

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté des sciences
Département de chimie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : PHYSICO-CHIMIE DES MILIEUX DISPERSÉS ET DES
FORMULATIONS

Intitulé du mémoire

**Contribution à l'encapsulation de l'huile de
sardine dans des billes d'alginate**

Réaliser par :

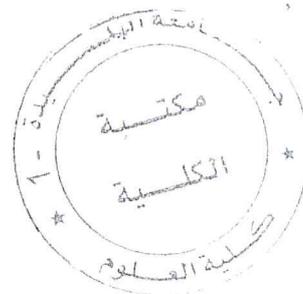
- Melle : FELFOUL Zohra
- Melle : HAMDINI Karima

Devant le jury d'examen composé :

M. R. Belal	Professeur	U. BLIDA 1	Président
M. A. Ait-yahia	MAA	U. BLIDA 1	Examineur
M. Y. Bal	Professeur	U. BLIDA 1	Directeur de mémoire

Année universitaire 2015/2016

MA-540-137-1



Remerciements

Tout d'abord nous remercions ALLAH pour nous avoir prêtés vie

et tout le personnel de notre établissement, principalement notre promoteur, le Pr. Bal Youcef qui nous a guidées énormément pour la réalisation de ce modeste travail. Nous tenons à lui exprimer ici notre profond respect.

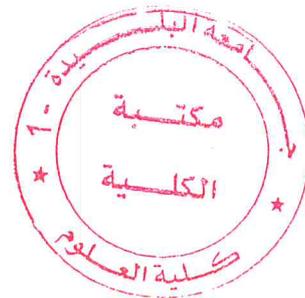
Nous adressons nos sincères remerciements à tous les membres de laboratoires de chimie de la faculté des sciences de l'université Saad Dahlab de Blida (Blida I).

Je tiens également à remercier Monsieur R. Belal et Monsieur A. Ait-yahia, Professeurs à l'université de Blida1 pour leurs remarques qu'ils ont porté à ce travail en acceptant de l'examiner et de le juger.

Mes vifs remerciements vont à mes chers parents, mes frères.

Sans oublier ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et ceux qui ont fait l'honneur de jurer ce mémoire.

MERCI.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À mes très chers parents. Je leur dois tout, et

Je ne leur donnerai jamais assez en contrepartie.

*A M^r Bal Youcef, notre encadreur, qui nous a bien orientées durant
plusieurs mois.*

A mon amie " Zahra » et sa famille.

À ma sœur Fatiha et son mari Alhadj.

*À mes chers frères : Abdelkader et sa petite famille, à Djamel,
Foudil et Islam.*

À ma nièce : Açil.

À ma Neveu : Walid.

*À mes amies : Loulou, Iman, Bouchra, Saida, Djamila, Meriem, Asma,
Zineb et Noura.*

À tous mes amies de la spécialité PCMDF.

KARIMA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À ma très chère mère. Je lui dois tout, et

Je ne lui donnerai jamais assez en contrepartie.

*A M^r Bal Youcef, notre encadreur, qui nous a bien orientées durant
plusieurs mois.*

A mon amie " Karima» et sa famille.

À mes chers frères : Ayoub et Bilal.

À ma nièce : Hende.

À mes chères cousines : Hanane, Nadia et Mariem.

À mes amies : Soumia et Khouloud.

A tous mes amies de la spécialité PCMDF.

ZOHRA

Résumé

Dans cette étude, l'huile de sardine est extraite et l'étude de certaines de ses propriétés a été entreprise dans une première étape, suivie de son encapsulation dans des billes d'alginate, dans une seconde étape. Celles-ci devraient être utilisées comme dispositif attire-poissons.

Les caractères organoleptiques habituels (Aspect, couleur, odeur), les indices de peroxyde, d'acidité, de saponification, ainsi que la viscosité et l'indice de réfraction ont été les différents paramètres déterminés afin de caractériser l'huile extraite. En plus de son analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR), leur suivi en fonction du temps a montré que l'huile extraite n'est pas suffisamment stable à l'état libre aux conditions ambiantes.

Il a été envisagé, en effet, d'encapsuler l'huile dans des capsules d'alginate afin d'augmenter sa stabilité. Cette procédure a été possible dans cette étude en se basant sur des mélanges hétérogènes ternaires (émulsions) constitués d'huile de sardine, d'alginate de sodium et de tensioactif. Les résultats obtenus qui demandent, néanmoins plus d'investigation, sont encourageants.

Mots clés : huile de sardine, capsules d'huile de sardine, l'alginate, propriétés physico-chimiques.

Abstract

Sardine oil was extracted in this study and some of its basic properties determined in a first step. Encapsulation of the oil in alginate beads was carried out in a second step. The microcapsules were intended to be used as fish attracting device.

The usual organoleptic characteristics (appearance, color, odor), infrared spectroscopy (FTIR), peroxide, acidity, saponification indices, and the viscosity and refractive index were the various parameters determined in order to characterize the extracted oil. Their time monitoring has shown that the oil is not sufficiently stable in the free state at ambient conditions.

It was envisaged, in fact, to encapsulate the oil in alginate capsules to increase its stability. This procedure was possible in this study according to heterogeneous ternary mixtures (emulsions) consisting of sardine oil, sodium alginate and surfactant. The obtained results that request, however, further investigation are encouraging.

Keywords: sardine oil, sardine oil capsules, alginate, physicochemical properties

ملخص

في هذه الدراسة، يتم استخراج زيت السردين ودراسة بعض خصائصه كخطوة أولى، تليها التغليف في حبات الالجينات كخطوة ثانية لغرض استعمالها لجذب الاسماك.

الخصائص الحسية المعتادة (المظهر، اللون والرائحة)، التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء، مؤشرات البيروكسيد، الحموضة، التصبن، اللزوجة، معامل الانكسار ومختلف المعايير تحدد من اجل وصف الزيت المستخلص، وقد أظهرت متابعتها مع مرور الوقت ان الزيت المستخلص غير مستقر بما فيه الكفاية في الحالة الحرة في الظروف العادية.

تقوم بتغليف الزيت في كبسولات الالجينات لزيادة استقرارها. يقوم هذا الإجراء في هذه الدراسة على خليط من ثلاثية غير متجانسة (المستحلبات) يتكون من زيت السردين، الجينات الصوديوم والمادة الفعالة. النتائج المتحصل عليها تتطلب اجراء المزيد من الدراسات لدعمها.

الكلمات المفتاحية: زيت السردين، كبسولات زيت السردين، الالجينات، المؤشرات الفيزيوكيميائية.

Liste d'abréviation

AGMI : acide gras mono-insaturé.

AGPI : acide gras polyinsaturé.

AGS : acide gras saturé.

AH : antioxydation antiradicalaire.

BHT: butylhydroxytoluène.

Ba²⁺ : ion de

Ca²⁺ : ion de calcium.

DHA : acide docosahexaénoïque.

EPA : acide eicosapentaénoïque.

FTIR : spectroscopie infra-rouge

G: Guluronique.

I_A : indice d'acidité.

I_p : indice de peroxyde.

KDa : kilodalton.

KI : iodure de potassium.

KOH : Hydroxyde de potassium.

LC: longue chaîne.

M: Mannuronique.

Na₂ S₂O₃ : thiosulfate de sodium .

¹O₂ : oxygène singulet.

³O₂ : oxygène à l'état fondamental

ppm : Partie par million.

PH : potentiel d'hydrogène.

PKA : constante d'équilibre de dissociation de l'acide.

R°: radical alkyl liber.

R* : radical alkyl liber.

RH: lipid insaturé.

RO°: radical alkoxy.

ROO°: radical hydroperoxy.

ROOH: hydroperoxyde.

Sens : photosensibilisateurs.

TA : tensioactif.

tpm : **Tours par minute.**

UV: Ultraviolet.

V : volume.

TABLES DES MATIERES

TABLE DES MATIERE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
PARTIE I : ETUDES BIBLIOGRAPHIQUES	
CHAPITRE I : Huile de sardine	
I. Introduction.....	3
II.1.Sardine	3
I.2.Extraction d'huile de sardine.....	4
I.3. Composition générales des huiles de sardine	5
I.3.1.Glycéride.....	5
I.3.2.Acides gras.....	5
I.4. Propriétés physico-chimique des acides gras.....	7
I.4.1. Propriétés physique.....	7
I.4.1.1. Point de fusion.....	7
I.4.1.2.Solubilités.....	7
I.4.1.3.Densité.....	8
I.4.2.Propriété chimique.....	8
I.4.2.1.Propriétés dues à la fonction carboxylique.....	8
I.4.2.2.Propriétés dues à la présence éventuelle d'une doubles-liaison.....	8
I.5. Dégradation des corps gras.....	9
I.5.1. Dégradation à la chaleur.....	9
I.5.2. Oxydation.....	9
I.5.2.1. Mécanismes généraux de l'oxydation.....	9
I.5.2.1.1.Auto-oxydation.....	10
I.5.2.1.2.Photo-oxydation.....	11
I.5.2.1.3.Oxydation enzymatique.....	12
I.6. Antioxydants.....	12
I.7.Vitamines E ou tocophérols.....	13

CHAPITRE II : Encapsulation par l'alginate

II.1.Introduction.....	14
II.1.1.Microencapsulation.....	15
II.1.2.Définition.....	15
II.1.3.Techniques d'encapsulation	15
II.1.4.Procédé de gélification ionique	16
II.2.Alginate.....	17
II.2.1.Composition et structure chimique.....	17
II.2.2.Propriétés de l'alginate.....	19
II.2.2.1.Gélification.....	19
II.2.2.2.Solubilité.....	20
II.2.2.3.Viscosité.....	20

PARTIE II : ETUDES EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : Matériels et méthodes

I. Introduction.....	21
I.1. Extraction et caractérisation d'huile de sardine	21
I.1.1. Procédé d'extraction.....	21
I.1.2.Caractéristiques d'huile de sardine.....	22
I.1.2.1.Caractéristiques physico-chimique.....	23
I.1.2.1.1.L'indice de saponification	23
I.1.2.1.2.Indice de peroxyde.....	24
I.1.2.1.3.Indice d'acidité.....	25
I.1.2.1.4. Indice de réfraction.....	26
I.1.2.1.5.Détermination de viscosité.....	27
I.1.2.2.Spectroscopie Infra-Rouge FTIR.....	27
I.2.Encapsulation d'huile de sardine par des billes d'alginate.....	27
I.2.1.Définitions.....	27
I.2.1.1.Encapsulation d'huile.....	27
I.2.1.2.Emulsion.....	28
I.2.1.3.Techniques d'émulsion.....	28

I.2.1.4.Emulsifiants.....	28
I.2.1.5.Diagramme de pseudo-ternaire	28
I.2.2.Préparation des billes d'alginate.....	29
I.2.2.1.Diagramme de pseudo ternaire.....	29
I.2.2.2.Préparation des capsules.....	30
I.2.2.2.1.Capsules d'alginate vides.....	31
I.2.2.2.2.Capsules d'huile de sardine.....	31
CHAPITRE II : Résultats et discussion	
II.1.Introduction.....	33
II.2.Rendement des réactions.....	33
II.3. Caractéristiques organoleptiques.....	35
II.4. Résultats des Caractérisations physico-chimique.....	36
II.4.1. Indice de saponification.....	36
II.4.2.Indice de peroxyde.....	37
II.4.3.Indice d'acidité.....	38
II.4.4.Indice de réfraction.....	39
II.4.5.Viscosité.....	39
II.4.6.Encapsulation d'huile de sardine	39
II.4.6.1.Diagramme de pseudoternaire.....	39
II.4.7.Spectres obtenus par FTIR des différentes types d'huile de sardine.....	45
II.4.8.Spectre obtenu par FTIR des capsules d'huile de sardine	47
CONCLUSION GENERALE.....	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification des acides gras.....	6
Tableau 2 : Composition (%) en acides gras d'huile de sardine.....	7
Tableau 3 : Classification des procédés de microencapsulation.....	15
Tableau 4 : Masses (g) de la sardine utilisée et d'huiles obtenus.....	33
Tableau 5 : Rendement % de l'extraction d'huile de sardine.....	34
Tableau 6: Variation d'indice de saponification en fonction de temps.....	36
Tableau 7: Variation d'indice de peroxyde en fonction de temps.....	37
Tableau 8 : Variation d'indice d'acidité en fonction de temps.....	38
Tableau 9: Phase inférieure: huile+ alginate +solution de dosage « TA»)... ..	39
Tableau 10: Phase supérieure : (huile + TA +solution de dosage «d'alginate »)	40
Tableau 11: Différentes proportions d'alginate, huile et TA d'une émulsion.....	41

