

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Biologique  
Spécialité : Sciences Alimentaires  
Option : Industrie des Corps Gras



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## MASTER

### *Thème*

***Effet de certaines huiles essentielles sur la  
stabilité oxydative des huiles alimentaires  
raffinées (palme, soja, tournesol et leur  
mélange)***

Présenté par :

**MOUHOUBI Ouabda**

Soutenu le : **22 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme TAFININE Z.	MCB	President
Mme BRAHMI N.	MAA	Examineur
Melle TOUATI N.	MAA	Encadreur
M <sup>r</sup> CHIKHOUNE A.	MAA	Co-promoteur

**Année universitaire : 2016 / 2017**



## **Remerciements**

*Avant tout je tiens à remercier celui qui nous a créés, protégé, aidé et celui qui ma donné la force, la patience et le courage pour pouvoir accomplir mon travail dans les meilleures conditions en disant « Dieu Merci ».*

*J'exprime toute ma gratitude et mes sincères remerciements à M<sup>elle</sup> **TOUATI. N.** et Monsieur **CHIKHOUNE. A.** Pour avoir accepté de m'encadrer, leurs conseils et orientations ainsi que pour la confiance qu'ils m'ont donnés tout au long de réalisation de ce travail.*

*Je tiens également à remercier Madame **TAFININE. Z.** d'avoir accepté de présider le jury, ainsi que Madame **BRAHMI. N.** d'avoir accepté d'examiner ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et mon respect.*

*Je remercie aussi, les membres du laboratoire de biochimie ainsi que l'équipe du laboratoire de CO.G.B pour le matériel mis à ma disposition pour la réalisation de ce travail et pour leur contribution et le temps qu'ils ont bien consacré pour la réalisation de ce mémoire.*

## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à:*

*À mes très chers PARENTS,*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, mon estime, ma reconnaissance et ma profonde affection. Je ne saurais vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi, et ce que vous faites jusqu'à présents. Que*

*Dieu vous garde et vous accorde longue vie.*

*À mes très chers frères : Hassan, youyou, Abdeslam et mon petit Lamine pour leurs soutien et encouragements sans limite. À travers ce travail je vous témoigne mon amour et ma gratitude.*

*À mes grand parents : plus particulièrement « nana Hadda » « que dieu te garde pour nous ».*

*À toutes celles et à tous ceux qui m'aiment ;*

*Mes profonds remerciements sont adressés à mes très chères amies.*

*En fin, je remercie tous ceux qui m'ont aidé, de loin ou de près à réaliser ce travail.*

*MERCI A VOUS*

*Ouabda*

# Sommaire

---

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction .....	1

## *Partie 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE*

### **Huiles végétales, huiles essentielles et oxydation**

1. Huiles et graisse végétales .....	3
1.1 Procédé industriel de production des huiles végétales alimentaire .....	3
1.2. Huile de palme .....	5
1.3. Le soja .....	6
1.4. Le tournesol .....	7
2. Généralités sur les huiles essentielles .....	8
2.1. Définition .....	8
2.2. Caractéristiques et propriétés physiques .....	8
2.3. Méthodes d'extraction .....	8
2.4. Composition chimique des huiles essentielles .....	9
2.4.1. Terpénoïdes .....	9
2.5. Huiles essentielles de la présente étude .....	10
2.6. Analyses des huiles essentielles et critères de qualité .....	11
2.6.1. Chromatographie en phase gazeuse (GC) .....	11
2.6.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) .....	12
3. Problématique d'oxydation .....	12
3.1. Radicaux libres .....	13

## *PARTIE 2 : PARTIE PRATIQUE*

### *Matériel et méthodes*

1. Matériel végétal .....	14
1.1. Huiles essentielles .....	14
1.2. Huiles végétales .....	14
2. Caractérisation des huiles essentielles .....	14
2.1. Détermination de l'activité antioxydante (anti-radicalaire) par le test au DPPH <sup>•</sup> .....	14
2.2. Mesure de l'activité scavenging du radical cationique ABTS .....	15
2.3. Pouvoir réducteur .....	16
3. Caractérisation de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (SM). .....	17
4. Caractérisation des huiles végétales .....	18
4.1. Teneur en eau (Humidité) .....	18
4.2. Détermination du point de fusion .....	19

4.3. Détermination de l'indice de peroxyde.....	19
4.4. Détermination de l'acidité .....	20
4.5. Détermination de la couleur.....	21
4.6. La dégustation .....	22
II. Evaluation de la stabilité oxydative du mélange des huiles végétales étudiées par le test de vieillissement dans l'étuve ou test de Shaal .....	22
III. Détermination des taux de solide SFC (Solid Fat Content) par résonance magnétique nucléaire (RMN).....	23
IV. Analyse statistique.....	23

### ***Résultats et discussion***

1. Evaluation de l'activité antioxydant .....	24
1.1. Piégeage du radical DPPH.....	24
1.2. Activité scavenging du radical ABTS. ....	26
1.3. Pouvoir réducteur .....	27
2. Caractérisation de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (SM) .....	28
3. Caractéristiques des huiles végétales et leur mélange.....	32
4. Test de Schaal ou test de vieillissement dans l'étuve.....	33
5. Détermination du point de fusion .....	36
6. Taux de solide (SFC).....	37

<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>42</b>

## Liste des figures

- Figure 01** : Schéma d'un dispositif d'hydrodistillation des huiles essentielles .....9
- Figure 02** : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....24
- Figure 03** : Cinétiques d'oxydation du mélange des huiles étudiées (huile de soja, huile de palme et huile de tournesol) incorporé des différentes huiles essentielles aux concentrations de 100 ppm et de 900 ppm .....35
- Figure 04** : Courbes de solides pour les échantillons témoin et incorporés des différentes huiles essentielles aux deux concentrations étudiées (100 ppm et 900 ppm).....38

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Constituants indésirables dans les huiles « brutes » éliminés au cours du raffinage.....	4
<b>Tableau II :</b> Principe de l'extraction des huiles essentielles par technique d'hydrodistillation .....	9
<b>Tableau III :</b> Différentes huiles essentielles des plantes étudiées.....	11
<b>Tableau IV :</b> Valeurs des pourcentages d'inhibition donnés par les huiles essentielles par test au radical DPPH.....	25
<b>Tableau V :</b> Valeurs du pourcentage d'inhibition donné par les huiles essentielles par test ABTS .....	26
<b>Tableau VI :</b> valeurs d'activité réductrice des huiles essentielles.....	27
<b>Tableau VII :</b> Composition chimique d'huile essentielle de la mandarine, de l'orange douce et du citron .....	29
<b>Tableau VIII :</b> Composition chimique du l'huile essentielle du la menthe poivrée .....	31
<b>Tableau IX :</b> Composition chimique du l'huile essentielle du girofle .....	32
<b>Tableau X :</b> Caractéristique des huiles végétales et de leur mélange.....	32
<b>Tableau XI:</b> Résultats des points de fusion des échantillons étudiés.....	37

## Liste des abréviations

**ABTS** : radical 2,2-azinobis-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate

**DPPH**: 2,2-Diphenyl-1-Picryl Hydrazyl

**ANOVA**: Analyse de la variance

**BHA**: Butyl Hydroxy Anisole

**BHT**: Butyl Hydroxy Toluène

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince

**CPG**: Chromatographie Phase Gazeuse

**RMN**: Résonance Magnétique Nucléaire

**SFC**: Solid Fat Content

**GC/MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse

**EC50**: Concentration Efficace à 50%

**I %** : Pourcentage d'inhibition

L'un des principaux problèmes de l'industrie agro-alimentaire est d'assurer une bonne conservation des aliments. Les phénomènes d'oxydation sont notamment redoutés. En effet, au niveau des lipides, les dégradations oxydantes conduisent à une perte en vitamines, une diminution de la valeur nutritionnelle, une détérioration du goût et même parfois à l'apparition de substances toxiques (Pascal, 1979; Nessrien et Mohamed, 2007). Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire. Parmi ces produits alimentaires, les huiles végétales qui sont des composés 100 % lipidique et qui sont la première cible de l'oxydation (Karleskind, 1992).

L'oxydation des lipides est une cause majeure de dégradation des aliments lors de la fabrication et de la conservation. La conséquence la plus perceptible de celle-ci est l'apparition d'odeurs et des goûts désagréables. Ces odeurs conduisent souvent au rejet du produit par le consommateur (Prior, 2003). Ainsi, pour garantir une durée de conservation plus prolongée, les antioxydants sont-ils largement utilisés.

De nos jours, retarder l'oxydation dans les aliments, combinées à l'hypothèse qu'un certain nombre de conservateurs synthétiques peuvent avoir des effets dangereux sur la santé, ainsi la prévention des maladies grâce à une bonne nutrition a fait l'objet de la recherche d'antioxydants naturels, qui peuvent protéger le corps humain contre les radicaux libres et retarder les maladies (Prior, 2003).

L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût, aromatiser et colorer les aliments (Aprotosoiaie *et al.*, 2010). D'autre part, les huiles essentielles possèdent des profils de composition chimique différents permettant de les utiliser comme agents naturels de conservation des aliments (Holley et Patel., 2005).

Pour être classées comme antioxydants alimentaires idéals, les huiles essentielles doivent être facilement incorporables, efficaces à faible dose, non toxiques, n'entraînent ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirables, résistantes aux processus technologiques et stables dans le produit fini.

Plusieurs études ont été menées sur les activités biologiques des huiles essentielles soit antimicrobienne (Hammer *et al.*, 1999; Caccioni *et al.*, 1998; Moreira *et al.*, 2005), ou activité antioxydante telles que celle des huiles essentielles de citron (Hyang *et al.*, 2000), huile essentielle du girofle (Gulcin *et al.*, 2012), de la menthe poivrée (Singh *et al.*, 2011). Ces dernières sont avérées un moyen très prometteur pour pallier les risques d'altérations causés par les microorganismes ou par l'oxydation des lipides.

C'est dans cette optique que s'articule la présente étude, dont les principaux objectifs visent à tester l'activité antioxydante de quelques huiles essentielles ainsi que la possibilité de leur utilisation comme agent réduisant la peroxydation des huiles végétales. Pour ce fait nous avons scindé notre mémoire en deux parties :

- ❖ Une synthèse bibliographique qui comporte des généralités sur les huiles végétales utilisées pour la réalisation de ce travail, les huiles essentielles, l'oxydation et les radicaux libres.
- ❖ Une étude expérimentale qui consiste en :
  - ✓ Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles étudiées par trois tests : DPPH, ABTS et le pouvoir réducteur.
  - ✓ Analyse des huiles végétales ainsi que leur mélange destinées à notre étude.
  - ✓ Incorporation de deux concentrations d'huile essentielle 100 ppm et 900 ppm dans le mélange et le suivi de la peroxydation du mélange.
  - ✓ Analyse du taux de solide par RMN.

## **1. Huiles et graisses végétales**

En général, les huiles végétales concrètes ou fluides proviennent de la partie dure et ligneuse des graines ou du noyau et se trouvent enfermées dans les cellules oléifères sous forme de petites gouttes ou retrouvées dans l'enveloppe charnue du fruit (Salas *et al.*, 2009).

On les différencie généralement par leurs points de fusion. En effet, les huiles sont des corps gras liquides à la température de 15°C, alors que les graisses sont plus ou moins solides à cette température (Lecerf, 2011).

### **1.1. Procédé industriel de production des huiles végétales alimentaires**

#### **1.1.1. Procédés d'extraction des huiles à partir des graines et fruits oléagineux**

Trois procédés sont classiquement utilisés pour extraire l'huile à partir des graines oléagineuses : la pression unique ou double, l'extraction directe par solvants et le procédé mixte, couplant le pressage à une extraction par solvant sur le tourteau (Dijkstra et Segers, 2007).

La préparation des graines comprend plusieurs étapes (Anderson, 2005). Les graines sont préalablement nettoyées et éventuellement séchées. Afin de faciliter l'extraction de l'huile, les graines peuvent subir différents prétraitements de nature physique ou thermique. Les prétraitements les plus fréquemment utilisés avant pressage sont la cuisson, le floconnage ou l'aplatissage des graines. Un dépelliculage des graines est parfois utilisé soit pour faciliter le pressage des graines ou dans une optique nutritionnelle (Dijkstra et Segers, 2007).

Les prétraitements ont pour objectif de préparer les graines à la principale opération de séparation liquide-solide : le pressage. Le pressage se définit étant un procédé physique permettant l'exsudation de l'huile sous l'effet d'une force de compression (Schwartzberg, 1997).

Au niveau industriel, les presses à vis sont utilisées pour permettre un traitement en continu des graines. Le pressage est réalisé à froid ou à chaud. Le pressage peut également être assuré en discontinu par pressage hydraulique, cependant ce mode de pressage est limitée à un certain type d'oléagineux (olives, cacao) (Dijkstra et Segers, 2007). A l'issue de l'étape de pressage, le tourteau obtenu est qualifié de « gras », sa teneur en huile résiduelle étant de l'ordre de 10 à 20% (Matthäus, 2012).

## Huiles végétales, huiles essentielles et oxydation

L'huile brute de pressage contient des particules nommées fines ou pieds de presse. Ces solides sont séparés de l'huile en deux étapes. La séparation des plus grosses particules par sédimentation et la filtration ou clarification dans un décanteur pour éliminer les particules résiduelles plus fines. Les pieds de presses récupérés sont ajoutés au tourteau gras pour être pressés à nouveau ou extraite par des solvants, l'huile brute obtenue est qualifiée de seconde pression (Dijkstra et Segers, 2007).

Les huiles brutes contiennent, en effet, de nombreuses substances indésirables : acides gras libres, phospholipides et cires, pigments, métaux, contaminants (métaux lourds, pesticides, mycotoxines...) ce que nécessite un raffinage pour rendre l'huile propre à la consommation soit par raffinage chimique ou enzymatique. Le raffinage est donc un procédé de purification. Il comprend plusieurs étapes qui sont synthétisées dans le tableau I.

**Tableau I** : Constituants indésirables dans les huiles « brutes » éliminés au cours du raffinage (adapté de Pagès-Xatart-Parès, 2008) :

Opération	Constituants éliminés	Pourcentage ou la teneur	Origine	Inconvénients de leur présence
<b>Démucilagination</b>	Phospholipides	0.2 à 1.8 %	Constituant naturel	-Aspect trouble, brunissement -instabilité organoleptique
<b>Neutralisation chimique et lavages</b>	Acides gras libres	0.3 à 5 %	Constituants naturels libérés par hydrolyse	-gout -hydrolyse -instabilité organoleptique
	Métaux (fer, cuivre)	De l'ordre du mg/kg	Constituants naturels contamination	- catalyseurs d'oxydation
	Produits d'oxydation	Selon la matière première	Auto-oxydation	-Instabilité organoleptique -couleur, odeurs
<b>Décoloration</b>	Pigments	De l'ordre de 10 mg/kg	Constituants naturels	-couleur -instabilité organoleptique
<b>Décirage</b>	Cires	De l'ordre de 100 mg/kg	Constituants naturels	Aspect trouble
<b>Désodorisation</b>	Contaminants	De l'ordre de 10 mg par tonne	Contamination	Hygiène alimentaire
	Composés volatils	< 0.1 %	Naturel Auto-oxydation	Odeur, gout

Parmi les étapes de raffinage, la neutralisation chimique est l'opération générant le plus de sous produits (pâtes de neutralisation, effluents aqueux) dont le re-traitement est coûteux. Le raffinage physique est alors une alternative au traitement chimique. Cependant les

conditions drastiques de ce dernier traitement ne conviennent pas pour les huiles présentant une instabilité thermique (Pagès-Xatart-Parès, 2008).

Ces étapes permettent d'obtenir des huiles stables et de goût neutre. Cependant, il existe parallèlement une perte en antioxydants (vitamine E, caroténoïdes et polyphénol) (Lecerf, 2011).

### **1.2. Huile de palme**

Le genre *Elaeis* comprend deux espèces. La première est *Elaeis guineensis* Jacq ou Eléïs de Guinée ou encore Palmier à huile qui est originaire de l'ouest d'Afrique (Kalyana et al., 2003). La seconde espèce est *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés, elle est d'origine sud-américaine et est considérée comme espèce sauvage (Jacquemard, 2012).

