettent d'augmenter la résistance des LDL à l'oxydation et d'inhiber la peroxydation des lipides [20]. La teneur en composés phénoliques de l'huile d'olive est fonction de la variété des olives, de leur maturité au moment de la récolte, de l'environnement et des conditions de traitement [21]. Le système d'extraction utilisé (classique, centrifuge, percolation) est critique pour le contenu total des poly-phénols. Les huiles produites par le système de centrifugation continu ont généralement un contenu de polyphénol inférieur à celui des huiles extraites au moyen d'autres systèmes, car l'eau tiède utilisée dilue la pâte d'olive et par conséquent dissout

partiellement les polyphénols. En revanche, le système de presse qui ne nécessite pas d'eau supplémentaire n'affecte pas le taux de ces poly-phénols. Di Giovacchino et al, [22] évaluent la différence à environ 50%, tandis que De Felice et al, [23] trouvent une différence de 5 à 40% quand les mêmes olives sont transformées dans les systèmes classiques et continus. Les valeurs des phénols totaux trouvées varient entre 50-200 ppm alors que dans les huiles extraites par les presses classiques, elles étaient légèrement inférieures [24].

I-3-6- Les Composés Aromatiques:

On estime que plus de 70 composés contribuent au parfum et au goût particulier de l'huile d'olive. Parmi ceux-ci figurent des produits de dégradation d'acides gras insaturés tels que les aldéhydes dont le prédominant est l'hexanal [25]. De plus, Kubo et al [26], ont observé l'activité antimicrobienne de molécules appartenant à une large classe des composés aromatiques.

I-3-7- Les Hydrocarbures:

Le squalène est le principal hydrocarbure de l'huile d'olive, c'est un triterpène qui apparaît dans la voie de la biosynthèse du cholestérol. Sa présence dans l'huile d'olive est d'environ 400-450mg/100g [27]. Outre le squalène, l'huile d'olive contient aussi d'autres hydrocarbures, mais en très faibles quantités tels que le β -carotène (provitamine A): 0,03-0,36mg/100g.

I-3-8- Les Stérols:

C'est une famille de constituants essentiels des membranes cellulaires, d'origine animale et végétale. Ils ont le même noyau et diffèrent par leur chaîne latérale. La quantité totale de stérols dans l'huile d'olive extra vierge varie de 113 à 265mg/100g [28]. Dans l'huile d'olive, le principal stérol est le β -sitostérol, représentant jusqu'à 90-95% du total, et qui a une action anticarcinogène [29]. Le campistérol et le stigmastérol comptent respectivement pour 3% et 1% du total. Il a été montré que les quantités de phytostérols apportées par un régime riche en huile d'olive extra vierge aient un effet bénéfique sur les concentrations sériques de cholestérol [30].

Chapitre II :
Oxydation lipidique

II-Peroxydation des lipides (oxydation lipidique) :

La détérioration de la qualité des aliments par voie peroxydative est le problème majeur des procédés de transformation ou de conservation des aliments (huiles et graisses, seules ou constitutives des aliments). La peroxydation lipidique aboutit à la dégradation des propriétés biochimiques organoleptiques et nutritionnelles des aliments [31]. Enfin, l'ingestion des produits de peroxydation des lipides pourrait à long terme, participer au développement de pathologies dégénératives telles que des désordres intestinaux chroniques, l'artériosclérose, ou encore divers cancers [32]. La majorité des pathologies est liée à la formation progressive d'espèces radicalaires [33].

Les facteurs qui influencent l'oxydation des lipides sont nombreux. Il s'agit d'une part de facteurs intrinsèques tels que la composition en résidus d'acides gras des lipides (nombre et position d'insaturations), la présence de pro-oxydants (ions métalliques, hèmes, enzymes) ou d'antioxydants naturels (tocophérols, caroténoïdes, etc.). D'autre part, les principaux facteurs extrinsèques sont la température, la lumière, la pression partielle en oxygène, l'activité de l'eau, etc. [34].

II-1-Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides :

L'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

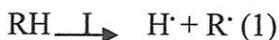
- l'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres ;
- la photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs
- L'oxydation enzymatique initiée par la lipoxygénase [45].

II-1-1-L'auto-oxydation :

La peroxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Elle correspond à une fixation d'oxygène sur des molécules insaturées. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes : l'amorçage (initiation), la propagation et la terminaison.

A-Initiation :

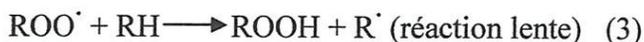
En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre de lipide (R°) (radical, lipoyle).



Ce mode d'initiation, favorisé par une élévation de température, peut être produit par des radiations ionisantes, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatiques ou chimiques produisant des espèces activées de l'oxygène, ou de traces métalliques.

B-Propagation :

Les radicaux libres formés fixent l'oxygène moléculaire et forment des radicaux libres peroxydes instables (2) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras pour former des hydroperoxydes (3).



C-Terminaison :

Les radicaux formés réagissent entre eux pour conduire à un produit qui n'est pas un radical libre.



Les hydroperoxydes peuvent également se décomposer par scission homolytique de la liaison O-O pour former un radical alcoyl et un radical hydroxyl. Le radical alcoyl réagit avec d'autres substrats et propage la réaction en chaîne. Il peut également subir une scission carbone-carbone de part et d'autre du radical pour former un radical alkyl et un radical vinyl. Le radical alkyl peut réagir avec un hydrogène, un radical hydroxyl ou une molécule d'oxygène générant ainsi des hydrocarbures, des alcools et d'autres hydroperoxydes. Le radical vinyl peut réagir avec un radical hydroxyl, un radical hydrogène ou l'oxygène moléculaire pour générer des aldéhydes et des hydrocarbures [35].

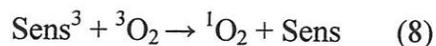
II-1-2-Photo-oxydation :

La photo-oxydation est une voie importante de production de peroxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines, la riboflavine [36] ou d'autres pigments. Les photosensibilisateurs (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité (Sens³) [37]. Les photosensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes [38].

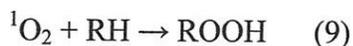
Les photosensibilisateurs de type I, telle que la riboflavine, agissent comme les radicaux libres initiateurs, dans leur état triplet, en arrachant un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène (Réaction 7).



Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité (Sens^3) avec l'oxygène triplet (état de base) auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$: état énergétiquement élevé) (Réaction 8).



L'oxygène singulet ainsi formé est très électrophile ($^1\text{O}_2 = [\cdot\text{O}-\text{O}\cdot]$). C'est un diradical. Il peut réagir directement avec un acide gras insaturé (RH) et former ainsi un hydroperoxyde ROOH (Réaction 9).



Par la suite interviennent les réactions radicalaires en chaîne de l'auto-oxydation. Les peroxydes ainsi formés sont différents de ceux formés par photo-oxydation [38].

La photo-oxydation est plus rapide que l'auto-oxydation, la cinétique de la réaction du linoléate avec l'oxygène sous son état singulet est approximativement 1500 fois plus rapide que l'oxygène sous son état triplet [39].

Dans les huiles végétales, la présence des molécules photosensibles favorise la photo oxydation [40].

II-1-3-La peroxydation par catalyse enzymatique :

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés peut être d'origine enzymatique. Les deux enzymes principalement impliquées sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase [37].

La lipoxygénase 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. La cyclooxygénase est une lipoxygénase qui incorpore deux molécules d'oxygène au niveau d'un acide gras pour former des hydroperoxydes spécifiques.

L'oxydation enzymatique se produit même à basse température. Durant le stockage à l'état congelé l'activité enzymatique est très faible. Cependant, une fois la décongélation amorcée et des températures de 0°C à 4°C atteintes, il semblerait que cette activité reprenne et ; s'accroisse [35].

II-2-Les facteurs affectant l'oxydation des lipides :

L'oxydation des lipides est une réaction lente particulièrement à basse température. La phase d'initiation de l'oxydation des lipides peut être déclenchée par plusieurs facteurs tels que l'oxygène activé, les enzymes, la température, la lumière ou les traces de métaux [40].

II-2-1-Initiation par les formes activées de l'oxygène :

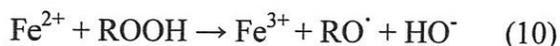
L'oxygène moléculaire est, dans son état fondamental, à l'état triplet. Il ne peut réagir directement avec les lipides car la barrière de spin est trop élevée. La réaction de l'oxygène avec les acides gras insaturés est rendue possible par trois types de mécanismes. Le premier correspond aux voies de l'auto-oxydation qui résultent du départ d'un hydrogène d'une chaîne d'acide gras sous l'influence de différents initiateurs comme les ions des métaux de transition, et les formes activées de l'oxygène comme le radical hydroxyle. Le radical hydroxyle est très réactif, il peut arracher un hydrogène et former ainsi un radical alkyle qui va initier la peroxydation lipidique. Le second mécanisme est la formation d'oxygène singlet capable de réagir directement avec les chaînes grasses. C'est ce qui se produit généralement lors de la photo-oxydation. La troisième est liée à l'intervention d'enzymes permettant une fixation directe de l'oxygène moléculaire [35].

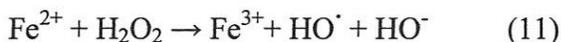
II-2-2-Initiation par les métaux :

Les catalyseurs métalliques sont des groupes de métaux lourds possédant deux ou plusieurs états de valence et des potentiels d'oxydoréduction entre eux comme le Cobalt, Cuivre, Fer, Manganèse, Nickel. Généralement ils augmentent le taux d'oxydation des lipides dans les aliments et diminuent le temps nécessaire d'induction de l'oxydation c'est -à-dire le temps durant lequel l'oxydation apparaît [41]. Ils peuvent affecter la réaction d'initiation, de propagation et de terminaison aussi bien que le taux de décomposition des hydroperoxydes. L'initiation de l'oxydation lipidique par les métaux peut se faire par transfert d'électron ou par formation de complexe de transition ou de complexes avec le peroxyde d'hydrogène qui catalysent l'auto-oxydation et la décomposition des hydroperoxydes par des réactions de type redox [42].

II-3-Rôle du fer dans l'amorçage de la peroxydation des lipides :

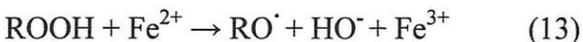
La toxicité du fer est souvent attribuée à son action dans la production de radicaux et peroxydes. Actuellement, il n'y a aucun doute que le fer est un catalyseur dans les processus de la peroxydation des lipides, mais le mécanisme par lequel la peroxydation des lipides s'opère n'est pas complètement élucidé. Les deux mécanismes les plus connus de peroxydation des lipides en présence de fer sont : (i) la réaction de Fenton et (ii) la réaction d'Haber-Weiss. Dans la première réaction, le fer, dans son état de valence moins élevé, décompose une molécule de peroxyde en radical libre, avec oxydation simultanée de l'ion métallique ce qui conduit le fer à un état de valence le plus élevé (Réaction 10 et Réaction 11).





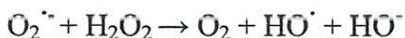
Dans la seconde réaction (ii), le métal dans son état de valence plus élevé dégrade un nouveau peroxyde et se réduit pour repasser à son état de valence moins élevé mais qui est plus réactive (Réaction 14) proposés par [43].

Cette réaction en chaîne peut se répéter plusieurs fois et provoque ainsi une forte dégradation de la fraction lipidique que ce soit in vivo ou in vitro où sont toujours présents des ions métalliques à l'état de trace (Réaction 12 et Réaction 13).

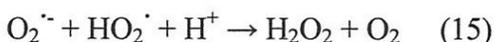
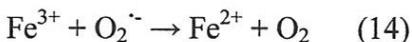


Les peroxydes formés (ROOH) peuvent se scinder en présence d'ions ferreux, en formant des espèces radicalaires plus réactives, comme ROO^\cdot , alkoxy (RO^\cdot), ou le radical epoxyperoxyl (OROO^\cdot). Ces espèces (ROO^\cdot , RO^\cdot , OROO^\cdot) peuvent arracher les atomes d'hydrogène des lipides et donc propager la peroxydation des lipides.

La deuxième réaction, dite de Haber-Weiss peut aussi s'opérer différemment de celle [44].



Les Réactions 14 et 15 correspondent à l'initiation de la peroxydation lipidique in vivo et in vitro via l'ion de fer trivalent en présence de radical anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$).



II-4-Produits formés au cours de l'oxydation des lipides :

L'oxydation des lipides conduit à la formation de produits primaires : hydroperoxydes, radicaux libres, diènes conjugués, très instables et rapidement décomposés en produits secondaires : aldéhydes, alcools, cétones. Ainsi, lors du développement des ; réactions d'oxydation vont successivement apparaître les produits primaires et secondaires de l'oxydation [45].

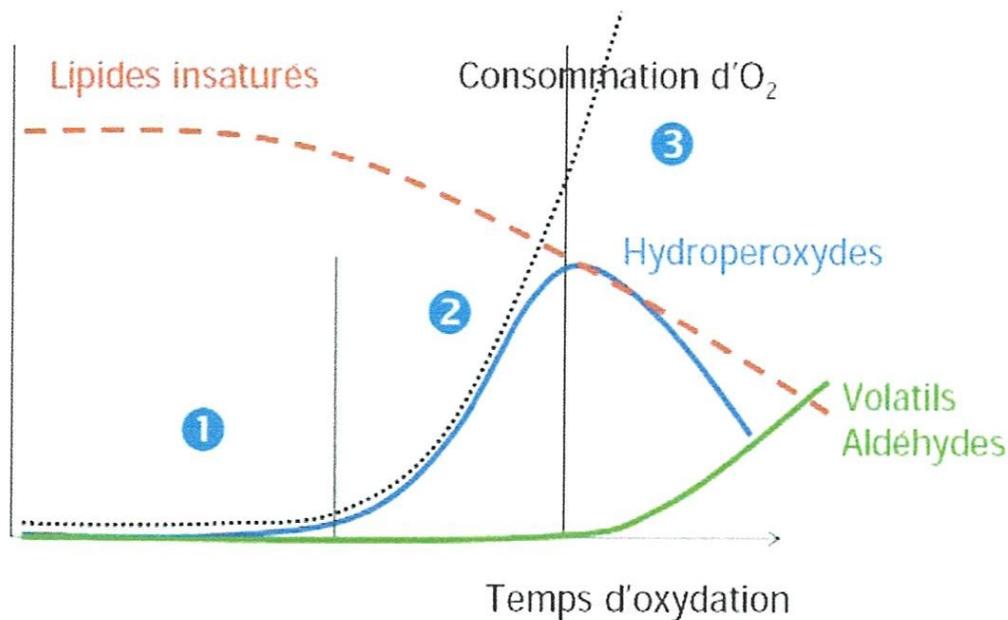


Figure-II-1: Schématisation de la cinétique d'oxydation des lipides riches en résidus d'acides gras polyinsaturés ; 1-initiation, 2-propagation, 3-terminaison [45].

II-4-1-Produits primaires :

Des radicaux libres sont formés au cours des phases d'initiation et de propagation de la réaction d'oxydation des lipides. Ces espèces très instables et très réactives sont des composés cytotoxiques susceptibles d'induire des altérations des molécules d'ADN [46] et des protéines. Les diènes conjugués, se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical lipoylé des acides gras polyinsaturés. Les hydroperoxydes sont des produits intermédiaires de l'oxydation des lipides sans odeur spécifique, ils se décomposent rapidement. Ce sont les précurseurs des composés volatils [35].

En revanche, ils se décomposent en présence de traces de métaux ou sous l'effet de la chaleur. Les peroxydes ROOH peuvent également devenir des radicaux RO[•] (alkoxylys). Une fois le radical alkoxylyl formé, il peut de nouveau propager la peroxydation lipidique par réaction en chaîne, conduisant ainsi à la formation de peroxydes, accompagné par la consommation d'oxygène (le cycle étant représenté dans le Schéma II-1). Ce sont les précurseurs des composés volatils [45].

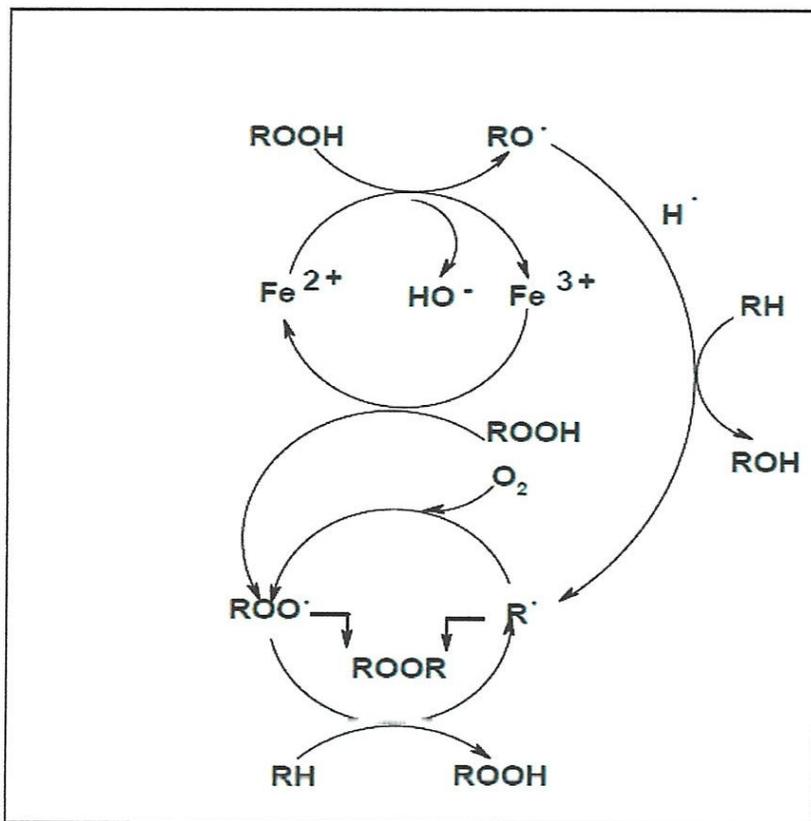


Schéma-II- 1: Mécanisme proposé pour l'oxydation des acides gras polyinsaturés en présence du Fer [47].

II-4-2-Produits secondaires :

La scission des produits primaires de l'oxydation conduit à la formation de composés secondaires souvent volatils (Schéma II-2). Les composés secondaires volatils (aldéhydes, alcools, cétones...) sont alors des produits responsables de dégradations ou de l'apparition d'odeurs pour les huiles oxydés. La nature de ces composés est fonction de la nature du radical présent et du degré d'insaturation de la chaîne du résidu d'acide gras (Schéma II-2).

la rupture homolytique, et des autres espèces réactives (oxygène, métaux, donneurs et capteurs d'hydrogène) présentes lors de la décomposition [49]. De nombreuses fonctions chimiques sont représentées parmi lesquelles, on trouve des alcanes et alcynes, des furanes substitués, des alcools, cétones et aldéhydes saturés et insaturés. Quantitativement, les aldéhydes représentent une part importante des produits formés. D'où généralement ces odeurs de friture d'huile peroxydée [45].

