

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences

Département de Chimie



MEMOIRE DE MASTER

En Chimie

Spécialité : Chimie des produits naturels

DOSAGE DU SORBATE DE POTASSIUM DANS LES DENREES ALIMENTAIRES PAR SPECTROMETRIE ATR-IRTF

Par

ROUABAH Sara, DIB Faiza

Devant le jury composé de :

Pr. BOUZIDI Naima	Professeur à USD-Blida 1	Présidente
Dr. ZAHY Mohamed Redha	MCB à USD-Blida 1	Examineur
Pr. DAGHBOUCHE Yasmina	Professeur à USD-Blida 1	Promotrice
Dr. BOUNAAS Karima	MAB à USB-Blida 1	Co-promotrice

Blida, 15 Septembre 2021

Résumé

L'objectif principal de ce travail est de contribuer au développement des applications analytiques quantitatives de la spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier en mode réflexion totale atténuée (ATR-IRTF). Cette méthode analytique simple, rapide, fiable et disponible est utilisée pour la quantification du conservateur sorbate de potassium dans certaines denrées alimentaires en utilisant la méthode de calibration monovariée.

Les valeurs d'absorbance, en considérant la bande spécifique du sorbate de potassium à 1649 cm^{-1} corrigées avec une ligne de base comprise entre 1657 cm^{-1} et 1640 cm^{-1} , ne donnent pas des meilleurs paramètres analytiques avec une valeur de Coefficient de Variance (%) et Erreur relative (%) respectivement entre 32-49 et -104-188 (%). Ceci est dû à la présence d'un chevauchement entre la large bande spécifique d'eau à 1602 cm^{-1} et celle du sorbate de potassium.

L'utilisation du spectre de la première dérivée (d'ordre un) du spectre directe (d'ordre zéro) à 1649 cm^{-1} permet d'améliorer la précision des spectres afin d'apporter une solution au problème lié à l'interférence des deux bandes et de vérifier la possibilité de les séparer.

Mots clés : Denrées alimentaires, Conservateurs, Sorbate de potassium, Teneur réglementaire, Spectrométrie IRTF, Calibration monovariée et Spectre dérivé.

Abstract

The main objective of this work is to contribute to the development of quantitative analytical applications of Fourier transform infrared spectrophotometry in attenuated total reflection mode (ATR-IRTF). This simple, fast, reliable and available analytical method is used for the quantification of the preservative potassium sorbate in certain foodstuffs used for daily consumption.

The absorbance values, considering the specific band of potassium sorbate at 1649 cm^{-1} corrected with a baseline between $1657\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$, do not give the best analytical parameters with a value of Coefficient of variance (%) and Relative error(%) respectively between 32-49 and -104-188 (%). This is due to the presence of an overlap between the broad specific band of water at 1602 cm^{-1} and that of potassium sorbate.

The use of the spectrum of the first derivative (of order one) of the direct spectrum (of order zero) at 1649 cm^{-1} makes it possible to improve the precision of the spectra in order to provide a solution to the problem related to the interference of two bands and check the possibility of separating them.

Key words: foodstuffs, preservatives, potassium sorbate, regulatory content, IRTF spectrometry, monovariate calibration and derived spectrum.

المخلص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو المساهمة في تطوير التطبيقات التحليلية الكمية لتحويل فورييه للقياس الطيفي بالأشعة تحت الحمراء في وضع الانعكاس الكلي المخفف (ATR-IRTF). تُستخدم هذه الطريقة التحليلية البسيطة والسريعة والموثوقة والمتاحة لتقدير مادة سوربات البوتاسيوم الحافظة في بعض المواد الغذائية المستخدمة للاستهلاك اليومي.

قيم الامتصاص، مع الأخذ في الاعتبار النطاق المحدد لسوربات البوتاسيوم عند 1649 سم⁻¹ -1 المصححة بخط أساس بين 1640-1657 سم⁻¹، لا تعطي أفضل المعلمات التحليلية مع قيمة معامل التباين (%) و الخطأ النسبي (%) على التوالي بين 32-49 و 104-188 (%). ويرجع ذلك إلى وجود تداخل بين النطاق الواسع للمياه عند 1602 سم⁻¹ وتلك الموجودة في سوربات البوتاسيوم. إن استخدام طيف المشتق الأول (من الدرجة الأولى) للطيف المباشر (من الدرجة صفر) عند 1649 سم⁻¹ يجعل من الممكن تحسين دقة الأطياف من أجل توفير حل للمشكلة المتعلقة بتداخل نطاقين وتحقق من إمكانية فصلهما.

الكلمات المفتاحية: المواد الغذائية، المواد الحافظة، سوربات البوتاسيوم، المحتوى التنظيمي، مطياف IRTF، المعايير أحادية المتغير والطيف المشتق.

The background of the page is a light blue color with a white rectangular frame. Inside the frame, there are several pink roses of various stages of bloom, some fully open and some as buds. The roses are arranged around the text, with some at the top, some on the sides, and some at the bottom. The text is centered within the white frame.

Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier **Dieu** et le **Tout-Puissant** pour la santé, la volonté et le courage et surtout la patience tout au long du chemin de nos études et l'exécution de ce modeste travail.*

*Nous adressons le grand remerciement à notre promotrice **Mme DAGHBOUCHE Yasmína**, pour ses orientations, ses précieux conseils, sa gentillesse et son aide malgré ses multiples occupations*

*Nos vifs remerciements vont aussi à notre Co-promotrice **Mme BOUNAAS Karíma** et **Mr FAKHAR Med** ainsi que **Mlle Nachida**, qui ont soutenus par leurs précieux conseils, leurs aides, leurs disponibilités, leurs gentillesse et leurs encouragements durant de long mois*

*Une partie de ce travail a été réalisé au Laboratoire de chimie des produits naturels et biomolécules, sous la direction du **Mr EL HATTAB Med**, Vous êtes des responsables, sympathiques et affectueux. Nous gardons un meilleur souvenir de l'accueil qui nous a été réservé dans le laboratoire. Veuillez accepter l'expression de notre profond respect.*

*Nous remercions également **Mme BOUZIDI Naíma** et **Mr ZAHÍ Med Redhad** d'avoir accepté de juger ce modeste travail et participer au jury.*



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

Aux personnes les plus chères au monde mes chers parents,

À ma très chère mère Nabila,

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À mon très chère père Kamel,

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

À mes très chers grands parents,

Aïssa et Aïcha pour leurs gentillesse et leurs soutiens je souhaitera qu'ils trouvent ici le témoignage de mon profond, respect et gratitude.

À mon frère Med Amine

À ma sœur Serine

À tous mes oncles et mes tantes

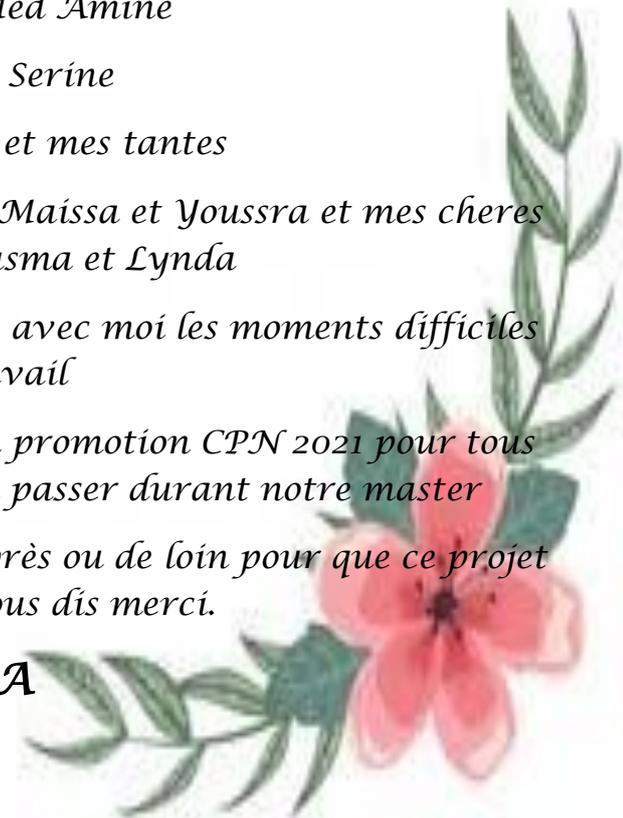
À mes amis Youcef, Wissam, Aïcha, Maïssa et Youssra et mes chères cousine Imane, Nasma et Lynda

À mon binôme Faïza qui a partagée avec moi les moments difficiles de ce travail

Et sans oublier mes camarades de la promotion CPN 2021 pour tous les agréables moments quand n'a passer durant notre master

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.

SARA





Dédicace

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire " Ya Kayoum "

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère SOUAAD

A mon père MOUHAMED, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

Que dieu les gardes et les protège.

A mon frère, mon bras droit ABDELKADER.

A toute la famille DIB et SANOUNI.

A mes chères amies,

Pour leurs soutiens et leurs patiences aux moments difficiles de mon travail.

Ainsi qu'a tous mes professeurs, enseignants.

Enfin, a tous mes ami(e)s et mes collègues de la promotion,

2020/2021

Faiza



Liste des abréviations

ATR :Attenuated total reflectance (Réflexion Totale Atténuée)

CCM : Chromatographie sur couche mince

cm : Centimètre

CLHP : Chromatographie en phase liquide à haute performance

DJA : Dose journalière admissible

E : Europe

EtOH:Éthanol

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FTIR :Fourier transformInfrared (Infrarouge à transformée de Fourier)

IR:Rayonnementinfrarouge

JECFA: Joint expert commitee for food additives

Mg:Milligram

µL: Micro-litre

ml: Millilitre

MIR : L'infrarouge moyen

Nm : Nanomètre

OMS : Organisation mondiale de la santé

SIN :Système internationale de numérotation des additifs alimentaires

UV : Ultra- violet

Liste des figures

Première partie

Figure I.1 : Les catégories d'additifs alimentaires selon leurs fonctions.....	17
Figure II.1 : Structure chimique de l'acide benzoïque SIN210.....	21
Figure II.2 : Structure chimique des parabènes.....	22
Figure II.3 : Structure chimique de l'acide sorbique SIN201.....	22
Figure II.4 : Structure du sorbate de potassium.....	24
Figure II.5 : Grains du sorbate de potassium.....	24
Figure III.1 : Domaines de l'infrarouge dans le spectre électromagnétique.....	29
Figure III.2 : Interféromètre de Michelson.....	32
Figure III.3 : Principe de la transmission.....	32
Figure III.4 : Principe de l'ATR.....	33
Figure III.5 : Schéma de la chimiométrie.....	37

Deuxième partie

Figure II.1 : Appareil d'analyse ATR-FTIR.....	43
Figure II.2 : Protocoles d'extraction du sorbate de potassium des échantillons commerciaux.....	44
Figure III.3 : Spectres comparatives de sorbate de potassium sous forme de poudre et des solutions étalons du sorbate dissout dans l'éthanol absolu et l'éthanol 96% à une concentration 10mg.mL ⁻¹	46
Figure III.4 : Spectres comparatives des extraits d'échantillons réels dans l'éthanol absolu et l'éthanol 96%	46
Figure III.5 : Spectres des échantillons commerciaux sans traitement préalable et spectre d'eau.....	48
Figure III.6 : Les différentes étapes de la création d'une méthode de calibration monovariée dans de TQ Analyst.....	51
Figure III.7 : Spectres de variances et moyen.....	55

Figure III.8: Spectre ATR-IRTF du sorbate de potassium en poudre.....	56
Figure III.9: Spectres ATR-IRTF des extraits d'échantillons et de la solution étalon du sorbate de potassium dans l'éthanol absolu(10 mg.mL ⁻¹)et le zoom des 3 zones sélectionnées pour la calibration monovariée	57
Figure III.10: Résultat de la prévision de concentration inconnue « X » pour un extrait d'échantillon par le logiciel TQ Analyst.....	58
Figure IV.11 : Théorie des ajouts dosés.....	61
Figure IV.12 : Protocole de préparation des extraits d'échantillons pour les deux concentrations 2 et 6 mg.mL ⁻¹	63
Figure IV.13 : protocole de préparation des extraits d'échantillon de concentration 8mg.mL ⁻¹	64
Figure IV.14 : Spectres ATR-IRTF des échantillons par la méthode des ajouts dosés de concentration 2mg.mL ⁻¹	64
Figure IV.15 : Spectres ATR-IRTF des échantillons par la méthode des ajouts dosés de concentration 6mg.mL ⁻¹	65
Figure IV.16 : Spectres ATR-IRTF des échantillons par la méthode des ajouts dosés de concentration 8mg.mL ⁻¹	65
Figure V.17 : Spectres ATR-IRTF de la première dérivée de la série d'étalonnage du sorbate de potassium préparée dans l'éthanol absolu pour un domaine de concentration compris entre 0,5 – 10mg.mL ⁻¹	68
Figure V.18 : Spectres ATR-IRTF de la première dérivée des extraits d'échantillons réels.....	69

Liste des tableaux

Première partie

Tableau I.1: Evaluation de l'utilisation des additifs alimentaires à travers les âges.....	6
Tableau I.2 : classes des additifs alimentaires et leurs codifications	12
Tableau I.3 : les 27 catégories des additifs alimentaires et leurs définitions.....	13
Tableau II.1 : L'utilisation du sorbate de potassium dans certaines denrées alimentaires avec leurs concentrations maximales.....	24

Deuxième partie

Tableau III.1: Paramètres de qualité de calibration des différents modes proposés dans les 3 zones.....	57
Tableau III.2: Résultats de quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels en considérant les quatre optimums modèles de la zone 3 de 1691 - 1581 cm^{-1}	59
Tableau III.3: L'erreur relative des concentrations obtenues par la quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels en considérant les quatre optimums modèles de la zone 3 de 1691 - 1581 cm^{-1}	59
Tableau III.4: Paramètres analytiques des modèles choisis se la zone 3 1691 - 1581 cm^{-1}	60
Tableau IV.5: Résultats de calcul du pourcentage de récupération par la méthode des ajouts dosés en utilisant les spectres d'ordre zéro.....	66
Tableau V.6: Paramètres de qualité de calibration des différents modèles proposés par les spectres de la première dérivée.....	70
Tableau V.7: paramètre analytiques des modèles de la zone à 1658-1648 cm^{-1}	71
Tableau V.8: Résultats de quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels en considérant les quatre optimum modèles de la zone de 1658 – 1648 cm^{-1} en utilisant les spectres de la première dérivée.....	73
Tableau V.9 : Résultats de calcul du pourcentage de récupération par la méthode des ajouts dosés en utilisant les spectres de la première dérivée.....	74

TABLE DES MATIERES

RESUME (français, arabe, anglais)

REMERCIEMENT

DEDICACS

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE..... 14

PREMIERE PARTIE :RECHERCHE BEBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES ADDITIFS ALIMENTAIRES

I.1. Historique..... 6

I.2. Définition 8

I.3. Rôle des additifs alimentaires 9

I.4. Conditions d'utilisation des additifs alimentaires 9

I.5. Conditions de commercialisation des additifs alimentaires..... 10

I.6. Origine des additifs alimentaires 10

I.7. Codification des additifs alimentaires..... 10

I.8. Classification des additifs alimentaires 13

CHAPITRE II :GENERALITES SUR LES CONSERVATEURS

II.1. Historique 19

II.2. Définition 19

II.3. Rôle..... 19

II.4. Classification..... 20

II.5. Justification technologiques de conservateur : cas du sorbate de potassium..... 23

II.6. Propriétés physiques et chimiques du sorbate de potassium ... 23

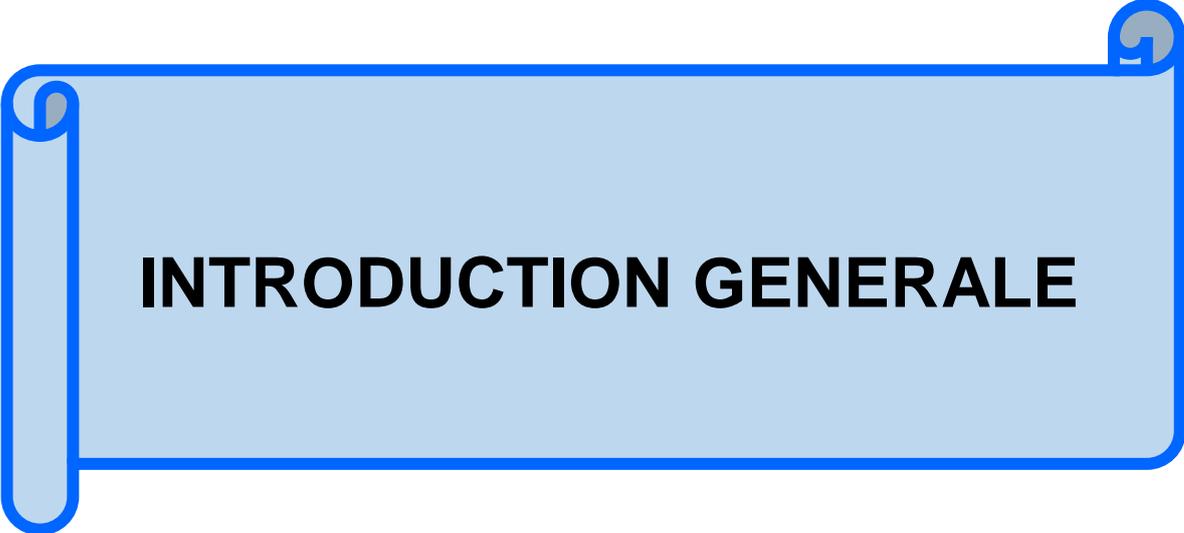
II.7. Utilisation du sorbate de potassium 24

II.8. Méthodes d'extraction et d'analyse du sorbate de potassium .. 25

CHAPITRE III :LA SPECTROPHOTOMETRIE INFRAROUGE

III.1. Principe de la spectrométrie infrarouge 29

III.2. Instrumentations	30
III.3. Spectromètres a transformée de Fourier (FTIR)	30
III.4. Théorie de la dérivation de Fourier	37
DEUXIEME PARTIE :PARTIE EXPERIMENTALE	
I. Introduction	42
II. Matériels et méthodes	42
III. Résultats et discussions.....	45
IV. Analyse par la méthode des ajouts dosés.....	60
V. Analyse des extraits d'échantillons réels en utilisant les spectres de la premiere dérivée.....	Erreur ! Signet non défini.
Conclusion générale	76
Référence bibliographique	77



INTRODUCTION GENERALE

Les conservateurs constituent un thème récurrent d'interrogations et de débat, chaque fois que ce thème est abordé, de nombreux consommateurs associent ces substances à des produits chimiques dangereux, présents dans les aliments, les produits cosmétiques et les médicaments, rappelons que cette notion de conservation, en l'occurrence des denrées alimentaires, a vu le jour il y a plusieurs siècles, lorsque l'homme a utilisé pour la première fois le sel (salaison) et la fumée (fumage) pour empêcher la viande et le poisson de se dégrader. Actuellement, plus de 300 additifs sont utilisés dans l'Union européenne, classés en une vingtaine de catégories selon leurs effets technologiques sur l'aliment l'OMS et FAO (1955).

Malgré certaines réticences de la part des consommateurs, les conservateurs constituent aujourd'hui une part indispensable dans les produits que nous consommons. Ceci est dû en partie à la demande croissante des consommateurs en faveur d'un choix plus vaste de produit.

Aujourd'hui, de plus en plus d'ouvrages et de spécialistes de la santé dénoncent la toxicité d'un grand nombre d'additifs alimentaires, qui tout en étant autorisés, sont souvent dangereux pour notre santé, peu testés mais très utiles pour les industriels. Un grand nombre de ces additifs sont chimiques et rajoutés intentionnellement par les industries agroalimentaires.

L'alimentation joue un rôle vital dans l'organisme car elle est la source d'énergie de toutes les fonctions cellulaires. Cependant, les aliments peuvent contenir des additifs nocifs potentiellement toxiques que généralement l'humain ignore. Cette idée est due à une méconnaissance des effets, des conditions d'emploi, des structures et des réglementations qui régissent leurs utilisations pour une meilleure sécurité du consommateur.

Un conservateur est une substance chimique naturelle ou synthétique qui est communément ajoutée à des produits tels que des produits agroalimentaires pour empêcher la décomposition par croissance microbienne ou par des modifications chimiques indésirables et de prolonger leur durée de vie [1,2].

L'ajout des agents de conservation à ces produits, en particulier ceux qui ont une teneur en eau plus élevée, est essentiel pour éviter l'altération et la dégradation par les microorganismes pendant le stockage et la durée d'utilisation.

Les conservateurs sont introduits dans les produits pour empêcher la croissance des bactéries, des levures et des moisissures susceptibles de provoquer des maladies.

La conservation chimique ne peut totalement empêcher les produits de s'altérer, mais ralentit le processus de détérioration causé par les microorganismes.

Les agents conservateurs sont nombreux : leur choix se fera en fonction de la formulation des microorganismes visés et de la concentration nécessaire compte tenu de la toxicité potentielle de bon nombre d'entre eux. Il est entendu que les agents conservateurs préviennent ou luttent contre la contamination microbienne [3].

Les agents de conservation chimiques, appartenant au grand groupe des additifs alimentaires, sont des produits ayant une action bactériostatique et/ou fongistatique prolongeant ainsi la durée de conservation des aliments dans lesquels ils sont additionnés [4].

Le sorbate de potassium (E 202) qui fait l'objet de notre étude est un des agents de conservation inscrits sur la liste des additifs établie par l'Union Européenne mais leur utilisation est soumise à des limitations concernant la nature des aliments et les doses maximales autorisées [5].

Cependant, le recours de plus en plus fréquent à ce conservateur en association ou séparément dans les denrées alimentaires est un motif d'inquiétude en raison des conséquences sur la santé humaine qui peuvent en découler (un pseudo allergie, une urticaire de contact). Il convient donc de s'interroger sur la qualité de ces derniers.

Pour ce faire, Il nous est paru opportun comme objectif général de notre étude d'effectuer un contrôle de qualité de ces denrées alimentaires.

Les principaux objectifs sont :

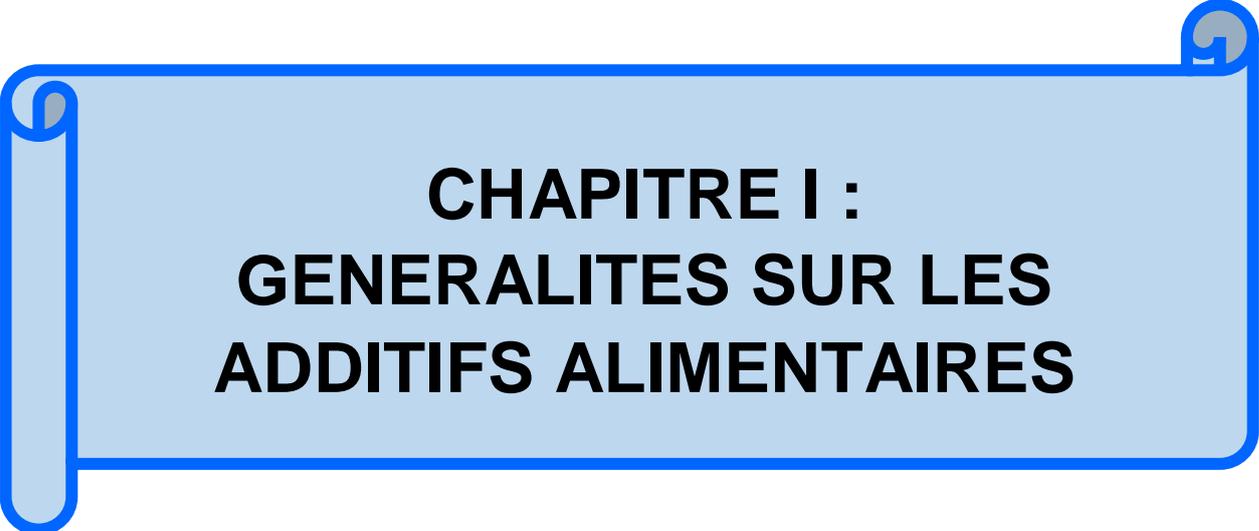
- Mettre au point une méthode d'analyse simultanée du sorbate de potassium.
- Valider la méthode en appliquant les principaux critères de validation.