L'huile de palme est une huile végétale extraite du mésocarpe mûri des fruits du palmier à huile (*Elaeis guineensis*) par pression à chaud. Elle ne doit pas être confondue avec l'huile de palmiste extraite du noyau des fruits. Elle est de nature solide sous nos latitudes, on parle donc également de graisse concrète.

#### **1.2.1. Caractéristiques physiques et composition biochimique**

L'huile de palme est de couleur rouge après extraction car elle contient une teneur importante en caroténoïdes. Ceci nécessite un raffinage avant utilisation en industrie agroalimentaire, car comportant de nombreuses impuretés (Albano, 2002).

Après raffinage, l'huile de palme brute contient quasiment 100% de lipides sous forme de triglycérides (Kalyana et al., 2003). Les acides gras qui composent ces triglycérides sont pour 50%, des acides gras saturés et 50% des acides gras insaturés. Celle-ci est utilisée pour la cuisson, la friture et comme source de vitamine E (600 à 1000 ppm) (Ogan et al., 2015), de Coenzyme Q10 (ubiquinone) (18-25 ppm) et stérols (325-365 ppm) (Tyagi et Vasishtha, 1996). L'industrie agroalimentaire utilise environ 90% d'huile de palme, tandis que les 10% restants trouvent une application dans le secteur du savon et de la fabrication oléochimique (Ogan et al., 2015).

Parmi les acides gras saturés, l'acide palmitique est majoritaire. En ce qui concerne les acides gras insaturés, ils sont surtout dominés par l'acide oléique. Une faible partie constitue

les acides gras essentiels avec moins de 0,5% d'acide  $\alpha$ -linoléique et de 9 à 12% d'acide linoléique (Lecerf, 2011).

Lors de l'extraction de l'huile à partir du mésocarpe, les triglycérides hydrophobes attirent d'autres composants cellulaires liposolubles dans l'huile ou la graisse (Kalyana *et al.*, 2003). Les constituants mineurs peuvent être divisés en deux groupes : Le premier est constitué de dérivés d'acides gras, tels que les glycérides partiels, les phosphatides, les esters et les stérols. Le deuxième comprend des classes de composés qui ne sont pas chimiquement apparentés aux acides gras. Il s'agit des hydrocarbures, des alcools aliphatiques, des stérols libres et des tocophérols (Ogan *et al.*, 2015).

### **1.3. Le soja**

#### **1.3.1. Caractéristiques botaniques et composition biochimique**

Le soja, espèce *Glycine max* (L.) Merrill, est une plante herbacée annuelle, velue, appartenant à l'ordre des Fabales, famille des Légumineuses, sous-famille des Fabacées (ou Papilionacées), tribu des *Phaseoleae*, genre *Glycine* L. Le soja possède un port végétatif et un appareil reproducteur caractéristique de la famille des Fabacées (Delaveau, 2003 ; Doré *et al.*, 2006).

Le soja est avant tout une production agricole à intérêt industrielle. Il est cultivé pour l'huile et les protéines qu'il fournit. Une alimentation à base de soja est pauvre en acides gras saturés et en cholestérol et fournit moins de calories qu'une alimentation à base de viandes et de produits laitiers (Hubert, 2006).

La trituration consiste à trier, décortiquer, nettoyer, broyer, cuire les graines de soja et extraire l'huile à l'aide de l'hexane comme solvant. Ce solvant volatil sera séparé de l'huile brute et qui sera récupérée par la suite (Colot et Louis, 2012).

L'opération de raffinage de l'huile de soja vierge permet de recueillir la lécithine de soja. Cette opération a pour objectif principal de maintenir ou améliorer les caractères organoleptiques et la stabilité des corps gras et comprend différentes étapes : Démucilagination, désacidification, décoloration et désodorisation. L'huile obtenue a une saveur neutre et une coloration peu intense (Cahuzac, 2010). Cependant, ce raffinage induit parallèlement une perte plus ou moins importante en composés ayant un intérêt biologique tels que la vitamine E, les phytostérols et les polyphénols (Lecerf, 2011). Après raffinage,

cette huile peut être utilisée dans l'alimentation parentérale car elle est calorique et contient des acides gras essentiels (Chatenet, 2007).

L'huile de soja est une huile digeste de grande qualité qui possède des composés bioactifs tel la vitamine E et les phytostérols. Mais des acides gras essentiels polyinsaturés totalisant 54 à 72 % des lipides totaux (Lecerf, 2011). Parmi eux, les acides linoléiques (oméga 6) et  $\alpha$ -linoléique (oméga 3), principaux acides gras essentiels à l'organisme car non synthétisés par l'organismes (Biesalski *et al.*, 2010). Le pourcentage en acide  $\alpha$ -linoléique est significatif (Cahuzac, 2010), tandis que les acides gras saturés et mono-insaturés sont moindre (Lecerf, 1995).

### **1.4. Le tournesol**

#### **I.4.1. Caractéristiques botaniques et composition biochimique**

Le tournesol (*Helianthus annuus Linnaeus*) est une plante oléagineuse annuelle, du genre *Helianthus* (du grec Helios pour le soleil et Anthos pour fleur) *annuus*, appartient aux dicotylédones, famille des *Astéracées*. La domestication a été réalisée dans la région de Mexico par les Aztèques vers 2600 av. J.C. Cette plante est cultivée pour la richesse de ses graines en huile ainsi que sa teneur élevée en protéines (Lentz, *et al.*, 2008 ; Proléa, 2007).

Le tournesol est actuellement essentiellement cultivé pour sa graine. La quasi-totalité des graines de tournesol produites sont triturée dans les huileries pour la production de l'huile. Celle-ci lui apporte sa plus grande valeur ajoutée puisqu'elle représente jusqu'à 80 % de sa valeur économique (Proléa, 2006).

Les procédés industriels de trituration des graines et de raffinage des huiles de tournesol s'enchaînent d'abord par la préparation des graines et leur pressage pour l'obtention d'une huile brute de pression et d'un tourteau gras. Les opérations de prétraitement des graines (nettoyage, séchage, décorticage dans certains cas, broyage-aplatissage et cuisson) sont destinées à optimiser le rendement d'expression de l'huile. L'huile résiduelle contenue dans les tourteaux gras est extraite par l'hexane. Cette huile brute obtenue nécessite un raffinage avant consommation afin d'éliminer les composés phosphorés, les produits d'hydrolyse et les produits colorés ainsi que d'autres composés qui peuvent nuire la qualité de l'huile (Evon, 2008).

## **2. Généralités sur les huiles essentielles**

### **2.1. Définition**

Selon AFNOR et ISO : « l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (ISO, 1997; AFNOR, 2000).

### **2.2. Caractéristiques et propriétés physiques**

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (Degryse *et al.*, 2008). Elles sont très inflammables et très odorantes. Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent. Elles ne sont que très peu solubles ou pas dans l'eau et soluble dans les solvants, et sont parfois colorées (Bruneton, 1999; Rhayour, 2002). Les huiles essentielles, constituées des mélanges complexes de composés organiques, possèdent des structures et des fonctions chimiques très diverses (Lahlou, 2004). Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes : le groupe des terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes et triterpènes) d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part (Bowles, 2003; Chami, 2005; Clarke, 2008; Baser et Buchbauer, 2010).

### **2.3. Méthodes d'extraction**

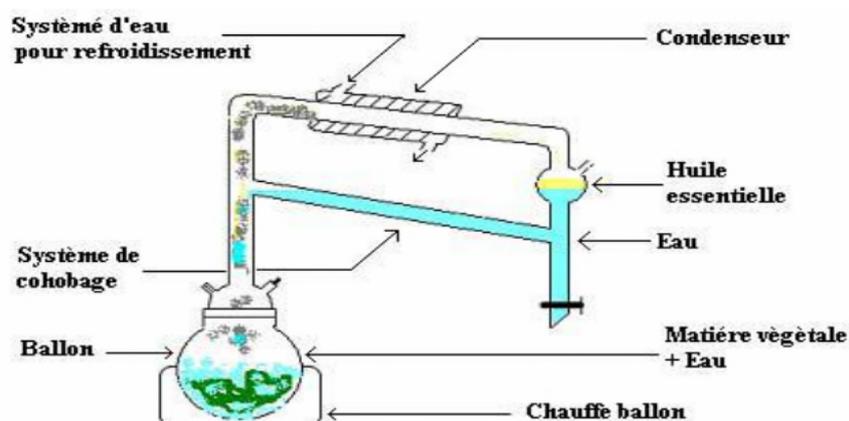
Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles mais, selon la définition de l'AFNOR et l'ISO, les méthodes utilisées pour extraire les huiles essentielles sont : l'hydrodistillation (en anglais « *hydro distillation* ») où le matériel végétal à extraire est en contact direct avec l'eau en ébullition (Bruneton, 1999; Baser et Buchbauer, 2010) et l'expression à froid qui est réservé surtout aux agrumes (Lesley, 1996).

- **Hydrodistillation**

Le tableau II et la figure 1 résumant le principe de l'extraction des huiles essentielles par technique d'hydrodistillation (Chalchat *et al.*, 1997).

**Tableau II** : principe de l'extraction des huiles essentielles par technique d'hydrodistillation

<b>Technique</b>	<b>Hydrodistillation</b>
<b>Principe</b>	Immersion du végétal dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition
<b>Séparation</b>	Séparation par différence de densité
<b>Inconvénients</b>	la calcination du matériel végétal, la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle utilisée dans le cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants.
<b>Spécificité</b>	Utilisé pour les huiles essentielles extraites à partir des feuilles, des fleurs fraîches ou séchées.



**Figure 1** : Schéma d'un dispositif d'hydrodistillation des huiles essentielles (Hernandez-Ochoa, 2005)

### 2.4. Composition chimique des huiles essentielles

Le nombre de composants isolés au sein des huiles essentielles est d'environ un millier (Belaiche, 1979).

#### 2.4.1. Terpénoïdes

Appelés aussi terpènes, ils sont les principaux composants des huiles essentielles. Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte formule brute ( $C_5H_8$ ) (Hellal, 2011). La formule brute de ses hydrocarbures terpéniques est  $(C_5H_x)_n$  dont le  $x$  est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et  $n$  peut prendre des

valeurs (1-8) sauf pour les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (Loomis et Croteau, 1980).

Selon le nombre d'unité associées, on les classe en : hémi-(C<sub>5</sub>), mono-(C<sub>10</sub>), sesqui-(C<sub>15</sub>), di-(C<sub>20</sub>), tri(C<sub>30</sub>), tétra-(C<sub>40</sub>) terpènes et polyterpènes. Ces unités isopréniques se lient entre elles le plus souvent par des liaisons dites régulières de type tête-queue (Teissiere, 1991). Les huiles essentielles contiennent surtout des monoterpènes (C<sub>10</sub>), sesquiterpènes (C<sub>15</sub>) et plus rarement des diterpènes (C<sub>20</sub>). Les terpènes les plus rencontrés dans les huiles essentielles sont les terpènes les plus volatils comme les mono et les sesquiterpènes (Finar, 1994).

### **2.4.1.1. Monoterpènes**

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes linéaires (acyclique) (exp : le *géranyl pyrophosphate* (GPP)), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) (exp : le *néryl pyrophosphate* (NPP) ou du *géranyl pyrophosphate* (GPP)). Les composés avec deux cycles (bicycliques) résultent d'une fusion typique tête-à-queue des unités d'isoprène qui se trouvent dans un grand nombre des huiles essentielles (Loomis et Croteau , 1980).

### **2.4.1.2. Sesquiterpènes**

C'est la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules. Les sesquiterpènes se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques (Loomis et Croteau, 1980).

## **2.5. Huiles essentielles de la présente étude**

Le tableau III résume les différentes propriétés des huiles essentielles étudiées comme l'origine botanique, utilisation et la partie contenant l'huile essentielle.

## Huiles végétales, huiles essentielles et oxydation

**Tableau III :** Différentes huiles essentielles des plantes étudiées.

Origine botanique	Distillé	Partie contenant HE	Utilisation
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm f. »	Huile de petitgrain de citron	Fleurs, péricarpe, feuille, brindilles avec quelques fois des petits fruits verts	Usage pharmaceutique, cosmétique, alimentaire, antibactérien et antioxydant
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck, <i>Citrus djalonis</i> A. Chevalier	Huile d'orange douce	Péricarpe, zeste	Antiseptique, arôme alimentaire, cosmétique
<i>Citrus reticulata</i> Blanco syn. <i>Citrus nobilis</i> Andrews	Huile de petitgrain de mandarine	Fleurs, péricarpe, feuilles, brindilles avec quelques fois des petits fruits verts	Usage pharmaceutique, cosmétique et alimentaire.
<i>Mentha x piperita</i>	Huile essentielle de menthe poivrée	Extraite des parties aériennes récoltées	Usage pharmaceutique, cosmétique, culinaire et industrie alimentaire.
<b>Clou de girofle</b> <i>Syzygium aromaticum</i> ou <i>Eugenia caryophyllus</i>	Huiles de clou de girofle	Clous de girofle (bouttons)	Parfumerie, industrie cosmétique, pharmaceutique antibactérien et antioxydant

### 2.6. Analyses des huiles essentielles et critères de qualité

La chromatographie en phase gazeuse GC et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS sont, de nos jours, les techniques les plus employées pour la caractérisation, quantification et identification des huiles essentielles (Marriott *et al.*, 2001; Bourkhiss *et al.*, 2007). Elles permettent également la recherche d'éventuelles traces de produits indésirables tels que les pesticides ou les produits chimiques de contamination (Renata *et al.*, 2006 ; Baser et Buchbauer, 2010).

#### 2.6.1. Chromatographie en phase gazeuse (GC)

C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles pour l'analyse quantitative. Elle s'applique à des échantillons gazeux. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène). Son principe est basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. On parle de chromatographie gaz-liquide si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice), on parle plutôt de chromatographie gaz-solide (Audigie *et al.*, 1995).

### **2.6.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)**

Le principe de cette méthode consiste à transférer par la phase mobile les composés séparés par GC dans le spectromètre de masse ou ils sont soumis à une fragmentation en ions, de masses variables dont la séparation sera fonction de leur masse. Le spectre d'un pic inconnu trouvé est identifié par comparaison avec une ou plusieurs bibliothèques de référence à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Desjobert *et al.*, 1997; Bruneton, 1999).

## **3. Problématique d'oxydation**

L'étendue de l'oxydation a comme conséquence la détérioration complète des aliments. La dégradation oxydative des constituants de nature lipidique de nos aliments présente des inconvénients à la fois sur le plans organoleptique, nutritionnel, fonctionnel, économique et hygiénique (Jeantet *et al.*, 2006 ; Nessrien et Mohamed, 2007; Rashid *et al.*, 2010). La lutte contre l'oxydation des lipides représente donc un problème considérable pour les agro-industries. Pour ralentir l'oxydation des lipides, deux voies sont envisageables : réduire les facteurs favorables à cette oxydation et/ou choisir un réactif qui ralentit l'oxydation : c'est le rôle de l'antioxydant (Jeantet *et al.*, 2006). Ce dernier est défini comme une substance qui, à de faibles concentrations comparées à celles des substrats oxydables, prévient significativement ou retarde l'initiation du processus d'oxydation (Beirão et Bernardo-gil, 2006).

Un antioxydant est défini ainsi comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation. Ils agissent en formant des produits finis non radicaux, d'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras, tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singlet pour la transformer en chaleur. En même temps, les antioxydants arrêtent la réaction, en raison de la stabilité de la structure des antioxydants (Haton, 2005).

## **3.1. Radicaux libres**

### **3.1.1. Définition**

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres organiques (Meziti, 2009). Selon la définition proposée par Halliwell et Gutteridge, (1999), les radicaux libres sont des espèces capables d'exister de manière indépendante, contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires, ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente.

Les radicaux libres peuvent être réducteurs ou oxydants du fait de leur instabilité énergétique. Ils ont tendance à revenir immédiatement à un état stable en jouant le rôle d'accepteur ou de donneur d'électrons, les radicaux libres ont donc la propriété d'être extrêmement réactifs vis-à-vis des autres molécules, possédant un temps de demi-vie extrêmement court (de nanoseconde à la milliseconde) (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Il est important de signaler que tous les radicaux libres ne sont pas forcément des oxydants. De même que, tous les oxydants ne sont pas des radicaux libres (Diallo, 2005).

