

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane Mira
Béjaïa



وزارة التعليم العالي
و البحث العلمي
جامعة عبد الرحمان ميرة
بجاية

Département des Sciences Alimentaires

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Extraction et caractérisations physique et chimique des lipides

Cours Présenté par

Dr. BACHIR BEY Mostapha

2016

Table des matières

Introduction	1
Chapitre 1 : Chapitre 1 : Préparation d'échantillons et extraction des lipides	
1- Définition des lipides	3
2- Variation quantitative et qualitative de la matière grasse dans les aliments.....	3
3- Importances de la caractérisation physique et chimique des lipides.....	4
4- Préparation de l'échantillon	4
4.1- Séchage de l'échantillon	6
4.1.3- Lyophilisation	8
4.2- Réduction de la taille des particules.....	8
4.3- Hydrolyse acide ou basique	8
5- Méthodes d'extraction des lipides	9
5.1- Extraction par solvants.....	10
5.1.1- Quelques généralités sur les solvants.....	10
5.1.1.1- Définition	10
5.1.1.2- Types de solvants.....	10
5.1.1.3- Toxicité des solvants.....	11
5.1.2- Sélection de solvant	12
5.1.3- Méthode d'extraction par solvants	16
5.1.3.1- Méthode d'extraction continue : Méthode de Goldfisch	16
5.1.3.2- Méthode d'extraction semi-continue : Méthode de Soxhlet.....	17
5.1.3.3- Méthode d'extraction discontinue : Méthode de Mojonier.....	19
5.1.3.4- Méthodes aux mélanges méthanol-chloroforme.....	21
5.1.4- Recommandations.....	23
5.2- Extraction sans solvants.....	23
5.2.1- Méthode de Babcock pour les lipides du lait et des produits laitiers.....	24
5.2.2- Méthode de Gerber pour les lipides du lait et des produits laitiers.....	25
5.2.3- Méthode d'extraction avec détergent.....	26
5.2.4- Méthodes physiques.....	26
Chapitre 2 : Caractérisation physique	
1- Humidité	28
1.1. Méthode par étuvage	28
1.2. Méthode par infrarouge.....	28
1.3. Méthode par source à halogène.....	29
1.4. Méthode par four à micro-ondes	29
2- Densité	29

3- Couleur.....	30
3.1- Mesure de la couleur avec le colorimètre Lovibond.....	31
3.2- Mesure de la couleur avec le spectrophotomètre.....	31
4- Extinction spécifique dans l'ultraviolet.....	31
5- Indice de réfraction.....	32
6- Viscosité.....	33
7- Test de gelée.....	35
8. Point de trouble.....	35
9- Point de fusion.....	35
10.1. Effet du nombre de carbones.....	35
10.2. Effet du nombre de doubles liaisons.....	36
10.3. Effet de la configuration <i>Trans</i> et <i>Cis</i>	36
10.3. Méthodes de détermination du point de fusion.....	36
10.4. Exemple : Point de fusion par tube capillaire.....	37
11- Analyse des cires.....	38
12- Point d'ébullition.....	38
13- Point de fumée.....	39
14- Poids d'éclair.....	39

Chapitre 3 : Caractérisation chimique

1- Acidité.....	40
2- Indice de saponification (I_s).....	41
3-Insaponifiables.....	42
4- Indice d'iode (I_i).....	42
5- Indice de peroxyde (I_p).....	43
6- Méthodes de détermination de la stabilité oxydative des lipides.....	44
6.1- Test de stabilité de Swift.....	44
6.2. Méthode à l'étuve ou test Schaal.....	45
6.3- Test au Rancimat.....	45
7- Teneur en chlorure de sodium (NaCl).....	46
8- Test d'amidon.....	46
9- Impuretés.....	46
9.1- Dosage des phospholipides (phosphatides).....	46
9.2- Détermination de l'alcalinité ou traces de savon.....	47
9.3- Impuretés insolubles.....	48
Références bibliographiques.....	49
Annexe.....	51

Introduction

Les lipides alimentaires, encore appelés matières grasses, corps gras, huiles ou graisses, représentent l'une des trois grandes classes de macronutriments de notre alimentation. Les lipides, les protéines et les glucides constituent les principaux composants structuraux des aliments. Les lipides sont un groupe de substances qui, en général, sont solubles dans le chloroforme, l'éther, l'hexane ou d'autres solvants organiques apolaires, mais sont peu solubles dans l'eau.

Les lipides alimentaires ont des propriétés physiques, chimiques et physiologiques très variées selon leur source et leur composition. Les corps gras utilisés dans notre alimentation sont classiquement extraits soit de tissus animaux d'origine terrestre ou marine soit de graines et de fruits. La matière grasse alimentaire provient également en quantités variables de l'ensemble des produits alimentaires qu'on consomme. Les corps gras ont des propriétés physiques, chimiques et physiologiques qui leur confèrent un rôle important aussi bien dans la nutrition de l'homme que dans la technologie alimentaire

Les lipides alimentaires contribuent de façon importante à couvrir les besoins énergétiques de l'organisme. En effet, 30 à 40% des calories sont ingérées sous forme de lipides. Les lipides jouent également un rôle structural. Après leur ingestion et leur digestion, ils entrent dans la composition des membranes cellulaires de l'organisme. Certains lipides sont précurseurs de divers médiateurs cellulaires, impliqués dans de nombreuses réactions biologiques et physiologiques (par exemple dans les réponses immunitaires et inflammatoires). Les lipides alimentaires sont une source de nutriments essentiels tels que les acides linoléique et linolénique et les vitamines liposolubles A, D, E et K.

La composition et la nature des lipides alimentaires influencent la composition et la nature des lipides de l'organisme. Un apport excessif en certains lipides est associé à une augmentation du risque de certaines maladies chroniques, en particulier les maladies cardiovasculaires. Par conséquent, la qualité des lipides alimentaires est maintenant reconnue comme un facteur très important de l'alimentation, et des recommandations nutritionnelles concernant les apports en lipides ont été établies par des experts.

Le cours suivant traite les méthodes d'extraction et de caractérisation de la matière grasse alimentaire. Ce cours permet de consolider les connaissances et de développer chez l'étudiant les aptitudes pratiques sur les corps gras qui lui permettraient non seulement de s'insérer plus facilement dans le milieu professionnel, mais également lui offrant une bonne base pour le domaine de recherche.

Le présent cours est scindé en trois chapitres. Le premier, traite le mode de préparation de l'échantillon et l'étude de l'ensemble des méthodes d'extraction des lipides à partir de différentes sources alimentaires. Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des caractéristiques physiques et le troisième englobe l'ensemble des paramètres chimiques.

Chapitre 1 : Préparation d'échantillons et extraction des lipides

1- Définition des lipides

Les lipides (ou matière grasse) désignent un groupe chimiquement hétérogène de substances qui ont la propriété commune d'insolubilité dans l'eau, mais sont solubles dans les solvants faiblement ou non polaires tels que le chloroforme et les hydrocarbures (éther de pétrole, hexane...). C'est nécessaire d'utiliser cette définition basée sur les propriétés physiques de solubilité plutôt que leurs caractéristiques structurales, car de nombreux composés sont classés comme lipides (tels que les triglycérides et les stérols), mais n'ont aucune similarité structurale.

2- Variation quantitative et qualitative de la matière grasse dans les aliments

Les teneurs en lipides des aliments sont d'une variation considérable ; elles peuvent varier de traces, comme dans le cas de la plupart des fruits et légumes, à des pourcentages très élevés, dans les cas des huiles par exemple. Les teneurs en lipides de quelques aliments de consommation courante sont représentées dans le [tableau 01](#).

Tableau 01 : Teneurs en matières grasses de quelques aliments (g/100g)

Aliment	Concentration	Aliment	Concentration
Huile de colza	~100	Kiwi	0,7
Huile de tournesol		Pruneau	
Huile d'olive		Oignon	
Huile d'arachide		Raisin sec	
Margarine	84	Lentilles	0,6
Beurre	83	Epinard	0,4
Mayonnaise	78	Datte séchée	< 0,4
Noix	63,7	Carotte	0,3
Amande	53,5	Cerise	
Margarine allégée	41,5	Citron	
Crème fraîche	30	Figue	
Gruyère	29	Figue de Barbarie	
Camembert	22	Frais	
Fromage blanc	10	Orange	
Couscous	5,7	Tomate	
Yaourt brassé nature	3,2	Fruit (moyen)	
		Sucre blanc	

Les aliments contiennent quelques ou tous les types de lipides, mais les plus dominants sont les triglycérides. La composition de la matière grasse du lait de vache (Tableau 02) illustre les viabilités quantitative et qualitative des lipides alimentaires.

Tableau 02 : Matières grasses du lait de vache

Type	Taux	Type	Taux
Triglycérides	97-99%	Vit E	1,7 à 4,2 mg/100g
Diglycérides	0,28-0,59%	Vit A	0,6 à 1,2 mg/100g
Monoglycérides	0,016-0,038%	Vit D	10 à 20 mg/100g
Phospholipides	0,2-0,1%	Vit K	traces
Stérols	0,25-0,40%	Cérides	traces
Acides gras libres	0,10-0,4%	Squalène	traces
Caroténoïdes	0,8-0,1mg/100g		

- Les cérides sont des esters d'alcool gras et d'un acide gras.

- Le squalène est un triterpène $C_{30}H_{50}$.

3- Importances de la caractérisation physique et chimique des lipides

La caractérisation physique et chimique des lipides a pour objectifs :

- 1- Obtenir des informations sur les teneurs (quantité) et les compositions (qualité) lipidique des produits.
- 2- Estimer la valeur nutritive des aliments, ce qui permet d'établir des régimes alimentaires.
- 3- Détecter les inconformités.
- 4- Etablir les étiquetages.
- 5- Développer de produits conçus pour une fonction ou pour une application particulière.
- 6- Caractériser la matière première et le produit fini et suivre le produit à chaque étape de processus industriel.

4- Préparation de l'échantillon

Comme toute analyse, un échantillonnage adéquat est essentiel pour obtenir des résultats valides. Un échantillon recommandé doit être identique dans toutes ses propriétés à la matière de laquelle il est pris. Le nombre d'échantillons prélevés doit être représentatif et la quantité de chaque échantillon doit être suffisante pour les analyses requises.

L'efficacité de l'analyse dépend de l'échantillonnage proprement dit et les conditions de son stockage avant l'étape d'analyse. L'échantillon est transporté frais (*éviter la chaleur*) dans un matériel inerte (*pas d'échange avec le matériel*), opaque (*éviter la lumière*) et fermé (*isoler de l'oxygène*) et les analyses sont entreprises dès que possible. La préparation des échantillons pour l'analyse dépend du type de l'aliment et la nature des lipides qu'il contient. L'analyse des lipides doit se faire rapidement pour éviter les éventuelles modifications. Dans le cas où l'analyse ne peut pas se faire immédiatement après l'échantillonnage, le produit doit être stocké aussi rapidement que possible dans des récipients scellés dans un congélateur à -20°C ou moins ou bien dans de l'azote liquide.

Une température de stockage de -60°C ou moins a été recommandée pour les échantillons d'origine animale. Le processus de congélation endommage de manière irréversible les tissus par le choc osmotique et la formation de cristaux de glace qui perturbent et rompent les membranes cellulaires. Lorsque l'environnement naturel des lipides du tissu est altéré de cette manière, les enzymes lipolytiques sont libérées et peuvent ainsi hydrolyser les lipides. Souvent, ces changements sont marginaux dans leur importance globale, puisque les modifications des principaux composants lipidiques peuvent être mineures. D'autre part, ils peuvent faire une différence cruciale pour les concentrations de certains métabolites lipidiques importantes. Les acides gras libres et les mono- et les di- glycérides des tissus sont reconnus comme étant des paramètres métaboliques clés. Il a été constaté que les concentrations en acides gras libres, obtenus lorsque le tissu cardiaque été rapidement congelée et broyé à basse température avant l'extraction, était seulement environ 15% des valeurs lorsque le tissu été préparé par un homogénéisateur à 0°C . La congélation et le broyage à basse température réduisent également les niveaux des diglycérides de deux tiers.

Il a été démontré que l'oxydation enzymatique (oxydases) peut entraîner des pertes non seulement dans le nombre de doubles liaisons, mais également dans la teneur en lipides ; les hydroperoxydes lipidiques peuvent former des liaisons covalentes avec les protéines membranaires réduisant ainsi leur disponibilité. Des effets similaires sont également observés lors de l'auto-oxydation des lipides dans les tissus.

Divers prétraitements ont été proposés pour l'inactivation des enzymes pour un stockage prolongé. Les lipases d'origines végétales ou animales peuvent être désactivées par l'utilisation d'un bain d'eau chaude pendant quelques instants ou avec de la vapeur. L'ébullition dans une solution d'acide acétique dilué semble avoir un effet similaire. Il est parfois recommandé que les tissus soient stockés dans une solution saline. Cependant, il est nécessaire de réévaluer ces procédures à la lumière des connaissances modernes avant de pouvoir les recommandées. Une inactivation efficace des enzymes lipolytiques est possible par homogénéisation de la prise d'essai directement avec le solvant d'extraction.