II-5-Décomposition des peroxydes issus de la peroxydation des résidus d'acides oléique et linoléique :

L'acide oléique est le représentant principal des acides gras de la série n - 9. Le radical oléyl est présent majoritairement dans l'huile d'olive (53 à 80 % selon la provenance), mais aussi dans l'huile de tournesol (50 à 83 %), de colza (58 à 60 %), d'arachide (35 à 66 %), etc [50].

La décomposition des peroxydes de résidus d'acide oléique (Schéma II-3) conduit principalement pour les radicaux 8-, 9-, 10-, et 11-peroxy oléique, à la formation de décanal et undéc-2-énal, nonanal et déc-2-énal, octane, octan-1-ol et nonanal, heptane, heptan-1-ol et octanal.

Les acides carboxyliques, indiqués entre parenthèses sur le schéma II-3, ne sont libérés que lors de l'oxydation de l'acide gras non estérifié. Les proportions relatives des composés volatils formés varient notamment avec la durée et la température d'oxydation [48]. Ils peuvent, dans un premier temps, subir une interconversion par rupture de la liaison C-O, suivie d'une migration (réarrangement) de la double liaison et de la formation d'un autre radical (Schéma II-3 ; résidu d'acide oléique et Schéma II-4 ; résidu d'acide linoléique).

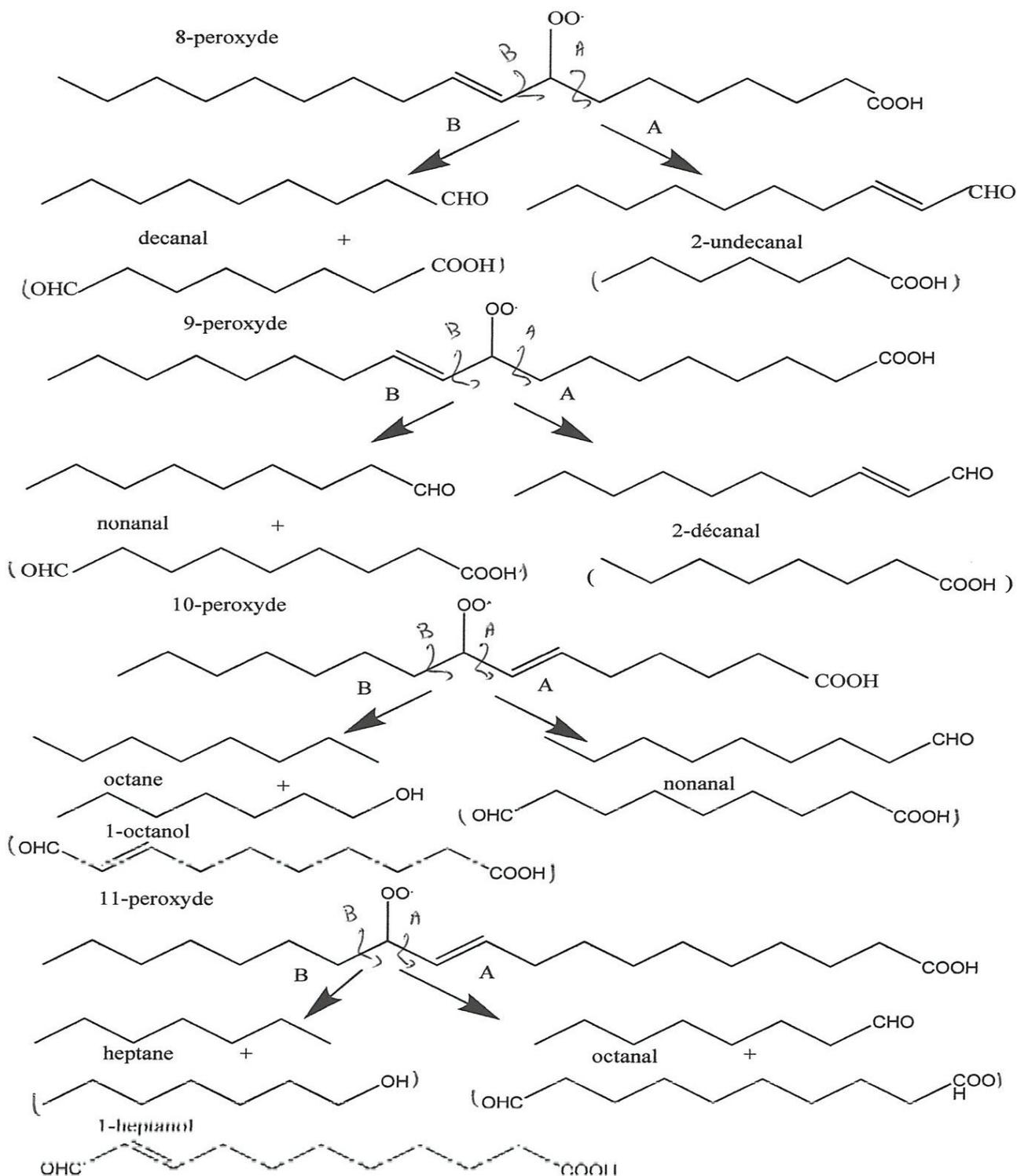


Schéma-II-3 : Mécanisme de décomposition des radicaux 8 , 9 , 10 et 11 peroxy oléique

[42].

11(E) 13-peroxy-linoléique suit aussi deux voies, A et B, qui passent par la formation principalement de pentane, pentanol, pentanal et d'hexanal (Schéma II-5). Les résidus d'ester de l'acide pentanoïque et hexanoïque se formeraient par oxydation des aldéhydes correspondants [48]. Par contre, la proportion de chacun des composés varie avec les conditions d'oxydation (temps et température) ainsi qu'avec le type de substrat (acide gras, ester méthylique ou glycéride).

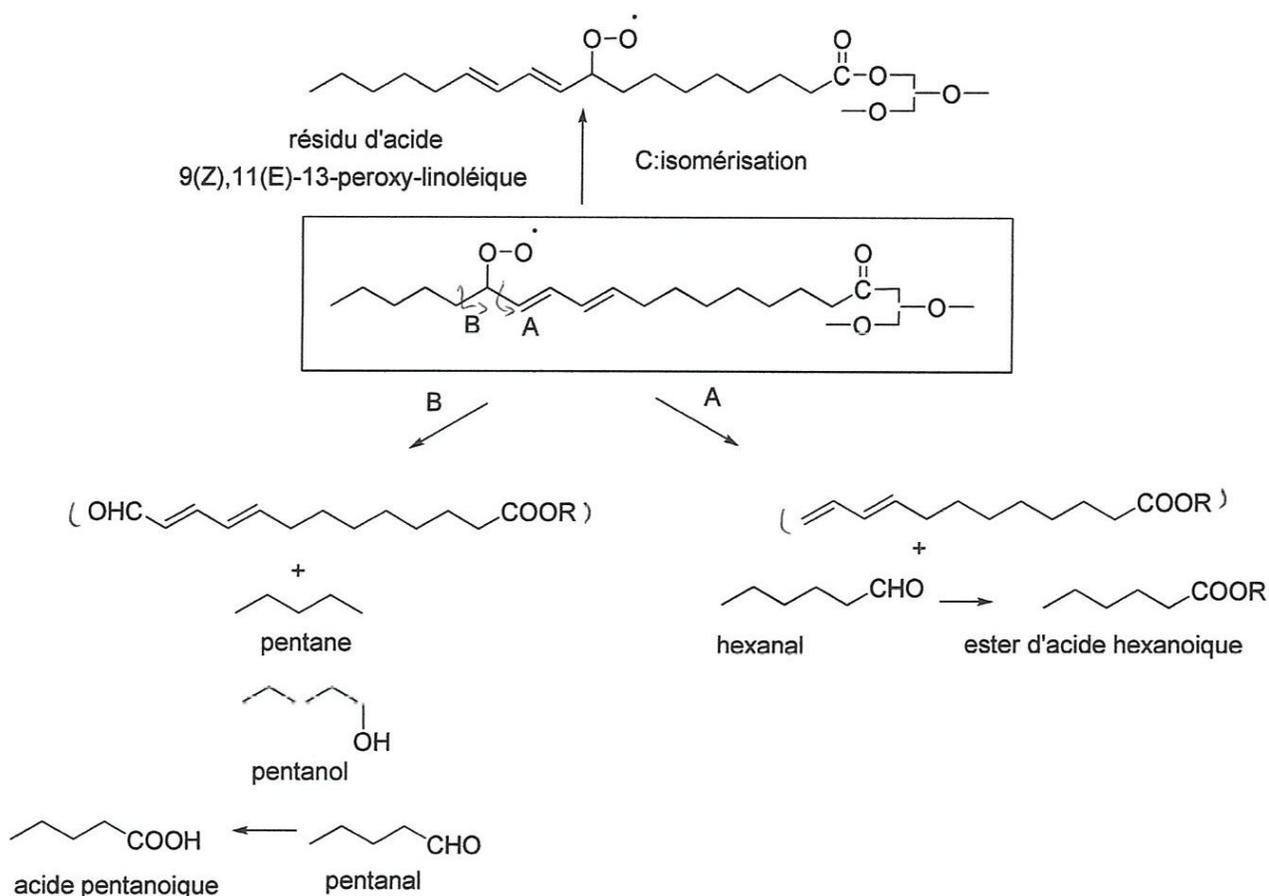


Schéma-II-5: Mécanisme de décomposition du radical 13-peroxy-linoléique [48].

Chapitre III :
Spectroscopie Infrarouge

III-Spectroscopie Infrarouge :

Les principes de base de l'analyse par spectroscopie infrarouge sont connus depuis plus d'une centaine d'années, et le potentiel de cette technique en tant qu'outil analytique a été identifié il y a au moins 70 ans. Des instruments infrarouges ont été présentés pour la première fois dans les années 30 pour confirmer des structures moléculaires [51]. Quatre avantages contribuent à la popularité de la spectroscopie infrarouge par rapport à d'autres techniques analytiques:

1. l'acquisition du signal est rapide. Puisque l'échantillon nécessite très peu (ou pas) de préparation, et peut généralement être placé sur un porte-échantillon ou mesuré en ligne, un spectre peut être acquis en 30 secondes.
2. l'analyse est non-destructive. Le même échantillon peut être retenu pour d'autres analyses ou remis en circulation.
3. l'instrumentation est multi-analytique. Plusieurs constituants peuvent être déterminés à partir d'un seul spectre.
4. la technique ne nécessite pas d'opérateurs particulièrement habiles.

III-1-Spectroscopie Infrarouge :

La spectroscopie Proche Infrarouge (PIR) a été habituellement délaissée par beaucoup de spectroscopistes "classiques". Travaillant avec les bandes d'absorption fondamentales qui se trouvent dans la région du Moyen Infrarouge (MIR), les chercheurs pensaient que les bandes d'harmoniques et de combinaisons observées dans le PIR (entre 700 et 2500 nm ou 14300 et 4000 cm^{-1}) étaient sans intérêt.

Norris était le premier à montrer les mérites de la régression multilinéaire pour extraire l'information à partir des spectres PIR, afin de déterminer la composition d'un échantillon [52]. Le blé, le fourrage et le tabac ont été analysés par NIR plus que tous les autres produits agricoles. Norris K. H. et al. [52] ont effectué la plupart des premiers travaux sur le blé et d'autres grains.

La spectroscopie Moyen-infrarouge (MIR) a une longue histoire dans l'analyse chimique, mais a trouvé relativement peu d'applications en agro-alimentaire. L'application progressive de la spectroscopie MIR aux aliments n'a atteint le niveau des applications de la spectroscopie Proche-Infrarouge (PIR) que récemment. Il y a encore relativement peu de références bibliographiques; pour la plupart limitées à la comparaison avec des méthodes établies telles que les spectrométries RMN, de Masse, et Proche Infrarouge. La région MIR (5000-400 cm^{-1}) a été dans le passé de peu d'intérêt pratique pour l'analyse agro-alimentaire, dû

principalement à des problèmes d'échantillonnage et à des limitations instrumentales liées aux spectromètres conventionnels utilisant des réseaux de diffraction. Il n'est pas possible d'acquérir des spectres infrarouges d'aliments intacts en utilisant des pastilles, par exemple, parce que la plupart des aliments ne demandent pas une telle préparation et contiennent généralement de grandes quantités d'eau qui absorbe fortement en MIR. La faible transmission, et la nature souvent fortement dispersive des échantillons, font que très peu d'énergie peut être détectée. Ce problème n'est pas amélioré par le peu d'énergie atteignant l'échantillon avec les spectromètres dispersifs. En outre, l'utilisation des monochromateurs induit un temps d'acquisition trop long, pour des spectres à résolution raisonnable. Le développement de la spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) a renouvelé l'intérêt pour la spectroscopie MIR dans l'analyse des aliments. Les spectromètres FT-IR fournissent, à l'aide des interféromètres, une plus grande énergie à l'échantillon. Ils peuvent acquérir les spectres beaucoup plus rapidement et ont la possibilité de les accumuler de sorte que, dans un temps raisonnablement court, des spectres peuvent être produits à partir des échantillons transmettant faiblement, et ce avec des rapports signal/bruit acceptables.

Même dans le cas des échantillons ne transmettant pas du tout le rayonnement infrarouge, il y a maintenant un certain nombre de méthodes de présentation de l'échantillon qui peuvent être employées. Le MIR a des avantages significatifs pour l'attribution spectrale, la résolution, et la facilité de la quantification. Ainsi, il n'est souvent pas nécessaire de travailler avec les grands ensembles d'étalonnage habituellement requis pour l'analyse PIR, bien que ceux-ci puissent être nécessaires dans les mélanges très complexes. Un autre avantage important est que les spectres MIR peuvent fournir des informations sur les états physiques et chimiques de différents composants (par exemple, la cristallinité, l'oxydation, la phase), qui peuvent être utiles pour étudier les changements causés par le traitement ou le stockage [53].

III-2-Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) :

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed InfraRed spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

II-2-1-Principe :

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise. Le domaine infrarouge entre

4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} (2.5–25 μm) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules.

Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée on peut déterminer les modes de vibration actifs en infrarouge grâce à la Théorie des Groupes. La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau. L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe et les intensités de l'absorption. La figure III-1 décrit le schéma d'un spectromètre à transformée de Fourier.

Le faisceau infrarouge provenant de la source A est dirigé vers l'interféromètre de Michelson qui va moduler chaque longueur d'onde du faisceau à une fréquence différente. Dans l'interféromètre le faisceau lumineux arrive sur la Séparatrice. La moitié du faisceau est alors dirigée sur le miroir fixe, le reste passe à travers la séparatrice et est dirigé sur le miroir mobile. Quand les deux faisceaux se recombinent, des interférences destructives ou constructives apparaissent en fonction de la position du miroir mobile. Le faisceau modulé est alors réfléchi des deux miroirs vers l'échantillon, où des absorptions interviennent. Le faisceau arrive ensuite sur le détecteur pour être transformé en signal électrique.

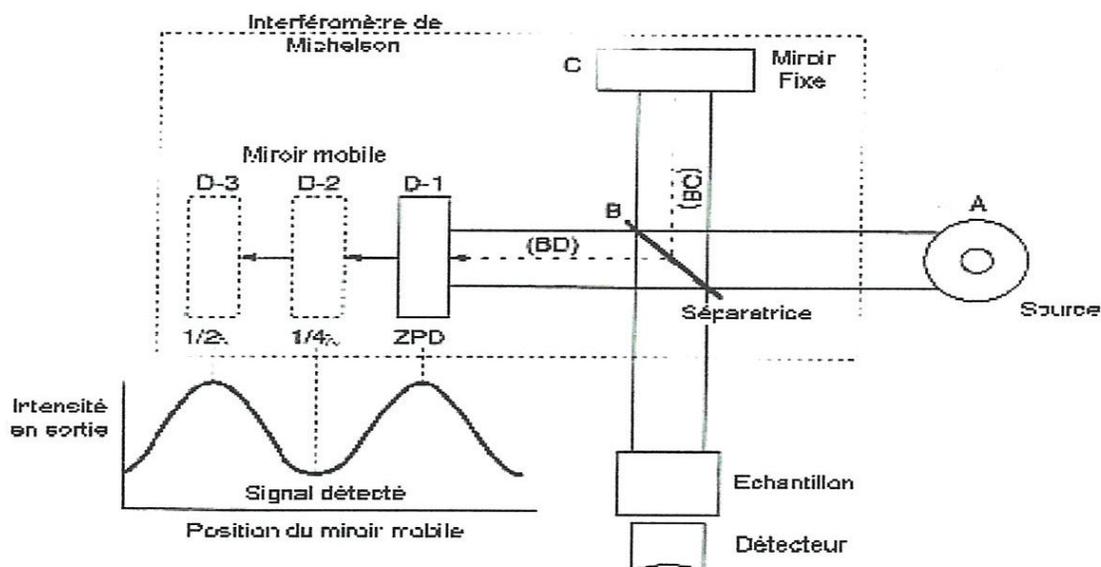


Figure –III-1: Schéma d'un spectromètre à transformée de Fourier

Le signal du détecteur apparaît comme un interférogramme (Figure III- 2), c'est à dire une signature de l'intensité en fonction de la position du miroir. L'interférogramme est la somme de toutes les fréquences du faisceau.

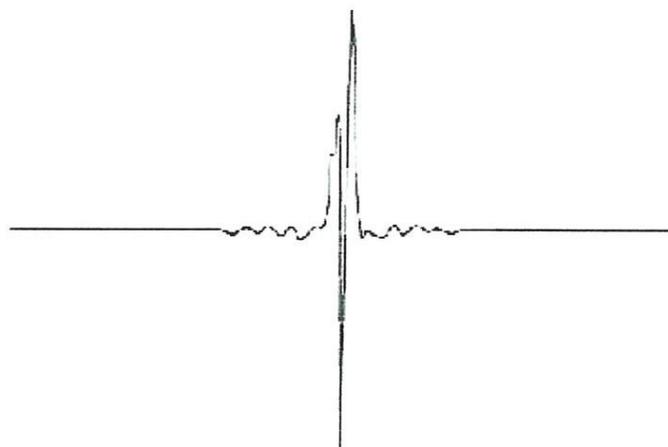


Figure-III-2: Interférogramme en sortie du détecteur

Cet interférogramme est ensuite converti en un spectre infrarouge par une opération mathématique appelée transformée de Fourier.

Les informations tirées des spectres sont de deux sortes :

✓ **Informations qualitatives :**

Les longueurs d'onde auxquelles l'échantillon absorbe, sont caractéristiques des groupes chimiques présents dans le matériau analysé. Des tables permettent d'attribuer les absorptions aux différents groupes chimiques présents.

✓ **Informations quantitatives :**

L'intensité de l'absorption à la longueur d'onde caractéristique est reliée à la concentration du groupe chimique responsable de l'absorption [54].