Les radicaux libres sont très instables par leur configuration électronique et leur durée de vie est très courte (de 4 à 10 S). Les radicaux libres peuvent être soit d'origine endogène libre (Pincemail, 2002 ; Valko *et al.*, 2006) ou d'origine exogène (Favier, 2003).

### **3.1.2. Espèces oxygénées réactives**

Les espèces oxygénées réactives (EOR) font partie des radicaux libres et sont dotées des propriétés oxydantes qui les amènent à réagir, dans l'environnement où elles sont produites, avec toute une série de substrats biologiques. Ils sont considérés comme des agents toxiques responsables de dysfonctions et de mort cellulaires. Il est actuellement admis que les EOR sont de véritables messagers secondaires impliqués dans l'expression et la régulation des fonctions de prolifération et de mort cellulaire. De plus, ils sont des médiateurs inflammatoires impliqués dans diverses pathologies neurodégénératives ou vasculaires telles que l'athérosclérose ou l'hypertension (Dhalla *et al.*, 2000).

## **1. Matériel végétal**

### **1.1. Huiles essentielles**

Les huiles essentielles utilisées sont des huiles certifiées selon le label agriculture biologique (FR-BIO-01), obtenues par le procédé d'hydrodistillation et destinées à des fins alimentaires. Les extraits des huiles essentielles ont été conservés dans des flacons ambrés. Il s'agit des espèces végétales suivantes :

- ✓ L'huile essentielle de citron (*Citrus limonum* L).
- ✓ L'huile essentielle d'orange douce (*Citrus sinensis* L).
- ✓ L'huile essentielle de mandarine (*Citrus reticulata*).
- ✓ L'huile essentielle de menthe poivrée (*Mentha piperita*).
- ✓ L'huile essentielle de girofle (*Eugenia caryophyllus*).

### **1.2. Huiles végétales**

Les huiles végétales utilisées dans le présent travail ont été généreusement fournies par les entreprises agroalimentaires CEVITAL SPA (tournesol) et CO.G.B SPA (huile de palme et huile de soja). Ces huiles sont issues de la sortie de la désodorisation, étape importante du raffinage des huiles végétales, qui permet l'obtention des huiles avec des indices de peroxyde relativement bas. Un mélange de ces trois huiles a été constitué avec les proportions (2 : 1 : 1, m/m/m) qui correspondent respectivement à l'huile de soja (2X), huile de palme (1X) et huile de tournesol (2X).

## **2. Caractérisation des huiles essentielles**

### **2.1. Détermination de l'activité antioxydante (anti-radicalaire) par le test au DPPH<sup>\*</sup> :**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Brand-williams *et al.*, 1995).

#### **2.1.1. Principe**

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée

par les antioxydants (Molyneux, 2004). En présence des piègeurs de radicaux libres, le 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl de couleur violette est réduit en 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazine de couleur jaune (Maataoui *et al.*, 2006).

### **2.1.2. Protocole expérimental**

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par Lopes-lutz *et al.*, (2008).

- ✓ 50 µl de l'échantillon sont ajoutés à 1,95 ml de la solution méthanolique du radical DPPH (0,025g/l) ;
- ✓ Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de radical DPPH ;
- ✓ La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et à la température ambiante.

### **2.1.3. Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en tant qu'activité antiradicalaire (AAR%) ou pourcentage d'inhibition des radicaux libres en pourcentages (I %) en utilisant la formule suivante:

$$I \% = \left[ \frac{\text{Abs}_{\text{Contrôle négatif}} - \text{Abs}_{\text{Échantillon}}}{\text{Abs}_{\text{Contrôle négatif}}} \right] \times 100$$

I % : Pourcentage de l'activité antiradicalaire (AAR%).

Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif.

## **2.2. Mesure de l'activité scavenging du radical cationique ABTS**

### **2.2.1. Principe**

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à piéger le radical-cation ABTS<sup>•+</sup>, (sel d'ammonium de l'acide 2,2-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)). Le radical est formé par oxydation de l'ABTS de coloration bleue avec différents composés. Le composé à tester est ajouté au radical préformé, l'absorbance résiduelle du radical ABTS est mesurée à 734 nm après 1, 4 ou 6 minute(s).

Le radical ABTS<sup>•+</sup> est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS. En présence d'un antioxydant donneur de H<sup>•</sup>, le radical d'azote concerné piège un H<sup>•</sup>, conduisant à l'ABTS<sup>+</sup>, ce que entraîne la décoloration de la solution (Re *et al.*, 1998).

### 2.2.2 Protocol expérimental

- ✓ Selon (Rice-Evans *et al.*, 1997) à une solution d'ABTS dans l'eau 7 mM est ajoutée une solution de persulfate de potassium à 2.45 mM pour obtenir une concentration final de 3.5 mM ;
- ✓ Le mélange est agité à l'obscurité et toute la nuit à température ambiante pour former le radical cation ABTS<sup>•+</sup> ;
- ✓ Avant utilisation, la solution est diluée pour obtenir une absorbance voisine de 0.70 à 734 nm. En effet, la réaction est toujours incomplète, elle commence immédiatement mais ne se stabilise qu'après 12 heures au minimum ;
- ✓ La solution obtenue est stable lorsqu'elle est conservée à l'abri de la lumière et à la température ambiante ;
- ✓ L'activité antioxydante est mesurée par addition de 20 µl de chaque extrait avec une solution diluée de radical ABTS<sup>•+</sup> (2 ml) ;
- ✓ L'absorbance est mesurée à 734 nm après 5 minutes d'incubation à l'obscurité ;

### 2.2.3. Expression des résultats

L'activité des extraits est exprimée par le calcul du pourcentage d'inhibition en utilisant la formule suivante ;

$$I \% = [(Abs_{\text{Contrôle négatif}} - Abs_{\text{Échantillon}}) / Abs_{\text{Contrôle négatif}}] \times 100$$

I %: Pourcentage de l'activité antiradicalaire (AAR%).

Abs Échantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs Contrôle négatif : Absorbance du contrôle négatif.

## 2.3. Pouvoir réducteur

### 2.2.1. Principe

Le principe repose sur le fait que la présence d'un composé réducteur dans les échantillons entraîne la réduction du Fe<sup>+3</sup> présent dans le ferricyanure de potassium en forme

ferreuse  $\text{Fe}^{+2}$ , celle-ci se traduit par le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers la couleur bleue verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur (Moreira *et al.*, 2008).

### **2.3.2. Protocole expérimental**

- ✓ Le pouvoir réducteur a été estimé selon la méthode de Gulcin *et al.* (2002) ;
- ✓ Un volume de 250 $\mu\text{l}$  de l'huile essentielle est additionné d'un même volume de tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et de ferricyanure de potassium (1%) ;
- ✓ Après incubation à 50°C pendant 20 min, 250 $\mu\text{l}$  d'acide trichloracétique (10%), 1ml d'eau distillée et 200 $\mu\text{l}$  de chlorure ferrique (0.1%) sont ajoutés au mélange obtenu ;
- ✓ L'absorbance est mesurée à 700 nm après 15 min d'incubation à l'obscurité.

### **2.3.3. Expression des résultats**

Le pouvoir réducteur de l'huile essentielle peut être déterminé en se référant à une courbe d'étalonnage : en utilisant l'acide ascorbique (vitamine C) comme standard de référence et le résultat est exprimée en mg EAA/ ml de l'huile essentielle ou exprimé en terme d'absorbance à 700 nm (Singh *et al.*, (2011).

## **3. Caractérisation de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (SM)**

Le protocole réalisé pour l'identification est celui rapporté par Chikhouné *et al.*, 2016. L'identification GC-MS est réalisée en préparant une solution de 1% (v/v) de l'huile essentielle dans l'hexane. Des standards de terpènes aussi ont été préparés à une concentration de 200 ppm. Un ultra Gas Chromatograph Thermo Trace GC équipé d'une colonne capillaire de silice AZB-5HT (20mX 0.18mm X 0.18  $\mu\text{m}$ ), couplé à un spectromètre de masse Thermo DSQ II. Le programme température est de 5 °C.min<sup>-1</sup> jusqu'à 260 °C maintenu pendant 1 min. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur (0.6 ml.min<sup>-1</sup>), injection en mode split (1 :25) et la température de l'injecteur est de 280°C. Le spectromètre de masse en mode EI à 70 eV. L'identification des composés est basée sur le matching des spectres de masse avec ceux de la spectrothèque NIST (NISTMS Search 2.2.2005) ainsi que la comparaison de leurs indices de rétention à partir des indices de la base de données NIST. Les indices de rétention sont calculés selon la formule de Van Den Dool et Kratz.

## **4. Caractérisation des huiles végétales**

### **4.1. Teneur en eau (Humidité)**

L'humidité est exprimée par la perte de masse d'une huile qui a subi un chauffage à  $103 \pm 2$  °C dans les conditions spécifiques. Elle est déterminée selon la norme NE 1. 2-47, 1985.

#### **4.1.1. Principe**

Détermination sur une quantité d'huile séchée dans une étuve réglée à une température de  $103 \pm 2$  °C, jusqu'à obtention d'un poids constant. En effet sous l'effet de la chaleur, l'eau ainsi que les matières volatiles s'évaporent.

#### **4.1.2. Protocole expérimental**

- ✓ Peser un bécher vide (P1) et le poids de la prise d'essai (P2) ;
- ✓ Déposer sur une plaque chauffante, en agitant soigneusement de temps à autre afin d'éviter la formation des gouttelettes d'eau aux parois du bécher ;
- ✓ Laisser refroidir dans un dessiccateur ;
- ✓ Après refroidissement on pèse le bécher qui contient l'échantillon, ce qui donne un poids final (P).

#### **4.1.3. Expression des résultats**

La teneur en eau est déterminée par la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{(P1 + P2) - P}{P2} * 100$$

Où :

**H (%)** : humidité exprimée en pourcentage massique ;

**P1** : poids du bécher vide en gramme (g) ;

**P2** : poids de la prise d'essai en grammes (g) ;

**P** : poids du bécher contenant l'échantillon après chauffage en gramme (g).

## **4.2. Détermination du point de fusion**

Il est défini comme la température à laquelle une colonne de graisse placée dans un tube capillaire ouvert commence à se déplacer dans les conditions opératoires. Ce paramètre est déterminé selon la norme NE. 1. 2.91, 1988.

### **4.2.1. Principe**

Il est basé sur l'immersion d'un tube capillaire, contenant une colonne d'un corps gras cristallisé dans des conditions contrôlées, à une profondeur spécifiée dans de l'eau dont la température augmente à une vitesse donnée. Enregistrement de la température à laquelle la colonne commence à se déplacer dans le tube capillaire.

### **4.2.2. Mode opératoire**

- ✓ Mettre au réfrigérateur (10 à 15 min) deux tubes capillaires contenant une colonne d'huile étudiée jusqu'à solidification ;
- ✓ Fixer les deux capillaires à un thermomètre à l'aide d'une bague en caoutchouc et veiller à ce que la partie basse des tubes soit au même niveau que le fond de la bille de mercure du thermomètre ;
- ✓ Après la fixation, on immerge l'ensemble environ trois fois le volume de l'échantillon dans un bécher rempli d'eau osmosée froide, ensuite le milieu est chauffé lentement (0.5°C/min) dans un bain Marie ;
- ✓ Dès que la colonne d'huile commence à se déplacer vers le haut dans le tube capillaire on enregistre la température.

### **4.2.3. Expression des résultats**

La température enregistrée est définie comme le point de fusion de l'huile exprimée en °C.

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

Il donne une évaluation sur la quantité de peroxydes présents dans un corps gras. Il est aussi le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif contenus dans un gramme (g) de produit qui oxyde l'iodure de potassium dans les conditions de travail décrites. Il est déterminé selon la norme (NE-1-2-50-1985).

#### **4.3.1. Principe**

La prise d'essai en solution dans un mélange d'acide acétique et chloroforme est traitée par une solution d'iodure de potassium. L'iode libéré est titré avec une solution de thiosulfate de sodium.

#### **4.3.2. Mode opératoire**

- ✓ 2 g d'huile est mise en solution avec 10 ml de chloroforme, 15 ml d'acide acétique, et 1 ml d'une solution saturée d'iodure de potassium sont ajoutés ;
- ✓ Agiter le mélange pendant une minute ;
- ✓ Laisser pendant 5 minutes à l'obscurité ;
- ✓ Après 5 minutes, 75 ml d'eau distillé est ajoutés et l'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium à 0.002N en présence d'empois d'amidon comme indicateur ;
- ✓ Un essai témoin est réalisé dans les mêmes conditions.

#### **4.3.3. Expression des résultats**

L'indice de peroxyde (IP) est exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme d'huile végétal selon la formule

$$\text{IP (meqO}_2 \text{ / kg)} = \text{N} * (\text{V}_1 - \text{V}_0) * 100/\text{m}$$

**IP** : indice de peroxyde exprimé en milliéquivalent gramme par kilogramme.

**V<sub>0</sub>** : volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium pour l'essai à blanc.

**V<sub>1</sub>** : volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'échantillon.

**N** : normalité de la solution de thiosulfate de sodium 0.002N.

**M** : masse de la prise d'essai.

#### **4.4. Détermination de l'acidité**

L'acidité est considérée comme le degré ou le pourcentage d'acides gras libres, exprimée conventionnellement en acide oléique. Elle est déterminée selon la norme (NE.1.2.43.1985).

#### **4.4.1. Principe**

Son principe est basé sur la mise en solution d'une quantité de matière grasse dans de l'éthanol chaud, puis titrage des acides gras libres avec une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium ou de potassium en présence d'un indicateur coloré phénolphtaléine.

#### **4.4.2. Mode opératoire**

- ✓ Prépare dans un erlenmayer une solution de 75 ml d'alcool neutralisé (éthanol et quelque gouttes de phénolphtaléine neutralisé par une solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à apparition d'une coloration rose) ;
- ✓ Ajouter 10 g de l'huile à analyser et chauffer sur une plaque chauffante jusqu'à dissolution de l'huile ;
- ✓ Titrer en agitant avec une solution d'hydroxyde de sodium à 0.1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante quelque seconde.

#### **4.4.3. Expression des résultats**

L'acidité est déterminée selon la formule suivante :

$$A \% = \frac{N * V * Eq}{PE} * 10$$

**A%** : L'acidité en pourcentage

**N** : Normalité de NaOH

**V** : Volume en ml de NaOH

**PE** : poids en g de la prise d'essai

**Eq** : equivalent gramme de l'acide oléique qui est égale a 282 g.

#### **4.5. Détermination de la couleur**

La couleur d'un élément est en général liée à sa maturité ou à un mauvais stockage ou entreposage ainsi qu'un début de détérioration de la qualité du produit. L'appareil utilisé pour la détermination de la couleur est un colorimètre appelé « LOVIBOND ». La couleur est déterminée selon la norme (NE-1.2-364-, 1989).

##### **4.5.1. Principe**

Son principe consiste à faire une comparaison entre la couleur de la lumière qui est transmise à travers une couche de graisse liquide et la couleur de la lumière provenant de la

même source transmise à travers les lames colorées standardisées, constituées de trois couleurs qui sont le Jaune (J), le Rouge (R) et le Bleu (B).

#### **4.5.2. Mode opératoire**

- ✓ La graisse liquide est chauffée pour homogénéiser ;
- ✓ Mettre l'échantillon dans une cellule à un pouce ou cinq pouces ;
- ✓ La lecture se fait par le réglage de deux faces jusqu'à l'obtention de la même couleur des deux côtés.

#### **4.5.3. Expression des résultats**

Les résultats s'exprime en terme de nombre d'unités jaune, rouge et bleu nécessaires afin d'obtenir la couleur correspondante.

#### **4.6. La dégustation**

L'huile sortant du désodoriseur est dégustée par un technicien du laboratoire, après avoir été refroidie afin de déterminer son goût et son odeur.

## **II. Evaluation de la stabilité oxydative du mélange des huiles végétales étudiées par le test de vieillissement dans l'étuve ou test de Shaal**

### **1. Principe**

Son principe consiste à suivre l'oxydation du mélange des huiles étudiées dans une étuve réglée à 60 °C. L'oxydation est étudiée par une cinétique d'oxydation basée sur la mesure de l'indice de peroxyde sur des prélèvements faits chaque trois jour pendant une période de 24 jours.