Pour éviter toute interaction avec le contenant lors de prélèvement ou de stockage des échantillons, il est indiqué que les sacs, flacons ou autres récipients en plastique doivent être évités scrupuleusement.

Le choix de la méthode d'extraction des lipides dépend des propriétés physiques et chimiques du produit. L'extraction des lipides à partir d'un liquide (le lait par exemple) est différente d'un produit solide (comme les graines de soja). Pour analyser d'une manière efficace les lipides d'un aliment, des connaissances préalables sur les principales classes et les structures lipidiques ainsi que leurs propriétés chimiques sont nécessaires.

Une méthode standard d'extraction de toutes les classes lipidiques à partir des différents aliments n'existe pas. Plusieurs étapes de préparation de l'aliment pour l'extraction sont communes. Dégager l'échantillon de l'eau : **séchage**, réduire la taille des particules : **broyage** et la séparation des lipides des protéines et des glucides : **traitement acide ou basique**. Il est nécessaire de manipuler avec soin les échantillons avant et pendant l'extraction de la matière grasse afin d'éviter les pertes de certains types de lipides. Il faut signaler que pour des résultats meilleurs, la préparation de l'échantillon et l'extraction des lipides doivent se faire à des températures raisonnables pour minimiser les réactions chimiques, telle que l'oxydation.

4.1- Séchage de l'échantillon

Il est indiqué dans certains cas d'effectuer un séchage pour les produits qui renferment des teneurs élevées en eau. Le séchage de l'échantillon présente plusieurs intérêts :

- 1- Une meilleure conservation par la réduction des réactions chimiques, enzymatiques et du développement microbien ;

- 2- La réduction du volume de l'échantillon par l'élimination de l'eau, qui représente environ 80-90% du poids d'un aliment, ce qui facilite le stockage.
- 3- Les solvants non polaires, tels que l'éther diéthylique et l'hexane, ne pénètrent pas facilement les tissus humides (> 8% d'humidité); par conséquent, l'extraction des lipides ne se produit pas d'une manière efficace. Le séchage permet de réduire l'humidité de l'échantillon facilitant ainsi l'accès et le contact des solvants apolaires avec les lipides.
4. Faciliter le broyage permettant ainsi d'augmenter la surface de contact avec le solvant d'extraction.

Le séchage des produits peut se faire par plusieurs méthodes :

4.1.1- Séchage à l'air libre

Le séchage d'un échantillon à l'air libre prend beaucoup de temps. Il dépend de la température environnante et de la charge de l'air en humidité. Ce type de séchage présente plusieurs inconvénients :

- 1- Nécessite de longues périodes.
- 2- Risques de contaminations avec les moisissures et les bactéries, ce qui provoque la dégradation des lipides.
- 3- Limitation de séchage sous les basses températures pendant les périodes froides.

4.1.2- Séchage à l'étuve

Le séchage à l'étuve consiste à peser l'échantillon et le placer dans une étuve à une température et pendant un temps déterminés ou bien jusqu'à avoir une masse relativement constante.

a- Etuves conventionnelles : Dans les étuves conventionnelles, l'énergie thermique est appliquée sur l'échantillon par l'air qui l'entoure. Malheureusement, il existe des variations considérables de températures dans les différentes zones de l'étuve en plus l'air qui entoure l'échantillon est chargé d'humidité, cela peut être remédié par l'utilisation des étuves menées d'une ventilation. La ventilation permet d'avoir une température homogène dans toute l'étuve et d'évacuer l'humidité vers l'extérieur.

L'augmentation de la température permet de diminuer le temps de séchage, mais il faut tenir compte des caractéristiques de l'échantillon. Le rapport température/temps doit être choisi avec soin. Le séchage de l'échantillon en utilisant des températures élevées est indésirable de fait que beaucoup de lipides s'oxydent et peuvent établir des liaisons avec des protéines et des glucides, ce qui rend l'extraction plus difficile. L'intervalle de températures allant de 40 à 60°C est souvent le plus utilisé. Les échantillons susceptibles à l'oxydation ou contiennent des teneurs élevées en sucres ne doivent pas être séchés dans les étuves conventionnelles sous hautes températures.

b- Etuve à vide : L'échantillon est placé sous une pression de 25 à 100mmHg dans une étuve à vide pour un temps et une température spécifiques. Ce type d'étuve sèche plus rapidement, utilise des températures moins élevées (exemple 70°C au lieu 100°C) et protège l'échantillon de la dégradation.

NB. $1 \text{ atmosphère} = 760 \text{ mmHg (Millimètre mercure)} = 101\,325 \text{ pascals} = 1,01 \text{ bar}$

4.1.3- Lyophilisation

La lyophilisation a pour principe la sublimation qui est le passage d'un corps de l'état solide à l'état gazeux, sans passer par l'état liquide. La lyophilisation est un bon moyen pour éliminer l'eau, conserver les caractéristiques de l'échantillon intactes et permet aussi un broyage facile de l'aliment.

4.2- Réduction de la taille des particules

L'efficacité de l'extraction des lipides à partir d'un produit alimentaire après séchage dépend de la taille des particules, de ce fait un broyage adéquat est important. Il est très difficile d'extraire les lipides à partir des graines de soja à cause de la porosité limitée des graines, le séchage et le broyage rendent cette extraction aisée. Le broyage de l'échantillon en poudre permet l'augmentation de la surface d'échange avec le solvant d'extraction, mais des précautions doivent être prises à l'encontre de la chaleur dégagée au cours de broyage.

4.3- Hydrolyse acide ou basique

Une quantité significative des lipides alimentaires est liée aux protéines (lipoprotéines) et aux glucides (glycolipides), comme dans les cas des produits laitiers, la farine et les produits animaux, et l'extraction directe avec un solvant hydrophobe ne sera

pas possible. De tels aliments doivent être préparés au préalable à l'extraction par une hydrolyse acide ou basique.

Pour libérer et augmenter la disponibilité des lipides à l'extraction par les solvants, les matrices alimentaires sont souvent traitées avec de l'acide ou de la base avant l'extraction. L'hydrolyse acide ou alcaline est nécessaire pour libérer les lipides fixés de manière covalente ou avec des liaisons électrostatiques aux protéines et aux hydrates de carbone ainsi que d'exposer les graisses émulsifiées. La digestion de l'échantillon avec de l'acide (habituellement 3-6N d'HCl) avec chauffage à reflux convertit ces lipides liés en une forme facilement extractible.

Il est important de noter que l'hydrolyse acide peut conduire à la décomposition de certains taux de phospholipides et éventuellement de triglycérides. Beaucoup de produits laitiers, y compris le beurre, le fromage, le lait et les aliments préparés avec du lait, nécessitent un prétraitement alcalin avec de l'hydroxyde d'ammonium pour libérer les matières grasses émulsifiées.

Le [tableau 03](#) démontre clairement l'effet du traitement acide sur les teneurs en lipides de quelques aliments.

Tableau 03 : Effet de la digestion acide sur l'extraction des lipides (%)

	Sans Hydrolyse acide	Avec Hydrolyse acide
Œufs séchés	36,74	42,39
Levure	3,74	6,35
Farine	1,20	1,73
Semoule	1,1-1,37	1,86-1,93

Les enzymes sont également utilisées pour hydrolyser les sucres et les protéines et libérer les lipides. La Clarase, un mélange de β -amylase et de protéase, étant un exemple.

5- Méthodes d'extraction des lipides

La teneur en lipides totaux d'un aliment est souvent déterminée en utilisant les méthodes d'extraction par solvant sans ou avec traitement acide ou alcalin. Dans la plupart des aliments, le traitement acide est la méthode de choix. L'adaptation d'une méthode d'extraction sans traitement préalable, par une base ou un acide, dépend généralement de la solubilité des lipides dans le solvant utilisé et l'aptitude de ce dernier à

séparer les lipides des complexes des autres macromolécules. Le choix de solvant doit être fait avec soin, l'extraction des lipides d'un aliment avec deux solvants de polarités différentes donne des teneurs différentes. En plus de l'extraction par solvants, il existe d'autres méthodes qui procèdent sans l'utilisation de solvants.

5.1- Extraction par solvants

Les méthodes d'extraction des lipides se divisent en deux : méthodes avec solvants et méthodes sans solvants.

5.1.1- Quelques généralités sur les solvants

5.1.1.1- Définition

Un solvant est un liquide qui a la propriété de dissoudre et de diluer d'autres substances sans les modifier chimiquement et sans lui-même se modifier.

5.1.1.2- Types de solvants

Il existe trois types de solvant : protiques polaires, aprotiques polaires et aprotiques apolaires ([Tableau 04](#)).

a- Solvants protiques polaires : Egalement appelés solvants protogènes, possèdent un ou plusieurs atomes d'hydrogène susceptibles de former des liaisons hydrogènes, et la molécule est polarisée, présente un moment dipolaire non nul, comme dans le cas de l'eau, du méthanol et du l'éthanol.

b- Solvants aprotiques polaires : Ils possèdent un moment dipolaire non nul et dénué d'atomes d'hydrogène susceptibles de former des liaisons hydrogènes, dont l'acétonitrile (CH_3CN) et le diméthylesulfoxyde (DMSO, $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$).

c- Solvants aprotiques apolaires : Ils possèdent un moment dipolaire permanent nul et ne présentent pas d'atomes d'hydrogène susceptibles de former des liaisons hydrogènes, tels que le benzène et l'hexane. Les propriétés de miscibilité et quelques propriétés des solvants sont regroupées dans l'[annexe](#).

Tableau 4 : Types de solvants

Solvant	Formule chimique	Température d'ébullition (°C)	Constante diélectrique (Farad par mètre)	Masse Volumique (g/ml)
Solvants aprotiques apolaires				
Hexane	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH ₃	69 °C	2,0	0,655
Benzène	C ₆ H ₆	80 °C	2,3	0,879
Toluène	C ₆ H ₅ -CH ₃	111 °C	2,4	0,867
Ether éthylique	CH ₃ CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₃	35 °C	4,3	0,713
Chloroforme	CHCl ₃	61 °C	4,8	1,498
Solvants polaires aprotiques				
Acétone	CH ₃ -C(=O)-CH ₃	56 °C	21	0,786
Solvants protiques polaires				
Ac. acétique	CH ₃ -C(=O)OH	118 °C	6.2	1,049
Butanol	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -OH	118 °C	18	0,810
Propanol	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -OH	97 °C	20	0,803
Ethanol	CH ₃ -CH ₂ -OH	79 °C	24	0,789
Méthanol	CH ₃ -OH	65 °C	33	0,791
Ac. formique	H-C(=O)OH	100 °C	58	1,21
Eau	H-O-H	100 °C	80	1,000

5.1.1.3- Toxicité des solvants

A l'exception de l'eau, tous les autres solvants présentent de toxicités plus au moins importantes. Les manipulations qui font appel aux solvants toxiques doivent se réaliser sous hotte aspirante ou dans un lieu aéré. Les voies de pénétration sont soit par la peau, ingestion ou par inhalation.

Les effets de quelques solvants utilisés dans l'extraction des corps gras sur la santé sont :

a- Ether éthylique :

En cas d'expositions brèves et non répétées, les effets de l'éther sont en grande partie réversibles. En tant que solvant, il peut aider la pénétration des autres toxiques à traverser la peau, les muqueuses et voies respiratoires.

b- Chloroforme :

Le chloroforme une fois absorbé ou inhalé à forte concentration, il peut conduire à un coma, voire entraîner des troubles respiratoires et cardiaques qui peuvent s'avérer mortels. Au cours d'un stockage prolongé, en présence d'oxygène et sous l'action de la lumière, le chloroforme a tendance à se décomposer en donnant du chlorure d'hydrogène, du chlore et de l'oxychlorure de carbone qui est un produit extrêmement toxique. Le chloroforme tend à être remplacé par le dichlorométhane qui présente des propriétés similaires avec moins de toxicité.

c- Acétone :

Le contact avec l'acétone peut provoquer des irritations ou des lésions de la peau. Une exposition importante et prolongée peut entraîner une perte de conscience. Des études sur animaux de laboratoire ont démontré des dommages sur les reins, le foie et les nerfs, ainsi que sur les fœtus en cas d'exposition prolongée à des doses importantes.

d- Méthanol :

Le méthanol s'il pénètre dans l'organisme par ingestion, inhalation, absorption cutanée peut provoquer des troubles du système nerveux central de la même façon que l'éthanol (maux de tête et troubles de coordination) et aux doses élevées, le coma et la mort. La dose mortelle communément admise est de 100 à 125ml. Une fois métabolisé dans le foie sous l'action de l'alcool déshydrogénase, il se transforme en acide formique (Acide méthanoïque, HCOOH) et en formaldéhyde (Méthanal, CH₂O) qui peuvent provoquer la cécité par destruction du nerf optique.

5.1.2- Sélection de solvant

Par définition, les lipides sont solubles dans les solvants organiques, mais insolubles dans l'eau. Ce caractère d'insolubilité des lipides dans l'eau est une propriété essentielle pour l'extraction, elle permet leur séparation des autres constituants de l'aliment (protéines, sucres et eau).