III-3-Application de la spectroscopie moyen infrarouge à l'étude des huiles :

A- Etude du degré d'insaturation des lipides :

L'analyse structurale des lipides à partir de leur spectre d'absorption MIR a été menée d'une manière intensive par Bertrand [55]. La spectroscopie MIR est devenue une méthode de routine pour doser les acides gras "*cis*" et "*trans*" dans les huiles et les matières grasses.

Certains organismes ont retenu cette technique comme méthode de routine officielle d'évaluation de la teneur en acides gras "*cis*" et "*trans*" dans les huiles et les matières grasses.

Ahlers S. K. D. et al., [56] ont étudié le degré d'insaturation des acides gras libres purs et estérifiés. Leur étude est basée sur la mesure de l'intensité des bandes vers 3015 et 967 cm^{-1} , liée respectivement aux groupes $=\text{C}-\text{H}$ "*cis*" et d'élongation, et $-\text{CH}=\text{CH}-$ "*trans*" de déformation. L'intensité des ces deux bandes augmente en fonction du degré d'insaturation.

Le degré d'insaturation des acides gras libres a été souvent mis en évidence par la bande à 3010 cm^{-1} , liée à la vibration de valence du groupe $=\text{C}-\text{H}$ "*cis*". Le dosage de la teneur en acide gras libre "*trans*", dans les huiles et d'autres matières grasses a été réalisé par Kochhar S. P. *et al.* [57] par la méthode de transmission, la bande caractéristique de C-H de la double liaison "*trans*" est localisée vers 965 cm^{-1} .

En utilisant l'ATR, Belton P. S. et al., [58] ont dosé les acides gras "*trans*" insaturés dans les huiles et les matières grasses. La bande caractéristique de $=\text{C}-\text{H}$ "*trans*" déterminée par Belton[58] est localisée au voisinage de 976 cm^{-1} . O'Connor R. T. [59] a étudié l'insaturation "*cis*" et "*trans*" et il a mené une étude détaillée pour différencier ces deux isomères.

Dans la pratique, le degré d'insaturation des lipides est apprécié par le dosage de l'indice d'iode. Cet indice, basé sur une réaction d'addition, peut être utilisée pour déterminer quantitativement l'insaturation globale des chaînes grasses [60].

Anderson B. A. et al. [61] ont développé une méthode spectroscopique pour déterminer avec précision le degré d'insaturation des lipides dans les beurres et les huiles. Ces auteurs ont mis

en relation cette méthode avec l'indice d'iode. La linéarité entre l'absorbance et l'indice d'iode est vérifiée pour les beurres. Dans une étude similaire, Ahmed N. S. et al. [62] ont trouvé un coefficient de corrélation significatif ($r = 0,97$) entre l'absorbance de la bande à 1015 cm^{-1} , due à l'isomérisation "cis-trans" d'un alcène durant l'hydrogénation, et l'indice d'iode. Le degré d'insaturation est proportionnel au quotient de l'intensité de la bande à 3015 cm^{-1} et de celle de la bande à 2860 cm^{-1} . Cette bande est attribuable à la vibration de valence symétrique du groupe CH_2 [63].

B-Etude de la longueur de chaîne des lipides :

Bannon C. D. *et al.* [64] ont étudié les spectres des acides gras à l'état solide dans la région $1300\text{-}1100 \text{ cm}^{-1}$. Dans cette région, le nombre de bandes associées aux groupes CH_2 croît avec la longueur de la chaîne. En effet, l'énergie de chaque groupe CH_2 est liée à son environnement électronique et moléculaire. Mitcham D. *et al.* [65] ont étudié la plage spectrale de $1250\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ pour caractériser la longueur de chaîne des acides gras. Parkash S. et al., [66] ont montré que la longueur de la chaîne d'un acide gras libre peut être caractérisée par la variation de l'intensité de la bande à 720 cm^{-1} . En effet, cette bande est attribuable à la vibration de la déformation du groupe CH_2 .

C-Dosage des lipides :

Le dosage des lipides dans le lait par la spectroscopie MIR est utilisé depuis longtemps [67]. Le spectre du lait contient des bandes spécifiques des lipides, vers 2857 et 2924 cm^{-1} attribuables aux groupes C-H des triacylglycérols, ainsi que la bande à 1745 cm^{-1} attribuable à la vibration de valence du groupement carbonyle C=O des triacylglycérols. Ces bandes sont mises à profit dans les appareils de dosage à filtres interférentiels [63].

Chapitre IV :
Chimométrie

IV-Chimiométrie :

D'une manière générale, les spectres contiennent des informations qui présentent un intérêt analytique. Cependant, l'accès à ces informations n'est pas immédiat, et nécessite presque toujours un traitement mathématique assez complexe. Pour cette raison, il est nécessaire d'accumuler des spectres de nombreux échantillons et de traiter la collection spectrale ainsi obtenue par des méthodes chimiométriques [68]. L'approche chimiométrique permet d'exploiter la plus grande partie de l'information sans faire d'hypothèses trop restrictives sur le plan de la théorie spectrale. On peut classer les méthodes chimiométriques en utilisant deux critères très différents reposant soit sur l'objectif pratique des méthodes appliquées, soit sur les domaines de la statistique et de l'intelligence artificielle qui sont mis en œuvre.

IV- 1-L'Analyse en Composantes Principales (ACP) :

Elle est particulièrement adaptée à l'étude exploratoire des données spectrales. Elle permet de remplacer les variables d'origine, fortement redondantes, par des variables synthétiques, les composantes principales, qui contiennent la quasi-totalité de l'information, et qui ont l'avantage d'être orthogonales entre elles. Ces composantes principales sont des combinaisons linéaires des variables de départ. A l'aide de l'ACP, il est souvent possible de condenser la collection spectrale dans des proportions très importantes : 20 composantes au maximum sont en général largement suffisantes pour résumer 92% de l'information utile, et la taille de la matrice des données peut être réduite par un facteur de 10 à 100 ou plus.

Dans l'espace original, la collection spectrale peut être représentée par un nuage de points dans un espace à p dimensions. L'ACP consiste en une rotation (qui conserve les échelles et les distances entre les spectres). Cette rotation est effectuée de manière à placer les nouveaux axes dans la direction de plus grande dispersion du nuage de points. Le premier axe correspond ainsi à la plus grande dispersion du nuage de points. Le deuxième axe est orthogonal au premier et tient compte de la plus grande dispersion résiduelle, et ainsi de suite.

Les composantes principales sont donc ordonnées par ordre décroissant de variance expliquée. Ainsi les composantes principales d'ordre « élevé » expliquent en général très peu de variance, et peuvent donc être éliminées de l'analyse. Les coordonnées des points représentatifs des spectres dans ce nouveau repère sont les coordonnées factorielles. L'intérêt de l'ACP apparaît clairement lorsque les variables d'origine présentent de fortes corrélations. Les données condensées par ACP peuvent servir de variables de base pour d'autres

traitements statistiques tels que la régression ou l'analyse discriminante. Pour de nombreuses méthodes supervisées, l'orthogonalité des variables rend les calculs numériques très simples et plus fiables [7].

Chapitre V:
Méthode d'analyse et
appareillage

V-Méthode d'analyse et appareillage :

V-1 Préparation des échantillons :

Le but de cette étude est d'examiner l'effet de présence des métaux : fer, cuivre, chrome et nickel sur la stabilité d'huile d'olive en variant les conditions de stockage.

Pour réaliser ce travail, nous avons plongé une feuille de métal dans l'huile avec une surface de contact de $1 \times 0.5 \text{ cm}^2$.

1. 10 ml de l'huile d'olive extra vierge du marché local est stocké dans des flacons transparents fermés exposés à la lumière en présence des métaux choisis.
2. Pour étudier l'influence de la température, nous avons stockés des échantillons dans des flocons en verre brun pharmaceutiques fermés contenant les métaux cibles à l'étuve à 60°C et à 25°C à l'abri de la lumière.
3. L'influence de l'oxygène est mis en évidence en stockant l'huile dans des flacons transparents ouverts avec une surface libre oxygène / huile d'environ 14 cm^2 .

Dans tous les cas étudiés, nous avons utilisé un témoin (huile extra vierge) dans les mêmes conditions.

Vingt huiles ont été préparées et analysés par la spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier et UV-visible.

La matrice d'étude est une huile d'olive extra vierge du marché local qui porte les indications suivantes :

Tableau-V-1 : Composition de 100 g de l'huile étudiée.

Echantillon	Quantité
Total matière grasse	14 g
Matière grasse	2 g
Polyinsaturé	1,5 g
mono insaturé	10 g
Cholestérol	0 mg
Sodium	0 mg
Carbohydrates	0 mg
Protéines	0 mg

Après collection des données, les spectres obtenus ont été traité par : Normalisation.

V-2-2 -Analyse par l'Ultraviolet-Visible :

Les mesures par spectroscopie UV-visible sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type : JASCO V-630 équipé d'une cuve en quartz de 1 cm d'épaisseur.

1- Détermination de K232 et K270 :

L'examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet a été déterminé selon les protocoles ci-dessous.

1-1-Mode opératoire :

0.1 g de l'échantillon est dissout dans 10 ml de cyclohexane, après homogénéisation on mesure les extinctions, en utilisant comme référence le solvant employé, aux longueurs d'onde 232 nm et 270 nm. Les valeurs d'extinctions spécifiques à 232 nm et 270 nm sont calculées selon les formules suivantes :

$$K232 = \frac{\frac{Abs_1 + Abs_2}{2}}{P \times 10}$$

$$K270 = \frac{\frac{Abs_1 + Abs_2}{2}}{P \times 10}$$

- ❖ K232 : extinction spécifique à $\lambda=232$ nm
- ❖ K270 : extinction spécifique à $\lambda=270$ nm
- ❖ P : Prise d'essai en g
- ❖ Abs₁ : absorbance du premier essai
- ❖ Abs₂ : absorbance du deuxième essai

Les mesures sont regroupées dans le tableau V-2.

Tableau V-2 : Mesures des absorbance à $\lambda= 232$ et $\lambda=270$ nm.

Echantillons	Abs à 232nm	Abs à 270 nm
EVOO	0.146	0.227
EVOO UV	3.436	1.497
EVOO 60°	3.436	2.914
EVOO Cr UV	3.524	2.260
EVOO Fe UV	3.524	3.135
EVOO Ni UV	3.524	2.121
EVOO Cu UV	3.436	2.797
EVOO Cr 60°	3.524	3.913
EVOO Fe 60°	3.436	3.913
EVOO Ni 60°	3.524	3.913

2-Dosage quantitatif des chlorophylles :

2-1-Principe :

La teneur en chlorophylles dans les huiles est déterminée selon la méthode décrite par Wolf [60], basée sur une quantification par spectrophotométrie.

2-2-Appareillage :

Nous avons utilisé un spectrophotomètre visible de type : Spectrophotomètre Photolab Spektral WTW balayage 330-800 nm, équipé d'une cuve de 1 cm d'épaisseur.

2-3-Mode opératoire :

On pèse, dans une fiole de 10 ml, 0.1 g d'huile d'olive extra puis on ajoute le cyclohexane jusqu'au trait de jauge. A l'aide d'un spectromètre, on mesure l'absorbance à la longueur d'onde 670 nm. La teneur en chlorophylle dans l'huile est exprimée en milligrammes par kilogramme de matière grasse et donnée par la relation suivante :

$$\text{Chlorophylle} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{\text{Abs}_{670} \times 10^6}{613 \times 100 \times d}$$

Avec :

- ❖ Abs 670 : absorbance à 670 nm
- ❖ d : densité de l'huile
- ❖ 613 : coefficient d'extinction de la chlorophylle dans l'huile.

Les mesures sont regroupées dans le tableau V-3.

3-Dosage des caroténoïdes totaux :

3-1-Principe :

Le β -carotène, est également le composé le plus abondant et le plus commun dans les corps gras d'origine végétale. On se base sur le fait que les pigments caroténoïdes présentent des structure voisines et donc qu'ils ont tous la propriété d'adsorber la lumière entre 400 et 500nm.

3-2-Mode opératoire :

Pour quantifier les caroténoïdes totaux, on utilise la même méthodologie précédente sauf qu'on effectue les mesures spectrophotométriques à 470 nm.

Le taux des caroténoïdes totaux (exprimés en β -carotène) en mg /100g d'huile est donné par la formule ci-dessous :

$$\text{Teneur en caroténoïdes} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{\text{Abs 470} \times 10^6}{2000 \times 100 \times d}$$

Avec :

- ❖ Abs 470: Absorbance à 470 nm.
- ❖ d : densité de l'huile
- ❖ 2000 : coefficient d'extinction β -carotène dans l'huile.

Les mesures sont regroupées dans le tableau V-3.

Tableau V-3 : Mesures des absorbance à $\lambda= 470$ et $\lambda=670$ nm.

Echantillons	Abs à 470	Abs à 670
EVOO	0.233	0.197
EVOO UV	0.161	0.12
EVOO Cr UV	0.143	0.097
EVOO Fe UV	0.187	0.134
EVOO Ni UV	0.18	0.136
EVOO Cu UV	0.129	0.083
EVOO 60°C	0.13	0.086
EVOO Cr 60°C	0.204	0.149
EVOO Fe 60°C	0.178	0.151
EVOO Ni 60°C	0.101	0.062
EVOO Cu 60°C	0.142	0.087

V-2-3- propriétés physicochimiques :

1-Détermination de l'indice de peroxyde :

On introduit 2g du corps gras dans un erlenmeyer auquel on ajoute successivement 10ml de chloroforme, 15ml d'acide acétique et 1ml d'iodure de potassium saturé en agitant, l'erlenmeyer est abandonné à l'obscurité pendant 5 minutes. Pour arrêter la réaction on ajoute 75ml d'eau en présence d'empois d'amidon comme indicateur. Si une couleur violacée apparaît après agitation énergétique, il y a présence de peroxyde. On fait le titrage immédiatement avec thiosulfate de sodium N/200 jusqu'à disparition de la couleur violette. On effectue un essai à blanc dans les mêmes conditions opératoires.

$$I_p = (V - V')/m$$

m : masse en g d'huile d'olive.

V:volume, en ml, de thiosulfate.

V':volume, en ml, de thiosulfate de l'essai à blanc.

2-Détermination de l'indice d'acide :

2-1-Principe :

L'indice d'acide est déterminé par un dosage en retour. Le corps gras réagit avec un excès connu de potasse alcoolique. L'excès de potasse est alors dosé par une solution d'acide chlorhydrique. Le corps gras est mis en solution par un solvant organique neutre.

2-2-Mode opératoire :

On pèse 2g d'huile d'olive dans un ballon. On ajoute 15 ml d'hexane et deux goutte de phénol phtaléine. Après agitation, on dose à l'aide d'une solution de potasse titrée (0.1 N). La fin du titrage est marginée par persistance du rose.

Après on procède au dosage de l'excès de KOH par HCl (0.1N) jusqu'au virage à l'incolore.

Pour calculer l'indice d'acide on utilise la relation suivante :

$$IA = \frac{V(KOH) \times C(KOH) \times M(KOH) \times 10^{-3}}{m} \times 100$$

Avec:

- ❖ IA : indice d'acide
- ❖ V(KOH) : volume de solution de KOH en ml.
- ❖ C (KOH) : concentration de KOH.
- ❖ M (KOH) : masse molaire du KOH en g/mol.
- ❖ m : masse d'huile d'olive extra vierge pesée en g.

Chapitre VI:
Résultats et discussion

VI- Résultats et discussion :

Cette étude a été réalisée au laboratoire d'analyse industrielles et génie des matériaux, après préparation, les échantillons sont analysés par Infrarouge Transformé de Fourier et UV-Visible.

La première étape est la confirmation que la matrice étudiée est vraiment une huile extra vierge ; pour cela nous avons procédé aux analyses physico-chimiques de l'huile en déterminant l'indice de peroxyde, l'indice d'acidité et les extinctions spécifiques K_{232} et K_{270} .

Les résultats trouvés sont regroupés dans le tableau VI-1.

Tableau VI-1 : Paramètres physico-chimiques de l'huile d'olive extra vierge étudiée.

paramètres	I_A	I_P	K_{232}	K_{270}
Résultats	0.37%	21.2	0.146	0.227
Norme de l'huile d'EVOO	< 1,0	< 20	2.5	< 0.25

Ces résultats confirment que l'huile étudiée est une huile extra-vierge (EVOO).

VI-1-Analyse par Infrarouge à Transformé de Fourier :

L'analyse par IRTF a permis l'enregistrement et l'accumulation des spectres en mode absorbance. La figure VI-1 donne les spectres d'EVOO (Extra Virgin Olive Oil) exposés à la lumière, dans l'étuve et en présence de l'oxygène libre.

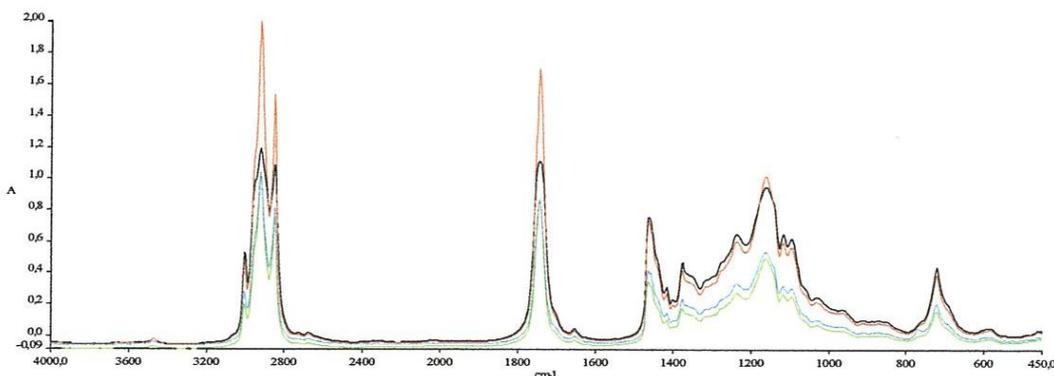


Figure VI-1 : Spectres d'EVOO exposés à la lumière, dans l'étuve et en présence de l'oxygène libre.

VI-1-1-Comportement de l'huile en présence du Nickel et Témoin exposés à la lumière :

Le comportement du nickel dans la lumière est très différent de celui du témoin.

Spécialement l'évolution de la bande vers 1746 cm^{-1} attribuée à la vibration de valence du groupement C=O (ester) et la bande 1032 cm^{-1} est attribuée à l'élongation C-O (ester) qui ont un comportement similaire. Le taux d'ester augmente en présence du nickel après une semaine de stockage contre deux semaines pour le témoin exposé à la lumière.

La bande 2925 cm^{-1} reste inchangée pour toutes les conditions de stockage.

On a une diminution de la bande vers 722 cm^{-1} lié à la déformation CH_2 qui a une relation directe avec la longueur de la chaîne. La présence du nickel favorise les coupures des chaînes.

La bande vers 3005 cm^{-1} lié à l'élongation symétrique C=C-H « cis » diminue en présence du nickel comparativement avec le témoin dans les mêmes conditions comme le montre la figure VI-2. Cela peut être dû aux réactions d'isomérisation.