Pour ce faire, notre étude sera focalisée autour de deux parties :

- Une première partie réservée aux généralités sur les additifs alimentaires, les conservateurs ainsi que sur le sorbate de potassium.
- Une deuxième partie consacrée à l'étude expérimentale où nous rapporterons la méthodologie suivie, les résultats obtenus et les commentaires qui en découlent.



**PREMIERE PARTIE :
RECHERCHE
BEBLIOGRAPHIQUE**



**CHAPITRE I :
GENERALITES SUR LES
ADDITIFS ALIMENTAIRES**

I.1. Historique

Depuis toujours l'homme cherche à préserver la qualité de sa nourriture en période d'abondance pour pouvoir être utilisé en période de rareté, diverses méthodes ont été utilisées ; le fumage, le séchage, la congélation par glaces naturelles mais aussi en ajoutant des substances aux denrées alimentaires telles que le sel (le premier conservateur des viandes et des poissons) ou le sucre en hautes concentration afin de prolonger la durée de vie des aliments [6].

Tableau I.1 : Evaluation de l'utilisation des additifs alimentaires à travers les âges.

4000 ans avant Jésus-Christ	Utilisation du sel, pour conserver les aliments rares (viandes par exemple),
1600 ans avant Jésus-Christ	Les hébreux qui utilisaient l'eau salée de la mer morte. Les Grecs et les Romains possédaient un art évolué de l'utilisation du sel mélangea des épices, de l'huile, du vinaigre, et connaissaient l'usage du salpêtre. En Égypte, ont utilisés des colorants et des arômes pour augmenter l'attrait de certains produits alimentaires et les Romains ont eu recours au salpêtre (ou nitrate de potassium), aux épices et colorants pour la conservation et l'amélioration de l'apparence des aliments [7],
Au 19ème siècle	Commence le développement industriel de l'alimentation, parallèlement avec la chimie et la microbiologie, c'est alors que de nouvelles molécules sont apparues « les additifs alimentaires » [8],
Dès l'antiquité	Utilisation du sel, pour conserver les aliments tel que la viande, le safran pour colorer ou encore l'utilisation de caroube en Egypte Ancienne pour apporter de la consistance aux plats [2],
Au XVIIème siècle	Découverte de l'Agar Agar au Japon,
Début du XIX	Utilisation des sulfites pour le traitement et la conservation, L'industrialisation des colorants en Amérique du Nord,
Au XXème siècle	Découverte des émulsifiants, des levures et des gélifiants, commercialisation massive des additifs dans les aliments. Les développements scientifiques dans l'alimentation et les avancées technologiques récentes ont abouti à la découverte de nouvelles substances qui peuvent remplir de nombreuses fonctions dans les denrées alimentaires,

Au début des années 60	Un laboratoire coopératif français publia une première étude sur des « Substances volontairement ajoutées aux aliments »,
1825	La pectine est isolée à partir d'extrait végétaux,
1830	Découverte de l'acide benzoïque,
1881	Extraction de l'alginate à partir d'algue brune,
1882	Synthèse du premier colorant alimentaire le jaune quinoléine,
1908	Découverte du glutamate de sodium,
1912	La notion des additifs chimique a fait son apparition, associée au principe de la liste positive d'autorisation en France,
1955	Comité mixte d'experts FAO/OMS a mis en place des spécifications concernant l'identité et la pureté d'agents inhibiteurs des micro-organismes, antioxydants et colorants alimentaires,
1961	Les additifs alimentaires sont maintenant contrôlés par la Commission du Codex Alimentarius,
1972	Un décret obligeant les industriels à inscrire sur leurs produits la liste des composants principaux et des produits d'addition,
1985	Établissement de la numération conventionnelle, Colorant (E100-E199) ; conservateur (E200-E299),
1988	Autorisation de l'utilisation des édulcorants,
1989	Système international de numérotation des additifs alimentaires est adopté par la commission du codex alimentarius et mis à jour régulièrement,

1993 La directive sur les colorants a été adoptée [7,9,10],

L'utilisation d'additifs alimentaires a permis aux industriels de présenter leurs produits sous leurs meilleures formes d'où l'emploi des premiers additifs chimiques destinés notamment à prévenir les dégradations microbiologiques des aliments, mais aussi à en moduler de nombreux aspects organoleptiques, la couleur en particulier [11],

Au 21ème siècle

Avec le progrès technologique et le développement de l'industrie agroalimentaire, une modification profonde a touché notre alimentation. L'emploi d'additifs alimentaires est devenu indispensable : « conservateurs, colorants, édulcorants de synthèse, antioxydants, aromatisants, agents émulsifiants, stabilisants, épaississants, gélifiants, enzymes, exhausteurs du goût ... » [12].

1.2. Définition

D'après le comité mixte FAO–OMS, un additif alimentaire est une substance soit nutritive ou non, ajoutée intentionnellement aux denrées alimentaires le plus souvent en faible quantité pour remplir certaines fonctions technologiques ; préserver ou améliorer l'innocuité, la fraîcheur, le goût, la texture ou l'aspect des produits finis sans présenter de danger pour la santé, aux doses utilisées [13].

1.2.1. Définition légale des additifs alimentaires dans le codex alimentarius

Les additifs alimentaires sont définis comme toute substance (dotée ou non d'une valeur nutritionnelle, obtenue par extraction ou synthétisée) ajoutée aux denrées alimentaires, non consommée comme un aliment en soi et non employée comme un ingrédient caractéristique de l'aliment, dont l'addition intentionnelle à l'aliment pour un but technologique dans la fabrication, le traitement, la préparation, l'emballage, le transport ou le stockage devient, ou peu s'attendre raisonnablement à devenir, lui ou un de ses dérivés, directement ou indirectement, un composant de cet aliment. Ils ne remplissent aucune fonction dans le produit fini mais peuvent subsister à l'état de traces. Ils sont rigoureusement réglementés et parmi ces critères généraux d'utilisation, ils doivent s'avérer utiles, sûre et ne doivent pas induire le consommateur en erreur [14].

I.2.2. Définition des additifs alimentaires dans la réglementation algérienne

Dans le Journal Officiel de la République Algérienne N° 30 du décret exécutif n°12 (Annexe n°2), un additif alimentaire est défini comme toute substance :

- Qui n'est normalement ni consommée en tant que denrée alimentaire en soi, ni utilisée comme ingrédient caractéristique d'une denrée alimentaire.
- Qui présente ou non une valeur nutritive.
- Dont l'adjonction intentionnelle à une denrée alimentaire dans un but technologique ou organoleptique à une étape quelconque de la fabrication, de la transformation, de la préparation, du traitement, du conditionnement, de l'emballage, du transport ou de l'entreposage de cette denrée affecte ses caractéristiques et devient elle-même ou ces dérivés, directement ou indirectement, un composant de cette denrée alimentaire [15].

Il ne faut pas confondre les additifs alimentaires avec les auxiliaires de fabrication ou auxiliaires technologiques qui sont également des substances ajoutées en quantités minimales aux denrées alimentaires au cours de leur fabrication mais par opposition aux additifs alimentaires qui ne sont plus présents dans le produit fini ou seulement sous forme de résidu techniquement inévitable et ne font pas partie des constituants de la denrée alimentaire [16].

I.3. Rôle des additifs alimentaires

Les additifs alimentaires ont des fonctions particulières, tel que :

- Garantir la qualité sanitaire des aliments (conservateurs, antioxydants).
- Amélioration de l'aspect (colorants) et le goût d'une denrée (édulcorants, exhausteurs de goût).
- Obtention d'une texture particulière (épaississants, gélifiants).
- Stabiliser le produit (émulsifiants, antiagglomérants, stabilisants) [17].

I.4. Conditions d'utilisation des additifs alimentaires

- Doit être employé à une dose tolérée,
- Il ne doit pas présenter un danger pour le consommateur,

- Remplir sa fonction technologique.

1.5. Conditions de commercialisation des additifs alimentaires

Pour être commercialisé, un additif alimentaire doit obtenir une autorisation de mise sur le marché par le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires (JECFA : Joint Expert Committee for Food Additives) après son évaluation et la fixation de sa dose journalière admissible (DJA) définie par « une estimation de la quantité d'un additif alimentaire, exprimée sur la base du poids corporel, qui peut être ingérée chaque jour pendant toute une vie sans risque appréciable pour la santé ».

En ce qui concerne l'étiquetage, le Codex alimentarius exige la mention du code et /ou le nom des additifs autorisés contenus dans les aliments sur l'étiquette [18].

1.6. Origine des additifs alimentaires

Ils peuvent être d'origine naturelle, minérale (sulfites, nitrite, etc...), végétale (épaississants extraits de graines, d'algues, etc...), animale (colorants comme le carmin de cochenille) ou artificielle : produits de transformation de substances naturelles (amidons transformés comme agents de texture, etc...), de fermentation (enzymes, gommex xanthane ou gellane, etc....), ou encore être un colorant de synthèse (érythrosine, indigotine) [19].

1.7. Codification des additifs alimentaires

Les additifs alimentaires sont désignés sur l'emballage par le SIN ou la lettre E (pour Europe) suivie d'un nombre de trois ou quatre chiffres.

1.7.1. Le code SIN

Le code SIN spécifique nommé « Le Système international de numérotation des additifs alimentaires » attribué par le codex alimentarius pour chaque additif alimentaire correspondant à une abréviation qui permet d'éviter de mentionner le nom complet de l'additif. Les arômes font exception à cette règle et n'ont pas

decode SIN, la mention du type d'arôme, naturel ou synthétique suffit. Un additif qui possède un code SIN n'est pas forcément approuvé sans innocuité par le codex alimentarius seul l'évaluation par JECFA, Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires autorise son utilisation.

Le SIN est un code suivi de trois ou quatre chiffres. Dans certains cas on trouve le code suivi par des lettres a, b, c et d. Les désignations alphabétiques sont introduites pour la caractérisation de différents types d'additifs (comme le caramel produit par divers procédés).

L'exemple du caramel SIN 150 en fonction du réactif utilisé dans leur fabrication ;

- E150a Caramel I – nature (caramel caustique).
- E150b Caramel II - procédé au sulfite caustique.
- E150c Caramel III - procédé à l'ammoniaque.
- E150d Caramel IV - procédé au sulfite ammoniacal.

Ou bien suivi par (ii), (iii) qui désigne la division en sous classes comme l'exemple de SIN 262 ;

- SIN262(i) Acétate de sodium
- SIN262(ii) Diacétate de sodium

L'attribution des code SIN est plus au moins regroupées pour les additifs de même classe mais étant donné de la découverte continue de nouveaux additifs, la liste reste toujours ouverte si tous les numéros à 3 chiffres ont été désignés. En conséquent la place occupée par un additif alimentaire dans la liste ne peut plus longtemps être considérée comme une indication de sa fonction, même si cela est souvent le cas comme pour le SIN 1102 du glucose oxydase qui est un antioxydant alors qu'il n'est pas chiffré par SIN3xx comme le reste des antioxydants.

Il faut savoir qu'un même additif peut avoir plusieurs fonctions technologiques et l'industriel n'a pour responsabilité que la précision du rôle le plus important dans l'étiquette [10].

1.7.2. Le code E

Un additif alimentaire autorisé en Europe bénéficie d'un code du type Exxx :

« E » pour Europe. Le chiffre 1 par exemple pour les centaines indique que c'est un colorant (E1xx), les dizaines et unités indiquent la teinte. Les E2xx sont des conservateurs alimentaires, les E3xx représentent les antioxydants, les E4xx agents de texture tels que les émulsifiants [20,21].

Les classes des additifs alimentaires et leurs codifications sont représentées dans le tableau I.2.

Tableau I.2 : Classes des additifs alimentaires et leurs codifications [22].

Type d'additif	Exxx	Rôles	Exemples
Colorant	100 à 199	Aspect du produit	E162 : Rouge de betterave
Conservateurs	200 à 285 Et 1105	Limite les altérations microbiologique	E249 a 251 : Nitrates et Nitrites : dans la charcuterie
Antioxydants	300 à 321 323 à 324	Limiter l'oxydation	E300 : L'acide ascorbique dans les conservateurs
Agent de texture	322 400 à 495 Et 1103	Homogénéisation, donne une consistance et stabilisation physico-chimique	E322 : Lécithine dans le chocolat
Acidifiant / Correcteur d'acidité	325 à 384 500 à 586	Modification de l'acidité	E330 : L'acide citrique dans les sodas E552 : Silicate de calcium dans la poudre de lait
Exhausteurs de goût	620 à 641	Renforce l'arôme de l'aliment et le goût	E620 : L'acide glutamique :

Edulcorants	420 à 421	Donne la saveur sucrée peu ou pas calorique	produit laitier
	950 à 967		E951 : L'aspartame dans les sodas

I.8. Classification des additifs alimentaires

Actuellement, l'UE compte plus de 340 additifs autorisés qui sont exhaustivement listés dans l'annexe II (partie B) du règlement (CE) n° 1129/2011 de la liste positive [23,24]. En effet, le règlement (CE) n° 1333/2008 comporte plusieurs listes positives [25,26].

Ces additifs alimentaires sont classés en 27 catégories fonctionnelles en fonction de leur intérêt technologique dans le produit, ils sont illustrés dans le codex alimentarius et sont aussi décrits dans la réglementation algérienne et définis comme suit :

Tableau I.3: les 27 catégories des additifs alimentaires et leurs définitions [27, 28].

Additifs alimentaires	Définition	Exemple
1. Régulateur de l'acidité :	Additif alimentaire qui contrôle l'acidité ou l'alcalinité d'une denrée alimentaire.	E260 : Acide acétique
2. Antiagglomérant:	Additif alimentaire qui réduit la tendance que peuvent avoir les composants d'une denrée alimentaire à adhérer les uns aux autres.	E530 : Oxyde de magnésium
3. Antimoussant :	Additif alimentaire qui empêche ou réduit la formation de mousse.	E471 : Mono et diglycérides d'acide gras
4. Antioxydant :	Additif alimentaire qui prolonge la durée de conservation des aliments en les protégeant contre les altérations dues à l'oxydation.	E300 : L'acide ascorbique
5. Agent de blanchiment :	Additif alimentaire utilisé pour décolorer des denrées alimentaires (mais pas la farine). Les pigments ne sont pas des agents de	E221 : Sulfite de sodium

	blanchiment.	
6. Agent de charge :	Additif alimentaire qui leste une denrée alimentaire sans en modifier sensiblement la valeur énergétique.	E1200 : Polydextroses
7. Agent de carbonations :	Additif alimentaire utilisé pour apporter du dioxyde de carbone à une denrée alimentaire.	E290 : Dioxyde de carbone
8. Support :	Additif alimentaire utilisé pour dissoudre, diluer, disperser ou modifier physiquement de toute autre façon un additif alimentaire ou un nutriment sans altérer sa fonction (et sans produire lui-même d'effet technologique) afin de faciliter sa manipulation, son application ou son utilisation de l'additif alimentaire ou du nutriment.	E460(i) : Cellulose microcristalline 'gel cellulosique'
9. Colorant :	Additif alimentaire qui ajoute de la couleur à une denrée alimentaire ou rétablit sa couleur naturelle.	E102 : Tartrazine
10. Agent de rétention de la couleur :	Additif alimentaire qui stabilise, retient ou intensifie la couleur d'une denrée alimentaire.	E511 : Chlorure de magnésium
11. Émulsifiant :	Additif alimentaire qui permet d'obtenir ou de maintenir un mélange uniforme à partir de deux ou plusieurs phases immiscibles contenues dans un aliment.	E325 : Lactate de sodium
12. Sel émulsifiant :	Additif alimentaire qui, lors de la fabrication d'aliments transformés, arrange les protéines de manière à empêcher la séparation des graisses.	E452(i) : Polyphosphate sodique
13. Agent affermissant :	Additif alimentaire qui rend ou garde les tissus des fruits ou des légumes fermes ou craquants, ou interagit avec des gélifiants de manière à produire ou à renforcer un gel.	E509 : Chlorure de calcium

14. Exhausteur de goût :	Additif alimentaire qui exalte le goût et/ou l'odeur naturel d'une denrée alimentaire.	E 620 : Acide glutamique
15. Agent de traitement des farines :	Additif alimentaire qui, ajouté à la farine ou à la pâte, en améliore la qualité boulangère ou la couleur.	E483 : Tartrate de stéaryle
16. Agent moussant :	Additif alimentaire qui permet de former ou de maintenir une dispersion uniforme d'une phase gazeuse dans un aliment solide ou liquide.	E942 : Protoxyde d'azote
17. Gélifiant :	Additif alimentaire qui confère une certaine texture à l'aliment au moyen de la formation d'un gel.	E401 : Alginate de sodium
18. Agent d'enrobage :	Additif alimentaire qui, lorsqu'il est appliqué à la surface externe d'un aliment, lui confère un aspect brillant ou le recouvre d'un revêtement protecteur.	E901 : Cires d'abeille
19. Humectant :	Additif alimentaire qui empêche les aliments de se dessécher en combattant l'effet que peut avoir une atmosphère caractérisée par un faible degré d'humidité.	E325 : Lactate de sodium Acidifiant
20. Gaz de conditionnement :	Additif alimentaire gazeux, qui est introduit dans un conteneur pendant, durant ou après son remplissage avec une denrée alimentaire avec l'intention de protéger l'aliment par exemple de l'oxydation ou de l'altération.	E941 : Azote
21. Conservateur :	Additif alimentaire qui prolonge la durée de conservation des aliments en les protégeant contre les altérations dues aux micro-organismes.	E202 : Sorbate de potassium
22. Gaz propulseur :	Additif alimentaire gazeux qui permet d'expulser un aliment contenu dans un récipient.	E943 : alpha-Butane
23. Agent levant :	Additif alimentaire ou combinaison d'additifs alimentaires, qui dégage	E541(i) : Phosphate de sodium-

	du gaz et, par-là même, augmente le volume d'une pâte.	aluminium
24. Séquestrant :	Additif alimentaire limitant la disponibilité des cations.	E516 : Sulfate de calcium
25. Stabilisant :	Additif alimentaire qui permet de maintenir une dispersion uniforme de deux ou plusieurs composantes dans un aliment.	E1201 : Polyvinylpyrrolidone
26. Édulcorant :	Additif alimentaire (autre qu'un sucre mono ou disaccharide), qui confère un goût sucré à l'aliment.	E951 : Aspartame
27. Épaississant :	Additif alimentaire qui augmente la viscosité d'un aliment.	E1413 : Phosphate de diamidon phosphaté

Et la figure ci-dessous résume tout ce qui précède

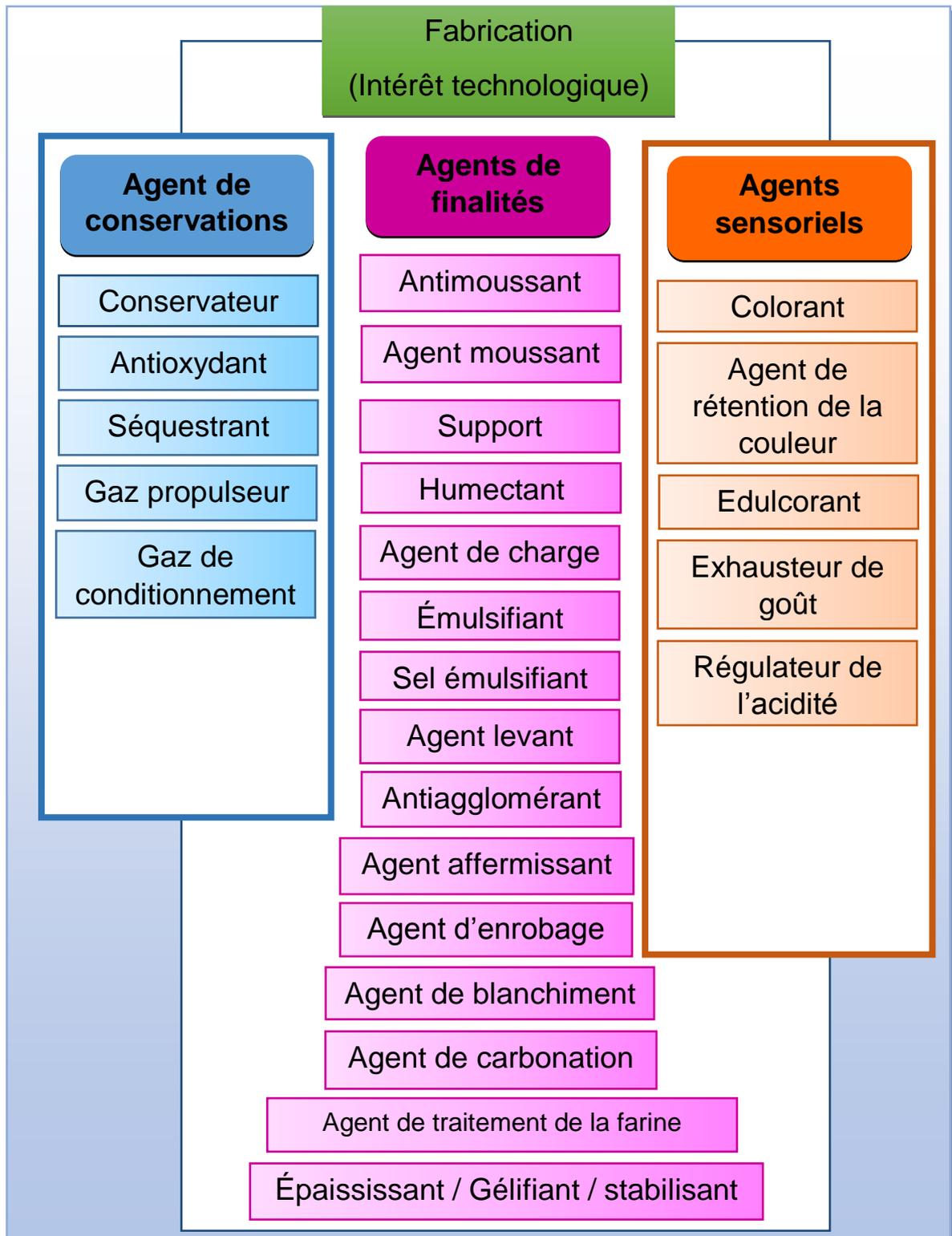
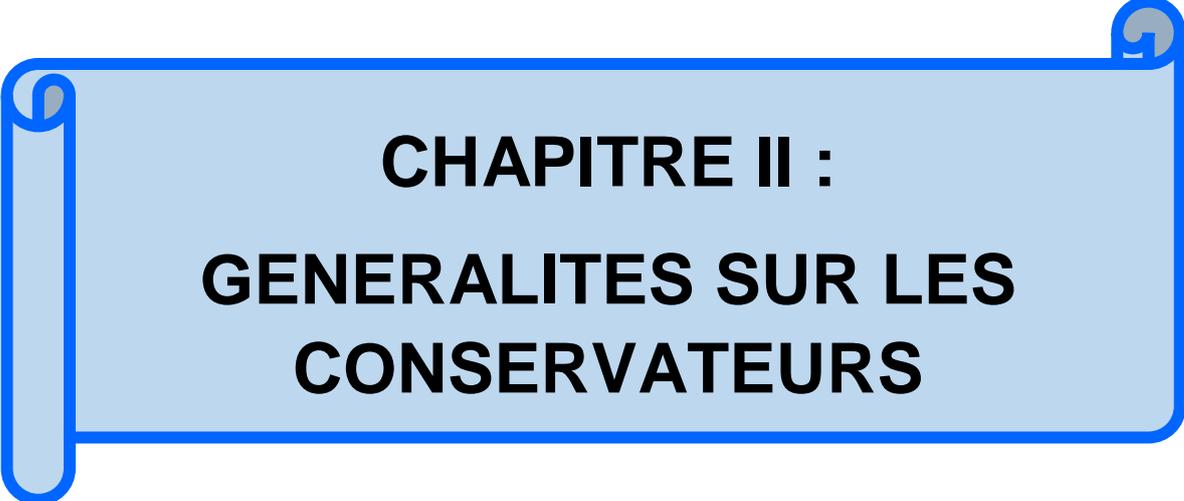


Figure I.1 : Les catégories d'additifs alimentaires selon leurs fonctions [29].



