

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA-**

**FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINNAIRES ET BIOLOGIE**

**DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES**

Projet de fin d'études en vue de l'obtention  
du diplôme Master en science de la nature et de la vie

Spécialité : sciences alimentaires

***Essai de stabilisation de la matière grasse « huile de  
tournesol » par les polyphénols extraits des végétaux au  
cours de traitement thermique et en stockage***

Par M<sup>lle</sup> : **BOUZIT Zakia**

Devant le jury composé de :

BOUSBIA, N	MCB., U. S. D. Blida	Président
AMALOU, D	MCA., U.S. D. Blida	Examineur
ABDELAOUI, Z	MAB., U. S. D. Blida	Examinatrice
HADJ SADOK, T	MCB., U. S. D. Blida	Promoteur

**2011/2012**

## ***RESUME***

En raison de leur disponibilité et consommation vaste dans le monde le thé vert considéré comme une source très importante des antioxydants naturels, les polyphénols. Ces derniers sont aussi présents dans différents espèces végétales à différentes concentrations.

Dans cette étude, ces antioxydants sont extraits afin de les valoriser en tant qu'antioxydant naturel. Deux concentrations de 100ppm et 200ppm sont additionnées à une huile de tournesol, les échantillons sont mis sous des conditions de stockage à l'étuve (test accéléré 60°C) pendant 20 jours. L'altération de l'huile utilisée a été suivie par une détermination de l'indice de peroxyde et de l'acidité.

Les résultats obtenus ont montré que les huiles contenant des antioxydants ont subi une détérioration oxydative moins accentuée que celle du témoin (sans additifs).

L'ajout d'une 200ppm des polyphénols à l'huile de tournesol contribue à la meilleure stabilité oxydative d'après le traitement.

En revanche, l'acidité initiale des huiles contenant des polyphénols est supérieure à celle des huiles témoins qui diminue au cours de stockage en fonction de la quantité de polyphénols ajoutée.

**Mots-clés** : Huile de tournesol, polyphénols, antioxydants, thé vert, stabilité oxydative.

## ABSTRACT

In raison of its wide availability and consumption in the world, green tea considered as very important source of natural antioxidants, polyphenols. They are also present in various plant species with different concentrations.

In this study, these antioxidants are extracted in order to develop as a natural antioxidant. Two concentrations of 100ppm and 200ppm are added to sunflower oil. Samples are put under storage conditions in an oven (60 ° C accelerated test) for 20 days. The alteration of the oil used was followed by a determination of the peroxide value and acidity.

The results showed that oils containing antioxidants have undergone oxidative deterioration less pronounced than that of the control (without additives).

The addition of 200ppm polyphenols to sunflower oil contributes to the improved stability of oxidative after treatment.

However, the initial acidity of oils containing polyphenols is higher than that of control oil which decreases during storage depending on the added amount of polyphenols.

**Keywords:** sunflower oil, polyphenols, antioxidants, green tea, oxidative stability.

## ملخص

نظرا لتوفره و استهلاكه على نطاق واسع في العالم يعتبر الشاي الاخضر مصدر هام لمضادات الاكسدة الطبيعية البوليفينول. كما يتواجد هذا الاخير في مختلف الاوساط النباتية و بتركيز مختلفة.

في هذه الدراسة نقوم باستخلاص هذه المواد من اجل تطويرها واستعمالها كمضادات اكسدة طبيعية حيث نقوم بإضافة كميتين بتركيزين مختلفين من هذه المواد الى زيت دوار الشمس. توضع العينات في ظروف تخزين في الفرن في درجة حرارة 60 درجة مئوية لمدة 20 يوم.

نقوم بمراقبة و تتبع تبدل و تغير خصائص زيت دوار الشمس عن طريق حساب مؤشر الاكسدة و نسبة الحموضة.

النتائج المتحصل عليها تظهر ان الزيت التي تحتوي على مضادات الاكسدة تتعرض لنسبة تلف اقل من الزيت التي لا تحتوي على مضادات الاكسدة. حيث ان اضافة 200 من البوليفينول لزيت دوار الشمس تعطي احسن استقرار تأكسدي.

في حين ان نسبة حموضة الزيت الاولية التي تحوي البوليفينولات اكبر من حموضة الزيت التي لا تحتويها التي تنخفض اثناء التخزين و هذا يتوقف على كمية البوليفينول المضافة.

## الكلمات الدالة

زيت دوار الشمس. البوليفينولات. مضادات الاكسدة. الشاي الاخضر. الاستقرار التاكسدي

# ***REMERCIEMENTS***

*Avant toutes choses, on tient à remercier « ربي عز وجل » d'être notre dieu tout d'abord, et pour nous avoir donné la force, et surtout la patience afin de pouvoir réaliser ce mémoire.*

*Ce travail a été réalisé principalement entre laboratoire d'amélioration des plantes (université SAAD DAHLAB de BLIDA) et l'école nationale supérieure d'ELKOUBA.*

*Nos remerciement vont en particulier à :*

*Mr HADJ SADOK, T maître de conférences à l'université de Blida, pour avoir accepté à m'encadrer, pour m'avoir encouragé par ses précieux conseils.*

*Je tiens a remercié le membre de jury : Mr BOUSBIA d'avoir accepté de présider les jurys ; Mr AMALOU et Mme ABDELAOUI d'avoir accepté d'examiner mon travail.*

*On ne remerciera jamais assez Mme HAMZA, K maitre assistante à l'ENS pour la grande aide, sa générosité et sa gentillesse.*

*Aux personnels des laboratoires de département des sciences agronomiques université SAAD DAHLAB de BLIDA surtout ZAKIA, GHANIA et AMINA.*

# *Dédicace*

*Je dédie cet humble travail à ma plus belle source d'inspiration,*

*Le plus beau cadeau que le bon dieu m'a offert*

*Mes parents, que dieu leurs prêt santé,*

***A** mes sœurs, et mon adorable frère, **Yacine***

***A** mon fiancé **Mhamed***

***A** mon petit et très beau neveu **Abd Allah***

***A** ma grande mère*

***A** mes beaux frères **Mouloud** et **Ismail***

***A** mes amies et surtout : **Zakia**, **Salma**, **Aicha**, **Hakima**, **Nassima**  
et **Hanane***

***A** tout ma famille et surtout ma cousine **Fatima Zahra***

**Zakia...**

# *Table des matières*

**RESUME**

**REMERCIEMENTS ET DEDICACE**

**LISTES DES TABLEAUX ET FIGURES**

**INTRODUCTION.....1**

**ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **CHAPITRE I : *HUILE DE TOURNESOL***

<b>I.</b>	<i>Les lipides alimentaires.....</i>	<i>4</i>
1.	Classification des huiles et des graisses.....	4
2.	Caractéristiques de quelques huiles.....	4
3.	Composition chimique des huiles végétales.....	5
<b>II.</b>	<i>L'huile de tournesol.....</i>	<i>7</i>
1.	Généralité.....	7
2.	Classification botanique et caractéristiques.....	8
3.	Caractéristiques physicochimiques de l'huile de tournesol.....	10
4.	les domaines d'application de l'huile de tournesol.....	14
<b>III.</b>	<i>Technologie des huiles de tournesol.....</i>	<i>15</i>
1.	Traitement des graines.....	15
1.1.	Prétraitement des graines.....	15
1.2.	Extraction de l'huile.....	17
1.3.	Raffinage.....	18
2.	Conditionnement des huiles.....	22

## CHAPITRE II : *LE THE*

<i>I. Camellia sinensis « le théier »</i> .....	25
1. Historique.....	25
2. Production et consommation du thé.....	26
3. La culture du thé.....	27
4. Composition des feuilles de thé.....	28
<i>II. Les bienfaits du thé sur la santé</i> .....	32
1. Maladies cardiovasculaires.....	33
2. Prévention du cancer.....	33
3. Carie dentaire.....	33
4. Effets secondaires possibles.....	34

## CHAPITRE III : *LES POLYPHENOLS COMME DES ANTIOXYDANTS*

<i>I. Les polyphénols</i> .....	36
1. Présentation générale sur les polyphénols.....	36
2. Classification.....	38
3. Rôle des polyphénols chez les végétaux.....	44
4. Les polyphénols : des molécules aux atouts multiples.....	44
<i>II. Les Antioxydants</i> .....	47
1. Définition.....	47

2. Rôle.....	47
3. Mécanisme de défense .....	47
4. Les principaux antioxydants et leurs fonctions.....	48
4.1 Les antioxydants enzymatiques.....	48
4.2 Les antioxydants non enzymatiques.....	49
5. Consommation d'antioxydants et maladies chroniques.....	51

## ***ETUD EXPERIMENTAL***

### ***CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES***

<b><i>I.1-</i></b> support expérimental.....	53
I.1.1- Matières premières utilisées.....	53
I.1.2- Produits chimiques utilisés.....	53
<b><i>I.2-</i></b> Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	53
I.2.1. Extraction des polyphénols.....	53
I.2.2. Détermination du le rendement d'extraction.....	55
<b><i>I.3-</i></b> Dosage des composés phénoliques extractibles totaux.....	55
<b><i>I.4-</i></b> Analyse de l'huile.....	57
I.4.1- Mesure de l'indice de peroxyde.....	57
I.4.2- Mesure de l'acidité.....	59

### ***CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION***

<b><i>II.1.</i></b> extraction des composés phénoliques extractibles totaux .....	61
1.1 Rendements d'extraction.....	61
<b><i>1.2</i></b> Teneur en polyphénols.....	62
<b><i>II.2.</i></b> Analyse chimique.....	63
<b><i>2.1.</i></b> L'indice de Peroxyde.....	63

<b>2.2. L'Acidité.....</b>	<b>65</b>
----------------------------	-----------

<b>CONCLUSION.....</b>	<b>69</b>
------------------------	-----------

**ANNEXES**

**LISTE DES ABREVIATIONS**

**REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES**

## ***LISTE DES ABREVIATIONS***

AC : acide

ADN : acide désoxyribo- nucléique

ATP : adénosine tri phosphate

C: Catéchines

CAF : caféine

CAT: catalase

Cst : centistoke

EC : Épicatéchine

ECG : Épicatéchine gallate

EGC : Épigallocatechine

EGCG : Épigallocatechine gallate

EMHV : Diesel Ester ou Ester Méthylique d'Huiles Végétales

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FAO: Food and agriculture organisation

GAE : équivalent gramme d'acide gallique

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Glutathion oxydé disulfure

H<sub>2</sub>O : eau

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : peroxyde d'hydrogène

MS : matière sèche

NADP : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NaOH : hydroxyde de sodium

PP : polyphenols

ppm : partie par million

SOD : Superoxyde dismutase

TB : théobromine

TF : théaflavines

TP : théophylline

TR : théarubigines

tr : trace

TTP : protéine de transfert du tocophérol

URSS : *Union des républiques socialistes soviétiques*

UV : ultra violet

# ***LISTE DES TABLEAUX***

## **Etude bibliographique**

<b>Tableau 1</b> : Composition des acides gras dans quelques huiles végétales.....	5
<b>Tableau 2</b> : Teneurs en Tocophérol de quelques huiles végétales (mg / kg).....	6
<b>Tableau 3</b> : Composition des graines de tournesol (% MS).....	10
<b>Tableau 4</b> : Constantes physiques et chimiques de l'huile de tournesol.....	10
<b>Tableau 5</b> : composition en acides gras de l'huile de tournesol.....	11
<b>Tableau 6</b> : composition de l'insaponifiable de l'huile de tournesol.....	12
<b>Tableau 7</b> : Teneur en composés mineurs des huiles de tournesol.....	12
<b>Tableau 8</b> : principales différences entre le tournesol standard et oléique.....	13
<b>Tableau 9</b> : Nom usuel, abréviation, formule développée des principales catéchines du thé.....	29
<b>Tableau 10</b> : Concentration totale en éléments minéraux des feuilles de thé vert et thé noir.....	32
<b>Tableau 11</b> : Classement des fruits et légumes les plus riches en polyphénols.....	37
<b>Tableau 12</b> . Principales classes de composés phénoliques.....	38
<b>Tableau 13</b> : Représentation des groupes d'acides phénols dérivants de l'acide hydroxybenzoïque.....	39
<b>Tableau 14</b> : Représentation des groupes d'acide phénol dérivant de l'acide hydroxycinnamique.....	40
<b>Tableau 15</b> : Principales activités biologiques des composées phénoliques.....	45

## **Etude expérimental**

<b>Tableau1</b> : Répartition des échantillons de l'huile de tournesol.....	57
<b>Tableau 2</b> : le rendement d'extraction des composés phénolique de thé vert.....	61
<b>Tableau 3</b> : Teneur en composés phénoliques de thé vert.....	62

**Tableau 4** : Evolution de l'indice de peroxyde des échantillons d'huile de tournesol en fonction de la durée de stockage et de concentration en extraits phénoliques.....63

**Tableau 5** : Evolution de l'acidité des échantillons d'huile de tournesol en fonction de la durée de stockage et de la concentration en extraits phénoliques.....65

# ***LISTES DES FIGURES***

## **Etude bibliographique**

<b>Figure 1</b> : Formation de triglycéride.....	6
<b>Figure 2</b> : Part de différentes espèces dans la production mondiale des graines oléagineuses.....	8
<b>Figure 3</b> : Graine de tournesol et coupe longitudinal.....	9
<b>Figure 4</b> : Les presses à barreaux .....	17
<b>Figure 5</b> : Le raffinage caustique et le raffinage physique .....	19
<b>Figure 6</b> : Répartition des plantations de thé dans le monde .....	26
<b>Figure 7</b> : Répartition de la production mondiale en 2005.....	27
<b>Figure 8</b> : Structure de la caféine, la théobromine .....	31
<b>Figure 9</b> : Structure générale du noyau des flavonoïdes .....	41
<b>Figure 10</b> : Structures de quelques flavonoïdes .....	42
<b>Figure 11</b> : Structures de quelques tanins.....	42
<b>Figure 12</b> : Structures chimiques de quelques stilbènes.....	43

## **Etude expérimentale**

<b>Figure 1</b> : Diagramme d'extraction des polyphénols du thé à température ambiante.....	54
<b>Figure 2</b> : Evolution de l'indice de peroxyde IP de l'huile de tournesol lors du stockage à 60 °C.....	63
<b>Figure 3</b> : Evolution de l'acidité de l'huile de tournesol lors du stockage à 60 °C.....	66

---

**PREMIER PARTIE**  
**ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

---

## **Introduction :**

Les lipides sont des éléments essentiels de notre alimentation. Qu'ils soient appelés corps gras, matière grasses ou grasses, ils sont consommés à l'état naturel ou bien ils sont présents dans un aliment.

Les huiles alimentaires contiennent des matières grasses nécessaires pour maintenir l'organisme en bonne santé, fournir de l'énergie et apporter des nutriments essentiels. Elles jouent aussi un rôle important en rendant les aliments agréables au goût. Cependant, les graisses et les huiles soumises à l'oxydation perdent leurs valeurs nutritionnelles et se forment plusieurs produits d'oxydation nocifs (Billek, 2000, Ebrahimzadehet *al.*, 2008). Parmi ces huiles on peut citer l'huile de tournesol qui est une huile riche en acides gras poly-insaturés, et notamment en acide linoléique. A côté de l'huile de tournesol classique, l'huile issue des variétés de tournesol oléique est une source d'acide oléique. Ces deux huiles, riches en vitamine E, sont complémentaires et peuvent être utilisées en mélange et contribuer à répondre aux besoins de l'organisme. (FFHPV, 2002)

D'autre part, cette huile va subir une détérioration oxydative soit pendant le stockage ou bien au cours le chauffage (exemple : friture) entraînant le développement d'un gout et d'une odeur désagréables. La prévention de cette oxydation dépend essentiellement de la présence d'inhibiteur naturels qui sont les composés antioxydants qu'on les trouve dans différentes espèces végétale entre autre le thé vert qui est une source très importante des composés phénoliques simples (acides phénoliques, les catéchines...).

Alors, les polyphénols sont identifiés comme des antioxydants naturels de la famille des antioxydants phénoliques largement utilisés en agroalimentaire (Visioli, 1999).

Récemment, le consommateur tend à rejeter tous les additifs alimentaires y compris les antioxydants synthétiques qui sont suspectés d'effets toxiques, sensibilisants, allergènes et cancérogènes (Farak *et al.*, 2003). Néanmoins, il a une préférence pour tout ce qui est naturel (Bianco et Uccella, 2000). De ce fait, l'industrie agroalimentaire développe l'utilisation des antioxydants naturels et surtout leur incorporation dans les huiles (Mompon, 1998). A l'heure actuelle, les polyphénols capturent l'intérêt des chercheurs afin de trouver de nouvelles matières premières abondamment disponibles (Brenes *et al.*, 2002).

Le présent travail a pour objectif de stabiliser la qualité de l'huile de tournesol par les polyphénols comme antioxydants naturels extraits de thé vert.

---

**CHAPITRE I**  
***Généralité sur***  
***L'HUILE DE TOURNESOL***

---

## I. Les lipides alimentaires :

Ce sont des molécules biologiques insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques (éther, acétone...).

Les lipides forment un groupe assez hétérogène ayant en commun de comporter une chaîne carbonée aliphatique (chaîne formée de  $-CH_2-$ ). Les acides gras sont les éléments constitutifs de nombreux lipides.

Les principales classes de lipides sont des triglycérides (ester de glycérol et d'acide gras, ayant une fonction de réserve énergétique) et les phospholipides (constitué de glycérol lié à des acides gras et à une molécule phosphorylée, jouant un rôle structural dans les membranes biologiques. On inclut dans le groupe des lipides les caroténoïdes et les stéroïdes, en raison de leur solubilité dans les solvants organiques. (Mazoyer et *al.*, 2002).

Les lipides alimentaires comprennent les huiles et graisses d'origine végétale ou animale. Ils se trouvent principalement dans les graisses (huiles, graisses, beurre) et dans les aliments riches en matières grasses tels que les noix et graines oléagineuses, de nombreux fromages et produits de charcuterie. Les huiles et les graisses alimentaires sont préparées à partir de graines ou de fruits oléagineux, germes ou pépins de production végétale divers et de tissus adipeux d'animaux terrestres ou marins. On différencie généralement les huiles des graisses par leur point de fusion.

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 (Uzzan, 1984). Dans la catégorie des huiles, nous trouvons l'huile d'olive, de noix, d'arachide, de tournesol, de soja, de colza, de germes de maïs et de pépins de raisin.

### I.1. Classification des huiles et des graisses

Uzzan (1992) subdivise les huiles et les graisses alimentaires en plusieurs classes :

- **Huiles végétales fluides**: huile d'arachide, de colza, de germe de maïs, de tournesol, de soja, d'olive.
- **Huiles végétales concrètes (graisses)** : coprah (provenant de la noix de coco), huile de palme
- **Huiles et graisses d'origine animale** : (animaux terrestres) : saindoux (graisse de porc), suif (graisse de bœuf ou de mouton), huile de cheval et graisse d'oie.
- **Huiles et graisses d'animaux marins** : mammifères marins (baleine), et de poissons (sardine, hareng, etc.....).
- **Corps gras élaborés** : beurre et margarine.

### I.2. Caractéristiques de quelques huiles

Parmi les caractéristiques dépendant des acides gras contenus dans les lipides, nous citons selon Charles et Den (1997) :

- Huiles riches en acides gras saturés et en acide oléique telles que l'huile d'olive avec respectivement 14% et 81%,
- Huiles riches en acides poly-insaturés telles que l'huile de soja avec 58% dont 50 à 60% d'acide linoléique, 20 à 30% d'acide oléique et 5 à 9% d'acide linoléique, et l'huile de tournesol avec 64%,
- Huiles intermédiaires telles que l'huile de colza avec 33% de poly insaturés, 60% d'acide oléique et 7% d'acides saturés.

### I.3. Composition chimique des huiles végétales

Les huiles végétales sont principalement des esters d'acides gras et de glycérol, et sont ainsi insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques.