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma de fabrication d'huile de sardine.....	4
Figure 2 : Formule semi-développée des triglycérides.....	5
Figure 3 : Microcapsules formées lors de la microencapsulation des huiles de poisson...	16
Figure 4 : Structure des monomères acide α - L - guluronique (G) et acide β - D - mannuronique (M)	17
Figure 5 : Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium.....	18
Figure 6 : Interactions entre les unités M.....	18
Figure 7 : Interactions entre les unités G.....	18
Figure 8 : Gélification ionotropique de l'alginate. Modèle "Egg-box.....	19
Figure 9 : Etapes d'extraction d'huile de sardine.....	22
Figure 10 : Etapes d'encapsulation d'huile de sardine.....	32
Figure 11 : Rendement d'extraction d'huiles de sardine.....	33
Figure 12 : Rendement d'extraction d'huile de sardine.....	34
Figure 13 : Couleurs de différentes types d'huile (A : huile de sardine / B : huile de sardine sans déchet / C : huile de déchet de sardine).....	35
Figure 14 : Huile de sardine.....	36
Figure 15 : Valeurs de l'indice de saponification d'huile de sardine en fonction du temps.....	37
Figure 16 : Valeurs de l'indice de peroxyde d'huile de sardine en fonction du temps.....	37
Figure 17 : Valeurs de l'indice d'acidité d'huile de sardine en fonction du temps.....	38
Figure 18 : Tubes à essai après le dosage de la partie inférieure.....	40
Figure 19 : Tubes à essai après le dosage de la partie supérieure.....	41
Figure 20 : Diagramme de pseudotournaire.....	42
Figure 21 : Aspect des émulsions après 3 mois de stockage.....	43
Figure 22 : Capsules d'huile de sardine après trois mois à différentes conditions de Stockage.....	44

Figure 23 : Spectres TFIR de différents types d'huile de sardine.....45

Figure 24 : Spectre TFIR de la capsule d'huile de sardine.....47

INTRODUCTION

INTRODUCTION GENERALE

Malgré le fait que beaucoup de vieux métiers sont voués à l'extinction, la pêche en tant que profession a pris une direction opposée; elle continue de se développer en matière et en méthodes.

Les techniques de capture du poisson regroupent actuellement les moyens directs de capture, notamment les engins de pêche, les bateaux de pêche et leur équipement de navigation, de manœuvre et de contrôle de l'engin de pêche; et les moyens indirects de capture, en particulier la détection du poisson (sondeurs et sonars), la connaissance du comportement du poisson en relation avec l'engin de pêche, la localisation des lieux de pêche par l'emploi des données sur l'environnement (hydrologie, bathymétrie), l'attraction du poisson en vue de sa capture (lumière, appât).

Les biologistes marins affirment que parmi les sens les plus développés du poisson l'odorat semble être le plus important. A cet égard, parmi les moyens permettant d'attirer un poisson, par exemple vers une ligne, consiste à la préparation d'une amorce adaptée, c'est crucial !

En effet, dans ce projet, il est envisagé de développer un attirail poisson (appât) particulier composée d'une huile de sardine encapsulée dans une matrice d'alginate selon une procédure de gélification ionotropique.

Les huiles de sardine possèdent une composition très complexe, leur préparation est très délicate, leurs caractéristiques analytiques varient selon le procédé d'extraction et l'époque de la pêche (âge de la sardine) [1]. Ces huiles peuvent être utilisées directement dans l'alimentation humaine. D'autres débouchés incluent l'utilisation en tant que support pour des pesticides, dans les peintures et dans la fabrication du cuir. [2]

Ces huiles représentent une source importante d'acides gras polyinsaturés à longues chaînes comme les acides gras de type oméga-3 sous forme de triglycérides et notamment en acides gras polyinsaturés à longues chaînes (AGPI-LC) comme l'acide eicosapentaénoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA) dont les implications positives sur la santé humaine sont désormais avérées. Les composés de l'huile de sardine de par leur propriétés physico-chimique sont des molécules instables et très sensibles aux réactions d'oxydation et se dégradent facilement par ce que elles sont riches en acides gras insaturés.

L'objectif principal de l'encapsulation est d'établir une barrière entre la substance active et son milieu environnant. Cette barrière permet une protection contre l'oxygène, l'eau, la lumière ou la chaleur et de minimiser l'interaction entre le composé à protéger et son milieu environnant.

Ce mémoire comporte deux parties principales : une partie bibliographique et une partie expérimentale.

Nous avons réservé la première à une étude bibliographique sur l'huile de sardine, son extraction et sa composition ainsi que l'usage l'alginate en tant que biopolymère pour des applications en microencapsulation.

Dans la deuxième partie, la procédure expérimentale est présentée. Elle concerne l'extraction de l'huile à partir de différentes parties de la sardine (huile de sardine, huile de déchet de sardine et huile de sardine sans déchet), la caractérisation de cette huile et sa mise en capsules après avoir optimiser la formulation d'une émulsion. Celle-ci était formulée à partir d'un mélange ternaire huile/alginate/TA. Et la discussion des résultats obtenus. La fin du mémoire est réservée aux références bibliographiques.

**PARTIE I : ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUES**

CHAPITRE I :

HUILE DE

SARDINE

I. Introduction :

Sur le million de tonnes d'huile de sardine produites annuellement, principalement à partir de poissons pêchés de manière durable, la plupart va à l'aquaculture.

Les huiles de sardine ont une composition très complexe.

Il faut de plus considérer que ces huiles industrielles sont obtenues en partant de diverses matières premières : têtes, viscères, partie inférieure du poisson et queue, pour diverses raisons, or chacune de ces parties donne des huiles de composition différente : huile de tête, huile du corps, huile de résidus.

L'huile de Sardine ne put pas lorsqu'elle est faite, mais l'huile se détériore très rapidement. Les principaux composés responsables des odeurs désagréables sont les composés carbonyle de l'oxydation des graisses.

L'huile de poisson utilisée dans le domaine d'alimentaire humaine et nutraceutiques. D'autres débouchés incluent l'utilisation en tant que support pour des pesticides, dans les peintures et dans la fabrication du cuir. [2]

Les huiles de poisson présentent la particularité d'être riches en acides gras oméga 3 et notamment en acides gras polyinsaturés à longues chaînes (AGPI-LC) comme l'acide éicosapentaénoïque (EPA ; C20 :5 n-3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA ; C22 :6 n-3). [3]

I.1. Sardine :

La sardine appartient à la classe des Actinoptérygiens, à l'ordre des Clupéiformes et à la famille des Clupéidés. La sardine évolue en Atlantique Nord-Est, de la Norvège à l'Écosse jusqu'au Sénégal, et en Méditerranée. C'est un poisson pélagique qui vit entre la surface et le fond dans les eaux côtières jusqu'à 120 m de profondeur. La sardine vit en bancs parfois importants, près de la surface la nuit et plus profondément le jour. Sa taille moyenne est de 10-20 cm avec une taille maximale de 25 cm. Les sardines adultes se nourrissent de crustacés planctoniques mais également de larves de crabes. [3]

La sardine prenait ce nom sur le type de poisson qui a été pêché pour la première fois près de l'île de la Sardaigne Méditerranée occidentale.

I.2.Extraction d'huile de sardine :

L'extraction historique d'huile de sardine à partir de poisson frais (ou congelés) se réalise d'après un processus de cuisson à 85 °C permettant une meilleure libération des fractions huileuses qui serait freinée lors d'une cuisson à plus haute température par la coagulation des protéines. La cuisson est suivie par une opération de centrifugation permettant d'obtenir une phase solide et une phase eau-huile. Cette dernière est décantée et centrifugée. [4]

Méthode d'extraction est résumée dans le schéma suivant :

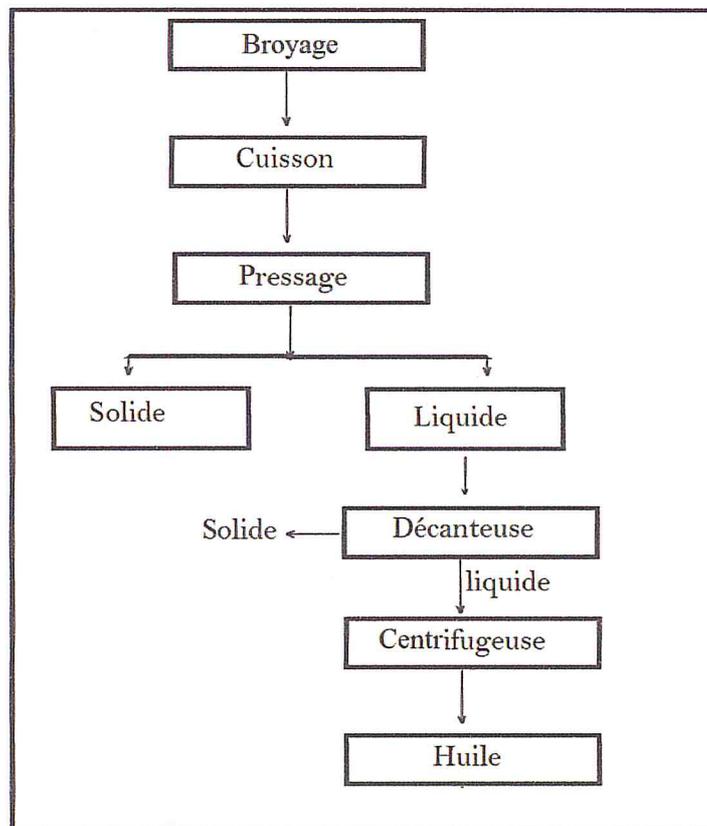


Figure 1 : Schéma de fabrication d'huile de sardine [5]

Il existe d'autres méthodes d'extraction moins courantes telles que l'extraction par voie enzymatique. [6]

Le choix du dissolvant d'après des auteurs spécialisés dans ce domaine semble indifférent, il suffit qu'il soit neutre et que l'extraction à froid ou à chaud. [1] [6] [7]

I.3. Composition générales des huiles de sardine :

I.3.1. Glycérides :

Comme les autres huiles ou graisses d'origine animale ou végétale, la plupart des huiles d'animaux marins sont constituées par des glycérides d'acides gras.

Ces triglycérides résultent de la combinaison d'une molécule de glycérol avec trois molécules d'acides gras. Chaque molécule d'acides gras (R-COOH) possède une fonction acide (-COOH) qui peut réagir par estérification avec l'un des trois fonctions alcool (-OH) du glycérol pour former un triester (triglycéride). Par simplification, la formule chimique d'un triglycéride peut s'écrire comme présentée en Figure 2. [8]

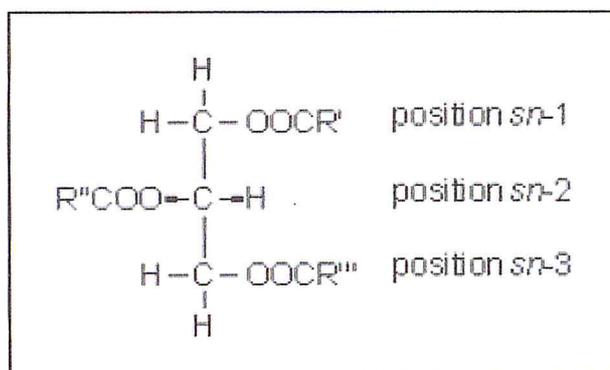


Figure 2 : Formule semi-développée des triglycérides. [9]

Les graisses couramment rencontrées sont essentiellement représentées par des acides gras saturés et insaturés comportant de 14 à 18 carbones. [10]

I.3.2. Acides gras :

Tous les acides gras sont constitués par une chaîne hydrocarbonée comprenant un groupement méthyle (-CH₃) à l'une de ses extrémités, un groupement carboxyle (-COOH) à l'autre extrémité qui confère à l'acide gras son caractère acide et des atomes de carbone dont le nombre et la valence constituent les seuls éléments de différenciation des acides gras. [10]

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe saturée ou insaturée, ils peuvent être saturés (AGS) c'est-à-dire sans aucune double liaison, mono-insaturés (AGMI) ou polyinsaturés (AGPI) selon le nombre de doubles liaisons.

Ils sont notés $n : m$, où n représente le nombre d'atomes de carbone et m est la position de doubles liaisons. [9]

Les acides gras les plus abondants dans l'alimentation sont les acides gras à chaîne droite comportant un nombre pair d'atomes de carbone. Le tableau 1 illustre les classifications des acides gras :

Tableau 1 : Classification des acides gras.