CHAPITRE II :
GENERALITES SUR LES
CONSERVATEURS

II.1. Historique

Les conservateurs sont utilisés dans l'alimentaires. La viande fumée, par exemple, contient des phénols et d'autres produits chimiques qui retardent la détérioration. La conservation des aliments a beaucoup évolué au fil des siècles et a contribué à accroître la sécurité alimentaire. L'utilisation des conservateurs, autres que les huiles, les sels, etc. traditionnels dans les aliments a commencé à la fin du 19ème siècle, mais ne s'est généralisée qu'au 20ème siècle [3].

L'utilisation des conservateurs varie considérablement selon les pays. De nombreux pays en voie de développement qui ne disposent pas de législation pour réglementer les additifs alimentaires et les conservateurs, comme c'est le cas de l'Algérie. Ces pays sont confrontés à ce problème par l'évitement complet des aliments considérés comme non naturels ou étrangers. Ces pays se sont également révélés utiles dans les études de cas relatives aux conservateurs chimiques, car ils n'ont été introduits que récemment [30]. Dans les bidonvilles urbains de pays très peuplés, les connaissances sur le contenu des aliments ont tendance à être extrêmement faibles, malgré la consommation de ces aliments importés [31].

II.2. Définition

Selon le comité du codex sur les additifs et les contaminants : « Un agent de conservation est un additif (substance) qui prolonge la durée de conservation des aliments en les protégeant contre les altérations et les dégradations dues aux micro-organismes pendant le stockage et l'utilisation ».

Donc un additif conservateur est utilisé pour augmenter la stabilité microbiologique d'un produit [32,33].

II.3. Rôle

Les conservateurs permettent d'éviter des altérations alimentaires causées par les organismes microscopiques. Ils peuvent avoir une action spécifique ou plus au moins prédominante contre les bactéries, les levures ou les moisissures. Ils peuvent être utilisés pour la prolongation d'une protection préalable par les

procédés physiques de conservation comme: l'appertisation, le séchage ou encore la congélation [6].

II.4. Classification

Les conservateurs sont codifiés de SIN200 à SIN297 [34]. Ils sont classés selon leurs structures chimiques en :

II.4.1. Conservateurs minéraux

Sulfites (SIN220 à SIN228)

Les sulfites proviennent du soufre. Ils peuvent se trouver naturellement dans quelques aliments. Ce sont aussi des conservateurs de divers denrées alimentaires. De plus, ils renforcent l'arôme, permettent le blanchiment et la stabilisation de la denrée, évitent la fermentation, et peuvent même agir comme antimicrobiens [20].

Nitrites (SIN249 à SIN252)

Les nitrites possèdent une action antioxydante et antimicrobienne mais ils sont aussi utilisés pour le développement de la couleur et de l'arôme [11].

Les nitrites sodique SIN250 et potassique SIN249 sont des conservateurs et fixateurs de couleur [12].

II.4.2. Conservateurs organiques

Ce sont des acides organiques (acide sorbique, benzoïque, acétique, etc) et leurs sels correspondants : ils exercent leurs propriétés conservatrices en modifiant le pH du milieu qui modifie la perméabilité membranaire des bactéries, il s'ensuit une fuite de potassium de la cellule. De plus c'est la forme non dissociée RCOOH de l'acide qui est active pour la conservation car elle permet sa diffusion passive dans le cytoplasme de la cellule bactérienne, cette forme est plus abondante plus le pH est acide, le pH interne sera donc modifié entraînant une baisse de l'activité enzymatique interne. Ils peuvent aussi avoir une action toxique spécifique contre certains microorganismes c'est ce que l'on appelle l'effet toxique spécifique à la molécule d'acide organique.

Dans les boissons, les acides carboxyliques participent grandement à la régulation d'acidité et ils peuvent même être utilisés comme tampon pour garder un pH favorable à la préservation de la boisson ou de la denrée contre le développement bactérien.

L'acide benzoïque et ses sels (SIN210 à SIN 213)

Ce sont des antiseptiques alimentaires (contre les bactéries) utilisés en tant qu'additifs dans divers aliments, ils bloquent également le développement de moisissures et de levures (*Aspergillus*, *saccharomyces*). Ils peuvent être utilisés seuls ou en combinaisons avec les sorbates. Il est aussi présent à l'état naturel dans certains végétaux (sureau, par exemple) et dans les produits laitiers fermentés (fromages, yaourts), par dégradation de l'acide hippurique et de la phénylalanine [35,36].

La structure chimique du SIN210 est représentée dans la figure suivante :

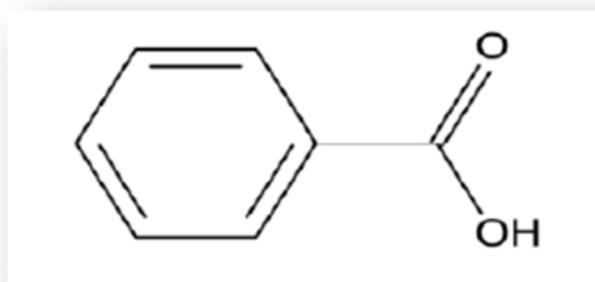


Figure II.1: Structure chimique de l'acide benzoïque SIN210 [37].

Les parahydroxy-benzoates (PHB) (SIN214 à SIN 219)

Les parabens (esters de l'acide-para hydroxybenzoïque), dont :

- Le para-hydroxybenzoate d'éthyle: E 214,
- Le para-hydroxybenzoate de propyle : E 216,
- Le para-hydroxybenzoate de méthyle : E 218, et d'autres.

C'est un groupe d'agents antimicrobiens très utilisés dans les produits pharmaceutiques et cosmétiques. Ce sont les fameux parabènes ayant un effet conservateur puissant connu depuis 1924, très actifs sur les moisissures, levures et

certaines bactéries, actif jusqu'à pH égale à 7 avec une forme non dissocié restant très stable ce qui leur confère un large spectre d'action.

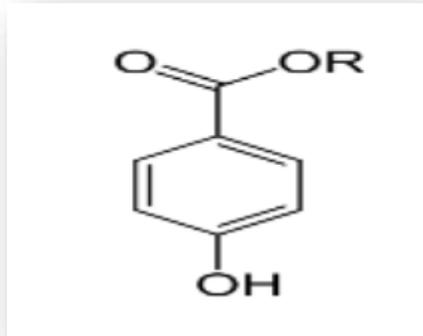


Figure II.2: Structure chimique des parabènes [36].

L'acide sorbique et ses sels (SIN201 à SIN 203)

Le SIN201 représente l'acide sorbique, le SIN202 et SIN203 sont respectivement le sel de potassium et de calcium de l'acide sorbique, leurs actions est avant tout antifongique plus qu'antibactérienne et c'est pour cette raison qu'on les retrouve souvent associé à d'autres conservateurs pour l'obtention d'action synergique. L'efficacité des sorbates est d'autant plus importante que les moisissures et levures n'arrivent pas à les métaboliser. On les retrouve dans certains aliments tels que les yaourts et les laits fermentés [38]. La structure chimique du SIN201 est représentée dans la figure ci-dessous :

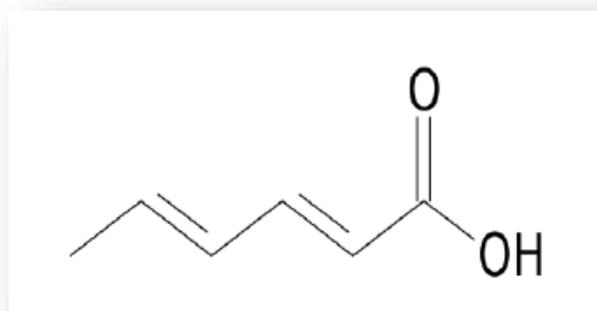


Figure II.3: Structure chimique de l'acide sorbique SIN201 [39].

II.5. Justification technologiques de conservateur : cas du sorbate de potassium

Le sorbate de potassium est un conservateur qui a une activité contre la formation de levures et de moisissures, mais aussi efficace contre les bactéries. Il a été utilisé dans les arômes contenant des matières premières naturelles telles que les jus concentrés en vue de leur conservation. De plus, ces additifs font partie des agents de conservation à Dose Journalière Admissible (DJA) chiffrée :

- DJA du sorbate de potassium : **25mg/kg** de poids corporel par jour [36].

L'acide sorbique, un diène, est particulièrement actif surpassant le benzoate de sodium dans certaines applications, relativement sans goût et inodore. Une évaluation subséquente par plusieurs chercheurs a confirmé les propriétés antifongiques de l'acide sorbique et démontre plus loin ses possibilités commerciales.

L'acide sorbique et ses sels de sodium et de potassium sont reconnus en tant que conservateurs actifs à basse concentration sur les moisissures et levures dans les fromages, les plats cuits, les jus de fruits, les fruits mûrs et les légumes, les vins, les boissons douces et les marinades ainsi que certaines viandes et produits halieutiques [40].

II.6. Propriétés physiques et chimiques du sorbate de potassium

Nom systématique : (2E,4E) -hexa-2,4-dienoate de potassium

Formule moléculaire : $C_6H_7KO_2$

Masse moléculaire : $150,22 \text{ g.mol}^{-1}$

T° d'ébullition : 270°C

Solubilité : Très soluble dans l'eau ; $139,2\text{g}/100\text{ml}$ à 20°C . Dans l'alcool, la solubilité est de $2\text{g}/\text{ml}$ à 20°C

Description générale

Aspect : Il se présente sous forme d'une poudre blanche ou sous forme de grains

Goût et odeur : Sans goût et inodore

Ce sel a été développé pour la préparation des fûts de solutions aqueuses. Des solutions de concentrations relativement plus élevées sont nécessaires pour l'immersion, la vaporisation et les applications dosées [41].

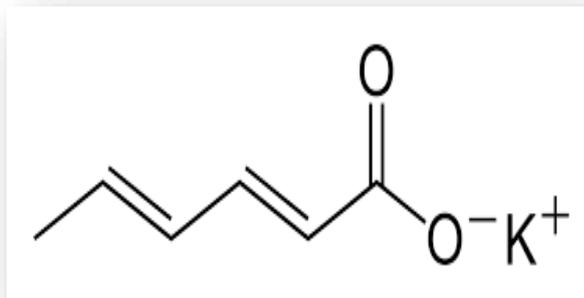


Figure II.4 :Structure du sorbate de potassium.



Figure II.5 : Grains du sorbate de potassium.

II.7. Utilisation du sorbate de potassium

Tableau II.4 :L'utilisation du sorbate de potassium avec ses concentrations maximales [42].

Utilisations autorisées	Concentrations maximales
Abricots secs	500mg/kg seul ou en combinaison avec de l'acide sorbique et du sorbate de sodium, exprimés en acide sorbique
Olives de table, Marmelades d'agrumes	500mg/kg seul ou en combinaison avec de l'acide sorbique, exprimés en acide sorbique
Margarines, Concombre en conserve,	1000mg/kg seul ou en combinaison avec de l'acide sorbique, de l'acide

Mayonnaise, Confitures et gelées	benzoïque et leurs sels, exprimés en acide sorbique
Fromages de lactosérum, Fromages à pâte extra-dure à râper	1000mg/kg seul ou en combinaison avec de l'acide sorbique, exprimés en acide sorbique
Jus de fruits et dérivés	1000mg/kg seul ou en combinaison avec de l'acide sorbique, de l'acide benzoïque et leurs sels et sulfites, ces derniers ne devant pas dépasser une concentration de 500mg/kg
Fromages fondus, Préparations de fromages fondus	3000mg/kg seul ou en combinaison avec de l'acide sorbique, de l'acide propionique et leurs sels

II.8. Méthodes d'extraction et d'analyse du sorbate de potassium

Le sorbate de potassium peut être déterminé dans des échantillons divers tels que les aliments. A cet effet, plusieurs méthodes ont été rapportées par la littérature :

- Les méthodes spectrales
- Les méthodes chromatographiques

L'analyse se fait généralement en deux étapes : l'extraction du conservateur suivi du dosage dans les aliments.

II.8.1. Méthode d'extraction

II.8.1.1. Extraction en phase solide

Nous avons relevé une application de la phase greffée (C18) pour l'extraction de l'acide sorbique et leurs sels. En effet, le choix d'une phase greffée apolaire a été motivé par la nécessité d'éliminer les composés phénoliques de caractère polaire, notamment les anthocyanes. Le procédé d'extraction adapté par Mandrou et coll. consiste à conditionner la colonne de préconcentration par passage de

méthanol, puis d'une solution diluée d'acide chlorhydrique [43]. L'acidification favorise la rétention des acides organiques de l'extrait analysé. Un traitement par une solution aqueuse chlorhydrique permet d'éliminer les composés phénoliques ; l'acide sorbique et leurs sels sont élués par du méthanol.

II.8.2. Méthodes d'analyse

II.8.2.1. Spectrophotométrie dans l'ultra-violet-visible

L'application des méthodes spectrophotométriques dans l'ultraviolet ne permet pas la détection, ni le dosage de faibles concentrations en sorbate de potassium. La plupart de ces techniques sont adaptées au dosage des concentrations à l'ordre de 200 mg.L⁻¹.

Même la technique la plus sensible proposée par Jaulmes et coll (1961), basée sur la mesure de l'absorbance du sorbate de potassium à 272 nm, ne permet pas le dosage de quantités de sorbate de potassium inférieures à 20 mg.L⁻¹ [44,45].

II.8.2.2. Méthodes chromatographiques

A. Chromatographie sur couche mince (C.C.M.)

L'extraction de l'acide sorbique et leurs sels est réalisée par l'éther di-éthylique selon la technique de Mandrou et coll. Après évaporation de la solution étherée, le résidu est soumis à une chromatographie sur plaque en gel de silice. Le solvant de migration est constitué par un mélange (chloroforme-méthanol-eau). Après développement, les taches examinées sont sous rayonnement UV à 254nm ; les spots sont révélés par fluorescence. Mandrou et coll. ont aussi proposé une technique de caractérisation et de dosage de l'acide benzoïque en présence d'acide sorbique par C.C.M sur gel de silice, adsorbant d'emploi très usuel [46]. Aussi ces auteurs ont signalé que la séparation de l'acide sorbique peut être aussi réalisée :

- Par appariement d'ions sur plaque de silice silanisée imprégnée de chlorure de tétrabutylammonium en utilisant l'acétonitrile comme phase mobile [47].
- Sur plaque de silice greffée en utilisant comme phase mobile le mélange méthanol-eau (50 ; 50) (v/v) [48].

D'autres méthodes ont été rapportées par Mandrou et Bressole (1980). [49] pour la détermination du sorbate de potassium en utilisant la chromatographie en couche mince et la chromatographie liquide utilisant une résine anionique couplée à une extraction en phase solide pour nettoyer les échantillons avant l'analyse [50].

B. Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance (C.L.H.P.)

Beaucoup de méthodes d'analyse par Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance (C.L.H.P) du sorbate de potassium ont été publiées. Lee, Mandrou, Pylypiw et leurs collaborateurs ont utilisé respectivement comme phase mobile les mélanges suivants [48,51,53]:

- Tampon phosphate pH 2,65 - l'acétonitrile (60 :40, v/v)
- Tampon acétate pH 3,9 - acétonitrile (80 ;20, v/v)
- Tampon acétate pH4,2 - acétonitrile (90 ; 10, v/v).

Les références bibliographiques relatives à l'analyse de ces additifs dans les aliments par C.L.H.P. sont récentes et concernent les viandes et produits laitiers, les produits de pêche (harengs, crevettes), les jus de fruits (orange, pomme, agrumes) et les pâtes d'amandes [51,54].

Les phases stationnaires utilisées sont des phases greffées apolaires (C18) mais aussi des résines échangeuses d'ions [48, 52, 53,55].

Autres études antérieures ont rapporté la détermination de ce conservateur par la même méthode chromatographique, le seul inconvénient majeur de cette méthode était l'utilisation de tétrahydrofurane dans la phase mobile, qui pose un problème avec les plastiques utilisés dans la filtration, ainsi que des dépenses supplémentaires pour l'élimination des déchets dangereux [56]. La méthode décrite implique de longues étapes de nettoyage avant l'analyse CLHP [57].



CHAPITRE III :
LA SPECTROPHOTOMETRIE
INFRAROUGE

spectrométrie infrarouge est extrêmement puissante ressource de caractérisation pour identifier des groupements moléculaires et obtenir de nombreuses informations microscopiques sur leur conformation et leurs éventuelles interactions [65,66].

Ces techniques peuvent être utilisées pour analyser des molécules à l'état solide, liquide ou gazeux et à n'importe quel niveau (macroscopique ou microscopique). La spectroscopie infrarouge présente l'avantage que plusieurs composants d'un échantillon peuvent être évalués avec un seul instrument de mesure et ne nécessitent pas de séparation physique de ces composants [60].

L'échantillon est exposé à un rayonnement électromagnétique dans la gamme de longueur d'onde infrarouge centrale ($2,5 \mu\text{m} < \lambda < 50 \mu\text{m}$). Les champs électriques induits par les ondes électromagnétiques peuvent interagir avec les moments dipolaires des entités moléculaires présentes dans la matière. Lorsque la fréquence du champ correspond à la fréquence de vibration du mode spécifique à la molécule, une interaction est créée, une liaison particulière oscille et de l'énergie est absorbée par ces ondes d'excitation. La fréquence à laquelle le rayonnement est absorbé dépend de la nature de la liaison, de la masse des atomes impliqués et de l'environnement à proximité du groupe [66].

III.2. Instrumentations

Il existe deux types d'instruments : les spectromètres à dispersion et le spectromètre à transformée de Fourier. Dans le premier type, chaque fréquence est mesurée individuellement à l'aide d'un filtre ou d'un monochromateur en fonction de la gamme spectrale testée. Cela prend de 10 à 15 minutes pour chaque échantillon. Pour pallier cette lenteur d'acquisition, la spectrométrie FT-IR a été développée. Le composant clé est un interféromètre (généralement du type Michelson (1891)) capable de mesurer toutes les fréquences à la fois [67].

III.3. Spectromètres à transformée de Fourier (FTIR)

Un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) correspond à un ensemble optique à faisceau unique dont l'élément clé est généralement un

interféromètre (typiquement de type Michelson) placé entre la source et l'échantillon [68].

Le principe d'un spectromètre FTIR et de l'interféromètre de Michelson sont illustrés dans la Figure III.2, Le rayonnement d'une source infrarouge frappant un séparateur infrarouge semi transparente (ici le séparateur est en KBr) divise le faisceau de la source lumineuse en deux faisceaux.

L'un est réfléchi sur un miroir fixe et l'autre sur un miroir en mouvement, créant un trajet variable différent. Au cours des deux faisceaux de retour, la différence de phase créée produit des interférences, de la constructive ou destructive, en fonction des différences des longueurs de trajet. Le faisceau dépasse l'échantillon avant d'aller aux détecteurs qui reçoivent l'intensité lumineuse globale. Les signaux du détecteur sont modifiés comme interférogramme [67].

Cet interférogramme est composé de milliers de points (selon la position du miroir mobile) possédant des informations sur chaque fréquence infrarouge de la source. Ces données sont traitées mathématiquement par une transformée de Fourier à l'aide d'un ordinateur. On obtient donc une représentation classique du spectre [67].

Deux spectres de transmission ont été enregistrés pour obtenir le spectre de l'échantillon. L'un, en absence d'échantillon, que l'on appelle background (fond absorbant) qui correspond au "blanc" ou "zéro" du signal, et l'autre avec l'échantillon. Les spectres des échantillons peuvent être obtenus en comparant les deux spectres précédents en pourcentage (%) (transmittance) ou en absorbance [67].

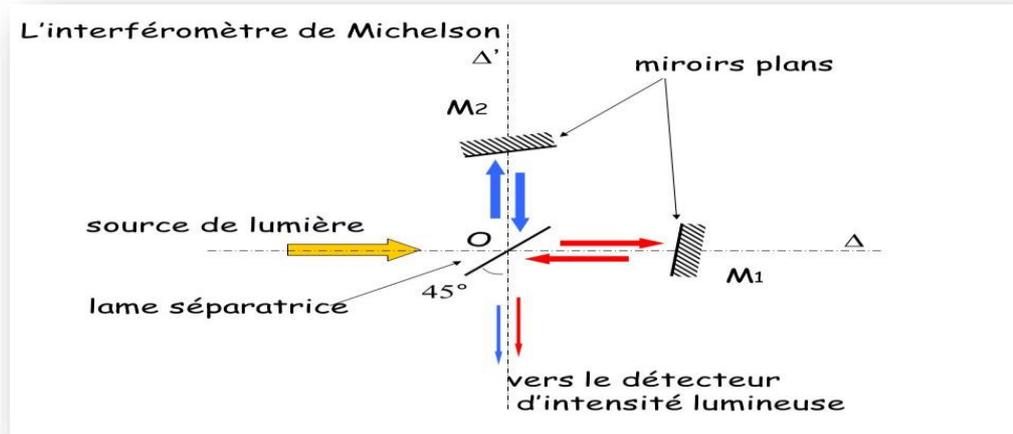


Figure III.2 : interféromètre de Michelson [67].

III.3.1. Transmission

Lorsqu'un rayonnement incident d'intensité I_0 traverse l'échantillon, l'intensité de l'IR est à égale à I de l'autre côté de l'échantillon et obéit à la loi de Beer-Lambert (figure III.3). On définit alors la transmittance $T=I/I_0$ que l'on exprime en %, l'absorbance est donc définie par $A= \log (I_0/I)$ [67].

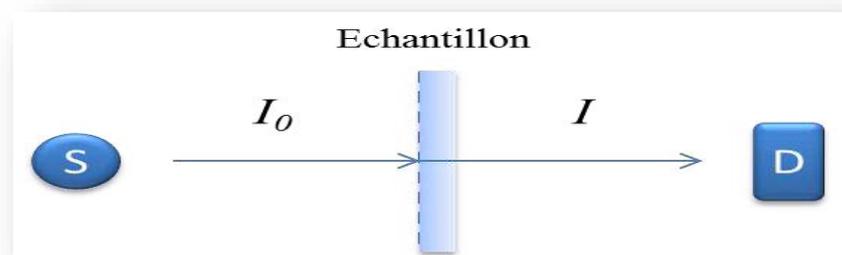


Figure III.3:Principe de la transmission (S =source, D =détecteur) [63].