La solubilité des lipides dans les solvants organiques est déterminée par la partie de la chaîne hydrocarbonée non polaire des acides gras ou d'autres groupements aliphatiques et des groupements fonctionnels polaires, tels que la présence dans leurs structures de phosphate, de sucre, etc.

Un solvant idéal pour l'extraction des lipides doit avoir un pouvoir élevé de solvation pour les lipides, mais faible pour les protéines, les acides aminés et les glucides, il s'évapore facilement et ne laisse pas de résidu, présente un point d'ébullition relativement faible, être non inflammable et non toxique à l'état liquide et vapeur. Il doit être hydrophobe, pénétrer facilement dans les graines des particules et d'un coût moins cher. Un solvant qui présente toutes ces caractéristiques n'existe pas, toutefois, il faut choisir un solvant qui se rapproche de ces propriétés. L'éther éthylique et l'éther de pétrole (fraction du pétrole de faible point d'ébullition (40-60°C), composé principalement d'hexane et de pentane) sont les solvants les plus communément utilisés, mais le pentane, l'hexane et le chloroforme peuvent être également utilisés. La combinaison de deux ou trois solvants pour la recherche d'une polarité adéquate est fréquemment recherchée.

Les solvants utilisés principalement pour l'extraction des lipides sont les alcools (méthanol, l'éthanol, l'isopropanol, le n-butanol), l'acétone, l'acétonitrile, les éthers (éther diéthylique, éther isopropylique, dioxane, tétrahydrofuranne), des hydrocarbures halogénés (chloroforme, dichlorométhane), les hydrocarbures (hexane, le benzène, le cyclohexane, l'isooctane) ou leurs mélanges.

a- Solubilité des acides gras : Les chaînes d'acides gras sont pratiquement insolubles dans l'eau, par contre, elles forment un film à la surface de l'eau. Les groupements carboxyliques polaires sont en contact avec l'eau et les chaînes hydrophobes sont orientées vers l'extérieur. Les acides gras peuvent s'organiser également en micelles (émulsion) (Figure 01).

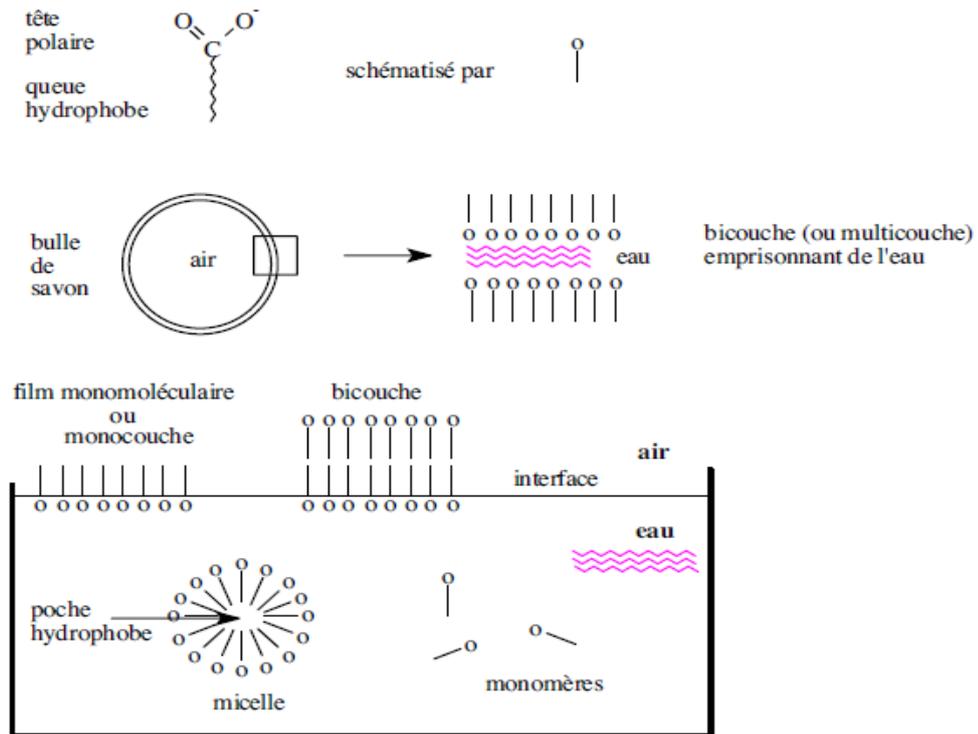


Figure 01 : Comportement des acides gras dans l'eau

La solubilité des acides gras dans l'eau diminue avec l'augmentation du nombre de carbones, par exemple, l'acide butyrique (4 carbones) est complètement soluble dans l'eau et à partir de 8 carbones les chaînes carbonées deviennent insolubles. L'éther éthylique est le meilleur solvant pour les acides gras à chaînes saturées, tel que l'acide stéarique, il peut former des liaisons hydrophobes avec les chaînes carbonées et présente une polarité suffisante pour s'interagir avec le groupement carboxyle. Par contre le benzène, qui est un solvant non polaire, n'est pas adéquat pour les acides gras libres.

La solubilité des acides gras est influencée par le nombre de doubles liaisons. Cette propriété peut être utilisée pour séparer les acides gras. La solubilisation d'un mélange d'acides gras (acide stéarique, acide oléique et acide linoléique) est réalisée à température ambiante, puis la solution est refroidie graduellement jusqu'à -80°C (Figure 2). A -10°C , l'acide gras saturé devient insoluble dans l'acétone, à environ -50°C , l'acide mono-insaturé est précipité et à -80°C , l'acide linoléique est sédimenté.

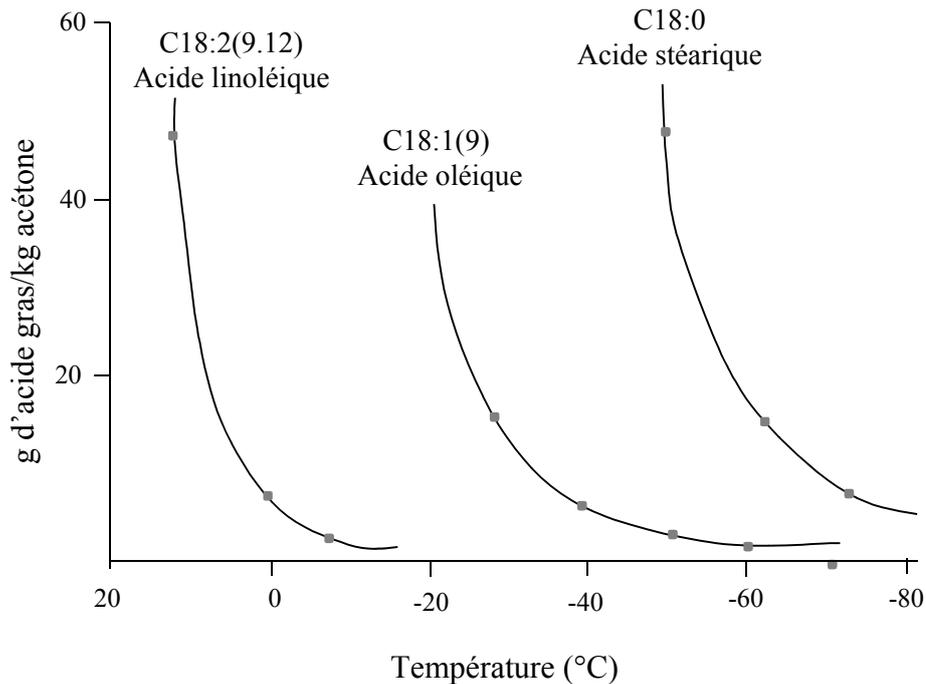


Figure 02 : Solubilité des acides gras dans l'acétone

b- Solubilité des triglycérides : Les triglycérides représentent la quasi-totalité (> 95%) des lipides alimentaires, tandis que la part restante comporte les mono- et les diglycérides, les phospho et les glycolipides et les stérols. Les lipides qui ne portent pas de groupements polaires (par exemple, les triglycérides neutres) sont très solubles dans les solvants hydrocarbonés (hexane, benzène, etc.), le cyclohexane et les solvants plus polaires tels que le chloroforme ou l'éther diéthylique, mais restent insolubles dans les solvants polaires comme le méthanol. La solubilité de tels lipides dans les solvants alcooliques augmente avec la longueur de la chaîne hydrocarbonée de l'alcool. Par conséquent, ils sont solubles dans l'éthanol et complètement solubles dans le n-butanol.

c- Solubilité des lipides polaires : Les lipides polaires (les phospholipides et les glycolipides) ne sont que peu solubles dans les solvants hydrocarbonés à moins d'être associée avec d'autres lipides; cependant, ils se dissolvent facilement dans les solvants plus polaires tels que le méthanol, l'éthanol ou le chloroforme.

Cette grande différence d'hydrophobicité des lipides rend la sélection d'un seul solvant universel pour l'extraction des lipides, à partir des aliments, impossible.

- Beaucoup de lipides alimentaires ne se trouvent pas libres, mais sont combinés avec des protéines (lipoprotéines) et des sucres (glycolipides) ce qui rend leur extraction difficile, de ce fait, plusieurs extractions successives sont nécessaires et les traitements pour rompre les liaisons avec les lipides et les sucres sont indispensables.
- Il faut noter aussi que le ratio solvant/échantillon doit être choisi avec soin, car l'utilisation d'un volume de solvant relativement faible peut conduire à la saturation de solvant avant l'extraction complète des lipides et l'utilisation d'un grand volume de solvant rend l'extraction coûteuse et augmente le risque de toxicité.

5.1.3- Méthode d'extraction par solvants

5.1.3.1- Méthode d'extraction continue : Méthode de Goldfish

La méthode de Goldfish est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse en fin de l'analyse. Elle est utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides ou séchés.

Principe : Le produit est pesé puis placé dans une cartouche de cellulose ou une capsule poreuse d'alundum (oxyde d'aluminium, Al_2O_3) de l'extracteur Goldfish (Figure 03). L'échantillon est extrait en continu par l'éther éthylique en ébullition, ou l'éther de pétrole, qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse, retourne dans un récipient placé sous le porte-échantillon. Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le récipient jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois que l'extraction est terminée, le solvant est évaporé et la matière grasse est pesée.

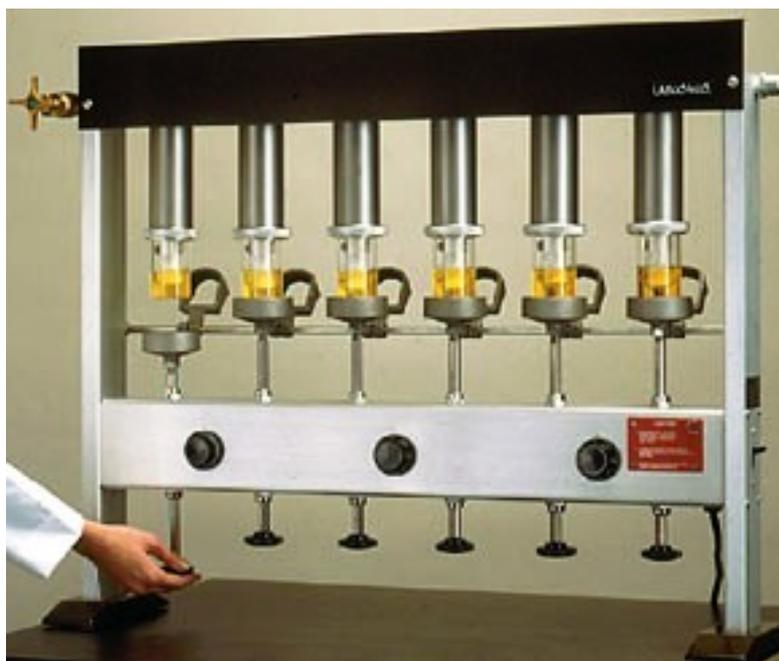


Figure 03 : Extracteur Goldfish

5.1.3.2-Méthode d'extraction semi-continue : Méthode de Soxhlet

La méthode Soxhlet est une méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides ou séchés. Il est à signaler que les méthodes d'extraction semi-continues sont moins rapides et moins efficaces que les méthodes continues.

Principe : L'aliment est pesé puis placé dans une cartouche de cellulose. La cartouche de cellulose est perméable au solvant et à la matière grasse qui y est dissoute. Les différentes parties de l'extracteur Soxhlet sont illustrées dans la [figure 04](#). Le solvant qui se trouve dans le ballon de chauffage remonte vers la chambre d'extraction pour 5 à 10min puis retourne au ballon. L'échantillon est extrait en semi-continu par un solvant (exemple : éther éthylique, hexane, éther de pétrole) en ébullition qui retombe goutte-à-goutte dans la chambre d'extraction et qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, le solvant est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif, et la teneur en lipides est mesurée par poids de diminution de l'échantillon ou directement par le poids des lipides extraits. Si l'échantillon contient plus de 8-10% d'humidité, le séchage est recommandé.