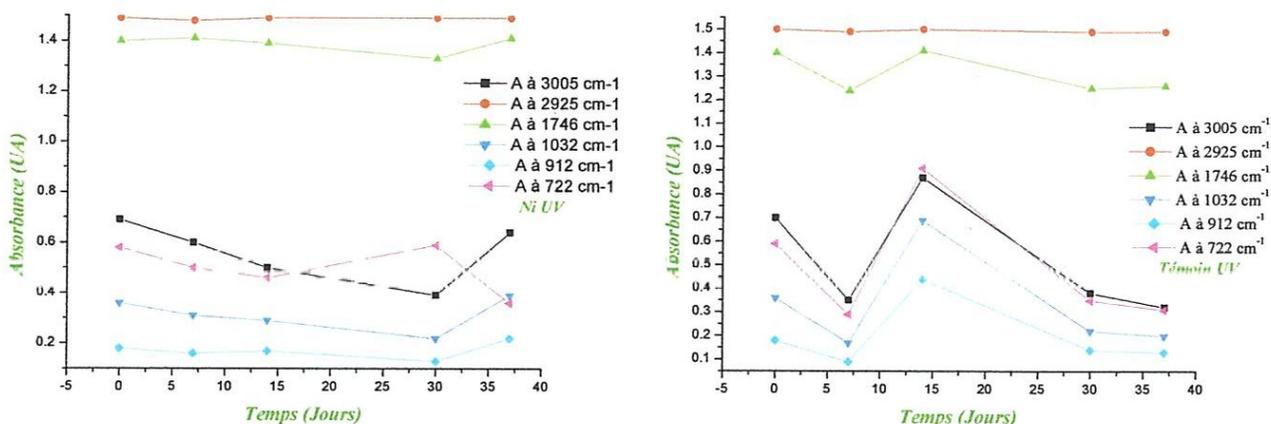


Figure VI-2 : Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du nickel et du témoin exposés à la lumière.

VI-1-2-Comportement d'huile en présence du Nickel et Témoin dans l'étuve :

Les bandes 3005 cm^{-1} , 1032 cm^{-1} , 912 cm^{-1} , 722 cm^{-1} sont similaires mais d'intensité différente en présence du nickel comme le montre la figure VI-3.

Le taux d'ester formé après deux semaines de stockage est plus grand en présence du nickel par rapport au témoin dans les mêmes conditions.

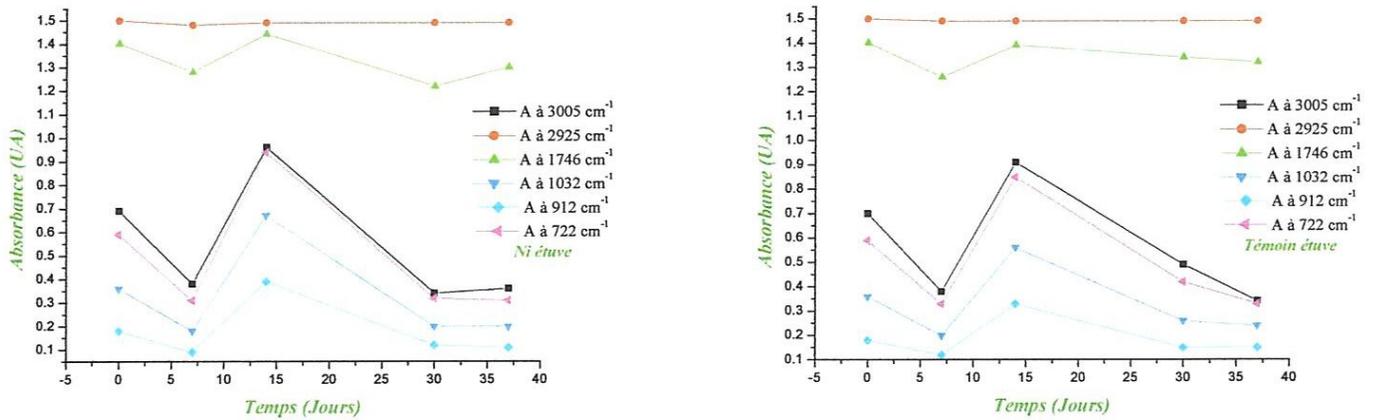


Figure VI-3 : Evolution des bandes d'absorbance de l'huile contenant nickel et du témoin dans l'étuve à 60°C.

VI-1-3-Comportement d'huile en présence du Nickel dans l'obscurité :

Si on compare le comportement de l'huile d'olive vis-à-vis la présence du nickel stockée à l'abri de la lumière on observe :

- ✓ Une diminution des bandes visées comme indicateurs d'oxydation à savoir, 3005, 1746, 1032, 912 et 722 cm^{-1} par rapport aux celle observée en présence de la lumière.

Cette évolution est donnée par la figure VI-4.

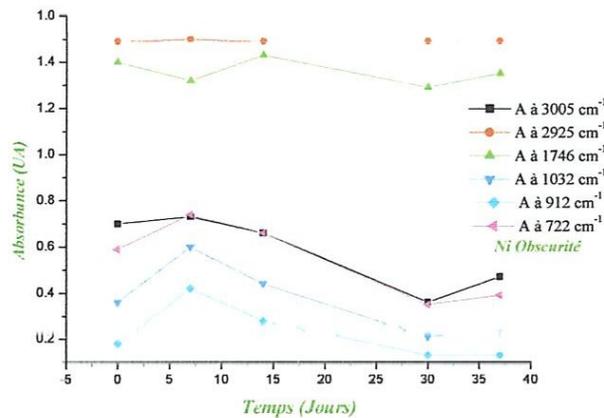


Figure VI-4: Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du nickel à l'obscurité.

VI-1-4-Comportement de cuivre dans l'huile d'olive :

A l'abri de la lumière, le comportement du cuivre dans l'huile d'olive est différent par rapport à celles stockées dans les autres conditions : à l'étuve, en présence d'oxygène libre et exposée à la lumière.

La bande vers 1746 cm^{-1} subit une petite augmentation puis reste constante après 37 jours de stockage dans l'obscurité.

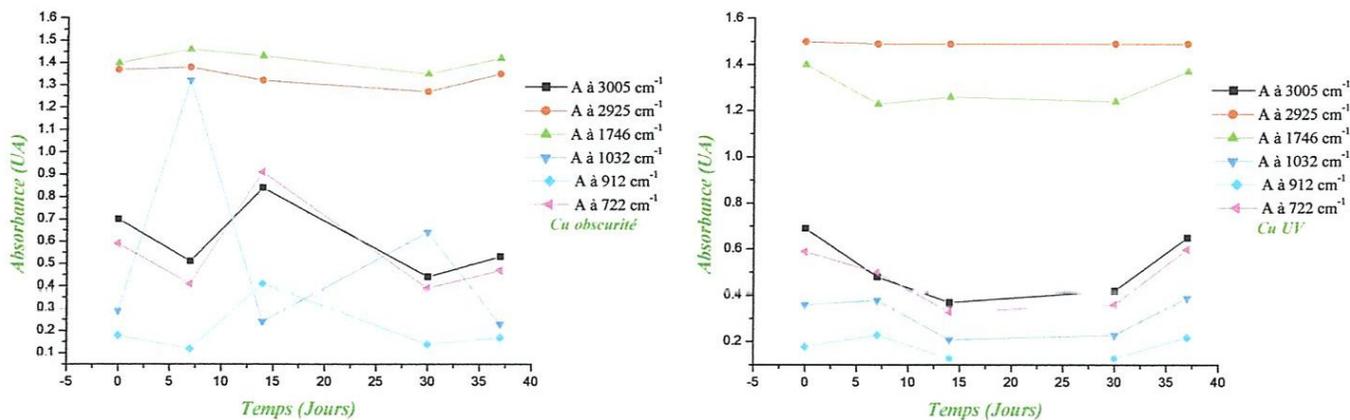


Figure VI-5: Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du cuivre à l'obscurité et exposé à la lumière.

Dans les autres conditions de stockage, cette bande subit une variation notable dans l'étuve, en présence d'oxygène et à la lumière comme le montre les figures VI-5 et VI-6.

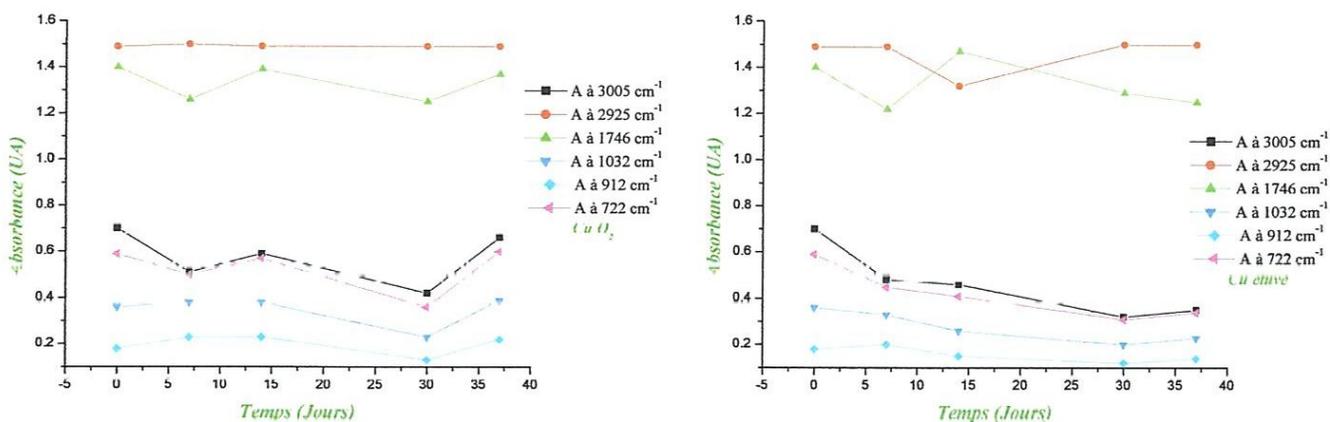


Figure VI-6: Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du cuivre dans l'étuve et en présence d'oxygène libre.

VI-1-5-Comportement de Chrome dans l'huile d'olive :

D'après les figures VI-7 et VI-8, le comportement du chrome diffère selon les conditions de stockage surtout l'action de la lumière.

Cette différence est mise en évidence par le suivi de l'évolution des bandes 722, 912, 1032, 1746 et 3005 cm^{-1} .

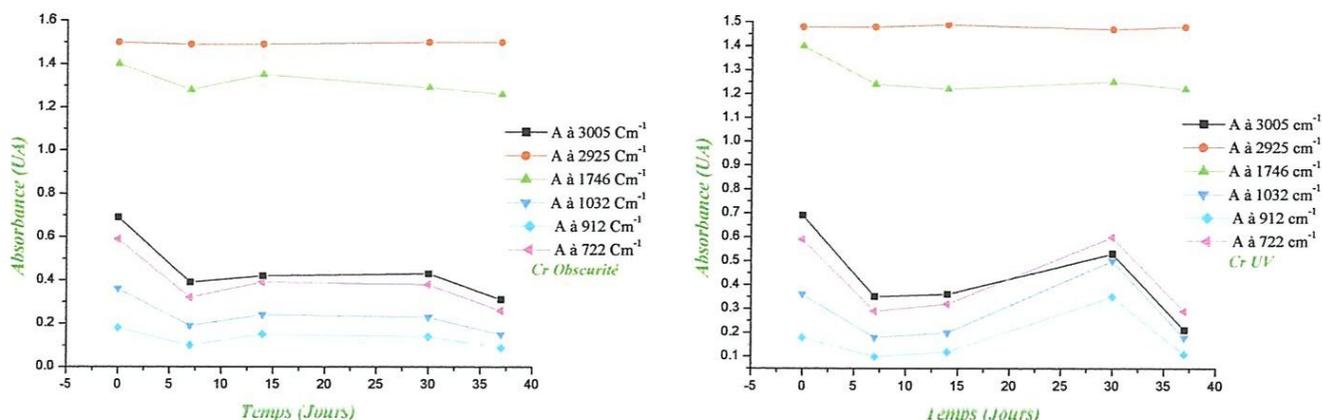


Figure VI-7: Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du chrome à l'obscurité et exposée à la lumière.

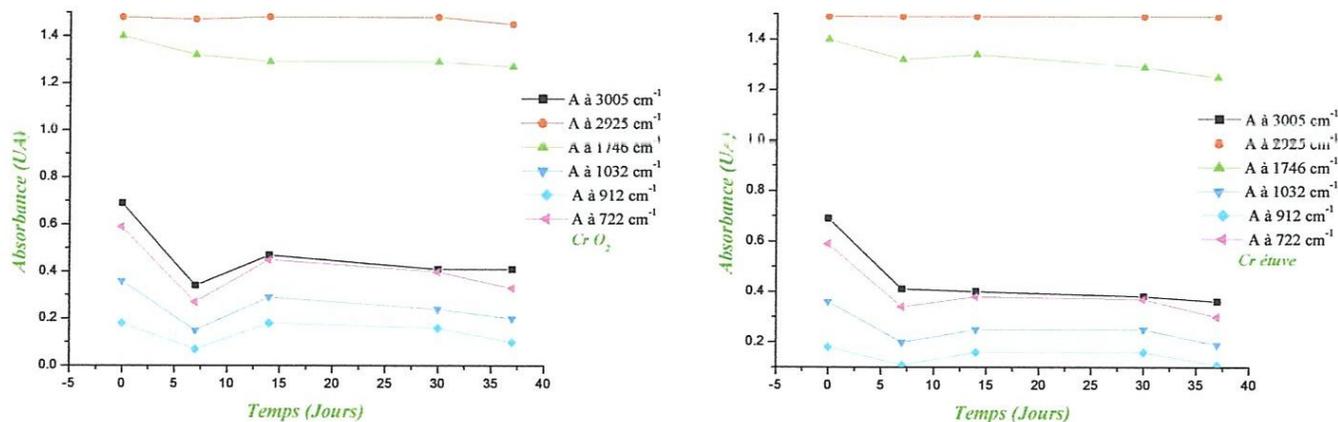


Figure VI-8: Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du chrome dans l'étuve et en présence de l'oxygène libre.

VI-1-6 -Comportement du Fer dans l'huile d'olive :

Pour le fer le maximum d'oxydation est observé après une semaine de stockage à l'étuve à 60 °C suivi de l'intensité de la bande vers 3005 cm^{-1} attribuée à l'élongation symétrique C=C-H « cis », son intensité est proportionnel au nombre de double liaisons. On observe une diminution de la longueur de la chaîne (722 cm^{-1}) et une augmentation du taux de groupement

carbonyle (1746 cm^{-1}) après une semaine de stockage. Comme le montre les figures VI-9 et VI-10.

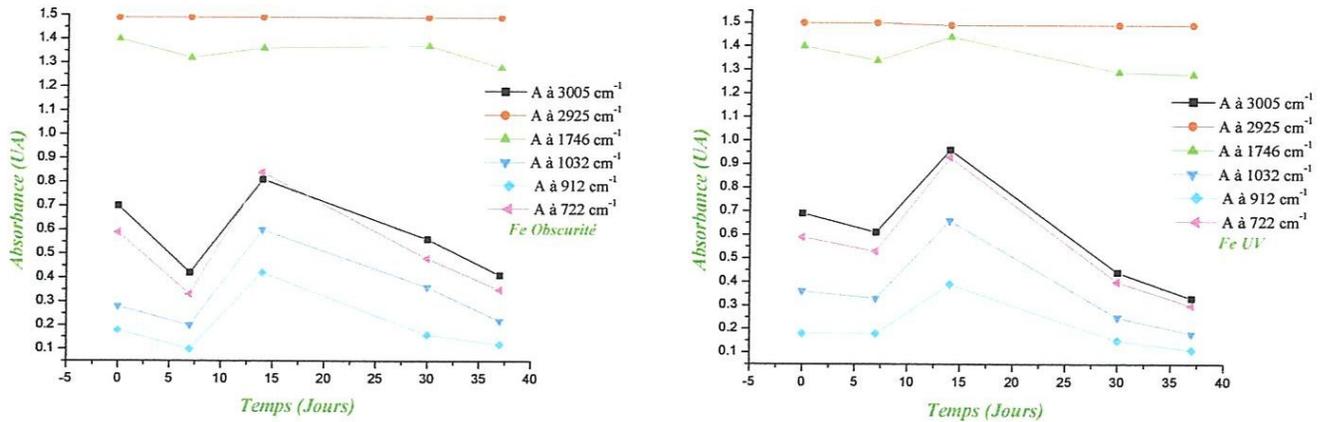


Figure VI-9: Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du fer à l'obscurité et exposée à la lumière.

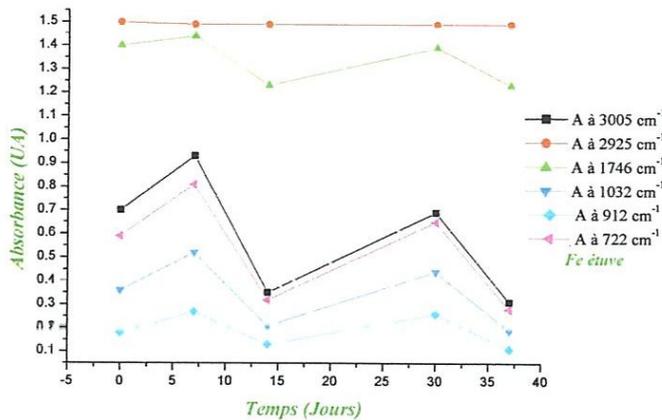


Figure VI-10: Evolution des bandes d'absorbance d'huile en présence du fer dans l'étuve à 60°C .

VI-2-Comparaison entre les différents métaux dans l'étuve et exposé à la lumière à 1746 cm^{-1} :

A l'étuve, le comportement du fer dans l'huile d'olive est différent par rapport aux autres métaux : cuivre, nickel, chrome et celui du témoin (figure VI-11).

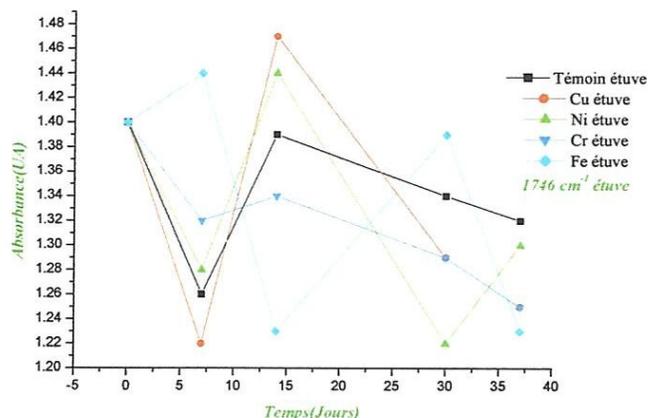


Figure VI-11: Evolution des bandes d'absorbance des huiles en présence du fer, nickel, cuivre, chrome et le témoin à 1746 cm^{-1} dans l'étuve.