Les huiles végétales comestibles contiennent rarement des acides gras à chaînes ramifiées, ou avec un nombre impair de carbones, ou des acides gras insaturés dont le nombre de carbone est moins de seize ou plus de vingt atomes de carbone. Leur composition en triacylglycérols suivent généralement un modèle dans lequel les acides gras en position-2 de la molécule de glycérol sont insaturés avec de l'acide linoléique, étant plus favorisé que l'acide oléique et linoléique. Des acides gras saturés sont trouvés en position-2, uniquement quand il y a une concentration globale très élevée en acides gras saturés dans la graisse (Kiritsakis et Christie, 2000).

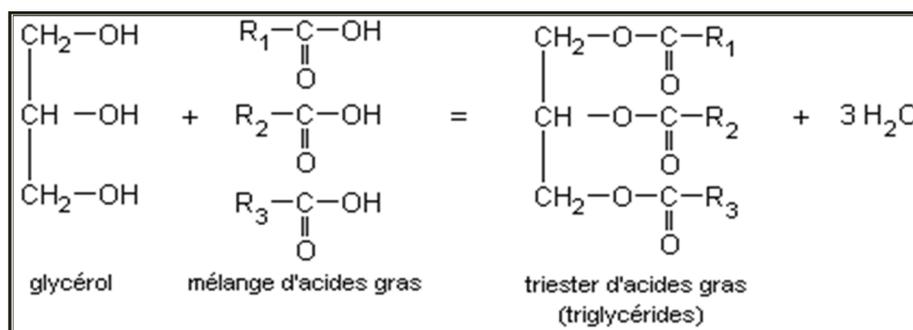
Le Tableau 1 montre la composition en acides gras de quelques huiles végétales.

**Tableau 1** : Composition en acides gras dans quelques huiles végétales (Harwood et Aparicio, 2000)

Acides Gras		Huile D'olive	Huile de colza	Huile de noix de coco	Huile de maïs	Huile de coton	Huile de tournesol
Acide myristique	C14:0	≤0,05	0,1-0,2	16,5-20,8	0-0,3	0,6-1,0	0-0,1
Acide palmitique	C16 :0	7,5-20,0	3,0 -5,0	8,2-10,2	9,1-16,8	21,0-26,8	5,5-7,7
Acide palmitoléique	C16 :1	0,3-3,5	0,2-0,6		0-0,3	0-1,3	0-0,3
Acide heptadécanoïque	C17 :0	≤0,3					
Acide heptadécénoïque	C17 :1	≤0,3					
Acide stéarique	C18 :0	0,5-5,0	1,0-2,0	2,3-3,4	1,4-3,0	2,0-3,3	2,8-6,5
Acide oléique	C18 :1	55,0-83,0	52,0-67,0	4,3-8,1	20,0-38,0	14,0-22,0	14,0-38,0
Acide linoléique	C18 :2	3,5-21,0	16,0-24,8	0,7-2,0	39,5-65,0	46,5-58,0	48,2-74,2
Acide linoléique	C18 :3	≤ 0,9	6,5-14,0	0-tr	0,6-1,4	0-0,4	0-0,1

Acide arachidique	C20 :0	≤ 0,6	0,2-0,8	0,1	0,3-0,7	0,2-0,5	0,2-0,4
Acide eicosénoïque	C20 :1	≤ 0,4	0,9-2,4	0-tr	0,2-0,4	0-0,1	0-0,2
Acide béhénique	C22 :0	≤ 0,2 0-	0,1-0,5		0,5	0-0,6	0,7-1,3
Acide lignocérique	C24 :0	≤ 0,2	0-0,2		0-0,3		0-0,4

Note : tr= trace



**Figure 1** : formation de triglycéride

Les huiles végétales constituent la meilleure source de vitamines, dont les formes les plus fréquemment rencontrées sont l' $\alpha$ - et le  $\gamma$ - tocophérols. L'huile de tournesol ne renferme que de l' $\alpha$  tocophérol qui est aussi la forme prédominante dans l'huile d'olive dont la teneur varie de 1,2 à 43 mg/100g (Kiritsakis et Markakis, 1987).

**Tableau 2** : Teneurs en Tocophérol de quelques huiles végétales (mg / kg)  
(Harwood et Aparicio, 2000)

Huiles	$\alpha$ Tocophérols	$\beta$ Tocophérols	$\gamma$ Tocophérols	$\delta$ Tocophérols	Totaux
colza	100 –400	0 – 150	180 –780	–	400 –2700
Noix de coco	0 –8	0 –11	0 –15	0 –44	0 –50
coton	130 –690	0 –37	140 –740	0 –30	380 –1500
Maïs	20 –600	0 –370	60 –2500	0 –250	300 –3810
palm	2 –190	0 –240	0 –500	2 –350	90 –1500
soja	10 –360	0 –50	90 –2400	–	560 –3400
tournesol	400 –1000	0 –60	0 –60	–	400 –1600
olive	63 –227	0 –2	5 –15	–	68 –244

## II. L'huile de tournesol :

### 1. Généralité :

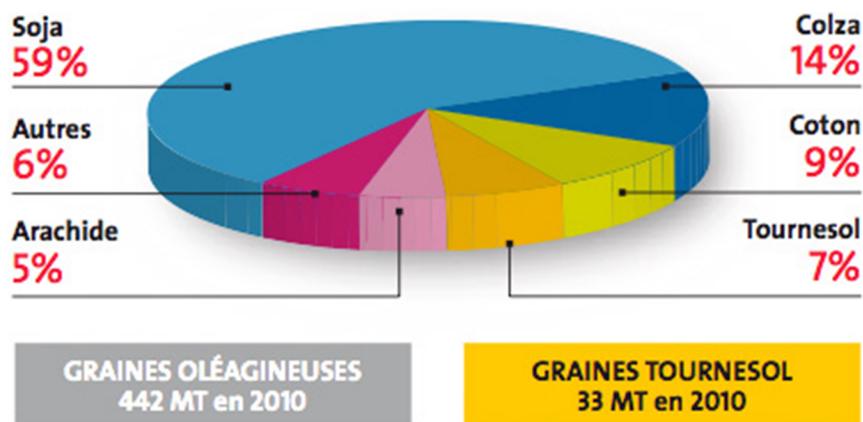
Le tournesol est une plante oléagineuse annuelle dont le nom scientifique est *Helianthus annuus* L. L'appellation tournesol provient de sa tendance à se tourner vers le soleil pendant la journée, alors que son nom scientifique fait référence à la forme caractéristique de son inflorescence composée, ou capitule : en grec *Helios* signifie soleil et *anthos* signifie fleur.

Le tournesol est sans doute l'une des plus anciennes espèces, endémique dans le sud de l'Amérique du Nord, dont les plus anciennes traces de culture, trouvées en Arizona, ont été datées à 3000 ans avant notre ère. Cultivé par les amérindiens à des fins alimentaires (graine crue ou farine), mais sans doute aussi à d'autres fins (médicinale, colorante, ...), le tournesol avait aussi une fonction ornementale et symbolique, lié à sa forme de soleil, comme en atteste les décorations de temples du soleil aztèques, au Pérou. C'est pour cette fonction ornementale que le tournesol a été introduit en Espagne au retour des explorateurs espagnols, au début du 16<sup>ème</sup> siècle (Campbell, 1983).

Devenue espèce florale commune dans les jardins espagnols, le tournesol est diffusé en France et dans toute l'Europe, initialement comme plante ornementale. Mais d'autres utilisations de cette plante géante, qui avait l'avantage de pousser très vite, ne tardent pas à apparaître : les feuilles pour l'alimentation du bétail, les pétales pour la teinture, les tiges pour le papier, et surtout les graines pour l'huile. La culture du tournesol, introduite par Pierre de grand en Russie à la fin du 16<sup>ème</sup> siècle, y prend une grande importance car pourvoyeur d'huile dont la consommation était autorisée même pendant la période du carême. Ce n'est cependant que plus de deux siècles plus tard que débutera en Russie la production industrielle d'huile de tournesol. A la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, le tournesol est une production agricole majeure en Russie, avec le développement de variétés adaptées localement. Réintroduit en Amérique du Nord, il y connaît un grand succès. En Europe, et particulièrement en France, il faudra attendre l'introduction des variétés précoces provenant de Russie en 1960 et les résultats des programmes de sélection pour l'amélioration des rendements de la précocité et de la résistance aux maladies pour voir le développement spectaculaire des surfaces cultivées.

Depuis 1973, la production mondiale de graines oléagineuses a progressé régulièrement. En 2008, elle atteint 400 millions de tonnes environ. La part de chacune des graines dans la production mondiale d'oléagineux reste assez stable au cours des années.

En 2008, le soja occupe toujours la première place avec 54% des graines produites, le coton 10%, l'arachide 6%, le tournesol 8% et le colza 15%.



**Figure 2 :** Part des différentes espèces dans la production mondiale des graines oléagineuses

## 2. Classification botanique et caractéristiques

**Règne :** *Plantae*.

**Classe :** *Magnoliopsida*.

**Ordre :** *Asterales*.

**Famille :** *Asteraceae*.

**Genre :** *Helianthus*.

**Nom scientifique :** *Helianthus annuus*.

Le genre *Helianthus* comporte d'autres espèces sauvages vivaces, dont :

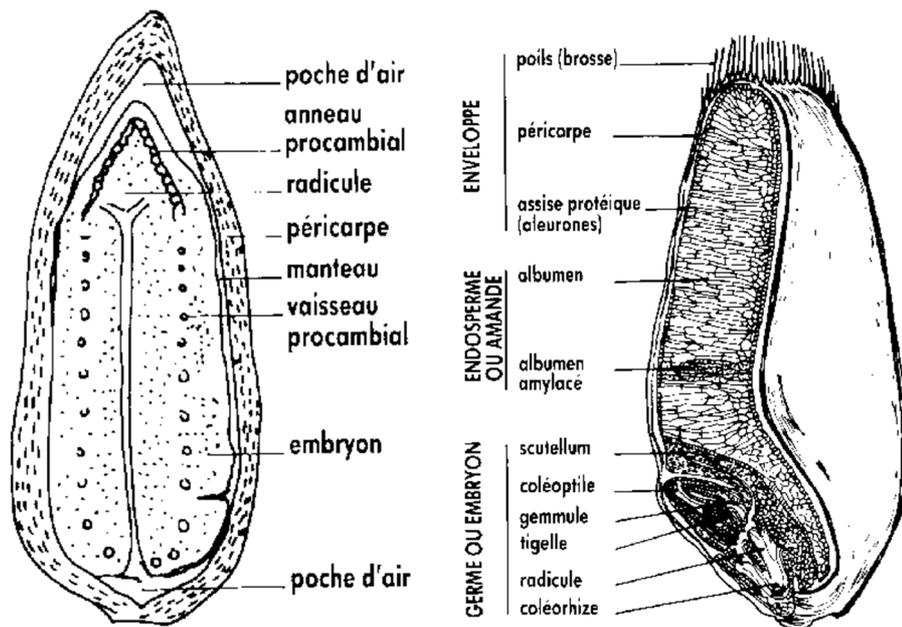
*H. niveus ssp. Canascens*, *H. Paradox*, *H. Petiolaris*, *H. Decapetus*, *H. Neglectus*, *H. Hirsutus*, *H. debilis*, *H. rigidus*, *H. praecox*, *H. giganteus*, *H. Argophyllu*, *H. Maximiliani*, *H. Bolanderi*, *H. grosseserratus*.

### a) Structure et composition de la graine

L'akène de tournesol, ce que nous nommons communément "graine", est généralement constitué d'une amande et d'une coque ou d'un péricarpe (Figure 3) (Karleskind, 1996). La dimension de cette graine varie selon variété de 7 à 25 mm de longueur et de 4 à 13 mm de largeur. Leur poids est compris entre 30 et 80 g pour 1000 graines.

Un akène entier contient :

- Une coque qui constitue 18 à 35% du poids total de la graine (Karleskind, 1996). Campbell (1983) rapporte que la proportion de coque dans la graine de tournesol riche en huile ( $\pm 23\%$ ) est plus faible que dans la graine pauvre en huile ( $\pm 43\%$ ). D'après Canibe *et al* (1999), la proportion est d'environ 230 g de coque par kg de graine.
- Une amande, qui est formée par une membrane diaphane, un endosperme et un embryon comprenant deux cotylédons, dont les cellules sont remplies des globules d'huile et de corpuscules protéiques. La graine de tournesol est ainsi essentiellement constituée de lipides, de protéines, d'une fraction ligno-cellulosique et de polysaccharides non cellulose (Canibe *et al.*, 1999)



**Figure 3 :** Graine de tournesol et coupe longitudinale (Karleskind, 1996)

**Tableau 3** : Composition des graines de tournesol (% MS)

Composés	Graines entières		Amandes		Coques		
Lipides	40-60	44-52	62.9-69.0	50-70	3.1-7.7	2.5-4.5	3-3.5
Protéines	13.5-25.5	15-19	43.4-50.4*	20-35	/	4.5-6.0	3-3.5
Ligno-cellulose	38-55	13-22	1.4-2.5	3-5	41.8-53.3	50-60	60-76.5
Polysaccharide non cellulosique	/	/	3.9-5.1	/	28.4-36.4	/	13-20
<b>Références</b>	Anonyme (1987)	Briffaud (1986)	Canibe <i>et al.</i> (1999)	Anonyme (1987)	Canibe <i>et al.</i> (1999)	Anonyme (1987)	Bazus (1991)

% MS : valeurs rapportées à la teneur en matière sèche de la graine

\*valeur rapportée à l'amande déshuilée partiellement

### 3. Caractéristiques physicochimiques de l'huile de tournesol

L'huile de tournesol est actuellement l'une des huiles la plus consommée dans le monde (environ 20 %) (Castera-Ressignol, 1981)

Elle présente un intérêt nutritionnel puisqu'elle apporte des éléments nutritifs indispensables que l'organisme humain ne peut synthétiser, notamment l'acide linoléique (62% à 70%) et les tocophérols. (Karleskind, 1992)

La teneur en huile de la graine de tournesol est de 35 à 50%. (Bourgeois, 1981)

Les principales propriétés physicochimiques de l'huile de tournesol sont fournies par le tableau 4 ci-dessous :

**Tableau 4** : Constantes physiques et chimiques de l'huile de tournesol

Poids spécifique à 25°C	0,915-0,919
Indice de réfraction à 25°C	1,472-1,474
Indice de saponification	188-195
Indice d'iode	120-135
Viscosité à 25°C	55-61 cst

(Boyeldieu, 1991)

### 3.1. Composition des huiles de tournesol standard

L'huile extraite du tournesol standard est principalement composée par des triglycérides (98 - 99%) et dans une faible proportion, de substance diverses regroupées sous le terme de « fraction insaponifiable » (tableau 5).

**Tableau 5** : composition en acides gras de l'huile de tournesol

Acide gras	nombre de carbones	%d'acide gras totaux
<b>Acides gras saturés</b>		
Acide lignocérique	C24	0,23
Acide béhénique	C22	0,89
Acide arachidique	C20	0,34
Acides stéarique	C18	4,75
Acide heptadécanoïque	C17	0,07
Acide palmitique	C16	6,2
	<b>Total</b>	<b>12,48</b>
<b>Acides gras insaturés</b>		
Acide gadoléique	C20 :1	0,15
Acide oléique	C18 :1	19,8
Acide linoléique	C18 :2	67,0
Acide linoléique	C18 :3	0,09
Acide heptadécanoïque	C17 :1	0,01
Acide palmitoléique	C16 :1	0,08
	<b>Total</b>	<b>87,13</b>

(Boyeldieu, J., 1991)

L'insaponifiable désigne l'ensemble des substances présentes dans l'huile à côté des corps gras. Elles représentent 1,6% de l'huile brute mais seulement 0,6 à 0,7% dans l'huile raffinée. Il s'agit de corps gras divers : cires, glucides, stérols, antioxydants. Deux fractions sont importantes : les stérols et les tocophérols (tableau 6)

Les premiers représentent chez le tournesol environ 400mg/100g de corps gras. Les seconds, sont des antioxydants et s'opposent au rancissement de l'huile. Chez le tournesol, la fraction la plus importante est représentée par l' $\alpha$ -tocophérol.

**Tableau 6 :** composition de l'insaponifiable de l'huile de tournesol

<b>Insaponifiable : 0,5 à 1,5%</b>			
<b>Teneur en stérol</b> (en mg/100g de corps gras)		<b>Teneur en tocophérols</b> (en mg/100g de corps gras)	
	325-515		44-120
Composition des stérols : (en % des stérols totaux)		composition des tocophérols : (en % des tocophérols totaux)	
Cholestérol	<4	α-tocophérol	91-97
Brassicastérol	0	β- tocophérol	3-6
Campestérol	8-11	γ- tocophérol	≤ 2
Stigmastérol	7-10	Δ- tocophérol	-
B sisostérol	58-64	Tocotriénol	-
Δ5 Avénastérol	2-7		
Δ7 Stigmastérol	9-14		
Δ7 Avénastérol	4-6		
Isofucostérol	0,4-1		
fucostérol	2-3		

(Karleskind, 1992)

**Tableau 7 :** Teneur en composés mineurs des huiles de tournesol

<b>Composés</b>	<b>Teneur totale dans les huiles</b>			
Phospholipides (mg/100 g)	500-1000	/	500-1000	1500
Composition : (% de totaux phospholipides)				
a. Phosphatidylcholines	52	/	/	49
b. Phosphatidylethanolamines	19.7	/	/	21
c. Phosphatidylinositols	26	/	/	28
d. Acides phosphatiques	2.2	/	/	2
Stérols (mg/100 g)	/	325-515	250-400	240-450
Tocophérols (mg/100 g)	68.19	44-120	50-80	/
Composition : (% de totaux tocophérols)				
a. α-tocophérols	62.26 <sup>a</sup>	91-97	10-15 <sup>a</sup>	48.7 <sup>a</sup>
b. β-tocophérols	/	3-6	0-7 <sup>a</sup>	/
c. γ-tocophérols	/	≤ 2	2-10 <sup>a</sup>	5.1 <sup>a</sup>
d. δ-tocophérols	/	/	0-4 <sup>a</sup>	0.8 <sup>a</sup>
Hydrocarbures (mg/100 g)	/	15-20	8-19	/

Cires (mg/100 g)	30-50	/	/	/
<b>Références</b>	<b>Campbell (1983)</b>	<b>Karleskind (1996)</b>	<b>Bockisch (1998)</b>	<b>Gunstone (2000)</b>

<sup>a</sup>  
en mg/100 g

### 3.2. Composition des huiles de tournesol oléique :

Alors que le tournesol standard est riche en acide linoléique, l'apparition de mutants, essentiellement riches en mono-insaturés (acide oléique) a été mentionnée pour la première fois en URSS dans les années 75.

La sélection a rapidement abouti à proposer du matériel génétique dont la graine contient plus de 50% d'acide oléique, riche en vitamine E et à bon équilibre avec les acides gras polyinsaturés.

Aujourd'hui, des hybrides de tournesol oléique (encore parfois appelés « oléisol ») sont proposés en culture.

Les principales différences entre les deux types de tournesol sont représentées au tableau 8 ci-dessus.

**Tableau 8 :** principales différences entre le tournesol standard et oléique.

	Tournesol standard	Tournesol oléique
	% d'acide gras totaux	
Acide palmitique C16 :0	7	3
Acide stéarique C18 :0	4	5
Acide linoléique C18 :2	70	9
Acide oléique C18 :1	16	83
Acide linoléique C18 :3	Traces	Traces

(Karleskind, 1992)

La caractéristique la plus frappante est l'inversion entre les teneurs en acide linoléique et acide oléique entre les deux types de tournesol.