Longueur de la chaîne carbonée [8]			
		Nombre d'atomes de carbone	
Acides gras à chaîne courte		4 à 8	
Acides à chaîne moyenne		8 à 12	
Acides gras à chaîne longue		14 à 18	
Acides gras à chaîne très longue		≥ 20	
Positionnement des atomes d'hydrogène autour des doubles liaisons [11]			
Cis	les deux atomes d'hydrogène adjacents sont du même côté		
Trans	les atomes d'hydrogène sont du côté opposé de la double liaison		
Degré d'insaturation de la chaîne carbonée [9] [10] [12] [13]			
	Formule chimique	Nombre d'atome de carbone	Exemples des principaux acides saturés dans l'huile de sardine
Acides gras saturés (AGS)	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$	4 à plus de 30	Acide phocénique ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_2$)
Acides gras mono-insaturés (AGMI)	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_x - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_y - \text{COOH}$		Acide physétoleïque ($\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$), acide zoomarinique ($\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2$) et acide gadoléique ($\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2$)
Acides gras poly-insaturés (AGPI)		18, 20, et 22	Acide α -linoléique ($\text{C}_{18} : 3 \omega 3$), acide linoléique ($\text{C}_{18} : 6 \omega 6$), acide thérapeutique ($\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_2$), acide arachidonique ($\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$) et acide clupanodonique ($\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_2$)

Le tableau suivant résumé les acides gras principales et leurs proportion dans l'huile de sardine :

Tableau 2 : Composition (%) en acides gras d'huile de sardine. [4]

Acide gras	14:0	16:0	16:1 n-7	18:0	18:1 n-9	18:1 n-7	18:2 n-6	18:3 n-3	18:4 n-3	20:1 n-9	20:4 n-6	20:4 n-3	20:5 n-3	22:5 n-3	22:6 n-3
%	8.9	18.4	7.9	2.5	10.9	3.3	1.2	0.9	2.8	2.3	0.8	0.7	12.4	1.4	9.8

I.4. Propriétés physico-chimique des acides gras :

La longueur de leur chaîne carbonée, le degré d'insaturation de cette chaîne et l'isomérisation vont avoir une influence importante sur les propriétés des acides gras.

I.4.1. Propriétés physique :

I.4.1.1. Point de fusion :

L'huile de sardine est liquide à température ambiante, mais généralement solidifier à 15°-10°C.

Le point de fusion des acides gras dépende les critères suivants :

- ✓ Selon la longueur de chaîne : une augmentation du nombre d'atome de carbone entraîne une augmentation de point de fusion.
- ✓ Taux d'insaturation : une augmentation de nombre de doubles liaisons entraîne une diminution de la température de fusion. Alors Les acides gras saturés sont le plus souvent solides à la température ordinaire. En revanche, les acides gras insaturés sont liquides à ces mêmes températures, c'est le cas des huiles. [14]

I.4.1.2. Solubilités :

En règle générale, la solubilité des huiles sont nulle ou faible dans l'eau mais élevée dans les solvants organiques de type apolaire (chloroforme, cyclohexane, éther éthylique, etc...). [9]

La "tête" des acides gras qui porte la fonction carboxylique est polaire dans l'eau, par contre la chaîne carbonée est apolaire ("queue" hydrophobe). Ceci impliquera que la solubilité dans l'eau des acides gras diminuera lors de l'augmentation du nombre de carbone.

I.4.1.3. Densité :

La densité des lipides est inférieure à celle de l'eau. [13]

I.4.2. Propriété chimique :

Elles résultent de la structure des acides gras qui ont un groupement carboxyle et éventuellement comporte une ou plusieurs double-liaisons.

I.4.2.1. Propriétés dues à la fonction carboxylique :

Les acides gras réagissent avec les hydroxydes métalliques pour donner des sels d'acides gras appelés « savons » (saponification).

De plus, les sels de cations lourds comme le plomb, le calcium et le magnésium et d'acides gras donnent également des savons insolubles dans l'eau. Aussi, l'addition de ces sels à des savons alcalins provoquent- t- il précipitation des acides gras.

I.4.2.2. Propriétés dues à la présence éventuelle d'une double-liaison :

La chaîne hydrocarbonée des acides gras est chimiquement inerte, mais la présence de double-liaisons dans un lipide permet de l'hydrogéner et entraîne souvent son oxydation.

- Hydrogénation et halogénéation : L'hydrogénation concerne les acides gras insaturés qui peuvent fixer l'hydrogène en donnant des acides gras saturés. Cette réaction est utilisée dans la technologie des corps gras pour relever le point de fusion des produits. Les acides gras insaturés peuvent fixer aussi des halogènes comme le brome et l'iode. Ainsi, pour apprécier le degré d'insaturation des acides gras d'un lipide, on détermine son indice d'iode. [8]

- Oxydation : Les double-liaisons sont des zones fragiles, ainsi, les oxydants peuvent les oxygéner en formant des époxydes et des peroxydes. La formation des peroxydes s'accompagne de l'apparition de produits secondaires (aldéhydes, cétones, acides et peroxydes) responsables du rancissement. On mesure expérimentalement l'indice de peroxyde d'un lipide pour apprécier ses qualités de conservation. [8]

I.5. Dégradation des corps gras :

I.5.1. Dégradation à la chaleur :

La résistance des corps gras à la chaleur est variable : il existe pour chacun d'eux une température critique (également appelée "point de fumée") à ne pas dépasser, au-delà de laquelle les corps gras produisent des composés toxiques, irritants pour les muqueuses digestives et qui oxydent les caroténoïdes et les vitamines A et E. [15]

I.5.2. Oxydation :

Les huiles au cours du stockage subissent de nombreuses transformations sous l'action de la lumière, de l'oxygène et des températures élevées. Ces changements sont en général provoqués par diverses réactions chimiques dont l'oxydation. [16]

L'oxydation est générée par des radicaux libres, espèces chimiques neutres ou chargées instables qui ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état plus stable. [17]

Les acides gras sont sensibles aux oxydations chimiques ou biologiques, processus de fragmentations oxydatives des chaînes d'acide gras principalement insaturés avec formation de petites molécules (aldéhydes, acide carboxyliques, cétones...) et d'odeurs déplaisantes. [18]

Les principaux facteurs impliqués dans l'oxydation des AGPI sont : l'oxygène, la position des acides gras insaturés dans un triacylglycérol, la température, le pH, l'activité de l'eau, la pression partielle en oxygène et les microcomposants de l'huile (hydroperoxydes, acides gras libres, métaux lourds, pigments, eau). [19]

I.5.2.1. Mécanismes généraux de l'oxydation :

L'oxydation des acides gras peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs : [20]

- L'auto-oxydation qui est catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres.
- La photo-oxydation qui est initiée par la lumière en présence de Photosensibilisateurs. La photo oxydation a lieu sous l'action des UV avec production des radicaux peroxydes et d'hydroperoxydes. La réaction de photo oxydation est 1 000 à 1 500 fois

plus rapide que celle d'auto oxydation. [19] La photo-oxydation est, quant à elle, due à la lumière à laquelle est exposée l'aliment concerné, ainsi qu'au dioxygène de l'air.

- L'oxydation enzymatique initiée quand à elle par la lipoxygénase.

I.5.2.1.1. Auto-oxydation :

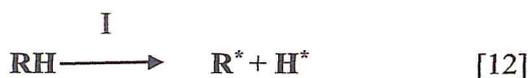
L'oxydation des acides gras est une réaction d'auto-oxydation. Plus précisément, la réaction d'auto-oxydation est une réaction de type radicalaire.

Ceci permet de comprendre le caractère autocatalytique de la réaction d'oxydation dont la cinétique suit une courbe exponentielle croissante, comportant trois phases distinctes :

1. **Initiation** : formations d'hydroperoxydes. L'oxygène n'oxyde pas directement les molécules, cette étape est lente et elle correspond à la formation des radicaux libres. La phase d'initiation de l'oxydation des lipides peut être déclenchée par plusieurs facteurs : les formes activées de l'oxygène, les enzymes, les métaux ou la chaleur. De même, l'oxygène triplet, stable, peut être activé en oxygène singlet, réactif par l'intermédiaire d'un photosensibilisateur. [17]

La phase d'initiation aboutit donc à la formation d'espèces très réactives : ROOH et R•.

En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre centré sur le carbone (R°) (radical alkyle).



2. **Propagation** : destruction des hydroperoxydes et apparition des composés responsables des goûts et odeur de rance, elle est rapide et correspond à la formation des peroxydes à partir des radicaux libres et à l'apparition consécutive des composés secondaires de l'oxydation.

La liaison O-O dans un hydroperoxyde est faible et peut être facilement rompue. Les deux dernières réactions sont en boucles, ce qui explique que des traces d'ions métalliques suffisent à générer une grande quantité de radicaux libres.

Les espèces radicalaires produites par les premières réactions sont hautement réactives et vont à leur tour arracher un hydrogène à une autre molécule ou réagir avec un oxygène triplet. [17]





3. Terminaison arrêt :

La chaîne de propagation peut s'arrêter par la formation de polymères ou au contact avec un autre radical. Les molécules créées n'ont plus de fonction biologique. [17]



La décomposition des hydroperoxydes donne des alcools, acides, aldéhydes et cétones. [19]

I.5.2.1.2. Photo-oxydation :

La photo oxydation a lieu sous l'action des UV avec production des radicaux peroxydes et d'hydroperoxydes. La réaction de photo oxydation est 1 000 à 1 500 fois plus rapide que celle d'auto oxydation. [19]

La photo-oxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine. Les photosensibilisateurs (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à un état triplement excité (Sens³). Les photo-sensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des acides gras selon deux types de mécanismes :

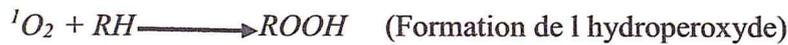
-Selon le premier mécanisme, les photosensibilisateurs de type I, tels que la riboflavine agissent comme les radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, ils arrachent un Hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène. [20]



-Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité (sens³) avec l'oxygène triplet auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet (¹O₂).



L'oxygène singulet ainsi formé est très électrophile et peut directement réagir sur un acide gras insaturé (RH) pour donner un hydroperoxyde ROOH.



Les réactions radicalaires en chaîne de l'auto-oxydation interviennent par la suite.

Les hydroperoxydes ainsi formés sont différents de ceux formés par auto-oxydation. [20]

I.5.2.1.3. Oxydation enzymatique :

L'oxydation enzymatique se produit même à basse température. Durant le stockage à l'état congelé l'activité enzymatique est très faible. [3]

Le phénomène d'oxydation des AGPI, peut être d'origine enzymatique. Dans ce cas, les deux enzymes principalement impliquées dans cette oxydation sont la lipoxigénase et la cyclooxygénase. Le premier enzyme catalyse l'insertion dans ce cas d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé, selon une réaction spécifique et induit la formation d'hydroperoxydes. La lipoxigénase agit spécifiquement sur les acides gras non estérifiés. Son activité est souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases. Quant à la cyclooxygénase, elle est une lipoxigénase qui incorpore dans son squelette deux molécules d'oxygène au niveau d'un acide gras pour former des hydroperoxydes spécifiques. [20]

I.6. Antioxydants :

Les antioxydants sont des substances qui, employées à faible taux qui sont capables de supprimer, de retarder, voire même d'empêcher les processus de l'oxydation des acides gras. ; Ils peuvent être naturels ou synthétiques, Les sources d'antioxydants naturels sont nombreuses et variées : extrait d'herbe, poudre de miel, extraits de fruits, de légumes, de thé,... [3]

Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes selon leur mode d'action :

- Les antioxydants primaires ou antiradicalaires (AH, type I), sont des molécules capables de bloquer les radicaux lipidiques R° , RO° et ROO° par transfert d'un H° : $ROO^\circ + AOH \longrightarrow ROOH + AO^\circ$

Les composés phénoliques naturels (tocophérols) ou de synthèse (butyl-hydroxy-toluène ou BHT, gallate de propyle) appartiennent à cette classe d'antioxydants. Les tocophérols sont les meilleurs antioxydants solubles dans les lipides connus, l' α -tocophérol naturel ou de synthèse étant l'antioxydant le plus utilisé. Par comparaison

à ses isomères β , δ et γ , il possède la plus grande aptitude à réagir avec les radicaux peroxydes car c'est un excellent donneur d'hydrogène. [21]

- Les antioxydants secondaires (type II) agissent par des mécanismes indirects tels que la chélation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène. On les appelle aussi antioxydants préventifs car ils viennent compléter les moyens de prévention de l'oxydation, ou encore synergistes car ils sont souvent employés en combinaison avec les antiradicalaires dont ils renforcent l'action. [21]

I.7. Vitamines E ou tocophérols :

Ce sont des antioxydants liposolubles. Il existe 4 isomères de tocophérols : α , β , γ , δ , qui diffèrent seulement par le nombre de groupements méthyles présents sur le noyau chromane. L' α -tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols, elle permet de neutraliser les radicaux libres, devenant elle-même un radical non toxique. Le rôle principal de l' α -tocophérol est d'inhiber l'initiation de la peroxydation lipidique, suite à une attaque radicalaire, en cédant son hydrogène situé dans le noyau phénolique, réduisant ainsi le radical RO^\bullet . [11]

- Propriétés physico-chimiques de la vitamine E :

A la température ambiante, les tocophérols se présentent sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques (éthers, acétone, chloroforme, méthanol, alcools méthyliques et éthyliques).

Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases. Les esters de tocophérols et notamment l'acétate de dl- α -tocophérol sont relativement stables. [9]

CHAPITRE II :
ENCAPSULATION
PAR L'ALGINATE

II.INTRODUCTION :

Les huiles très sensibles aux réactions d'oxydation telles que les huiles de poisson peuvent être protégées de l'oxydation par la technique de microencapsulation. Il s'agit d'utiliser les propriétés filmogènes, absorbantes et émulsifiantes de macromolécules qui piègent ou enrobent les lipides.

Ceux-ci sont alors protégés physiquement de la lumière, de l'oxygène et des autres initiateurs de l'oxydation (métaux, enzymes,...).

L'encapsulation est un procédé de fabrication de particules fermées dans lesquelles le contenu a été enveloppé à l'intérieur d'un film. La microencapsulation est une des techniques de conservation de la qualité des substances sensibles, ainsi qu'un procédé pour la production de matériaux présentant de nouvelles propriétés intéressantes.

Il existe deux procédés de gélification de gouttes : la gélification thermique - hot melt- et la gélification ionique.

Les procédés conventionnels de la fabrication de microgouttes ou microémulsion permettent un grand rendement de produit.

Les microparticules présentent un très large champ d'applications puisqu'il va du domaine pharmaceutique au domaine alimentaire en passant par la cosmétique, la parfumerie, les produits phytosanitaires, la chimie, le domaine biomédical...

L'alginate est classé comme un hydrocolloïde (un biopolymère soluble dans l'eau de la nature colloïdale à l'état hydraté). Les premières études scientifiques sur l'extraction des alginates de l'algue brune ont été faites par le chimiste britannique E.C. Stanford, à la fin du 19ème siècle, et la production à grande échelle de l'alginate a été introduite 50 ans plus tard. Une des sources majeures de la production d'alginate est une extraction à partir de certaines algues.

L'alginate est un des biopolymères les plus polyvalents et est utilisé dans une large gamme de produits alimentaires, pharmaceutiques spécialisés et applications pour : Épaississant, Stabiliser, gélifiant et former Film. [22]

II.1.MICROENCAPSULATION :

II.1.2.Définition :

La microencapsulation est un processus dans lequel de minuscules particules ou un revêtement pour donner de petites capsules avec de nombreuses propriétés utiles. Dans sa forme la plus simple, une microcapsule est une petite sphère avec une paroi uniforme autour de lui. Le matériau à l'intérieur de la microcapsule est désigné comme le noyau, la phase interne, ou de remplissage, tandis que la paroi est parfois appelé une coquille, revêtement, ou de la membrane. La plupart des microcapsules ont un diamètre compris entre quelques micromètres et quelques millimètres. Bien que des progrès importants aient été réalisés dans le domaine de la microencapsulation, de nombreux défis sont à relever au niveau de choix des matériaux de base pour le revêtement et les techniques de production [23].

II.1.3.Techniques d'encapsulation :

Les Techniques d'encapsulation sont diverses. Elles peuvent être divisées en trois techniques exprime dans le tableau suivants :

Tableau(3) : Classification des procédés de microencapsulation. [24]

Procédés	Techniques d'encapsulation	Exemples des polymères
Physicochimique	Coacervation simple	Gélatine, méthylcellulose, Alcool polyvinylique
	Coacervation complexe	Gélatine/gomme arabique, alginates de sodium/gélatine
	Hot-melt ou fusion de matériau support	Cire carnauba
	Evaporation de solvant	poly (acide glycolique)
Chimique	Polymérisation interfaciel	Polyamides, poly esters
	Polymérisation in situ	Dérives acritique, dérivés polystyrène
Mécanique	Lit d'air fluidisé	Alginates, dérivés cellulosique, sucres
	Nébulisation	Colloïdes hydrophiles, gomme arabique

II.1.4. Procédé de gélification ionique :

Le procédé de gélification ionique consiste à extruder au travers d'une aiguille de seringue ou d'une buse, une solution aqueuse de polymère dans laquelle la matière active est dissoute, dispersée ou émulsionnée. Les gouttelettes formées sont réceptionnées dans une phase liquide dispersante pour se transformer, après réaction chimique, en particules de gel sphériques.

L'addition d'ions Ca^{2+} à une solution d'alginate de sodium provoque une augmentation de la viscosité à cause de la formation d'un gel. Le calcium a la possibilité d'établir des liaisons de coordination avec quatre atomes d'oxygène des chaînes polyguluronates. Le modèle proposé pour expliquer la fixation coopérative du calcium est nommé « boîte à œufs ».

L'apport d'ions Ca^{+2} provoque l'alignement des chaînes d'alginate. Puis un apport plus important provoque un accolement des chaînes en « fermeture éclair ». La structure spatiale globale a un aspect de « boîte à œufs ». [22][25]

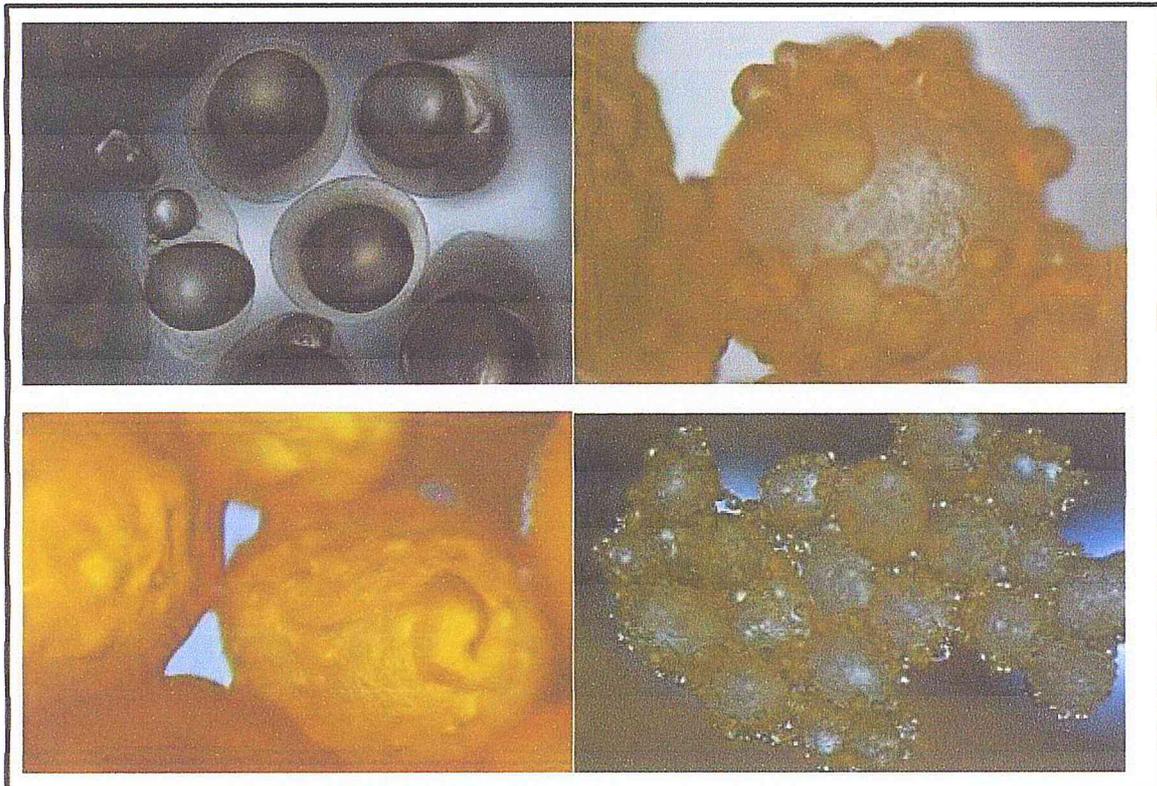


Figure 3 : Microcapsules formées lors de la microencapsulation des huiles de poisson. [20]

II.2. Alginate :

L'alginate est un, un polysaccharide de structure linéaire, un biopolymère anionique naturellement présents dans la paroi cellulaire d'algues brunes, sous forme de sels (de magnésium, de calcium et de sodium) comme *Macrocystis pyrifera* récoltée aux Etats-Unis, *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* ou encore *Ascophylles nodosum* récoltée en Europe, et dans la bactérie.

L'alginate est le polysaccharide le plus abondant de ces organismes, constituant plus de 40% de leur poids sec, Pour préciser la classification on peut définir l'alginate comme un hydrocolloïde car il est soluble dans l'eau où il se dissout pour former un gel avec des propriétés rhéologiques particulières. C'est un des biopolymères les plus polyvalents et est utilisé dans une large gamme de produits alimentaires, pharmaceutiques spécialisés et applications. [22]

II.2.1. Composition et structure chimique :

L'acide alginique est un hétéropolymère formé par l'enchaînement de deux monomères dérivés du G-D-mannose (acide α - L - guluronique (G) et acide β - D - mannuronique (M)) dont la séquence varie. [22]

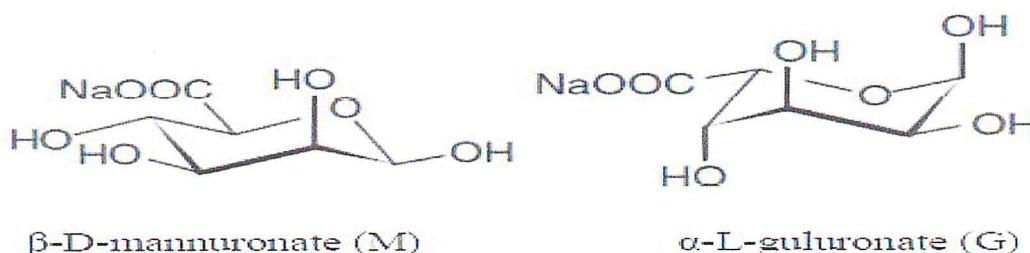


Figure 4 : Structure des monomères acide α - L - guluronique (G) et acide β - D - mannuronique (M). [22]

Les monomères sont associés par les quatre types de liaisons glycosidiques : diéquatorial (MM), diaxial (GG), équatorial-axial (MG) et axial-équatorial (GM) en longues chaînes linéaires de masse moléculaire d'environ 800 kDa ,dont le degré de polymérisation varie de 1500 à 2000. Ils sont généralement répartis par séquences d'une vingtaine d'unités. Les proportions des deux acides et La séquence des différents des blocs sont variables selon les espèces d'algues, selon la partie de l'algue considérée, selon son âge et selon La saison de

récolte. Ces données sont très importantes car elles déterminent les propriétés des alginates. [22] [26]

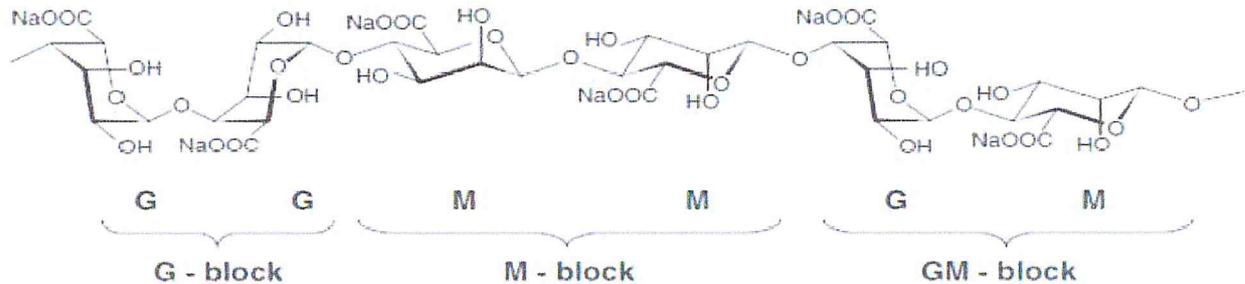


Figure 5 : Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium. [22]

Les liaisons diéquatoriales entre unités M donnent à ces segments une structure aplatie. Cette structure est stabilisée grâce à des liaisons Hydrogène.