Ce mode de mesure nécessite l'utilisation de milieux infrarouges transparents tels que le bromure de potassium (KBr), le séléniure de zinc (ZnSe), le fluorure de calcium (CaF_2), le fluorure de baryum (BaF_2) et le germanium (Ge). Pour l'analyse des solides, quelques milligrammes dispersés dans un milieu servant de matrice, sont déposés entre deux fenêtres d'un support choisi. Alternativement, broyer directement dans du KBr dur et compacter en petit

granulés à l'aide d'un presse cette méthode analytique n'est possible que si le solide est réduit en une poudre fine et non faiblement éclairée par IR, et il y a un risque de provoquer de fausses interactions avec la matrice. Une alternative à ce procédé est l'ATR [67].

III.3.2. Réflexion Totale Atténuée

L'acronyme ATR signifie Réflexion Totale Atténuée (Attenuated Total Reflectance ATR) est devenu la technique standard pour la mesure des spectres en IRTF. La lumière infrarouge traverse un cristal d'un certain matériau (diamant, ZnSe ou germanium) et interagit avec l'échantillon qu'il soit solide, liquide, organique ou inorganique, Il n'est pas nécessaire de le couper, diluer ou de le préparer, qui est pressé sur ce cristal (Figure III.4).

On obtient ainsi un spectre qui présente toutes les caractéristiques spécifiques de la substance néanmoins le rapport d'intensité des bandes d'absorption observées peut différer du spectre de transmission traditionnel en raison d'effets physiques. Mais cela ne signifie pas que les spectres ATR sont plus difficiles à interpréter, au contraire. Les spectres ATR et transmission peuvent être facilement convertis les uns aux autres. Ceci est particulièrement utile lorsque l'on compare des spectres ATR récemment acquis aux spectres précédents dans la bibliothèque de référence de spectre [69]

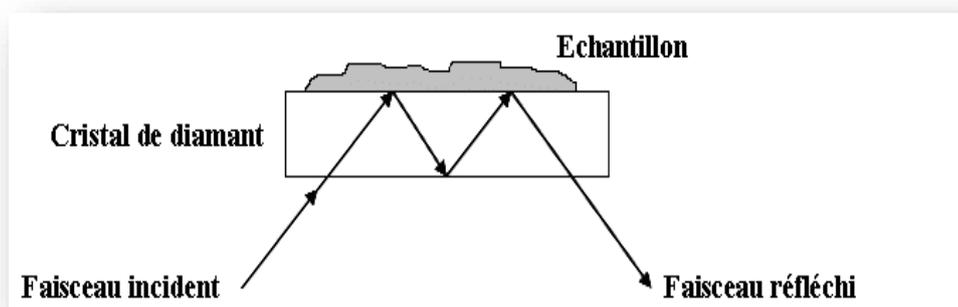


Figure III.4 : principe de l'ATR [70].

L'ATR présente de nombreux avantages :

- Préparation minimale de l'échantillon (placez l'échantillon sur le cristal et collectez les données) ;

- Nettoyage rapide et facile (retirez simplement l'échantillon et nettoyez la surface du cristal) ;
- Analyse d'échantillons dans leur état naturel, pas besoin de chauffer, de presser en pastilles ou de broyer pour collecter les spectres ;
- Excellent pour les échantillons épais ou fortement absorbants (idéal pour les échantillons difficiles comme le caoutchouc noir).

III.3.2.1. Analyse qualitative

L'analyse qualitative de l'infrarouge est la méthode la plus universelle. Le spectre infrarouge d'une molécule est fonction des atomes constituant cette molécule et des forces de liaison qui les lient. En général, l'analyse qualitative par l'IRTF est basée sur la caractérisation des groupes fonctionnels d'une substance. Initialement, il existe un spectre de taux de convergence qui s'y réfère plus précisément dans l'infrarouge moyen (MIR) [71]. Confirmer la structure moléculaire en comparant l'ensemble du spectre à celui d'un composé connu est considéré comme la deuxième étape. La concordance précise entre les spectres de l'analyte, de sorte que deux composés avec des structures différentes n'ont pas le même spectre IR (empreinte digitale), donc l'analyte peut être spécifiée avec certitude [72].

III.3.2.1. Analyse quantitative

Ces méthodes consistent à mesurer la quantité d'énergie, sous forme physique ou chimique, induite par des mesures liées à la concentration des espèces usuelles d'intérêt. L'intensité de la bande d'absorption reflète la concentration des groupements chimiques qui caractérisent cette absorption (loi de Beer-Lambert) [73].

- **La loi de Beer-Lambert**

La loi de Beer-Lambert est une relation empirique qui relie l'absorption de la lumière aux propriétés des milieux qu'elle traverse. Le rapport de Beer-Lambert décrit qu'à une longueur d'onde donnée, l'absorbance d'une solution est

proportionnelle à la concentration de l'espèce de la solution et la longueur du trajet optique. Ainsi, pour une solution limpide contenant une seule espèce absorbante [74], l'absorbance est égale à :

$$A = \ell \times \varepsilon \times C$$

A : l'absorbance ou la densité optique de la solution pour une longueur d'onde λ .

ℓ : la longueur de trajet optique (en cm).

C : la concentration de l'espèce absorbante (en mol.L⁻¹).

ε : le coefficient d'extinction molaire de l'espèce absorbante en solution (en mol⁻¹.L.cm⁻¹), Ce coefficient dépend de :

- ✓ La nature de substrat ;
- ✓ La longueur d'onde λ de la lumière ;
- ✓ La nature du solvant ;
- ✓ La température.

Les Conditions de validité la loi de Beer-Lambert sont :

- ✓ La lumière utilisée est monochromatique ;
- ✓ La concentration n'est pas trop élevée : $C \approx 10^{-2}$ mol.L⁻¹ ;
- ✓ La solution n'est pas fluorescente : pas de réémission de lumière dans toutes les directions ;
- ✓ La dilution n'entraîne pas un déplacement de l'équilibre chimique ;
- ✓ La solution doit être limpide (pas de précipité ou bien de trouble qui entraîneraient une diffusion de la lumière) [74].

- **Méthodes de calibrage chimiométrique**

L'analyse chimique par spectrophotométrie est basée sur la collecte rapide de grandes quantités de (centaines ou milliers) données spectrales. Si ces données ne sont pas compressées en vecteurs propres par analyse en composantes principales, alors seulement quelques-unes peuvent être importées dans la structure de chaque modèle de calibrage pour identifier des composantes spécifiques. Le modèle de calibrage comprend en fait des équations qui

transforment les données spectrales (entrée) en valeurs de composition chimique (sortie). Pour écrire ces équations, nous devons ajuster le paramètre, qui affecte la valeur d'entrée, afin que la valeur de sortie soit aussi proche que possible de la réalité [75].

La sélection est essentielle car certaines données spectrales sont inutiles et il est difficile d'ajuster un modèle avec trop d'entrées.

La chimométrie ou la Chemometrics a une double paternité de la Suédoise SvantWolds et de l'Américain Bruce Kowalski. C'est une discipline qui relie l'analyse des données analytiques et de la chimie. C'est également un outil utilisé pour extraire des informations provenant des données physicochimiques mesurées ou connues. Les analyses multivariées (mutivariées) sont également mentionnées [76].

- Elle peut gérer des systèmes complexes et généralement multivariés.
- Il couvre toutes les applications de la chimie, de la physique, des sciences de la vie, de l'économie, de la sociologie et de l'informatique.
- Il est basé sur des règles mathématiques strictes et des procédures expérimentales rigoureuses.

Chimométrie (ou analyse multivariée) dans l'instrumentation consiste à modéliser des variantes d'un certain nombre de variables (variables y) nécessitant une analyse chimique, par exemple, sur la base d'autres variables (variables x), qui est facilement mesurable (par exemple, la mesure physique Capteurs), capable de pouvoir Passez plus tard que d'obtenir le premier [76]. On distingue 2 opérations :

- ✓ **Étalonnage de laboratoire** (ou modélisation) dans lequel toutes les mesures variables doivent être effectuées et où le modèle (ou « prédicteur » est calculé). Attention, ce terme, traduit en anglais de "calibration" afin de ne pas confondre avec l'étalonnage d'un instrument, qui est le registre avec une ou deux mesures ("mesure" en anglais).
- ✓ **La prédiction**, l'utilisation habituelle "sur le sol", avec seulement les variables "simples" sont mesurées, d'autres, y, calculées avec le modèle.

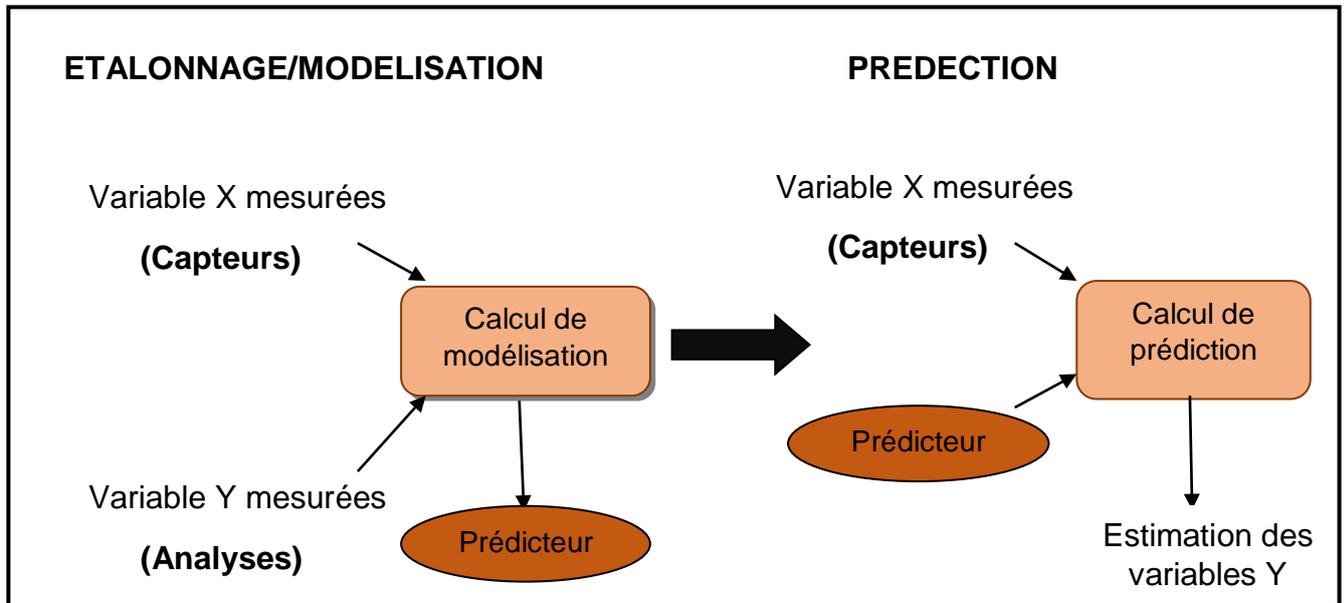


Figure III.5 : Schéma de la chimiométrie.

III.4. Théorie de la dérivation de Fourier

Une approche alternative pour améliorer la dissolution des bandes qui se chevauchent repose sur la génération de profils de bande dérivés. Cela peut être fait dans la gamme de fréquences du spectre.

La spectroscopie de dérivation divise l'absorbance (A) d'un échantillon par sa longueur d'onde (λ) pour produire une dérivée de premier ordre, de deuxième ordre ou supérieure.

$$A = f(\lambda), \text{ ordre zéro}$$

$$dA / d\lambda = f'(\lambda), \text{ première dérivée}$$

$$d^2A / d\lambda^2 = f''(\lambda), \text{ seconde dérivée}$$

Les spectres dérivés montrent généralement un motif caractéristique tel que des changements subtils dans la pente et la courbure du spectre normal (après zéro) sont observés en tant que propriétés dipolaires caractéristiques. La dérivée première du spectre d'absorption peut être utilisée pour identifier les pics "cachés" car $dA/d\lambda = 0$ aux pics montrant un gradient à chaque point du spectre.

Cependant, les dérivées secondes et d'ordre supérieurs peuvent être plus utiles pour l'analyse.

Les dérivées d'ordre pair sont des fonctions dipolaires de signe alternatif avec le centre (c'est-à-dire que la seconde est négative, la quatrième est positive, etc.), dont la position coïncide avec celle du pic original. À cet égard, le spectre différentiel pair est similaire au spectre d'origine, mais le profil différentiel est quelque peu compliqué en raison de la présence de pics satellites adjacents au centre. Une caractéristique importante est que la largeur du pic central dérivé du pic gaussien diminue aux ordres 2 pour 53% et ordre 4 pour 41% et ordre 6 pour 34% de la largeur du pic d'origine, respectivement. Cette fonctionnalité peut augmenter la résolution des sommets qui se chevauchent. Cependant, des modèles satellites de plus en plus complexes entravent l'amélioration de la résolution spectrale dérivée élevée.

Une caractéristique importante du processus dérivée est que des bandes larges sont supprimées par rapport aux bandes nettes. L'amplitude (D_n) du pic gaussien de la dérivée n est inversement proportionnelle à la largeur du pic d'origine (W), en tenant compte du n ème ordre, donc cet effet augmente à mesure que le degré de différenciation augmente.

$$D_n \sim W^{-n}$$

Par conséquent, pour deux pics de coïncidence de la même intensité, la n ème amplitude du dérivé de détergent (X) est supérieure à celle du plus large pic (Y) d'un facteur qui augmente avec l'ordre du dérivé :

$$\frac{D_{n,X}}{D_{n,Y}} = \left[\frac{W_Y}{W_X} \right]^n$$

Cette propriété mène au rejet sélectif des interférences spectrales additives telles que la diffusion Rayleigh.

Si la loi Beer-Lambert est respectée, c'est :

$$A = \varepsilon$$

$$\frac{dA}{d\lambda} = \frac{d\varepsilon}{d\lambda} bc$$

$$\frac{d^2A}{d\lambda^2} = \frac{d^2\varepsilon}{d\lambda^2} bc$$

Et de même pour les dérivés supérieurs, où ε est l'absorptivité molaire ($\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), b la longueur du trajet cellulaire (cm) et c la concentration ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

Pour un travail quantitatif, l'amplitude d'un pic dérivé peut-être mesurée de différentes manières. Bien que l'amplitude dérivée réelle soit celle mesurée par rapport au zéro dérivé, la pratique la plus courante consiste à recevoir l'amplitude par rapport à un satellite dans le spectre, ce qui permet une nouvelle quantité d'élimination des interférences des corps étrangers. Il est important d'exécuter des étalons dans l'ordre de bracketing avec les échantillons, puis envoyez-les aux mêmes conditions expérimentales. Il convient de noter que l'insertion graphique supposée remplit les critères analytiques de la réponse linéaire avec la concentration, la régression par ou près de l'origine, l'indépendance contre les substances perturbantes et la précision optimale.

En général, la spectroscopie dérivée se divise en deux classes. Ce sont des méthodes optiques de manipulation du faisceau de rayonnement lui-même et des méthodes électroniques ou numériques de manipulation de la sortie du détecteur photométrique. Les appareils analogiques électroniques produisent la dérivée nécessaire en fonction du temps lorsque le spectre est balayé à une vitesse constante ($d\lambda/dt$). Ainsi, l'amplitude de la dérivée dépend de la vitesse de balayage, de la largeur de fente en degrés et du gain. De plus, le rapport signal sur bruit diminue d'environ la moitié à chaque séquence de démarrage successive.

La transformation du spectre en une dérivée seconde ou plus produit souvent une configuration plus caractéristique que le spectre d'ordre zéro, mais n'augmente pas la quantité d'informations inhérentes aux données. Cela est dû à la perte de certaines données, comme un coefficient de déplacement constant. Cependant, les méthodes dérivées ont tendance à mettre l'accent sur les caractéristiques spectrales subtiles en les présentant de nouvelles manières facilement

accessibles à l'œil. Cette méthode est couramment appliquée à la chimie analytique et peut également être utilisée pour améliorer la résolution des données analytiques électrochimiques, chromatographiques ou thermiques [77].



**DEUXIEME PARTIE :
PARTIE EXPERIMENTALE**

I. Introduction

Un conservateur est une substance naturelle ou synthétique qui est ajoutée à des produits tels que des produits agroalimentaires afin de les protéger contre les altérations et les dégradations dues aux micro-organismes et prolonger la durée de conservation.

Le sorbate de potassium est le sel de potassium de l'acide sorbique ; c'est un acide gras polyinsaturé utilisé pour inhiber la croissance des moisissures dans différentes denrées alimentaires à une teneur maximale de 1000 mg/kg.

Des études antérieures ont rapporté la présence de ce conservateur par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) dans divers produits alimentaires. Les inconvénients majeurs de cette méthode étaient liés à l'utilisation de tétrahydrofurane dans la phase mobile et les longues étapes de nettoyage avant l'analyse CLHP. D'autres méthodes ont été décrites pour la détermination du sorbate de potassium par chromatographie sur couche mince (CCM) et par chromatographie liquide utilisant une résine anionique couplée à une extraction en phase solide pour nettoyer les échantillons avant l'analyse. Ces deux méthodes ont atteint une bonne sensibilité, cependant, elles impliquent également de nombreuses étapes, ce qui peut entraîner une perte des analytes lors de la préparation de l'échantillon.

L'objectif de cette étude est de fournir une nouvelle méthode d'analyse simple, rapide, fiable et disponible pour la quantification du sorbate de potassium basée sur l'exploitation du potentiel de la spectrométrie IRTF et l'ATR qui permet l'analyse sans traitement préalable des échantillons.

II. Matériels et méthodes

II.1. Appareillage

Un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) de marque THERMO SCIENTIFIC type « Nicolet iS10 », équipé d'un détecteur DTGS KBr, d'un rayonnement laser et une séparatrice XT-KBr ont été utilisés. Des échantillons commerciaux et des standards ont été mesurés en mode de réflexion

totale atténuée (ATR) en utilisant un accessoire Smart iTR, avec une plaque diamantée.

Pour le contrôle des mesures et le traitement des spectres, le logiciel OMNIC 9.8 sous le système d'exploitation Microsoft Windows 7 a été utilisé. La calibration monovariée a été réalisée à l'aide de l'application TQ Analyst intégrée dans le logiciel d'instrument.

Un bain d'eau à ultrasons (S10, Elmasonic) a été utilisé pour la préparation des échantillons.



Figure II.1 : Appareil d'analyse ATR-FTIR

II.2. Réactifs et produits

Les réactifs, éthanol absolu et éthanol 96%, sont de grade analytique, ont été utilisés ; pour la préparation des échantillons et les standards. Le standard, sorbate de potassium de grade technique, procuré du magasin 'Matière première Koléa, a été utilisé dans cette étude. Le sulfate de magnésium ($MgSO_4$) a été utilisé pour le séchage.

Nous nous sommes intéressés dans cette étude à la gamme de denrées alimentaires qui mentionne sur les étiquettes, la présence du sorbate de potassium codé par l'E202 et sans préciser la teneur, de ce fait, des échantillons de produits alimentaires dont le nombre est de huit (08), à savoir, (02) échantillons de crème fraîche, (02) échantillons de Fromage, (01) échantillon de Margarine, (01)

échantillon de Mayonnaise, (01) échantillon de Yaourt et (01) échantillon de Nappage « gelée », obtenus au niveau des super marchés dans la région de Blida, ont été utilisés dans cette étude.

II.3. Préparation des échantillons

Dans le passé, de nombreuses expériences et travaux de recherche ont été menés par des chercheurs pour déterminer la présence et la quantité du sorbate de potassium dans différentes denrées alimentaires, bien qu'il a été utilisé le méthanol, on a décidé d'utiliser l'éthanol comme solvant d'extraction, car il est adéquat à l'analyse ATR-IRTF. Donc le protocole de préparation utilisé est résumé sur l'organigramme de la figure II.2.

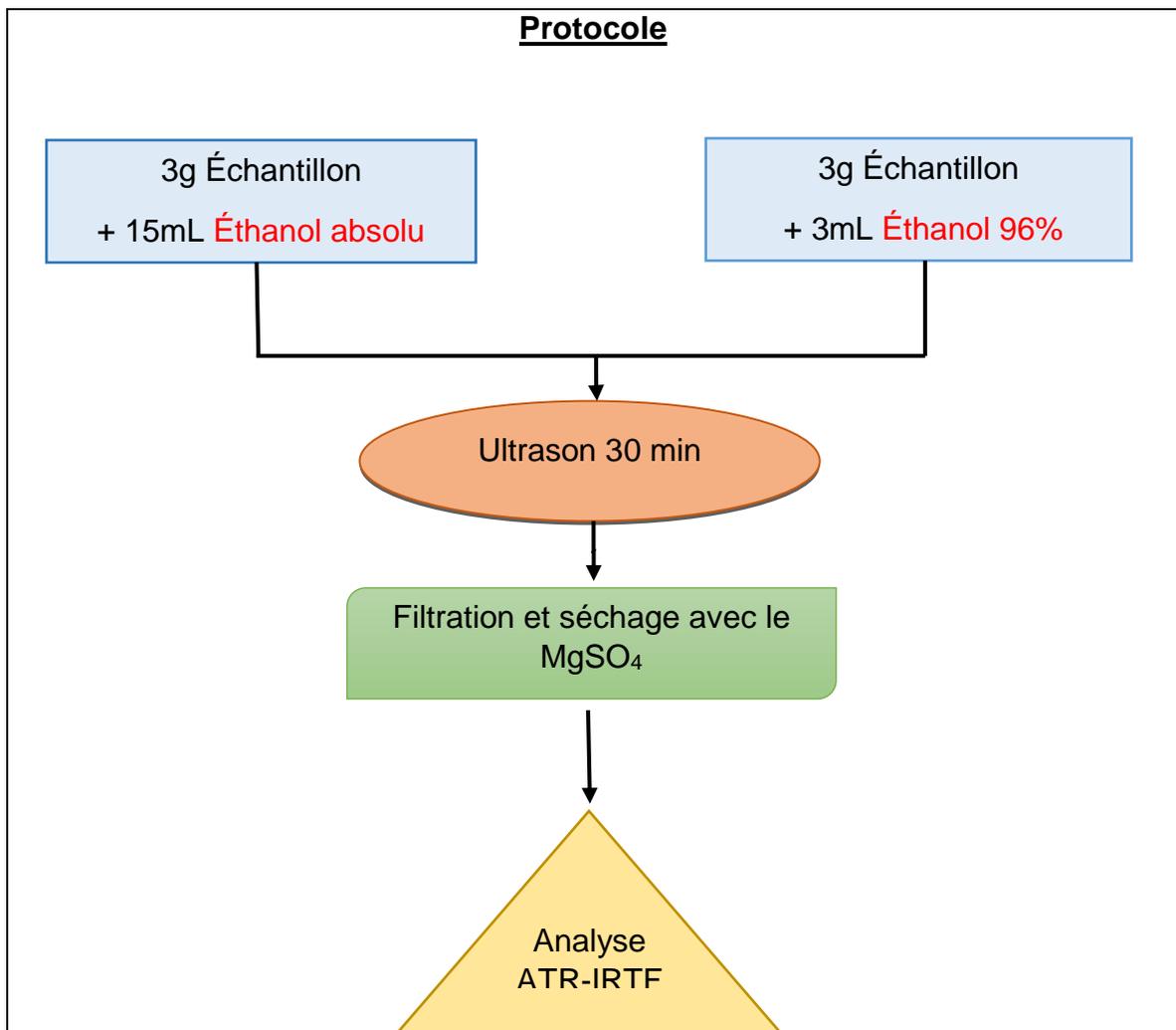


Figure II.2 : Protocoles d'extraction du sorbate de potassium des échantillons commerciaux.