Les conditions de fin de cycle (et notamment les conditions sèches, associées fréquemment à de fortes températures) entraînent une diminution globale de la teneur en huile. De même, l'équilibre en acide gras est soumis à des fluctuations dont les principales causes dans le cas du tournesol oléique sont :

*Causes génétiques* : toute pollution d'une parcelle de tournesol oléique par du pollen de tournesol standard entraîne une diminution de la teneur en acide oléique de la graine récoltée : ceci entraîne la nécessité de respecter un isolement suffisant entre les parcelles de tournesol des deux types.

*Causes environnementales* : il s'agit essentiellement de l'effet de la température. En conditions de températures basses durant la phase de maturité, on observera une diminution de la teneur en acide oléique, au profit de la teneur linoléique, on en déduit que la culture du tournesol oléique sera à réaliser préférentiellement en région à automne « chauds ».  
(Karleskind, 1992).

#### **4. les domaines d'application de l'huile de tournesol**

Le principal domaine d'application des huiles de tournesol est l'alimentation humaine, comme huile de salade, huile de cuisine (*cooking oil*) ou pour la fabrication de margarine (Campbell, 1983). Sa richesse en acide linoléique et sa flaveur assez neutre ont contribué à faire de l'huile de tournesol, une huile attrayante pour l'utilisation alimentaire. Dans les années 1980, elle a progressivement remplacé l'huile d'arachide. Les huiles de tournesol oléique ont plus récemment fait l'objet d'un intérêt croissant en raison de leur stabilité qui les rend plus propre à la cuisson. Par ailleurs, l'acide oléique possède des qualités nutritionnelles recherchées dans l'alimentation humaine et les huiles à haute teneur en acide oléique interviennent dans la formulation d'huile de table à base de mélange d'huiles.

Dans le domaine non alimentaire, la part d'utilisation des huiles de tournesol est faible. Cependant l'augmentation programmée ces prochaines années de la production de biocarburant (dit Diesel Ester ou Ester Méthylique d'Huiles Végétales EMHV) pourrait changer cette donnée, bien qu'elle ne concerne pas que le tournesol (Mittelbach, et Schober, 2003, Jewett, 2003).

### **III. Technologie des huiles de tournesol**

#### **1. Traitement des graines**

Généralement, les procédés de trituration de graines oléagineuses riches en huile incluent les étapes suivantes : la préparation et le nettoyage des graines, le décorticage, le broyage et l'aplatissage, la cuisson, la pression et l'extraction (Karleskind, 1996). Dans le cas de la graine de tournesol, plusieurs alternatives d'enchaînement de ces étapes sont décrites (Campbell, 1983)

##### **1.1 Préparation des graines**

Les graines de tournesol à la réception contiennent toujours des substances étrangères telle que : Le sable, pierres, traces des métaux, d'autre substances...

De telles impuretés devraient être éliminées avant l'extraction d'huile sinon elles pourront endommager l'installation. Malheureusement, il n'existe pas encore un équipement spécial qui pourra faire ce travail simultanément mais au contraire chaque traitement exige un type d'appareil spécifique.

La préparation des graines nécessite tous les traitements auxquels les graines soumettront pour obtenir les conditions optimums pour l'extraction de l'huile. Les traitements préalables à l'extraction comprennent les phases suivantes :

- Nettoyage,
- Séchage,
- Décorticage,
- Broyage,
- Cuisson.

##### **a. Nettoyage**

Le nettoyage complet de graine de tournesol se réalise en différentes étapes :

- **Prénettoyage.**

Des tamis rotatifs permettent de réaliser cette opération qui consiste à éliminer des grosses impuretés : cailloux, bâtonnets...

- **Séparation magnétique.**

L'opération se réalise à l'aide d'un aimant qui évite le passage des particules métalliques dans le circuit.

- **Epierreur.**

C'est l'appareil qui sépare au moyen d'une soufflerie les pierres et les graines de différentes dimensions.

- **Nettoyage finale.**

Les poussières et les coques vides sont éliminées par aspiration et un tri s'effectue entre les différentes tailles des graines.

### **b. Séchage.**

Normalement le séchage se fait à une humidité inférieure à 9% avant sa réception à l'usine, cette opération se réalise au moyen d'un sécheur en vue d'éliminer l'eau qui étant un élément favorisant les hydrolyses enzymatiques pourra dégénérer l'acidification des huiles jusqu'à l'autocombustion des graines.

### **c. Décorticage.**

Le décorticage est l'opération permettant de séparer l'amande de la coque. Cette opération a pour objectif de diminuer la friction et l'usure dans les presses, d'améliorer la qualité de l'huile et du tourteau, (Isobe *et al.*, 1992) et bien sûr d'augmenter le rendement de l'étape de pressage (Karleskind, 1996).

Dans le cas des graines de tournesol, la coque représente entre 20 et 30% du poids de la graine (Isobe *et al.*, 1992), et les techniques de décorticage ont fait l'objet de nombreuses études autour des années 1980. Il existe de nombreux types de décortiqueuse industriels (à friction, à percussion et percussion ménagée, centrifuge, pneumatiques) permettant l'élimination de 18 à 22% de coques par rapport à la graine. Selon Campbell (1983), la réduction de 1% de la teneur en coque dans les graines peut augmenter la capacité de pressage jusqu'à 2.5%. Cependant, le décorticage complet des graines peut entraîner une perte d'huile. Actuellement, une bonne opération de décorticage est considérée comme produisant des amandes contenant de 8 à 12% de coque, et des coques contenant 1.5% d'amande.

### **d. Broyage – laminage.**

Le broyage, réalisé dans un broyeur à marteau ou à cylindres cannelés, a pour objectif de réduire la dimension des graines. L'aplatissage est une opération de laminage, réalisée par écrasement entre des cylindres lisses, à une température de 40°C permettant d'augmenter la plasticité de la graine. Elle a pour objectif de régler la forme et les dimensions des particules en écailles d'épaisseur uniforme. Ainsi, les graines de tournesol décortiquées sont généralement broyées jusqu'à 0.35 mm afin de faciliter la rupture de la structure cellulaire et

la libération des huiles lors du pressage. Les tourteaux pressés sont aplatis jusqu'à une épaisseur de 0.2 à 0.3 mm pour faciliter l'extraction par un solvant. (Isobe *et al.*, 1992)

### **e. Cuisson.**

La cuisson est une étape de préparation des graines très importante pour l'efficacité de pressage et la qualité des huiles. Elle est menée dans des cuiseurs verticaux ou horizontaux continus, à température inférieure à 100°C. Elle permet de :

- stériliser les graines en détruisant les bactéries et les champignons,
- d'inactiver les enzymes susceptibles,
- d'affecter la qualité de l'huile et du tourteau,
- de coaguler les protéines membranaires,
- assurant ainsi la libération des gouttelettes lipidiques.

Le séchage, réalisé ensuite dans un sécheur séparé ou dans un compartiment spécifique du cuiseur, à plus haute température (environ 110°C) permet de déshydrater les graines broyées, aplaties et cuites jusqu'à des teneurs en eau propices au pressage (3% d'humidité). Cette opération contribue au durcissement de la structure et diminue la viscosité de l'huile. Elle est aussi favorable à l'étape d'extraction par un solvant après pressage.

## **1.2 Extraction de l'huile.**

L'extraction de l'huile peut se réaliser de deux façons :

### **1.2.1. Par pression.**

C'est une opération purement mécanique qui, en continu réalise la séparation de l'huile et du tourteau. Elle ne permet pas d'extraire la totalité des lipides contenus dans les cellules oléifères, un autre procédé est pratiqué, seul ou en complément, pour obtenir un déshuilage pratiquement complet des oléagineux. Elle est réalisée dans des presses à barreaux qui permettent l'extraction continue de l'huile. Ce type d'extraction est moins efficace que l'extraction au solvant mais nettement plus sécurisant quant à la sécurité alimentaire puisqu'elle fait appel à une action mécanique et non à des substances étrangères aux aliments (solvants organiques issus des produits pétroliers). Actuellement, les presses les plus utilisées sont les presses à barreaux à simple ou double vis.



**Figure 4** : les presses à barreaux

### **1.2.2. Par solvant**

Ce procédé consiste à effectuer une dissolution et en entrainement de la matière grasse par lavage du support à l'aide d'un solvant. Il fait appel à des solvants organiques apolaires. Le solvant le plus utilisé est l'hexane (une essence issue du pétrole) qui sera séparé de la matière grasse par distillation et d'autre part, une desolvantation de farine est effectuée avec recyclage du solvant évaporé. Cette méthode est la plus utilisée pour l'extraction des huiles végétales car elle permet de retirer plus d'huile que la méthode "pression"

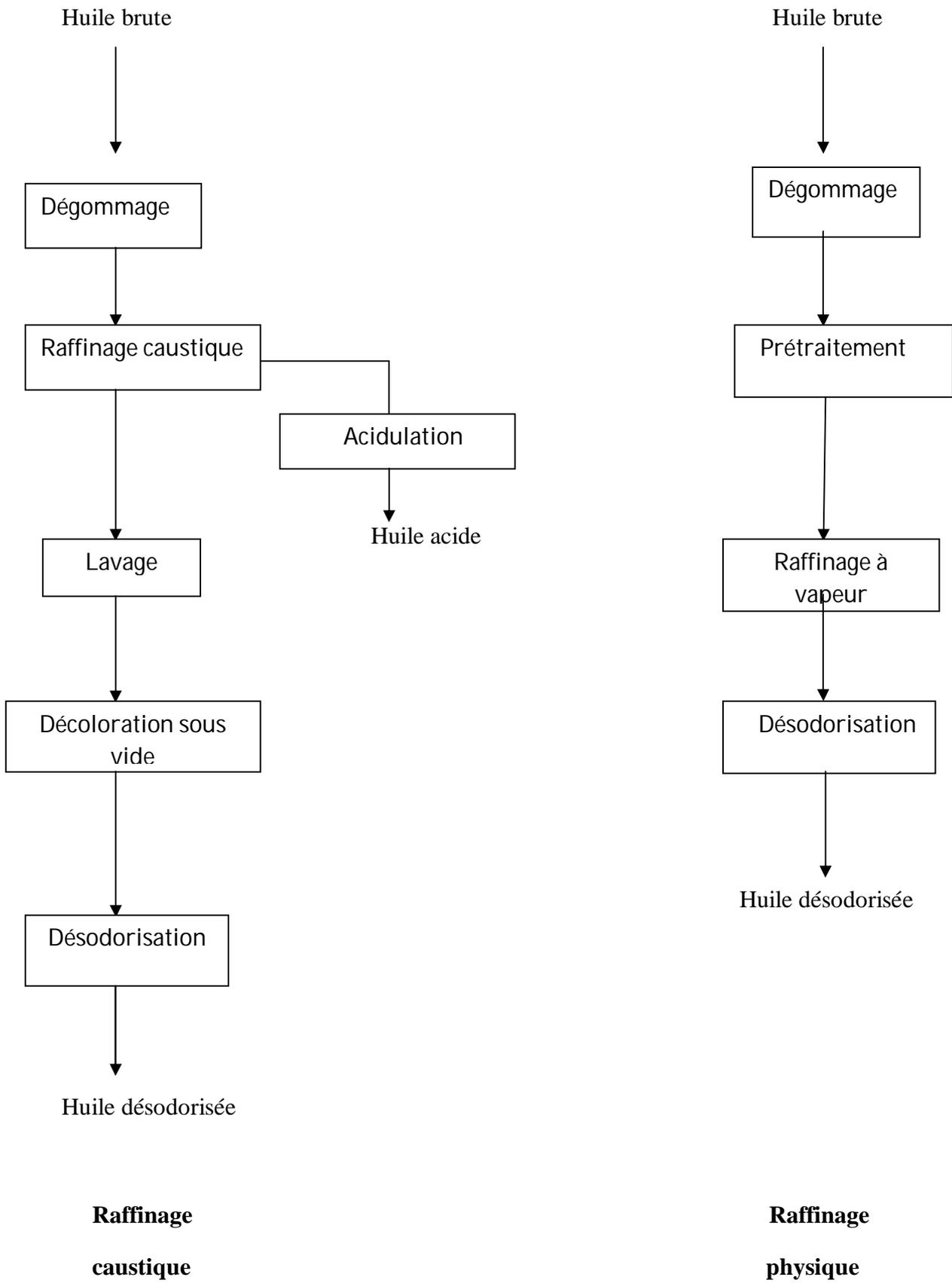
### **1.3. Raffinage.**

Plusieurs facteurs affectent la qualité et la stabilité de l'huile brute. Telles que :

- la qualité des huiles ou les substances contenues dans l'huile.
- Les conditions de stockage.

Pour éviter l'oxydation de l'huile brute et la décomposition des triglycérides et des phosphatides durant le stockage, il est recommandé d'éliminer au cours du raffinage les impuretés qui détériorent l'huile.

Actuellement les processus du raffinage utilisés sont le raffinage caustique et le raffinage physique (figure 4).



**Figure 5 :** Le raffinage caustique et le raffinage physique

### 1.3.1. Raffinage caustique.

Le raffinage caustique est un processus qui peut être adapté à différentes variétés d'huiles et graisse. Il élimine les gommages, neutralise les acides gras libres, réduit les traces de métaux, les pigments de couleur et certains produits d'oxydation présents dans l'huile brute. Cependant les différentes étapes du raffinage caustique sont représentées sur la figure 4.

#### 1.3.1.1. Dégommage ou démuléination.

Le démuléination est une opération importante qui vise à éliminer les mucilages, lesquels sont nuisibles tant au cours du raffinage que pour la conservation et l'utilisation de l'huile (Francois, 1974).

Ces mucilages sont en majeure partie des phospholipides ainsi que diverses matières colloïdales. (Cheptel, 1980).

Principalement, les méthodes du démuléination de l'huile pendant le démuléination comprend deux phases : la première est l'élimination des phosphatides non hydratés dans l'huile par l'application d'acide phosphorique ou citrique ou bien avec les agents qui formeront des complexes avec  $\text{Ca}^{++}$  et  $\text{Mg}^{++}$ , pour rendre capable leur précipitation sous forme des sels insolubles. La deuxième est l'hydratation des phosphatides par addition de 3% d'eau à 40-50°C.

#### 1.3.1.2. Neutralisation.

L'huile brute a tendance à s'acidifier au cours de sa conservation, ce qui contribue à augmenter son instabilité. Il convient donc de procéder à une neutralisation qui vise à éliminer par insolubilisation des acides gras libres indésirables dans l'huile finie. (Lessiur, 1991)

La neutralisation est une opération qui élimine les substances indésirables : Acidité, mucilage, traces métalliques, substances colorées et des composés d'oxydation. Les graisses et les huiles ne sont pas composées seulement des triglycérides, mais contiennent aussi des pourcentages plus ou moins élevés des acides gras libres. Le pourcentage d'acide oléique est fonction de l'acidité de l'huile.

La neutralisation se fait au moyen de bases comme la soude et selon la réaction suivante :



Les savons sont séparés de l'huile par centrifugation. Ils se déposent sous forme de pâtes appelées pâtes de neutralisation ou soapstock. (Francois, 1974)

Pour finir, on lave l'huile à l'eau afin d'éliminer les résidus d'alcali et de savon ainsi que certains pigments colorés et on la sèche sous vide à une température de 90 à 100°C.

### **1.3.1.3. Décoloration.**

Cette opération vise à éliminer les pigments colorés (chlorophylle, caroténoïdes) ainsi que les traces de métaux que la neutralisation n'a que très partiellement éliminé. (Denise, 1988)

La décoloration est une opération qui se réalise sur les graisses et huiles déshydratées. Elle se fait à l'aide de terre décolorantes ou de charbon actif. Le contact entre l'huile et la terre est maintenue environ 30 mn, à une température de 90°C sous vide. Les terres usées sont ensuite séparées de l'huile par filtration.

### **1.3.1.4. Désodorisation.**

Cette étape consiste essentiellement en un procédé de distillation à une température élevée (160 à 260°C) et sous vide (2 à 3mn d'Hg). Elle améliore la qualité organoleptique de l'huile et sa stabilité à l'oxydation en éliminant de manière très poussée les acides gras et les substances volatiles odorantes responsables du mauvais gout. (Faur, 1989).

## **1.3.2. Raffinage physique.**

C'est un procédé ancien qui date d'avant la première guerre mondiale. Le terme « raffinage physique » se réfère à la théorie de distillation (à la vapeur vive ou à l'azote) des acides gras libres, les composés d'ébullition et les triglycérides y compris la désodorisation pour l'élimination des composés volatiles à des hautes températures et sous vide élevé.

Afin d'éviter les problèmes de pollution provoqués par la condensation de vapeur contenant des matières grasses non condensables et les eaux de lavage de la neutralisation, pour combler aussi les pertes importantes par entrainement d'huile neutre dans les soapstocks et par saponification parasite, le raffinage physique a été mis au point pour éliminer le raffinage chimique.

De nos jours la technique a un usage répandu dans beaucoup de pays à cause de ces avantages économiques.

## **2. Conditionnement des huiles.**

L'huile doit être protégée des risques d'oxydation, d'élévation d'acidité et décontamination par les métaux (fer et cuivre), il convient donc de la conserver à l'abri de la lumière, de la chaleur, de l'oxygène et de l'humidité et cela en utilisant des emballages appropriés.

Actuellement, le conditionnement des corps gras tend vers la généralisation des bouteilles en plastique, lesquelles sont des polymères répondant aux critères suivants :

- Résistance mécanique à la chaleur et à la dissolution,
- Imperméabilité à l'eau et aux gaz,
- Stabilité et neutralité chimique,
- Protection contre la lumière.

### **2.1 Problèmes de conservation.**

#### **2.1.1. Facteurs d'altération :**

L'huile de tournesol s'oxyde rapidement vu sa teneur élevée en acides gras insaturés, cette oxydation est la cause principale de l'altération des constituants importants tels que la vitamine E et la dégradation des acides essentiels. Des précautions de conservation s'imposent en éliminant tout contact de l'huile avec :

- L'oxygène de l'air qui provoque l'oxydation des acides gras essentiels en produisant des aldéhydes, des cétones, et des hydrocarbures lesquels principales source d'odeur et de goût désagréable. (Cheftel, 1980)
- La chaleur qui augmente non seulement la vitesse d'apparition de produits d'altération mais favorise également la formation de composés potentiellement toxique. (Abdoune, 1995)
- La lumière qui provoque une altération photooxydative du à l'énergie photonique emmagasinée par la présence de photosensibilisateurs- catalysant l'antioxydation. (Smail, 1994)
- Les métaux catalyseurs actifs de l'oxydation des huiles (fer et cuivre) peuvent constituer un facteur d'instabilité notamment sur les tocophérols et les acides gras insaturés. (Smail, 1994)

#### **2.1.2. Oxydation des lipides.**

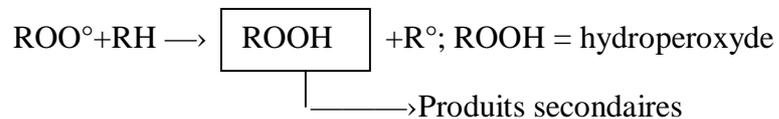
Les acides gras insaturés et poly-insaturés sont les principaux composés de l'huile à subir une oxydation formant ainsi des peroxydes lipidiques, d'autres composés tels que les vitamines A et E, les pigments (caroténoïdes) et certains hydrocarbures (squalène) sont sujet à une oxydation par l'oxygène de l'air.

D'après Cheftel (1980), le phénomène d'oxydation forme des composés volatiles d'odeurs désagréables limitant ainsi la durée de conservation de l'huile. L'oxydation est habituellement spontanée donc inévitable, initiée par les radicaux libres en présence de catalyseurs. Trois réactions successives caractérisent l'oxydation :

○ **Initiation**



○ **Propagation**



○ **Terminaison**



Sur la base de ces réactions, l'autoxydation de la matière grasse évolue en 3 périodes distinctes :

- la période d'induction où il y a formation d'hydroperoxydes stables, le goût de la matière grasse n'est pas altéré,
- la période d'oxydation active où la formation des hydroperoxydes est accélérée,
- la période d'accélération des réactions secondaires. L'absorption de l'oxygène est rapide sans qu'il y ait augmentation de l'indice de peroxyde, le goût de la matière grasse est fortement altéré.