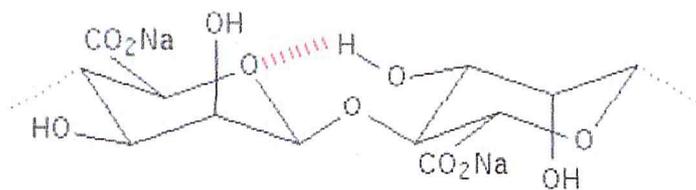


Figure 6: Interactions entre les unités M. [25]

La liaison diaxiale (GG) adopte l'arrangement plus rigide d'une boucle.

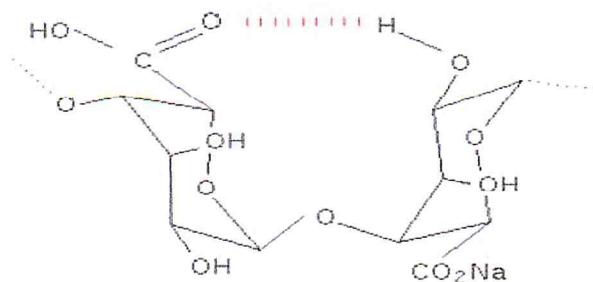


Figure 7 : Interactions entre les unités G. [25]

Les fragments mixtes des deux acides blocs MG sont caractérisés par une alternance entre des liaisons axiales et équatoriales et des liaisons équatoriales-axiales. La variations dans la tacticité de la chaîne sont responsables de flexibilité des blocs MG. [22]

II.2.2. Propriétés de l'alginate :

Les propriétés physico-chimiques des solutions et des gels d'alginate en milieu aqueux dépendent de leur structure, c'est-à-dire de la proportion de résidus mannuroniques par rapport aux résidus guluroniques (rapport noté M/G) ainsi que du nombre et de la longueur des blocs MM, GG et MG.

II.2.2.1. Gélification :

Les propriétés physiques de l'alginate ont été principalement découvertes dans les années 1960 et 1970. À la différence des autres polysaccharides gélifiants, la principale caractéristique de l'alginate est sa gélification avec des cations bivalents. De plus, sa transition sol-gel n'est pas influencée par un changement de température.

Deux blocs G de deux chaînes de polymères adjacentes peuvent être réticulés par un cation bivalent (par exemple Ca^{2+} ou Ba^{2+}), par une interaction électrostatique entre les deux groupes carboxyliques COO^- du polysaccharide. Cette complexation non covalente donne lieu à la formation d'un réseau à trois dimensions, et donc d'un hydrogel physique. Lorsque deux brins de polymère sont face à face, la conformation des blocs G forment des cavités dans lesquelles viennent se loger les ions Ca^{2+} . Cette dimérisation des blocs G est communément appelée structure type "boîte d'œufs". Un schéma représentatif de la gélification des chaînes d'alginate est montré dans la Figure 8. [22][27]

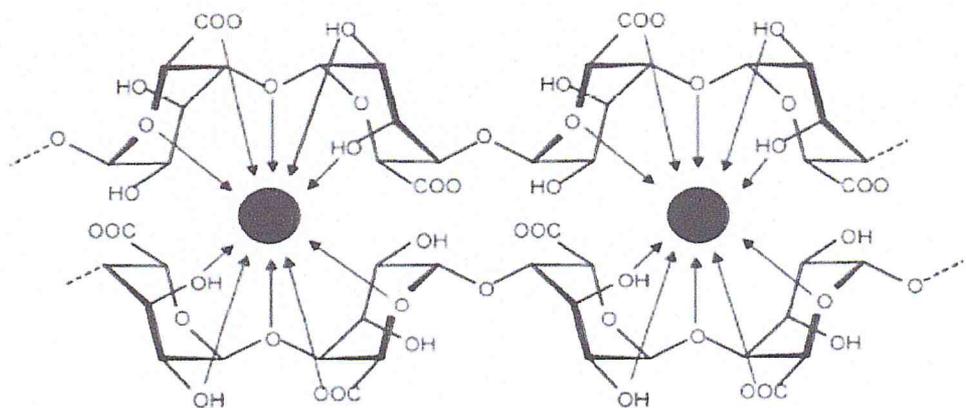


Figure 8 : Gélification ionotropique de l'alginate. Modèle "Egg-box". [22]

La rigidité du gel obtenu dépend du ratio entre les blocs G et les blocs M contenus dans le polymère (ration G/M). De façon générale, les alginates composés d'un faible ratio

G/M forment des gels plus mous et élastiques, alors que les alginates avec ratio G/M élevé donnent plutôt des gels durs et cassants. [28]

Le sel de cation divalent généralement utilisé pour la gélification de l'alginate est le chlorure de calcium en raison de sa bonne solubilité en milieu aqueux et de la forte disponibilité en ions calcium qu'il apporte. Il a été montré que 90% des ions sodium contenus dans une solution d'alginate de sodium peuvent être facilement déplacés par les ions calciques. [23]

II.2.2.2.Solubilité :

La solubilité des alginates en solution aqueuse dépend du degré d'ionisation des groupements carboxyliques portés par les unités monomères. Ainsi, les alginates monovalents sont parfaitement solubles dans l'eau si on leur associe des cations alcalins monovalents car les groupements carboxyliques présents dans les molécules d'alginate sont ionisés.

Par contre, l'acide alginique est insoluble dans les solutions aqueuses. Il précipite quand le pH est inférieur à 3,5. On peut parler de pKa de l'acide alginique. L'acide mannuronique a un pKa de 3,38 et l'acide guluronique un pKa de 3,65. Les constantes de dissociation pKa apparent de l'acide alginique varie de 3,7 à 4,2 en fonction de sa composition. [22]

II.2.2.3.viscosité :

La viscosité de la solution obtenue va dépendre du type d'alginate utilisé et va dépendre de la concentration du polymère et de sa masse moléculaire : plus celles-ci augmentent, plus la viscosité croît.

La forme et la rigidité de la macromolécule déterminent également le comportement rhéologique de la solution obtenue.

L'alginate est un polyélectrolyte qui contient des fragments poly (-L-guluronate) rigides La présence de groupements chargés sur la chaîne et le rayon de giration élevé expliquent la viscosité relativement élevée de l'alginate. Cette propriété des alginates est utilisée dans l'industrie : ils servent d'épaississant, surtout dans l'industrie agro-alimentaire. [28]

PARTIE II : ETUDES
EXPREMENTALE

CHAPITRE I :
MATERIELS ET
METHODES

I. Introduction :

Dans cette partie nous avons fait l'extraction et caractérisation d'huile de sardine à partir de sardine. Cette huile est par la suite encapsulée dans l'alginate de sodium par la méthode de gélification ionotropique.

I.1. Extraction et caractérisation d'huile de sardine :

I.1.1. Procédé d'extraction :

L'huile de sardine est extraite par la méthode de cuisson. La sardine est achetée fraîchement au marché de Kolea wilaya de Tipaza. Elle est acheminée au laboratoire dans une enceinte isothermique de type glacière, puis rincée à l'eau du robinet et à l'eau distillée. Nous avons coupé les sardines (sardine complet, corps ou déchets) en petits morceaux qui sont entreposés dans un béccher de 1l, on ajoute à celui-ci une quantité d'eau distillée et on le ferme avec du papier aluminium. La sardine est cuite sur plaque chauffante pendant 45 minutes, à température 80 C° avec agitation magnétique contenue.

Le liquide obtenu est Filtrer et ce met en centrifugation a 400 tpm pendant 5 minutes. Nous observons dans chaque échantillon 3 phases (farine, eau et huile) se forment. La phase liquide est fractionnée dans une ampoule à décanté avec laquelle l'huile est séparer de l'eau.

L'huile de sardine extraite est conservée à une température ambiante, dans des flacons en plastique opaque, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température qui sont des principaux agents de dégradation, et pour une meilleure conservation on ajoute 4000ppm de tocophérol (vitamine E). [20]

Par ce que L'emballage joue un rôle prépondérant pour protéger les aliments contre l'oxygène et la lumière au cours de leur conservation. Les récipients opaques permettent de protéger de la lumière. Les contenants des huiles doivent être à la fois imperméables à l'air et opaques à la lumière pour prévenir les réactions d'oxydation lors de stockages prolongés à température ambiante.

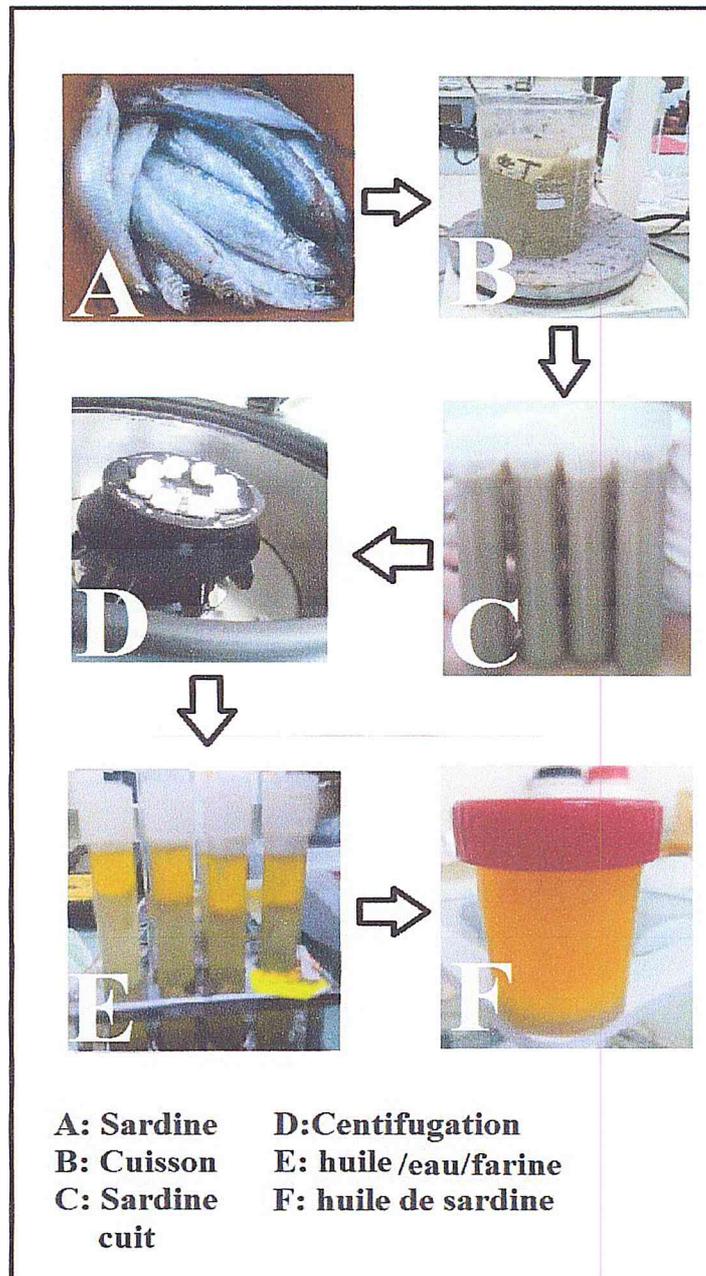


Figure 9 : Etapes d'extraction d'huile de sardine

I.1.2.Caractéristiques d'huile de sardine :

La caractérisation d'une huile consiste souvent à :

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur).
- Déterminer ses indices physico-chimiques (indice de peroxyde, indice de saponification, indice d'acidité, viscosité et indice de réfraction).
- Caractériser par spectromètre infra rouge de différentes huiles de sardine extraite (huile de sardine, huile de déchet de sardine et huile de sardine sans déchet).