Pour l'extraction du sorbate de potassium, nous avons testé deux solvants en l'occurrence : l'éthanol absolu et l'éthanol 96%. Bien que les travaux antérieurs aient utilisés le méthanol, nous avons considéré, dans cette étude, l'éthanol. Car il est plus adéquat et vert pour l'analyse ATR-IRTF, sachant que nous utilisons la méthode du « Film sec ».

II.4 Mesures ATR-IRTF

Le travail a été réalisé en plaçant 0.2 μ L de chaque échantillon directement sur la cellule cristalline de diamant à réflexion totale atténuée (ATR). Les spectres ATR-IRTF ont été enregistrés dans une gamme spectrale de 4000 à 525 cm^{-1} en accumulant 32 scans par spectre avec une résolution nominale de 4 cm^{-1} . Le spectre du background de la cellule ATR a été acquis, dans les mêmes conditions instrumentales, il est établi immédiatement avant l'acquisition du spectre de chaque échantillon.

Pour la calibration monovariée, une série de solution d'étalonnage contenant du sorbate de potassium a été préparée dans une plage de concentrations allant jusqu'à 10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

III. Résultats et discussions

III.1. Choix du solvant d'analyse

Afin de trouver un compromis entre qualité des spectres ATR-IRTF, meilleure solubilité du sorbate de potassium dans le solvant et le rendement d'extraction élevé, nous avons testé l'éthanol absolu et l'éthanol 96% comme solvant d'analyse.

Après une analyse du sorbate de potassium sous forme de poudre et en solutions éthanoliques, dissout dans l'éthanol absolu et l'éthanol 96%, ainsi que les extraits d'échantillons réels (les filtrats) par ATR-IRTF dans les mêmes conditions expérimentales, on a obtenu les spectres suivants :

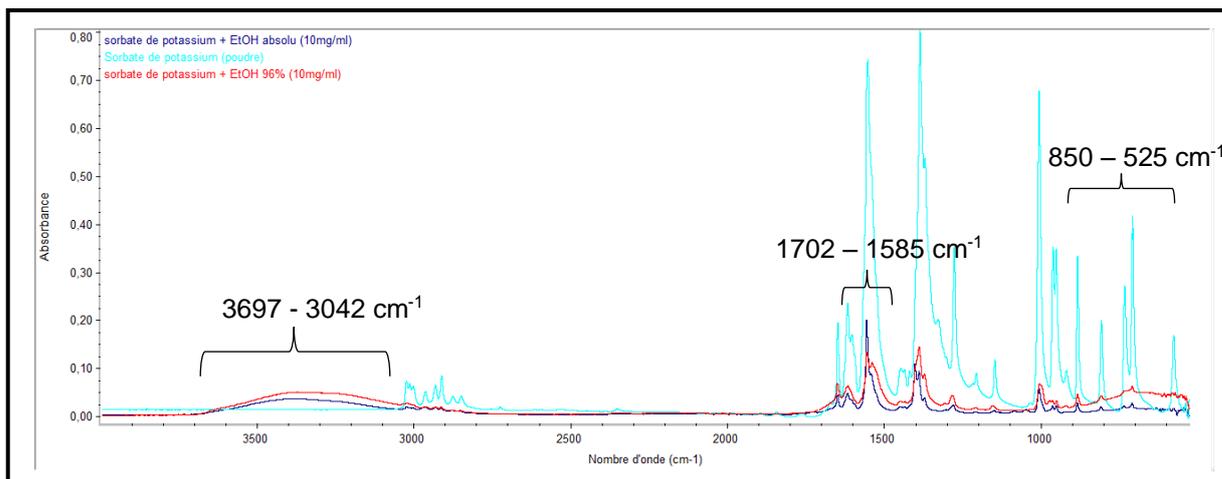


Figure III.3 : Spectres ATR-IRTF comparatives de sorbate de potassium sous forme de poudre et des solutions étalons du sorbate dissout dans l'éthanol absolu et l'éthanol 96% à une concentration $10\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

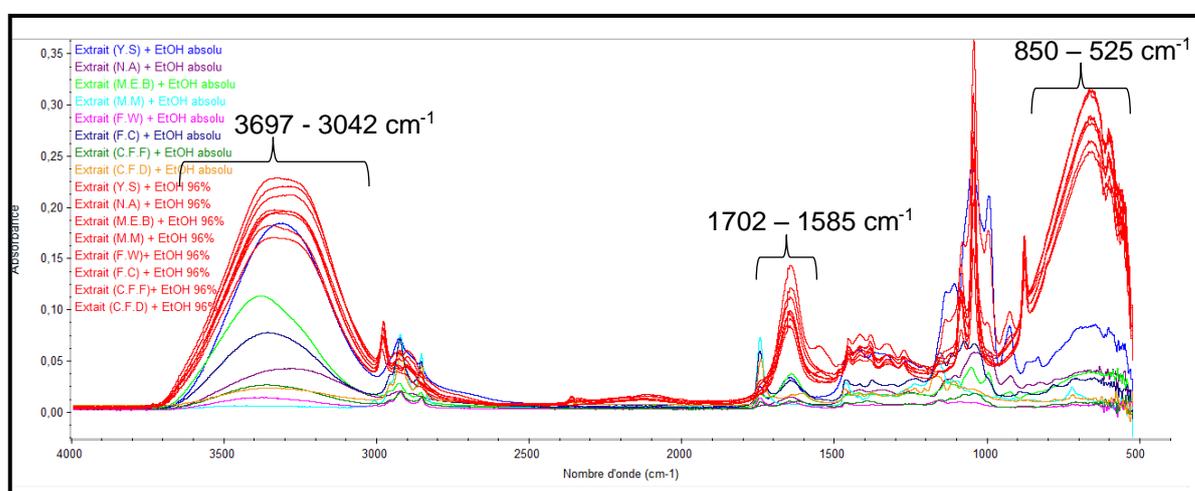


Figure III.4 : Spectres ATR-IRTF comparatives des extraits d'échantillons réels dans l'éthanol absolu et l'éthanol 96%.

En comparant les spectres de la figure III.3, regroupant le spectre du sorbate de potassium sous forme de poudre et dissout dans l'éthanol absolu et l'éthanol 96%, nous constatons la présence des traces d'eau dans les deux solutions marquées par l'apparition des bandes au niveau des zones : $3697 - 3042$, $1702 - 1585$ et $850 - 525\text{cm}^{-1}$.

Cependant, la comparaison des spectres ATR-IRTF des extraits d'échantillons réels dans l'éthanol absolu et l'éthanol 96% (figure III.4) avec les

spectres des solutions étalons de sorbate de potassium 10mg.mL^{-1} , montre que les solutions d'éthanol 96%, étant plus polaire, donnent des pics intenses aux zones : $3697 - 3042$, $1702 - 1585$ et $850 - 525 \text{ cm}^{-1}$ masquant les bandes spécifiques du sorbate de potassium à $1729 - 1558$ et $1450 - 1300 \text{ cm}^{-1}$. Ceci peut être dû aux produits extraits avec le solvant le plus polaire ou un passage d'une quantité d'eau existante dans les extraits d'échantillons.

De ce fait, nous avons décidé d'utiliser l'éthanol absolu comme solvant d'analyse pour les prochaines expériences pour permettre l'exploitation des bandes spécifiques.

III.2. Test de l'analyse directe des échantillons réels sans traitement préalable

Pour l'analyse des échantillons réels, nous avons commencé par tester la possibilité d'analyser les échantillons commerciaux directement sans aucun traitement préalable (Analyse directe).

La comparaison des spectresATR-IRTF d'échantillons avec celui de l'eau de la figure III.5a, montre la présence d'une quantité importante d'eau dans les échantillons illustrés aux zones 1, 2 et 3 à $3710 - 2981$, $1717-1575$ et $850-525 \text{ cm}^{-1}$ respectivement, car la bande large vers 3350 cm^{-1} qui appartient à la zone 3 est due probablement à la présence de traces d'eau dans les échantillons. Ceci est effectivement confirmé par la présence de la bande intense à 1602 cm^{-1} dans la zone 2. Suite à cela, l'analyse directe des échantillons s'avère impossible et l'extraction du sorbate de potassium s'impose.

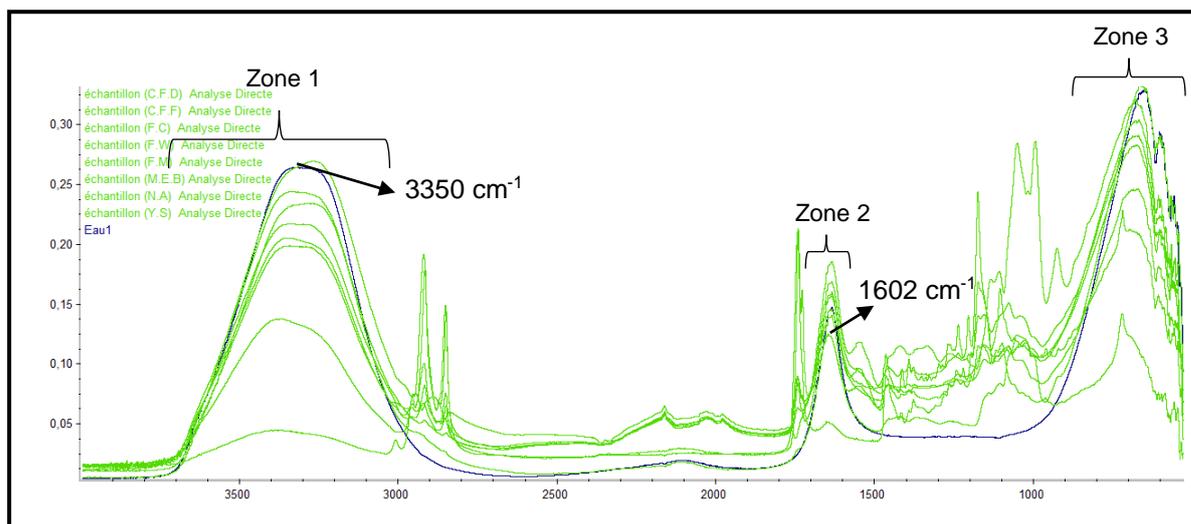


Figure III.5a : Spectres ART-IRTF des échantillons commerciaux sans traitement préalable et spectre d'eau.

La figure (III.5b) montre les spectres ATR-IRTF des extraits d'échantillons réels dissout dans l'éthanol absolu pour les deux autres zones à 3698-3042 et 1464-1233 cm^{-1} sont liés aux vibrations d'élongation des groupements C—O et O—H (libre). Les bandes à 2923 et 2853 cm^{-1} sont dues aux vibrations d'élongation du groupement C—H. Les bandes moyennement intenses à 1744 et 1646 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation des groupements C=C (Alcène) et C=O (carbonyle), D'autres bandes à 1107, 1049, 994 et 926 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation des groupements C—H ; C—H ; C—O (Alcool) ; C—O (Alcool). La série des bandes d'absorption entre 850 et 525 cm^{-1} correspondent aux groupements de vibration d'élongation C—H.

D'après ces spectres ATR-IRTF, il était évident de suivre le protocole, de préparation des extraits d'échantillons, décrit précédemment qui permet l'élimination ou la réduction de la quantité d'eau présente dans les échantillons. Pour y faire, nous avons procédé le passage des extraits éthanoliques à travers un desséchant MgSO_4 .

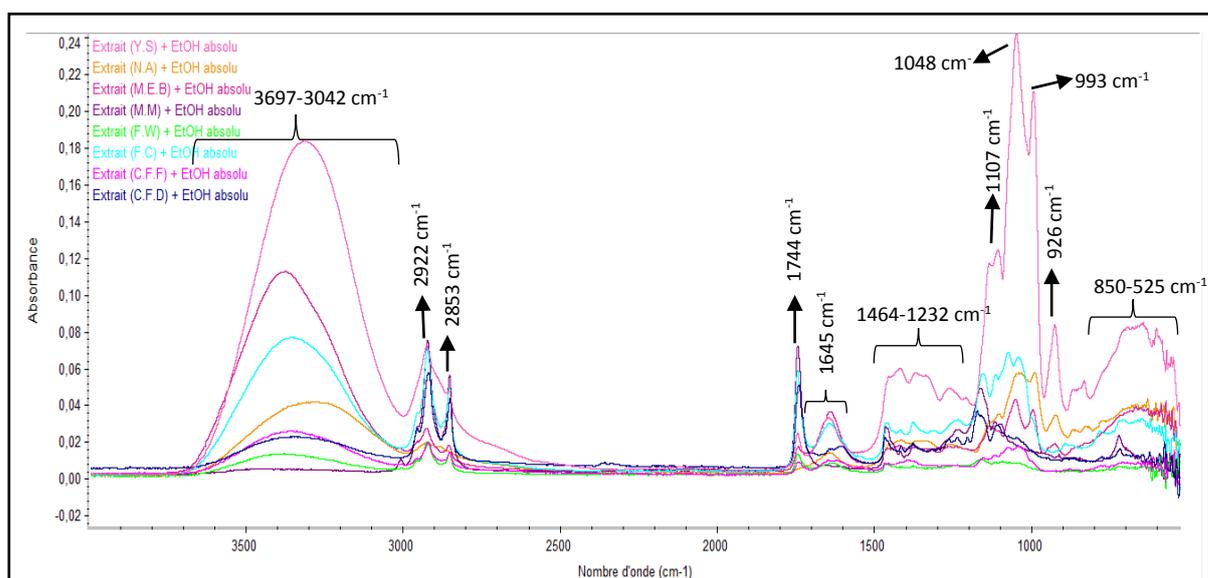


Figure III.5b : Spectres ATR-IRTF des échantillons commerciaux après traitement.

La comparaison des spectres des figures III.5a et III.5b, montre que l'intensité des bandes dans les zones 1, 2 et 3 à 3710 – 2981, 1717 – 1575 et 850 – 525 cm^{-1} respectivement a diminué, cela indique la réduction de la quantité d'eau présente dans les échantillons commerciaux après traitement.

Suite au résultat obtenu, il reste évident de passer les échantillons à travers MgSO_4 .

III.3. Etablissement des paramètres analytiques du sorbate de potassium

Avant d'aborder les différentes étapes expérimentales, nous vous proposons quelques aspects théoriques pour une meilleure compréhension des résultats.

III.3.1. Concepts théoriques

III.3.1.1. Principe théorique du logiciel TQ Analyst

Le logiciel TQ Analyst est un outil puissant pour les environnements de fabrication, de recherche, d'enseignement et d'entreprise ainsi que le développement des méthodes analytiques pour les applications spectroscopiques, Exploitez tout le potentiel de l'infrarouge moyen, proche, lointain et Raman. Ce

dernier est utilisé en complément du logiciel Thermo Scientific™ OMNIC™ FT-IR, du logiciel Thermo Scientific™ RESULT™.

Pour les spectroscopies de tous niveaux d'expérience, le logiciel TQ Analyst est une plate-forme complète de développement de méthodes avec toutes les performances et la flexibilité nécessaires pour développer des méthodes robustes. Il offre un ensemble complet d'outils pour la mesure spectrale, la classification et l'analyse quantitative.

Le TQ Analyst offre une large gamme de fonctionnalités, y a compris :

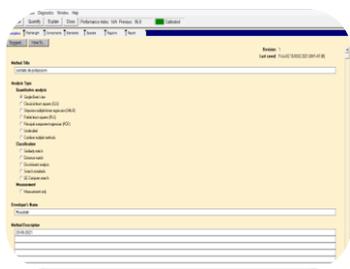
- Prétraitement et la sélection spectrale
- Traitements de longueur de chemin
- Diagnostic complet
- Traitement des données
- Des outils qualitatifs et quantitatifs complets
- Correction algorithmique et transférabilité des méthodes

Ce logiciel permet de créer différents types des méthodes pour l'analyse quantitative comprennent :

- Normes de recherche
- Match à distance
- Correspondance de similarité
- CQ Comparer
- Analyse discriminante
- Loi de la bière simple
- Régression linéaire multiple pas à pas (SMLR : Stepwise Multiple LinearRegression)
- Moindres carrés classiques (CLS : Classical Least Squares)
- Moindres carrés partiels (PLS : Partial Least Squares)
- Régression en composante principale (PCR : Principal Component Regression)

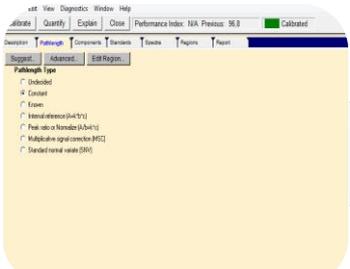
III.3.1.2. Étapes de la création d'une méthode de calibration monovariée dans le TQ Analyst

Toutes les étapes qui permettent la création d'une méthode de calibration monovariée dans le TQ Analyst sont résumées dans la figure III.6 ci-dessous :



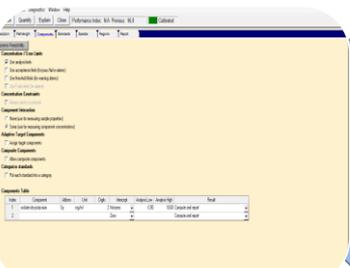
Etape 1 "Description"

- Donner un titre au méthode
- Choisir la loi de Beer-Lambert
- Nom du développeur
- Description et détails de la méthode



Etape 2 "Pathlength"

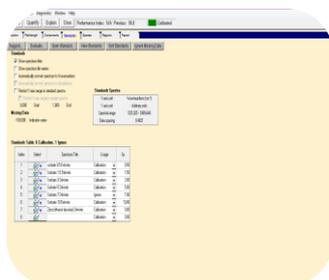
- Choisir trajet optique (constant)



Etape 3 "Components"

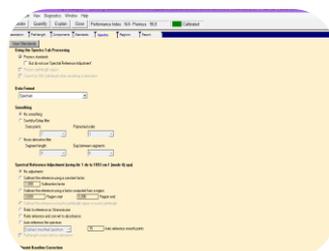
- Entrer le nom du composant
- Entrer un abréviation du nom de composant
- Entrer l'unité utilisée
- Entrer les chiffres significatifs des résultats
- L'interprétation avec l'origine ou non
- Entrer la gamme d'étalonnage

Type	Component	Units	Signif	Origin	Interpret	Range
1	methanol	%	4	Yes	CE	100.00000000
2						



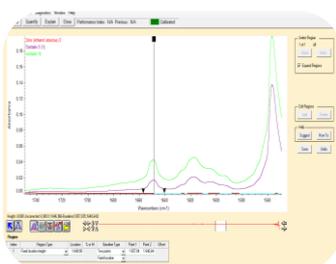
Etape 4 "Standarts"

- Ouvrir les spectres des étalons
- Utiliser ce spectre à la calibration
- Entrer la valeur de la concentration d'analyte
- Sélectionner les spectres à utiliser à cette calibration



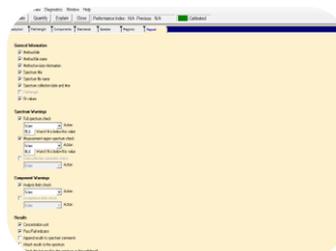
Etape 5 "Spectra"

- Cette étape peut être négligée, elle est utile lorsqu'on veut faire un prétraitement des spectres, par exemple : **spectres dérivés, lissage des spectre, correction de la ligne de base, autres...**



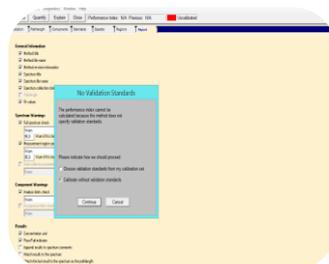
Etape 6 "Regions"

- Choisir une bande appropriée
- Choisir : Hauteur à point fixe ou Aire d'un pic
- Choisir le type de la ligne de base deux points)
- Enregistrer les données



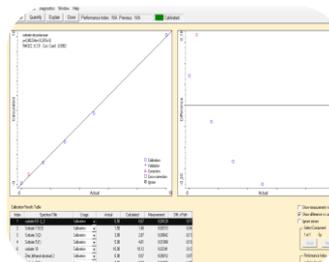
Etape 7 "Report"

- Cette page contrôle les paramètres analytiques affichés dans le rapport de la méthode



Etape 8 "Calibration"

- Cliquer sur « Calibration »
- Mettre « Calibration sans validation »
- Cliquer sur « Continuer »



Etape 9

- L'obtention de la droite de calibration, avec l'équation de la droite, le coefficient de corrélation et le RMSEC (L'erreur)

Figure III.6 :Les différentes étapes de la création d'une méthode de calibration monovariée dans de TQ Analyst.

III.3.1.3. Formules et interprétations théorique des paramètres analytiques de la validation

La validation d'une procédure analytique est de démontrer que les résultats obtenus correspondent à l'usage pour lequel elle est prévue. L'objectif de la validation des méthodes d'analyse est de démontrer qu'elles conviennent aux usages auquel on les destine et de donner aux laboratoires ainsi qu'aux autorités compétentes les garanties que chaque mesure qui sera réalisée ultérieurement en routine, une fois la procédure validée, sera suffisamment proche de la « vraie valeur » inconnue de l'échantillon ou du moins comprise dans une limite acceptable.

Les différents critères de validation testés sont les suivants :

L'erreur quadratique moyenne d'étalonnage (RMSEC)

Cette erreur mesure la différence moyenne entre les valeurs prédites et les valeurs de référence et, ainsi, donne une vue globale de l'ajustement du modèle « dans quelle mesure le modèle prédit les mêmes échantillons qui ont été utilisés pour calculer la maquette ».

Coefficient de corrélation (R)

Le coefficient de corrélation est la mesure spécifique qui quantifie la force de la relation linéaire entre deux variables quantitatives d'une analyse de corrélation. Le terme de corrélation linéaire fait référence à la fonction linéaire.

Le coefficient de corrélation linéaire est compris entre -1 et 1.

- 0 correspondant à une corrélation linéaire nulle.
- -1 une corrélation linéaire négative parfaite
- 1 une corrélation linéaire positive parfaite

Limite de détection (LD)

La limite de détection d'une méthode d'analyse est la plus basse concentration d'analyte qui peut être détectée de manière reproductible mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte.

On effectue une Dixaine (10) de mesures répétées de blancs (matrice dépourvue de l'analyte à doser, calibrateur, diluant) dans un même test. La LD se calcule selon la formule suivante :

$$LD = \frac{3\sigma}{a}(\text{unité de concentration})$$

Avec :

σ : L'écart type du blanc pour 10 répliques.

a : Pente de la droite de calibration.

Limites de quantification (LD)

La limite de quantification d'une méthode d'analyse est la concentration minimale qui peut être quantifiée à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité acceptable.

Un Coefficient de variabilité acceptable peut être de 10 % ou tel que définie dans le protocole de validation/vérification. La LQ se calcule selon la formule suivante :

$$LQ = \frac{10\sigma}{a}(\text{unité de concentration})$$

Déviations standard relative (RSD)

C'est la valeur absolue du coefficient de variance, il s'exprime par un pourcentage (%). Le RSD se calcule selon la formule suivante :

$$CV(\%) = RSD(\%) = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100$$

σ : L'écart type de la médiane pour 10 répliques.