Ces 3 périodes sont influencées par les facteurs prooxygènes (lumière, température, traces de métaux,...) et antioxygènes (BHA ou butylhydroxyanisole –E 320-, BHT ou butylhydroxytoluène – E 321- , polyphénols, tocophérols,...).

---

***CHAPITRE II***  
***LE THE***

---

# LE THÉ

Le thé vert, découvert par les Chinois il ya de cela environ 5 000 ans, a longtemps été exclusivement considéré comme un remède. On lui attribuait le pouvoir de détoxifier l'organisme, de délasser les membres et d'éclaircir l'esprit. Ce n'est que bien plus tard qu'on commença à le boire pour le simple plaisir. Ces dernières décennies, de nombreuses études ont été réalisées sur l'action du thé vert et l'on s'est aperçu que celui-ci avait davantage d'effets bénéfiques sur la santé qu'on l'avait cru jusque-là. Il a notamment été prouvé qu'il agit sur le cœur, les vaisseaux sanguins, la digestion et le système immunitaire. (Schwarz et Schweppe, 2008)

## *I. Camellia sinensis « le théier »*

### I.1 Historique

Les infusions ou liqueurs de thé représentent la boisson préparée à partir des feuilles du théier, *Camellia sinensis*. L'histoire de cette boisson remonterait, selon la légende chinoise, à 3 000 ans avant Jésus-Christ. Par contre, elle n'est apparue en Europe qu'au XVIIème siècle par la voie maritime mise en place par les Hollandais. Depuis, sa consommation n'a cessé d'augmenter pour devenir, de nos jours, la seconde boisson la plus consommée au monde après l'eau plate.

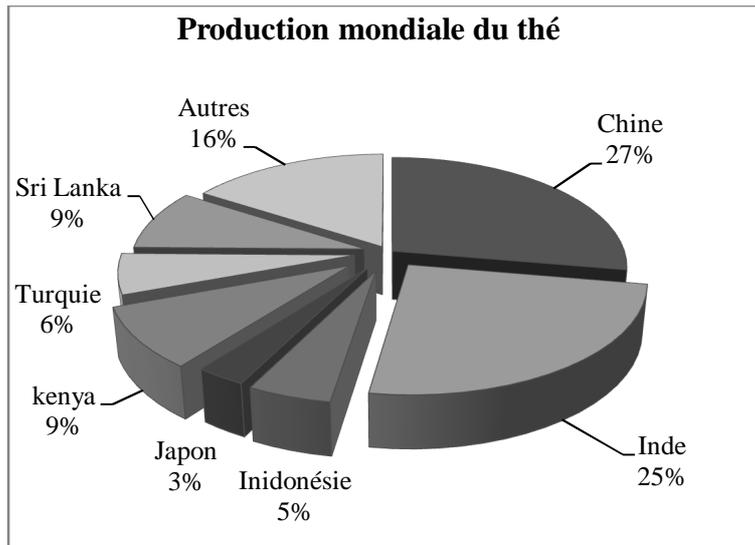
En Chine, Le thé vert est le thé le plus consommé. En Europe, même si la consommation de thés verts est en forte augmentation suite aux nombreuses publications reprises dans les médias vantant leurs propriétés bénéfiques pour la santé, le thé noir est encore le plus apprécié.



**Figure 6** : Répartition des plantations de thé dans le monde. (Mariage, 1992)

## I.2. Production et consommation du thé

Actuellement, le thé est la boisson la plus consommée dans le monde. La production mondiale a atteint 3 459 000 tonnes en 2005 (FAO, 2007), répartie principalement entre la Chine et l'Inde (Figure 6). Ces deux pays sont aussi les premiers pays consommateurs ce qui rend le marché du thé assez singulier. En effet, le plus grand pays exportateur est le Kenya, 3ème pays producteur avec seulement 9 % de la production mondiale. Par ailleurs, les pays producteurs consomment en moyenne moins de thé par an et par habitant que les pays importateurs. En France, la consommation moyenne n'est que de 0,250 kg par an et par habitant mais est en constante augmentation depuis une dizaine d'années.



**Figure 7** : Répartition de la production mondiale en 2005  
(FAO, 2007).

### I.3. La culture du thé

#### I.3.1 Le théier

Le théier ou *Camellia (L.) O. Kuntze* (espèce) appartient au genre *Camellia L.* de la famille des *theaceae* de l'ordre des *Theales*. Il existe deux variétés principales, la variété *sinensis* (de Chine) utilisée plus particulièrement pour la production de thés verts avec des feuilles petites et vert olive et la variété *assamica* (d'Assam) utilisée pour les thés noirs à la pousse large, claire et charnue. Le théier est un arbre à feuilles persistantes pouvant atteindre 10 à 15 m voire 30 m pour des arbres plusieurs fois centenaires (Delmas et Minet, 2007).

#### I.3.2 Thé vert ou thé noir ?

Avant d'aborder la question des différents thés verts et leur mode de préparation respectifs, il convient de dire quelques mots de la distinction entre les deux principaux types de thé, le thé noir et le thé vert. La différence entre le thé vert et le thé noir, qui proviennent les deux de la même plante, réside dans le procédé de fabrication :

- Pour le thé vert, les jeunes feuilles fraîchement cueillies sont directement passées à la vapeur, roulées puis séchées. Elles conservent ainsi leur couleur verte.
- Pour le thé noir, les feuilles subissent d'abord une fermentation, ce processus provoque une modification de la composition chimique de la feuille de thé. Sa teneur en tanins diminue et la théine, en partie libre, est plus active et plus vite absorbée par l'organisme, raison pour laquelle le thé noir excite davantage que le thé vert.

## I.4 Composition des feuilles de thé

### I.4.1 Les composés organiques majeurs

Les feuilles de thé fraîches contiennent en règle générale 36 % de composés polyphénoliques, 25 % de glucides, 15 % de protéines, 6,5 % de lignines, 4 % d'acides aminés, 2 % de lipides, 1,5 % d'acides organiques, 0,5 % de chlorophylles et de caroténoïdes et enfin moins de 0,1 % de substances volatiles (Luczaj et Skrzydlewska, 2005) ainsi que des éléments minéraux environ 3 %. Les éléments constitutifs de la paroi cellulaire représentent environ 45 % de la matière sèche des feuilles de thé. (Selvendran et Perera, 2007)

### I.4.2 Les composés de la paroi cellulaire

La paroi cellulaire joue un rôle essentiel dans le contrôle des échanges entre l'eau et les feuilles. Les éléments constitutifs de la paroi cellulaire sont majoritairement des polysaccharides (celluloses, hémicelluloses, substances pectiques) ainsi que des protéines constituées d'acides aminés tels que la glycine, la lysine et la thréonine entre autres. (Jöbstl et *al.*, 2005)

### I.4.3 Les autres composés organiques

En plus des composés de la paroi, les feuilles de thé contiennent différentes familles de composés organiques dont les principaux sont les polyphénols (environ 30 % de la matière

sèche) et les alcaloïdes. La teneur en chacun de ces composés dépend de paramètres comme la variété de théier, les conditions de cultures et le procédé de manufacture.

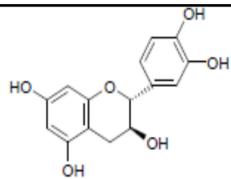
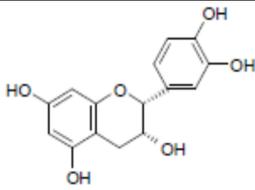
➤ *Les polyphénols*

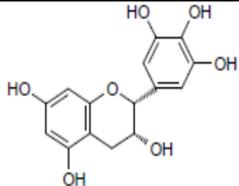
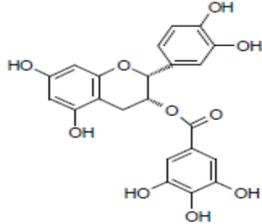
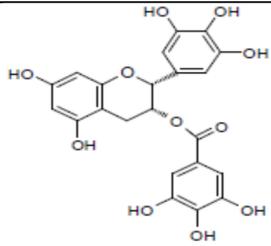
**Les flavan-3-ols**

Les feuilles du thé représentent une riche source des polyphénols extractibles, et spécialement les flavan-3-ols, qui regroupent les majeures formes des catéchines (Yamanishi et Kobayashi, 1999, Zeeb et *al.*, 2000). Les principales catéchines du thé sont reportées dans le Tableau 9.

Dans le thé vert, les catéchines représentent plus de 85% des polyphénols totaux, (Astill et *al.*, 2001, Yao, 2005 ) environ 30 % de la matière sèche des feuilles fraîchement cueillies, 10 à 25 % des feuilles de thé vert et 8 à 21 % des feuilles de thé noir (Zhu, 1997). A base fraîche, le thé contient 04–140 mg/g avec une extrême variabilité entre espèces, marques, zones et saisons de récolte. Les EGCG prédominent dans le thé vert avec des teneurs allant de 07 à 74 mg/g, suivis par les EGC : 0–55 mg/g, les ECG (1–41 mg/g), les EC : 0,1–17 mg/g, et enfin les catéchine : 0–8 mg/g. (Friedman, 2005, Sakakibara, 2003)

**Tableau 9** : Nom usuel, abréviation, formule développée des principales catéchines du thé (Kennedy et *al.*, 1984, Jovanovic et *al.*, 1995)

Nom	Abréviation	Formule développée
Catéchines	C	
Épicatéchine	EC	

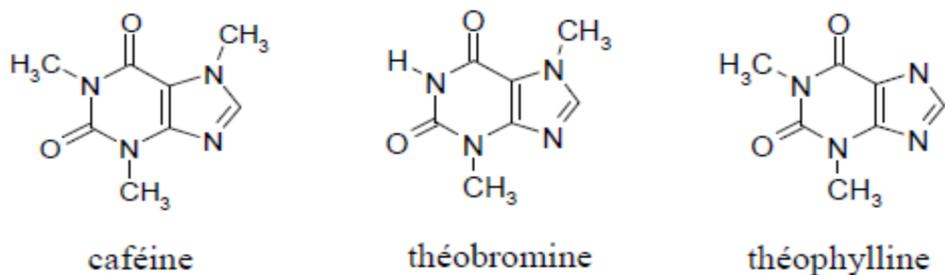
Épigallocatechine	EGC	
Épicatéchine gallate	ECG	
Épigallocatechine gallate	EGCG	

### **Les composés issus de l'oxydation des flavan-3-ols**

Lors de la phase d'oxydation, les catéchines incolores, principalement l'EGC, l'EGCG et l'ECG (Muthumani et Kumar, 2006), sont oxydées par les enzymes polyphénoloxydases et peroxydases pour former différents composés dont les plus connus sont les théaflavines (TF) et les théarubigines (TR) qui représentent respectivement jusqu'à 2 % et 20 % de la matière sèche des feuilles de thé noir (Haslam, 1998). Les quantités d'acide gallique et de catéchine semblent rester constantes durant cette phase car les réactions de dégallatation en produisent à partir de l'EGCG, l'ECG et l'EGC (Muthumani et Kumar, 2006).

### **Les alcaloïdes**

Les alcaloïdes ou méthylxanthines appartenant au groupe de la purine présents dans les feuilles de thé sont la caféine (CAF), la théobromine (TB) et la théophylline (TP) (Moreau, 1967). La caféine découverte en 1819 et la théine découverte en 1837 ont été identifiées comme étant une seule et même molécule en 1838. La caféine représente entre 2 et 5 % de la matière sèche des feuilles de thé ; la théobromine entre 0,05 et 0,5 % et la théophylline est souvent inférieure à 0,5 %.



**Figure 8** : Structure de la caféine, la théobromine (Del Rio et *al.*, 2004) et la théophylline (Zhu et *al.*, 2004)

➤ ***Les composés volatils et les anions organiques***

Les feuilles de thé contiennent également des composés volatils aromatiques. L'étude de ces derniers a commencé il y a 60 ans avec l'identification du linalol, du géraniol et du (Z)-3-hexénol comme composés présents dans la fraction volatile des feuilles ou des liqueurs (Yamanishi et Kobayashi, 1999). Depuis, de nombreuses études ont permis de porter à plus de 600 le nombre de composés volatils identifiés (Shimoda et *al.*, 1995, Schuh et Schierberle, 2006). Les feuilles de thé contiennent également des anions organiques simples comme les formiates, acétates et oxalates (Spiro et Lam, 1995).

➤ ***Les composés minéraux***

L'analyse de feuilles de thé d'origine diverses a montré la présence d'un minimum de quarante éléments minéraux différents dont les ordres de grandeurs des concentrations varient du nanogramme au milligramme par gramme de matière sèche. (Odegard et Lund, 1997, Matsuura et *al.*, 2001) Les teneurs moyennes des feuilles en ces éléments sont reportées dans le tableau suivant :

**Tableau 10** : Concentration totale en éléments minéraux des feuilles de thé vert et thé noir  
(Odegard et Lund, 1997)

Eléments	Concentration (mg.g <sup>-1</sup> )	
	Thé vert	Thé noir
K	/	17±1
Ca	4,5±0,2	4,6±0,1
Mg	2,28±0,02	2,07±0,03
Al	0,90±0,01	0,81±0,06
Mn	0,73±0,02	0,5±0,01
Fe	0,13±0,01	0,13±0,01
Na	/	37±4
Zn	28±2	36,6±0,7
Cu	19±1	27,7±0,7
Ni	6±1	8,1±02

## II. Les bienfaits du thé sur la santé

A l'origine, le thé vert n'était pas considéré comme une boisson d'agrément, mais plutôt comme un remède. On lui attribuait le pouvoir de soigner différentes affections, comme les maux de tête, l'apathie ou la baisse d'acuité visuelle. Dans l'antiquité, les chinois disaient de lui qu'il stimulait la circulation, purifiait le corps, faisait briller les yeux, délassait les membres et éclaircissait l'esprit (Schwarz et Schweppe, 2008).

Les recherches récentes démontrent, entre autres, qu'il permet d'améliorer temporairement les fonctions cognitives, qu'il pourrait prévenir les maladies cardiovasculaires, l'incidence de certains cancers et la carie dentaire (Durlach, 1998, Nakachi et al., 2000). Ce sont principalement ses catéchines qui, grâce à leur effet antioxydant, seraient responsables de ses propriétés (Hamilton-Miller, 2001).

## II.1 Maladies cardiovasculaires

Les résultats de certaines recherches indiquent que le thé pourrait aider à prévenir les maladies cardiovasculaires. Ainsi les auteurs d'une étude cas-témoins désirant observer le lien entre la consommation de café, de café décaféiné et de thé et les risques d'infarctus du myocarde, ont trouvé que seule la consommation de thé était associée à une réduction des risques de crises cardiaques (Sesso, 1999). Une étude prospective auprès de 8 552 japonais, montre que les risques relatifs de mort par maladies cardiovasculaires diminuaient avec la consommation de plus de 10 tasses de thé vert par jour. (Nakachi, et *al.*, 2000) Une étude transversale, auprès de 1 341 hommes japonais âgés de 40 ans et plus, montre que la consommation de 10 tasses et plus de thé vert par jour était associée avec une diminution du cholestérol total, des triglycérides et de l'index athérogène (Imai et Nakachi, 1995).

## II.2 Prévention du cancer

Les résultats de nombreuses recherches en laboratoire révèlent que les antioxydants polyphénoliques du thé protègent du cancer (Mukhtar et Ahmad, 1999). Les études épidémiologiques, quoique peu probantes, suggèrent aussi que la consommation de thé est associée avec une diminution du risque de cancer. Une analyse des études de cohortes publiées jusqu'en 1997 n'a pas réussi à démontrer que le thé avait un effet protecteur sur l'incidence du cancer en général (Kohlmeier et *al.*, 1997). Tout de même, quelques études suggèrent que le thé aurait un effet protecteur sur le cancer (Nakachi et *al.*, 2000, Kohlmeier et *al.*, 1997). Il apparaît que les gros buveurs de thé (10 tasses ou plus par jour) sont davantage protégés du cancer que les personnes qui boivent peu ou pas de thé (trois tasses ou moins). La plupart des travaux ont été faits sur le thé vert donc, il reste à déterminer si ces résultats peuvent aussi s'appliquer au thé noir.

## II.3 Carie dentaire

Des expériences en laboratoire indiquent que les catéchines du thé vert et du thé noir pourraient avoir des propriétés anti-caries. Quelques recherches cliniques chez l'humain suggèrent, que la consommation régulière de thé pourrait réduire l'incidence et la sévérité des

caries (Hamilton-Miller, 2001). Les catéchines du thé agiraient en ayant un effet bactéricide direct, en prévenant l'adhérence des bactéries sur les dents et en inhibant certaines enzymes salivaires.

#### II.4 Effets secondaires possibles

Le thé peut être consommé pour les bénéfices de ses antioxydants mais il ne faut pas oublier qu'il contient aussi de la caféine. Ainsi donc, consommé en grande quantité, le thé (et sa caféine) peut causer des effets indésirables comme l'irritabilité, la nervosité, l'insomnie, un effet diurétique, une altération du rythme cardiaque ou des désordres gastro-intestinaux (ex. : reflux gastrb-oesophagien). (Nawrot, 2003).

---

**CHAPITRE III**  
***Les PolyPhénols :  
des antioxydants  
naturels***

---

# I. Les polyphénols

## 1- Présentation générale sur les polyphénols

Avec environ 8000 structures naturelles élucidées à ce jour ; Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues de faible poids moléculaire dans le règne végétal (Akowah et *al*, 2004). On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production. (Fleuriet, 1982, Yusuf, 2006)

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles (Bloor, 2001). Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique.

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière.

### 1.1- Localisation des polyphénols au niveau cellulaire et tissulaire:

Une bonne reconnaissance de la localisation des composés phénoliques dans les différents tissus et organes végétaux est souvent essentielle pour orienter l'utilisation que l'homme souhaite en faire.

A l'échelle cellulaire, la localisation de ces composés est très caractéristique. Ils s'accumulent principalement dans deux sites : d'une part la paroi cellulaire où sont présentes les lignines et la vacuole ; les flavonoïdes (quercétine, kamphérol) pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique mais toujours à très faible concentration.

A l'échelle tissulaire, on observe également des répartitions très inégales des différents composés phénoliques. Ainsi les anthocyanes et les pigments de type flavonols sont généralement présents dans les couches cellulaires externes des organes végétaux en particulier les épidermes de fruits et des feuilles. (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

## 1.2-Répartition au niveau des fruits et légumes:

Plusieurs milliers de polyphénols ont été identifiés chez les plantes dont plusieurs centaines dans les plantes comestibles. Il est généralement admis que les humains ingèrent environ 1 gramme de polyphenols par jour (Akowah et al, 2004).

**Tableau 11** : Classement des fruits et légumes les plus riches en polyphénols :  
( Brad et al., 2008 )

	Fruits et légumes	PP totaux (mg GAE/100 g)
01	Artichaut	321.3
02	Persil	280.2
03	Fraise	263.8
04	Choux de Bruxelles	257.1
05	Litchi	222.3
06	Raisin	195.5
07	Abricot	179.8
08	Pomme	179.1
09	Echalote	104.1
10	Datte	99.3
11	Brocoli	98.9
12	Cerise	94.3
13	Figue	92.5
14	Céleri	84.7
15	Oignon	76.1
16	Nectarine blanche	72.7
17	Fruit de passion	71.8
18	Poire	69.2
19	Mangue	68.1
20	Aubergine	65.6

Les polyphénols sont particulièrement abondants dans les fruits. Leur teneur peut atteindre 263.8 mg GAE / 100 g dans certains fruits comme les fraises, les pommes, les raisins.

Les légumes contiennent aussi des quantités importantes de PP. le champion toute catégories est l'artichaut avec une concentration de 321.3 mg GAE / 100 g.