### **2. Mode opératoire**

- ✓ Préparation du mélange d'huiles végétales selon les proportions décrites précédemment ;
- ✓ Incorporation des huiles essentielles à raison de deux concentrations : 100 ppm et 900 ppm pour 100 g de mélange d'huile ;
- ✓ Disposition des huiles végétales incorporées des huiles essentielles aux concentrations précédentes dans des flacons étiquetés selon l'huile essentielle utilisée et le jour de l'analyse ;
- ✓ Mise des flacons dans une étuve réglée à 60 °C ;

- ✓ Mesure de l'indice de peroxyde chaque trois jour pour une période de 24 jours.

### **3. Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en mesurant l'indice de peroxyde en utilisant le protocole cité dans 4.3.

### **III. Détermination des taux de solide SFC (Solid Fat Content) par résonance magnétique nucléaire (RMN)**

La teneur en corps gras solides est déterminée à l'aide d'un spectromètre de résonance magnétique nucléaire (RMN) pulcée basse résolution, de type (minisquac mq 20, Germany). C'est une méthode rapide et non destructrice qui permet de connaître les propriétés rhéologique d'une graisse (NF EN ISO 8292 T60-250, 1995).

L'échantillon est tempéré dans un état stable à une température spécifique et ensuite chauffé et stabilisé à la température de mesure. Les températures de mesure sont : 0 °C, 10 °C, 20 °C, 30°C, 40 °C. Après équilibrage électromagnétique dans le champ magnétique statique du spectromètre RMN et l'application d'une impulsion de radiofréquence à 90 °, le signal de décroissance de magnétisation des protons dans la phase liquide uniquement est mesuré et les corps gras solides sont calculés en référence à un échantillon étalon constitué entièrement de corps gras liquide.

La méthode dite standard consiste à faire préparer des tubes d'échantillons d'huiles bien mélangés, ces tubes doivent être remplis à hauteur de 3 cm ensuite bien essuyé. Après on procède à des incubations : 60 min à 0 °C, 15 min à 10°C, 20°C, 30°C et 40°C. Après 15 min, la lecture est faite pour chaque température. Les résultats sont donnés par le logiciel de l'appareil en pourcentage de solide.

### **IV. Analyse statistique**

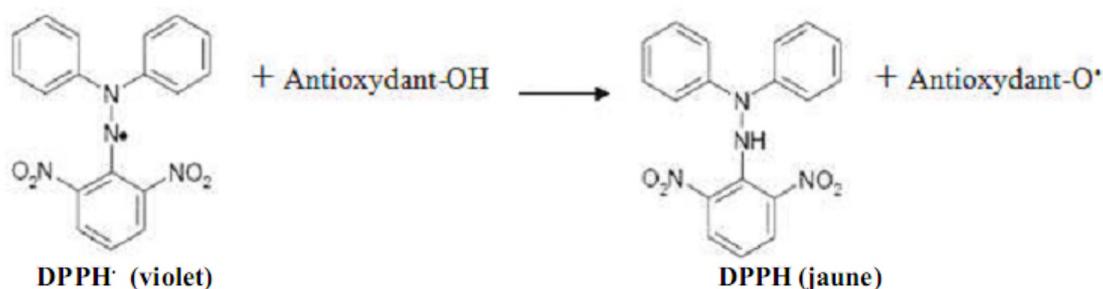
Les composés analysés et les paramètres rapportés sont évalué en deux ou trois essais. L'analyse statistique des données a été réalisée par une analyse de la variance (ANOVA) et le test LSD (least significant difference) avec le logiciel Statistica 7.0 pour montrer les mesures qui peuvent être considérées statistiquement différentes au seuil de signification ( $p < 0,05$ ). Le logiciel OriginPro 9 est utilisé pour tracer le graphe des cinétiques d'oxydation.

## 1. Evaluation de l'activité antioxydant

L'activité antioxydante de nos huiles exprime leur capacité à réduire les radicaux libres. Elle est évaluée par plusieurs méthodes telles que, DPPH, ABTS et pouvoir réducteur.

### 1.1. Piégeage du radical DPPH

Ce radical libre présente une coloration violette foncée lorsqu'il est piégé par les antioxydants, il apparait sous sa forme réduite de couleur jaune pâle (figure 2) (Soares *et al.*, 1997 ; Molyneux, 2004).



(2.2 Diphenyl -1- picryl hydrazyl)

(2.2 Diphenyl -1-picryl hydrazine)

**Figure 2** : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH (Molyneux, 2004)

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm en la comparant à plusieurs standards comme l'acide ascorbique, le trolox, BHA (hydroxyanisole butyle) et BHT (hydrox toluène butyle) Les résultats obtenus sont exprimés en tant qu'activité antioxydante où l'inhibition des radicaux libre en pourcentage (I%) en utilisant la formule suivante :

$$I \% = [1 - (\text{Abs Échantillon} - \text{Abs Contrôle négatif})] \times 100$$

**I %**: Pourcentage de l'activité antiradicalaire (AAR%).

**Abs Échantillon** : Absorbance de l'échantillon.

**Abs Contrôle négatif** : Absorbance du contrôle négatif.

Le tableau IV nous montre les différents pourcentages d'inhibition des cinq huiles essentielles ;

**Tableau IV** : Valeurs des pourcentages d'inhibition donnés par les huiles essentielles par test au radical DPPH.

Huile essentielle	Mandarine	Orange douce	Citron	Menthe poivrée	Girofle
(I%)	35.21 % ± 0.26c	10.90 % ± 0.53e	33.12 % ± 0.91d	37.25 % ± 1.25bb	77.79 % ± 1.62a

Toutes les huiles essentielles ont donné des pourcentages d'inhibition différents l'un de l'autre et inférieurs aux standards, sauf pour le girofle qui a donné un pourcentage d'inhibition supérieur à celui du BHT et proche de celui de BHA et l'acide ascorbique. En effet les pourcentages d'inhibition pour l'huile essentielle du girofle et les standards BHT, BHA ainsi que l'acide ascorbique sont de 77.79 % ± 1.62, 57.11 % ± 0.66, 87.46 % ± 0.52 et 87.71 % ± 0.87 respectivement.

Les pourcentages d'inhibition estimés pour les autres huiles essentielles sont inférieurs à ceux estimés pour les standards avec des valeurs de 35.21 % ± 0.26, 10.90 % ± 0.53, 33.12 % ± 0.91 et 37.25 % ± 1.25 pour l'huile essentielle du mandarine, orange douce, citron et menthe poivrée respectivement, contre des valeurs de 57.11 % ± 0.66, 87.46 % ± 0.52 et 87.71 % ± 0.87 pour BHT, BHA et l'acide ascorbique respectivement.

D'après le tableau IV, nous remarquons que l'activité antiradicalaire donnée par l'huile essentielle du girofle est plus élevée que celle donnée par les autres huiles essentielles. En effet le pourcentage d'inhibition du girofle est de 77.79 % ± 1.6, alors que les valeurs pour les autres huiles essentielles comme le citron, mandarine, menthe poivrée et l'orange douce sont de 33.12 % ± 0.91, 35.21 % ± 0.26, 37.25 % ± 1.25 et 10.90 % ± 0.53 respectivement.

Selon Hyang *et al.* (2000), l'effet antiradicalaire des huiles essentielles de 34 genres Citrus, évaluée par test DPPH a donné des valeurs comprises entre 17.7 % et 64 %. Ces valeurs sont supérieures aux valeurs données par nos huiles essentielles du genre Citrus, qui varient de 10 % à 37.5 %.

D'autres travaux ont été réalisés par Yang *et al.* (2010) sur l'huile essentielle de menthe poivrée et du citron. L'effet antiradicalaire de ces deux huiles essentielles déterminé par le test du DPPH a donné des valeurs de 57.9 % et 48.9 % respectivement. Ces valeurs sont supérieures à celles trouvées dans notre travail qui sont de 39.81 % et 33.11 % pour la menthe poivrée et le citron respectivement. De même Singh *et al.* (2011) qui ont trouvés des

pourcentages très élevés concernant l'activité antiradicalaire de l'huile essentielle de genre *Mentha piperita* L'extrait avec différents solvants et déterminé par le test du DPPH. En effet les valeurs varient de 70.3% à 92.6 % pour un volume de 1ml d'huile essentielle.

Des études ont été menés par Jirovetz *et al.* (2006), sur l'huile essentielle de girofle. son activité antiradicalaire a été évalué par test DPPH, son pourcentage d'inhibition a donné une valeur de 91% pour une concentration de 5g par ml. Ce résultat est proche de résultat trouvé dans notre travail qui de 77.78 %.

## 1.2. Activité scavenging du radical ABTS

La diminution de la coloration du radical ABTS a donné des absorbances différentes a 734 nm, donc des pourcentages d'inhibition différents cités dans le tableau V ;

**Tableau V** : Valeurs du pourcentage d'inhibition donné par les huiles essentielles par test ABTS.

Huile essentielle	Mandarine	Orange douce	Citron	Menthe poivrée	Girofle
I (%)	46.81 % $\pm$ 0.75c	40.83 % $\pm$ 0.83d	4.68 % $\pm$ 0.75e	60.30 % $\pm$ 2.27b	84.99 % $\pm$ 0.75a

Après 5 minutes d'incubation et une lecture à 734 nm, nos huiles essentielles ont donné des pourcentages d'inhibition différents. D'après le tableau V, nous remarquons que l'huile essentielle du girofle a donné le pourcentage d'inhibition le plus élevé avec une valeur de 84.99 %  $\pm$  0.75 par rapport aux autres huiles essentielles. Les pourcentages d'inhibition des huiles essentielles de la menthe poivrée, orange douce et la mandarine ont donné des valeurs proches qui sont de 60.30 %  $\pm$  2.27, 40.83 %  $\pm$  0.83 et 60.30 %  $\pm$  2.27 respectivement. Concernant l'huile essentielle du citron, son pourcentage d'inhibition du radical ABTS est très faible avec une valeur de 4.68 %  $\pm$  0.75.

Des travaux ont été menés sur les huiles essentielles extraites des écorces du genre Citrus. Les pourcentages d'inhibitions évalués par test ABTS sont entre 85 % et 95 %. Ces valeurs sont supérieures aux valeurs trouvées dans notre travail qui entre 4 % et 45 %.

Yang *et al.* (2010) ont évalué le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de la menthe poivrée. La valeur trouvée était de 80.6 % qui sont est un pourcentage d'inhibition supérieur a celui évalué dans notre huile essentielle de menthe poivrée.

Jirovetz *et al.* (2006), ont trouvé une valeur de 77.4 % concernant le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle du girofle. Ce pourcentage est inférieur à celui trouvé dans notre travail.

### **I.3. Pouvoir réducteur**

Les résultats du pouvoir réducteur obtenus avec les différentes huiles essentielles étudiées sont illustrés dans le tableau VI :

**Tableau VI :** valeurs d'activité réductrice des huiles essentielles

<b>Huile essentielle</b>	<b>Mandarine</b>	<b>Orange douce</b>	<b>Citron</b>	<b>Menthe poivrée</b>	<b>Girofle</b>
<b>Abs (700nm)</b>	0.19 ± 0.04b	0.33 ± 0.06b	0.20 ± 0.03b	0.30 ± 0.06b	2.72 ± 0.40a

D'après les résultats obtenus, on constate que le pouvoir réducteur est différent d'une huile essentielle à une autre. L'huile essentielle de clou de girofle a montré le plus grand pouvoir réducteur avec une absorbance de  $2.72 \pm 0.40$  à 700 nm suivis par l'huile essentielle de menthe poivrée et orange douce avec des absorbances de  $0.30 \pm 0.06$  et  $0.33 \pm 0.06$  respectivement. Les huiles essentielles de mandarine et du citron ont données un pouvoir réducteur proche avec des absorbances de  $0.19 \pm 0.04$  et  $0.20 \pm 0.03$  respectivement.

Selon ZhiBiao *et al.* (2008), le pouvoir réducteur de *Citrus reticulata* a donné une absorbance de 0.1 à 1.3 à 700 nm pour des concentration de 0 à 100 µg/ml. Ces résultats sont proches des résultats trouvés dans notre travail.

Kanatt *et al.* (2007), ont évalué l'activité antioxydante de la menthe spécialement du genre *Mentha Spicata.L* par le pouvoir réducteur. Le protocole a été effectué sur des concentrations qui varient de 0 à 1000 µg / ml. Les absorbances sont mesurées à 700 nm et les valeurs trouvées sont de 0 à 0.85 pour les différentes concentrations. Ces résultats confirment les résultats trouvés dans notre travail.

Singh *et al.* (2011), ont réalisés une extraction avec différents solvants de l'huile essentielle de genre *Mentha piperita L*, puis ils sont évalué son activité antioxydante par le pouvoir réducteur. Les valeurs trouvées pour les absorbance à 700 nm sont de 0.4 à 0.9 pour une concentration de 1 ml. Ces absorbances sont supérieurs aux absorbances trouvées pour notre huile essentielle.

Gulcin *et al.* (2012), ont déterminés le pouvoir réducteur de l'huile essentielle de girofle pour de concentrations de 15 à 45 $\mu$ g/ml. Les valeurs données à 700 nm varient de 0.7 à 1.8 pour des différentes concentrations. Ces valeurs sont inférieures aux valeurs trouvées dans notre travail.

Selon Ruberto et Baratta, (2000), la quasi-totalité des composés contenus dans les huiles essentielles possèdent des propriétés antioxydantes, mais leurs activités antioxydantes diffèrent significativement, les activités antioxydantes des huiles essentielles peuvent varier en fonction des variations de la composition chimique. L'activité antioxydante d'une huile essentielle est attribuée principalement à ses principales composantes.

## **2. Caractérisation de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (SM)**

Les cinq huiles essentielles ont été analysées par CPG-SM et leurs compositions chimiques sont présentées dans les tableaux VII et VIII et IX.

Ces résultats ont montré qu'il y a des similitudes qualitatives entre l'huile essentielle de la mandarine, citron, orange douce et de la menthe poivrée bien que les quantités soient différentes. L'huile de la menthe poivrée montre la composition la plus complexe avec un nombre plus élevé de constituants. En effet l'analyse chimique de cette huile a révélé 36 constituants chimiques tandis que l'huile de mandarine contient 23 constituants suivi par l'huile de citron avec 20 constituants et l'huile d'orange douce avec 16 constituants.

Dans l'huile essentielle de la mandarine, citron et orange douce, le Limonène qui représente 82.64%, 86.32 % et 98.77 % respectivement, est le principal composant, il est suivi dans le cas de l'huile essentielle de la mandarine par  $\gamma$ -Terpinene (13.97 %),  $\alpha$ -Pinene (0.99%) et Nopinene (0.55%). Alors que pour l'huile essentielle du citron, le Limonene est suivi par le  $\beta$ -Pinene avec une valeur de 6.33 % et le  $\gamma$ -Terpinene avec une valeur de 3.80 %. Dans le cas de l'orange douce il est suivi par  $\beta$ -Myrcene avec une valeur de 0.53 %,  $\alpha$ -Pinene avec une valeur de 0.17 % et Linalol avec une valeur de 0.13 %.