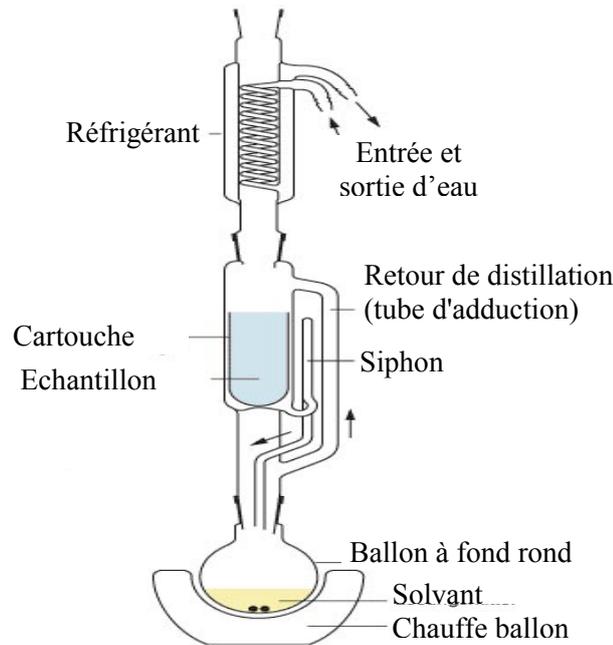


Figure 4 : Extracteur Soxhlet

- Facteurs influençant la précision des méthodes Soxhlet et Goldfisch

1. *Temps d'extraction de la matière grasse* : Un temps d'extraction court donne des résultats inexacts, c'est-à-dire inférieurs aux résultats attendus.
2. *Grosseur des particules de l'aliment* : L'aliment doit être broyé de façon à offrir la plus grande surface de contact possible au solvant extracteur.
3. *Évaporation incomplète du solvant* : Teneur en gras surévaluée.
4. *Qualité du solvant extracteur* : Les solvants organiques sont rarement purs et contiennent des résidus non évaporables. On doit s'assurer que la masse de résidus n'influence pas le résultat de façon significative.

On peut faire un blanc en évaporant la quantité de solvant utilisée dans la méthode et en pesant le résidu. La comparaison avec les lipides extraits, permet de vérifier si le résultat est surévalué de façon significative ou non.

5. *Formation de canaux dans l'échantillon (Goldfisch)* : Le solvant d'extraction peut occasionnellement former des canaux à travers l'échantillon et ne passer que par ces canaux. Le résultat obtenu est alors inférieur à celui attendu.

6. *Détérioration de la capsule d'alundum (Goldfisch)* : A cause de son coût relativement élevé, la capsule d'alundum est réutilisable plusieurs fois. Ce matériau inorganique s'égrène parfois pendant l'extraction et de petites particules tombent dans le récipient de récupération, augmentant ainsi la masse de la matière grasse. Le résultat obtenu est alors supérieur à celui attendu.

5.1.3.3-Méthode d'extraction discontinue : Méthode de Mojonnier

La méthode de Mojonnier est une méthode de référence pour la détermination de la matière grasse dans les produits laitiers. Le test de Mojonnier ne nécessite pas l'étape de séchage de l'échantillon et peut être utilisé pour les produits liquides et solides. Le traitement acide ou basique ou les deux combinés peuvent être appliqués également dans cette méthode.

a- Principe :

Le produit laitier est mesuré puis mis dans le flacon de Mojonnier (Figure 05). Le produit est dissout dans la phase aqueuse contenant de l'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH , densité 0,8974) et de l'alcool éthylique. La matière grasse est extraite à l'aide d'un solvant organique immiscible avec l'eau, composé d'éther éthylique et d'éther de pétrole. Les solvants d'extraction sont évaporés et la matière grasse est pesée.

À cause de la teneur très variable en matière grasse dans les produits laitiers, la quantité d'échantillon pesée, le nombre d'extractions et les volumes de solvants utilisés doivent être ajustés en fonction de chaque type de produits laitiers.

b- Rôles du réactif et des solvants

Hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) : Destabilise la micelle lipidique, neutralise l'acidité du produit laitier, réduit la viscosité, facilitant ainsi l'action des solvants, et prévient la formation de gel.

Alcool éthylique à 95% : Facilite l'extraction ; l'alcool étant miscible avec l'éther, brise les liaisons entre les protéines et les phospholipides qui sont inclus dans la matière grasse et facilite la séparation de la phase aqueuse de la phase organique.

Éther éthylique : Dissout la matière grasse et la garde en solution. L'éther peut inclure également un peu d'eau contenant de petites quantités de solides non gras qui peuvent causer des résultats erronés.

Éther de pétrole : Ce solvant est un mélange d'hydrocarbures, sert à éliminer de la solution d'éther éthylique toute trace d'eau pouvant contenir des solides non gras.



Figure 05 : Flacon de Mojonnier

c- Facteurs influençant la précision des résultats

1. *Produits laitiers contenant des agents épaississants* : Certains produits laitiers contiennent des agents épaississants (tels que l'amidon, la pectine, la gélatine alimentaire, la cellulose, etc.) qui sont responsables de la formation d'émulsions entre la phase aqueuse et la phase organique. Les résultats obtenus sont non reproductibles. Une façon de contourner le problème est de peser moins de produits laitiers et de remplacer la différence par de l'eau.

2. *Position de l'interface entre les deux phases après décantation.*

3. *Évaporation incomplète des solvants* : Teneur en gras surévaluée.

4. *Qualité des solvants organiques* : La qualité des solvants est testée par la réalisation d'un blanc. Le volume total d'éther éthylique et d'éther de pétrole utilisé pour une analyse ne doit pas contenir plus de 0,5 mg de résidu non évaporable.

5. *Décantation accidentelle de la phase aqueuse* : La phase aqueuse contient tous les solides hydrosolubles du lait (protéines, lactose, minéraux, etc.). Toute décantation accidentelle de la phase aqueuse augmente la masse de gras et donnera un résultat plus élevé que le résultat attendu. Une bonne agitation de l'échantillon est recommandée.

5.1.3.4-Méthodes aux mélanges méthanol-chloroforme

Le mélange méthanol et chloroforme est communément utilisé pour l'extraction des lipides. Les méthodes d'extraction aux mélanges méthanol-chloroforme sont rapides, s'adaptent aux échantillons de faibles teneurs en lipides et peuvent être généralisées pour plusieurs sources lipidiques (animales et végétales). Toutefois, pour des résultats consistants, la procédure doit être suivie avec précaution et le rapport méthanol/chloroforme doit être bien choisi. Il est généralement admis qu'environ 95% des lipides sont extraits au cours de la première étape, mais une deuxième extraction est couramment réalisée, voire même une troisième.

a- Méthode de Folch

Principe :

L'échantillon est homogénéisé avec le mélange méthanol-chloroforme à raison de 20 fois le poids de l'échantillon (soit 1 g dans 20 ml du mélange de solvants). Le mélange ainsi formé est agité pendant 15-20 min à température ambiante. L'homogénat est filtré sur un papier-filtre ou centrifugé pour récupérer la phase liquide. Le résidu est généralement ré-extrait avec le même système de solvant et la deuxième extraction est mélangée avec la première. L'extrait est lavé avec de l'eau en utilisant 20% du volume de départ (soit 4 ml d'eau pour 20 ml d'extrait) ou bien avec une solution de NaCl ou KCl à 0,9%*. Après agitation, le mélange est centrifugé à une vitesse de 2000 rpm/min ou bien mis dans une ampoule à décanter afin de séparer les deux phases. Les lipides contenants dans la phase chloroformique inférieure sont récupérés sous vide par un évaporateur rotatif ou sous un flux d'azote si le volume est réduit (2-3 ml).

*La solution saline empêche la formation ou réduit l'épaisseur de la phase intermédiaire, facilite la séparation des deux phases et réduit la perte des lipides relativement polaires.

La phase inférieure, représente environ les deux tiers du volume total, contient les composés lipidiques et la phase supérieure retient les composés non lipidiques. Cependant, les lipides plus polaires, tels que les phospholipides, les glycolipides et les gangliosides, peuvent partiellement rester dans la phase supérieure. L'élimination des contaminants non lipidiques de l'extrait lipidique est nécessaire étant donné que la plupart des solvants utilisés peuvent dissoudre des quantités significatives de substances non lipidiques : arômes, pigments, sucres, acides aminés, peptides à chaîne courte et des sels.

La matière non lipidique doit être éliminée avant la détermination gravimétrique des lipides totaux et afin d'éviter une contamination au cours du fractionnement ultérieur de l'extrait obtenu. Dans la méthode d'extraction au mélange méthanol-chloroforme, le lavage avec l'eau ou une solution diluée de sel est couramment utilisé pour éliminer les contaminants non lipidiques. Ces contaminants peuvent également être partiellement ou totalement éliminés par évaporation sous vide de l'extrait lipidique ou sous azote, puis le résidu est ré-extrait avec un solvant non polaire tel que l'hexane.

Il est recommandé d'utiliser un mélange méthanol-chloroforme de ratio 1:2 (v/v) pour les échantillons riches en lipides (>10% de lipides) et un ratio 2:1 (v/v) pour les produits pauvres en lipides (<2%).

Vu la toxicité élevée du méthanol et du chloroforme, l'extraction se fait dans une atmosphère bien aérée, sous hotte ou utiliser d'autres solvants. Par exemple, le chloroforme dans la méthode de Folch est parfois substitué par le dichlorométhane.

b- Méthode de Bligh et Dyer

La méthode de Bligh et Dyer est semblable à la méthode de Folch, mais elle tient compte de l'importance de l'eau de l'échantillon.

Pour un produit qui contient environ 80% d'eau, un mélange méthanol-chloroforme à une proportion de 2:1 est utilisé pour l'extraction. Le mélange ternaire monophasique eau/méthanol/chloroforme est obtenu avec les proportions de 0,8:2:1 (v/v/v). La quantité d'eau pourrait être ajustée pour les échantillons contenant une teneur en eau très différente de 80% afin d'avoir le même système de solvant d'extraction. Après extraction, deux volumes équivalents de chloroforme et d'eau sont ajoutés pour obtenir un système eau/méthanol/chloroforme de 0,9:1:1 (v/v/v) conduisant à la séparation des phases, une

phase inférieure chloroformique, contient les lipides extraits, et une phase supérieure, renferme le mélange eau-méthanol et les autres matières co-extraites.

D'autres mélanges de solvants ont été également utilisés pour extraire la matière grasse à partir de diverses matières biologiques: hexane-alcool-eau, isopropanol-alcool-eau, hexane-isopropanol (3:2, v/v), chlorure de méthylène-méthanol (2:1, v/v), hexane-acétone (1:1, v/v), etc.

5.1.4- Recommandations

- L'utilisation de solvants pré-distillés pour l'extraction des lipides est souhaitable, car la majorité des solvants contiennent des quantités variables de contaminants qui peuvent s'ajouter à l'extrait lipidique.

- Il est important d'indiquer que pendant l'extraction, les récipients en plastique doivent être écartés afin d'éviter que certains composants migrent vers l'extrait lipidique.

- Pour empêcher l'auto-oxydation des lipides insaturés au cours de l'extraction ou pendant le stockage des extraits, il est indiqué d'ajouter un antioxydant au solvant d'extraction, par exemple, le hydroxytoluènebutylé (BHT) à un niveau de 50-100 mg/L.

- Les traces d'humidité peuvent être éliminées de l'extrait lipidique avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) ou par filtration à travers une colonne de Sephadex.

***NB. Sephadex :** Le gel de Sephadex est constitué de billes macroscopiques obtenues par synthèse à partir d'un polysaccharide, le dextrane, et possédant une masse moléculaire très élevée. Le dextrane est un polymère ramifié formé par des unités de glucose.*

- Si un stockage prolongé est indiqué, les lipides doivent être immédiatement stockés dans un solvant non alcoolique inerte tel que le chloroforme, plutôt que d'être laissé à sec.

5.2- Extraction sans solvants

Les méthodes d'extraction des lipides sans solvants sont pour la plupart des procédures d'extraction humides (ne nécessitent pas l'élimination de l'eau). La teneur en lipides est quantifiée de manière volumétrique. Ces méthodes sont bien utilisées pour la détermination de la teneur en matière grasse des produits laitiers, notamment le lait frais, et nécessitent l'utilisation de verrerie et équipements spécifiques.

5.2.1- Méthode de Babcock pour les lipides du lait et des produits laitiers

La méthode de Babcock est une méthode officielle utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les produits laitiers. Cette méthode volumétrique est peu coûteuse et rapide, prend un temps d'analyse d'environ 45min, mais peu précise. De plus, les résultats obtenus par cette méthode sont, en moyenne, légèrement plus élevés que ceux obtenus par la méthode de Mojonnier.