\bar{x} : La moyenne des mesures.

La figure III.7 est fournie par le logiciel OMNIC pour calculer la limite de détection (LD), la limite de quantification (LQ) et le coefficient de variance (CV (%)).

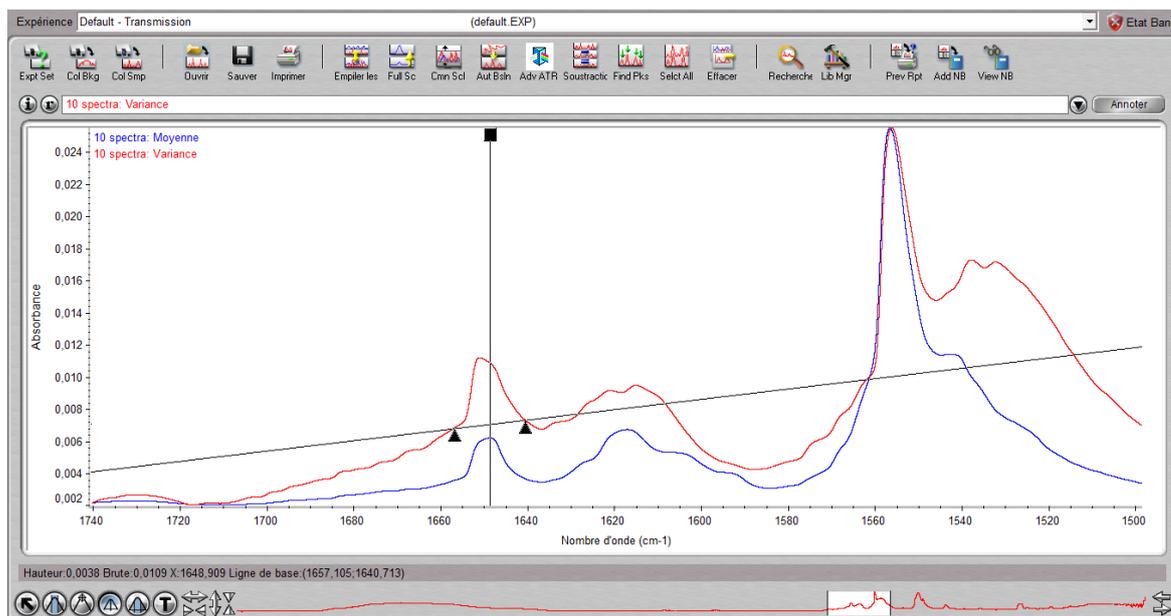


Figure III.7 : Spectres de variances et moyen.

Domaine de linéarité

La linéarité d'une méthode d'analyse est sa capacité dans un intervalle de donner des résultats qui sont directement (à l'intérieur de certaines limites) proportionnels à la concentration (quantité) de la substance analysée dans un échantillon.

Cette proportionnalité s'exprime au travers d'une expression mathématique définie à priori. Les limites de linéarité sont les limites expérimentales de grandeurs entre lesquelles un modèle d'étalonnage linéaire peut être appliqué avec un niveau de confiance connu (généralement pris égal à 1 %).

III.3.2. Calibration monvariée du sorbate de potassium dissout dans l'éthanol absolu par spectrométrie IRTF

Le spectre ATR-IRTF représenté dans la figure III.8, montre une bande à 3022 cm^{-1} correspondant aux vibrations d'élongations du groupement C—H (alcène), des bandes dans la région entre 2986 et 2821 cm^{-1} liées aux vibrations d'élongations des groupes CH_3 . Il présente aussi une bande à 1649 cm^{-1} caractéristique aux vibrations d'élongations du groupement C=C (alcène), une bande intense à 1556 cm^{-1} correspondante aux vibrations d'élongations du groupement C=O de l'ester. Deux bandes à 1392 cm^{-1} présentent la déformation

des groupes CH_3 ainsi que la bande à 1280 cm^{-1} caractéristique aux vibrations d'élongations du groupement $\text{C}=\text{O}$ de l'ester. La bande qui appartient vers 1150 cm^{-1} est dû aux vibrations de déformations du groupement $\text{C}=\text{H}$ de l'alcène. La bande intense à 1000 cm^{-1} correspondantes aux vibrations d'élongations du groupement $\text{C}-\text{C}$.

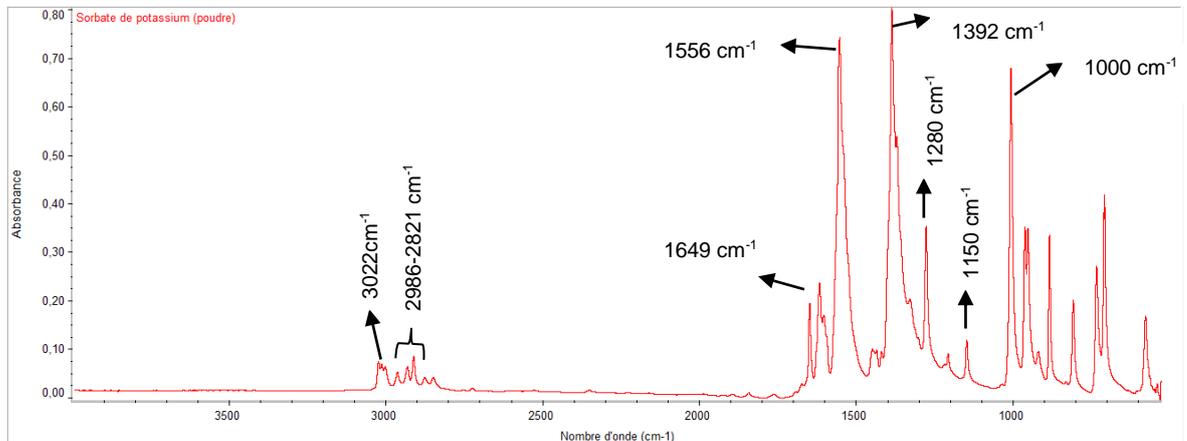


Figure III.8: Spectre ATR-IRTF du sorbate de potassium en poudre

La figure III.9, montre la comparaison des bandes des extraits d'échantillons réels et celles du sorbate de potassium dissout dans l'éthanol absolu. La zone spectrale 1,2 et 3 comprises entre : $752-698$, $1480-1363$ et $1691-1581\text{ cm}^{-1}$ respectivement ont été sélectionnées pour établir la calibration.

Elle montre la similitude, en termes d'intensité et d'allure, entre les bandes spécifiques du sorbate de potassium en solution d'éthanol absolu et dans les extraits d'échantillons réels.

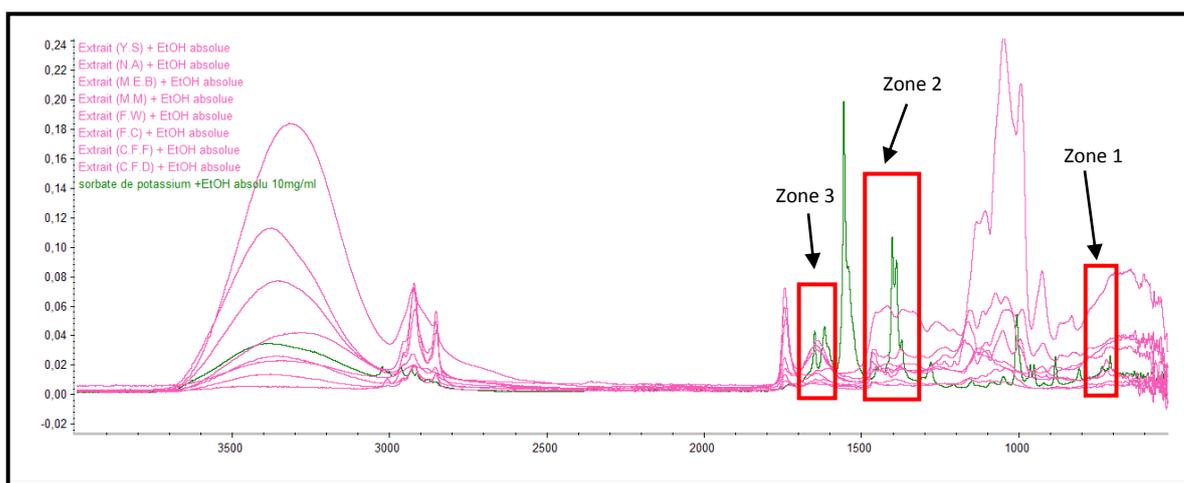


Figure III.9 : Spectres ATR-IRTF des extraits d'échantillons et de la solution étalon du sorbate de potassium dans l'éthanol absolu (10 mg.mL^{-1}) et le zoom des 3 zones sélectionnées pour la calibration monovariée.

Le tableau III.1, résume les paramètres de qualité des calibrations (Coefficient de corrélation R et le RMSEC) en considérant les différents modèles d'intégration optimisés (en terme de bande spécifique et ligne de base) des zone 1, 2 et 3.

Les résultats obtenus montrent que seulement quatre modèles (7, 8, 9 et 10) offrent des calibrations de qualité et ce dans la zone comprise entre $1691 - 1581 \text{ cm}^{-1}$.

Tableau III.1: Paramètres de qualité de calibration des différents modèles proposés dans les 3 zones.

Modèle	Max. du pic / Aire de pic (ligne de base) (cm^{-1})	Equation de la droite de calibration	R	RMSEC
1	Aire de pic L.B : 752 – 698	$Y = 0,0164x + 0,00275$	0,9930	0,398
2	Aire de pic L.B : 1412 – 1363	$Y = 0,174x - 0,0718$	0,9938	0,407
3	Aire de pic L.B : 1480 – 1363	$Y = 0,213x - 0,0436$	0,9946	0,353

4	Aire de pic L.B : 1460 – 1363	$Y= 0,219x - 0,0684$	0,9935	0,388
5	Aire de pic L.B : 1691 – 1581	$Y= 0,133x - 0,399$	0,9922	0,426
6	Aire de pic L.B : 1664 - 1584	$Y= 0,108x -0,0150$	0,9931	0,399
7	Max : de pic 1649 L.B : (1657 - 1640)	$Y= 0,00234x -(0,287.10^{-3})$	0,9993	0,131
8	Aire de pic L.B : (1657 - 1640)	$Y= 0,0176x -0,00309$	0,9986	0,181
9	Aire L.B :1659 -1641	$Y= 0,0149x - 0,00322$	0,9985	0,186
10	Aire de pic L.B :1655 – 1644	$Y= 0,0124x - 0,00223$	0,9990	0,156

III.3.3. Quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels

Le logiciel TQ Analyst nous a permis de vérifier la concentration du sorbate de potassium dans les différents extraits d'échantillons réels dissout dans l'éthanol absolu, les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous en extrapolant dans les modèles retenus (figure III.10) pour cette étude.

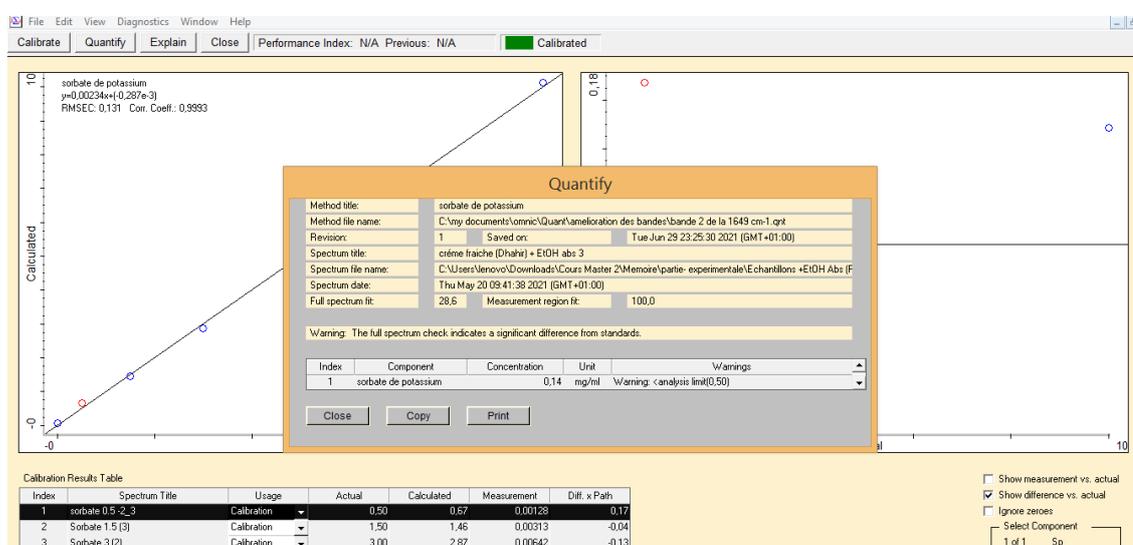


Figure III.10 : Résultat de la prévision de la concentration inconnue « X » pour un extrait d'échantillon réel par le logiciel TQ Analyste.

Tableau III.2: Résultats de la quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels en considérant les quatre optimums modèles de la zone 3 de 1691 - 1581 cm^{-1} .

		Echantillons								
		Modèle	C.F.D	C.F.F	F.W	F.C	M.M	M.E.B	Y.S	N.A
zone3	7		0,61	1,43	0,64	1,36	0,76	1,64	1,32	1,04
	8		1,64	1,94	0,92	2,46	1,24	2,88	2,67	2,2
	9		-0,04	1,57	1,16	1,33	1,4	1,08	1,54	1,56
	10		0,82	1,43	0,84	1,2	1,12	1,64	1,28	1,72

- ❖ Toutes les concentrations obtenues sont en mg.g^{-1} .
- ❖ Les teneurs obtenues sont la moyenne de trois mesures dépendantes.

Tableau III.3 : L'erreur relatives des concentrations obtenues par la quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels en considérant les quatre optimums modèles de la zone 3 de 1691 - 1581 cm^{-1} .

		Echantillons								
		Modèle	C.F.D	C.F.F	F.W	F.C	M.M	M.E.B	Y.S	N.A
zone 3	7		-39	43	-36	36	-24	64	32	4
	8		64	94	-8	146	24	188	167	120
	9		-104	57	16	33	40	8	54	56
	10		-18	43	-16	20	12	64	28	72

Note : Crème fraîche : (C.F.D) et (C.F.F) ; Fromage : (F.W) et (F.C) ; Margarine (M.M) ; Mayonnaise (M.E.B) ; Yaourt (Y.S) ; Nappage (N.A).

En fonction des résultats de la quantification obtenus dans le tableau III.2, on remarque que le modèle 7 fourni des valeurs acceptables par rapport à valeurs obtenues par les autres modèles. Avec des valeurs d'erreur qui varient entre -39 à 43 %.

III.3.5. Détermination des paramètres analytiques aux modèles sélectionnés

Les paramètres analytiques calculés sont résumés dans le tableau ci-dessous pour les 4 modèles retenus dans la zone 3 entre pour un domaine linéaire de 0,5 – 10mg.mL⁻¹.

Tableau III.4 : Paramètres analytiques des modèles choisis se la zone 3 (1691 - 1581 cm⁻¹)

Modèle	Max. du pic / Aire de pic (Ligne de base) (cm ⁻¹)	Équation de la droite	LD mg.mL ⁻¹	LQ mg.mL ⁻¹	CV (%) pour la médiane (3 mg.mL ⁻¹)
7	Max : 1649 L.B:1657- 1640	$y= 0,00234x-(0,287.10^{-3})$	0,064	0,213	34,54
8	Aire L.B: 1657-1640	$y= 0,0176x-0,00309$	0,131	0,347	49
9	Aire L.B:1659-1641	$y= 0,0149x-0,00322$	0,183	0,610	34,84
10	Aire L.B :1655– 1644	$y= 0,0124x -0,00223$	0,104	0,346	32,76

Parmi les modèles de calibrations retenus, on a choisi le modèle 7 comme modèle final car il a accordé les meilleurs résultats des paramètres analytiques compte tenu aux autres modèles.

IV. Analyse par la méthode des ajouts dosés

IV.1. Principe théorique de la méthode des ajouts dosés

La méthode des ajouts dosés également connus sous le nom d'ajouts connus, comprennent des méthodes de dosage des produits chimiques en solution. Elle constitue une alternative à la méthode de la droite d'étalonnage (ou de la gamme d'étalonnage) notamment lorsque le milieu contenant l'analyte (ou la "matrice", ensemble de tous les constituants présents dans l'échantillon) est complexe ou lorsque sa composition exacte n'est pas connue avec précision. Par conséquent, la préparation d'une solution étalon dans les mêmes conditions que

l'échantillon est très difficile, voire impossible. Par suite, il est parfaitement logique d'utiliser la méthode des ajouts dosés.

La présence d'autres espèces physico-chimiques que l'analyte dans la "matrice" peut provoquer une modification notable (augmentation ou diminution) du signal S donné par l'analyte en comparaison de celui obtenu lorsque celui-ci se trouve seul dans une solution étalon. Ceci conduit donc à un changement de la sensibilité de la méthode.

La sensibilité de la méthode représente la pente de la droite d'étalonnage. Plus la sensibilité sera élevée plus il sera facile de distinguer deux échantillons de concentrations voisines.

Pour déterminer la concentration inconnue C_x on a :

$$\text{Réponse}_{\text{totale}} = a \cdot C_{\text{ajout}} + \text{Réponse}_x$$

Avec :

a : pente de la droite d'étalonnage

C_{ajout} : concentration de l'ajout réalisé

$\text{Réponse}_{\text{totale}}$: réponse du détecteur

Réponse_x : réponse du détecteur pour la solution inconnue sans ajout

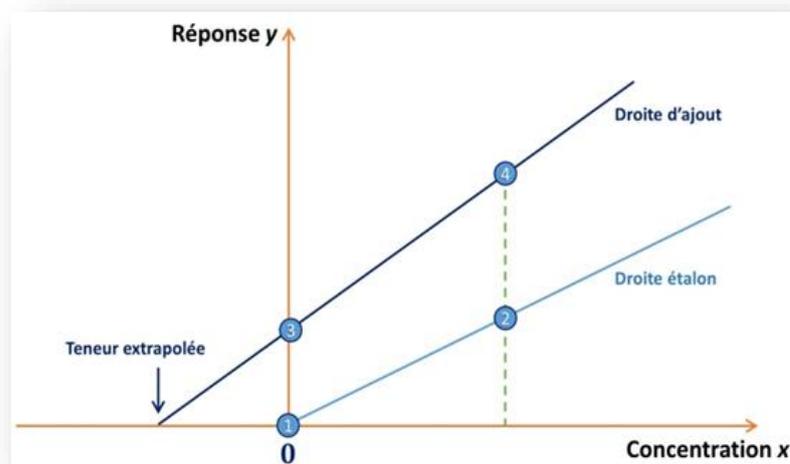


Figure IV.11 : Théorie des ajouts dosés

Par ailleurs, la concentration totale des solutions dosée est égale à la concentration de la solution inconnue à laquelle il faut ajouter la concentration de l'ajout.

$$\text{Soit : } C = C_x + C_{\text{ajout}}$$

Sur cette droite, pour le point particulier A, où la réponse du détecteur est nulle, la concentration totale est également nulle :

$$\text{Réponse}_{\text{totale}} = 0 \quad \text{et} \quad C = 0$$

Soit :

$$a.C_{\text{ajout}} + \text{Réponse}_x = 0 \quad \text{et} \quad C_x + C_{\text{ajout}} = 0$$

Soit donc :

$$C_{\text{ajout}} = -\text{Réponse}_x / a \quad \text{et} \quad C_x = -C_{\text{ajout}}$$

Il vient donc : $C_x = \text{Réponse}_x / a$

La méthode des ajouts dosés nous permet de calculer le coefficient de récupération de formule :

$$R(\%) = \left| \frac{\text{concentration obtenue par la méthode de la gamme d'étalonnage}}{\text{Concentration obtenur par la méthode des ajouts}} \right| \times 100$$

R : coefficient de récupération en pourcentage (%)

IV.2. Analyse des échantillons par la méthode des ajouts dosés

Afin d'augmenter l'intensité des bandes spécifiques du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels, nous avons utilisé la méthode des ajouts doses, tout en ajoutant des solutions du sorbate de potassium dissout dans l'éthanol absolu à des concentrations différentes 2 et 6mg.mL⁻¹ aux échantillons commerciaux selon le protocole décrit est résumé dans l'organigramme de la figure IV.12.

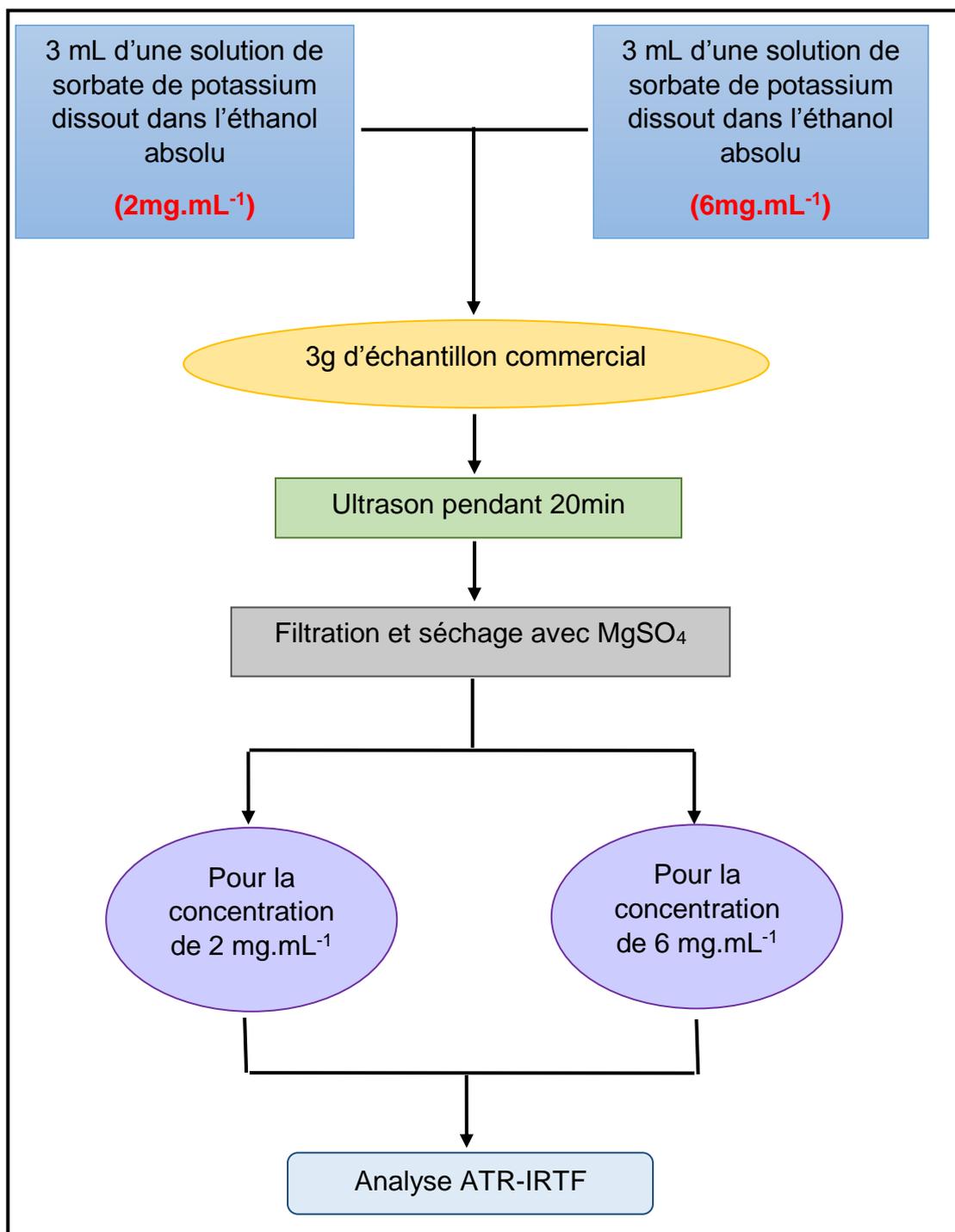


Figure IV.12 : Protocole de préparation des extraits d'échantillons pour les deux concentrations 2 et 6 mg.mL⁻¹.