**Tableau VII :** Composition chimique d'huile essentielle de la mandarine, de l'orange douce et du citron

Composition chimique	mandarine		Orange douce		Citron	
	Moy	SD	Moy	SD	MOY	SD
β-Thujene	0.28	0.01			0.13	0.00
α-Pinene	0.99	0.01	0.17	0.00	0.65	0.00
Sabinene	0.08	0.00	0.05	0.00	0.56	0.01
Nopinene	0.58	0.01				
β-Myrcene	0.55	0.00	0.53	0.01	0.46	0.00
α-Terpinene	0.06	0.00			0.04	0.00
o-Cymene	0.20	0.00			0.20	0.00
Limonene	82.64	0.04			86.32	0.01
γ-Terpinene	13.97	0.00			3.80	0.03
Terpinolene	0.18	0.01			0.09	0.00
β-Linalool	0.04	0.00			0.03	0.00
cis-Limonene oxide	0.02	0.00				
trans-Limonene oxide	0.02	0.00				
3-Oxabicyclo[4.3.0]non-8-en-2-one	0.03	0.00				
Terpinen-4-ol	0.02	0.00				
α-Terpineol	0.05	0.00			0.04	0.00
Decanal	0.01	0.00				
Linalyl acetate	0.02	0.00				
Limonene-1,2-diol	0.02	0.00				
Methyl N-methylantranilate	0.12	0.02				
Isocaryophyllene	0.02	0.00				
α-Farnesene	0.04	0.00				
α-Sinensal	0.09	0.00				
Octanal			0.05	0.00		
β-Ocimene			0.02	0.00		
Limonene			98.77	0.01		
Linalol			0.13	0.01		
Mentha-2,8-dienol			0.03	0.00		
Limonene oxide, cis			0.06	0.01		
Limonene oxide, trans			0.02	0.00		
Citronellal			0.01	0.00		
Decanal			0.07	0.00		
cis-Carveol			0.03	0.01		
(-)-Carvone			0.05	0.00		
β-Citral			0.01	0.00	0.22	0.00
Citronellal					0.03	0.00
α-Citral					0.40	0.03
Nerol acetate					0.20	0.00
Geranyl acetate					0.12	0.00
β-Farnesene					0.06	0.00
α-Bergamotene					0.13	0.00
β-Bisabolene					0.20	0.01
β-pinene					6.33	0.01

Dans le cas de l'huile essentielle de la menthe poivrée, le Menthol est le constituant majeur avec une valeur de 43.35%, il est suivi par l'Isomenthone (35.76 %), Citronellal (7.56 %), Eucalyptol (4.17%) et le Menthyl acetate (3.54 %).

L'analyse chimique de l'huile essentielle du girofle a révélé la présence de 10 constituants chimiques. Le constituant majeur est l'Eugenol avec une valeur de 98.30 % suivi par le Caryophyllene (0.88 %), l'Acetylegénol (0.48 %) et Caryophyllene oxide (0.13%).

La compositions des huiles essentielles peut varier selon les conditions climatiques, le moment de la récolte de la plante et de son âge (Bagamboula *et al.*, 2004 ; Wu *et al.*, 2013). En comparaison avec les données de la littérature, nos résultats sont particulièrement en accord avec ceux précédemment rapportés.

En effet l'analyse chimique de l'huile essentielle extraite des écorces de 41 cultivars du *Citrus reticulata* (mandarine) a pu déterminer qu'elle est constituée presque exclusivement d'hydrocarbures avec le Limonène comme composant majeur (de 52.2 % à 96.2%) suivi par  $\gamma$ -Terpinene (36.7%).  $\alpha$ - Pinene (0.1 à 2.1%) et le Myrcene (1.3 à 1.8%) qui sont présents dans tous les échantillons des huiles d'écorce (Lota *et al.*, 2000).

Selon Verrzera *et al.* (2000) le Limonène (39.1 à 94.2 %), Myrcène (1.93 à 1.98 %) et Linalool (0.67 à 0.88 %) ont été signalés comme les principaux constituants de l'huile de l'écorce de mandarine.

Selon Sokovic *et al.* (2009), l'huile essentielle de la menthe poivrée est constituée de plusieurs composants chimiques dont le Menthol était le composant principal avec une valeur de 48 % suivi par le Menthone (31%), Menthofurane (6.8 %) et d'Acétate de menthyle (10 %).

Récemment, Misharina *et al.* (2011) ne sont arrivés à identifier que 13 constituants dans l'huile essentielle du citron dont le Limonène est le composant majeur (82.30%) suivi par  $\gamma$ -Terpinene (5.98 %) et  $\beta$ - Myrcene avec une valeur de 1.48 %. Ces résultats sont proches des résultats trouvés dans notre travail.

Jirovetz *et al.* (2006) ont pu déterminer l'activité antioxydante d'une huile essentielle du girofle. Son analyse chimique a identifié 23 constituants, parmi lesquels l'eugénol (76.8%) est le constituant majeur suivi par le Carcinophyllène (17.4%), le R-humulène (2.1%) et l'acétate d'Eugényl (1.2 %). Ces résultats sont proches des résultats trouvés dans notre travail.

Hyang *et al.* (2000) ont effectué l'analyse chimique du genre *Citrus sinensis* et ils ont identifié plusieurs composants chimiques dont le Limonène est le composant majeur avec une valeur comprise entre 84.5 % et 92 % suivi par le Myrcène ( de 1.7% à 1.8%), Linalole (de 1.1% à 1.3 %),  $\beta$ - Pinène (0.8% à 0.9%) et  $\alpha$ - Pinène (0.6 % à 1.4 %). Les résultats estimés dans cette étude sont proches des résultats trouvés dans notre travail.

**Tableau VIII** : Composition chimique d'huile essentielle de la menthe poivrée

Composition chimique	Moy	SD
$\alpha$ -Thujene	0,02	0,00
$\alpha$ -Pinene	0,31	0,01
Sabinene	0,17	0,00
$\beta$ -Pinene	0,47	0,01
$\beta$ -Myrcene	0,04	0,00
3-Octanol	0,04	0,00
$\alpha$ -Terpinene	0,04	0,00
o-Cymene	0,12	0,00
Limonene	1,01	0,02
Eucalyptol	4,17	0,11
$\beta$ -Ocimene	0,04	0,00
$\gamma$ -Terpinene	0,07	0,00
cis-Sabinene hydrate	0,10	0,00
Terpinolene	0,03	0,00
$\beta$ -Linalool	0,09	0,01
Isomenthone	35,76	0,57
Citronellal	7,56	0,58
Menthol	43,35	0,34
Levomenthol	0,16	0,01
$\alpha$ -Terpineol	0,19	0,01
Pulegone	0,90	0,02
Carvone	0,04	0,00
Piperitone	0,15	0,01
isoMenthyl acetate	0,14	0,01
Menthyl acetate	3,54	0,09
levoMenthyl acetate	0,08	0,00
$\alpha$ -Bourbonene	0,06	0,01
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-	0,02	0,00
$\beta$ -Caryophyllene	0,95	0,02
$\beta$ -Famesene	0,03	0,00
$\alpha$ -Ocimene	0,04	0,00
Germacrene D	0,22	0,01
Patchoulane	0,05	0,00
$\delta$ -Cadinene	0,02	0,00
Caryophyllene oxide	0,04	0,00
Viridiflorol	0,03	0,00

**Tableau IX :** Composition chimique d’huile essentielle du girofle.

Composition chimique	MOy	SD
Methyl salicylate	0,08	0,01
Eugenol	98,30	0,03
Caryophyllene	0,88	0,00
Santolina triene	0,10	0,00
Acetyleugenol	0,48	0,03
Caryophyllene oxide	0,13	0,00
Autres	0,01	0,00
	0,02	0,00
	0,01	0,00
Patchoulane	0,01	0,00

### 3. Caractéristiques des huiles végétales et leur mélange

Les huiles végétales utilisées dans notre travail sont ; l’huile de soja, l’huile de tournesol et l’huile de palme. Le prélèvement des échantillons a été effectué à partir des bacs contenant de l’huile végétale sortis directement de la première désodorisation. Le mélange a été préparé selon la formule suivante ; 2 V d’huile de soja + 1 V d’huile de tournesol + 1 V d’huile de palme. Les différentes caractéristiques de ces huiles végétale sont résumées dans le tableau X ;

**Tableau X :** Caractéristique des huiles végétales et de leur mélange

Caractéristiques	Huile de tournesol	Huile de soja	Huile de palme	Mélange
Acidité %	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.007	0.11 ± 0.01	0.03 ± 0.02
Indice de peroxyde (méq o <sub>2</sub> / kg)	0.45 ± 0.07	0	0	0.7 ± 0.141
Couleur	0.05 – 0.3 ± 0.07	0.1 – 0.45 ± 0.07	0.25 – 0.55 ± 0.14	0.35 – 0.7 ± 0.21
Humidité	Abs	Abs	Abs	Abs
Point de fusion (°C)	Très faible	Très faible	39.75 ± 1.06	13 ± 1.41
Gout	caractéristique	Caractéristique	caractéristique	Caractéristique

D'après le tableau X nous remarquons que les différentes valeurs des caractéristique des huiles végétales utilisées dans notre travail sont conformes aux normes mais qui différent d'une huile végétale à une autre. En effet, la mesure d'acidité a donné des valeurs de  $0.45 \% \pm 0.01$  pour l'huile végétale de tournesol,  $0.03 \% \pm 0.007$  pour l'huile de soja et une valeur de  $0.11 \% \pm 0.01$  pour l'huile de palme. L'acidité de mélange de ces trois huiles végétales avec la formule citée auparavant est de  $0.03 \% \pm 0.02$ . Ces valeurs d'acidité sont conformes à la norme qui est de  $0.05 \%$  selon la norme interne.

L'indice de peroxyde rend compte de l'altération des corps gras par oxydation, inconvénient majeur touchant essentiellement les acides gras insaturés (AGI). Nos huiles végétales présentent un indice de peroxyde avec des valeurs inférieure à 10 (még  $O_2$ / kg), maximum requis par la norme interne d'entreprise. En effet l'indice de peroxyde de l'huile de tournesol est de  $0.45 \pm 0.07$  (még  $O_2$ / kg) et valeur nulle pour l'huile de palme et soja. Le mélange à donné un indice de peroxyde de  $0.7 \pm 0.14$  (még  $O_2$ / kg).

Les valeurs obtenues pour le test de la couleur qui sont exprimées en termes de nombre d'unité jaune, rouge sont inférieure à 5 qui sont la norme interne. Les valeurs estimées pour l'huile de tournesol sont  $0.05 - 0.3 \pm 0.070$ ,  $0.1 - 0.45 \pm 0.070$  pour l'huile de soja et  $0.25 - 0.55 \pm 0.14$  pour l'huile de palme. Les valeurs trouvées pour le mélange sont de  $0.35 - 0.7 \pm 0.21$ . Pareil pour le point de fusion qui est caractéristique à chaque huile, exprimé en température qui est très faible pour l'huile de tournesol et l'huile de soja. Le point de fusion estimé pour l'huile de palme et le mélange est de  $39.75 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1.06$  et  $13 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1.41$ .

Les huiles végétales utilisées ainsi que leurs mélanges sont exemptes d'humidité et d'autres goûts appart leurs goûts caractéristiques, ce qui est conforme à la norme interne.

Ces différences de valeurs des caractéristiques peuvent être expliquées par la variation de la composition des huiles végétales concernant les acides gras saturés ou insaturés, les triglycérides.

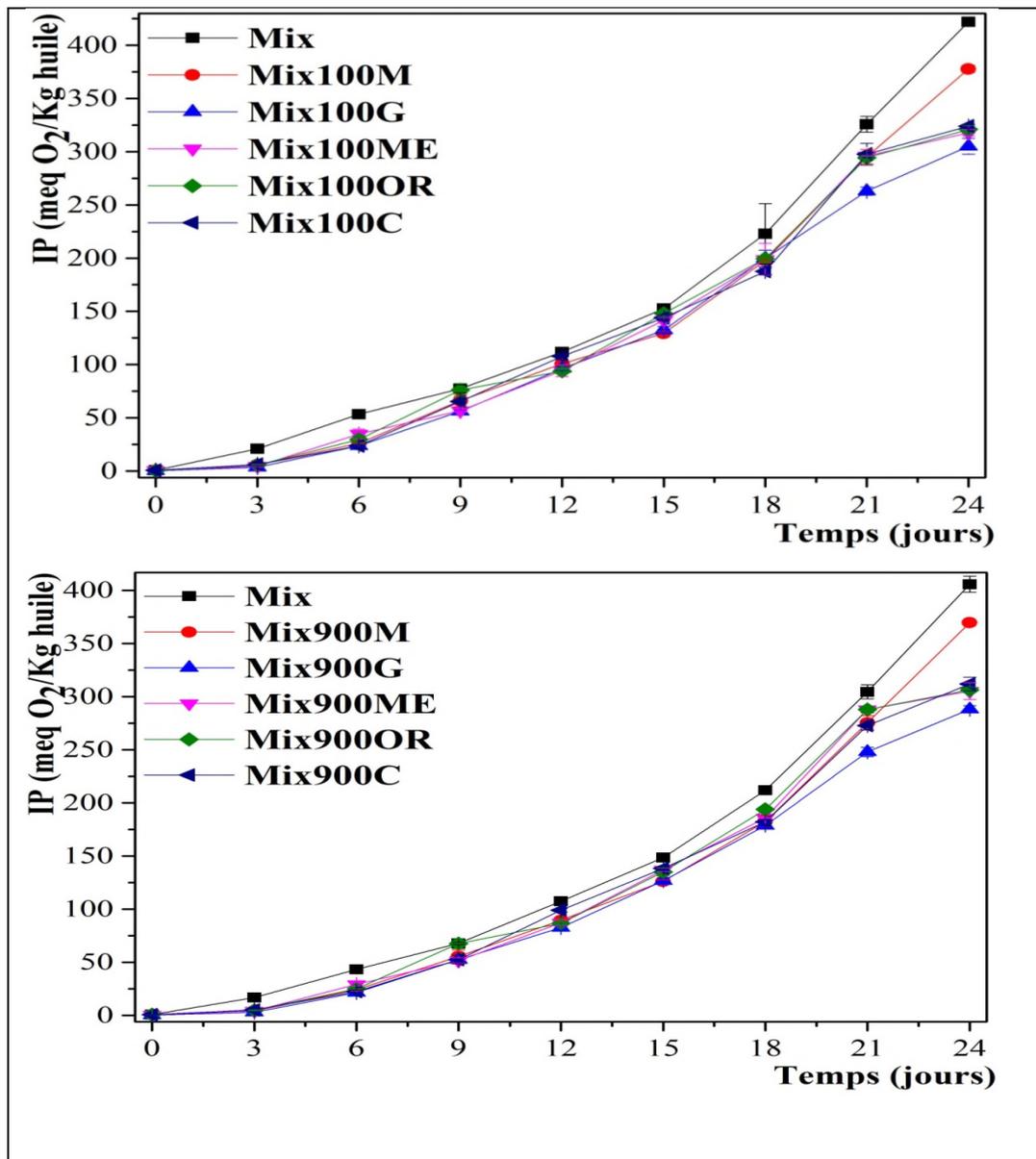
#### **4. Test de Schaal ou test de vieillissement dans l'étuve**

L'indice de peroxyde est généralement utilisé comme indicateur de la détérioration des matières grasses ou des huiles. Au fur et à mesure de l'oxydation, les liaisons double de l'acide gras insaturé sont attaquées, ce qui entraîne la formation de peroxyde (Cheftel *et al.*, 1977).

Les résultats des indices de peroxyde estimés en fonction du temps de stockage dans l'étuve, du type d'huile essentielle ajoutée et de sa concentration pour les échantillons étudiés sont illustrés en Figure 3 (pour les concentrations de 100ppm et 900ppm de chaque huile essentielle utilisée).

D'un point de vue général, on remarque la même tendance des courbes pour les deux concentrations étudiées (100 ppm et 900 ppm). Dans les deux cas, le témoin montre des indices de peroxydes plus élevés par rapports aux échantillons incorporés des huiles essentielles étudiées. Au jour 0 ( $t = 0$  jours), jour de l'incorporation des huiles essentielles dans le mélange des huiles végétales, les indices de peroxydes sont similaires. Ceci s'explique surtout par la fraîcheur des échantillons au moment des analyses. A partir du jour 3 ( $t = 3$  jours), on remarque une augmentation des indices de peroxydes en fonction tu temps. L'oxydation du témoin étant plus prononcée que les autres échantillons. Ceci est constaté surtout après le jour 15 ( $t = 15$  jours). Pour les échantillons incorporés des huiles essentielles, on remarque que le degré de protection contre l'oxydation dépend surtout du type de l'huile essentielle dans le mélange des huiles végétales étudié. Ceci est clairement montré durant la période entre  $t = 18$  jours et  $t = 24$  jours. A la fin de la durée de stockage, on constate que l'effet protecteur de l'huile essentielle de la mandarine est le moins élevé par rapport aux autres huiles essentielles d'orange douce, de citron et de menthe poivrée qui. Celles-ci ont par contre une protection quasi similaire contre l'oxydation. L'huile essentielle de girofle est la plus performante en termes de protection contre l'oxydation. Ceci corrobore parfaitement avec son potentiel antioxydant mesuré par les différentes activités antioxydantes mesurées dans la section 1.1

Nous avons constaté que les indices de peroxydes étaient faibles au départ, mais augmentaient rapidement avec le temps. En effet, l'autooxydation commence de manière lente à basse température, mais augmente rapidement avec l'augmentation de la température. Les peroxydes se forment faiblement à  $21.1^{\circ}\text{C}$  mais augmentent de manière intense à  $37.8^{\circ}\text{C}$  et  $48.9^{\circ}\text{C}$ , probablement à cause de la diffusion facilitée de l'oxygène dans l'interface où la réaction se déroule à de hautes températures (Muresan *et al.*, 2015).