I.1.2.1. Caractéristiques physico-chimique :

Pour suivre la caractérisation d'huile on mesure et on calcule les différents indices au cours de temps pendant trois semaines. L'huile qui est caractérisée dans ce travail est extraite à partir de sardine de juin et stockée à température ambiante dans des flacons de verre couverts par papier aluminium :

I.1.2.1.1. L'indice de saponification :

Définition :

Cet indice détermine la masse de KOH en mg nécessaire pour saponifier les acides gras combinés dans un gramme de corps gras. [29]



Détermination de l'indice de saponification :

Réactifs :

- solution éthanolique de KOH (1 M).
 - d'acide chlorhydrique (HCl 1 M).
 - Solution de bleu de bromothymol.
- On pèse à l'aide d'une balance analytique 1,5 g d'huile de sardine dans un erlenmeyer de 250 ml.
 - On ajoute à la burette dans l'erlenmeyer, 20 cm³ de la solution éthanolique de KOH (1 M).
 - On chauffe le contenu de l'erlenmeyer à reflux au bain marie pendant 30 minutes à partir de l'ébullition.
 - Après refroidissement, on titre en retour par la solution aqueuse d'acide chlorhydrique (HCl 1 M) en présence de bleu de bromothymol.
 - A l'équivalence, la solution vire du bleu-vert au jaune.
 - On note avec précision le volume de HCl utilisé lors du titrage.

Détermination de l'indice de saponification grâce au titrage en retour :

Exploitation des résultats. Un volume (V) d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (contenant n_1 moles de KOH) est ajouté à une quantité connue d'huile de sardine (ml en g). L'excès de KOH (n_2 moles) est titré par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique (HCl 1M). La différence entre n_1 et n_2 permet de déterminer le nombre de moles de KOH utilisées pour la saponification. La masse (m_2) correspondante de KOH exprimée en mg vaut :

$$m_2 = (n_1 - n_2) * 56 * 1000 \quad (m_2 \text{ en mg}) \quad (\text{Masse molaire de KOH} = 56)$$

L'indice de saponification (I_s) vaut donc :

$$I_s = m_2 / m_1 = ((n_1 - n_2) * 56 * 1000) / m_1 \quad [30]$$

I.1.2.1.2. Indice de peroxyde :

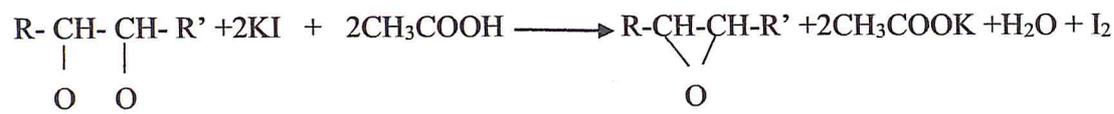
L'indice de peroxyde mesure le degré de rancidité des matières grasses après une exposition à l'air. Cette dernière va entraîner la formation de peroxydes à partir des acides gras non saturés. [8]

Le principe repose sur l'oxydation de l'iodure par l'oxygène actif des peroxydes contenus dans les huiles, en milieu acide. L'iode libéré est ensuite dosé en retour par le thiosulfate de sodium titré. [8]

En présence de l'oxygène de l'air, les acides gras insaturés s'oxydent en donnant les peroxydes selon la réaction suivante :



Sur une molécule de peroxyde, une molécule d'oxygène est fixée. Sur les deux atomes d'oxygène fixés, un seul est actif et est capable d'oxyder les iodures selon la réaction suivante :



Expression des résultats :

$$I_p = (V_1 - V_0) \times 10 \quad (\text{en mEq/g d'huile}) \quad [8]$$

V_0 : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en ml.

V_1 : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la prise d'essai en ml.

Détermination de l'indice de peroxyde :

Réactifs :

- Chloroforme.
- Acide acétique
- Solution saturée d'iodure de potassium récemment préparée.
- Solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,001N).
- Empois d'amidon (solution aqueuse à 1%).

Mode opératoire :

-On pèse 1 g d'huile de sardine dans un erlenmeyer de 250ml auquel on ajoute 20 ml du mélange acide acétique -chloroforme (3 : 2) et immédiatement après 1 ml d'une solution aqueuse saturée de KI.

-On agite pendant une minute et on met à l'obscurité pendant 5 mn.

-On ajoute 75ml d'eau distillée en agitant rigoureusement et quelques gouttes d'empois d'amidon (Indicateur).

-Le dosage se fait alors avec une solution de thiosulfate de sodium 0,001N jusqu'à la disparition de couleur violet. Un essai à blanc sans le corps gras est effectué parallèlement au premier essai.

-Faire un blanc dans les mêmes conditions. [8]

I.1.2.1.3. Indice d'acidité :

Il exprime la masse de potasse (exprimée en mg) nécessaire pour neutraliser les corps gras libres contenus dans 1 g de matière grasse. Cet indice est déterminé à température ambiante. [8]

Le principe de la détermination de l'acidité d'une huile consiste en un dosage acido-basique correspondant à la neutralisation dont le schéma réactionnel est le suivant :



Acide gras potasse sel eau

Expression des résultats :

$$I_a = \frac{M_{\text{KOH}} \cdot V_{\text{KOH}} \cdot C_{\text{KOH}}}{m_{\text{huile}}} \quad [8]$$

M_{KOH} : masse molaire de KOH (56 g.mol)

V_{KOH} : volume de la solution titrée de KOH utilisée (mL)

C_{KOH} : concentration exacte de la solution titrée de KOH (mol.L)

m_{huile} : masse de la prise d'essai (g).

Détermination de l'indice d'acidité :**Réactifs :**

- Méthanol.
- Solution éthanolique de KOH (0,025M).

- Solution de phénolphtaléine.

Mode opératoire :

Le protocole suivant, comporte les étapes à suivre en vue de la détermination de l'indice d'acidité :

- On pèse 1 g d'huile de sardine dans un erlenmeyer de 250 ml auquel on ajoute 10 ml de méthanol et bien mélangé.
- On ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine dans la solution comme indicateur coloré.
- On titré par la solution éthanolique de KOH (0,025M) jusqu'à la coloration rose.
- On note avec précision le volume de KOH. [27]

I.1.2.1.4. Indice de réfraction :**Définition :**

L'indice de réfraction d'une substance est le rapport de la vitesse de la lumière à une longueur d'onde définie dans le vide à sa vitesse dans la substance.

L'indice de réfraction d'une substance donnée varie avec la longueur d'onde de la lumière incidente et avec la température.

Principe :

Mesurage à l'aide d'un réfractomètre convenable de l'indice de réfraction de l'échantillon liquide à une température constante.

Détermination de l'indice de réfraction :

L'indice de réfraction est déterminé selon le protocole suivant :

- Mettre en marche le réfractomètre puis régler la distance entre les oculaires pour une vision nette du réticule et de l'échelle de lecture des indices de réfraction.
- Déposer ensuite le liquide en quantité suffisante à l'aide d'une pipette sur la face horizontale du prisme du prisme lors de ce le liquide en quantité suffisante à l'aide d'une pipette sur la face horizontale du prisme réfractométrique en faisant bien attention de ne pas rayer du prisme lors de ce dépôt.
- En tournant ensuite le bouton moleté de gauche, cherché à obtenir un maximum de contraste entre les deux plages et une ligne de séparation aussi nette que possible.
- Une fois ces opérations effectuées, il suffit de regarder dans l'oculaire d'échelle et de lire la valeur de l'indice de réfraction sur l'échelle supérieure.

I.1.2.1.5. Détermination de viscosité :

Définition de viscosité :

La viscosité d'un fluide définit l'état d'un fluide dont les molécules sont freinées dans leur déplacement par les interactions ou des associations moléculaires plus au moins intenses, elle dépend de la température.

Principe :

La viscosité est mesurée à l'aide d'un viscosimètre,

1- Verser l'échantillon dans la cuve jusqu'à ce que la surface soit entre les deux repères de niveau. Le premier repère correspond à 35 ml et le second à 45 ml.

2- Fixer le flacon sur la platine, entre les deux guides.

3- S'assurer que le protecteur soit abaissé. Relever la manette pour débloquent les plaques sensibles.

4- Pincer les deux oreilles de la pince d'une main, de l'autre saisir l'unité de détection et abaisser doucement les deux plaques sensibles jusqu'au ras de la surface de l'échantillon.

5- Rabaisser la manette pour bloquer les plaques sensibles.

Tourner le bouton de la platine pour amener la surface de l'échantillon au niveau de la partie étroite des plaques sensibles.

I.1.2.2. Spectroscopie Infra-Rouge FTIR :

La technique de spectroscopie Infra-Rouge est utilisée pour la détermination des groupements fonctionnels permettant de figurer la structure. Chaque liaison présente des vibrations caractéristiques de fréquences bien déterminées.

Les analyses ont été effectuées à l'aide d'une spectroscopie Infra-Rouge de type Matison Genes sur des pastilles de bromure de potassium KBr on ajoute une goutte d'huile. Le spectre obtenu a été enregistré entre 4000 et 400 cm^{-1} .

I.2. Encapsulation d'huile de sardine par des billes d'alginate :

I.2.1. Définitions :

Le principe de production des microcapsules d'alginate est la gélification de polymère par émulsion. Dans la suite quelques définitions concernant cette partie de notre travail.

I.2.1.1. Encapsulation d'huile :

Dans ce partie nous avons encapsulé l'huile de sardine extrait par la méthode de la gélification à partir d'alginate de sodium et en utilisant le tensioactif Tween 80 pour émulsionner l'huile.

I.2.1.2. Emulsion :

Une émulsion est une dispersion colloïdale de deux liquides non miscibles l'un dans l'autre tels que l'eau et l'huile, à laquelle on ajoute généralement un agent de surface (tensioactif). Le processus de dispersion consiste à cisailer l'une des phases dans l'autre de manière à former des gouttes dont la taille peut varier de 0.1 μm à environ 10 μm . [26]

I.2.1.3. Techniques d'émulsion :

Pour permettre de rendre une émulsion plus stable dans le temps, il est alors nécessaire de réduire le maximum possible la taille des particules de la phase. Il existe plusieurs types d'appareils capables de réaliser une émulsion, depuis l'agitateur jusqu'à l'homogénéisateur haute pression, en passant par le moulin colloïdal et le turbo émulsionneur. [20]

I.2.1.4. Emulsifiants :

Le mélange reste stable grâce à un troisième ingrédient appelé émulsifiant, Un émulsifiant est une molécule dite amphiphile parce qu'elle possède une partie hydrophile (qui aime l'eau) et une partie lipophile (=hydrophobe, qui aime l'huile). [8]

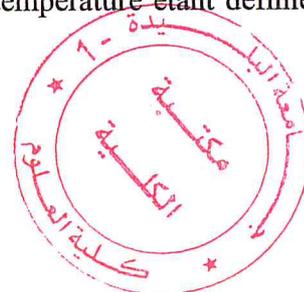
En fonction de la nature de l'émulsifiant et des proportions Huile/Eau on obtiendra : une émulsion « huile dans eau » H/E ou « eau dans huile » E/H.

I.2.1.5. Diagramme de pseudo-ternaire :

Parmi, les méthodes nécessitant une mise en place facile, il existe la méthode du diagramme ternaire qui fait varier les variables de composition à une température constante. Cette méthode est utilisée depuis longtemps dans le développement de formulations pharmaceutiques ou cosmétiques.

Suivant les proportions des différents éléments en présence, le mélange ternaire tensioactif/eau/huile se présente sous forme de différents systèmes de structure variables, l'émulsion n'étant qu'un système parmi d'autres. Expérimentalement, la manière la plus simple pour caractériser un système est la méthode des diagrammes de phase. Cette méthode consiste tout d'abord en la préparation des mélanges de différentes proportions en huile, eau et tensioactif en suivant un protocole opératoire bien établi.

Les résultats sont reportés sur un triangle équilatéral dont chaque côté représente la proportion d'un des éléments : l'eau, l'huile et le tensioactif, la température étant définie et constante. [31]



I.2.2. Préparation des billes d'alginate :

Produits :

- Huile de sardine extrait.
- Alginate liquide 2% (m/v).
- Agent réticulent : solution du CaCl_2 de 5% (m/v).
- Antioxydant : vitamine E.
- Tensioactif : Tween 80.

I.2.2.1. Diagramme de pseudo ternaire :

Formation d'émulsion :

Pour former une émulsion stable nous réalisons un diagramme pseudoternaire, cette méthode est basée sur le mélange de différentes proportions d'alginate, d'huile et tensioactif :

Mode opératoire :

Partiel : phase inférieure

Dans la phase inférieure du diagramme pseudoternaire doser les différentes proportions de mélange (huile/ alginate) avec tensioactif jusqu'à la formulation d'une émulsion.