Un autre protocole a été testé pour cette méthode, mais cette fois ci, on a utilisé les extraits d'échantillons réels obtenus précédemment, extraits des échantillons réels dissout dans l'éthanol absolu, à la place des échantillons tout en ajoutant une quantité de sorbate de potassium pour obtenir une solution de 8mg.mL⁻¹.

Le protocole de préparation approuvé est résumé sur l'organigramme de la figure IV.13.

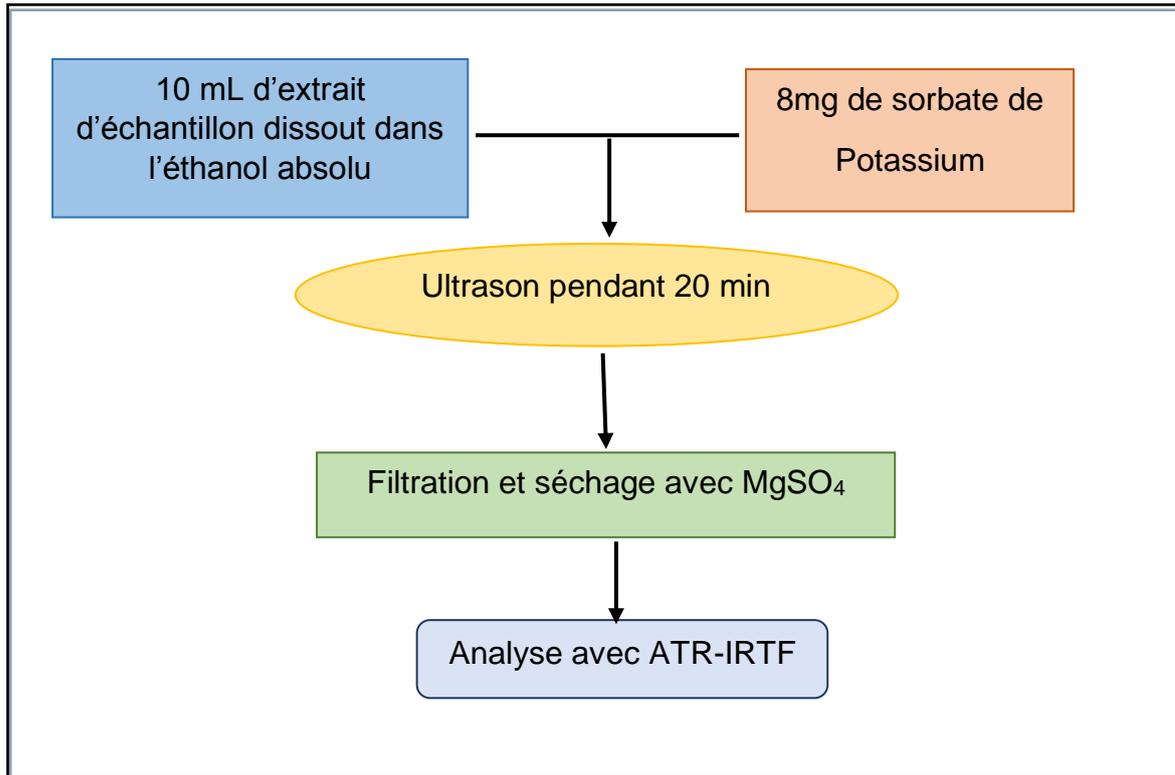


Figure IV.13 : Protocole de préparation des extraits d'échantillons de concentration 8mg.mL⁻¹.

Après la préparation des extraits d'échantillons à des différentes concentrations 2, 6 et 8mg.mL⁻¹, l'analyse ATR-IRTF nous a fourni les spectres représentés par la figure IV.14, la figure IV.15 et figure IV.16 respectivement.

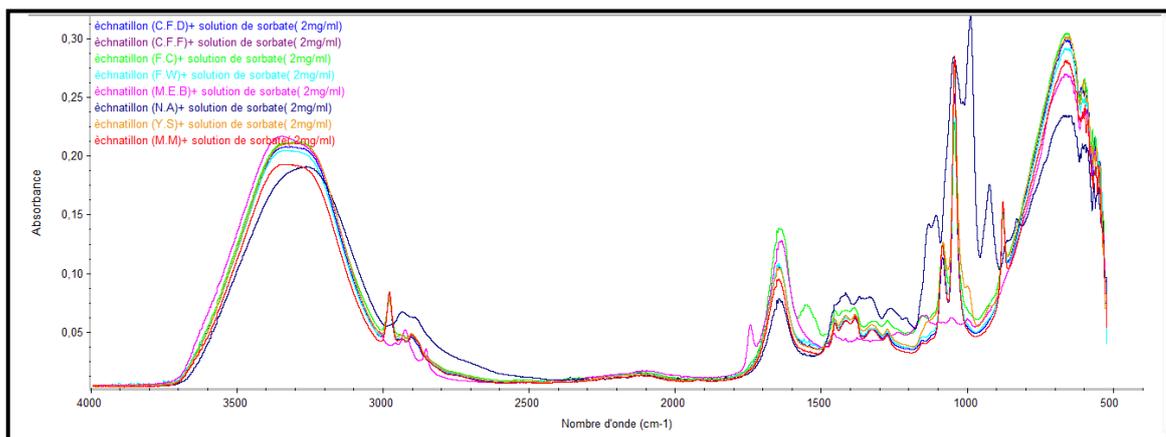


Figure IV.14 : Spectres ATR-IRTF des échantillons par la méthode des ajouts dosés de concentration 2mg.mL⁻¹.

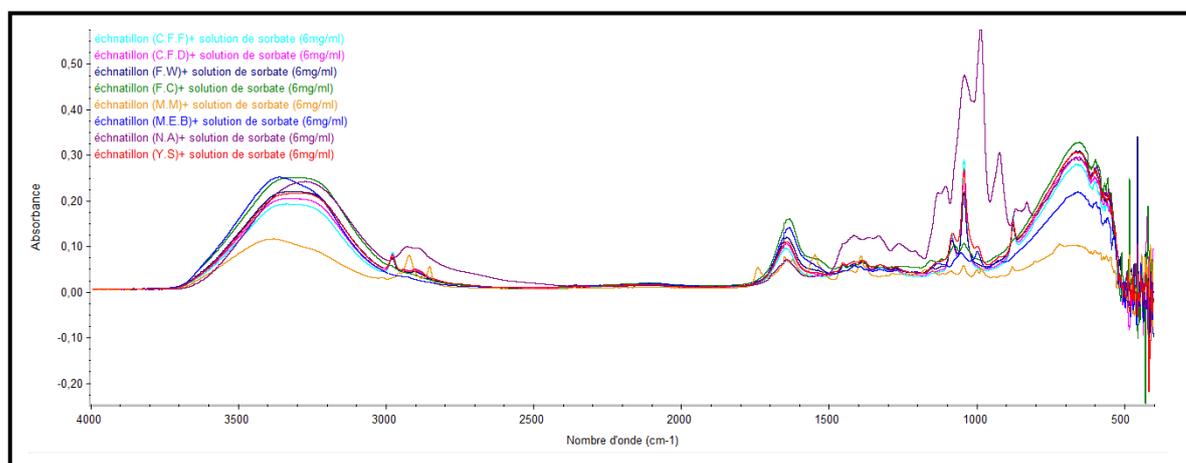


Figure IV.15 : Spectres ATR-IRTF des échantillons par la méthode des ajouts dosés de concentration $6\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

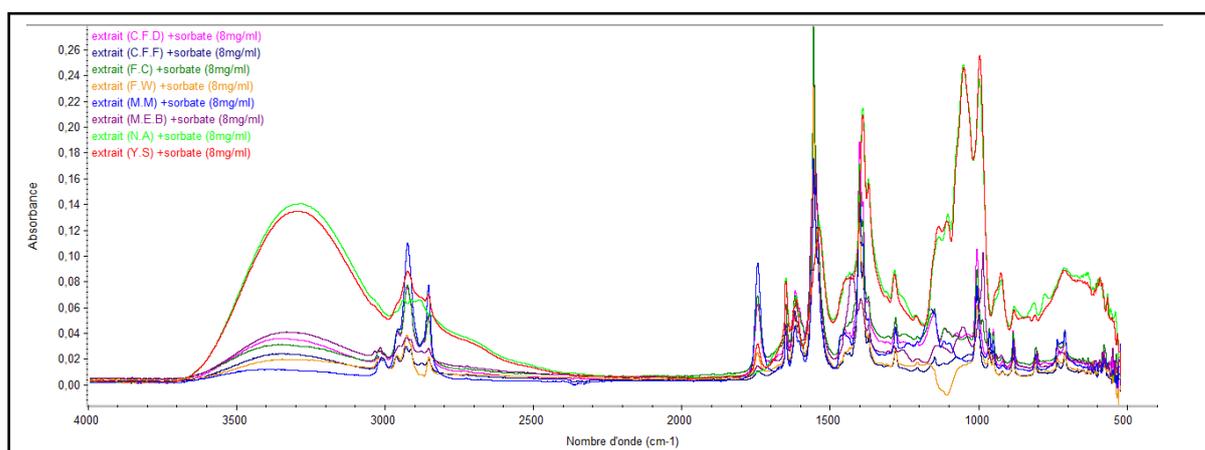


Figure IV.16 : Spectres ATR-IRTF des échantillons par la méthode des ajouts dosés de concentration $8\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Les spectres ATR-IRTF de la figure IV.14 et IV.15, montrent que les bandes spécifiques d'eau sont intense dans les zones 1, 2 et 3 à $3710 - 2981, 1717 - 1575$ et $850 - 525\text{ cm}^{-1}$ respectivement. Donc on constate que le passage à travers MgSO_4 (1 fois) reste insuffisant pour éliminer la quantité d'eau qui masque les bandes spécifiques du sorbate de potassium selon le protocole suivi.

Suite aux spectres ATR-IRTF obtenus de la figure IV.16, on remarque que les bandes spécifiques d'eau sont moins intenses qu'avant sauf dans deux extraits (Y.S) et (N.A) seulement. Donc on constate que les extraits d'échantillons réels de $8\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, passés 2 fois à travers MgSO_4 , sont plus secs que celles des extraits de 2 et $6\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

De ce faite, le protocole suivi pour la préparation des extraits d'échantillons réels de 8mg.mL^{-1} est plus rentable que celle du 2 et 6mg.mL^{-1} pour réduire la quantité d'eau présente dans les échantillons commerciaux.

IV.3. Quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels par la méthode des ajouts dosés

Dans le but de vérifier l'effet matrice et tester la fiabilité de la méthode, nous avons procédé à la détermination du pourcentage de récupération (R%) en utilisant la méthode des ajouts dosés dans les modes 7, 8, 9 et 10 retenus précédemment.

Tableau IV.5 : Résultats de calcul du pourcentage de récupération par la méthode des ajouts dosés en utilisant les spectres d'ordre zéro.

Modèle	Echantillon	C « présente » (mg.mL⁻¹)	C « trouvé » (mg.mL⁻¹)	R (%)
Modèle 7	C.F.F	0.39	1.33	29.32%
	F.W	0.16	1	16%
	F.C	0.41	1	41%
	M.M	0.19	1.75	10.86%
	M.E.B	0.41	2	20.5%
	Y.S	0.36	1.4	25.71%
	N.A	0.26	2	13%
Modèle 8	C.F.D	0.38	1.03	36.89%
	C.F.F	0.53	0.88	60.23%
	F.W	0.23	0.18	127.78%
	F.C	0.74	0.48	154.17%
	M.M	0.31	1.26	24.60%
	M.E.B	0.72	1.14	63.16%
	Y.S	0.73	11.39	6.41%
	N.A	0.55	1.52	36.18%
Modèle 9	C.F.D	0.010	1.08	0.93%

	C.F.F	0.43	0.89	48.31%
	F.W	0.29	0.21	138.10%
	F.C	0.40	0.45	0.89%
	M.M	0.35	6.23	5.61%
	M.E.B	0.27	0.67	40.30%
	Y.S	0.42	1.18	35.59%
	N.A	0.39	1.59	24.53%
Modèle10	C.F.D	0.19	1.5	12.67%
	C.F.F	0.39	1.4	27.86%
	F.W	0.21	1	21%
	F.C	0.36	1.15	31.30%
	M.M	0.28	1.39	20.14%
	M.E.B	0.41	0.67	61.19%
	Y.S	0.35	1.44	24.31%
	N.A	0.43	1.74	24.71%

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, on a remarqué que les valeurs de pourcentage de récupérations obtenues ne sont pas rentables, ceci peut être dû à l'interférence de la bande large d'eau à 1602 cm^{-1} avec la bande exploitée à 1649 cm^{-1} du sorbate de potassium.

Pour faire face à ce problème, nous avons essayé l'exploitation qu'offre le potentiel de la spectroscopie dérivée.

V. Analyse des extraits d'échantillons réels en utilisant les spectres de la première dérivée

Les spectres classiques (d'ordre zéro) des extraits d'échantillons réels donne souvent une indication insuffisante pour l'identification d'une substance ou même d'une classe de produits chimiques. En effet, de nombreuses substances peuvent avoir un maximum à la même bande, ce qui peut entraîner des confusions.

La spectrophotométrie dérivée permet de prendre en compte la totalité du spectre et pas seulement le maximum à 1649 cm^{-1} . C'est pourquoi nous avons voulu examiner la possibilité d'utiliser la dérivation pour améliorer la précision des spectres afin d'apporter une solution au problème lié à l'interférence de la bande large d'eau à 1602 cm^{-1} avec la bande du sorbate de potassium à 1649 cm^{-1} et de vérifier la possibilité de les séparer.

Après le traitement des spectres de la série d'étalonnage d'ordre zéro, la première dérivée et la multiplication (500 fois) suivie d'un lissage pour éliminer les vibrations, on a obtenu les spectres illustrés dans la figure ci-dessous.

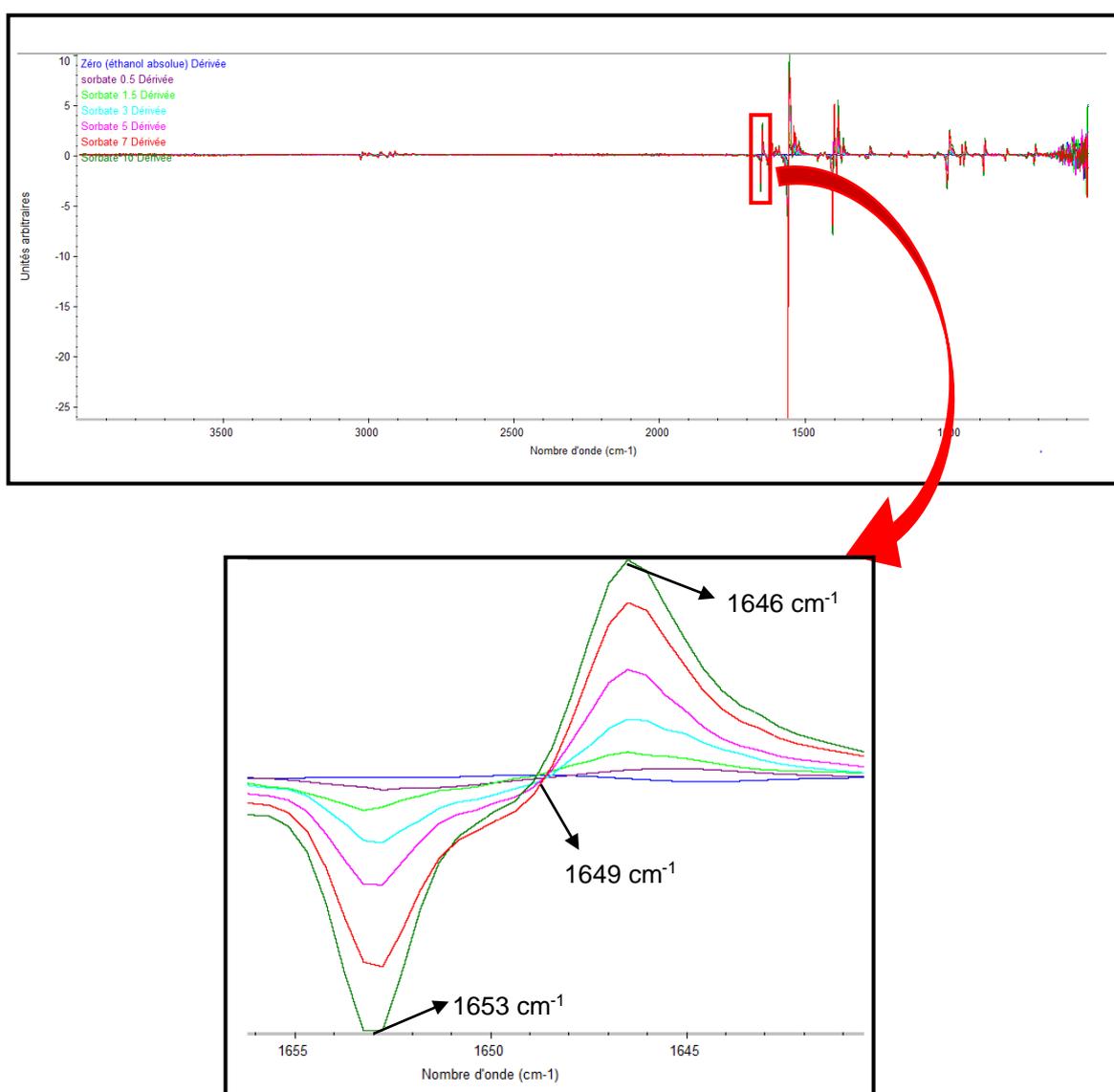
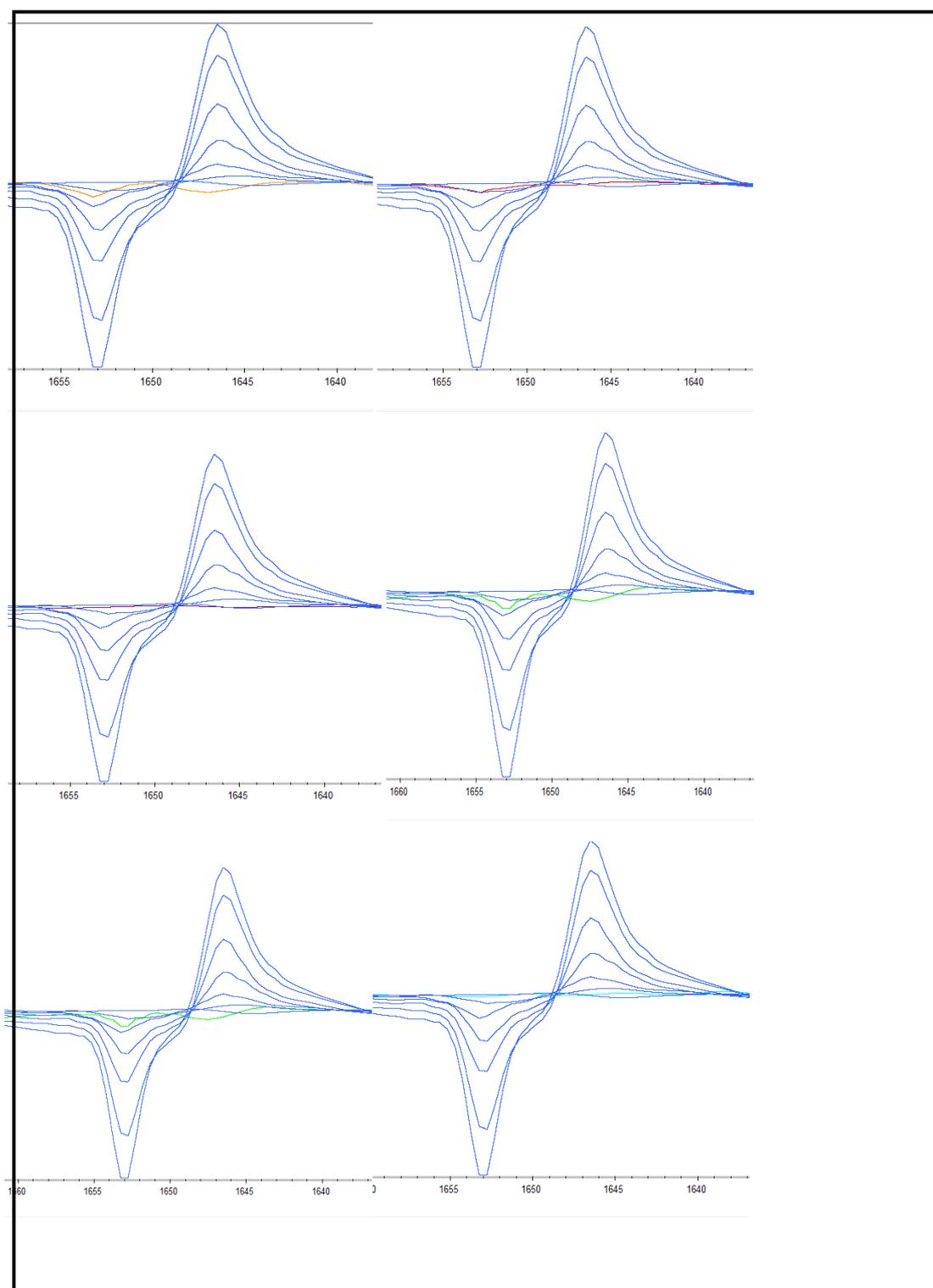


Figure V.17 : Spectres ATR-IRTF de la première dérivée de la série d'étalonnage du sorbate de potassium préparée dans l'éthanol absolu pour un domaine de concentration compris entre $0,5 - 10\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

D'après les spectres ATR-IRTF de la série d'étalonnage de la figure V.17, nous observons que le maximum à 1649 cm^{-1} du spectre d'origine donne deux bandes alternativement positives (volet droit) à 1646 cm^{-1} et négatives (volet gauche) à 1653 cm^{-1} .

Les spectres ATR-IRTF de la première dérivée des extraits d'échantillons réels avec celles de la série d'étalonnage du sorbate de potassium sont illustrés dans la figure V.18 ci-dessous.