Principe : Le produit laitier est pesé (ou pipeté pour le lait), puis dissout avec l'acide sulfurique (H_2SO_4 ; densité = 1,82) qui digèrent les protéines, génèrent de la chaleur et libèrent les lipides qui remontent à la surface de la solution. Par addition d'eau et centrifugation, la matière grasse est dirigée dans la partie graduée de la bouteille de Babcock (Figure 06). On mesure, à $57^\circ C$ ($55-60^\circ C$), la hauteur d'une colonne de gras sur une échelle graduée en pourcentage massique (% m/m) de matière grasse.



Figure 06 : Bouteilles de Babcock pour les lipides du lait (a), de la crème (b) et du fromage (c).

5.2.2-Méthode de Gerber pour les lipides du lait et des produits laitiers

La méthode de Gerber est similaire à celle de Babcock, mais elle utilise en plus de l'acide sulfurique, l'alcool amylique (pentanol, $C_5H_{11}OH$) qui facilite la séparation des deux phases et s'applique d'une manière plus large pour les produits laitiers. La température du bain-marie est réglée à $65^{\circ}C$ dans cette méthode. L'analyse est effectuée à l'aide d'un Butyromètre (Figure 07).



Figure 07 : Butyromètre

- Facteurs influençant la précision des résultats

1. *Qualité de la colonne de gras* : Une colonne de gras contenant des particules organiques en suspension donne des résultats erronés, habituellement plus élevés que ceux attendus.
2. *Température du bain-marie* : Avant la lecture, la colonne du gras doit être immergée dans un bain d'eau à $65 \pm 2^{\circ}C$ (Méthode de Gerber) et à $57 \pm 2^{\circ}C$ (Méthode de Babcock). Une autre température donne des résultats inexacts.
- 3- *Utilisation limitée* : Cette méthode n'est pas applicable aux produits renfermant de chocolat ou additionnés de sucres à cause de la carbonisation des sucres sous l'action de l'acide sulfurique et de la chaleur (Babcock).
- 4- Le contact prolongé des lipides avec l'acide sulfurique sous haute température conduit à l'augmentation de volume. Cela pourrait résulter de la formation de quelques composés lipophiles qui passent à la phase lipidique. Ces composés peuvent se former par la combinaison de l'alcool iso-amylique avec l'acide sulfuriques ou bien la liaison de l'alcool isoamylique avec le glycérol qui est issu de l'hydrolyse des triglycérides (Gerber).

5.2.3-Méthode d'extraction avec détergent

Le principe de cette méthode repose sur l'interaction des détergents avec les protéines pour former un complexe protéine-détergent qui déstabilise les émulsions et libère les graisses. La méthode a été développée à l'origine pour déterminer les lipides dans le lait en raison des propriétés corrosives de l'acide sulfurique dans le test Babcock. Cette méthode a été ensuite modifiée pour être appliquée pour une large gamme de produits. Le lait est pipeté dans une bouteille d'essai Babcock puis un détergent anionique, le phosphate de dioctyle de sodium ($C_{16}H_{34}O_4PNa$), est ajouté pour disperser la couche de protéines qui stabilise les lipides pour libérer la graisse. Ensuite, un puissant détergent hydrophile non ionique, le Polyoxyéthylène ($HO-(CH_2CH_2O)_n-H$), est ajouté pour séparer les lipides des autres composants.

5.2.4- Méthodes physiques

Les forces de compression externes peuvent être utilisées pour libérer les lipides des tissus. Cette technique est largement utilisée dans les huileries pour l'extraction des huiles à partir des graines oléagineuses (huile > 30%).

Chapitre 2 : Caractérisation physique

1- Humidité

L'humidité est définie conventionnellement comme étant le poids perdu d'une matière après séchage de l'eau. Elle englobe toutes les substances qui s'évaporent par chauffage en entraînant une perte de poids de l'échantillon. La perte de poids est mesurée par une balance et interprétée comme le taux d'humidité. Par conséquent, cette notion d'humidité concerne outre l'eau, d'autres substances comme les composants aromatiques, produits de décomposition et de combustion, etc.

L'eau est à l'origine de la détérioration des lipides parce que c'est un milieu très réactionnel, solubilise de nombreux métaux et favorise le développement de bactéries et de champignons.

De nombreuses méthodes sont développées pour la mesure de la teneur en humidité, mais les méthodes thermogravimétriques sont les procédés les plus utilisés. L'échantillon est pesé, l'eau est éliminée par chauffage jusqu'à ce que la masse de l'aliment demeure constante. Les taux d'humidité et des solides totaux sont exprimés en pourcentages.

1.1. Méthode par étuvage

Cette méthode utilise des étuves qui sèchent par la chaleur des résistances électriques. Deux types d'étuves peuvent être utilisés, les étuves ventilées en utilisant des températures de 100-105°C sous pression atmosphérique et les étuves à vide (fours à vide) avec 70-75°C à pression réduite (25-100mmHg ; $1\text{Atm} = 760\text{mmHg}$).

1.2. Méthode par infrarouge

Cette méthode est une version rapide de la méthode conventionnelle. L'échantillon est pesé à l'aide d'une balance intégrée dans le dessiccateur à infrarouge puis chauffé avec une lampe à rayons infrarouges pendant un temps déterminé. L'appareil calcule la perte du poids de l'échantillon une fois la masse est stabilisée.

1.3. Méthode par source à halogène

Cette méthode est similaire au séchage par infrarouge. La technique employée repose sur le nouveau principe des lampes à halogène. Ces lampes permettent d'atteindre très rapidement la température voulue et la température est contrôlée avec précision. En règle générale, le résultat de mesure est obtenu plus rapidement qu'avec les méthodes traditionnelles et la distribution de chaleur dans l'échantillon est plus homogène. Le rayonnement thermique uniforme sur l'échantillon, combiné à une régulation précise de la température conduit à des résultats de mesure d'une reproductibilité exceptionnelle. Il est alors possible d'obtenir des résultats précis de mesure en l'espace de 3 à 10 minutes, selon le type et la teneur en humidité de l'échantillon.

1.4. Méthode par four à micro-ondes

L'élimination de l'eau se fait à l'aide de micro-ondes. Ce procédé repose sur l'absorption des micro-ondes par les molécules d'eau de l'échantillon. Cette absorption dégage de la chaleur qui évapore les composants volatils. Cette méthode est inappropriée pour les substances non polaires à faible teneur en eau (<2%), car ces échantillons manquent de substances absorbant les micro-ondes et donc de générateurs de chaleur.

2- Densité

La densité relative d'une huile ou d'une graisse est le quotient de la masse dans l'atmosphère d'un certain volume de cette matière par la masse du même volume d'eau.

Les lipides ont une densité inférieure à celle de l'eau, ce qui explique pourquoi ils remontent à la surface de l'eau ou du vinaigre quand l'émulsion n'est pas stabilisée.

La densité est mesurée à l'aide d'un densimètre. Ce dernier est un instrument en verre ayant la forme d'une ampoule et surmontée d'un tube scellé hermétiquement et muni d'une échelle graduée (Figure 08.a). La densité est également déterminée à l'aide d'un pycnomètre (Figure 08.b) ou une fiole. Il existe également des densimètres électroniques qui mesurent la densité d'une manière automatique.

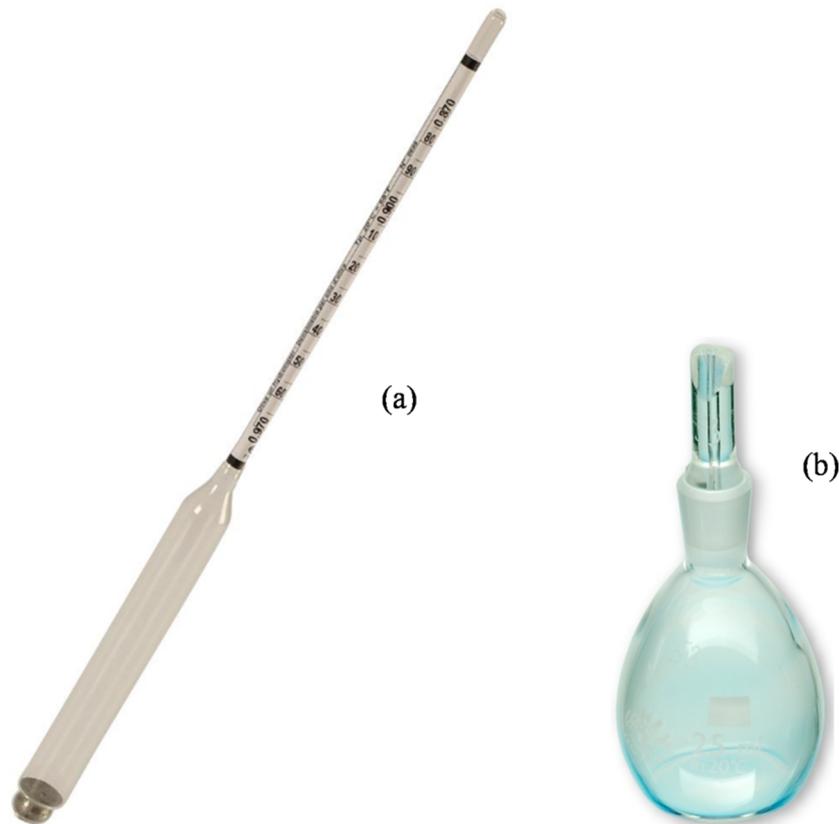


Figure 08 : Le densimètre(a) et le pycnomètre (b)

3- Couleur

La présence de pigments est responsable de la couleur des huiles. Les plus abondants sont les carotènes, qui sont responsables de la couleur jaune, et la chlorophylle, qui donne la couleur verte. La couleur est influencée par l'origine de corps gras. Ce paramètre joue un rôle important dans l'évaluation de la qualité d'une graisse tel que l'oxydation. La couleur d'une huile est liée aussi à la maturité des graines, au stockage et au traitement technologique, si une huile raffinée est plus sombre que prévu, il est probablement indicatif de mauvais raffinage.

La couleur des graisses et des huiles est mesurée le plus souvent par le Lovibond, mais parfois elle est également évaluée par la méthode spectrophotométrique.

3.1- Mesure de la couleur avec le colorimètre Lovibond

Le principe de la détermination de la couleur par cette méthode consiste à faire une comparaison entre la couleur de la lumière transmise à travers une couche de graisse liquide et la couleur de la lumière provenant toujours de la même source transmise à travers les lames colorées standardisées. Ces dernières sont constituées de trois couleurs, qui sont : Jaune (J), Rouge (R) et Bleu (B). Les résultats sont exprimés par trois chiffres correspondant à l'intensité des trois couleurs standards comme suit : X_J , Y_R , Z_B dont X, Y et Z sont les valeurs lues sur le Lovibond. Par exemple, les normes de l'huile produite par le groupe Cevital sont 30_J , 2_R , 0_B .

3.2- Mesure de la couleur avec le spectrophotomètre

Bien que spécifiquement mise au point pour tester les couleurs des huiles de graines de coton, de soja et d'arachides, la méthode spectrophotométrique pourrait être applicable à d'autres graisses et huiles.

L'échantillon est chauffé à 25-30°C, puis placé dans une cuve et l'absorbance est mesurée à 460, 550, 620 et 670nm. L'Indice de Couleur Photométrique est calculé selon l'équation suivante (méthode AOCS Cc 13c-50) :

$$ICP = 1,29(A_{460}) + 69,7(A_{550}) + 41,2(A_{620}) - 56,4(A_{670}).$$

4- Extinction spécifique dans l'ultraviolet

L'examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des indications sur la qualité d'une matière grasse et sur son état de conservation. L'extinction spécifique dans les UV est mesurée à deux longueurs d'onde : 232 et 270nm. L'extinction à 232nm, permet d'évaluer la présence des systèmes diènes conjugués ainsi que les produits primaires d'oxydation des acides gras (hydroperoxydes $ROOH$, alkoxy $RO\cdot$...) tandis qu'à 270nm sont détectés les systèmes triènes conjugués et les produits secondaires d'oxydation (alcools, cétones et aldéhydes).

Cette analyse est rapide, mais non spécifique, car de nombreuses interférences apparaissent entre les lipides natifs et les produits formés. Elle est toutefois adéquate pour le suivi de l'oxydation des lipides et renseigne sur la qualité de la matière grasse. A titre indicatif, les normes pour l'huile d'olive sont indiquées dans le [tableau 5](#).

Tableau 5 : Normes du Conseil Oléicole International (Conseil Oléicole International, 2003).

Catégories	Extinction à 232nm	Extinction à 270nm
Huile d'olive vierge extra	≤ 2,50	≤ 0,22
Huile d'olive vierge	≤ 2,60	≤ 0,25
Huile d'olive vierge courante	-	≤ 0,30
Huile d'olive vierge raffinée	-	≤ 0,10

L'extinction spécifique d'un lipide est déterminée à partir d'une solution de concentration de 1% de celui-ci, préparée dans l'heptane, le cyclohexane ou l'hexane. L'absorbance est mesurée à deux longueurs d'onde : 232 et 270nm. L'extinction spécifique est exprimée selon la formule suivante

$$E_{1\text{cm}\lambda}^{1\%} = \frac{A_{\lambda}}{C \cdot L}$$

$E_{1\text{cm}\lambda}^{1\%}$: Extinction spécifique à la longueur d'onde λ (232 ou 270nm).