Parmi les 20 premiers fruits et légumes les plus riches en polyphénols. 60 % représentent les fruits et le reste des 40 % est représenté par les légumes

## 2-Classification

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes (tableau 12) qui se différencient d'abord pour la complexité du squelette de base (allant d'un simple C<sub>6</sub> à des formes très polymérisées), ensuite par le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...), en fin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques...).( Macheix, 2006)

**Tableau 12.** Principales classes de composés phénoliques

Classe	Squelette carbonée	Exemple
Acides phénoliques	C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Acide gallique, ac. Tannique, ac. vanillique
Acides hydroxycinnamiques	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Ac. férulique, ac. caféique, Ac. p-coumarique
Coumarines, Isocoumarines	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Scopolétine, esculétine, umbélliférone.
Stiblenes	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	
Anthraquinones	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Resveratrol
Flavonoïdes	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> (C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Kaempférol, quercétine, Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine, Naringénine, Daidzéine
Lignanes, neolignanes	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Pinorésinol

---

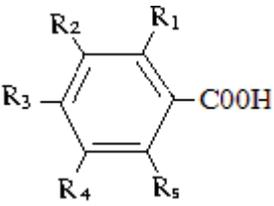
Lignines	$(C_6-C_3)_n$
Tanins	$(C_{15})$

---

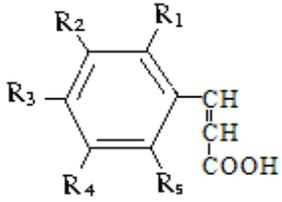
## 2.1 Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement répandus chez les plantes. Ils dérivent principalement de l'acide benzoïque et l'acide cinnamique. (Dacosta, 2003)

**Tableau 13** : Représentation des groupes d'acides phénols dérivants de l'acide hydroxybenzoïque. (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Structure	R1	R2	R3	R4	R5	Dénomination
	H	H	H	H	H	Ac. benzoïque /non phénolique
	H	H	OH	H	H	Ac. P-hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	H	Ac. protocatéchique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	Ac. vanillique
	H	OH	OH	OH	H	Ac. Gallique

**Tableau 14** : Représentation des groupes d'acide phénol dérivant de l'acide hydroxycinnamique ( Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Structure	R1	R2	R3	R4	R5	Dénomination
	H	H	H	H	H	Ac. Cinnamique /non phénolique
	H	H	OH	H	H	Ac. P-coumarique
	H	OH	OH	H	H	Ac. Caféique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	Ac. Férulique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Ac. Sinapique

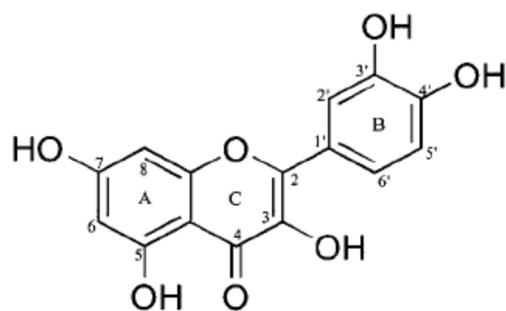
La liste des acides phénoliques présents dans les plantes ne s'arrête pas là, nous tenons à mentionner en particulier : l'acide méthylgallique, l'acide chlorogénique et l'acide rosmarinique.

Les acides phénoliques comportent un radical COOH. Ils se trouvent souvent sous la forme de glycosides ou d'esters.

## 2.2 Les flavonoïdes

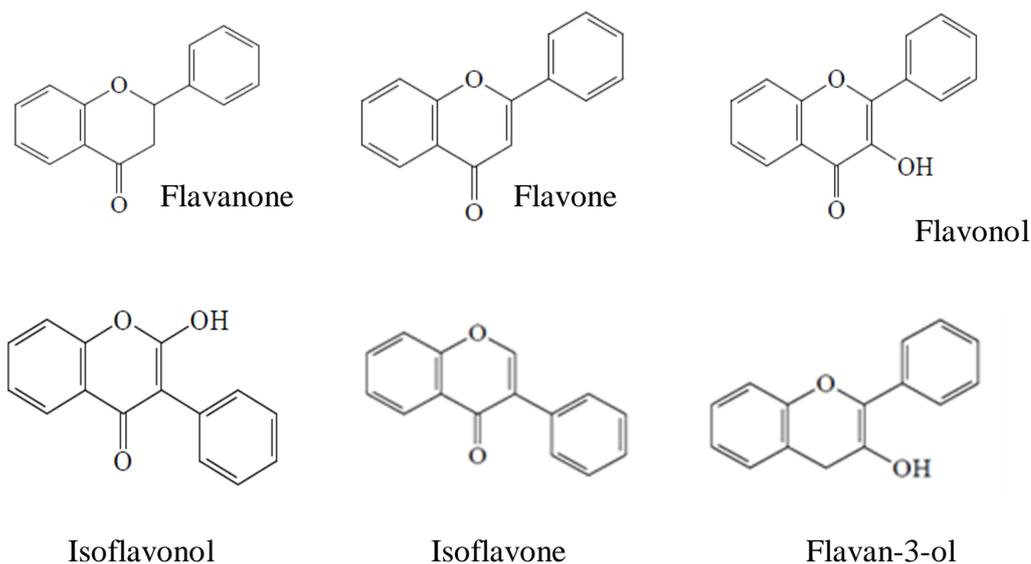
De structure générale en C<sub>15</sub> (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), ce groupe comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes dont certaines ont une très grande importance biologique et technologiques comme les anthocyanes, pigments rouges des fleurs et des fruits. (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

Les flavonoïdes existent généralement dans la nature sous forme hydroxylée et combinés à diverses molécules, ce qui explique la grande variété de ces composés.



**Figure 9** : Structure générale du noyau des flavonoïdes. (Heim, 2002)

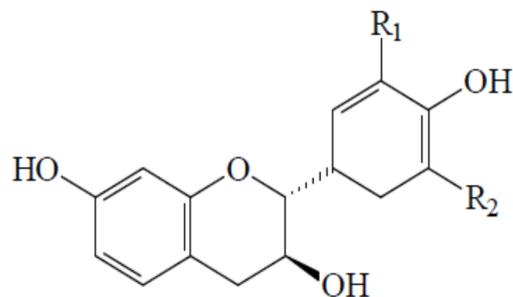
Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C (Pietta, 2000), 14 groupes différents ont été identifiés dont six groupes sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés : flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavonols et anthocyanidines (Heim, 2002). Les figures suivantes représentent quelques structures des éléments de la principale sous-classe des flavonoïdes :



**Figure 10** : Structures de quelques flavonoïdes.

### 2.3 Les tannins

Les tannins sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau, dont les masses molaires se situent entre 500 et 3000. En plus de présenter les réactions caractéristiques des phénols. En général, ils sont capables de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les autres protéines (Stevanovic, 2005). Cette réactivité avec les protéines est à l'origine des propriétés tannantes qu'ils exercent sur le collagène de la peau au cours de la transformation de la peau en cuir, la rendant imputrescible et moins perméable à l'eau. Les tannins sont très répandus dans le monde végétal, leur teneur et leur nature varient d'une espèce à l'autre. On distingue, d'après leur structure et leurs propriétés, deux types de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.



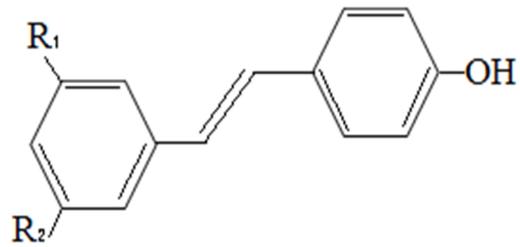
Tanins	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Afzéléchol	H	H
Catéchol	OH	H
Gallocatéchol	OH	OH

**Figure 11** : Structures de quelques tanins. (Nacoulma-Ouedraogo, 1996)

### 2.4 Les stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. Ces molécules peuvent s'oxyder sous l'action d'enzymes, la stilbène oxydase et les peroxydases (Perret, 2001). Contrairement aux flavonoïdes, ces composés sont peu répandus chez les

végétaux ; le raisin et le vin rouge constituent leur source alimentaire la plus importante (Krisa, 1997)



Stilbènes	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Ptérostilbène	O-CH <sub>3</sub>	O-CH <sub>3</sub>
Resvératrol	OH	OH
Picéide	OGlc	OH

**Figure 12** : Structures chimiques de quelques stilbènes. (Perret, 2001)

## 2.5 Les lignanes

Les lignanes sont des composés dont les deux noyaux aromatiques sont reliés par quatre atomes de carbone. Elles se trouvent souvent dans le bois des gymnospermes et dans les tissus soumis à lignification chez les angiospermes. (Krief, 2003)

### 3. Rôle des polyphénols chez les végétaux

- Les composés phénoliques sont d'une importance en tant que matériel et support des parois cellulaires, principalement sous forme de polymères telle que la lignine, servant d'appui et de barrière mécanique contre l'invasion microbienne (Häkkinen, 2000).
- Les polyphénols contribuent à la coloration des fleurs et des fruits. Ce qui permet d'attirer les insectes et les oiseaux vers la pollinisation et la dispersion des graines (Häkkinen, 2000, Naczk et Shahidi, 2006).
- Les composés phénoliques peuvent influencer la concurrence entre les plantes, un phénomène appelé allélopathie. (Häkkinen, 2000, Bouton, 2005).
- Les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, peuvent agir en tant que molécules de signal dans l'interaction entre la plante et les bactéries fixatrices d'azote dans certaines plantes légumineuses (Häkkinen, 2000).
- Les polyphénols jouent un rôle dans les mécanismes de défense de la plante contre l'excès des rayons UV ; destruction des cellules en protégeant l'ADN contre la dimérisation et la rupture ; blessures ou infections. (Häkkinen, 2000).
- Les flavonoïdes et d'autres polyphénols sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux. L'astringence et l'amertume des nourritures et des boissons dépendent de la teneur des polyphénols (Lugasi et al., 2003).
- Des travaux plus anciens (Nitsch et Nitsch, 1961, Albert et al., 1977) ont montré que les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaires, différenciation ; organogenèse, dormance des bourgeons, floraison et tubérisation.

### 4. Les polyphénols : des molécules aux atouts multiples

En effet, en outre que leurs bienfaits chez les végétaux, des propriétés bénéfiques des polyphénols pour la santé humaine seraient nombreuses : effets protecteurs contre les maladies cardio-vasculaires, effets anti-inflammatoires, ou encore anti-viraux pour n'en citer que quelques-uns (Chung et al., 1998 ). Ils peuvent également participer à la bonne conservation de certains aliments transformés, comme l'huile d'olive, en limitant l'oxydation des lipides qu'ils contiennent. (Servili, 2004).

**Tableau 15 :** Principales activités biologiques des composées phénoliques

<b>Classes de polyphénols</b>	<b>Activités</b>	<b>Références</b>
Acide phénoliques	Antibactériennes ; Antifongiques Anti oxydants	Didry <i>et al.</i> , 1982 Ravn <i>et al.</i> , 1984 Sarni-Manchado et Chenyier, 2006
Stilbénes	Inhibent l'oxydation des LDL et l'agrégation des plaquettes	Sarni-Manchado et Chenyier, 2006
Coumarines	Digestibilité des protéines Protectrices vasculaires et antioedémateuses	Lazouni <i>et al.</i> , 2006 Mabry et Ulubelen, 1980
Flavonoïdes	Anti oxydants Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques	Alothmane <i>et al.</i> , 2009 Stavric et Matula, 1992 Das <i>et al.</i> 1994 Bidet <i>et al.</i> 1987 Bruneton, 1999
Anthocyanes	Anti oxydants Colorants	Sarni-Manchado et Chenyier, 2006
Lignines	Anti carcinogènes Anti mutagènes	Ferguson, 2001
Tanins	Anti oxydants Anti tumoral Digestibilités des protéines	Okuda <i>et al.</i> , 1983 Okamura <i>et al.</i> , 1993 Lazouni <i>et al.</i> , 2006

Proanthocyanidines	Anti inflammatoires Anti bactériens Anti fongiques	De Oliveira et <i>al.</i> , 1972 Brownlee et <i>al.</i> , 1992 Kreofsky et <i>al.</i> 1992
--------------------	-------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------

## *II. Les Antioxydants*

### **1. Définition :**

En guise de protection contre les ERO (Espèces réactives de l'oxygène), qui sont très dommageable pour les cellules, ces dernières possèdent des mécanismes de défense endogènes enzymatiques et non-enzymatiques qui, de manière générale, suffisent à renverser le stress oxydant résultant du métabolisme aérobie et que l'on appelle antioxydants. (Muzykantov, 2001)

### **2. Rôle**

Tous les antioxydants ont la capacité de réagir avec les radicaux libres. Plus spécifiquement, les réactions métaboliques catalysées par les enzymes antioxydantes permettent d'éliminer les radicaux libres par la formation de composés neutres comme l'eau. (Couillard, 2006)

De par leur rôle à neutraliser les radicaux libres, les antioxydants ont donc le pouvoir de diminuer les niveaux de stress oxydatif et, par conséquent, les dommages oxydatifs. Ainsi, ils ont le potentiel de réduire les effets délétères des facteurs oxydants responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme, il devient tentant de conclure que les antioxydants ont un rôle crucial à jouer dans l'amélioration du problème grandissant de la gestion des maladies chroniques.

### **3. Mécanisme de défense**

Parmi les différents antioxydants, les plus communs sont les vitamines A, C et E, et les enzymes SOD, catalase et glutathion peroxydase. D'autres antioxydants comme l'acide lipoléique, les caroténoïdes, la coenzyme Q10, plusieurs bioflavonoïdes, les antioxydants minéraux (cuivre, zinc, manganèse et le sélénium) et les cofacteurs (l'acide folique, les vitamines B1, B2, B6, B12) peuvent aussi défendre l'organisme. (Maritim, 2003)

Tous ces antioxydants travaillent de façon synergique contre les différents types de radicaux libres. Par exemple, la vitamine E élimine la propagation de la peroxydation des

lipides, tandis que les vitamines C et E inhibent la formation d'hydroperoxyde.  
(Maritim, 2003)

Ces antioxydants ont donc un potentiel intéressant dans le traitement de conditions pathologiques associées au stress oxydatif. De leur côté, les enzymes SOD (conversion de l' $O_2^-$  en  $H_2O_2$ ) et catalase (conversion du  $H_2O_2$  en  $H_2O$ ) semblent être les meilleures candidates pour le développement d'une médication antioxydante. (Muzykantov, 2001)

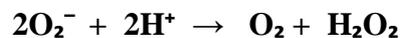
#### 4. Les principaux antioxydants et leurs fonctions

Les antioxydants peuvent être divisés en deux groupes selon leur mode d'action : les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non-enzymatiques (piégeurs). (Muzykantov, 2001)

##### 4.1 Les antioxydants enzymatiques

#### La Superoxyde dismutase

La SOD est l'une des plus importantes enzymes cellulaires qui possède une fonction antioxydante. En fait, elle est l'enzyme antioxydante contre les  $O_2^-$  la plus importante dans toutes les cellules vasculaires (Wassmann et *al.*, 2004). La SOD catalyse la dismutation de l' $O_2^-$  de la manière suivante :



L'absence de cette enzyme est létale et une trop grande quantité, durant un stress oxydatif, entraîne une production d' $H_2O_2$  excessive qui devient rapidement toxique pour la cellule. La quantité de SOD produite est contrôlée par des gènes spécifiques sensibles aux réactions d'oxydo-réduction. (Wassmann, 2004).

## **Le système du glutathion**

Le glutathion (GSH) est un antioxydant non enzymatique synthétisé à partir de la cystéine, du glutamate et de la glycine et nécessite de l'ATP. (Lu, 1999)

Les glutathions peroxydases sont présentes dans le cytoplasme où elles jouent un rôle majeur dans la régulation de l'état d'oxydoréduction intracellulaire dans les cellules vasculaires. (Wassmann, 2004) On peut retrouver le glutathion sous deux formes, soit la forme thiol-réduite (GSH) ou bien sous la forme oxydée où une molécule de GSH peut se fixer à un thiol d'une autre molécule (R-SSG) ou d'un autre GSH (GSSG). Cette dernière forme oxydée se retrouve sous forme disulfure suite à la réduction du  $H_2O_2$  et d'autres peroxydes en eau ( $ROOH$  ou  $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$ ) et ce, aux niveaux cytosolique et mitochondrial. (Lu, 1999, Fernandez-Checa et Kaplowitz, 2005, Gallogly et Mieyal, 2007)

## **La catalase**

La catalase est une enzyme intracellulaire de l'hème qui catalyse la réaction de détoxification du  $H_2O_2$  (généralement produit par les SOD). (Wassmann, 2004)

Elle se retrouve normalement dans les peroxysomes, mais pour les cellules ne possédant pas cette organelle (ex : les érythrocytes) l'enzyme se situe dans le cytoplasme. La catalase et la glutathion peroxydase ont des rôles protecteurs similaires et leur contribution relative est assez variable. La catalase est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé ou que la quantité de glutathion peroxydase est limitée et elle joue un rôle significatif dans le développement d'une tolérance au stress oxydatif dans la réponse adaptative des cellules. (Wassmann, 2004)

## **4.2 Les antioxydants non enzymatiques**

Une bonne partie des antioxydants non enzymatiques sont obtenus par les aliments (exogènes), notamment par la consommation de fruits et de légumes de même qu'en suppléments nutritionnels. Ils permettent de renforcer les défenses antioxydantes endogènes (Glutathion et enzymes). Les plus importants d'entre eux seront abordés ci-dessous :

## **La vitamine C**

C'est un antioxydant hydrosoluble qui réduit les superoxydes ( $O_2\bullet^-$ ), les radicaux hydroxyles ( $\bullet OH$ ) et les peroxydes ( $ROO\bullet$ ). Elle devient donc oxydée à son tour et est ensuite réduite par le système du glutathion. Elle se retrouve en grande concentration dans le foie, le cerveau, la rate, le pancréas et les glandes hypophysaires et surrénales. (Vincent et Taylor, 2006)

## **La vitamine E**

est un puissant antioxydant liposoluble et, bien qu'elle existe sous diverses formes dans les aliments ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tocophérols et -tocotriénols), c'est la forme  $\alpha$ - tocophérol qui est la plus répandue *in vivo* puisque la protéine de transfert du tocophérol ( $\alpha$ -TTP) hépatique, permettant de véhiculer le tocophérol vers le plasma, a plus d'affinité avec l' $\alpha$ -tocophérol qu'avec les autres formes de vitamine E. (Traber et al., 2008) Cette vitamine réduit les radicaux peroxydes et hydroxyles en leur livrant un électron, ce qui permet d'empêcher et d'arrêter le processus de peroxydation des lipides et d'autres molécules. La vitamine E devient donc oxydée et sera réduite à l'aide de la vitamine C afin de retrouver son pouvoir antioxydant. Elle se retrouve dans les lipoprotéines, les membranes cellulaires et les fluides extracorporels. (Vincent et Taylor, 2006)

## **Les carotènes**

Sont la seule forme de vitamine A possédant un pouvoir antioxydant et d'origine végétale seulement. Ils sont liposolubles et se retrouvent dans les membranes cellulaires des tissus et les lipoprotéines. (Stahl et Sies 2003) La forme la plus connue est le  $\beta$ -carotène, sans parler des autres de plus en plus étudiées : lycopène, lutéine et zéaxanthine. Le  $\beta$ - carotène réagit davantage avec l'oxygène singulet ( $^1O_2$  : oxygène excité), un autre type de ERO, ainsi que les radicaux peroxydes. (Stahl et Sies, 2003 )

## 5. Consommation d'antioxydants et maladies chroniques

Nombre d'études ont prouvé que certains antioxydants ont bel et bien la capacité de prévenir les dommages oxydatifs aux diverses macromolécules. C'est le cas de la vitamine C qui a été jugée efficace pour inhiber la peroxydation des lipides et l'oxydation des protéines dans le plasma humain exposé à divers stress oxydatifs pathophysiologiques (Frei, 2004) et pour prévenir les dommages oxydatifs à l'ADN. Elle exerce son action antioxydante en neutralisant efficacement les radicaux superoxydes, hydroxyles et peroxydes. (Kadirvel et *al.*, 2007) Même chose pour la vitamine E, l'antioxydant liposoluble le plus important de l'organisme (Sabat et al., 2008), ayant le potentiel de contrer la peroxydation lipidique (Singh et *al.*, 2005), l'oxydation des protéines (Gatellier, 2006) sa concentration plasmatique est inversement corrélée à la concentration de protéines carbonylées (Anlasik, et al., 2005) et les dommages oxydatifs à l'ADN par sa capacité à neutraliser les radicaux peroxydes. (Kadirvel et *al.*, 2007).