**Figure 3 :** Cinétiques d'oxydation du mélange des huiles étudiées (huile de soja, huile de palme et huile de tournesol) incorporé des différentes huiles essentielles aux concentrations de 100 ppm et de 900 ppm. (M : L'huile essentielle de la mandarine, G : L'huile essentielle du girofle, ME : L'huile essentielle de la menthe poivrée, OR : L'huile essentielle d'orange douce, C : L'huile essentielle du citron).

Karkar *et al.*, (2010) ont étudié l'effet de l'ajout d'huile essentielle de menthe (*mentha pulegium*) sur l'oxydation de l'huile de tournesol après une incubation de 8 jours à 60 °C. Il a été constaté que l'échantillon contenant l'huile essentielle pour des concentrations variant de 200 ppm à 1000 ppm, résistait mieux à l'oxydation que l'échantillon témoin. Les valeurs de l'indice de peroxyde augmentent avec le temps d'incubation mais dépendent de la

concentration de l'huile essentielle ajoutée, pour atteindre 500 méq d'O<sub>2</sub>/ kg pour 200 ppm et 400 méq d'O<sub>2</sub>/ kg pour 1000 ppm après 8 jours d'incubation à 60 °C. Cependant, ces indices de peroxyde sont nettement plus élevés que ceux rapportés dans cette étude.

Chatterjee et Bhattacharjee, (2013) ont étudié l'effet de l'huile essentielle du girofle sur le stockage de l'huile de soja pour une période de 20 jours, en calculant l'IC<sub>50</sub> avec le test au radical DPPH de l'huile de soja. La valeur de l'IC<sub>50</sub> de l'huile de soja vierge sans l'huile essentielle de girofle était significativement plus faible par rapport à tous les échantillons avec l'huile essentielle de girofle.

Ahn *et al.* (2008) ont étudié l'effet de l'huiles essentielle du *Citrus* sur l'huile de tournesol. 1% de l'huile essentielle est ajoutée à cette dernière et incubé à 60 °C pendant 30 jours. Les valeurs de l'indice de peroxyde augmentent avec le temps d'incubation pour atteindre une valeur de 200 méq d'O<sub>2</sub>/ kg après 4 jours d'incubation, continue à augmenter jusqu'à obtention d'une valeur de 900 méq d'O<sub>2</sub>/ kg après 30 jours d'incubation.

## **5. Détermination du point de fusion**

Le point de fusion du mélange est fonction des points de fusion des huiles végétales à l'origine du mélange. Les bas points de fusion du tournesol (0°C) et du soja (0°C) et le haut point de fusion de l'huile de palme (38°C à 40°C), font que le point de fusion final est un compromis entre les points de fusion de chaque huile. D'après Ghotra *et al.*, (2002) les graisses et les huiles contenant des acides gras saturés à longues chaînes ont des points de fusions plus élevés que les acides gras polyinsaturés ou à courte chaînes. En effet, l'huile de palme est constituée d'acide palmitique (41 à 45)%, alors que le tournesol et le soja sont constitués majoritairement par l'acide linoléique à des teneurs respectives de (65 à 69)% et (52 à 57%) (Ollé, 2002).

Les points de fusion des échantillons sont représentés en tableau XI. Nous constatons des différences significatives ( $p \leq 0.05$ ) entre l'échantillon témoin et les échantillons incorporés des huiles essentielles à 100 ppm et à 900 ppm. En effet, les points de fusion du mélange pour une concentration de 100 ppm est de  $7.83^{\circ}\text{C} \pm 0.76$ ,  $7.16^{\circ}\text{C} \pm 1.04$  et  $7.50^{\circ}\text{C} \pm 0.86$  pour les huiles essentielles de la menthe poivrée, de la mandarine et du girofle respectivement. Il n'y a pas de différence significative entre ces échantillons ( $p \leq 0.05$ ). Le point de fusion du mélange incorporé de l'huile essentielle du citron et de celui de l'orange douce sont de  $10.16^{\circ}\text{C} \pm 0.76$  et  $8.5^{\circ}\text{C} \pm 0.50$  respectivement. Il existe une différence

significative entre le témoin et le reste des échantillons ( $\rho \leq 0.05$ ), à l'exception de l'échantillon incorporé de l'huile essentielle de citron. Par contre, pour la concentration de 900 ppm en huiles essentielles étudiées, le point de fusion de ce dernier est significativement différent de celui de l'échantillon témoin et du reste des échantillons incorporés de huiles essentielles de girofle, d'orange douce, de mandarine et de menthe poivrée ( $\rho \leq 0.05$ ).

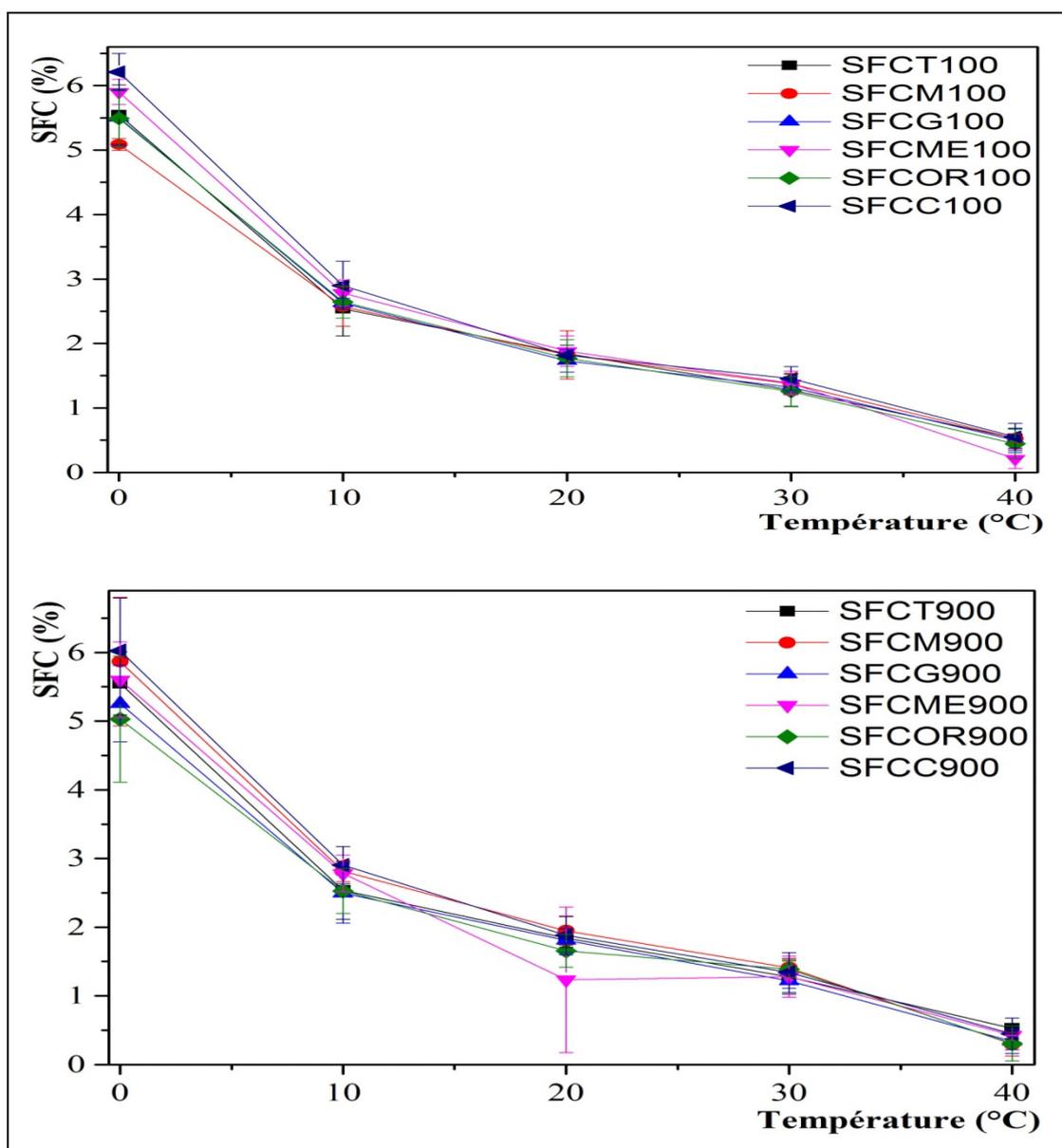
Ceci ne peut s'expliquer que par l'effet de certaines huiles essentielles sur le point de fusion du mélange des huiles végétales. Dans le cas de l'huile de citron et pour la concentration de 100 ppm, celle-ci n'a engendré aucun effet de dilution du système. Par contre, les autres huiles essentielles ont bel et bien induit un effet de dilution du système. Ceci est surtout valable pour la concentration de 900 ppm, pour l'ensemble des huiles essentielles étudiées. L'état liquide de l'huile essentielle peut influencer, dans une certaine mesure, sur le point de fusion du mélange des huiles végétales en présence.

**Tableau XI:** Résultats des points de fusion des échantillons étudiés.

Témoin	12.00 ± 2.00 <sup>a</sup>	
Huile essentielle	Point de fusion à 100 ppm	Point de fusion à 900 ppm
Menthe	7.83 ± 0.763 <sup>c</sup>	6.83 ± 0.763 <sup>c</sup>
Mandarine	7.16 ± 1.040 <sup>c</sup>	6.83 ± 0.763 <sup>c</sup>
Citron	10.16 ± 0.763 <sup>a,b</sup>	8.83 ± 0.763 <sup>b</sup>
Orange douce	8.5 ± 0.5 <sup>b,c</sup>	7.5 ± 1.5 <sup>b,c</sup>
Girofle	7.5 ± 0.866 <sup>c</sup>	7.3 ± 0.763 <sup>b,c</sup>

## 6. Taux de solide (SFC)

Les résultats SFC des échantillons étudiés sont montrés en Figure 4. L'allure des courbes obtenues pour les différents échantillons sont quasi similaires pour les deux concentrations utilisées (100 ppm et 900 ppm). A mesure que la température augmente, le taux de solide, qui correspond à la fraction solide liée à la présence de triglycérides à hauts points de fusion, diminue. Ceci est notamment constaté à la température de 40°C, où les taux de solides tendent à s'annuler. Au contraire, le maximum des taux de solide est obtenu pour la température de 0°C.



**Figure 4 :** Courbes de solides pour les échantillons témoin et incorporés des différentes huiles essentielles aux deux concentrations étudiées (100 ppm et 900 ppm). (SFC : Taux de solide, T : Témoin, M : L'huile essentielle de la mandarine, G : L'huile essentielle du girofle, ME : L'huile essentielle de la menthe poivrée, OR : L'huile essentielle d'orange douce, C : L'huile essentielle du citron).

Pour les concentrations de 100 ppm et de 900 ppm, la distribution des solides des échantillons étudiés n'est pas la même à la température de 0°C. Le comportement de certaines huiles essentielles est ainsi différent dans le mélange des huiles végétales. Ainsi, pour l'huile essentielle de la mandarine, le mélange la contenant montre des taux de solide supérieurs à ce

du mélange témoin pour la concentration de 100 ppm, alors que ceux-ci sont inférieurs aux taux de solide de l'échantillon témoin pour la concentration de 900 ppm. Par contre, le mélange contenant l'huile essentielle de citron montre des taux de solides bien plus élevés par rapport à ceux du témoin pour les deux concentrations de 100 ppm et de 900 ppm. On remarque également une ségrégation des courbes à la température de 20°C pour la concentration de 900 ppm, ce qui n'est pas le cas pour la concentration de 100 ppm.

On ne peut valider dans ce cas l'hypothèse de la dilution du système par les huiles essentielles, comme rapportés pour les points de fusion. En effet, la mandarine a donné des taux de solides élevés par rapport au mélange témoin pour la concentration de 900 ppm, alors que pour la concentration de 100 ppm les taux de solide étaient inférieurs à ceux du mélange témoin. Pour les deux concentrations, le mélange des huiles végétales avec l'huile essentielle de la mandarine a donné pourtant un point de fusion bas par rapport au mélange témoin.

On ne peut supposer un effet direct des huiles essentielles sur la microstructure du mélange témoin, car le comportement de celles-ci diffère notablement en fonction de la concentration et en fonction de la température.

Les huiles essentielles possèdent d'importantes activités antioxydante et peuvent se substituer avec succès aux antioxydants comme BHA qui peut causer des problèmes et des maladies pour la santé humaine, ce qui nous a conduit à effectuer l'analyse chimique et l'activité antioxydante des huiles essentielles du citron, de l'orange douce, du la mandarine, du la menthe poivrée ainsi que celle du girofle.

Au cours de cette étude, nous avons pu dégager les conclusions suivantes :

L'activité antioxydante estimée pour les cinq huiles essentielles est différente d'une huile à une autre. En effet les valeurs de l'activité scavenging des radicaux DPPH et ABTS estimées varient selon l'huile essentielle. Le girofle ayant donné le pourcentage d'inhibition le plus élevé pour les deux radicaux DPPH et ABTS avec des valeurs de  $77.79 \% \pm 1.62$  et  $84.99 \% \pm 0.75$  respectivement. De même pour le pouvoir réducteur l'huile essentielle du girofle a donné la meilleure activité ( $2.72 \pm 0.40$ ). Cette différence d'activité antioxydante est fonction de la composition chimique des huiles essentielles.

La caractérisation de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à la spectrométrie de masse (SM) des huiles essentielles étudiées a révélé plusieurs composants pour les cinq huiles essentielles. Le composant principal des HE de la mandarine, du citron et de l'orange douce, est le limonène qui représente 82.64%, 86.32 % et 98.77 % respectivement. Dans le cas du l'huile essentielle de la menthe poivrée, le Menthol est le constituant majeur avec une valeur de 43.35%. L'eugénol est le constituant majeur du l'huile essentielle du girofle avec une valeur de 98.30 %.

L'essai de la formulation d'un mélange d'huile végétale additionné des cinq huiles essentielles à deux concentration 100ppm et 900ppm à été expérimenté, en vue de suivre l'oxydation du mélange dans une étuve à 60 °C. Les résultats de l'évaluation de la stabilité oxydative par les tests de Schaal indiquent que le mélange à huiles essentielles sont plus résistants que le témoin vis-à-vis l'oxydation forcée.

Les teneurs en solide (SFC) par RMN pulsée estimé dans le cas des cinq huiles essentielles est presque le même pour les deux concentrations utilisées qui sont 100ppm et 900ppm.

En perspective, il est souhaitable :

- d'étudier les autres activités biologiques de ces huiles (activités antimicrobienne, antifongique, etc.) ;
- d'étudier l'effet de l'ajout de ces huiles essentielles pour élaborer des types de margarine ;
- d'appliquer ces huiles essentielles à d'autres produits alimentaires en substitution à des antioxydants artificiels comme le BHT (butyle hydroxy toluène) et le BHA (butyle hydroxy anisole).

**A**

**AFNOR, (2000).** Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6<sup>ième</sup> édition. AFNOR, Paris 257p.

**Ahn J. H, Young. P. K, Eun-Mi. S, Young-Ki. C, Hak-Sung. K. (2008).** Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil. *Journal of Food Engineering* 84 (2008) 327–334.

**Alais C., Linden G. (1997).** Abrégé de biochimie alimentaire. Masson, Paris 4<sup>ème</sup> édition. p : 63,6972.

**Albano, P-O. (2002).** La connaissance des palmiers – *culture et utilisation* édisud 2002 ISBN 2-85744-0303-5.

**Anderson, D. (2005).** A primer on oils processing technology. *dans: Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Eds Shahidi, F., John Wiley & Sons, volume 5, pp 1-56.

**Aprotosoiaie A.C., Spac A.D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu V.F., Dorneanu V., Stanescu U. (2010).** The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *FARMACIA*, 58 (1). pp. 46-54.