En se basant sur l'évolution de la bande carbonyle vers 1746 cm^{-1} donnée par la figure ci-dessus on peut conclure :

- ❖ Le taux de carbonyle augmente dans l'huile en présence de fer juste après le stockage (moins d'une semaine).
- ❖ En présence des autres métaux, l'huile s'oxyde après quinze jours de stockage mais pas de la même accentuation. Elle est plus grande pour le cuivre, suivi du nickel et plus faible pour le chrome.

A la lumière, l'huile s'oxyde plus facilement en présence du fer, nickel, cuivre et en dernière position le chrome (figure VI-12).

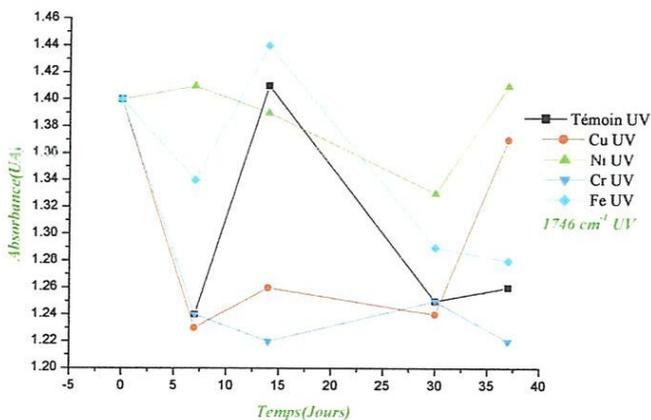


Figure VI-12 : Evolution des bandes d'absorbance des huiles en présence du fer, nickel, cuivre, chrome et le témoin à 1746 cm^{-1} exposées à la lumière.

VI-3-Comparaison entre les différents échantillons en présence des métaux dans l'étuve et exposés à la lumière à 3005 cm^{-1} et 722 cm^{-1} :

Pour confirmer ce comportement vis-à-vis l'oxydation, nous avons étudié l'évolution des bandes vers 3005 cm^{-1} et 722 cm^{-1} donnée par les figures VI-13 et VI-14.

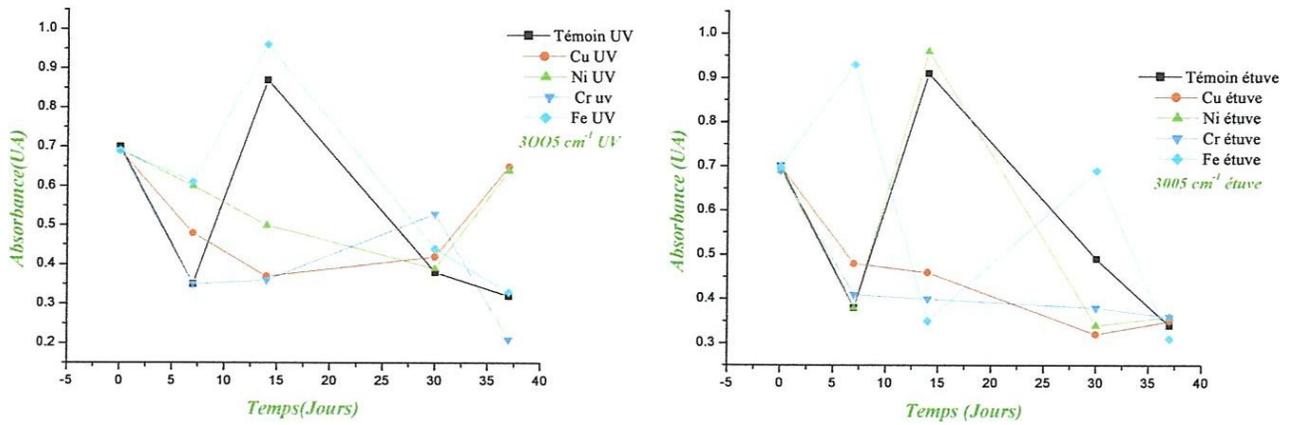


Figure VI-13: Evolution des bandes d'absorbance des échantillons du fer, nickel, cuivre, chrome et le témoin à 3005 cm^{-1} exposés à la lumière et dans l'étuve.

-Le témoin se comporte de la même façon dans la lumière et le chauffage dans l'étuve à 60°C .

-En suivant l'évolution de la bande vers 3005 cm^{-1} attribuée à l'élongation symétrique C=C-H « cis » dans l'étuve, après 37 jours de stockage tous les métaux se comportent de la même façon mais l'action de la lumière est différente.

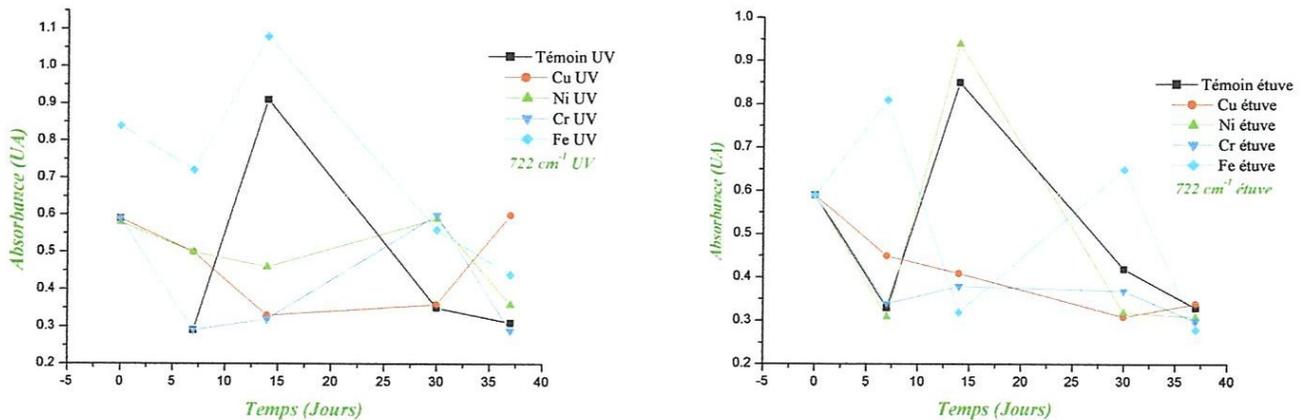


Figure VI-14: Evolution des bandes d'absorbance des échantillons en présence du fer, nickel, cuivre, chrome et le témoin à 722 cm^{-1} exposés à la lumière et dans l'étuve.

- A 722 cm^{-1} , le témoin se comporte de la même façon vis-à-vis la lumière et le chauffage dans l'étuve à 60°C . Les autres métaux ont un comportement tout à fait différent par rapport aux deux conditions, mais dans tous les cas, l'intensité de la bande diminue après 37 jours de stockage.

VI-4- Etude par Ultraviolet-Visible :

L'étude par ultraviolet-visible est réalisée au niveau du laboratoire pédagogique du département sciences et techniques de l'université de Skikda.

VI-4-1-Détermination du coefficient d'extinction K232 :

La mesure par spectroscopie UV-visible permet la détermination de l'absorbance UV à 232 nm, corrélée à la présence de forme diènes conjuguées, qui apparaissent sur des acides gras comportant au moins deux double liaison. L'examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une huile, sur son état de conservation et sur les modifications dues aux processus technologiques.

Les résultats obtenus sur les échantillons étudiés sont portés dans le tableau VI-2.

VI-4-2- Détermination du coefficient d'extinction K270 :

La classification des huiles d'olive vierge tient compte des critères physicochimiques, mais aussi des caractéristiques organoleptiques, de manière à assurer aux consommateurs un produit de qualité, particulièrement sur le plan sensoriel. Les résultats obtenus sur les échantillons étudiés sont portés dans le tableau VI-2.

Tableau VI-2 : Mesures des coefficients spécifiques K232 et K270.

Echantillons	K232	K270
EVOO	0.146	0.227
EVOO UV	3.436	1.497
EVOO 60°C	3.436	2.914
EVOO Cr UV	3.524	2.260
EVOO Fe UV	3.524	3.135
EVOO Ni UV	3.524	2.121
EVOO Cu UV	3.436	2.797
EVOO Cr 60°C	3.524	3.913
EVOO Fe 60°C	3.436	3.913
EVOO Ni 60°C	3.524	3.913

Signalons que le chauffage de l'huile d'olive extra vierge provoque la formation des systèmes conjugués (triènes conjugués) par migration des doubles liaisons le long de la chaîne grasse. Ces derniers absorbent également à la longueur d'onde 270 nm et devient non propre à la consommation.

En effet l'extinction spécifique à 232 nm et à 270 nm d'une huile peut être considérée comme une image de son état d'oxydation. Plus son extinction à λ 232 nm est forte, plus elle est peroxydée. De même plus l'extinction à λ 270 nm est forte, plus elle est riche en produits d'oxydation secondaire et traduit une faible aptitude à la conservation.

Les métaux se comportent de la même façon dans l'étuve, on assiste au dernier stade d'oxydation après deux mois de stockage dans l'étuve.

D'après les résultats de calcul de K232 et K270 ; l'oxydation est plus poussée en présence de fer suivie du cuivre, chrome et en dernière position le nickel.

VI-4-3- Teneur en carotènes :

Les teneurs en carotène, des échantillons étudiés exprimée en mg par kilogramme d'huile d'olive sont calculées à partir de l'absorbance à 470 nm.

Les teneurs en carotène des huiles extra vierge sont portées da le tableau VI-3.

VI-4-4- Teneur en chlorophylles:

Les chlorophylles sont des substances colorantes de l'huile d'olive, elles jouent un rôle important dans l'activité oxydante du produit.

Les teneurs en chlorophylles, des échantillons étudiés exprimées en mg par kilogramme de l'huile d'olive sont calculées à partir de l'absorbance à 670 nm et les résultats trouvés sont portés dans le tableau VI-3.

Tableau VI-3 : Mesures des teneurs en carotène et en chlorophylle.

Echantillons	Taux de carotène (mg /kg)	Taux de chlorophylle (mg/kg)
EVOO	1.271	3.506
EVOO UV	0.878	2.136
EVOO 60°C	0.709	1.530
EVOO Cr UV	0.780	1.726
EVOO Fe UV	1.020	2.385
EVOO Ni UV	0.982	2.420
EVOO Cu UV	0.703	1.477
EVOO Cr 60°C	1.113	2.652
EVOO Fe 60°C	0.971	2.68
EVOO Ni 60°C	0.551	1.103
EVOO Cu 60°C	0.774	1.548

L'huile d'olive extra vierge exposée à la lumière et chauffée à l'étuve à 60°C subit une réaction de dégradation des pigments (chlorophylles et carotènes).

A la lumière et en présence du métal, la dégradation des carotènes et des chlorophylles dans l'huile est plus grande en présence du fer suivie du nickel, chrome et en fin en présence du cuivre.

A l'étuve, on assiste à un inversement d'ordre, la dégradation est plus grande en présence du fer suivie du chrome, cuivre et en fin en présence du nickel.

VI-5-Etude par analyse en composantes principales (ACP) :

Pour faire une classification des échantillons étudiés et pour caractériser l'influence de présence des métaux, les données spectrales sont traités par l'analyse en composantes principales dont le but d'obtenir un petit nombre de variables latentes en prenant en compte la plus grande variabilité de système. L'étude est basée sur le choix de vingt-deux variables initiales (absorbance à une longueur d'onde).

VI-5-1-Comportement des témoins exposés à la lumière et en présence de l'oxygène libre:

- D'après la figure VI-15, on peut discriminer les échantillons selon la droite D en trois groupes : témoins extra vierges, témoins UV et témoins O₂.
- L'oxydation du témoin exposé à la lumière est plus poussée que celle du témoin en présence de l'oxygène libre.

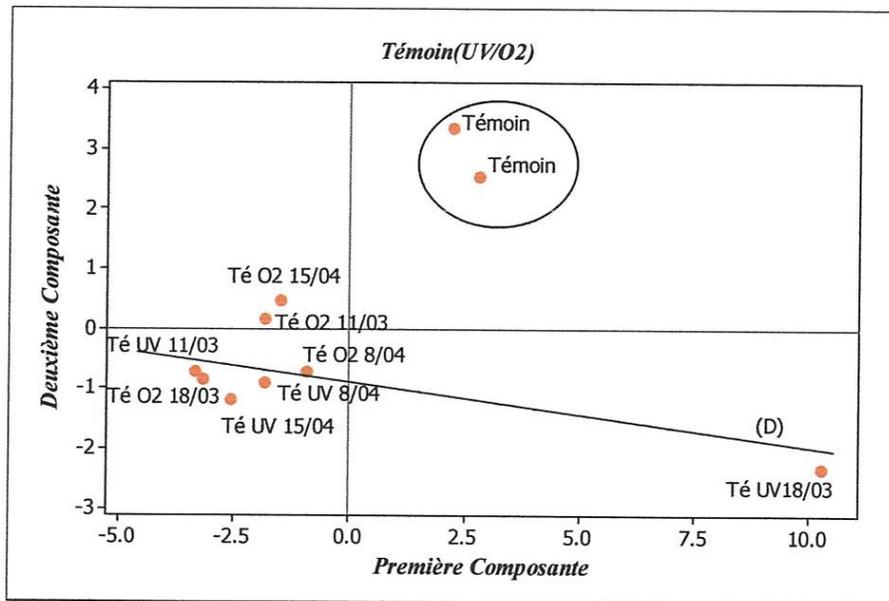


Figure VI-15: Projection du témoin exposé à la lumière et dans l'air (O₂) dans le premier plan factoriel.

VI-5-2-Comportement du témoin exposé à la lumière et dans l'étuve :

- D'après la figure VI-16, on peut ordonner les échantillons en trois groupes selon la droite D : témoins extra vierge, témoins UV et témoins étuve.

- L'oxydation des témoins UV est plus poussée que celle des témoins dans l'étuve.

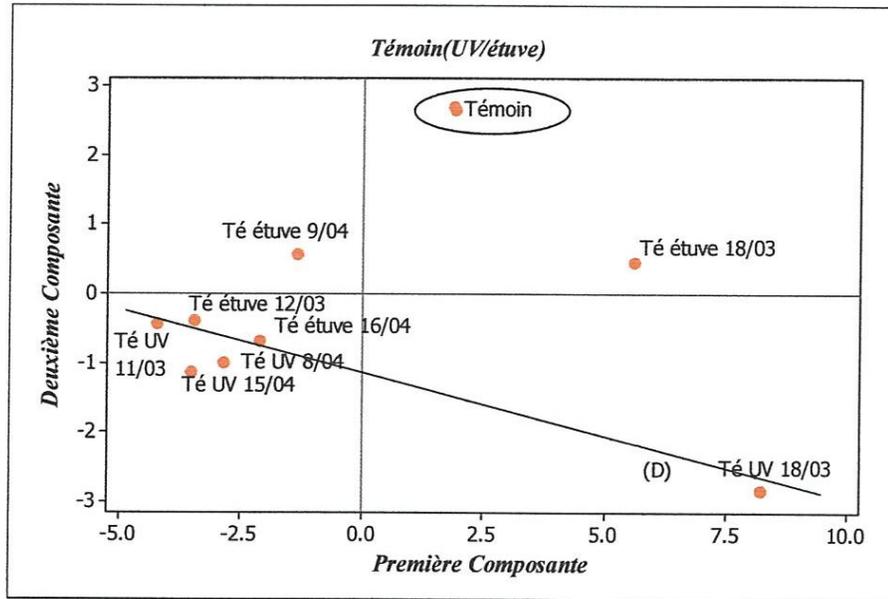


Figure VI-16: Projection des témoins exposés à la lumière et dans l'étuve dans le premier plan factoriel.

VI-5-3-Comportement des échantillons en présence du cuivre dans différents conditions :

-Dans ce cas on observe un point aberrant qui représente l'échantillon contenant le cuivre analysé le 17 mars (Cu17/03).

- D'après la figure VI-17, on peut constituer quatre groupes :

- Le premier est celui des témoins extra vierge dans l'obscurité qui n'est pas oxydé.
- Le deuxième celui des échantillons contenant du cuivre à l'obscurité, qui est moyennement oxydé.
- Le troisième est fortement oxydé, il contient les échantillons en présence du cuivre dans l'étuve, exposé à la lumière et en présence de l'oxygène libre.
- Le dernier est celui des témoins mis dans l'étuve et exposé à la lumière.

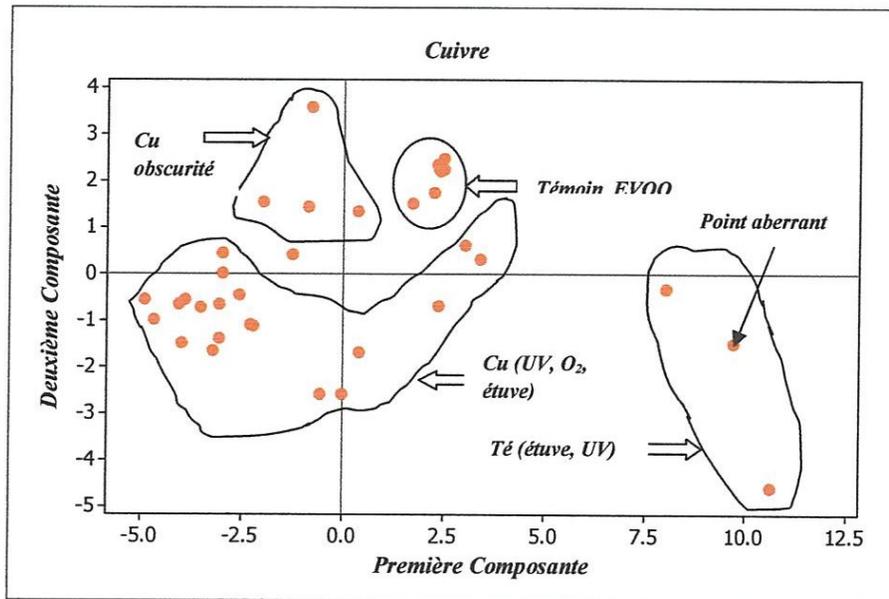


Figure VI-17: Projection des échantillons contenant le cuivre à l'obscurité, exposé à la lumière, mis dans l'étuve et dans l'air (O₂) dans le premier plan factoriel.

VI-5-4- Comportement des échantillons en présence du nickel dans différents conditions :

-Les échantillons contenant du nickel sont projetés dans le premier plan factoriel (la figure VI-18).

-On peut observer un point aberrant qui représente l'échantillon contenant le nickel analysé le 14 avril (Ni 14/04).

-Dans cette projection on classe les échantillons en trois groupes :

- Le premier réunit les témoins extra vierge dans l'obscurité non oxydé.
- Le deuxième englobe les échantillons en présence du nickel : exposés à la lumière et mis dans l'étuve à 60°C.
- Le troisième réunit les huiles en présence du nickel dans l'obscurité et les témoins dans l'étuve et exposés à la lumière.