Les vitamines C et E agissent également en synergie contre le stress oxydatif puisque la vitamine C a la capacité de régénérer la vitamine E sous sa forme antioxydante. À titre d'exemple, elles diminuent davantage les dommages oxydatifs à la peau causés par les rayons ultraviolets ensemble que lorsque leur protection respective est additionnée. (Murray et *al.*, 2008)

---

***DEUSIEME PARTIE***  
***EtudE***  
***EXPERIMENTALE***

---

---

---

**MATERIEL**

**ET**

**METHODES**

---

---

## CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

Dans ce chapitre, nous décrivons les matériels et méthodes généraux utilisés lors des protocoles expérimentaux.

### I.1- Support expérimental

Cette partie sert à décrire le matériel utilisé tout au long de l'expérimentation.

#### I.1.1- Matières premières utilisées

**Thé vert :** *TCHICO* thé vert de chine

**Huile végétale :** huile de table « *FLEURIAL* » ; huile 100% tournesol

#### I.1.2- Produits chimiques utilisés :

L'éthanol 96°, Réactif follin ciocalteu, l'acide gallique, carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , Sodium Thiosulfate  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , Amidon soluble, Iodure de Potassium ( Prolabo), Acide acétique glacial( Panreac Quimica SA) , Chloroforme (Fluka Chemika), Hydroxyde de sodium en pastilles NaOH (Acros Organics), Phénolphtaleine.

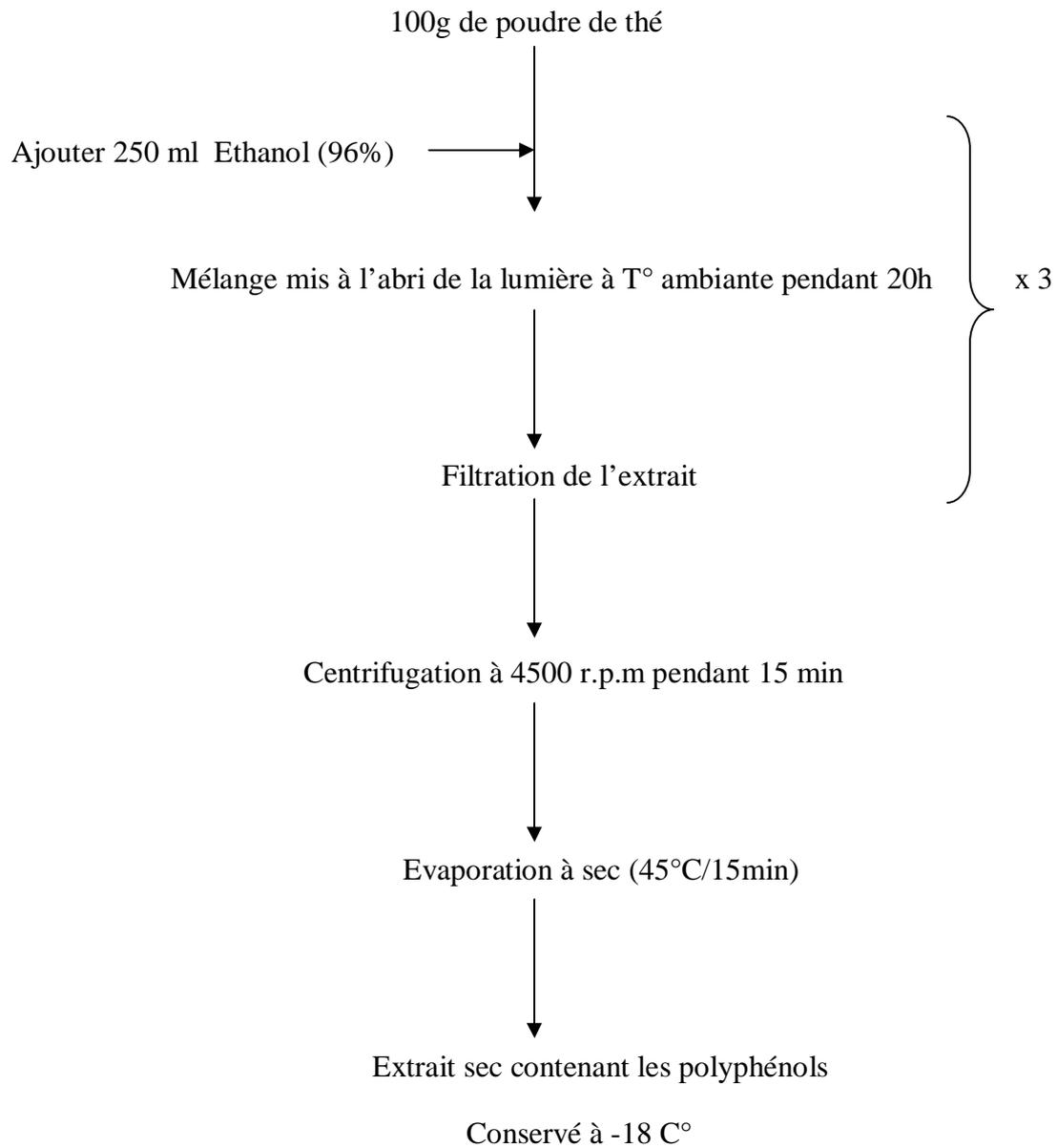
### I.2- Détermination de la teneur en polyphénols totaux

#### I.2.1. Extraction des polyphénols

Les composés phénoliques solubles sont généralement extraits en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone (Escribano-Bailon et Santos-Buelga, 2003).

Au cours de notre recherche, nous avons procédé une extraction solide-liquide. Le solvant ainsi utilisé est l'éthanol (96%). Celui-ci possède l'avantage d'être plus facilement éliminé sous vide. Il donne en plus un rendement élevé d'extraction. (Diallo, 2004, Ribéreau-Gayon, 1968) Le rendement d'extraction en polyphénols augmente aussi avec le temps de contact (Lapornik, 2004).

## Extraction a température ambiante



**Figure 1** : Diagramme d'extraction des polyphénols du thé à température ambiante (Gramza-Michalowska et Regula, 2007).

### 1.2.2 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction exprime le rapport entre le poids du résidu sec de l'extrait et le poids du produit à traiter (Carré, 1953). Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = \frac{\text{masse du résidu extrait}}{\text{masse de la prise traitée}} \times 100$$

### I.3- Dosage des composés phénoliques extractibles totaux

L'estimation de la teneur en composés phénoliques extractibles totaux a été réalisée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Mansouri et Emberek, 2005)

#### ➤ principe

Le réactif de Folin-ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ) (Benamara et *al.*, 2008). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760nm.

#### ▪ Préparation de réactif de Folin – Ciocalteu

La préparation étant complexe, il est préférable d'utiliser le réactif prêt à l'emploi. Il peut être préparé de la façon suivante:

100 g de tungstates de sodium et 25 g de molybdate de sodium sont dissouts dans 100 ml d'eau distillée, on ajoute 50 ml d'acide phosphorique à 85%, et 100 ml d'acide chlorhydrique concentré. On porte à l'ébullition sous reflux durant 10 heures, on ajoute ensuite 150 g de sulfate de lithium, quelques gouttes de brome et on porte à nouveau à l'ébullition durant 15 min. On refroidit et on complète à un litre avec de l'eau distillée. Ce réactif peut très bien se conserver dans une bouteille de verre brun pour une meilleure conservation. Lors de son

utilisation ; il doit être suffisamment frais, on le reconnaît grâce à sa couleur jaune et on le trouve préparé dans le commerce.

▪ **Mode opératoire**

✚ **Préparation de la gamme d'étalonnage**

A partir d'une solution mère aqueuse préparée de l'acide gallique de concentration massique 0.5 g/l, des solutions filles sont ainsi préparées de concentration allant de 0.06 g/l jusqu'à 0.28 g/l.

A l'aide d'une micropipette, 100 µl de chaque solution est introduite dans des tubes à essais, suivi de l'addition de 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau), après 2 minutes, 2 ml de carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 20% (m/v) ont été ajoutés ; par la suite ces solutions sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. La lecture de l'absorbance de chaque solution est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc (même solution sans la solution d'acide gallique) ce qui nous permet de tracer la courbe d'étalonnage.

N° de tubes	1	2	3	4	5	6	7
Volume pris de la solution mère (en ml)	0,12	0,2	0,18	0,36	0,44	0,52	0,56
Concentration de l'acide gallique (en mg/ml)	0.06	0.10	0.14	0.18	0.22	0.26	0.28

✚ **Traitement des échantillons**

- Un volume de 0.5 ml du réactif Folin-Ciocalteu (10 fois dilué) est ajouté à 0,5 ml de d'extrait de thé. Après 2 min, un volume de 2 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 20% (10 g de bicarbonate de sodium ont été dissoutes dans 50ml d'eau distillée) a été versé sur la solution et 7 ml de l'eau distillée est ajoutée.
- Les fioles sont maintenues à obscurité pendant 30 min avant de lire les densités optiques au spectrophotomètre à 760nm.

## Expression des résultats

La concentration en composés phénoliques extractibles totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### **I.4- Analyse de l'huile :**

A fin d'étudier l'influence des composés phénoliques extraits à partir le thé vert sur la stabilité oxydative de l'huile de tournesol ; trois séries d'échantillons notées A, B et C d'une même huile de tournesol ont été utilisés au cours de cette méthodes.

Les trois séries (A, B et C) comportent chacune trois échantillons d'huile avec des concentrations différentes des composés phénoliques à températures variées pendant une durée stockage de 20 jours.

Le tableau suivant donne la répartition des échantillons d'huile de tournesol selon la concentration des antioxydants et la température.

**Tableau1** : Répartition des échantillons de l'huile de tournesol

<b>Série</b>	<b>Concentration</b>	<b>Le mélange</b>
A	0 ppm (témoin)	L'huile de tournesol + 0 ppm d'extrait phénolique
B	100 ppm	L'huile de tournesol + 100 ppm d'extrait phénolique
C	200 ppm	L'huile de tournesol + 200 ppm d'extrait phénolique

### **I.4.1- Mesure de l'indice de peroxyde**

#### **1. Définition**

C'est la quantité de peroxyde présent dans l'échantillon, exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans un kilogramme de produit, oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode. L'indice de peroxyde nous permet d'évaluer l'état de fraîcheur de l'huile.

Le principe repose sur le titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

## 2. Principe

Le principe de la méthode repose sur le traitement d'une prise d'essai, en solution dans l'acide acétique et du chloroforme, par une solution de l'iodure de potassium, puis le titrage de l'iode par une solution titrée de thiosulfate de sodium.

Le dosage des peroxydes formés se fait indirectement en présence d'iodure de potassium.

## 3. Mode opératoire

- 2g de l'huile de tournesol est pesée dans une fiole
- Ajouter 25 ml du mélange de solvant (15ml acide acétique + 10ml chloroforme) puis 1ml d'iodure de potassium
- Agiter pendant 1 mn et l'abandonner 5 mn à l'abri de la lumière.
- Ajouter 75 ml d'eau distillée, et titrer l'iode libéré par une solution de thiosulfate 0.01N en agitant vigoureusement en présence d'empois d'amidon 0.5 à 1% récemment préparée.
- Un essai témoin (sans matières grasses) est réalisé dans les mêmes conditions.

L'indice de peroxyde IP est déterminé selon la formule :

$$IP = \frac{V - V_0}{P} \times 10$$

Avec :

- IP : Indice de peroxyde (méq  $\text{O}_2$ /kg d'huile).
- V : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai.
- $V_0$  : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.
- P : prise d'essai en gramme

## I.4.2- Mesure de l'acidité

### 1. Définition

Elle correspond à la teneur en pourcentage d'acide gras (exprimée en acide oléique) présent dans l'huile de tournesol et représente un paramètre important dans l'évaluation de sa qualité.

### 2. Mode opératoire

Après dissolution de 5 g d'huile dans 50mL d'éthanol 96<sup>0</sup>, les acides gras présents sont titrés à l'aide d'une solution de NaOH (0,1N) en présence de phénophtaléine. Un essai témoin (sans matières grasses) a été exécuté dans les mêmes conditions.

L'acidité est déterminée selon la formule :

$$A\% = \frac{v \times N \times P}{10 \times m}$$

Avec :

- v : nombre de ml de la solution NaOH
- m : prise d'essai en grammes
- N : normalité de la solution NaOH
- P : poids moléculaire adopté pour l'expression de l'acidité avec M acide oléique=282

---

**RESULTATS**

**ET**

**DISCUSSION**

---

## CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

Les graisses et huiles alimentaires ont à subir une détérioration oxydative entraînant le développement d'un goût et d'une odeur désagréables. La prévention de cette oxydation dépend essentiellement de la présence d'inhibiteur naturels que sont les composés phénoliques.

Dans notre étude on utilise le thé vert parce que c'est une boisson qui est couramment consommée et qui présente un profil phénolique simple (acides phénoliques, catéchines).

Ces composés phénoliques méritent une attention particulière par leur valorisation en tant qu'antioxydant naturel des huiles.

C'est dans ce contexte que nous avons de faire des essais de mise en évidence du pouvoir antioxydant de ces composés phénoliques provenant de thé vert sur l'huile de tournesol à différentes conditions de durée et température de stockage.

### II.1. Extraction des composés phénoliques totaux

Au cours de cette étude, l'extraction des polyphénols de thé vert a été effectuée par la macération simple à température ambiante. La solubilité des composés phénoliques semble être en fonction de leur degré de polymérisation, les interactions avec d'autres composés et la nature du solvant utilisé qui est l'éthanol dans notre étude.

#### 1.1 Rendements d'extraction

Les composés phénoliques ont été extraits dans notre étude à partir d'une matrice végétale sèche de thé vert. Les rendements varient beaucoup en fonction de la matrice végétale, la nature du solvant d'extraction et la méthode d'extraction, aussi bien de la température et du temps de contact (Silabdi, 2010).

Le rendement d'extraction des ces composés est présenté dans le tableau suivant :

**Tableau 2** : le rendement d'extraction des composés phénolique de thé vert.

Matière sèche	Rendement (%)
Thé vert	4,7

D'après le tableau 1 l'extraction éthanolique des composés polyphénoliques de thé vert, donne une valeur de 4,7% et ce ci est confirmé par XI Jun (5%).

Cette valeur est basse par rapport celle obtenue à partir l'extraction par l'acétone, le méthanol et l'extraction aqueuse (25 %, 20%, 15% respectivement) (XI Jun, 2009).

Dans notre étude on utilise l'éthanol parce que c'est un solvant qui est facilement a éliminé (par rapport l'eau) et qui présente une toxicité très faible par rapport le méthanol.

## 1.2 Teneur en polyphénols

Avant de procéder à la détermination de la teneur en ces composés phénoliques, nous avons établi la courbe d'étalonnage en utilisant l'acide gallique comme composé de référence.

La teneur en composés phénoliques de thé vert est consignée dans le tableau suivant :

**Tableau 3 :** Teneur en composés phénoliques de thé vert

<b>Espèce</b>	<b>Teneur en phénols totaux (mg/100g)</b>
Thé vert	57,57±0,02

Les résultats obtenus après le dosage des composés phénoliques pour le thé vert par extraction éthanolique montre que ce dernier renferme une teneur en polyphénols de 52,57mg/100g. Ces résultats sont un peut plus basse par rapport à celle obtenus par Khokhar et Magnusdottir (2002). La différence de résultats due à la variété de thé, le temps de récolte et la durée de stockage et surtout l'âge des feuilles. (Tanizawa et al., 1984)

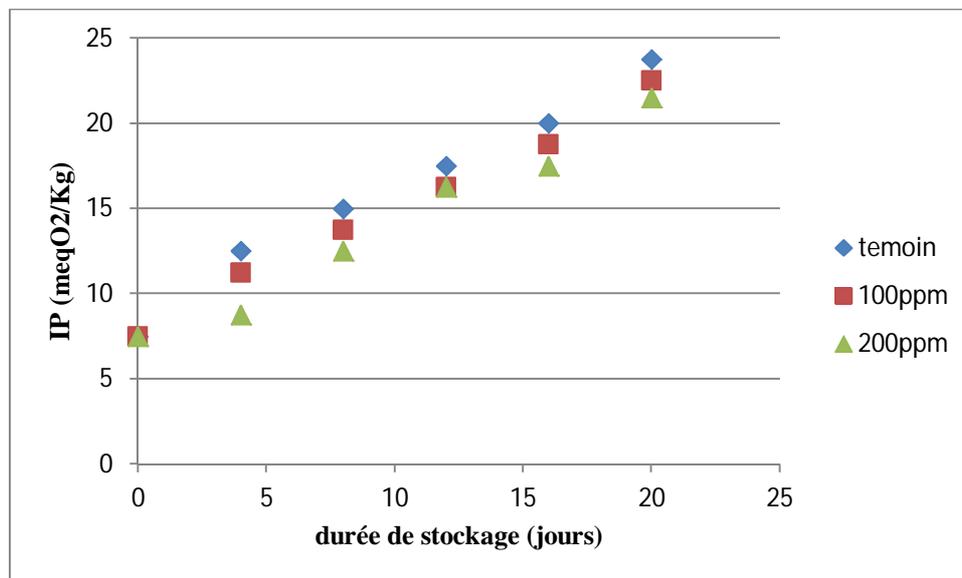
## II.2. Analyse chimique

### *2.1. L'indice de Peroxyde*

Les valeurs de l'indice de peroxyde des différents échantillons d'huile ayant fait l'objet de notre étude sont données dans le tableau 3 et reportés sur la figure 2.

**Tableau 4** : Evolution de l'indice de peroxyde des échantillons d'huile de tournesol en fonction de la durée de stockage et de concentration en extraits phénoliques.

série	Concentrations (ppm)	Durée de stockage (jours)					
		0	4	8	12	16	20
A	0ppm	7,5	12,5	15	17,5	20	23,75
B	100ppm	7,5	11,25	13,75	16,25	18,75	22,5
C	200ppm	7,5	8,75	12,5	12,25	16,25	21,52



**Figure 2** : Evolution de l'indice de peroxyde IP de l'huile de tournesol lors du stockage à 60 °C

L'analyse des résultats du tableau 4 représentés sur la figure 2 montre une évolution de l'indice de peroxyde de toutes les séries d'échantillons en fonction de la durée de stockage.

L'huile de tournesol sans additifs (témoin) présente le plus haut IP parmi les séries. En fait, son IP était 7,5 meqO<sub>2</sub>/kg avant d'être soumis à la température de l'étuve (60 °C) et après 20 jours, il atteint 23,75 meqO<sub>2</sub>/kg. Une augmentation accentuée (3 fois) de son IP.

L'évolution de l'IP des séries contenant des antioxydants suit relativement un rythme moins accentué que celle du témoin.

D'après la figure 2, les valeurs de l'IP des autres séries (B et C) obtenues après 20 jours de stockage sont respectivement 22,50 et 21,50 correspond à des valeurs optimale pour la protection de l'huile de tournesol de l'oxydation. D'ailleurs, l'effet antioxydant des divers concentrations des additifs dans l'huile de tournesol varie significativement en suivant un tel ordre 200 ppm Pol > 100 ppm pol. Ces résultat sont conforme aux celles obtenues par Denis (2004).