A_{λ} : Absorbance à la longueur d'onde λ (232 ou 270nm).

C : Concentration de la solution à analyser (g de lipide/100ml).

L : Epaisseur de la cuve (cm).

5- Indice de réfraction

L'indice de réfraction (IR) d'une matière grasse est défini comme le rapport de vitesse de la lumière dans l'air et sa vitesse dans la matière grasse. L'indice de réfraction est mesuré à l'aide d'un réfractomètre à 20°C pour une huile donnée et à une température spécifique (température où la graisse est complètement liquide) pour les graisses.

L'indice de réfraction augmente avec la longueur de la chaîne hydrocarbonée. L'indice de réfraction augmente aussi avec le nombre d'insaturations ; il est linéairement corrélé avec l'indice d'iode. Chaque lipide a son indice de réfraction, ce qui permet de l'utiliser pour la vérification de la pureté et comme moyen d'identification (Tableau 6). Toutefois, l'IR est influencé par plusieurs facteurs tels que la teneur en acides gras libres, l'oxydation et le chauffage. Cet indice est utilisé en industrie pour suivre l'hydrogénation.

Tableau 6 : Quelques caractéristiques physiques et chimiques de certains corps gras

Source de lipide	Indice de réfraction	Point de fusion (°C)	Indice d'iode (g _{I₂} /100g)	Indice de saponification (mgKOH/100g)	Point de fumée (°C)
Tournesol	1,407-1,469	-17	118-145	188-194	232
Soja	1,466-1,470	-16	124-139	189-195	232
Colza	1,465-1,467	-10	94-120	168-181	240
Arachide	1,460-1,465	3	86-107	187-196	232
Palme	1,449-1,455	33-40	50-55	190-209	240
Palmiste	1,452-1,488	24-26	14-21	230-254	232
Olive	1,466 – 1,468	-6	75-94	184-195	216
Maïs	1,465-1,468		107-128	187-195	232
Huile de coprah	1,448-1,450	23-26	6-11	248-265	232
Graine de coton	1,458-1,466	-1	100-115	189-198	216
Suif de bœuf	1,454-1,458	40-48	40-48	190-199	210
Beurre de cacao	1,456-0,458	31-35	32-40	192-200	

6- Viscosité

La viscosité d'un liquide se définit comme étant la propriété de ce liquide résultant de la résistance qu'opposent ses molécules à une force tendant à les déplacer par glissement dans son sein.

La viscosité de la matière grasse est un paramètre important dans le domaine industriel. La viscosité détermine la vitesse à laquelle une huile draine d'un aliment frit. C'est aussi un facteur important affectant la stabilité des aliments. En général, les acides gras saturés ont des viscosités plus élevées que les acides gras insaturés parce que leur structure moléculaire permet le rapprochement des chaînes carbonées, ce qui permet l'établissement d'interactions intermoléculaires telles que les forces de Van der Waals. Inversement, la configuration cis des doubles liaisons au sein de l'acide gras empêche l'alignement des molécules et donc des interactions intermoléculaires plus faibles. Par exemple, l'huile d'olive (avec 10% d'acides gras insaturés) a une viscosité plus élevée (63,28) que l'huile de tournesol (avec 70% d'acides gras insaturés) (49,14).

Mesure de la viscosité

De nombreuses méthodes sont utilisées pour mesurer la viscosité des liquides dont trois sont indiquées ci-dessous.

Viscosimètre d'Ostwald

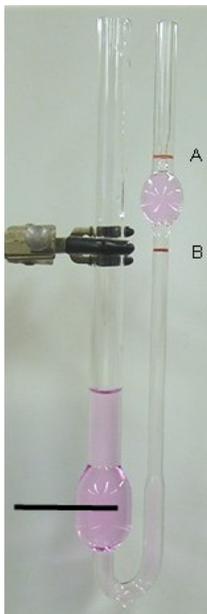
Mesure la durée d'écoulement d'un volume de liquide à travers un tube capillaire. La viscosité cinétique est proportionnelle à la durée d'écoulement du liquide.

Viscosimètre à chute de billes

L'idée est de laisser tomber une bille en chute libre ou le long d'un plan incliné dans un liquide. La vitesse stabilisée qu'atteint la bille pendant sa chute est directement liée à la viscosité dynamique

Viscosimètre rotatif cylindrique

C'est la famille de rhéomètre les plus utilisés. Ils sont fortement automatisés dans leur fonctionnement : contrôle, mesures et acquisition des données.



Viscosimètre
d'Ostwald



Viscosimètre à
chute de billes



Viscosimètre rotatif
cylindrique

7- Test de gelée

Le test de gelée est la mesure de la résistance d'une huile, soumise au froid, à former des cristaux. Il renseigne sur l'état de l'huile en période hivernale, mise dans le réfrigérateur ou de certaines préparations à base de l'huile une fois conservées au réfrigérateur, telle que la vinaigrette.

Principe : L'huile est stockée à 0°C pour une durée de 5h puis contrôlée s'il y a formation de cristaux.

8. Point de trouble

Le point de trouble est la température à laquelle l'huile commence à troubler par l'initiation de formation des cristaux.

Principe : L'échantillon est chauffé à 130°C puis refroidi avec agitation. La température à laquelle se forment les premiers cristaux est le point de trouble.

9- Point de fusion

Le point de fusion est la température minimale qui permet le passage d'un lipide de la forme solide à la forme liquide. Il dépend du nombre de carbones et d'insaturations.

10.1. Effet du nombre de carbones

Le point de fusion des acides gras est d'autant plus élevé que la chaîne aliphatique est longue (Figure 9).

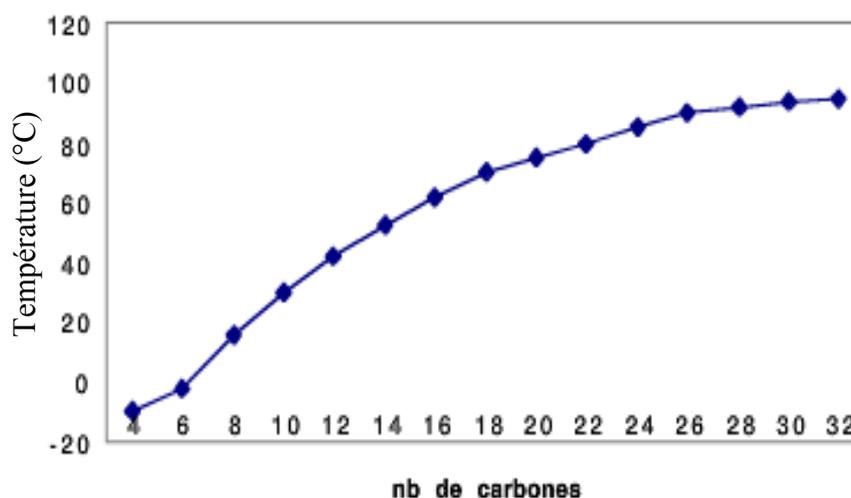


Figure 09 : Effet du nombre de carbones sur la température de fusion des acides gras saturés.

10.2. Effet du nombre de doubles liaisons

L'augmentation du nombre de doubles liaisons abaisse le point de fusion pour une même chaîne carbonique.

- Acide stéarique (C_{18:0}) : 70°C
- Acide oléique (C_{18:1}) : 16°C
- Acide linoléique (C_{18:2}) : -7°C
- Acide linoléique (C_{18:3}) : -13°C

10.3. Effet de la configuration *Trans* et *Cis*

La configuration des acides gras influence le point de fusion, les molécules à conformation *Trans* présentent des points de fusion plus grands que les isomères *Cis* (Tableau 8).

Tableau 8 : Influence de la configuration *Trans* et *Cis* sur le point de fusion des acides gras

Nom	Configuration	Point de fusion (°C)
Acide élaidique	9- Trans 18:1	44
Acide oléique	9-Cis 18:1	14
Acide linolélaïdique	9, 12-Trans 18:2	56
Acide linolélaïdique	9- Trans, 12-Cis 18:2	12
Acide linolélaïdique	9-Cis, 12-Trans 18:2	-6,3
Acide linoléique	9, 12-Cis 18:2	-6,5
Acide α-Linolénique	9, 12, 15- Trans 18:3	71
Acide α-linolénique	9, 12, 15-Cis 18:3	-11

10.3. Méthodes de détermination du point de fusion

a- Point de fusion clair (*clearmelting point* ; *capillary tube melting point*) : s'applique par la mesure de la température où le lipide devient complètement limpide dans l'extrémité fermée d'un capillaire.

b- Point de fusion par tube capillaire (*Slip melting point*): Le point de fusion se mesure également par la détermination de la température qui permet à la matière grasse de remonter dans un tube capillaire.

c- Point d'écoulement (*droppingmelting point ou dropping point*): Ce point se mesure par l'écoulement de lipide à travers un tube de diamètre de 0,11 pouce (0,28 cm) à la température de fusion. Cette méthode est très utilisée en Amérique par contre en Europe c'est la deuxième méthode, *Slip melting point*.

d- Point de fusion Wiley (*Wileymelting point*) : Le point de fusion se mesure aussi par la détermination de la température dans laquelle un disque de lipides de dimensions de 1/8 X 3/8 pouce (0,32 x 0,95cm ; 1pouce = 2,54cm) suspendu dans un mélange alcool-eau de même densité devient sphérique. Cette dernière méthode est utilisée en Amérique auparavant son inconvénient c'est la difficulté d'apercevoir le moment de la formation de la forme sphérique.

e- Appareil de mesure du point de fusion automatique : Des appareils automatiques pour la mesure du point de fusion sont également disponibles. Ils sont d'une rapidité, précision et facilité d'utilisation très intéressantes.

10.4. Exemple : Point de fusion par tube capillaire

- Immerger deux tubes capillaires dans l'échantillon (ex. la margarine et l'huile) à une profondeur de 1cm.
- Refroidir dans un réfrigérateur pendant 8 ou 10min ou bien jusqu'à solidification.
- Fixer les deux tubes à un thermomètre de façon à avoir la partie basse des tubes au même niveau que l'extrémité de thermomètre
- Le dispositif (les deux tubes capillaires et le thermomètre) est immergé dans un bécher contenant de l'eau à une profondeur de 3cm
- Mettre le bécher dans un bain-marie rempli par l'eau froide. La température du bain-marie est réglée de telle sorte à augmenter lentement, soit 1°C/min.
- Observer attentivement et noter la température à laquelle l'échantillon commence à monter dans les tubes.

- La moyenne de températures de fusion des deux tubes est considérée comme le point de fusion de l'échantillon.

11- Analyse des cires

Les cires (cérides) sont des esters d'acide gras et d'un alcool à longue chaîne aliphatique (ex. cire d'abeille). La présence des cires rend les huiles troubles pendant le stockage réfrigéré.

Dans le domaine industriel, l'élimination des cires ou Wintérisation ou décirage est une opération appliquée à certaines huiles végétales (ex. maïs et tournesol). L'élimination des cires consiste à un refroidissement lent suivi d'une filtration à basse température. Sur le plan commercial, les huiles wintérisées présentent l'avantage de rester toujours à l'état liquide en hiver.

Principe : Après dilution de l'échantillon de l'huile dans l'acétone (1:5) et stockage à froid (0-5°C). La quantification des cires se fait après filtration et séchage du filtre.

12- Point d'ébullition

C'est la température la plus élevée que peut atteindre un corps gras avant de s'évaporer sous forme de gaz. Le point d'ébullition augmente avec la longueur de la chaîne, mais les doubles liaisons l'influencent que peu ([Tableau 7](#)). Il est mesuré à l'aide d'un ébulliomètre (ébullioscope).

Tableau 7 : Influence de la longueur de la chaîne carbonée et du nombre de doubles liaisons sur le point d'ébullition des acides gras

Acides gras	Point d'ébullition	Acides gras	Point d'ébullition
Acides gras saturés		Acides gras insaturés	
Acide myristique C _{14:0}	127°C	Acide stéarique C _{18:0}	166°C
Acide palmitique C _{16:0}	148°C	Acide oléique C _{18:1}	165°C
Acide stéarique C _{18:0}	166°C	Acide linoléique C _{18:2}	164°C
		Acide linoléique C _{18:3}	163°C

13- Point de fumée

Chaque huile est caractérisée par une température de fusion, point de fumée (Tableau 6), qui une fois affranchi l'huile dégage une fumée continue et intense. Au-delà de cette température, l'huile se dégrade de manière accélérée et des molécules toxiques se forment.

Le point de fumée d'une graisse est un facteur clé pour la cuisson. En effet, le point de fumée renseigne sur la température limite de chauffage et par conséquent sur son utilisation possible. Pour la friture par exemple, qui nécessite de hautes températures, c'est essentiel d'utiliser une matière grasse avec un très haut point de fumée.

14- Poids d'éclair

Le point d'éclair (point d'inflammabilité) est défini comme étant la température la plus basse à laquelle la matière grasse émet suffisamment de vapeurs pour former, avec l'air ambiant, un mélange gazeux qui s'enflamme sous l'effet d'une flamme.