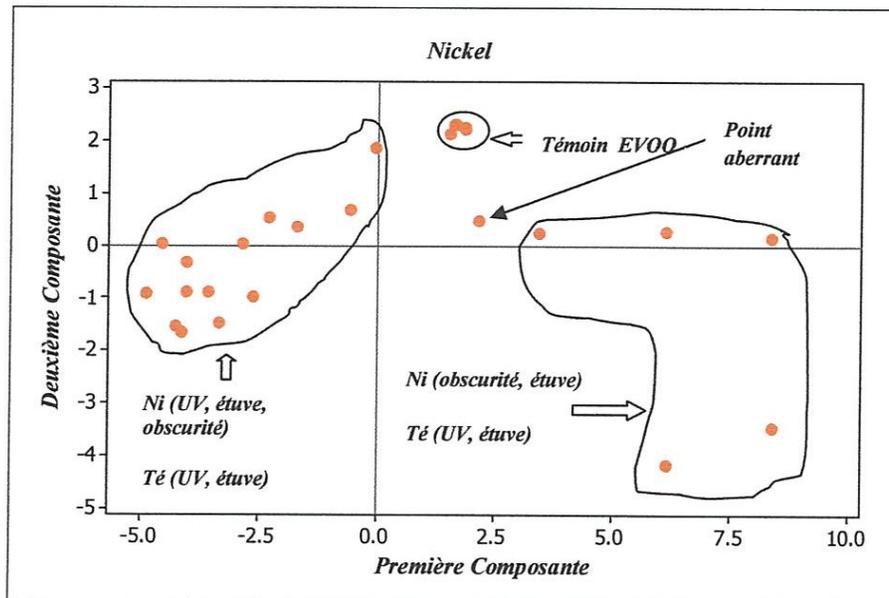


Figure VI-18: Projection du nickel à l'obscurité, exposé à la lumière, mis dans l'étuve et dans l'aire (O₂) dans le premier plan factoriel.

VI-5-5- Comportement des échantillons en présence du fer dans différents conditions :

-En étudiant les données spectrales par analyse en composantes principales, nous avons pu faire cette classification en se basant sur la figure VI-19.

- Le premier contient les témoins extra vierges non oxydés à l'obscurité.
- Le deuxième est celui des témoins exposés à la lumière et chauffés à 60°C et l'huile contenant le fer stockée dans l'étuve à 60°C qu'on peut les considérer comme fortement oxydés.
- Le troisième est moyennement oxydé, contient les autres échantillons.

-On peut observer un point aberrant qui représente l'échantillon contenant le fer analysé le 18 mars (Fe 18/03).

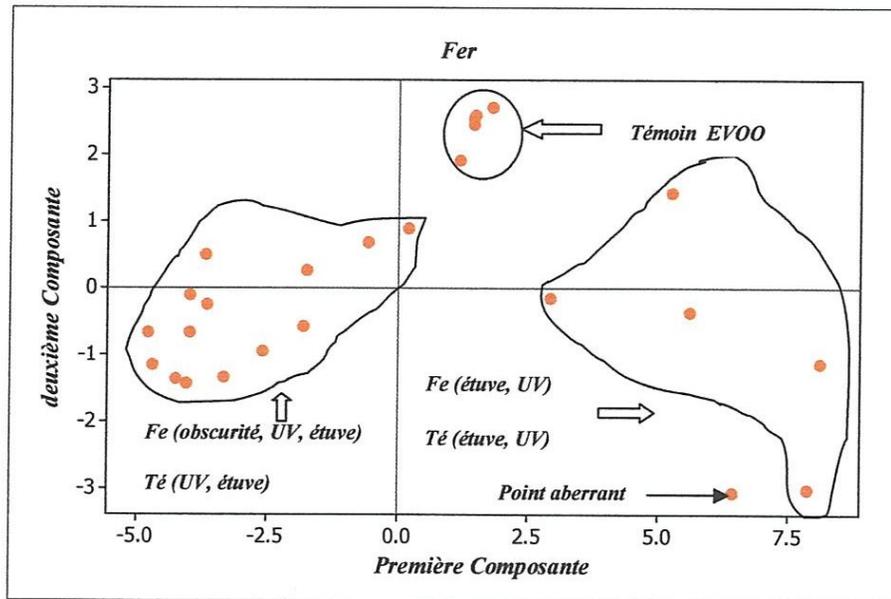


Figure VI-19: Projection des échantillons en présence du fer à l'obscurité, exposé à la lumière, mis dans l'étuve et dans l'aire (O₂) dans le premier plan factoriel.

VI-5-6- Comportement des échantillons en présence du chrome dans différents conditions :

- Une comparaison des échantillons d'huiles d'olive extra vierges contenant une feuille de chrome stockés dans l'obscurité, l'étuve, en présence de l'oxygène libre et exposés à la lumière a été réalisée. Le résultat est donné par la figure VI-20.

-On peut observer un point aberrant qui représente l'échantillon contenant le chrome analysé le 8 avril (Cr 8/04).

-D'après la figure, on peut distinguer trois groupes :

- Le premier est celui des témoins extra vierges non oxydés mis à l'obscurité.
- Le deuxième regroupe l'effet du chrome et des témoins dans les mêmes conditions (l'obscurité, exposée à la lumière, dans l'étuve et dans l'aire). Il est moyennement oxydé.
- Le troisième englobe les témoins dans l'étuve et exposés à la lumière.

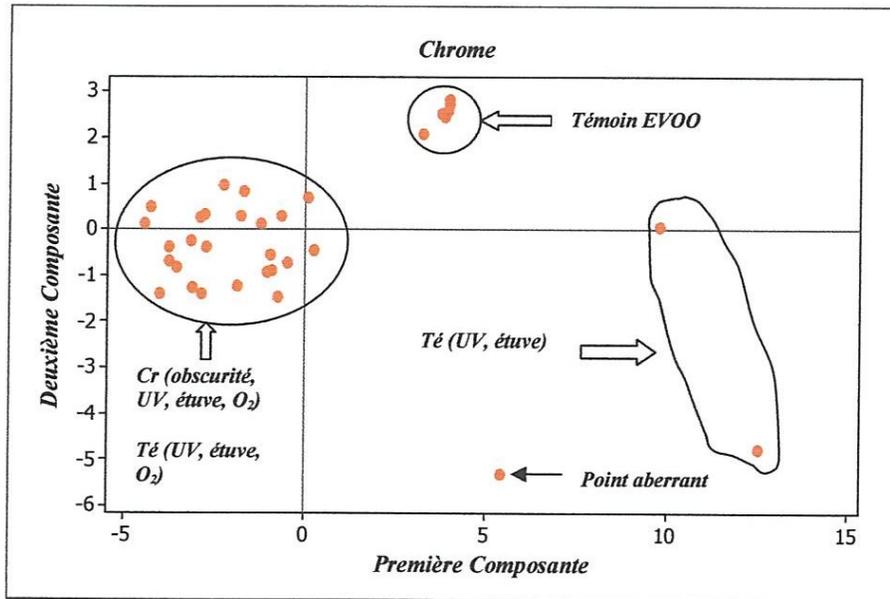


Figure VI-20: Projection des échantillons en présence du chrome à l'obscurité, exposés à la lumière, mis dans l'étuve et dans l'air (O_2) dans le premier plan factoriel.

VI-5-7-Comparaison des effets des métaux :

1- Influence du Cuivre et Nickel sur l'huile d'olive dans l'obscurité :

-Dans ce qui suit, nous allons comparer la présence du cuivre et du nickel dans l'huile d'olive extra vierge stockée à l'obscurité et les résultats trouvés sont donnés dans la figure VI-21.

- D'après la figure, l'échantillon huile contient le cuivre 17 mars apparaît toujours comme un point aberrant.
- L'analyse en composante principale montre que l'oxydation en présence du nickel est plus poussée que celle du cuivre dans l'obscurité.

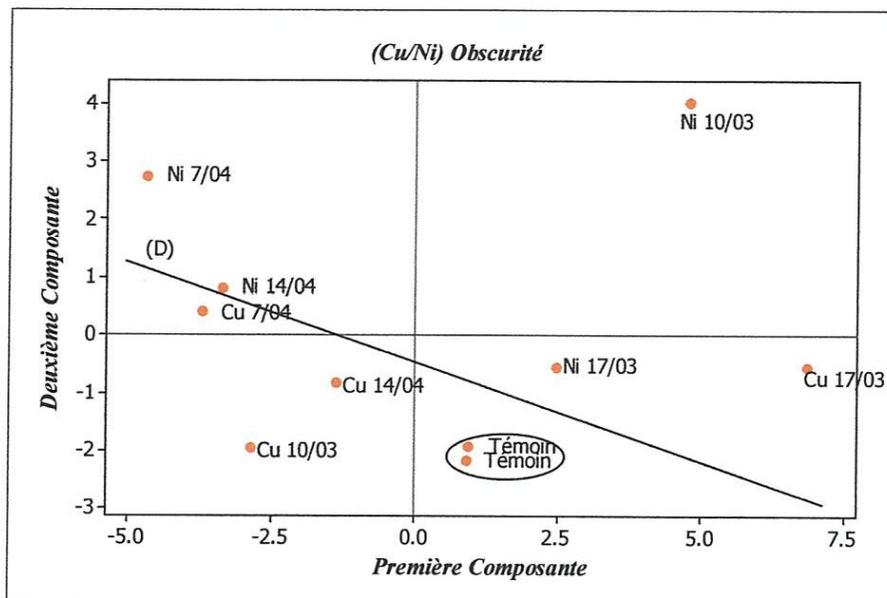


Figure VI-21 : Projection des échantillons contenant le cuivre et le nickel à l'obscurité dans le premier plan factoriel.

2- Influence du Cuivre et Fer sur l'huile d'olive dans l'obscurité :

-Si on compare l'effet oxydatif du cuivre et du fer sur l'huile d'olive extra vierge dans l'obscurité on obtient :

- D'après la figure VI-22, l'échantillon d'huile contenant du cuivre analysé le 7 avril est mal représenté par l'analyse en composante principale, les autres sont bien classés.
- L'analyse en composante principale a montré que l'oxydation en présence du fer est plus grande que celle du cuivre car ces derniers sont plus proches des témoins extra vierges.

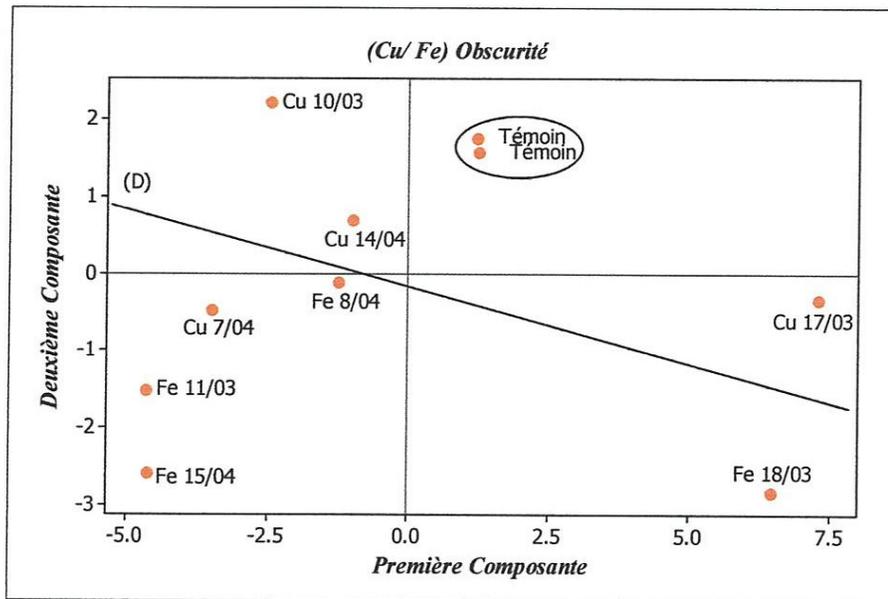


Figure VI-22 : Projection des échantillons contenant le cuivre et le fer à l'obscurité dans le premier plan factoriel.

3-Influence Cuivre et Chrome sur l'huile d'olive dans l'obscurité :

-En étudiant l'effet du chrome et cuivre dans l'oxydation de l'huile d'olive, on peut conclure :

- D'après la figure VI-23, on observe une nette séparation des échantillons selon la droite D, qui a une pente négative.
- On peut constituer trois groupes ; les témoins extra vierges, huiles en présence du cuivre et les huiles en présence du chrome.
- L'oxydation de l'huile extra vierge en présence du chrome et plus poussée que celle en présence du cuivre dans l'obscurité.

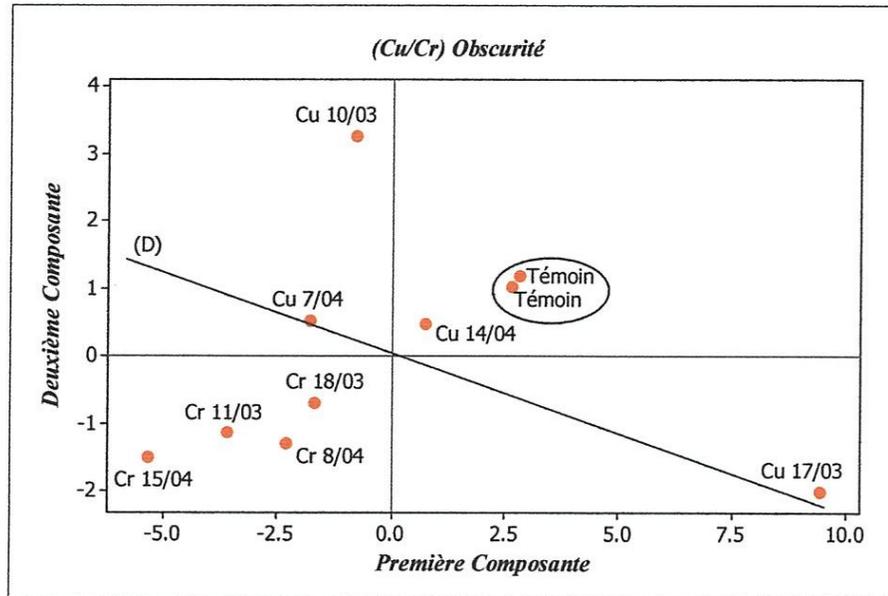


Figure VI-23 : Projection des échantillons contenant le cuivre et le chrome à l'obscurité dans le premier plan factoriel.

4-Influence du Nickel et Chrome sur l'huile d'olive dans l'obscurité :

-La comparaison des effets du nickel et du chrome dans l'huile d'olive extra vierge dans l'obscurité a permis d'observer :

- Les deux points représentatifs des échantillons Cr 18/03 et Ni 7/04 sont des points aberrants.
- D'après la figure VI-24, on observe une séparation des échantillons selon la droite D de pente positive, on peut distinguer trois groupes : témoins extra vierges, échantillons contenant le nickel et échantillons contenant le chrome.
- L'oxydation est plus forte en présence du chrome que celle en présence du nickel dans l'obscurité.

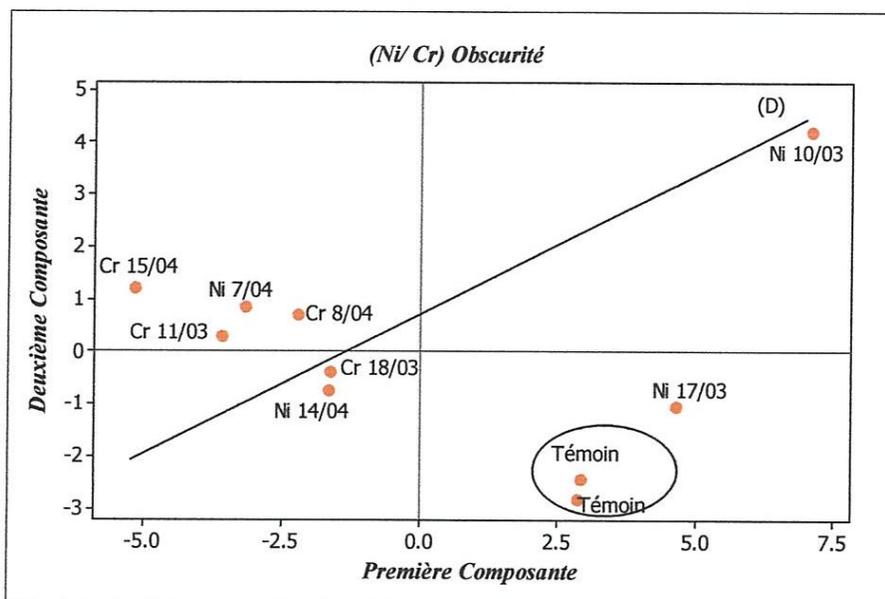


Figure VI-24 : Projection des échantillons contenant le nickel et le chrome à l'obscurité dans le premier plan factoriel.

5-Influence du Fer et Chrome sur l'huile d'olive dans l'obscurité :

-A l'obscurité, l'effet du fer est différent par rapport à la présence du chrome dans l'huile.

-Pour mieux voir ces différences, nous avons tracé la projection des échantillons dans le premier plan factoriel (figure VI-25).

- On a deux points aberrants représentatifs des échantillons Fe 15/04 et Cr 18/03.
- D'après la figure, on peut constituer trois groupes : témoins extra vierges, échantillons contenant du fer et échantillons contenant du chrome selon la droite D de pente négative.
- L'oxydation est plus poussée dans le chrome que celle du fer dans l'obscurité.

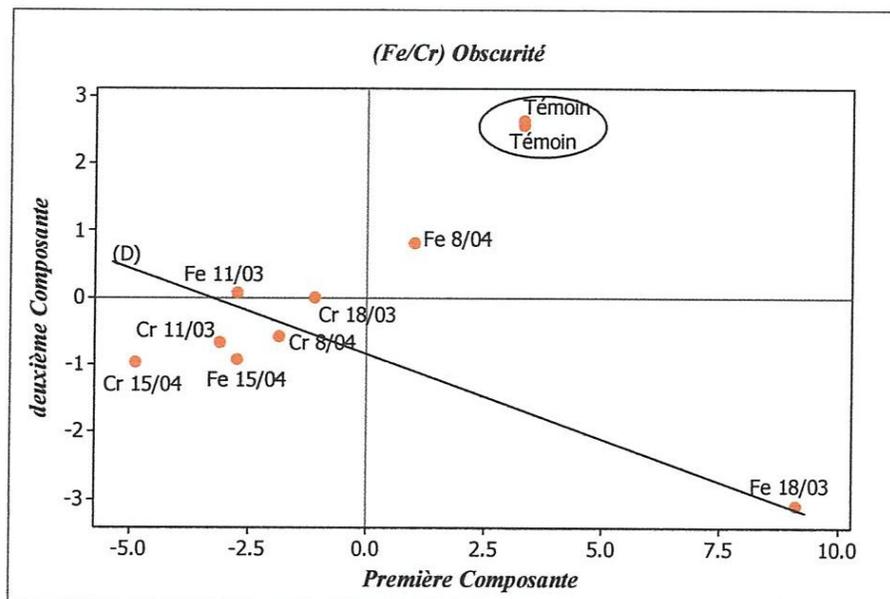


Figure VI-25 : Projection des échantillons contenant le fer et le chrome à l'obscurité dans le premier plan factoriel.