Durant 22 jours de stockage à l'étuve, l'indice de peroxyde a évolué progressivement dans toutes les séries étudiées, ceci est dû aux peroxydes formés par oxydation, puis évoluant ensuite vers des structures secondaires : produits volatils et non volatils (Perrin, 1992).

Une élévation sévère de l'indice de peroxyde relatif à l'huile témoin (sans additifs) est observée tout au long de l'expérience. En effet, l'huile végétale utilisée (tournesol) est très susceptible à l'altération oxydative, en raison de leur composition en acides gras polyinsaturés et du raffinage.

D'une part, les chaînes lipidiques insaturées fixent l'oxygène en formant des peroxydes instables, qui évoluent spontanément en des produits d'oxydation, de dégradation et de polymérisation (Richard, 1992) D'autre part, cette huile raffinée perdre leur propres moyens de défense et par suite, est devenue instable (Perrin, 1992a).

L'oxydation rapide de l'huile de tournesol est attendue pour sa pauvreté en antioxydants naturels contrairement à l'huile d'olive (Chan *et al.*, 1982). Gamel et Kiritsakis (1999) ont aussi trouvé que l'augmentation de l'IP de l'huile d'olive était plus faible que celui de l'huile de tournesol après 12 jours dans l'étuve à 63°C, puisque l'huile d'olive contient des composés phénoliques antioxydants.

Alors l'ajout d'antioxydants naturel (polyphénols) diminue la vitesse de l'oxydation des huiles en assurant une certaine protection des huiles contre l'oxydation En effet, l'ajout de 200 ppm polyphénols a montré une forte activité antioxydante par rapport à 100ppm.

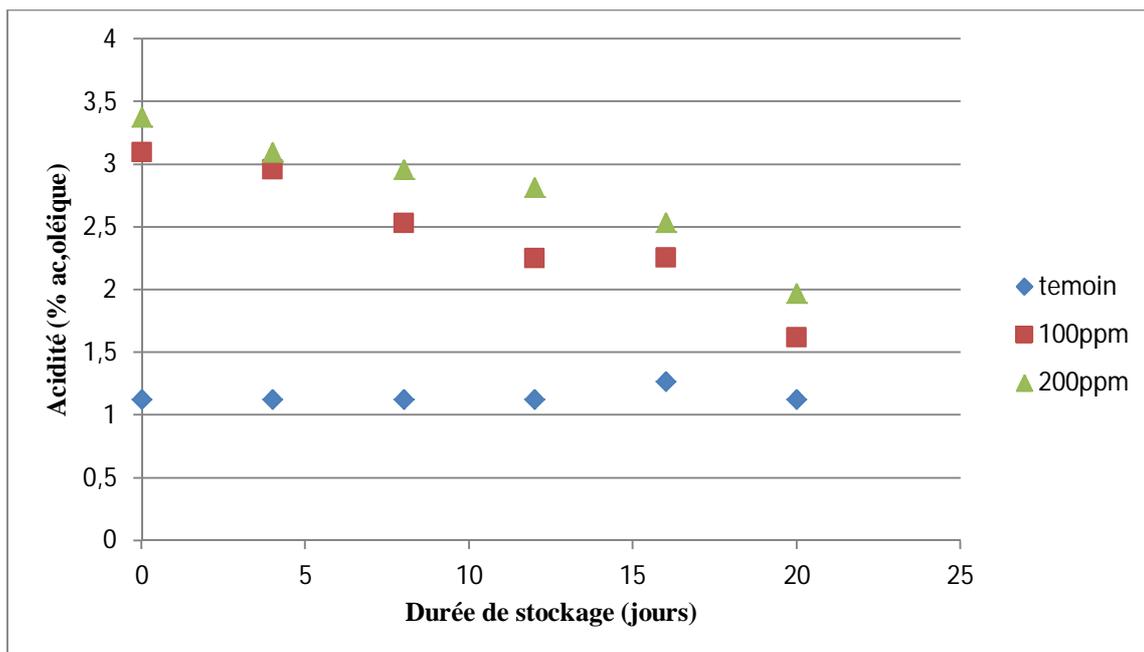
En effet, les antioxydants, en consommant préférentiellement l'oxygène, retardent la formation des peroxydes (Richard, 1992) et par la suite, limitent le rancissement des huiles. Les antioxydants phénoliques (polyphénols) cèdent des atomes d'hydrogène aux radicaux libres, et arrêtent ainsi la propagation de la chaîne lors de l'oxydation lipidique (Ranalli *et al.*, 2003). D'où l'appellation d'éboueurs de radicaux libres.

## 2.2. L'Acidité

Les valeurs des acidités de notre analyse traitée par les composés antioxydants extraits à partir le thé vert à différentes concentrations (allant de 0 à 200ppm) et en fonction de la durée de stockage à 60°C sont données dans le tableau 4 et illustrées sur la figure 3.

**Tableau 5** : évolution de l'acidité (% d'acide oleique) des échantillons d'huile de tournesol en fonction de la durée de stockage et de la concentration en extraits phénoliques.

Série	Concentrations (ppm)	Durée de stockage (jours)					
		0	4	8	12	16	20
A	0ppm	0,128	1,128	1,128	1,128	1,26	1,128
B	100ppm	3,10	2,961	2,53	2,25	2,256	1,62
C	200ppm	3,38	3,1	2,96	2,82	2,538	1,97



**Figure 3 :** Evolution de l'acidité de l'huile de tournesol lors du stockage à 60 °C

D'après les résultats consignés dans le tableau 5, nous remarquons que toutes les valeurs d'acidité exprimées en (% d'acide oléique) variés entre 3,10% et 1,62% pour la série B et entre 3,38% et 1,97% pour la série C. Tandis que celle de témoin est stable tout a longue de stockage.

En général la figure 3 révèle deux tendances pour l'évolution de l'acidité au cours du stockage: l'une constante et l'autre décroissante. En effet, l'acidité relative au séries : témoin demeure constante tout au long du stockage. Cependant, l'huile de tournesol contenant des polyphénols présente une acidité initiale élevée en fonction des concentrations ajoutées des composés phénoliques et ce ci a cause de la fonction acides de ces composés employés pour ce traitement et qui diminue au cours du stockage.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Denis (2004) qui a trouvé que l'acidité des huile de tournesol, maïs et soja auxquelles sont additionnés 80ppm d'extrait phénolique des margines présente une acidité initiale élevé qui diminue progressivement pour atteint après 22<sup>ème</sup> jour la valeur de celle de témoin qui est stable tout au long de stockage.

D'autre part, l'acidité des ces huile auxquelles sont additionnés 160ppm est initialement plus élevée, qui diminue avec le temps, tout en restant à la fin du stockage élevée par rapport aux autres traitements.

L'acidité des huiles contenant des polyphénols a diminué progressivement au cours du stockage. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les acides phénoliques se dégradent avec le temps.

Chimi *et al.* (1999) indiquent que les composés phénoliques se dégradent avec le temps comme conséquence à leur activité antioxydante et que leur vitesse de dégradation a été positivement corrélée à leur efficacité antioxydante. Toutefois, l'association des polyphénols naturels entraîne une diminution importante de leur vitesse de dégradation individuelle (Perrin, 1992a).

## ***Conclusion***

L'objectif de ce travail était d'extraire les composés phénoliques à partir le thé vert. En suit nous avons accentué notre étude sur l'effet antioxydant de ces derniers sur la stabilité oxydative de l'huile de tournesol.

Les premiers résultats de l'étude concernant les composés phénoliques indiquent que le thé vert contient un teneur élevé en polyphénol (57,57mg/100g). Ces polyphénols sont caractérisés par une haute capacité antioxydante, alors ils peuvent remplacer les antioxydants synthétiques en agroalimentaire selon une utilisation rationnelle qui n'implique pas de risques sur la santé humaine.

En effet, au cours d'un stockage pendant 20 jours à l'étuve (60 °C), l'huile de tournesol a acquis une meilleure résistance à l'oxydation suite à un ajout des composés phénoliques par rapport au témoin.

D'une part, l'indice de peroxyde diminue au fur et a mesure que la concentration des composés phénolique augmente, la protection maximale correspond à l'ajout de 200ppm pol. Et d'autre part l'acidité diminue en fonction de la durée de stockage et les concentrations des composés phénoliques ajoutées.

Toutefois dans l'intérêt d'apporter un apport complémentaire à cette étude, il serait intéressant d'effectuer d'autres analyses telles que :

- évaluer l'effet antioxydant des polyphénols extraits de thé vert dans les huiles végétales sous des conditions de stockage et de friture en le comparant à d'autres antioxydants naturels (tocophérols) et d'étudier leur effet synergique au cours de l'oxydation.
- la variation de la composition de l'huile en acides gras lors de conservation.

---

---

*RéféRences  
bibliographiques*

---

---

## Références bibliographiques

- Abdoune**, S., 1995. Contribution à l'étude de l'altération thermooxydative de deux huiles végétales : l'huile de tournesol et l'huile de colza. Thèse d'ingénieur. INA. 60p.
- AFSSA** : Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments.
- Akowauh**, G.A., Zhari, I., Norgyati, I., Sadikun, A et Khamsah, S.M., The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of *Orthosiphon stamineus* and evaluation of the free radical-scavenging activity 2004. *Food chemistry* **87**: 559-566
- Alibert**, G., Rangeva, R., et Boudet, M. A., 1977. Organisation subcellulaire des voies de synthèses des composés phénoliques. *Physiol. Veg.* 15, 279-301
- Alothman**, N., Bhat, R et Karim, A.A., 2009. Antioxydant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food chemistry*.
- Anlasik**, T., Sies, H., Griffiths, H.R., Mecocci, P., Stahl, W. et Polidori, M.C., Dietary habits are major determinants of the plasma antioxidant status in healthy elderly subjects, *Br. J. Nutr.*, V. 94, (2005), 639-642.
- Astill**, C., Birch, M. R., Dacombe, C., Humphrey, P. G. et Martin, P. T.. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 49, n°11, (2001), 5340-7.
- Bassoma**, M.Y., Pegnyemb, D. E., Ngo Mbing, J., Atchad, D.T., Tih, R.G, Sondengan, B.L., Bloud, A et Bado, B., 2004. Flavonoïdes isolés des feuilles de *Ochno afzelicet*, hémisynthèse des Alzelodins A, B et C à partir de la dihydropirone. *African journal of sciences*: **5**:101-108.
- Benamara**, S., Gougam, H., Amellal, H., Djaouab, A., Benammed, A et Noui, Y., Some technologic proprieties of common date (*Phoenix dactylifera* L.) *Am. J. Food technol.*, V. 3, n°2, (2008), 79-88.
- Berset**, C., Cuvelier M-E., 1997. *Adria*, 4-13.
- Bianco**, A. et Uccella, N. Biophenolic components of olives. (2000). *Food Research International*, 33, pp. 475-485.
- Bidet**, D., Gagnault J.C., Girard, P, Trotin, F., 1987. Inflammation, allergie, douleur et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique : Les flavonoïdes des. *L'actualité chimique*, p. 89 - 97.

- Billek, G.** 2000. European Journal of Lipid Science and Technology 102, 587-593.
- Ebrahimzadeh MA, Hosseinimehr SJ, Hamidinia A and M Jafari .**2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of Feijoa sallowiana fruits peel and leaves. Pharmacologyonline, 1: 7-14.
- Bloor, S. J.,** 2001. Method. Enzymol,335, 3-14.
- Bockisch, M.,** 1998, Fats and Oils Handbook, AOCS Press, Champaign
- Bourgeois, C. F.,** 1981. Propriétés antioxygènes des tocophéols et du palmitate d'ascorbyle dans les matières grasses. R.F.C.G.N° 9. Pp : 353- 356
- Bouton, F.,** Mise en évidence du potentiel allélopatique de la graminée Festuca paniculata dans les prairies subalpines, Rapport de stage de Master 1, Université JOSEPH FOURIER –UFR de biologie, Grenoble, (2005), 18p.
- Boyardieu, J.,** 1991. Produire des graines oléagineux et protéagineux. Paris, Lavoisier, 234 p. (Sciences, techniques, applications).
- Brenes, M., Garcia, A., Dobarganes, C., Velasco, J. et Romero, C.** (2002). Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, pp. 5962-5967.
- Brownlee, He., Hedger, J and Scott, I.M.,** 1992. Effects of a range of procyanidins on the cocoa pathogen Crinipallis perniciosa. Phys. Mol. Plant Pathol. 40 : 227 - 232.
- Bruneton, J.,** Flavonoides In: Pharmacognosie, phytochimie: plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> édition, Techniques de Documentation, Paris, (1999), 331-353.
- Bruneton, J.,** 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> édition. Médicales Internationales-Tec et Doc. Paris, pp 370-401.
- Canibe, N., Pedrosa, M.M., Robredo, L.M., Knudsen, K.E.B.,** 1999, Chemical composition, digestibility and protein quality of 12 sunflower (Helianthus annuus L) cultivars, Journal of the Science of Food and Agriculture, 79 : 1775-1782.
- Campbell, E.J.,** 1983, Sunflower oil, J. Am. Oil Chem. Soc., 60 : 387-392.
- Carré, P.,** Précis de technologie et de chimie industrielle, T3, Ed. Ballière et fils, (1953).
- Castanedo- Ovando,A., De Lourdes Pacheco-Hernandez,M et Paez-Hernandez,E.,** 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. Food chemistry. **113**:859-871.
- Castera- Rassignol, A.,** 1994. Nouvelle approche des antioxydants. O.M.L. vol1. n° 2. pp : 131- 142.
- CETIOM., 1992:** La culture de colza revue CETIOM n°312 .pp15-28.

- Chan, K.N** et **Maznah, I.**, 2009. Supercritical carbon dioxide fluid extraction of hibiscus *Canna binus* L. seed oil: A potential solvent-free and high antioxydative edible oil. *Food chemistry*. **6**:1291-1296.
- Chan, H.S**, **Coxon, D.T.**, **Peers, K.E.** et **Price, K.R.** (1982). Oxidative reactions of unsaturated lipids. *Food Chemistry*, **9**, pp. 28-34.
- Charles, A** et **Den, G.**, 1997 : Abrégé de Biochimie alimentaire. 4eme Edition : Masson, Paris, 225-232.
- Cheptel, J. C.**, 1980. Introduction à la biochimie et à la technologie alimentaire. Paris
- Chimi, H.**, **Cillard, J.**, **Gillard, P.** et **Rahmani, M.** (1991). Evolution of phenolic compounds in virgin olive oil during storage. *Journal of American Oil Chemistry Society*, **74**, pp.1259-1264.
- Chung, K.T.**, **Wong, T. Y.**, **Wei, C.I.**, **Huang, Y.W.** et **Lin, Y.**, Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **V. 38**, n°6, (1998), 421-464.
- Colin-Henriou.**, 2008. De la pomme transformée: Impact du procédé sur deux composés d'intérêt nutritionnel, caractérisation physique et sensorielle des produits transformés. Thèse de doctorat en science agronomiques
- Couillard, C.**, Antioxydants et systèmes biologiques. In Antioxydants et santé: NTR- 67049 (U Laval, editor). Québec, (2006).
- Dacosta, Y.**, les phytonutriments bioactifs, Edition Yves Dacosta, (2003).
- Das, HC**, **Wang, JH** and **Lien, EJ.**, 1994. Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids : A structure-system-activity relationship ( SSAR ) analysis. p. 133 - 136. In : **JUCKER E** ed. *Progress in Drug Research* . Basel : Birkhauser Verlag.
- Denis ,N.**, 2004. valorisation des polyphénols extraits des margines en tant qu'antioxydants naturels dans les huiles végétales. Mémoire De Diplômé d'Etudes Approfondies (DEA). Agence Universitaire de la Francophonie.
- Delmas, F.X.** et **Minet, M.**, Le guide de dégustation de l'amateur de thé, Les éditions du Chêne, Paris, (2007), 239 p.
- Denise J.**, 1988. Raffinage des corps gras. Pp : 86-110. Edition Westhoek.
- De OLIVEIRA, M.M.**, **Sampaio, M.R.P**, **Simon, F**, **Gibert, B** and **Mors, W.B.**, 1972. Antitumor activity of condensed flavenols. *An. Acad. Brasil* **44** : 41 - 44.
- Diallo, D.**, **Sanogo, R.**, **Yasambou, H.**, **Traoré, A.**, **Coulibaly, K.** et **Maïga, A.**, Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam.(Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali, *C. R. Chimie*, **V. 7**, (2004), 1073–1080.

- Didry, N, Pinkas M et Torck M., 1982.** Sur la composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de divers espèces de *Grindelia*. *Pl. Med. Phytother.* XVI : 7 - 15.
- Dimic, E et al., 1994.** « Pretreatment efficiency for physical refining of sunflowers seed oil ». *J. Am. Oil Chem. Soc.*, february 1983, Vol. 60, n° 2
- Durlach, P.J.,** The effects of a low dose of caffeine on cognitive performance. *Psychopharmacology (Berl)*, V. 140, n°1, (1998), 116-9.
- Escribano-Bailon, M.T., Santos-Buelga, C.,** Polyphenols extract from food In "Methods in polyphenols analysis, Ed. Royal Society of Chemistry, (2003), 1-16.
- FAO,** Food and Agriculture Organisation.
- Farag, R., El-Baroty, G. et Basuny, A. (2003).** The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant (cv. Picual and Kronakii), on the stability of sunflower oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, pp. 81-87.
- Faur, L., 1989.** Influence des traitements de raffinage et de transformation sur la qualité et la stabilité des corps gras. *R.F.C.G.n°7/8*. Pp : 293-300.
- FFHPV., 2002.** Filière française des huiles et protéines végétales.
- Fleuriet, A, 1982.,** Thèse Doc. Etat, Montpellier.
- François, R., 1974.,** Les industries des corps gras, Technique et Documentation, Paris.
- Frei, B.,** Efficacy of dietary antioxidants to prevent oxidative damage and inhibit chronic disease. *J. Nutr.*, V. 134, (2004), 3196S-3198S.
- Friedman, M., Kim, S.Y., Lee, S.J., Han, G.P., Han, J.S., Lee, K.R., et al.** Distribution of catechins, theaflavins, caffeine, and theobromine in 77 teas consumed in the United States, *J. Food Sci.*, V.70, (2005), C550-9.
- Gamel, T.H. et Kiritsakis, A. (1999).** Effect of methanol extracts of rosemary and olive vegetable water on the stability of olive oil and sunflower oil. *Grasas y Aceites*, 50, pp. 345-350.
- Gatellier, P., Mercier, Y., Rock, E. et Renerre, M.,** Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on free radical production and on lipid and protein oxidation in turkey muscle extracts. *J. Agric. Food Chem.*, V. 48, (2000), 1427-1433.
- Goodsall, C. W., Hodges, R. C., Jones, T. G., Mawson, J. D. et Stabler, P. J.,** Tea manufacture, Application: WO, Unilever Plc, UK; Unilever N.V.; Hindustan Lever Limited, (1999).