Principe : Le test du point d'éclair consiste à chauffer doucement un échantillon à un rythme constant d'élévation de température avec une agitation continue. À chaque degré d'augmentation de température, une flamme est introduite dans la vapeur produite au-dessus de l'échantillon. La plus basse température à laquelle les vapeurs s'enflamment est le point d'éclair.

Chapitre 3 : Caractérisation chimique

1- Acidité

L'acidité de la matière grasse est due à l'altération hydrolytique des lipides. La présence d'eau avant (matière première) pendant et après l'élaboration des corps gras peut entraîner des phénomènes d'hydrolyse, soit par actions chimique ou enzymatique. Les acides gras sont libérés par le clivage hydrolytique des triglycérides. Par conséquent, la teneur en acides gras libres est un marqueur important de dégradation des lipides. En outre, au cours de l'oxydation des lipides, des acides gras à chaînes courtes sont produits par oxydation secondaire d'aldéhydes insaturés et d'autres produits issus du clivage des peroxydes lipidiques. L'acide formique étant un exemple d'acide issu de l'oxydation secondaire et se présente en quantités particulièrement élevées.

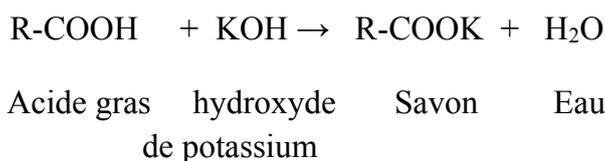
L'acidité d'un lipide est le pourcentage d'acides gras libres exprimé conventionnellement selon la nature de corps gras en acide oléique (C18:1), pour la plupart des lipides, en acide palmitique (C16:0), pour l'huile de palme ou en acide laurique (C12:0), pour les graisses lauriques (coprah 44 - 51 %, palmiste 39-54%).

a. But

Au cours de la conservation d'une matière grasse, il se produit l'hydrolyse chimique ou enzymatique des triglycérides et libération d'acides gras ou formation secondaire d'acides à courtes chaînes. La mesure de l'acidité est un moyen pour déterminer le degré d'altération d'une matière grasse. Ce paramètre est utilisé comme un indicateur de qualité par exemple, le choix d'une huile pour la friture. Quelques fois l'acidité limite pour l'huile de friture est prise à 1% (2mg KOH/g).

b. Principe

L'huile à analyser est mise en solution dans l'alcool éthylique à température avoisinante l'ébullition. Le titrage est réalisé par une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) jusqu'au virage de la couleur de l'indicateur coloré, la phénolphthaléine, au rose. Cependant, dans le cas d'échantillons bruns foncés, par exemple les huiles de friture, un autre indicateur (le thymolphthaléine par exemple) est recommandé. La neutralisation se fait selon la réaction suivante :



Remarques

1. L'acidité peut être exprimée par l'**Indice d'Acide (IA)** qui représente la masse de l'hydroxyde de potassium en mg nécessaire pour neutraliser l'acidité de 1g de lipide.

Le pourcentage d'acides gras libres (AGL) peut être converti en IA et vis-versa en utilisant les équations suivantes : IA = % AGL (en acide oléique) x 1,99

$$\text{IA} = \% \text{ AGL (en acide laurique)} \times 2,81.$$

$$\text{IA} = \% \text{ AGL (en acide palmitique)} \times 2,19$$

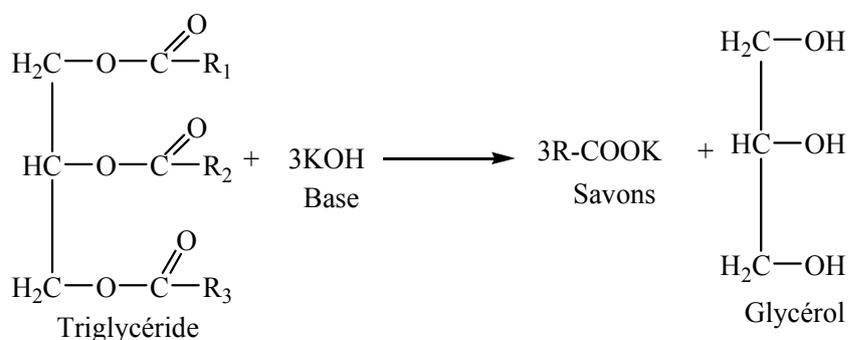
2. Les lipides acides, tels que les phospholipides, peuvent interférer avec la réaction, car ils contiennent également des groupements acides.

2- Indice de saponification (I_s)

L'indice de saponification est défini comme étant la quantité de base nécessaire pour saponifier une quantité donnée d'huile ou de graisse. Elle est exprimée en mg de KOH requise pour saponifier 1g d'échantillon. Il peut renseigner sur le taux de glycérides.

Principe

La matière grasse est saponifiée par traitement avec une base (KOH, *ex. 0,52N*) sous chauffage pendant 1 heure (voir la réaction en bas). L'excès d'hydroxyde de potassium (KOH) est titré par une solution d'acide chlorhydrique (HCl, *ex. 0,52N*) en présence d'un indicateur coloré, la phénolphtaléine.



3-Insaponifiables

Les matières insaponifiables d'un corps gras sont l'ensemble des substances qui ne sont pas susceptibles d'être modifiées par la réaction de saponification et restent insolubles dans l'eau. Les insaponifiables sont formés par les stérols, les pigments (caroténoïdes), les vitamines liposolubles (vitamines E, A et K) et les hydrocarbures.

Principe

Après saponification d'un corps gras par la potasse, la solution contient en plus de la potasse (en excès), des savons et du glycérol, des constituants insaponifiables qui sont récupérés par un solvant non polaire tel que l'hexane. Leur quantification se fait après évaporation de solvant apolaire.

4- Indice d'iode (I_i)

L'indice d'iode mesure le degré d'insaturation d'une matière grasse. Il est défini comme étant le nombre de grammes d'iode fixés par 100g de lipide.

Plusieurs méthodes normalisées ont été développées pour la détermination de l'indice d'iode, les méthodes Wijs et Hanus étant les plus utilisées. Dans la méthode de Wijs, le monochlorure d'iode (ICl) est utilisé comme agent d'halogénéation, alors que dans le procédé d'Hanus, le monobromure d'iode (IBr) est l'agent d'halogénéation.

a. But

L'indice d'iode est utilisé pour caractériser une matière grasse (degré d'insaturation), suivre le processus d'hydrogénation et mesurer le degré d'oxydation des lipides, car au cours de l'oxydation les insaturations diminuent.

b. Principe

L'échantillon est dissout dans le tétrachlorure de carbone (CCl_4), le chloroforme ou le cyclohexane (*moins toxique*), la solution de monochlorure d'iode (ICl) ou de monobromure d'iode (IBr) est ajoutée en excès. L'halogène se fixe sur les doubles liaisons (Réaction 1). La solution d'iodure de potassium est ajoutée pour réduire l'ICl non fixé (Réaction 2). L'iode (I_2) libéré est titré avec une solution de thiosulfate de sodium (Réaction 3) jusqu'à décoloration de la couleur due à l'iode (I_2). Une solution d'amidon est ajoutée pour avoir une couleur bleu.



ICl : Monochlorure d'iode; **KI** : Iodure de potassium; **KCl** : Chlorure de potassium; **Na₂S₄O₆** : Sodium tetrathionate; **Na₂S₂O₃**: Thiosulfate de sodium; **NaI** : Iodure de sodium.

5- Indice de peroxyde (I_p)

L'oxydation des lipides est la cause majeure de leur détérioration, et les produits formés par la réaction de l'oxygène avec les acides gras insaturés sont les premiers produits initiateurs de cette dégradation. Les produits primaires d'oxydation n'ont pas d'odeur ni saveur, mais, se scindent rapidement pour former des aldéhydes, qui sont responsables des mauvaises saveurs et odeurs.

Les peroxydes (hydroperoxydes, dihydroperoxydes et peroxydes cycliques) appartiennent aux produits les plus importants de l'oxydation primaire et qui sont formés par la fixation de l'oxygène (O₂) sur les atomes de carbone qui portent la double liaison (Réactions 1 et 2). Le groupement peroxyde est situé sur l'atome de carbone adjacent une double liaison ou sur un système de doubles liaisons.

L'indice de peroxyde est parmi les caractéristiques chimiques le plus utilisé pour la détermination de degré d'altération d'un corps gras. L'indice de peroxyde est le nombre de milliéquivalent gramme d'oxygène actif par kilogramme de corps gras (meq g d'O₂/kg de lipide).

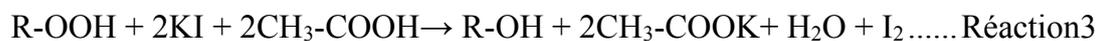
Principe

Le traitement d'un corps gras dans un milieu acide par la solution d'iodure de potassium (KI) permet la libération d'iode (I₂) après réaction avec les peroxydes (Réaction 3). L'iode formé est ensuite titré, habituellement avec une solution de thiosulfate de sodium, qui est oxydé en un tétrathionate (Réaction 4). Des agents réducteurs autres que le thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) peuvent être utilisés pour le titrage, par exemple, l'arsénite de sodium (AsNaO₂), ce qui serait préférable, mais il est malheureusement beaucoup plus toxique que le thiosulfate. Une solution d'amidon est ajoutée comme un indicateur coloré qui se combine avec l'iode pour former un produit bleu. A la fin du dosage, le mélange réactionnel est décoloré.

Réactions de formation d'un peroxyde et de sa transformation en hydroperoxyde :



Réaction d'iodure de potassium avec le peroxyde en milieu acide :



Réaction de l'iode libéré sur le thiosulfate de sodium :



Cette analyse est appelée indice de peroxyde (I_P) pour des raisons historiques, mais l'emploi du terme "hydroperoxyde" serait plus approprié, car seuls les hydroperoxydes lipidiques réagissent quantitativement, les autres peroxydes (dihydroperoxydes et peroxydes cycliques) réagissent partiellement en raison de leur faible réactivité.

6- Méthodes de détermination de la stabilité oxydative des lipides

Ces deux derniers indices permettent d'évaluer un état d'oxydation de l'huile au moment du dosage. Cependant, il est tout aussi intéressant de caractériser la résistance à l'oxydation de l'huile. L'oxydation d'une huile peut survenir durant le procédé d'extraction et au cours de la conservation des huiles. Les réactions d'oxydation conditionnent ainsi la durée d'utilisation optimale d'une huile. La résistance à l'oxydation peut être déterminée par des tests de vieillissement accéléré (Test de Swift, test de Schaal, Rancimat, etc.). La résistance à l'oxydation est souvent déterminée par la mesure du temps d'induction de l'oxydation.

6.1- Test de stabilité de Swift

Il est surtout appliqué pour les graisses animales. Dans sa version initiale, ce test consiste à oxyder par l'air, la matière grasse maintenue à 98°C. La mise en évidence de l'oxydation est montrée par la mesure de l'indice de peroxyde en fonction du temps. Cette façon de faire est assez complexe et peu reproductible. La modification faite à ce test consiste à décolorer un indicateur de pH (rouge de crésol) par les produits volatils acides formés lors de l'oxydation. Le temps (en heures) nécessaire à la décoloration de l'indicateur coloré, encore appelé « temps de Swift », mesure la résistance de la matière grasse à l'oxydation.

6-2. Méthode à l'étuve ou test Schaal

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

6.3- Test au Rancimat

Ce test est très utilisé pour évaluer la stabilité oxydative des matières grasses. La spécification de TIR (Temps d'Induction Rancimat, exprimé en heures) correspond au temps pendant lequel la matière grasse résiste à l'oxydation. Le principe du test consiste à accélérer le vieillissement de la matière grasse par décomposition thermique à 110°C sous un flux intensif d'air. Les produits de dégradation qui se forment sont expulsés par le flux et transférés dans la cellule de mesure remplie d'eau distillée. Le temps d'induction est déterminé par conductimétrie et correspond au TIR. La figure 10 montre le schéma du test au Rancimat.