6- Influence du Cuivre et Chrome sur l'huile d'olive exposée à la lumière :

- Si on compare l'effet oxydatif du cuivre et du chrome sur l'huile d'olive extra vierge exposée à la lumière on obtient :

- Selon la droite D de pente négative, on peut grouper les échantillons en trois groupes: témoins extra vierges, échantillons en présence du cuivre et échantillons en présence du chrome.
- D'après la figure VI-26, l'oxydation du chrome est plus poussée que celle du cuivre exposée à la lumière.

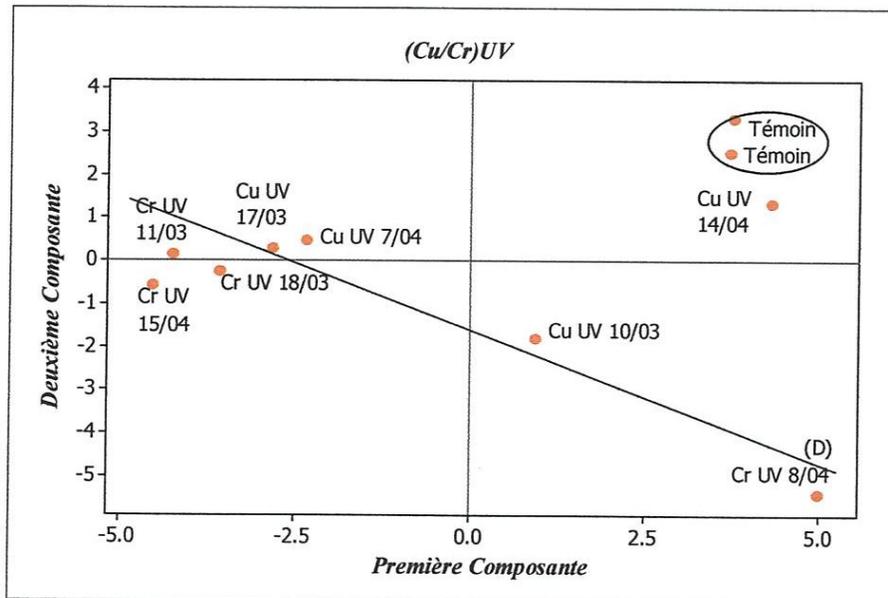


Figure VI-26 : Projection des échantillons contenant le cuivre et le chrome exposée à la lumière dans le premier plan factoriel.

7-Influence du Nickel et Chrome sur l'huile d'olive exposée à la lumière :

- En étudiant l'effet du nickel et chrome, on peut conclure :

- On peut engendrer trois groupes selon la droite D de pente négative : témoins extra vierges, échantillons en présence du nickel et échantillons en présence du chrome.
- D'après la figure VI-27, l'oxydation de l'huile en présence du chrome est plus poussée que celle en présence du nickel.

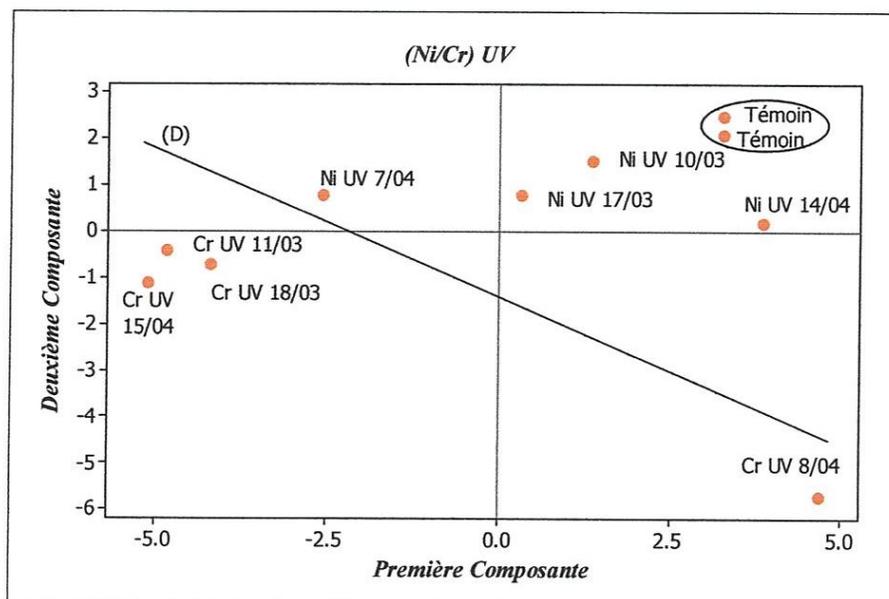


Figure VI-27: Projection des échantillons contenant le nickel et le chrome exposés à la lumière dans le premier plan factoriel.

8- Influence du Nickel et Fer sur l'huile d'olive exposé à la lumière :

- L'analyse en composantes principales a permis de trier, d'après la figure VI-28, les échantillons en trois groupes : témoins extra vierges, échantillons avec nickel et échantillons avec fer.
- A la lumière, l'oxydation du fer est plus grande que celle en présence du nickel cela est confirmé par la distance entre témoin-nickel et témoin-fer.

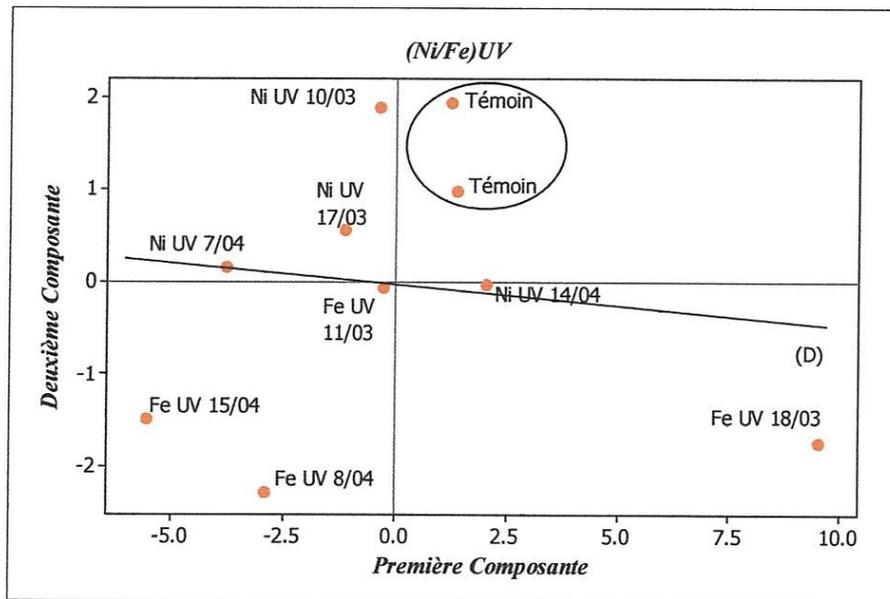


Figure VI-28 : Projection des échantillons contenant le nickel et le fer exposés à la lumière dans le premier plan factoriel.

9- Influence du Fer et Chrome sur l'huile d'olive exposée à la lumière :

- L'analyse en composantes principales a permis de classer les échantillons selon la droite D de pente positive en trois groupes : témoins extra vierges, échantillons avec le fer et échantillons avec le chrome.
- D'après la figure VI-29, l'oxydation du chrome est plus forte que celle du fer.

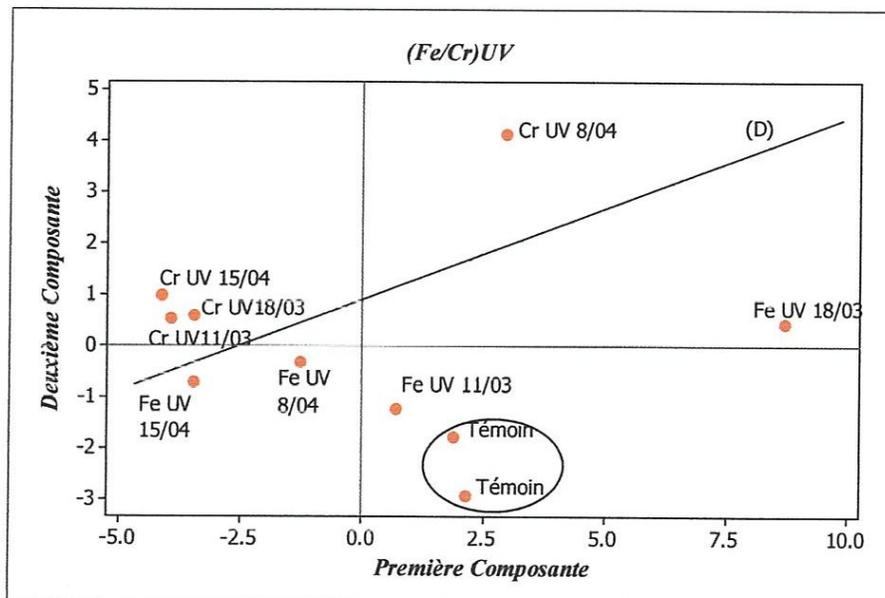


Figure VI-29 : Projection des échantillons contenant le fer et le chrome exposée à la lumière dans le premier plan factoriel.

10-Témoin et influence du Chrome exposé à la lumière :

- Le point Cr UV 8/04 est un point aberrant.
- D'après la figure VI-30, on peut classifier les échantillons selon la droite D en trois groupes : témoins extra vierges, témoins UV et huiles en présence du chrome UV.
- L'oxydation de l'huile contenant du chrome est plus poussée que celle du témoin dans les mêmes conditions.

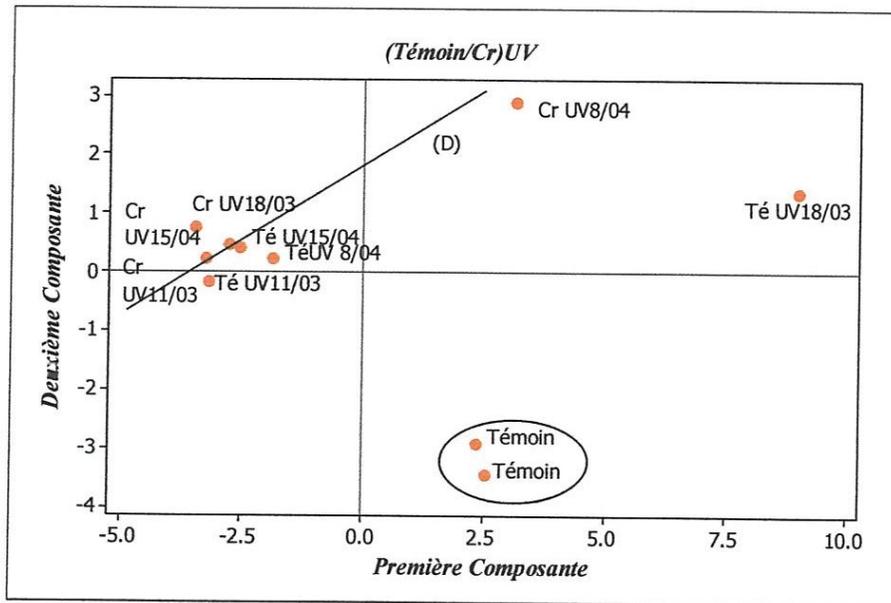


Figure VI-30 : Projection des échantillons contenant le témoin et le chrome exposée à la lumière dans le premier plan factoriel.

11-Témoin et huile contenant du Cuivre en présence d'oxygène libre (O₂):

La figure VI-31 donne la projection des échantillons : huile extra vierge pris comme témoin et celle en présence de l'oxygène libre. Cette dernière montre l'huile d'olive extra vierge s'oxyde en présence du cuivre et surtout en présence d'une quantité suffisante d'oxygène libre.

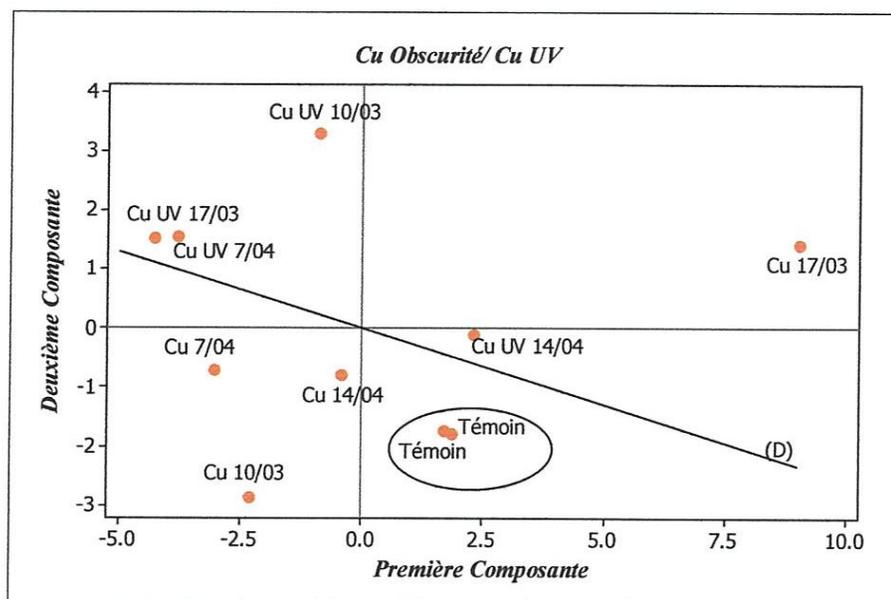


Figure VI-32: Projection des échantillons d'huile en présence du cuivre à l'obscurité et exposée à la lumière dans le premier plan factoriel.

2-Comportement des échantillons contenant du Cuivre dans l'obscurité et en présence d'oxygène libre :

La Projection des échantillons contenant du cuivre à l'obscurité et en présence d'une quantité suffisante d'oxygène dans le premier plan factoriel est donnée par la figure VI-33.

Cette dernière montre que :

- L'échantillon Cu 17 mars est un point aberrant.
- Une nette séparation des échantillons selon la droite D qui a une pente positive.
- L'oxydation est plus forte en présence du cuivre est particulièrement lorsqu'elle est mis en contact d'une suffisante d'oxygène libre.

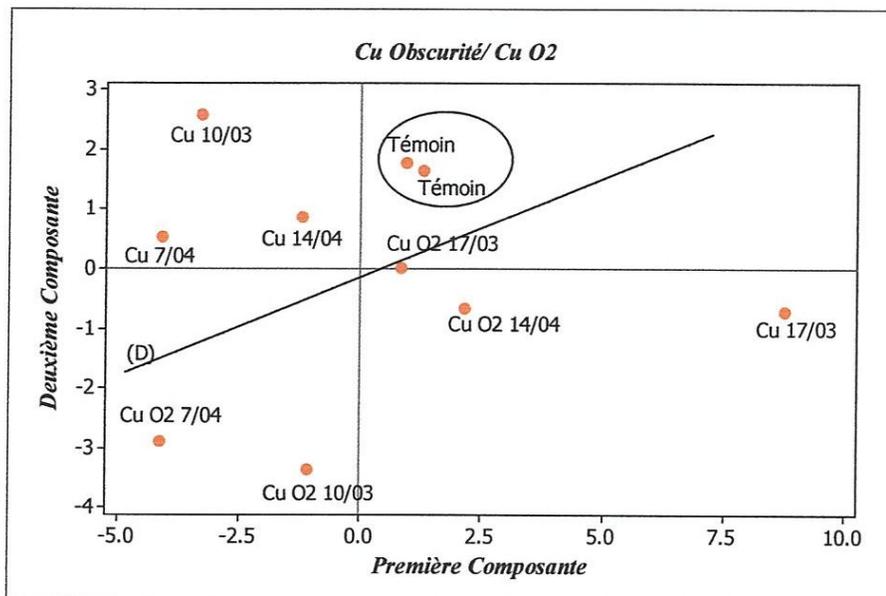


Figure VI-33: Projection des échantillons d'huile avec le cuivre à l'obscurité et en présence d'oxygène dans le premier plan factoriel.

3-Comportement de l'huile en contact direct avec le Cuivre dans l'obscurité et dans l'étuve :

La projection des échantillons d'huile avec le cuivre à l'obscurité et dans l'étuve dans le premier plan factoriel est donnée par la figure VI-34. Cette figure montre que :

- L'échantillon Cu 17 mars Dans l'étuve est un point aberrant.
- Une nette séparation des échantillons selon la droite D qui a une pente positive.
- Classification en trois groupes : témoins, huiles avec cuivre dans l'obscurité et huile avec cuivre dans l'étuve.
- L'oxydation du cuivre dans l'étuve est plus poussée que celle du cuivre dans l'obscurité.

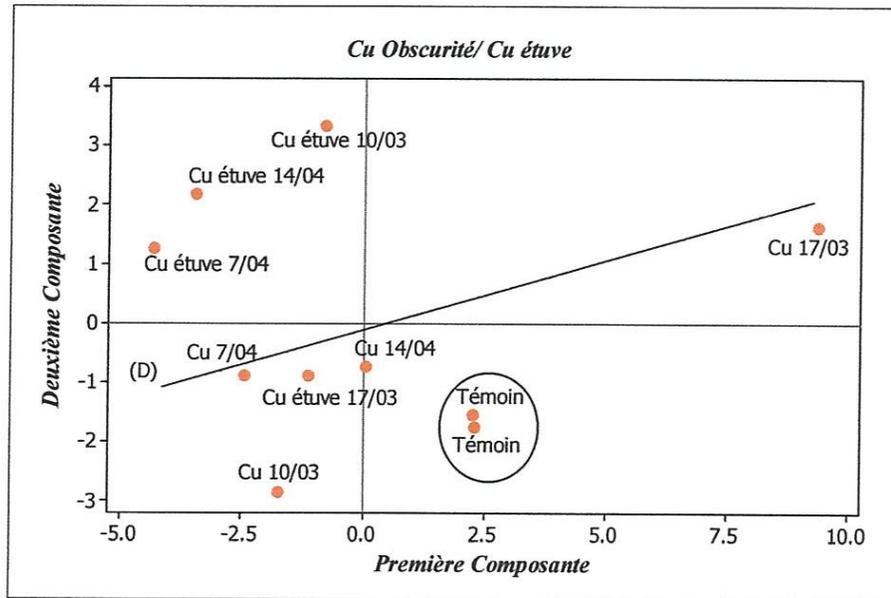


Figure VI-34: Projection des échantillons d'huile avec le cuivre à l'obscurité et dans l'étuve dans le premier plan factoriel

4-Comportement de l'huile avec le Cuivre exposé à la lumière est dans l'étuve :

La projection des échantillons contenant du cuivre exposé à la lumière et dans l'étuve dans le premier plan factoriel est donnée par la figure VI-35. Les échantillons d'huile contenant du cuivre dans l'étuve à 60°C est exposés à la lumière se comportent de la même façon.