- Gramza-Michalowska, A et Regula, J.**, Use of tea extracts (*Camelia sinensis*) in jelly candies as polyphenols sources in human diet ,*Asia Pac J Clin. Nutr.* V. 16 (2007), 43-46.
- Guilland, J.C.**,2003. Répartition des vitamines dans la nature. In : Les vitamines dans les Industries Agro-Alimentaires. Bourgeois, C. Eds : Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 40-52.
- Gunstone, F.D.**, 2000. Lipids technologies and applications, AOCS Press, Illinois.
- Häkkinen, S.** Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. Thèse doctorale. KUOPIO, (2000), 93 p.
- Hamilton-Miller, J.M.T.** Anti-cariogenic properties of tea (*Camellia sinensis*), *J. Med. Microbiol.*, 50(4), (2001), 299-302
- Harwood, J. et Aparicio, R.**, 2000. Handbook of olive oil – Analysis and properties, An Aspen publication, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, 1-513.
- Haslam, E.** Practical Polyphenolics: from Structure to Molecular Recognition and Physiological Action, Cambridge University Press, Cambridge, (1998), 438p.
- Hayouni, E.A, Abedrabba, M, Bouix, M et Hamdi, M.** 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tuinsian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food chemistry*. **105**:1126-1134.
- Heim, E.K. Tagliaferro, A.R. et Bobilya, D.J.**, Flavonoid antioxydants: Chemistry, Métabolism and structure-activity relationships, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, V. 13, (2002), 572-584.
- Hindmarch, L., Quinlan, P.T., Moore, K.L., et al.**, The effects of black tea and other beverages on aspects of cognition and psychomotor performance. *Psychopharmacology (Berl)*., V. 139, n°3, (1998), 230-238.
- Horbourne, N, Marete, E, Jacquier, J.C et O'Riordan, D.** Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadow sweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). *Food chemistry and technology*.
- Imai, K et Nakachi, K.** Cross sectional study of effects of drinking green tea on cardiovascular and liver diseases, *BMJ.*, V. 310, n°6981, (1995), 693-696.
- Isobe, S., Zuber, F., Uemura K., Noguchi, A.**, 1992, A new twin-screw press design for oil extraction of dehulled sunflower seeds, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69 : 884-889.
- Jarvis, M.J.**, Does caffeine intake enhance absolute levels of cognitive performance, *Psychopharmacology (Berl)*., V. 110, n°1-2, (1993), 45-52.

- Jewett, B.**, 2003, Biodiesel powers up, *Inform*, 14 : 528-530.
- Jöbstl, E.**, Fairclough, J. P. A., Davies, A.P. et Williamson, M. P., Creaming in black tea, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 53, n°20, (2005), 7997-8002.
- Jovanovic, S. V.**, Hara, Y., Steenken, S. et Simic, M. G., Antioxidant potential of galocatechins, A pulse radiolysis and laser photolysis study, *Journal of American Chemical Society*, V.117, n°39, (1995), 9881-9888.
- Kadirvel, R.**, Sundaram, K., Mani S, Samuel S, Elango, N. et Panneerselvam, C., Supplementation of ascorbic acid and alpha-tocopherol prevents arsenic-induced protein oxidation and DNA damage induced by arsenic in rats. *Hum Exp Toxicol*, V. 26, (2007), 939-946
- Kanner J.**, Lapidot T., 2001. *Free Radical Biol. Med.*, 31,1388-1395.
- Karleskind, A.**, 1992. *Manual des corps gras*. Paris, Lavoisier, 787p.
- Karleskind, A.**, 1996, *Oils and fats manual Vol. 1*, Lavoisier TEC & DOC, Paris
- Karleskind, A.** TEC & DOC, Lavoisier, Paris, 2, pp. 1198-1218.
- Kennedy, J. A.**, Munro, M. H. G., Powell, H. K. J., Porter, L. J. et Foo, L. Y., The protonation reactions of catechin, epicatechin and related compounds. *Aust. J. Chem.*, V. 37, n°4, (1984), 885-892.
- Khokhar, S.**, Magnúsdóttir, S. G. M. Total phenol, catechin and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom *J. Agric. Food Chem.* 50, 565, 2002
- Kiritsakis, A.K** et Christie, W.W. 2000. *Analysis of Edible Oils*. In: *Handbook of Olive Oil – Analysis and Properties – An Aspen Publication*, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland, USA, 129-158.
- Kiritsakis, A** et Markakis, P. (1987) Olive oil: a review. *Adv. Food Res*, 31: 453-482.
- Kohlmeier, L.**, Weterings, K.G., Steck, S., et al. Tea and cancer prevention: an evaluation of the epidemiologic literature, *Nutr. Cancer.*, V. 27, n°1, (1997), 1-13.
- Kreofsky, T.**, Schlager, J.W., Vuk-pavlovic, Z., Abraham, R.T and Rohrbach, M.S., 1992. Condensed tannin promotes the release of arachidonic acid from rabbit resident alveolar macrophages. *Am. J. Resir. Cell. Mol. Biol.* 7 : 172 - 181.
- Krief, S.**, *Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observation de l'alimentation de chimpanzé en Ouganda, activités biologiques et étude chimique de plantes consommées*, Thèse de Doctora, Brunoy, (2003), 237p.
- Krisa, S.**, Waffo Teguo, P., Deffleux, G., Huguet, F., M'rillon, J.M., Production, purification et activité biologique des stilbènes extraits des cultures cellulaires de *Vitis vinifera* L., *Bull. Soc. Pharm.*, V. 136, (1997), 7-18.

- Lawson, A.M.**, 2006. Etude phytochimique d'une Fabacée tropicale, *Lonchocarpus nicou*, évaluation biologique préliminaire. Thèse de doctorat, spécialité: science de la vie et de la santé, science pharmaceutique phytochimie, biologie
- Lazouni, H.A.**, Ben mansour, A., Chabane Sari, D et Smahi, E., 2006. Valeur nutritives et toxicité du *Foenicululum nillier*. *Afrique science*. **02**: 94-101.
- Lessieur.**, 1991. Raffinage des corps gras. Documentation n°2 .
- Lu, Y.**, Guo, W.-F. et Yang, X.-Q. Fluoride Content in Tea and Its Relationship with Tea Quality, *J. Agric. Food Chem.*, V. 52, n°14, (2004), 4472-4476
- Luczaj, W** and Skrzydlewska, E., Antioxidative properties of black tea. *Prev. Med.*, V. 40, n°6, (2005), 910-918.
- Mabry, T.J** and Ulubelen, A., 1980. Chemistry and utilization of phenylpropanoids including flavonoids, coumarins and lignans. *J. Agric. Food Chem.* 28 : 188 - 196.
- Macheix, J. J.**, Fleuriet, A. et Billot, J., *Fruit phenolics*, CRC press, Boca Raton, (1990), 378p.
- Macheix, J. J.**, Fleuriet, A. et Christian J.A., *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importances économiques*. Collection biologie, Presses polytech. Et universitaires Romandes, (2005), 192p.
- Mariage Frères**, *L'Art du Thé*, M. Frères, (1992), 103 p.
- Matsuura, H.**, Hokura, A., Katsuki, F., Itoh, A. et Haraguchi, H., Multielement determination and speciation of major-to-trace elements in black tea leaves by ICP-AES and ICP-MS with the aid of size exclusion chromatography, *Anal. Sci.*, V. 17 n°3, (2001), 391-398.
- Mazoyer, M.**, et al., 2002. *Larousse agricole : le monde agricole au XXI<sup>ème</sup> siècle*. Québec, Larousse, 767 p.
- Mittelbach, M.**, Schober, S., 2003, The influence of antioxidants on the oxidation stability of biodiesel, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 80 : 817-823.
- Mompon, B.**, Lemaire, B., Mengal, P. et Surbed, M. (1998). *Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle*. Les colloques, n°87, Bordeaux (France), Edition. INRA, Paris.
- Moreau, F.**, *Alcaloïdes et plantes alcaloïfères*, Puf, 3<sup>ème</sup> édition, Paris, (1964), 158 p.
- Mossion, A.**, *Etude de la composition minérale et des liqueurs de thé et de leurs caractéristiques organoleptiques : Influence des paramètres physico-chimiques de l'eau*, Thèse de Doctorat, Université de Toulouse, (2007), 213p.
- Mukhtar, H.** et Ahmad, N., Green tea in chemoprevention of cancer, *Toxicol. Sei.*, V. 52, n°2, (1999), 111-117.

- Murray**, J.C., Burch, J.A., Streilein, R.D., Lannacchione, M.A, Hall, R.P. et Pinnell, S.R., A topical antioxidant solution containing vitamins C and E stabilized by ferulic acid provides protection for human skin against damage caused by ultraviolet irradiation, *J. Am. Acad Dermatol*, V. 59, (2008), 418-425.
- Muthumani**, T. et Kumar, R. S. S., Influence of fermentation time on the development of compounds responsible for quality in black tea, *Food Chem.*, V.101 n°1, (2006), 98-102.
- Muzykantov**, V.R., Targeting of superoxide dismutase and catalase to vascular endothelium, *J. Control Release*, V. 71, n°1, (2001), 1-21.
- Nacoulma-Ouedraogo**, G., Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso, cas du plateau central, Tome I et II Thèse de Doctorat d'Etat. Université d'Ouagadougou, (1996).
- Nacz**, M. et Shahidi, F., Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Article in press, (2006).
- Nakachi**, K., Matsuyama, S., Miyake, S., et al., Preventive effects of drinking green tea on cancer and cardiovascular disease: epidemiological evidence for multiple targeting prevention. *Biofactors.*, V. 13, n°1-4, (2000), 49-54.
- Nawrot**, P., Jordan, S., Eastwood, J., et al. Effects of caffeine on human health, *Food Addit Contam.*, V. 20, n°1, (2003), 1-30.
- Nitsch**, J. P et Nitsch, C. 1961. Synergistes naturels des auxines et des giberellines. *Bull. Soc. Fr.* 26, 2237-2240.
- Odegard**, K. E. and Lund, W., Multi-element speciation of tea infusion using cation-exchange separation and size-exclusion chromatography in combination with inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, V. 12, n°4, (1997), 403-408.
- Okamura**, H, Mimura, A., Yakou, Y., Niwano, M., and Takahara, Y., 1993. Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata* *Phytochem.* 33 : 557 – 561
- Okuda** T, Kimura, Y., Yoshida, T., Hatano, T., Okuda, H and Arichi, S. 1983. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. I. Inhibitory effects of lipid peroxidation in mitochondria and microsome of liver. *Chem. Pharm. Bull.* 31 : 1625 - 1631.
- Owen**, P. et Johens, T., 1999. Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of Ethnopharmacology.* **64**: 149-160.
- Perret**, C., Analyse des tannins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite pour Botrytis

- cinerea, Tjèse de Doctora, (2001).
- Perrin, J-L.** (1992a). Détermination de l'altération dans « Manuel des corps gras ».
- Pietta, P.G.**, Flavonoids as antioydanants, *Journal of natural products*, V. 63, (2000), 1035-1042.
- Ranalli, A.**, Lucera, L. et Contento, S. (2003). Antioxidizing potency of phenol compounds in olive oil mill wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, pp.7636-7641.
- Ravn, H.**, Andary, C., Kovacs, G and Molgaard, P., 1984. Caffeic acid esters as in vitro inhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. *Biochem. Syst. Ecol.* 17 : 175 - 184.
- Rernadini, E.**, 1973. « Oil and fat technology ». Technologie. S.R.L, 1973.
- Résémy, C.**, 2001. Des questions complexes. Equation-Nutrition N°12. (APRIFEL). Inra.
- Ribéreau-Gayon, P.**, Les composés phénoliques des végétaux, Ed. Dunod Paris, (1968), 254 p.
- Richard, F.** (1992). Antioxygènes dans « *Manuel des corps gras* ». Karleskind, A. TEC & DOC, Lavoisier, Paris, 2, pp. 1228-1240.
- Sabat, R.**, Guthmann, F. et Rustow, B., Formation of reactive oxygen species in lung alveolar cells: effect of vitamin E deficiency. *Lung*, V. 186, (2008), 115-122.
- Sakakibara, H.**, Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H. et Kanazawa, K., Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas, *J. Agric. Food Chem.*, V. 51, (2003), 571–581.
- Sanchez-Alonso, I.**, Jimenez-Escrig A., Saura-Calixto F., Borderias A. J., 2007. *Food Chem.*, 101,372-378.
- Sarni-Manchado, P.** et Cheynier, V., Les polyphénols en agroalimentaire, Ed Tec et Doc, Paris, (2006), 258p.
- Scalbert, A.**, 2001. Polyphénols du thé : Sources alimentaires, consommation et biodisponibilité
- Schuh, C.** et Schierberle, P., Characterization of the key aroma compounds in the beverage prepared from Darjeeling black tea: Quantitative differences between tea leaves and infusion, *J. Agric. Food Chem.*, V. 54, n°3, (2006), 916-924.
- Schwarz, A.** et Schweppe, R., Thé vert, Elixir de vie pour le coprs et l'esprit, Vigot, (Mai, 2008), 96 p.
- Selvendran, R. R.** et Perera, B. P. M., Chemical composition of tea leaf cell-wall. *Chem. Ind.*, V. 21, (2007), 577-578.
- Servili, M.**, Selvaggini, R., Esposito, S., Taticchi, A., Montedoro, G. et Morozzi, G., Health

- and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*, (2004), 113-127.
- Sesso**, H.O., Gaziano, J.M., Buring, J.E., et al., Coffee and tea intake and the risk of myocardial infarction, *Am. J. Epidemiol.*, V. 149, n°2, (1999), 162-7.
- S.F.A**: Société Française des Antioxydants. 2005. Conte rendu de la conférence polyphénols 2005 (23 et 24 novembre 2005). Institut des corps gras. ITERG.
- Shimoda**, M., Shigematsu, H., Shiratsuchi, H. et Osajima, Y., Comparison of the odor concentrates by SDE and Adsorptive column method from green tea infusion, *J. Agric. Food Chem.*, V. 43, (1995), 1616-1620.
- Silabdi**, S., extraction, purification et caractérisation d'antioxydants naturels en vue d'une valorisation nutritionnelle. Mémoire fin d'étude. Blida 2010.
- Singh**, U., Devaraj, S. et Jialal, L., Vitamin E, oxidative stress, and inflammation. *Annu. Rev. Nutr.*, V. 25, (2005), 151-174.
- Smail**, s. H., 1994. Evolution des teneurs en vitamines E de l'huile de soja. Thèse d'ingénieur, INA.
- Spiro**, M. et Lam, P.-L. L., Kinetics and equilibria of tea infusion. Part 12. Equilibrium and kinetic study of mineral ion extraction from black Assam Bukial and green Chun Mee teas, *Food Chem.*, V. 54, n°4, (1995), 393-396.
- Stahl**, W. et Sies, H., Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med*, V. 24, (2003), 345-51.
- Stavric**, B and Matula, T.I., 1992. Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. p. 274 - 294. In : ONG ASH and PACKER L eds. Lipid soluble and antioxidants: Biochemistry and clinical applications. Basel : Birkhauser Verlag
- Stevanovic**, T., Automne : Chimie du bois. CHM-22170, Université Laval, Québec, Canada, (2005), 6.6-6.20
- Tanizawa**, H., Toda, S., Sazuka, T., Taniyama, T., Hayashi, T., Arichi, S., et al. Natural Antioxidants. I. Antioxidative components of tea leaf (*Thea sinensis* L.). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, V. 32, (1984), 2011-2014
- Tissut**, M., 1967. Etude spectrophotométrique et chromatographique des flavonols du Hêtre (*Fagus sylvatica* L.). *Phytochemistry*. 6:1291-1296.
- Traber**, M.G., Frei, B. et Beckman, L.S., Vitamin E revisited: do new data validate

- benefits for chronic disease prevention? *Curr Opin. Lipido.*, V. 119, (2008), 30-38.
- Uzzan, A.**, 1984. «Propriétés et emploi des huiles et graisses». In «Manuel d'alimentation humaine» JACQUOT.R, et al. Tome 2, Edition : ESF, Paris, 226-230.
- Uzzan, A.** (1992) «Olive et huile d'olive». In «Manuel des corps gras» Karleskind, A. Tome 1, Ed : Lavoisier, Paris, 221-228.
- Vincent, H.K.** and Taylor, A.G., Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans, *Int. J. Obes.*, (Lond),V. 30, (2006), 400-418.
- Visioli, F.**, Romani, A., Mulinacci, N., Zarini, S., Conte, D., Vincieri, F. et Galli, C. (1999). Antioxidants and other biological activities of olive mill waste waters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, pp. 3397-3401.
- Wagialla, A. K.M** et al., 1984. « Une etude comparative du raffinage en batch et continu de l'huile de coton du Soudan ». *J. Am. Oil Chem, Soc*, 1984, Vol.61, n°5, pp 901.
- Wassmann, S.**, Wassmann, K., and Nickenig, G., Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells, *Hypertension*, V. 44, n°4, (2004), 381-6.
- Yamanishi, T.** and Kobayashi, A., Progress of tea aroma chemistry in Flavor Chemistry: Thirty Years of Progress. Ed. R. Teranishi, E. L. Wick and I. Horstein. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, (1999), 135-145 p.
- Yao, L.H.**, Caffin, N., D'Arcy, B., Jiang, Y.M., Shi, J., Singanusong, R., et al. Seasonal variations of phenolic compounds in Australia-grown tea (*Camellia sinensis*), *J. Agric. Food Chem.*, V. 53, (2005), 6477-6483.
- Yusuf, Y.**, 2006. *Trends Food Sci. Tech*,17, 64-71.
- Zeeb, D. J.**, Nelson, B. C., Albert, K. et Dalluge, J. J., Separation and Identification of Twelve Catechins in Tea Using Liquid Chromatography/Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry, *Anal. Chem.*, V.72, n°20, (2000), 5020-5026.
- Zhu, Q. Y.**, Zhang, A., Tsang, D., Huang, Y. et Chen, Z. Y., Stability of Green Tea Catechins, *J. Agric. Food Chem.*, V. 45, n°12, (1997), 4624-4628.
- Zhu, X.**, Chen, B., Ma, M., Luo, X., Zhang, F., Yao, S., Wan, Z., Yang, D. et Hang, H., Simultaneous analysis of theanine, chlorogenic acid, purine alkaloids and catechins in tea samples with the help of multidimension information of on-line high performance liquid chromatography/electrospray-mass spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, V. 34, n°3, (2004), 695-704.

---

# *Annexes*

---

## *Etude bibliographique*

### *1. Matières végétales utilisées :*



Thé vert (sèche)



Le tournesol



Les feuilles de thé vert



L'huile de tournesol

2. Matériels de laboratoire :



Balance de précision



Balance



Agitateur magnétique



Spectrophotométrie



Etuve



Centrifugeuse

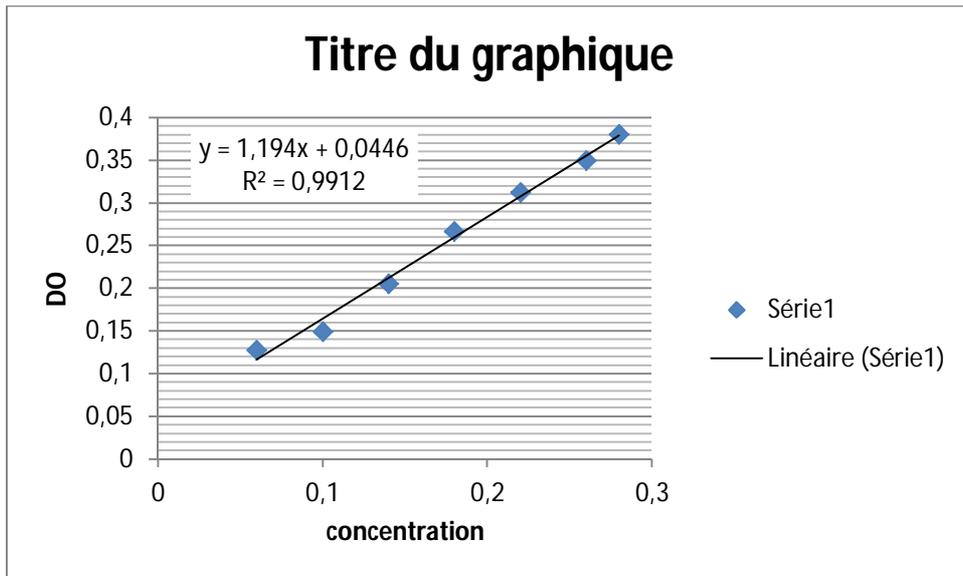


Rotavapeur rotatif



**a.** Filtration à travers tissus

**b.** Filtration sur papier Watman.



**Figure :** courbe d'étalonnage d'acide gallique.



**Figure :** La réaction pour la détermination de l'acidité