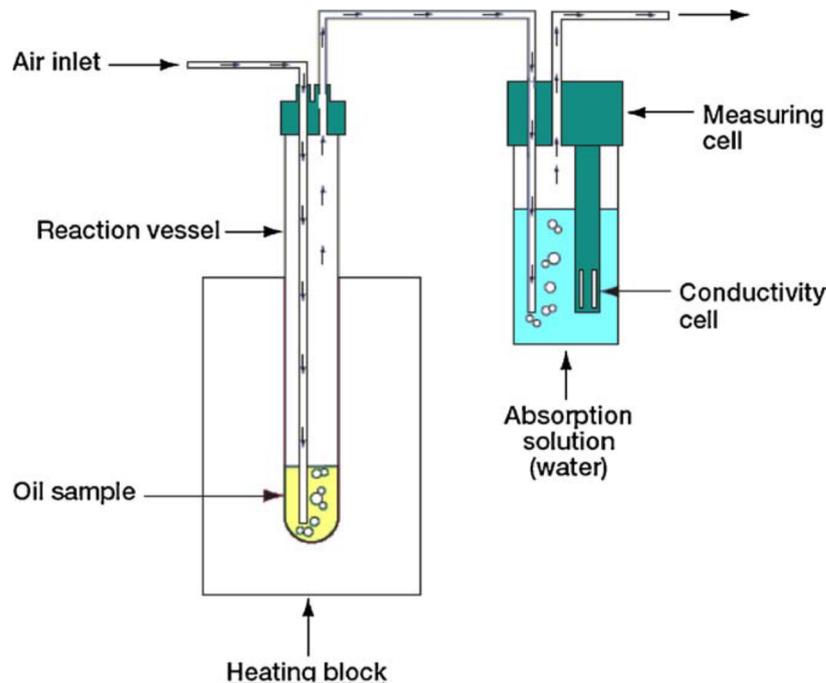


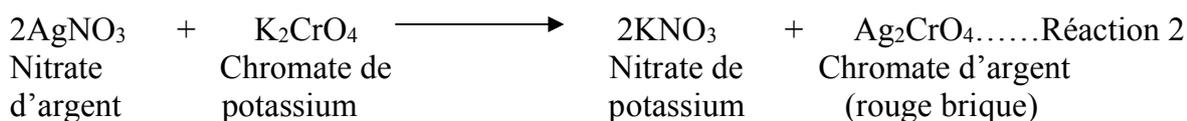
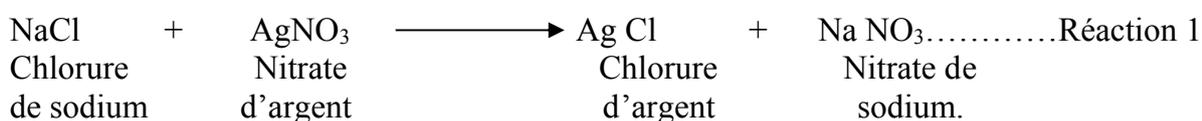
Figure 10 : Schéma du test au Rancimat

7- Teneur en chlorure de sodium (NaCl)

Le chlorure de sodium est un sel ajouté pour quelques corps gras comme la margarine.

Principe :

La matière grasse est titrée avec le nitrate d'argent (AgNO_3) en présence de chromate de potassium (K_2CrO_4) comme indicateur coloré. Le nitrate d'argent réagit avec le chlorure de sodium présent dans l'échantillon et donne un précipité blanc de chlorure d'argent (Réaction 1). Le nitrate d'argent restant réagit secondairement avec l'indicateur coloré, le chromate de potassium, pour former un précipité de couleur rouge brique de chromate d'argent (Réaction 2).



8- Test d'amidon

Le test d'amidon renseigne sur la différence entre la margarine et le beurre ; la margarine en contient le beurre non.

Quelques gouttes de la solution d'iode sont ajoutées à l'échantillon. Si la couleur vire au bleu violacé, cela implique la présence d'amidon

9- Impuretés

9.1- Dosage des phospholipides (phosphatides)

Au niveau industriel, la démucilagination ou dégomme est une opération qui consiste à éliminer une faible quantité de produits, dont l'ensemble désigné sous le nom «mucilages » et qui comprend surtout des phospholipides (phosphatides). L'huile brute est portée à une température de 80°C avec de l'eau (2 à 3%) additionnée de l'acide phosphorique (0,1 à 0,3%). Les deux phases ainsi obtenues sont séparées par centrifugation et les mucilages sont éliminés avec la phase aqueuse.

- La présence de phospholipides dans l'huile provoque certains inconvénients et qui ont une action nuisible, tant au cours du raffinage que pour la conservation de l'huile ou son utilisation.
- Une huile mal dégommée subit une acidification et une oxydation accélérées et développe une saveur forte et amère.
- L'élimination incomplète de composés phosphorés provoque une série de difficultés le long du processus de raffinage :
 - Emulsion avec des pertes de l'huile dans le lavage;
 - Formation des mousses au séchage;
 - Colmatage rapide des filtres;
 - Désactivation de la terre décolorante.

Principe :

La matière grasse est calcinée en présence de zinc (oxyde de zinc). Le phosphore organique est transformé en phosphate de zinc qui est ensuite dosé par la méthode au bleu de molybdate. Le phosphate de zinc réagit avec le molybdate de sodium pour produire l'acide phosphomolybdique qui réagit à son tour avec un agent réducteur : le sulfate d'hydrazine pour donner un complexe bleu mesurable par spectrophotométrie à 650nm.

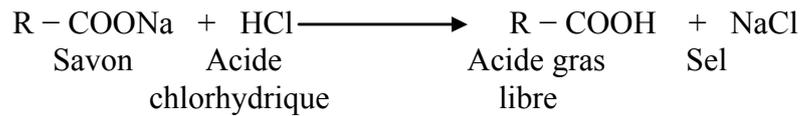
9.2- Détermination de l'alcalinité ou traces de savon

Dans le processus de production de l'huile, l'opération de lavage permet d'éliminer les savons résiduels et la soude en excès présent dans l'huile sortant de la centrifugeuse, ainsi que les traces de métaux et des phospholipides.

La mesure des traces de savon permet d'évaluer la teneur en oléate de sodium présente dans l'huile qui s'exprime en ppm (norme ≤ 100).

Principe :

L'oléate de sodium est libéré dans l'acétone (3 à 4%) et elle est ensuite titrée par l'acide chlorhydrique à 0,01N selon la réaction ci-dessous. Le bleu de bromophénol est utilisé comme un indicateur coloré.



9.3- Impuretés insolubles

C'est la teneur en matières insolubles, poussières et autres matières étrangères contenue dans la matière grasse.

Principe :

Traitement d'une prise d'essai par un excès d'hexane ou d'éther de pétrole, puis filtration de la solution obtenue et les impuretés sont pesées après séchage du papier filtre à 103°C.

Références bibliographique

- Bauer W.J., Badoud R., & Löliger J. 2010. Science et technologie des aliments: principes de chimie des constituants et de technologie des procédés. PPUR Presses polytechniques. Lausanne. pp. 720.
- Bligh E. G. & Dyer W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37 (8): 911-917
- Boyd E. M. 1936. The extraction of lipids from the red blood cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 115:37-45.
- Carpenter C. 2010. Determination of fat content. In: “*Food Analysis Laboratory Manual*”, Ed. S.S. Nielsen, Springer Science&Business Media, Logan, USA. pp. 29-37.
- Christie W. W. & Han X. 2012. Lipid analysis: isolation, separation, identification and lipidomic analysis. 4th edition. Woodhead, Cambridge, UK. p. 420.
- Cillard J. & Cillard P. 2006. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. OCL. 13 : 14-29.
- Folch J., Ascoli I., Lees M, Meath J. A. & Lebaron F. N. 1951. Preparation of lipide extracts from brain tissue. *The Journal of Biological Chemistry*. 191: 833-841.
- Gurr M. I., Harwood J. L. & Frayn K. N. 1988. Lipids: definition, isolation, separation and detection (Chapter 1), In: “*Lipid Biochemistry*”. Blackwell Science, Oxford, UK. p. 337.
- Kamal-Eldin A. & Pokorny J. 2005. Analysis of Lipid Oxidation. AOCS Press. Illinois, USA. p. 286.
- Marangon A. G. & Narine S. S. 2002. Physical properties of lipids. Marcel Dekker, New York, USA. p. 565
- McDonald J. G., Ivanova P. T. & Brown H. A. 2016. Approaches to lipid analysis (Chapter 2). In: “*Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*”. 6th edition. Ed. Ridgway N. & McLeod R. Elsevier B.V. Waltham, USA. pp. 41-72.
- Norme AFNOR. 1984. Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés, 4^{ème} édition, Paris. p. 459.
- O’Keefe & S. F. Pike O. A. 2010. Fat Characterization (Chapter 14). In: “*Food Analysis*” 4th Edition. Ed. Nielsen S. S. Springer Science & Business Media. New York, USA. pp. 239-260.

- Ollivier V., Ollivier D. & Artaud J. 2011. Analyse des lipides : Extraction. Paramètres physico-chimiques. Constituants majeurs. In: “*Analyse des macromolécules biologiques*”. Eds. Burgot G., Le Parlouër P., Durand G., Mauchien P. & Quevauviller P. Editions Techniques de l’Ingénieur. Paris, France. pp. 29-34.
- Pike O. A. 1998. Fat Characterization (Chapter 4). In: “*Food Analysis*” 2nd Edition. Ed. Nielsen S. S. Aspen Publishers, Maryland, USA. pp. 217-236.
- Pomeranz Y. & Meloan C. E. 1994. Lipids (Chapter 37). In: “*Food analysis theory and practice*” 3rd edition. Chapman & Hall, New York, USA, pp. 678-732.
- Ranganna S. 1986. Edible oils and fats (Chapter 10). In: “*Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*”. McGraw-Hill, New Delhi, India. pp. 211-241.
- Shahidi F. & Wanasundara J. P. D. 2002. Extraction and analysis of lipids. In: “*Food lipids : chemistry, nutrition, and biotechnology*” 2nd edition. Eds. Akoh C. C & Min D. B. Marcel Dekker, New York, USA. 152-187.
- The Babcock method of determining fat in milk and milk products. 1894. Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin, 115: 1-11.
- User’s Manual. 2011. Goldfish fat extraction apparatus. Labconco Corporation, Kansas, USA. p. 1-16.
- Utt C. A. A. 1915. The determination of fat in ice cream by the Babcock method. The Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 7(9): 773-773.

Annexe. Table des propriétés de miscibilités des solvants

SOLVENT MISCIBILITY TABLE						
Solvent	Polarity Index	Refractive Index @20 °C	UV(nm) Cutoff @1AU	Boiling Point(°C)	Viscosity (cPoise)	Solubility in water (%w/w)
Acetic Acid	6,2	1,372	230	118	1,26	100
Acetone	5,1	1,359	330	56	0,32	100
Acetonitrile	5,8	1,344	190	82	0,37	100
Benzene	2,7	1,501	280	80	0,65	0,18
n-Butanol	4,0	1,394	254	125	0,73	0,43
Butyl Acetate	3,9	1,399	215	118	2,98	7,81
Carbon Tetrachloride	1,6	1,466	263	77	0,97	0,08
Chloroform	4,1	1,446	245	61	0,57	0,815
Cyclohexane	0,2	1,426	200	81	1,00	0,01
1,2-Dichloroethane ¹	3,5	1,444	225	84	0,79	0,81
Dichloromethane ²	3,1	1,424	235	41	0,44	1,6
Dimethylformamide	6,4	1,431	268	155	0,92	100
Dimethyl Sulfoxide ³	7,2	1,478	268	189	2,00	100
Dioxane	4,8	1,422	215	101	1,54	100
Ethanol	5,2	1,360	210	78	1,20	100
Ethyl Acetate	4,4	1,372	260	77	0,45	8,7
Di-Ethyl Ether	2,8	1,353	220	35	0,32	6,89
Heptane	0,0	1,387	200	98	0,39	0,0003
Hexane	0,0	1,375	200	69	0,33	0,001
Methanol	5,1	1,329	205	65	0,60	100
Methyl-t-Butyl Ether ⁴	2,5	1,369	210	55	0,27	4,8
Methyl Ethyl Ketone ⁵	4,7	1,379	329	80	0,45	24
Pentane	0,0	1,358	200	36	0,23	0,004
n-Propanol	4,0	1,384	210	97	2,27	100
Iso-Propanol ⁶	3,9	1,377	210	82	2,30	100
Di-Iso-Propyl Ether	2,2	1,368	220	68	0,37	
Tetrahydrofuran	4,0	1,407	215	65	0,55	100
Toluene	2,4	1,496	285	111	0,59	0,051
Tichloroethylene	1,0	1,477	273	87	0,57	0,11
Water	9,0	1,333	200	100	1,00	100
Xylene	2,5	1,500	290	139	0,61	0,018

<input checked="" type="checkbox"/> Immiscible	Synonym Table
<input type="checkbox"/> Miscible	¹ Ethylene Chloride
	² Methylene Chloride
	³ Methyl Sulfoxide
	⁴ tert-Butyl Methyl Ether
	⁵ 2-Butanone
	⁶ 2-Propanol

Immiscible means that in some proportions two phases will be produced

Solvent Polarity Chart

Relative Polarity	Compound Formula	Group	Representative Solvent Compounds
Nonpolar	R - H	Alkanes	Petroleum ethers, ligroin, hexanes
	Ar - H	Aromatics	Toluene, benzene
	R - O - R	Ethers	Diethyl ether
	R - X	Alkyl halides	Tetrachloromethane, chloroform
	R - COOR	Esters	Ethyl acetate
	R - CO - R	Aldehydes and ketones	Acetone, methyl ethyl ketone
	R - NH ₂	Amines	Pyridine, triethylamine
	R - OH	Alcohols	Methanol, ethanol, isopropanol, butanol
	R - COHN ₂	Amides	Dimethylformamide
	R - COOH	Carboxylic acids	Ethanoic acid
Polar	H - OH	Water	Water