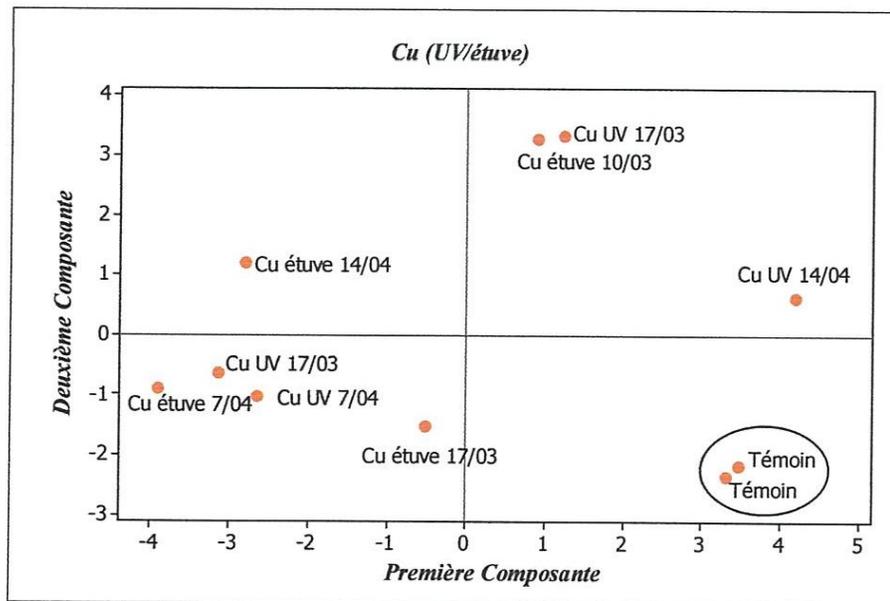


Figure VI-35 : Projection des échantillons cuivre exposé à la lumière et dans l'étuve dans le premier plan factoriel.

5-Comportement de l'huile en présence du Nickel dans l'obscurité et dans l'étuve :

- D'après la figure VI-36, il ya deus points aberrants : Ni 18/03 dans l'étuve et Ni 7/04.
- Dans cette projection on distingue trois groupes : témoins, huile en contact avec le nickel dans l'obscurité et en contact nickel dans l'étuve.
- L'oxydation du nickel dans l'étuve est plus grande dans l'étuve que dans l'obscurité.

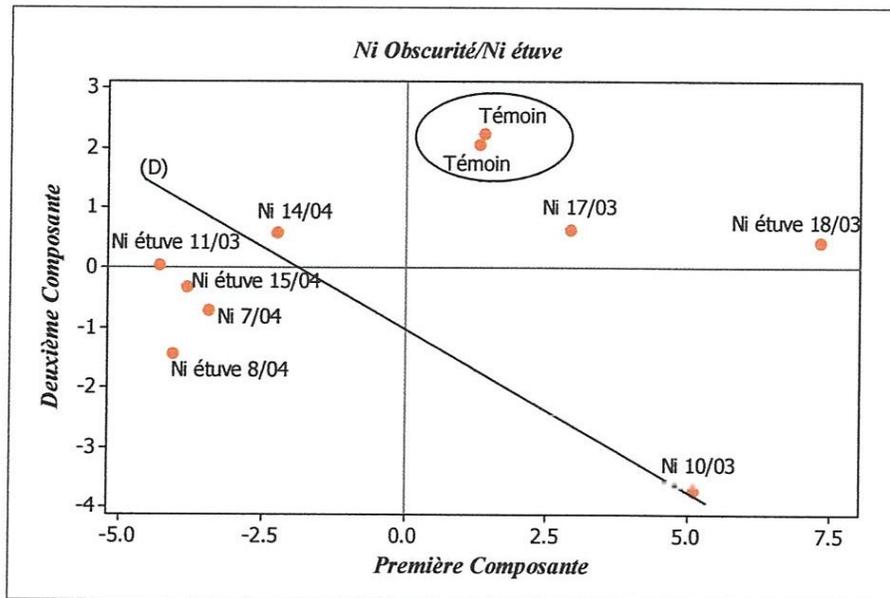


Figure VI-36: Projection des échantillons contenant du nickel à l'obscurité et dans l'étuve dans le premier plan factoriel.

Conclusion

Conclusion

La présence des métaux dans des systèmes complexes tels que les aliments induit divers problèmes comme l'oxydation des lipides ou la précipitation d'autres composés présents dans la matrice.

L'objectif de cette étude qui visait à identifier les étapes clés du procédé d'oxydation de l'huile d'olive catalysée par des métaux de transition peut être atteint en utilisant la spectroscopie infra rouge à transformée de Fourier, IRTF, comme une approche rapide d'évaluation de la qualité.

La spectrométrie IRTF appliquée aux huiles étudiées a montré que la zone affectée par l'oxydation englobe les bandes d'absorption correspondant à la vibration de valence du groupement C=O, l'élongation C-O, la déformation CH₂ et l'élongation symétrique C=C-H « cis ». Ces évolutions sont liées principalement à l'évolution du degré d'oxydation d'huile d'olive extra vierge et à la diminution de la longueur relative des chaînes carbonées.

L'examen spectrophotométrique dans le domaine ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une huile et sur son état de conservation en calculant les indices de qualité : K232 et K270. Cet examen a montré que l'oxydation est plus poussée en présence du fer suivie du cuivre, chrome et en dernière position le nickel. Les métaux se comportent de la même façon dans l'étuve, on assiste au dernier stade d'oxydation après deux mois de stockage.

A la lumière et en présence du métal, la dégradation des carotènes et des chlorophylles dans l'huile est plus grande en présence du fer suivie du nickel, chrome et en fin en présence du cuivre. A l'étuve, on assiste à un inversement d'ordre, cette dégradation est plus grande en présence du fer suivie du chrome, cuivre et en fin en présence du nickel.

Les deux modes d'interprétation des données spectrales sont complémentaires. La méthode des indices et l'ACP permettent de comparer simplement différents échantillons ayant subi différents traitements.

Les résultats des analyses statistiques montrent que l'oxydation d'une huile d'olive extra vierge est plus poussée dans l'étuve suivie de l'action de la lumière et en fin l'oxygène libre.

A l'abri de la lumière, la présence des métaux de transitions dans l'huile d'olive catalyse la réaction d'oxydation. Cette dernière est plus grande dans le cas du fer, chrome, nickel et cuivre.

Pour mieux décrire le comportement des métaux vis-à-vis de l'oxydation de l'huile d'olive extra vierge nous proposons d'approfondir l'étude statistique en utilisant l'analyse discriminante.

Référence Bibliographique

Références Bibliographiques :

- [1] Veillet, S. (2010) enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive : entre tradition et innovation. Thèse de doctorat. Université d'Avignon.
- [2] Kiritsakis, A.K. (1998) Composition of olive oil. In Olive Oil from the tree to the table. Second Edition. Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, 006611, USA. pp. 113-154.
- [3] Aparicio, R, Roda. L, Albi, M.A.et Gutiérrez. F. (1999) Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by Rancimat. J. Agric. Food Chem, 47: 4150-4155.
- [4] Benabid. H (2009) Caractéristique de l'huile d'olive algérienne apports des méthodes chimométriques, Thèse de doctorat. Université Mentouri Constantine.
- [5] Naudet. M (1992) Manuel des corps gras, tome 1, Lavoisier, Paris.
- [6] Djedoun, S. (2011) Influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive. Thèse de magister. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.
- [7] Cheikhousman, R. (2006) Etude de l'influence du traitement thermique sur la qualité et la composition des huiles végétales : les apports des méthodes chimométriques. Thèse de doctorat d'agro, université de paris
- [8] Dionisi, F .,Prodolit,J . , Tagliaferri, E. (1995) J.Am.Oil Chem.Soc., 72,1505.
- [9] Le Grusse (2003) Structure chimique et propriétés physicochimiques. In : Les vitamines dans les Industries Agroalimentaires. Bourgeois, C. Eds : Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 5-23.
- [10] Wendy, B.W. (1996) Activités antioxydante et antiradicalaire de composés phénoliques et d'extraits végétaux en systèmes modèles et en cuisson-extrusion. Thèse de Docteur en Sciences, Spécialité Science Alimentaires, E.N.S.I.A, Massy.
- [11] Gandul-Rojas, B. et Mínguez Mosquera, M.I. (1996) Chlorophyll and carotenoid composition in virgin olive oils from various Spanish olive varieties. J. Sci. Food Agric., 72: 31-39.
- [12] Rowan, K. (1989) Photosynthetic pigments of algae, Cambridge University Press, Cambridge.
- [13] Boscou, D. (1996) Olive Oil Composition. In Olive Oil: Chemistry and Technology. AOACS Press, USA, 52-83, 85-127.
- [14] Garcia, J.M. Yousfi, K. Mateos, R. Olmo, M. et Cert, A. (2001) Reduction of oil bitterness by heating of olive (*Olea europaea* fruits). J. Agric. Food Chem., 49: 4231-4235.

- [15] Mínguez-Mosquera, M.I. Gandul-Rojas, B. Garrido-Fernández, J. et Gallardo-Guerrero, L. (1990) Pigments present in virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67:192-196.
- [16] Di Giovacchino, L. (2000) Technological Aspects. In: *Handbook of olive oil: Analysis and properties*. Harwood, J. et Aparicio, R. Edition: An Aspen Publication, USA, 17-59.
- [17] Sanelli, B. (1981) the keeping quality of vegetable oils in relation to the degree of unsaturation and the chlorophyll content. I. Autoxidation. *Riv. Ital. Sost. Grasse.*, 58: 125-131.
- [18] Owen, R.W. Giacosa, A. Hull, W.E. Haubner, R. Spiegelhalder, B. et Bartsch, H. (2000) The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *Eur. J. Cancer*, 36: 1235-47.
- [19] Galli, C. et Visioli, F. (1999) Antioxidant and other properties of phenolics in olives/olive oil, typical compounds of the Mediterranean diet. *Lipids*, 34: S23-S26.
- [20] Decker, E.A. (1995) The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as non essential dietary antioxidants. *Nutr. Rev.*, 53: 49-58.
- [21] Botía, J. M. Ortuño, A. Benavente-García, O. Báidez, A.G. Frías, J. Marcos, D. et Del Río, J. A. (2001) Modulation of the biosynthesis of some phenolic compounds in *Olea europaea* L. fruits : Their influence on olive oil quality. *J. Agric. Food Chem.*, 49: 355-358.
- [22] Di Giovacchino, M., Mascolo, L. Solinas, M. et Angero, F. (1980) Incidenza dei Sistemi di Lavorazione della Oliva sui taluni parametri indicativi della Qualità dell'Olio d'Oliva. In: *Proceedings of the 3rd Congr. Biological Value of Olive Oil, Crete*, 683-688.
- [23] De Felice, M. Gomes, T. et Catalano, M. (1979) Oil Extraction from olives by Continuous Industrial Processing. *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 56:361.
- [24] Istituto Federale di Credito Agrario per la Toscana, (1991) *La Caratterizzazione delle Oli Extravergine di Oliva "Tipico Toscano"* Crocivott, Firenze.
- [25] Tateo, E. Brunelli, N. Cucurachi, S. et Ferillo, A. (1993) New trends in the study of the merits and shortcomings of olive oil in organoleptic terms, in correlation with the GC/MS analysis of the aromas In *Food Flavours, Ingredients and Composition*, G Charalampous, editor, Elsevier Science publishers B V Amsterdam.
- [26] Kubo, A. Lunde, C.S. et Kubo, L. (1995) Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 43: 1629-1633.
- [27] Owen, R.W. Mier, W. Giacosa, A. Hull, W.E. Spiegelhalder, B. et Bartsch, H. (2000b) Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of

total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem.Toxicol*, 38: 647-659.

[28] Gutiérrez, F. Jimenez, B. Ruiz, A. et Albi, M.A. (1999) Effect of olive ripeness on the oxidative stability of virgin olive oil extracted from the varieties picual and hojiblanca and on the different components involved. *J. Agric. Food. Chem.*, 47: 121-127.

[29] Awad, A.B. Downie, A.C et Fink, C.S. (2000) Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDAMB-231 human breast cancer cells in culture. *Int. J. Mol. Med.*, 5: 541-545.

[30] Pelletier, X. Belbrauet, S. et Mirabel, D. (1995) A diet moderately enriched in phytosterols lowers plasma cholesterol concentrations in normocholesterolemic humans. *Ann.Nutr. Metab.*, 39: 291-295.

[31] Mielnik M.B., Aaby K. & Skrede G. (2003) Commercial antioxidants control lipid oxidation in mechanically deboned turkey meat. *Meat Sci.*, 65: 1147-1155.

[32] Cheng Z. & Li Y. (2007) what is responsible for the initiating chemistry of iron mediated lipid peroxidation: an update. *Am. Chem. Soc. Chem. Rev.*, 107: 748-766.

[33] Halliwell B. (1991) the biological toxicity of free radicals and other reactive oxygen species. In: *Free radicals and food additives*, pp. 37-57. Academic Press, London.

[34] Hsieh R.J., Kinsella J.E. (1989) Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Adv. Food Nutr. Res.*, 33: 233-341.

[35] Eymard, S. (2003) Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés., Thèse de doctorat. Université de Nantes.

[36] Hultin, H.O. (1992) Lipid oxidation in fish muscle. In: *Advances in seafood biochemistry.Composition and quality*, pp. 99-122. Technomic Publishing Company, Lancaster,Pennsylvania.

[37] Hultin, H.O. (1994) Oxidation of lipids in seafoods. In: *Seafoods: chemistry, processing technology and quality*, pp. 49-74. Blackie Academic & Professional, New York.

[38] Frankel E.N. (1998) Oxidation in multiphase systems. In: *Lipid oxidation*, pp. 259-299. Lipid Technology, University of California, USA.

[39] Frankel E.N. (1985) Chemistry of autoxidation: mechanism, products, and flavor significance. In: *Flavor chemistry of fats and oils*, pp. 1-37. American Oil Chelmists' Society, United States of America.

- [40] Radanielina M.P. (2007) Etude de la stabilité oxydative de l'acide linoléique conjugué dans la matière grasse laitière. Thèse de doctorat. Université Laval Québec.
- [41] Leonardis, A., Macciola, V. (2002) Catalytic effect of the Cu(II) and Fe(III)-cyclohexanebutyrates on olive oil oxidation measured by rancimat. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 104:156-160.
- [42] Frankel, E.N. (1980) Lipid oxidation. *Progr. Lipid. Res.*, 19:1-12.
- [43] Pokorny J. (1987) Major factors affecting the autoxidation of lipids. In: *Autoxidation of unsaturated lipids*, pp. 141-205, Academic Press: London, U. K.
- [44] Shi X., Leonard S.S., Liu K.J., Zang L., Gannett P.M., Rojanasakul Y., Castranova V. & Vallyathan V. (1998). Cr (III)-mediated hydroxyl radical generation via Haber-Weiss cycle. *J. Inorg. Biochem.*, 69: 263-268.
- [45] Guzun T. (2010) Peroxydation des lipides émulsionnés et transfert d'ions de fer à l'interface huile/eau stabilisée par des protéines de lait : influence des résidus phosphates et de la stabilité de chélate de fer. Thèse de doctorat. Université de Bourgogne.
- [46] Kanazawa, A., Sawa, T., Akaik, T. and Maeda, H. (2000) Formation of abasic sites in DNA by t-butyl peroxy radicals: implication for potent genotoxicity of lipid peroxy radicals. *Cancer Let.*, 156: 51-55.
- [47] Mozuraityte R., Rustad T. & Storro I. (2008) the role of iron in peroxidation of polyunsaturated fatty acids in liposomes. *J. Agric. Food Chem.*, 56: 537-543.
- [48] Grosch W. (1982) Lipid degradation products and flavour. In: *Food flavours*, pp. 325-398. Elsevier Science, Amsterdam.
- [49] Mottram D.S. (1991) Meat. In: *Volatile compounds in foods and beverages*, pp. 107-177, New York.
- [50] Karleskind A. (1992) Manuel des corps gras. Lavoisier Tec & Doc, Paris.
- [51] McClure W. F. Near. (1994) *Infrared Spectroscopy, Spectroscopic techniques for Food Analysis*, ed.R.H. Wilson, VCH Publishers. pp: 13-57.
- [52] Norris K. H., Williams P. C. (1984) The determination of protein and moisture in HRS wheat by near-infrared reflectance spectroscopy: Part I. A comparative study of 12 instrumental methods, *Cereal Food World.*, 24: 459.
- [53] Wilson R. H., Goodfellow B. J. (1994) *Mid Infrared Spectroscopy, Spectroscopic techniques for food Analysis*, ed R. H. Wilson. VCH Publishers. 59-85.
- [54] Site web : <http://www.biophyresearch.com/pdf/ftir.pdf>.

- [55] Bertrand D., Dufour E. (2006) La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques. Lavoisier Tec & Doc, Paris.
- [56] Ahlers S.K.D., Brett R.A., McTaggart N.G. (1953) Infrared study of the cis- and trans study isomers of C18 fatty acids. *J. Appli. Chem.* 3: 433-443.
- [57] Kochhar S.P., Matsui T. (1984) Essential fatty acids and trans contents of some oils, margarine and other food fats. *Food Chem.* 13: 85-101.
- [58] Belton P.S., Wilson R.H., Sadeghi H., Orabchi J., Peers K.E. (1988) A rapid method of the estimation of isolated trans double bands in oils and fats using Fourier transform infrared spectroscopy combined with attenuated total reflectance. *Lebensm. Wiss. U, Technol.*, 21: 153-157.
- [59] O'connor R.T. (1956) Application of infrared spectrophotometry to fatty acid derivatives. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 33: 1-15.
- [60] Wolff J.P. (1968) Manuel d'analyse des corps gras. Azoulay eds. Paris. 114-120.
- [61] Anderson B.A., Miller R., Pallansch M.J. (1974) Measuring unsaturation in milk fat and other oils by differential infrared spectroscopy. *J. Dairy Sci.* 75:156-159.
- [62] Ahmed N.S., Helal F.R. (1977) The infrared absorption spectra for measuring the unsaturation in milk fat and oils. *Milchwissenschaft.* 32 : 272-273.
- [63] Safar M. (1995) Comparaison des plages spectrales de l'infrarouge proche et moyen pour l'étude des produits agro-alimentaires. Thèse de doctorat. Université de Nantes .
- [64] Bannon C.D., Crake J.D., Hilliker A.E. (1984) Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. IV. Fats with fatty acids containing four or more carbon atoms. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 62:1501-1507.
- [65] Mitcham D., Bailey A.V., Tripp V.W. (1973) Identification of fatty acid polymorphic modifications by infrared spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 50:446-449.
- [66] Parkash S., Blanhard J.M.V. (1975) Infrared spectra of fatty acids and some related substances. *Spectro Chim. Acta A.*, 31: 951-957.
- [67] Biggs D.A. (1979) Infrared estimation of fat, protein, and lactose in milk: evaluation of multispec instrument. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 62:1202-1210.
- [68] Sugiyama J., McClure W.F., Hana M. (1992) Dans *Advances in Near-Infrared Spectroscopy*, eds. Murray I & Cowe I.A., VCH Publishers, 61-66.