Nous prend 7 tubes vides et avec chaque tube nous faisons les étapes suivantes :

- Mesurer la masse de tube vide.
 - Mettre une quantité connue de solution d'alginate 2%.
 - Ajouter une quantité connue d'huile de sardine.
 - Doser avec tveen goutte à goutte avec l'agitation jusqu'à la coloration jaune transparente trouble (Figure 18).
 - Mesurer la masse de chaque tube.
 - Calculer la masse finale de tveen.
 - Calculer les pourcentages de l'alginate, huile et TA.
 - Tracer le diagramme de phase pseudo ternaire.
- Comment calculer les masses finales ?
- Masse de solution dosage : masse de tube après le dosage – (la masse d'huile + la masse de l'alginate + la masse de tube vide).
 - Masse totale : masse de tube après le dosage - masse de tube vide.
- Comment calculer les pourcentages ?
- Pourcentage d'alginate = masse de l'alginate / masse totale.

- Pourcentage d'huile= $\text{masse de huile} / \text{masse totale}$.
- Pourcentage de tensioactif (TA)= $\text{masse de TA} / \text{masse totale}$.

Tous les résultats des calculs sont dans le tableau (9).

Partie2 : phase supérieure

Dans la phase supérieur du diagramme pseudoternaire doser les différentes proportions de mélange (huile/ TA) avec l'alginate jusqu'à la formulation d'une émulsion.

Nous fait même les étapes de phase inférieure mais dans ce cas nous prendre 7 tubes vide et avec chaque tube nous fait les étapes suivant :

- Mesure la masse de tube vide.
 - Mettre une quantité connue de TA.
 - Ajoute une quantité connue d'huile de sardine.
 - Doser avec solution d'alginate 2% goutte à goutte avec l'agitation jusqu' à la coloration blanc cassé. (Figure 19)
 - Mesurer la masse de chaque tube.
 - Calculer les pourcentages de l'eau, huile et TA
 - Tracer le diagramme de phase pseudo ternaire.
- Comment calculer les masses finales ?
- Masse de solution dosage : $\text{masse de tube après le dosage} - (\text{la masse d'huile} + \text{la masse de TA} + \text{la masse de tube vide})$.
 - Masse totale : $\text{masse de tube après la dosage} - \text{masse de tube vide}$
- Comment calculer les pourcentages ?
- Pourcentage d'alginate= $\text{masse de l'alginate} / \text{masse totale}$.
 - Pourcentage d'huile= $\text{masse de huile} / \text{masse totale}$.
 - Pourcentage de TA= $\text{masse de TA} / \text{masse totale}$.

Tous les résultats des calculs sont dans le tableau (10)

I.2.2.2.Préparation des capsules :

Dans ce partie de travaille nous avons applique le procédé de la gélification. Nous avons préparé deux types des capsules, les premiers sont des capsules vides et la deuxième sont les capsules d'huile de sardine dans l'alginate.

I.2.2.2.1. Capsules d'alginate vides :

Nous avons mis dans une seringue une quantité d'une solution d'alginate 2% et vidé goutte à goutte le contenu en solution de chlorure de calcium 5% sous agitation magnétique faible.

Laisser les capsules obtenues dans la solution de CaCl_2 quelques heures pour améliorer la gélification d'alginate. Puis filtrées et lavées avec l'eau distillée pour éliminer les traces du chlorure de calcium.

I.2.2.2.2. Capsules d'huile de sardine :

Nous avons choisi le point 12 dans le diagramme parce que ce point contient grande quantité d'alginate pour améliorer la gélification et un minimum de quantité de tensioactif.

Nous avons préparé une solution d'alginate de deux pourcent et un mélange de tween 80 avec d'huile de sardine (les proportions du l'alginate, huile et tensioactif de point 12 dans le diagramme ternaire sont les suivantes : 0.6172, 0.2392 et 0.2315 (alginate/huile/TA). Après, nous mélangeons ensemble pour obtenir une émulsion qui est injectée à l'aide d'une seringue dans une solution de chlorure de calcium 5% sous agitation magnétique faible.

Les capsules obtenues dans la solution de CaCl_2 sont laissées quelques heures murir pour améliorer la gélification d'alginate. Elles sont ensuite filtrées et lavées avec l'eau distillée pour éliminer les traces du chlorure de calcium.

Les capsules d'huile de sardine obtenues caractérisées par une forte odeur de sardine. Elles sont stockées dans un flacon loin à l'humidité et la lumière à basse température pour éviter la dégradation d'huile qui est encapsulé.

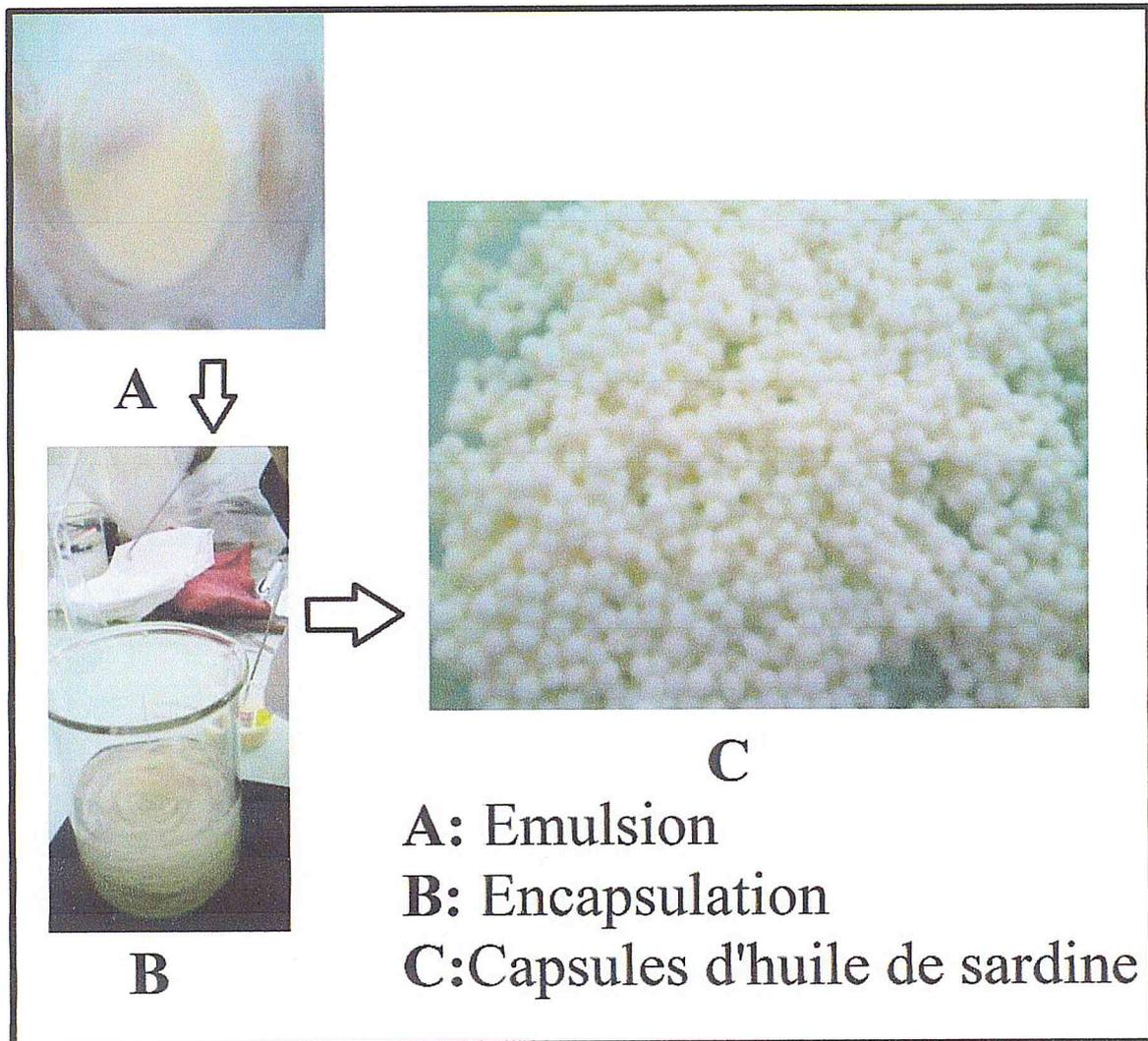


Figure 10 : Etapes d'encapsulation d'huile de sardine

I. Introduction :

Dans cette partie nous avons fait l'extraction et caractérisation d'huile de sardine à partir de sardine. Cette huile est par la suite encapsulée dans l'alginate de sodium par la méthode de gélification ionotropique.

I.1. Extraction et caractérisation d'huile de sardine :

I.1.1. Procédé d'extraction :

L'huile de sardine est extraite par la méthode de cuisson. La sardine est achetée fraîchement au marché de Kolea wilaya de Tipaza. Elle est acheminée au laboratoire dans une enceinte isothermique de type glacière, puis rincée à l'eau du robinet et à l'eau distillée. Nous avons coupé les sardines (sardine complet, corps ou déchets) en petits morceaux qui sont entreposés dans un b cher de 1l, on ajoute à celui-ci une quantité d'eau distillée et on le ferme avec du papier aluminium. La sardine est cuite sur plaque chauffante pendant 45 minutes, à température 80 C  avec agitation magnétique contenue.

Le liquide obtenu est filtré et ce met en centrifugation à 400 tpm pendant 5 minutes. Nous observons dans chaque échantillon 3 phases (farine, eau et huile) se forment. La phase liquide est fractionnée dans une ampoule à décanté avec laquelle l'huile est séparer de l'eau.

L'huile de sardine extraite est conservée à une température ambiante, dans des flacons en plastique opaque, fermés hermétiquement pour les préserver de l'air, de la lumière et des variations de température qui sont des principaux agents de dégradation, et pour une meilleure conservation on ajoute 4000ppm de tocophérol (vitamine E). [20]

Par ce que L'emballage joue un rôle prépondérant pour protéger les aliments contre l'oxygène et la lumière au cours de leur conservation. Les récipients opaques permettent de protéger de la lumière. Les contenants des huiles doivent être à la fois imperméables à l'air et opaques à la lumière pour prévenir les réactions d'oxydation lors de stockages prolongés   température ambiante.

CHAPITRE II :
RESULTATS ET
DISCUSSION

II.1.Introduction :

Cette partie présente les résultats expérimentaux obtenus au cours de cette recherche, ainsi que les interprétations et discussions portant sur ces résultats.

II.2.Rendement des réactions :

Les masses d'huile de sardine de mois Avril et juin qui obtenue sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Masses (g) de la sardine utilisée et d'huiles obtenus.

Date d'extraction	Masse totale de sardine (g) « m ₁ »	(Masse/longueur) de sardine (g/cm)	Masse d'huile de sardine (g) « m ₂ »	Rendement d'extraction(%) $R=m_2/m_1 \times 100$
06/04/2016	573.16	20.24/16.95	8.49	1.4812
24/04/2016	665.47	36.97/14.61	13.75	2.0662
02/06/2016	1563.79	97.86/20	66.32	4.2409
05/06/2016	1390.61	47.36/16.5	37.38	2.688

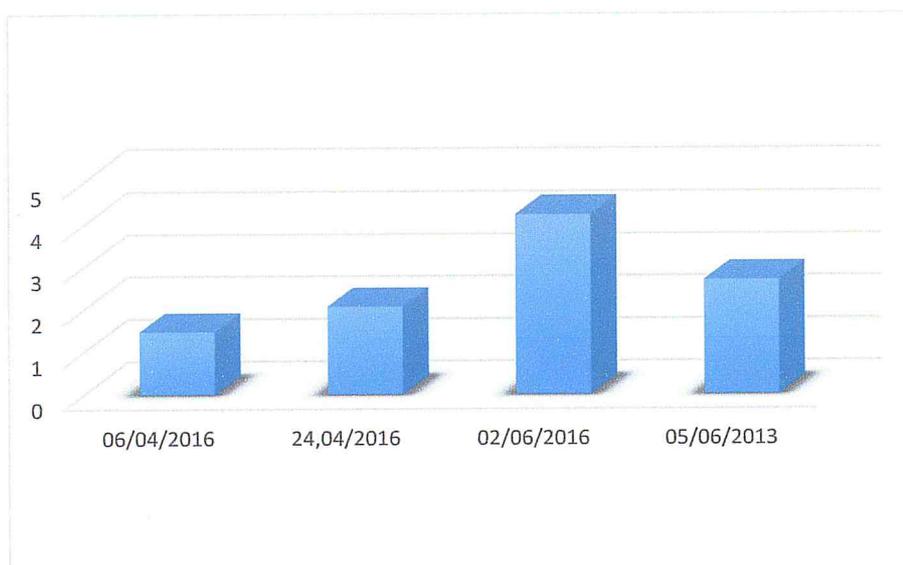


Figure 11 : Rendement d'extraction d'huiles de sardine

Le rendement d'huile de sardine à partir de sardine de mois d'Avril est de l'ordre de 1.4812% et 2.0662% pour la sardine de masse et longueur moyenne (20.24g/16.95cm) et (36.97g/14.61cm). Et le rendement d'huile de sardine de moi Juin est de l'ordre de 4.2409% et 2.688% pour la sardine de masse et longueur moyenne (97.86g/20cm) et (47.36g/16.5cm).