**Audigie C.L., Dupon G. et Zongain F. (1995).** Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2<sup>ème</sup>ED. Doin, Paris, p. 44.

**B**

**Bagamboula. C. F., Uyttendaele. M. et Debevere. J. (2004).** Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. Flexneri*. *Food microbiologie*, 21,33-42.

**Baser K.H.C. et Buchbauer G. (2010).** Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. *Taylor and Francis Group, LLC*. United States of America. 994p.

**Beirão A.R.B. et Bernardo-Gil M.G. (2006).** Antioxidants from *Lavandula luisieri*. 2<sup>nd</sup>

**Belaiche P. (1979).** - Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme.éd. Maloine. Paris.

**Biesalski, H. K et Grimm, P. (2010).** Atlas de poche de nutrition (éd. 4e). Paris: Lavoisier.

**Bourkhis B., Ouhssine M., Hnach M., Bourkhiss M., Satrani B. & Farah A. (2007).** Composition chimique et bio activité de l'huile essentielle des rameaux de *Tetraclinis articulata*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 146, pp. 75-84.

**Bowles E.J. (2003).** The chemistry of aromatherapeutic oils. 3<sup>rd</sup>Ed. *Allen & Unwin*, Australia.

**Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset. C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28 : 25-30.

## C

**Caccioni D. R. L., Guizzardi M., Biondi D. M., Agatino R., Ruberto, G. (1998).** Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology*, 43(1e2), pp. 73-79.

**Cahuzac-Picaud, M. (2010).** Les huiles végétales, intérêt diététique et gastronomique. *Phytothérapie*(8), pp. 113-117.

**Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997).** Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 9: 67-75.

**Chami F. (2005).** Evaluation *in vitro* de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires *in vivo* application dans la prophylaxie et le traitement de la *Candidose Vaginale* sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. *Thèse de doctorat*, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 266p.

**Chatenet, C. (2007).** Le soja, une plante étonnante, un aliment incontournable. *Actualités pharmaceutiques*(469), p. 37.

**Chatterjee. D, Bhattacharjee. P. (2013).** Comparative evaluation of the antioxidant efficacy of encapsulated and un-encapsulated eugenol-rich clove extracts in soybean oil: Shelf-life and frying stability of soybean oil. *Journal of food engineering* 117 (2013) 545-550.

**Clarke S. (2008).** Chemistry of essential oil. 1<sup>st</sup> edition *ELSEVIER*. British, 302p.

**Colot, C., et Louis, H. (2012).** Les protéines de soja et leur utilisation en agroalimentaire.

Consulté le 14.03.2017, sur <http://www.univ-rouen.fr/ABISS/L3CAB/soja/index.htm>.

## D

**De Jong S., Van Soest T.C. et Van Schaick M.A. (1991).** *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68,371.

**Degryse A.C., Delpla I. et Voinier M.A. (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS- EHESP*, 87p.

**Delaveau, P. (2003).** Voyage en botanique. Pharmathèmes Editions. Consulté le 27 avril, 2017.

**Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F. (1997).** Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 25 (6) : 13-16.

**Dhalla N.S. (2000).** Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens* . 18 : 655-73.

**Diallo A. (2005).** Étude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* willd. (Myrtaceae). *Thèse de doctorat*, Université de Bamako, Mali, pp. 11, 55.

**Dijkstra, A., Segers, J. (2007).** Production and refining of oils and fats. *dans: The Lipid Handbook with CD-ROM, Third Edition* . Eds Harwood, J. L., Gunstone, F.D., Dijkstra, A.D., CRC Press, pp 143-262.

**Dina A., Nassima C., Meriem B., Karima A., Hakima L., Hania B., Nadjat D., Djebbar A. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*. 112: p. 303-309.

**Doré, C., et Varoquaux, F. (2006).** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées.

## E

**Evon. P. (2008).** Nouveau procédé de bioraffinage du tournesol plante entière par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeur bi-vis : étude de l'extraction aqueuse des lipides et de la mise en forme du raffinat en agromatériaux par thermomoulage. Thèse

présentée pour obtenir le titre de docteur de l'université de Toulouse. Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle. p-52.

## F

**Finar. I. L. (1994).** », Organic chemistry » Ed. Longman Scientific et Technical. Vol. II. 354.

## G

**Garti N.et K. SATO. (1988).** Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids, Surfactant science series, vol. 3 1, Marcel Dekker inc., New York (1988).

**Gulcin. I., Mahfuz. E., Hassan Y. Aboul. E. (2012).** Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source. King Saud University. *Arabian Journal of Chemistry (2012)* 5,489 – 499.

## H

**Halliwell, B., Gutteridge., J. M. C. (1999).** Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.

**Hammer K. A., Carson C. F., Riley T. V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86,(6), pp. 985-990.

**Haton C. (2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, pp : 43.

**Hellal Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. : Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magistère, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 78 p.

**Hernandez-Ochoa. L. R. (2005).** Substitution de solvant et matière actives de synthèse par combiné « Solvant/Actif ». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de toulouse. France.

**Holley R.A., Patel, D. (2005).** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.* 22(4) pp. 273–292.

**Hubert, J. (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja – Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. Thèse de doctorat, École doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, Qualité et sécurité des aliments, Toulouse. Consulté le 14 mars 2017.

**Hyang. S. C., Hee. S. S., Hiroyuki. U., et Masayoshi. S. (2000).** Radical-Scavenging Activities of Citrus Essential Oils and Their Components: Detection Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. Department of Bioresources Science, Faculty of Agriculture, Kochi University, B-200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-8502, Japan. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 4156-4161.

## **J**

**Jacquemard. J. C. (2012).** *Le palmier à huile* éd Quae 2012 240p ISBN-13: 978.

**Jeanet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G. (2006).** Science des aliments, stabilisation biologique et physico-chimique, volume 1. Ed. *Tec. & Doc.*, Lavoisier, pp. 95–151.

**Jirovetz. L., Albená. S., Gerhard. B., Albert. K., Ivanka. S, et Erich. S. (2006).** Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 6303-6307.

## **K**

**Kalyana. S. P., Ravigadevi. S. P et Yew-ai. T. P. (2003).** Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pacific J Clin Nutr* 2003;12 (3): 355-362.

**Kamkar. A., Ashkan. J. J., Farzad. A., Kamalineja. M. (2010).** The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2010) 1796–1800.

**Kanatt. S. R., Ramesh. C., Arun. S. (2007).** Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry* 100 (2007) 451–458.

**Karleskind A. (1992).** Manuel des Corps Gras. Ed.Tech & Doc,Paris, Tome 1 et Tome II.1579 p.

**Keller. G., Lavigne. F., Loisel. C., Ollnon. M et Bourgaux. C., (1996).** *J. Theml. (1996).* Ad., 47

**Koechlin-Ramonatxo. C. (2006).** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique.* 20:165177.

**Kulisic, T, Radonic. A, Milos. M. (2005).** Inhibition of lard oxidation by fractions of different essential oils. *Grasas Aceites.* 56, 284 291.

## L

**Lecerf, J. M. (2011).** Les huiles végétales particularités et utilités. *Médecine des maladies Métaboliques (5) 3,* 257-262.

**Lecerf, J.-M. (1995).** L'intérêt nutritionnel du soja. *Nutrition clinique et métabolisme(9),* p. 137. doi:10.1016/S0985-0562(05)80091-3.

**Lentz. D. L., Pohl. M. D., Alvarado. J. L., Tarighat. S et Bye. R. (2008).** "Sunflower (*Helianthus annuus* L.) as a pre-Columbian domesticate in Mexico". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (17): 6232-6237.

**Lesley B. (1996).** *Plantes médicinales et aromatiques*, Ed. Lavoisier. Paris. pp. 58-61.

**Loomis. D, et Croteau. R. (2001)** *Lipids: Structure and Function*, Academic Press, San Francisco.184. Conn (eds.) *The Biochemistry of Plants.*

**Loomis. D, et R. Croteau. (1980).** thèse sur: *Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise*, In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.) *The Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function*, Academic Press, San Francisco ,184.

**Lopes-Lutz, D., S. Alviano, D., S. Alviano, C., P. Kolodziejczyk, P. (2008).** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69 :1732-1738.

**Lota. M.L., De Rocca Serra. D., Tomi. F et Casanova. J. (2000).** Chemical variability of peel and leaf essential oil of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco. *Biochemical systematics and ecology*, 28, 61-78.

**Lucien. E., Jean. R. (2001).** Technique de l'ingénieur", R.3010."Applications des microcalorimètres aux mesures thermiques.

## M

**Maataoui B.S., Hmyene A., Hilati S. (2006).** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de Barbarie (*Opuntia Ficus Indica*). *Libanese Science Journal*, **2006**, 7(1), 3-7.

**Marriott P.J., Shellie R. et Cornwell C. (2001).** Review : Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 936; pp. 1-22.

**Matthäus, B. (2012).** Oil technology dans: *Technological Innovations in Major World Oil Crops, volume 2* . Eds Gupta, S. K., Springer, New York, USA, pp 23-92.

**Meziti A. (2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Étude *in vitro* et *in vivo*. *Mémoire de magister*. Université El-Haj Lakhdar Batna, Algérie, 105p.

**Molyneux. P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH°) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin ; *Journal of Sciences and Technologies*, 26 (2): 211-219.

**Moreira M. R., Ponce A. G., del Valle C. E., Roura, S. I. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT e Food Science and Technology*, 38(5), pp. 565-570.

**Muresan Vlad., Sabine Danthine., Sorana. D-Bolboaca., Emil Racolt., Sevastit Muste., Carmen Socaciu, Christophe Blecker. (2015).** Roasted Sunflower Kernel Paste (Tahini) Stability: Storage Conditions and Particle Size Influence. *J. Am. Oil Chem. Soc.* (2015), 92:669–683.

## N

**Nessrien M.N.Y. et Mohamed A.T. (2007).** Antioxidant and antimicrobial effects of marjoram and thyme in coated refrigerated semi fried mullet fish fillets. *World J. Dairy & Food Sci.*, 2 (1): pp. 01-09.

**O**

**Ogan. I. M., Marie-Jose. E. D. U., Michael. N. (2015).** Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. *FOOD SCIENCE IO*(2015) 26-41.

**Ollé M. (2002).** Analyse des corps gras. Dans : *Techniques de l'ingénieur, traité de Génie des procédés*. P 3 325 – 2.

**P**

**Pagès-Xatart-Parès, X. (2008).** Technologies des corps gras (huiles et graisses végétales) Paris: institut national de la recherche agronomique. Consulté le 20 mars, 2017.

**Pascal G. (1979).** Les antioxygènes alimentaires. *Cahier de Nutrition et de Diététique*, №14, pp.271-290.

**Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. (2002).** Physiological action of antioxidant aaaa defences. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **16**: 233-239.

**Prior E. (2003).** Usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire. In : Graille J, ed. *Lipides et corps gras alimentaires* : 87-147.

**PROLEA, Fop., Cetiom., Onidol et Sofiproteol. (2006).** Tournesol les techniques culturales, le contexte économique. Paris, CETIOM eds.

**R**

**Rashid A., Qureshi M.Z., Raza S.A., William J. and Arshad M. (2010).** Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. *Analele Universita Nii din Bucuresti – Chimie (serie noua)*, vol. 19 №1, pp. 23-30.

**Re. R., Pellegrini. N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice- Evans. C.A. (1998).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Original Contribution*. PII S0891-5849 00315-3.

**Renata P.S., Edson P.N., Ronaldo F.N., Gilvandete M.P.S., Gustavo H.M.A., Edilberto S.R. & Oflia D.L. (2006).** Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils

of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 17, №5, pp. 1027-1030.

**Rhayour K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de doctorat*. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.

**Riccardo Amorati., Mario C. Foti., et Luca Valgimigli. (2013).** Antioxidant Activity of Essential Oils. Department of Chemistry “ G. Agric. Food Chem. 2013, 61, 10835 – 10847.

**Ruberto. G et Baratta. M.T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model system. *Food Chemistry*, 69, 167-174.

## S

**Salas. J. J., Bootello. M. A., Martinez-Force. E., Garces R. (2009).** Tropical vegetable fats and butters: properties and new alternatives”, *OCL*, 2009, 16, 254-258.

**Schwartzberg, H. G. (1997)** Expression of fluid from biological solids. *Separation & Purification Reviews*, 26, pp 1-213

**Singh. R., Muftah. A.M., Shushni., Belkheir. A. (2011).** Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Garyounis University, Benghazi, Libya. *Arabian journal of food chemistry (2011)*.

**Soares. J. R., Dinis. T. C. P., Cunha. A. P., et Almeida. L. M. (1997).** Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*, (26) : 469–478.

**Sweetie. R. K., Ramesh. C., Arun. S. (2007).** Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. Food Technology Division, Bhabha Atomic Research Centre, Trombay, Mumbai 400 085, India. *Food Chemistry 100 (2007) 451–458*.

## T

**Thivilliers. F. (2007).** Gels d'émulsions à base d'huiles cristallisables : mécanismes de formation et propriétés rhéologiques. École doctorale des sciences chimiques, Université Bordeaux 1.

**Tyagi. V.K, et Vasishtha. A. A. (1996).** Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 73(4), 499-506.

**V**

**Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*. 160: 1-40.

**W**

**Wu. Z. Li. H., Yang.Y., Zhan Y., et Tu. D. (2013).** Variation in the components and antioxidant activity of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* essential oils at different stage of maturity. *Industrial Crops and Products*, 46, 311-316.

**Y**

**Yang. S. A., Sang-Kyung. J., Eun-Jung. L., Chang-Hyun. S., In-Seon. L. (2010).** Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Natural Product Research* Vol. 24, No. 2, 20 January 2010, 140–151.

**Z**

**ZhiBiao. Y., Yan. Y., YiZeng. L., Bao. Z. (2008).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new *Citrus* cultivar and its main flavonoids. *LWT* 41 (2008) 597 – 603.

**AFNOR, (2000).** Huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles. Tome 2. 6<sup>ième</sup> édition. AFNOR, Paris 257p.

**Ahn J. H, Young. P. K, Eun-Mi. S, Young-Ki. C, Hak-Sung. K. (2008).** Antioxidant effect of natural plant extracts on the microencapsulated high oleic sunflower oil. *Journal of Food Engineering* 84 (2008) 327–334.

**Alais C., Linden G. (1997).** Abrégé de biochimie alimentaire. Masson, Paris 4<sup>ème</sup> édition. p : 63,6972.

**Albano, P-O. (2002).** La connaissance des palmiers – *culture et utilisation* édisud 2002 ISBN 2-85744-0303-5.

**Anderson, D. (2005).** A primer on oils processing technology. *dans: Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Eds Shahidi, F., John Wiley & Sons, volume 5, pp 1-56.

**Aprotosoiaie A.C., Spac A.D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu V.F., Dorneanu V., Stanescu U. (2010).** The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *FARMACIA*, 58 (1). pp. 46-54.

**Audigie C.L., Dupon G. et Zonggain F. (1995).** Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2<sup>ème</sup>ED. Doin, Paris, p. 44.

## **B**

**Bagamboula. C. F., Uyttendaele. M. et Debevere. J. (2004).** Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. Flexneri*. *Food microbiologie*, 21,33-42.

**Baser K.H.C. et Buchbauer G. (2010).** Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. *Taylor and Francis Group, LLC*. United States of America. 994p.

**Beirã o A.R.B. et Bernardo-Gil M.G. (2006).** Antioxidants from *Lavandula luisieri*. 2<sup>nd</sup>

**Belaiche P. (1979).** - Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme.éd. Maloine. Paris.

**Biesalski, H. K et Grimm, P. (2010).** Atlas de poche de nutrition (éd. 4e). Paris: Lavoisier.

**Bourkhis B., Ouhssine M., Hnach M., Bourkhiss M., Satrani B. & Farah A. (2007).** Composition chimique et bio activité de l'huile essentielle des rameaux de *Tetraclinis articulata*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 146, pp. 75-84.

**Bowles E.J. (2003).** The chemistry of aromatherapeutic oils. 3<sup>rd</sup>Ed. *Allen & Unwin*, Australia.

**Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset. C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28 : 25-30.

## C

**Caccioni D. R. L., Guizzardi M., Biondi D. M., Agatino R., Ruberto, G. (1998).** Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology*, 43(1e2), pp. 73-79.