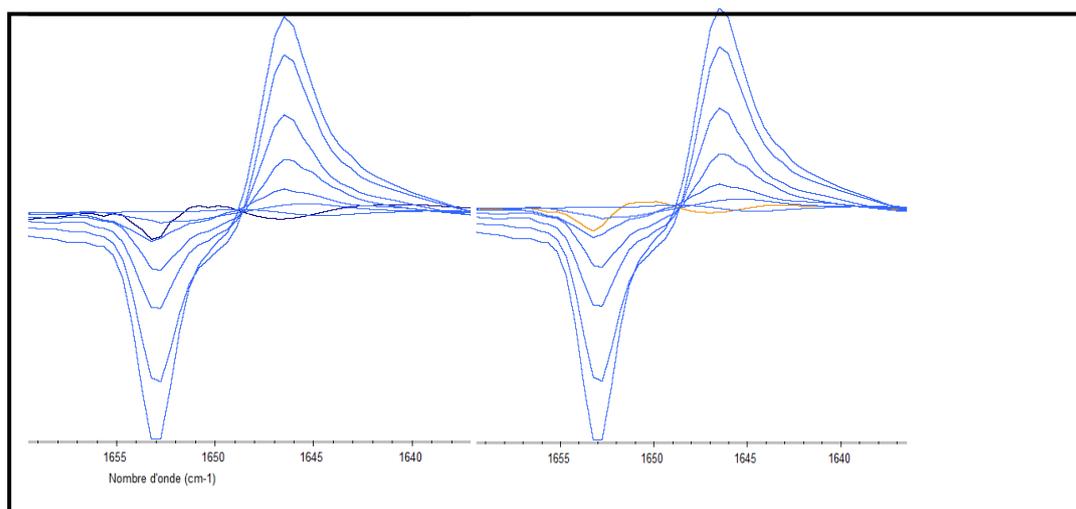


Figure V.18 : Spectres ATR-IRTF de la première dérivée des extraits d'échantillons réels.

D'après la comparaison des spectres ATR-IRTF de la figure V.18, on constate que tous les spectres ATR-IRTF des extraits d'échantillons réels présentent une légère absorbance à 1653 cm^{-1} (volet gauche). Ce qui nous affirme que le spectre dérivé nous a offert des résultats intéressants concernant la séparation de la bande large d'eau à 1602 cm^{-1} à celle du sorbate de potassium à 1649 cm^{-1} .

V.1. Choix du modèle d'intégration pour la quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels en utilisant les spectres de la première dérivée

Le tableau V.6, résume les paramètres de qualité des calibrations (Coefficient de corrélation R et le RMSEC) en considérant les quatre modèles d'intégration (en terme de bande spécifique et ligne de base) concéderont le volet gauche de $1665 - 1648\text{ cm}^{-1}$ qui sont obtenus à travers le logiciel TQ Analyst.

Tableau V.6 : Paramètres de qualité de calibration des différents modèles proposés par les spectres de la première dérivée.

Modèle	Max. du pic / Aire de pic (ligne de base) (cm^{-1})	Equation de la droite de calibration	R	RMSEC
1	Max : 1653 L.B : (1658 – 1648)	$Y = (-0,359)x + 0,0749$	0,9986	0,190

2	Max : 1653 L.B : 1665 – 1648	$Y = (-0,380)x + 0,0846$	0,9984	0,209
3	Max : 1653 L.B : 1656 – 1649	$Y = (-0,340)x + 0,0779$	0,9987	0,188
4	Aire L.B : 1658 – 1648	$Y = (-1,26) x + 0,106$	0,9972	0,255
5	Aire L.B : 1655 – 1650	$Y = (-0,633) x + 0,204$	0,9979	0,238
6	Aire L.B : 1657 – 1649	$Y = (-0,831) x + 0,0534$	0,9989	0,167
7	Aire L.B : 1665 – 1649	$Y = (-1,03) x + 0,127$	0,9942	0,392

L'analyse des résultats obtenus montre que les modèles (modèle 3, 4 et 6) offrent des calibrations de qualité et ce dans la zone comprise entre 1658 - 1648 cm^{-1} .

V.2. Détermination des paramètres analytiques aux modèles sélectionnés

Les paramètres analytiques calculés sont résumés dans le tableau ci-dessous pour les modèles sélectionnés dans la zone entre 1658 - 1548 cm^{-1} .

Suite aux résultats obtenus dans le tableau V.7, on constate que seulement le modèle 3 offre les meilleurs paramètres analytiques.

Tableau V.7 : Paramètres analytiques des modèles de la zone à 1658 - 1648 cm^{-1}

Modèle	Max. du pic / Aire de pic (Ligne de base) (cm^{-1})	Équation de la droite	LD mg.mL^{-1}	LQ mg.mL^{-1}	CV (%) pour la médiane (3 mg.mL^{-1})
3	Max : 1653 L.B : 1657 -1640	$Y = -0,340x + 0,0779$	0,029	0,097	-43,11
4	Aire L.B :1657-1640	$Y = -1,26x + 0,106$	0,230	-0,769	-26,84
6	Aire L.B :1659-1641	$Y = -0,831x - 0,0534$	$7,22 \cdot 10^{-4}$	$2,40 \cdot 10^{-3}$	-34,51

V.3. Quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels en utilisant les spectres de la première dérivée

Le logiciel TQ Analyst nous a permis la quantification de la concentration du sorbate de potassium dans les différents extraits d'échantillons réels dissouts dans l'éthanol absolu tout en utilisant les spectres de la première dérivée, les résultats obtenus sont concis dans le tableau ci-dessous en extrapolant dans les modèles retenus pour cette étude.

Tableau V.8 : Résultats de quantification du sorbate de potassium dans les extraits d'échantillons réels en considérant les quatre optimum modèles de la zone de 1658 - 1648 cm^{-1} en utilisant les spectres de la première dérivée.

Modèle	Echantillons							
	C.F.D	C.F.F	F.W	F.C	M.M	M.E.B	Y.S	N.A
3	4,20	2,42	1,04	3,4	1,36	8,52	5,79	5,28
4	0,30	1,28	0,64	0,03	0,56	0,8	0,62	1,28
6	2,73	1,50	0,12	1,23	0,28	4,84	3,26	3,48

- ❖ Toutes les concentrations obtenues sont en mg.g^{-1} .
- ❖ Les teneurs obtenues sont la moyenne de trois mesures dépendantes.

Note : Crème fraîche : (C.F.D) et (C.F.F) ; Fromage : (F.W) et (F.C);Margarine (M.M) ; Mayonnaise (M.E.B);Yaourt (Y.S) ; Nappage (N.A)

V.4. Analyse par la méthode des ajouts dosés en utilisant les spectres de lapremière dérivée

Dans le but de vérifier l'effet matrice et tester la fiabilité de la méthode, nous avons procédé à la détermination du pourcentage de récupération (R%) en utilisant la méthode des ajouts dosés pour les spectres de la première dérivée dans les modèles retenus précédemment. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau V.9 : Résultats de calcul du pourcentage de récupération par la méthode des ajouts dosés en utilisant les spectres de la première dérivée.

Modèle	Echantillon	C « présente » (mg/ml)	C « trouvé » (mg/ml)	R (%)
Modèle 3	C.F.D	0.97	0.78	124.36%
	C.F.F	0.66	1.16	56.90%
	F.W	0.26	1.24	20.97%
	F.C	1.02	1.40	72.86%
	M.M	0.34	0.90	37.78%
	M.E.B	2.13	0.60	355%
	Y.S	1.58	0.18	877.78%
	N.A	1.32	0.48	275%
Modèle 4	C.F.D	0.07	27.09	0.26%
	C.F.F	0.35	25.11	1.39%
	F.W	0.16	0.97	16.49%
	F.C	0.01	0.03	33.33%
	M.M	0.14	2.22	6.31
	M.E.B	0.20	0.50	40%
	Y.S	0.17	0.50	34%
	N.A	0.32	4.05	7.90%
Modèle 6	C.F.D	0.63	1.90	33.16
	C.F.F	0.41	1.09	37.61

	F.W	0.03	6.11	0.49%
	F.C	0.37	0.95	38.95%
	M.M	0.07	2.70	2.59%
	M.E.B	1.21	8.39	14.42%
	Y.S	0.89	1.22	72.95%
	N.A	0.87	1.02	85.29%

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, on a remarqué que les valeurs de pourcentage de récupérations R(%) ne sont pas rentables, dû à la faible concentration du sorbate de potassium dans les échantillons commerciaux.

Mais cela n'empêche pas à dire que les résultats obtenus en utilisant les spectres de la première dérivée (spectre d'ordre un) sont mieux qu'en utilisant les spectres d'ordre zéro. Mais il reste de dire que la méthode de calibration monovariée n'est pas assez puissante pour déterminer les faibles concentrations du sorbate de potassium dans nos échantillons.

Conclusion générale

Le sorbate de potassium (E 202) est un agent de conservation inscrit sur la liste des additifs établie par l'Union Européenne mais son utilisation est soumise à des limitations concernant la nature des aliments concernés et les doses maximales autorisées. Ces restrictions peuvent s'expliquer par le fait que l'excès de sorbate de potassium, suffisant pour les urticaires de contact non immunitaires mais aussi pour les pseudos allergiques et d'autres. La proposition et la validation d'une méthode de détermination simultanée du sorbate de potassium répondent au besoin de pouvoir effectuer un contrôle de qualité des denrées alimentaires commercialisés et consommées localement.

Au cours de notre travail, nous avons abordé au premier lieu des généralités sur les additifs alimentaires et les conservateurs en termes d'origine, d'utilisation et de classification. Et le sorbate de potassium en particule, comme l'un des conservateurs le plus utilisé dans les plus part des denrées alimentaires consommées, en termes de leur aspect réglementaire et leur méthode d'analyses adoptées par de nombreux chercheurs. Au deuxième lieu, les différentes étapes de la méthode approuvée pour déterminer la concentration du sorbate de potassium dans quelques denrées alimentaires tout en utilisant le logiciel TQ Analyst d'ONIC 9.8 intégré dans le nouveau spectrophotomètre IRTF.

A travers ce travail, nous avons réussi à maîtriser toutes les étapes de la création d'une méthode de calibration monovariée par le logiciel TQ Analyst qui permet d'améliorer la qualité de calibration et les différents paramètres de régression en exploitant l'option de prétraitement spectrale (premier dérivé, ...), ainsi que la quantification sans passer par l'Excel et les calculs manuels.

Les résultats obtenus en utilisant les spectres de la première dérivée sont mieux qu'en utilisant les spectres d'ordre zéro. Mais on constate que la méthode de calibration monovariée n'est pas assez puissante ou adéquate pour déterminer la teneur du sorbate de potassium dans les échantillons commerciaux à cause de la faible concentration, d'où la nécessité de l'utilisation de la méthode chimométrique.

Références bibliographiques

- [1] Chiori CO, Ghobashy AA; A potentiating effect of EDTA on the bactericidal activity of lower concentrations of ethanol. *Int J Pharm.* 1983, 17, pp. 121-128.
- [2] Agité C, De Saint Blanquat G. Colorants autorisés en alimentation humaine in *Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaire*. Multon Jean- Louis, Ed. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris ; 2002, pp. 357-386.
- [3] Evans, G., de Challemaison, B., & Cox, D. N. (2010). "Consumers' ratings of the natural and unnatural qualities of foods". *Appetite.* 54 (3): pp. 557–563. doi:10.1016/j.appet. 2010.02.014. PMID 20197074.
- [4] CHICHESTER D., TANNER F. Antimicrobial Food additives. In "Handbook of food Additives", T.E. Furia (Ed.), CRC Press, Cleveland, 1968, 137.
- [5] GOODING M. Food Preservatives. In *Introduction to food-Borne Fungi*. *Food Res.* 1945, 2: 379.
- [6] Bourrier T. Intolérances et allergies aux colorants et additifs. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique.* 2006, 46(2), pp. 68-79.
- [7] AdelMatougui. *Histoire des additifs alimentaires*, Toxikoa ; 2011, 12p.
- [8] Diezi M, Buclin T, Diezi J. Additifs alimentaires et troubles de l'attention/hyperactivité chez l'enfant. *Paediatrica.* 2011, 22(5).
- [9] Alimentarius C. *Noms de Catégorie et Système International de Numérotation des Additifs Alimentaires*. 2009.
- [10] SYMPA Syndication national des producteurs d'additifs en France : les ingrédients des spécialités de la chaîne alimentaire [Available from : <http://www.sympa.org/les-additifs-alimentaires-reglementation-2.php/>, consulté le 03/03/2018 à 17h 50.
- [11] Diezi M, Buclin T, Diezi J. Additifs alimentaires et troubles de l'attention/hyperactivité chez l'enfant.
- [12] Apfelbaum M, Romon M. 25 - Additifs alimentaires. *Diététique et nutrition* (7e édition). Paris : Elsevier Masson ; 2009. pp. 470-86.
- [13] Dutau G, Rancé F, Fejji S, Juchet A, Brémont F, Nouilhan P. Intolérance aux additifs alimentaires chez l'enfant : mythe ou réalité ? *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique.* 1996, 36(2), pp. 129-42.
- [14] CODEX ALIMENTARIUS. Normes alimentaires internationales FAO OMS normes générale pour les additifs alimentaires REVISION 2016.

- [15] Dans le JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 30 du 24 JoumadaEthanias 1433 correspondant au 16 mai 2012 page 16 et 17 [Availablefrom: file:///C:/Users/A/Downloads/dec12-214fr%20(3).pdf.
- [16] de Reynal B. Les additifs alimentaires. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires (4e ed). 2009 : 3.
- [17] ANESS : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Availablefrom : <http://www.aneses.fr/fr/content/le-point-sur-les-additifsalimentaires>, consulte le 03/07/2018 à 17h55.
- [18] Hayder H, Mueller U, Bartholomaeus A. Review of intolerance reactions to food and food additives. International food risk analysis journal. 2011,1(2), pp. 23-32.
- [19] Dutau G. Additifs. In: Dutau G, editor. Le dictionnaire des allergènes 3e éd Paris : Phase 5. 2002, pp. 12–3.
- [20] Gallen C, Pla J. Allergie et intolérance aux additifs alimentaires. Revue Française d'Allergologie. 2013, 53, pp. 9-18.
- [21] Noms de catégorie et système international de numérotation des additifs alimentaires Codex alimentarius. 1989, pp. 1-35.
- [22] Les Additifs Alimentaires Par Morgane DANIEL Diététicienne RSD Réseau Santé Diabète Bruxelles Les Capucines. Mars 2013.
- [23] Entaires Codex alimentarius. 1989 : 1-35. 20. Les Additifs Alimentaires Par Morgane DANIEL Diététicienne RSD Réseau Santé Diabète Bruxelles Les Capucines. Mars 2013.
- [24] REYNAL B., 2009. Additifs et auxiliaires de fabrication dans l'industrie agroalimentaire, 3ème édition, Technique et Documentation Lavoisier/Apria, Paris.
- [25] Additifs alimentaire 'E', [en ligne], <http://tice.acmontpellier.fr/ABCDORGA/Famillie/ADDITIFS.html>[consulté le 09 mars 2019].
- [26] Règlement (CE) n° 1333/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 sur les additifs alimentaires (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE) OJ L 354, (31.12.2008), pp. 16–33.
- [27] CODEX ALIMENTARIUS. Normes alimentaires internationales FAO OMS normes générale pour les additifs alimentaires REVISION 2016.
- [28] Guide d'utilisation des additifs alimentaires dans les boissons Ministère algérien du développement industriel et de la promotion de l'investissement.
- [29] Les additifs alimentaires additifs [en ligne], <http://www.synpa.org/lesadditifs-alimentaires-reglementation-2.php> [consulté le 09 mars 2019].
- [30] Ashagrie, Z. Z., & Abate, D. D. IMPROVEMENT OF INJERA SHELF LIFE THROUGH THE USE OF CHEMICAL PRESERVATIVES. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition & Development; 2012, 12(5), pp. 6409-6423.

- [31] umar, H., Jha, A., Taneja, K. K., Kabra, K., &Sadiq, H. M. A STUDY ON CONSUMER AWARENESS, SAFETY PERCEPTIONS & PRACTICES ABOUT FOOD PRESERVATIVES AND FLAVOURING AGENTS USED IN PACKED /CANNED FOODS FROM SOUTH INDIA. National Journal of Community Médecine,; 2013, 4(3), pp. 402-406.
- [32] H. Y. Hang, Y. C. Lai, C. W. Chiu, J. M. Yeh, J. Chromatog; 2003,993, 153.
- [33] PROGRAMME MIXTE FAO/WHO SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMITÉ DU CODEX SUR LES ADDITIFS ET LES CONTAMINANTS.
- [34]Corinne G. Additifs Alimentaires, le Guide Indispensable pour ne plus vous Empoisonner. Ed. Chariot d'Or : Paris, France ; 2013.
- [35] Meunier C. Les boissons rafraîchissantes sans alcool: définition, composition et place dans les apports nutritionnels. Cahiers de Nutrition et de Diététique. 2011;46(1):H5-H12.
- [36] COMMISSION DES COMMUNAUTES EUROPEENNES Proposition de directives du parlement européen et du conseil modifiant la directive 95/2/CE concernant les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants. Bruxelles, COM (2002) 662 final : B.
- [37] Leszczak J-P. Synthèse d'esters de l'acide benzoïque par catalyse enzymatique en milieu hétérogène microaqueux: Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne; 1998.
- [38] Guide d'utilisation des additifs alimentaires dans les boissons Ministère algérien du développement industriel et de la promotion de l'investissement.
- [39] Cherrington CA, Hinton M, Mead GC, Chopra I. Organic Acids: Chemistry, Antibacterial Activity and Practical Applications. In: Rose AH, Tempest DW, editors. Advances in Microbial Physiology. 32: Academic Press; 1991. pp. 87-108.
- [40] WITTER R., NEWCOMBE E., STOTZE The oxidation of hexanoic acid and derivatives by liver tissue in vitro. Journal of Biological chemistry, 1950, 185: pp. 537-548.
- [41] BENEKE E., FABIAN F. Microbial Inhibitors in food. Food Technol, 1955, 9: pp. 486-488.
- [42] F.A.O. Codex Alimentarius. Volume 1A. Rome 1995, pp. 275.
- [43] MANDROU B., FABRE H., MOU Y., DIEZ-MARQUES C. Dosage de l'acide benzoïque et de l'acide sorbique dans les dérivés de fruits par chromatographie liquide haute performance Ann. Exp., Chim., 1989, 82, 879: pp. 325-333.
- [44] GOO R., WAKATSUKI H. and KANAi H. Ultra Violet Spectrophotometric determination of Sodium Benzoate in soy sauce. Ann. Fals. Exp. Chim., 1979, 62: pp. 119-121.
- [45] JAULMES P., MESTERS R. et MANDROU B. Dosage spectrophotométriques du benzoate de sodium dans les vins. Ann. Fals. Exp. Chim. 1961, 626 : pp. 84-95.

- [46] MANDROU 8., BRESSOLLE F. Dosage de l'acide benzoïque en présence d'acide sorbique dans les jus de fruit. *Ann, Fals. Exp. Chim.* 1979-72 n°781: pp. 619-628.
- [47] SIOUFI A., WAWRZYNOWICZ T., BRESSOLE F., GUIOCHONG. Utilisation des microparticules de silice greffée en chromatographie sur couche mince. *Analysis*, 1979, 7: pp. 327-333.
- [48] SIOUFI A., WAWRZYNOWICZ T., BRESSOLE F., GUIOCHONG. Use of bonded phase silica in thin layer chromatography. *Symposium advances in chromatography*, Lausanne, 1979.
- [49] B. Mandrou, F. Bressolle, *J. Assoc. Désactivé. Anal. Chem.*, 1980, 63, pp. 675.
- [50] B. Mandrou, V. Nollet, E. Gastaldi, H. Fabre. *J.Liq. Chromatogr. Rel.Techno.*, 1998,21, pp.829.
- [51] LEE H., ROUSSEFF R., FISHER J. Determination of food preservatives in orange juice by reversed phase liquid chromatography. *J. Food Sei.* 1986. 51: pp. 568-570.
- [52] SKOOG D, WEST M, DOANALD M.F, *Fundamentals of analytical chemistry*. Ed de Boech, 1997, Bruxelles. 19: pp. 52-56.
- [53] WEBER G. A Food industry application of propionic, sorbic and benzoic acids on a Genesis AQ. H.P.L.C. *J. Food. Sci.* 1997, pp. 8.
- [54] MURRAY J. Absorption of benzoic and sorbic acids by herring and prawns in marinades. *International Journal of Food Science and technology*. 1988, 23: pp. 171-175.
- [55] PYL YPIW M., GREYER T. Rapid high-performance liquid chromatography method for the analysis of sodium benzoate and potassium sorbate in foods. *Journal of chromatography A*. 2000, 883: pp. 299-304.
- [56] Archer AW. *Analyste*, 1980, 105, pp. 407.
- [57] L. Gaggiardi, D. De Orsi, L. Manna, D.Tonelli. *J.Liq. Chromatogr. Rel.Technol.*, 1997, 20, pp.1797.
- [58] Steve Gillet, D. Sc, cours de « Chimie Analytique et caractérisation des matériaux » ; 1^{ère} année Master Science de l'Ingénieur Industriel, Haute école Charlemagne.
- [59] <http://www.chauffage-ecoirl.com/content/10-qu-est-ce-que-l-infrarouge-lointain->
- [60] W. BRUGEL. *An Introduction to Infrared Spectroscopy*. Methuen & Co. Ltd., 1962.
- [61] N. B. COLTHUP, L. H. DALY, and S. E. WIBERLEY. (1975). *Introduction to Infrared & Raman Spectroscopy*. Academic Press.

- [62] M. DIEM. 1994, Introduction to Modern Vibrational Spectroscopy. Wiley.
- [63] C. N. BANWELL and E. M. MCCASH. (1994). Fundamentals of Molecular Spectroscopy. McGraw Hill.
- [64] J. M. BROWN. (1998). Molecular Spectroscopy. Oxford University Press.
- [65] R. T. CONLEY. (1966). Infrared Spectroscopy. Alin and Bacon Inc.
- [66] J. B. LAMBERT, H. F. SHURVELL, D. A. LIGHTNER, and R. G. COOKS. (1998). Organic Structural Spectroscopy. Prentice-Hall Inc.
- [67] Athenais Davantes. (2015). Apport de la spectroscopie infra-rouge in situ à l'étude des réactions de complexation à l'interface solide/solution. Chimie analytique. Université Pierre et Marie Curie –Paris, Français.
- [68] Francis Rouessac Annick Rouessac avec la collaboration de Daniel Cruché. (2004). Analyse chimique méthodes et techniques instrumentales modernes, Dunod, Paris.
- [69] <https://www.bruker.com/fr/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routinespectrometre-what-is-ft-ir-spectroscopy.html>
- [70] https://www.researchgate.net/figure/Schema-de-principe-de-IATR_fig56_30514935
- [71] Lider Jr. D. R. (1973). Status Report on Critical Compilation of physical Chemical Data, Annual Review of Physical Chemistry, 24, 135-158.
- [72] Bouzidi N. (2009). Contribution à l'étude chimique d'algues marines méditerranéennes : Analyse quantitative des stérols de l'extrait lipidique par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier, Département de chimie, faculté des sciences, Université Blida 1.
- [73] Julie KEIRSSE. (10 juillet 2003). SPECTROSCOPIE INFRAROUGE DÉPORTÉE : MISE AU POINT D'UN BIOCAPTEUR POUR L'IMAGERIE MÉTABOLIQUE ET LA SÉCURITÉ MICROBIOLOGIQUE, Science de la Matière, Structures et Propriétés de la Matière, UNIVERSITÉ DE RENNES 1.
- [74] Semmame O., Technique d'analyse de laboratoire, L3 génétique moléculaire.

[75] N.Benoudjit, E. Cools, M.Meurens, M.Verleysen, « calibrage chimiométrique des spectrophotomètres : sélection et validation des variables par modèles non-linéaire », université catholique de Louvain.

[76] Chemometrics World - John Wiley& Sons, Ltd.:

<http://www.wiley.co.uk/wileychi/chemometrics/>

[77] <https://www.analyticaltoxicology.com/traitement-donnees-presentation-resultats-de-spectrophotometrie/>