**Cahuzac-Picaud, M. (2010).** Les huiles végétales, intérêt diététique et gastronomique. *Phytothérapie*(8), pp. 113-117.

**Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J. (1997).** Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 9: 67-75.

**Chami F. (2005).** Evaluation *in vitro* de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires *in vivo* application dans la prophylaxie et le traitement de la *Candidose Vaginale* sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. *Thèse de doctorat*, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 266p.

**Chatenet, C. (2007).** Le soja, une plante étonnante, un aliment incontournable. *Actualités pharmaceutiques*(469), p. 37.

**Chatterjee. D, Bhattacharjee. P. (2013).** Comparative evaluation of the antioxidant efficacy of encapsulated and un-encapsulated eugenol-rich clove extracts in soybean oil: Shelf-life and frying stability of soybean oil. *Journal of food engineering* 117 (2013) 545-550.

**Clarke S. (2008).** Chemistry of essential oil. 1<sup>st</sup> edition *ELSEVIER*. British, 302p.

**Colot, C., et Louis, H. (2012).** Les protéines de soja et leur utilisation en agroalimentaire.

Consulté le 14.03.2017, sur <http://www.univ-rouen.fr/ABISS/L3CAB/soja/index.htm>.

## D

**De Jong S., Van Soest T.C. et Van Schaick M.A. (1991).** *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68,371.

**Degryse A.C., Delpla I. et Voinier M.A. (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement -IGS- EHESP*, 87p.

**Delaveau, P. (2003).** Voyage en botanique. Pharmathèmes Editions. Consulté le 27 avril, 2017.

**Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J. et Bernardini A. F. (1997).** Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 25 (6) : 13-16.

**Dhalla N.S. (2000).** Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens* . 18 : 655-73.

**Diallo A. (2005).** Étude de la phytochimie et des activités biologiques de *syzygium guineense* willd. (Myrtaceae). *Thèse de doctorat*, Université de Bamako, Mali, pp. 11, 55.

**Dijkstra, A., Segers, J. (2007).** Production and refining of oils and fats. *dans: The Lipid Handbook with CD-ROM, Third Edition* . Eds Harwood, J. L., Gunstone, F.D., Dijkstra, A.D., CRC Press, pp 143-262.

**Dina A., Nassima C., Meriem B., Karima A., Hakima L., Hania B., Nadjat D., Djebbar A. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*. 112: p. 303-309.

**Doré, C., et Varoquaux, F. (2006).** Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées.

## E

**Evon. P. (2008).** Nouveau procédé de bioraffinage du tournesol plante entière par fractionnement thermo-mécano-chimique en extrudeur bi-vis : étude de l'extraction aqueuse des lipides et de la mise en forme du raffinat en agromatériaux par thermomoulage. Thèse

présentée pour obtenir le titre de docteur de l'université de Toulouse. Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle. p-52.

## F

**Finar. I. L. (1994).** », Organic chemistry » Ed. Longman Scientific et Technical. Vol. II. 354.

## G

**Garti N.et K. SATO. (1988).** Crystallization and polymorphism of fats and fatty acids, Surfactant science series, vol. 3 1, Marcel Dekker inc., New York (1988).

**Gulcin. I., Mahfuz. E., Hassan Y. Aboul. E. (2012).** Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source. King Saud University. *Arabian Journal of Chemistry (2012)* 5,489 – 499.

## H

**Halliwell, B., Gutteridge., J. M. C. (1999).** Free radicals in biology and medicine, Oxford, UK.

**Hammer K. A., Carson C. F., Riley T. V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86,(6), pp. 985-990.

**Haton C. (2005).** Effets des rayonnements ionisants sur la structure de la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat de l'université de Paris VI, France, pp : 43.

**Hellal Z. (2011).** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. : Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magistère, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 78 p.

**Hernandez-Ochoa. L. R. (2005).** Substitution de solvant et matière actives de synthèse par combiné « Solvant/Actif ». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de toulouse. France.

**Holley R.A., Patel, D. (2005).** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.* 22(4) pp. 273–292.

**Hubert, J. (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja – Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. Thèse de doctorat, École doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, Qualité et sécurité des aliments, Toulouse. Consulté le 14 mars 2017.

**Hyang. S. C., Hee. S. S., Hiroyuki. U., et Masayoshi. S. (2000).** Radical-Scavenging Activities of Citrus Essential Oils and Their Components: Detection Using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl. Department of Bioresources Science, Faculty of Agriculture, Kochi University, B-200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-8502, Japan. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 4156-4161.

## J

**Jacquemard. J. C. (2012).** *Le palmier à huile* éd Quae 2012 240p ISBN-13: 978.

**Jeanet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G. (2006).** Science des aliments, stabilisation biologique et physico-chimique, volume 1. Ed. *Tec. & Doc.*, Lavoisier, pp. 95–151.

**Jirovetz. L., Albena. S., Gerhard. B., Albert. K., Ivanka. S, et Erich. S. (2006).** Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil. *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 6303-6307.

## K

**Kalyana. S. P., Ravigadevi. S. P et Yew-ai. T. P. (2003).** Palm fruit chemistry and nutrition. *Asia Pacific J Clin Nutr* 2003;12 (3): 355-362.

**Kamkar. A., Ashkan. J. J., Farzad. A., Kamalineja. M. (2010).** The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology* 48 (2010) 1796–1800.

**Kanatt. S. R., Ramesh. C., Arun. S. (2007).** Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. *Food Chemistry* 100 (2007) 451–458.

**Karleskind A. (1992).** Manuel des Corps Gras. Ed.Tech & Doc,Paris, Tome 1 et Tome II.1579 p.

**Keller. G., LAVIGNE. F., LOISEL. C., OLLNON. M et BOURGAUX. C., (1996). J. Theml. (1996). Ad., 47**

**Koechlin-Ramonatxo. C. (2006).** Oxygen, oxidative stress and antioxidant supplementation or an other way for nutrition in respiratory diseases. *Nutrition clinique et métabolique*. **20**:165177.

**Kulisic, T, Radonic. A, Milos. M. (2005).** Inhibition of lard oxidation by fractions of different essential oils. *Grasas Aceites*. 56, 284 291.

## L

**Lecerf, J. M. (2011).** Les huiles végétales particularités et utilités. *Médecine des maladies Métaboliques* (5) 3, 257-262.

**Lecerf, J.-M. (1995).** L'intérêt nutritionnel du soja. *Nutrition clinique et métabolisme*(9), p. 137. doi:10.1016/S0985-0562(05)80091-3.

**Lentz. D. L., Pohl. M. D., Alvarado. J. L., Tarighat. S et Bye. R. (2008).** "Sunflower (*Helianthus annuus* L.) as a pre-Columbian domesticate in Mexico". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105 (17): 6232-6237.

**Lesley B. (1996).** *Plantes médicinales et aromatiques*, Ed. Lavoisier. Paris. pp. 58-61.

**Loomis. D, et Croteau. R. (2001)** *Lipids: Structure and Function*, Academic Press, San Francisco.184. Conn (eds.) *The Biochemistry of Plants*.

**Loomis. D, et R. Croteau. (1980).** thèse sur: *Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise*, In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.) *The Biochemistry of Plants*. *Lipids: Structure and Function*, Academic Press, San Francisco ,184.

**Lopes-Lutz, D., S. Alviano, D., S. Alviano, C., P. Kolodziejczyk, P. (2008).** Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69 :1732-1738.

**Lota. M.L., De Rocca Serra. D., Tomi. F et Casanova. J. (2000).** Chemical variability of peel and leaf essential oil of mandarins from *Citrus reticulata* Blanco. *Biochemical systematics and ecology*, 28, 61-78.

**Lucien. E., Jean. R. (2001).** Technique de l'ingénieur", R.3010."Applications des microcalorimètres aux mesures thermiques.

## M

**Maataoui B.S., Hmyene A., Hilati S. (2006).** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de Barbarie (*Opuntia Ficus Indica*). *Libanese Science Journal*, **2006**, 7(1), 3-7.

**Marriott P.J., Shellie R. et Cornwell C. (2001).** Review : Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *Journal of Chromatography A*, 936; pp. 1-22.

**Matthäus, B. (2012).** Oil technology dans: *Technological Innovations in Major World Oil Crops, volume 2* . Eds Gupta, S. K., Springer, New York, USA, pp 23-92.

**Meziti A. (2009).** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Étude *in vitro* et *in vivo*. *Mémoire de magister*. Université El-Haj Lakhdar Batna, Algérie, 105p.

**Molyneux. P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH°) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin ; *Journal of Sciences and Technologies*, 26 (2): 211-219.

**Moreira M. R., Ponce A. G., del Valle C. E., Roura, S. I. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT e Food Science and Technology*, 38(5), pp. 565-570.

**Muresan Vlad., Sabine Danthine., Sorana. D-Bolboaca., Emil Racolt., Sevastit Muste., Carmen Socaciu, Christophe Blecker. (2015).** Roasted Sunflower Kernel Paste (Tahini) Stability: Storage Conditions and Particle Size Influence. *J. Am. Oil Chem. Soc.* (2015), 92:669–683.

## N

**Nessrien M.N.Y. et Mohamed A.T. (2007).** Antioxidant and antimicrobial effects of marjoram and thyme in coated refrigerated semi fried mullet fish fillets. *World J. Dairy & Food Sci.*, 2 (1): pp. 01-09.

## O

**Ogan. I. M., Marie-Jose. E. D. U., Michael. N. (2015).** Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. *FOOD SCIENCE IO*(2015) 26-41.

**Ollé M. (2002).** Analyse des corps gras. Dans : Techniques de l'ingénieur, traité de Génie des procédés. P 3 325 – 2.

## P

**Pagès-Xatart-Parès, X. (2008).** Technologies des corps gras (huiles et graisses végétales) Paris: institut national de la recherche agronomique. Consulté le 20 mars, 2017.

**Pascal G. (1979).** Les antioxygènes alimentaires. *Cahier de Nutrition et de Diététique*, №14, pp.271-290.

**Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K., Defraigne J.O. (2002).** Physiological action of antioxidant defenses. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. **16**: 233-239.

**Prior E. (2003).** Usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire. In : Graille J, ed. *Lipides et corps gras alimentaires* : 87-147.

**PROLEA, Fop., Cetiom., Onidol et Sofiproteol. (2006).** Tournesol les techniques culturales, le contexte économique. Paris, CETIOM eds.

## R

**Rashid A., Qureshi M.Z., Raza S.A., William J. and Arshad M. (2010).** Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. *Analele Universitații din București – Chimie (serie noua)*, vol. 19 №1, pp. 23-30.

**Re. R., Pellegrini. N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice- Evans. C.A. (1998).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Original Contribution. PII S0891-5849 00315-3.

**Renata P.S., Edson P.N., Ronaldo F.N., Gilvandete M.P.S., Gustavo H.M.A., Edilberto S.R. & Otilia D.L. (2006).** Chemical composition and larvicidal activity of the essential oils

of *Cordia leucomalloides* and *Cordia curassavica* from the Northeast of Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 17, №5, pp. 1027-1030.

**Rhayour K. (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. *Thèse de doctorat*. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.

**Riccardo Amorati., Mario C. Foti., et Luca Valgimigli. (2013).** Antioxidant Activity of Essential Oils. Department of Chemistry “ G. Agric. Food Chem. 2013, 61, 10835 – 10847.

**Ruberto. G et Baratta. M.T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model system. *Food Chemistry*, 69, 167-174.

## S

**Salas. J. J., Bootello. M. A., Martinez-Force. E., Garces R. (2009).** Tropical vegetable fats and butters: properties and new alternatives”, *OCL*, 2009, 16, 254-258.

**Schwartzberg, H. G. (1997)** Expression of fluid from biological solids. *Separation & Purification Reviews*, 26, pp 1-213

**Singh. R., Muftah. A.M., Shushni., Belkheir. A. (2011).** Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Garyounis University, Benghazi, Libya. *Arabian journal of food chemistry (2011)*.

**Soares. J. R., Dinis. T. C. P., Cunha. A. P., et Almeida. L. M. (1997).** Antioxidant activity of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*, (26) : 469–478.

**Sweetie. R. K., Ramesh. C., Arun. S. (2007).** Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat. Food Technology Division, Bhabha Atomic Research Centre, Trombay, Mumbai 400 085, India. *Food Chemistry 100 (2007) 451–458*.

## T

**Thivilliers. F. (2007).** Gels d'émulsions à base d'huiles cristallisables : mécanismes de formation et propriétés rhéologiques. École doctorale des sciences chimiques, Université Bordeaux 1.

**Tyagi. V.K, et VASISHTHA. A. A. (1996).** Changes in the characteristics and composition of oils during deep-fat frying. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 73(4), 499-506.

## V

**Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*. 160: 1-40.

## W

**Wu. Z. Li. H., Yang.Y., Zhan Y., et Tu. D. (2013).** Variation in the components and antioxidant activity of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* essential oils at different stage of maturity. *Industrial Crops and Products*, 46, 311-316.

## Y

**Yang. S. A., Sang-Kyung. J., Eun-Jung. L., Chang-Hyun. S., In-Seon. L. (2010).** Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Natural Product Research* Vol. 24, No. 2, 20 January 2010, 140–151.

## Z

**ZhiBiao. Y., Yan. Y., YiZeng. L., Bao. Z. (2008).** In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new *Citrus* cultivar and its main flavonoids. *LWT* 41 (2008) 597 – 603.

# *Partie 1:*

*Synthèse bibliographique*

# *Partie 02 :*

*Partie pratique*

# *Introduction*

*Conclusion*

*Références  
bibliographiques*

*Matériels et  
méthodes*

# *Résultats et discussion*

*Les huiles  
végétales, huile  
essentielle et  
oxydation*

## Résumé

Le présent travail a pour objectif l'exploitation des huiles essentielles du citron, du girofle, de la menthe poivrée, de la mandarine et de l'orange douce et leur valorisation à travers leur activité antioxydante ainsi que leur utilisation comme agents naturels pour réduire l'oxydation et la conservation des huiles végétales. L'analyse des huiles essentielles est réalisée par CPG/SM. L'activité antioxydante est mise en évidence par l'activité scavenging des radicaux DPPH et ABTS ainsi que le pouvoir réducteur. L'analyse chimique des huiles essentielles a révélé la présence de 36 constituants chimiques pour la menthe poivrée dominé par le Menthol (43.35%), 23 constituants pour la mandarine, 20 constituants pour le citron et 16 constituants pour l'huile d'orange douce dominé par le Limonène avec des valeurs de 82.64%, 86.32 % et 98.77 % respectivement. Un suivi de la cinétique d'oxydation a été réalisé sur un mélange d'huile végétale additionné des cinq huiles essentielles à deux **concentration 100ppm et 900ppm**. L'évaluation de la stabilité oxydative est réalisée par le test de Schaal, les résultats obtenus ont montré que le mélange d'huiles végétales additionné des huiles essentielles était plus résistant que celui du témoin vis-à-vis de l'oxydation forcée. L'analyse du taux de solide par RMN n'a pas donné de différence significative entre le mélange à l'huile essentielle et le témoin.

**Mots clés :** Huile essentielle, Activité antioxydante, Caractérisation chimique, Oxydation, Taux de solide

## Abstract

The aim of this work is to exploit the essential oils of lemon, clove, peppermint, tangerine and sweet orange and their valorisation through their antioxidant activity as well as their use as natural agents to reduce the oxidation and the storage of vegetable oils. The analysis of essential oils is performed by GC / MS. The antioxidant activity is determined by the scavenging activity of the DPPH and ABTS radicals and the reducing power. Chemical analysis of essential oils revealed the presence of 36 chemical constituents for peppermint dominated by Menthol (43.35%), 23 constituents for mandarin, 20 constituents for lemon and 16 components for soft orange oil dominated by limonene (82.64%, 86.32% and 98.77%) respectively. A monitoring of the oxidation kinetics was carried out on a mixture of vegetable oil and the five essential oils **with two concentration 100ppm and 900ppm**. The evaluation of the oxidative stability is measured by the Schaal tests, the results obtained showed that the mixture of vegetable oils added to the essential oils was more resistant than the control with toward the forced oxidation. Analysis of the solid content by NMR showed no significant difference between the mixture with the essential oil and the control.

**Key words:** Essential oil, Antioxidant activity, Chemical characterization, Oxidation, Solid content