D'après Charles Le pierre, la sardine du mois de juin contient la plus grande quantité de graisses par rapport la sardine de mois d'avril. [1]

Le rendement de déférentes d'huile de sardine extrait (huile de corps, huile de sardine sans déchet, huile de déchet « tête, entrailles, fins » sont représentée dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Rendement % de l'extraction d'huile de sardine.

	Masse de sardine(g) « m_1 »	Masse d'huile de sardine (g) « m_2 »	Rendement d'extraction(%) $R=m_2/m_1$
Corps de sardine sans déchets	569.48	5.47	0.96
Déchets de sardine	330.36	9.96	3.014
Sardine complet	1390.61	37.38	2.688

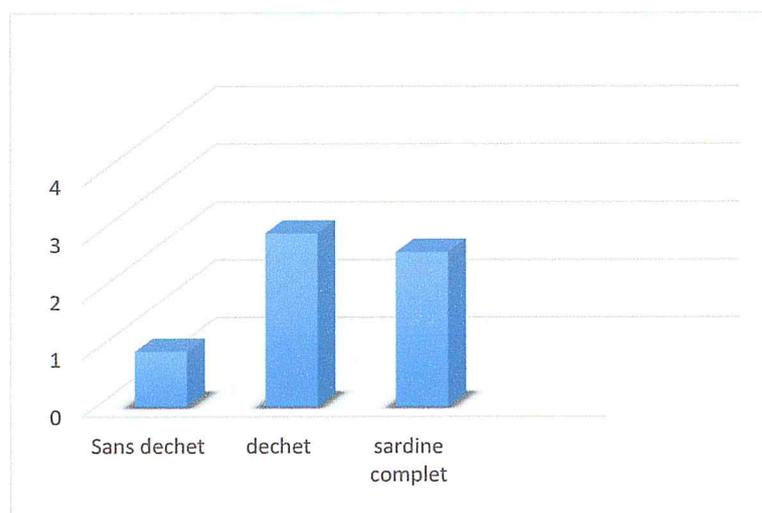


Figure 12 : Rendement d'extraction d'huile de sardine

Le rendement d'huile de sardine à partir de sardine complet est de l'ordre de 2.688. À partir de sardine sans déchets est 0.96% et à partir de déchets de sardine est de l'ordre 3.014%.

II.3. Caractéristiques organoleptiques :

Les huiles de sardine présentent un aspect liquide a température ambiantes, limpide et jaune pâle pour l'huile de déchet de sardine (C), jaune-orangé pour l'huile de sardine (A) et jaune d'or pour l'huile de sardine sans déchet (B).

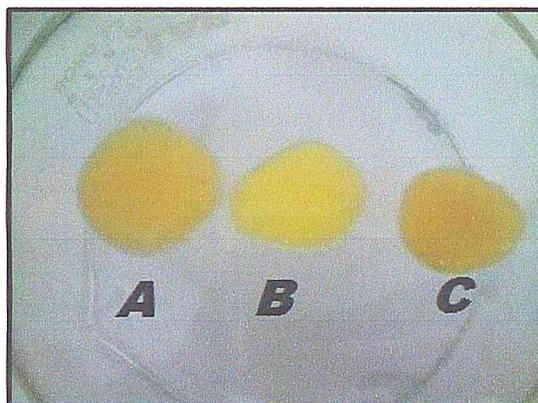


Figure 13 : Couleurs des différentes types d'huile (A : huile de sardine / B : huile de sardine sans déchet / C : huile de déchet de sardine).

L'aspect de l'huile à température ambiante (25°C) montre trois phases distinctes ; la première (A) est blanche et solide, la deuxième (C) est de couleur jaunâtre et assez visqueuse alors que la troisième phase est de couleur orange et apparaît relativement plus fluide (figure 13).



Figure 14 : Huile de sardine

L'huile obtenue est caractérisée par une forte odeur de sardines, cette odeur est plus forte pour l'huile extraite à partir des déchets par rapport l'huile extraite à partir des sardines sans déchet.

Après un certain temps, cette odeur est transformée en odeur désagréable pour l'huile conservée à température ambiante (25°C), par contre l'odeur d'huile dans laquelle ajouté antioxydants (4000ppm) et stockée dans le réfrigérateur loin de la lumière et de l'humidité reste comme sel l'huile de premier jour.

II.4. Résultats des Caractérisations physico-chimique :

Les résultats des mesures des indices caractéristiques d'huile de sardine « corps complet » en fonction du temps sont représentés sur les tableaux suivants.

II.4.1. Indice de saponification :

Tableau 6 : Variation d'indice de saponification en fonction de temps.

Temps (jours)	1	8	15
Indice de saponification	280	168	168

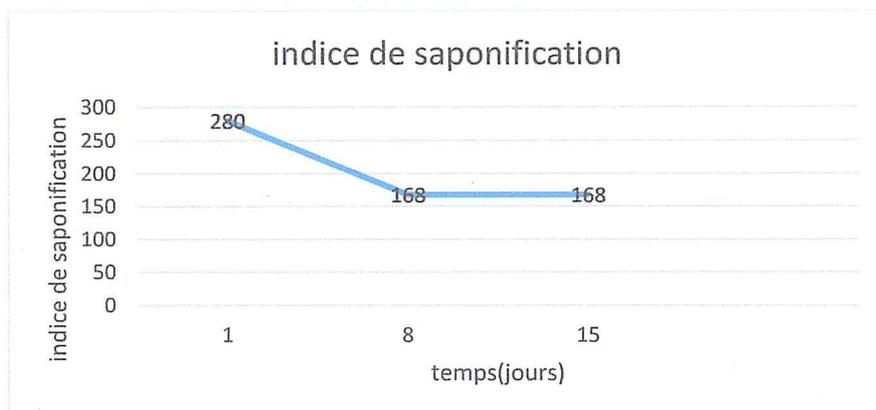


Figure 15 : Valeurs de l'indice de saponification d'huile de sardine en fonction du temps.

D'après les courbes on remarque que : dans le premier jour L'indice de saponification d'huile à égale 280 puis diminué au cours de première semaine à 168 et reste stable jusqu'à deuxième semaine.

Justifier cette variation des valeurs par le changement ou bien dégradation des composés d'huile. (Due à l'oxydation des triglycérides et les acides gras libres et insaturés).

II.4.2.Indice de peroxyde :

Tableau 7 : Variation d'indice de peroxyde en fonction de temps.

Temps (jours)	1	8	15
Indice de peroxyde	1	26	12

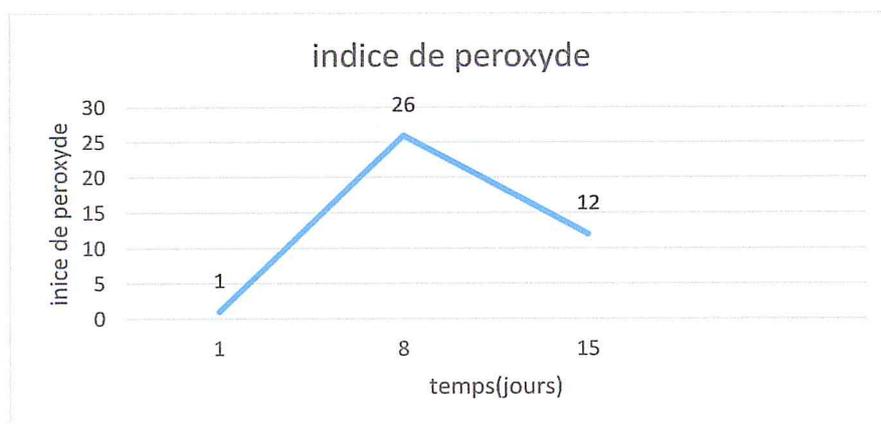


Figure16 : Valeurs de l'indice de peroxyde d'huile de sardine en fonction du temps.

D'après les courbes on remarque que : La proportion de peroxyde d'huile est augmenter dans la première semaine de 1 à 26 grâce à la réaction d'oxydation libres, puis est diminué à 12 dans la deuxième semaine, justifier la décroissante de cette valeurs a les erreurs qui se fait dans l'expérience.

Les valeurs d'indice de peroxyde augmenté car les groupements peroxydes dans l'huiles sont augmentés a cause d'oxydation des acides gras, et justifier la valeur décroissante de l'indice de peroxyde l'apparition une erreur expérimentale.

II.4.3.Indice d'acidité :

Tableau 8 : Variation d'indice d'acidité en fonction de temps.

Temps (jours)	1	8	15
Indice d'acidité	0.77	4.9	4.9

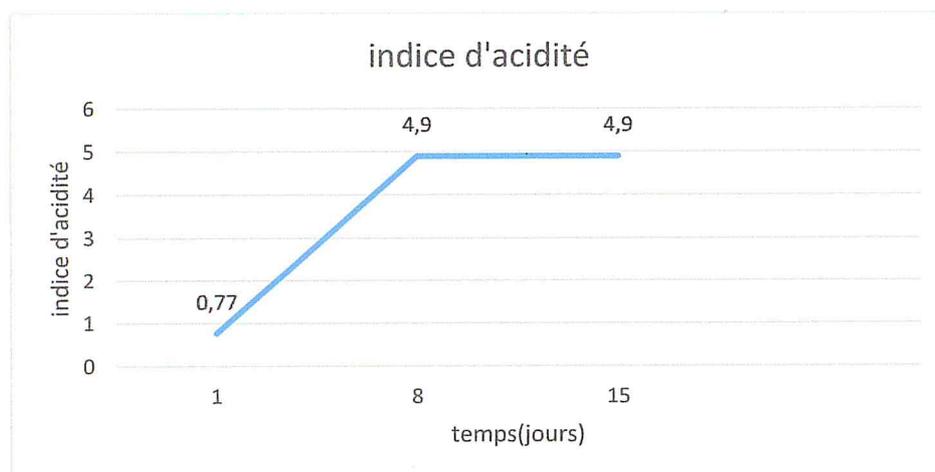


Figure 17 : Valeurs de l'indice d'acidité d'huile de sardine en fonction du temps.

D'après les courbes on remarque que : dans le premier jour L'indice d'acidité d'huile à égale 0.77 puis augmentée au cours de première semaine à 4.9 et reste stable jusqu'à deuxième semaine.

L'augmentation des valeurs d'indice d'acidité au cours de temps correspond une augmentation de réaction de neutralisation des acides gras. Alors on a augmentation des groupements acides dans l'huile en fonction de temps puis reste stable cela prouve que l'oxydation totale des acides gras est survenu en premier semaine.

II.4.4.Indice de réfraction :

Mesurer l'indice de réfraction d'huile de sardine a température 25C° :

$$IR=1.4815$$

II.4.5.Viscosité :

La Mesure de viscosités d'huile de sardine à température T=25.6 C° elle donne :

$$\eta=141 \text{ mpa.s (T= 25.6C°).}$$

II.4.6.Encapsulation d'huile de sardine :**II.4.6.1.Diagramme de pseudoternaire :****Phase inferieurs :**

Les résultats de phase inferieurs sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 9 : Phase inferieur : (huile + alginate+ solution de dosage «TA»).

Numéro du tube	1	2	3	4	5	6	7
Masse du tube vide(g)	23.1502	23.4211	9.2221	23.5390	23.5648	23.3777	23.6315
Masse d'huile de sardine(g)	0.125	0.25	0.375	0.5	0.625	0.75	0.875
Masse d'alginate(g)	0.875	0.75	0.625	0.5	0.375	0.25	0.125
Masse de tube après dosage(g)	25.4001	26.2052	12.0807	26.7236	26.7241	26.1000	26.8179
Masse de (Huile +TA+ Alginate) (g)	2.2499	2.7841	2.8586	3.1847	3.1593	2.7223	3.1859
Masse de TA (g)	1.2499	1.7841	1.8586	2.1847	2.1593	1.7223	2.1859
% Huile de sardine	0.0555	0.0897	0.1311	0.1570	0.1978	0.2755	0.2746
% Tensio-actif	0.5555	0.6408	0.2186	0.6859	0.6834	0.6326	0.6861
% Alginate	0.3889	0.2693	0.6501	0.1570	0.1186	0.0918	0.0392

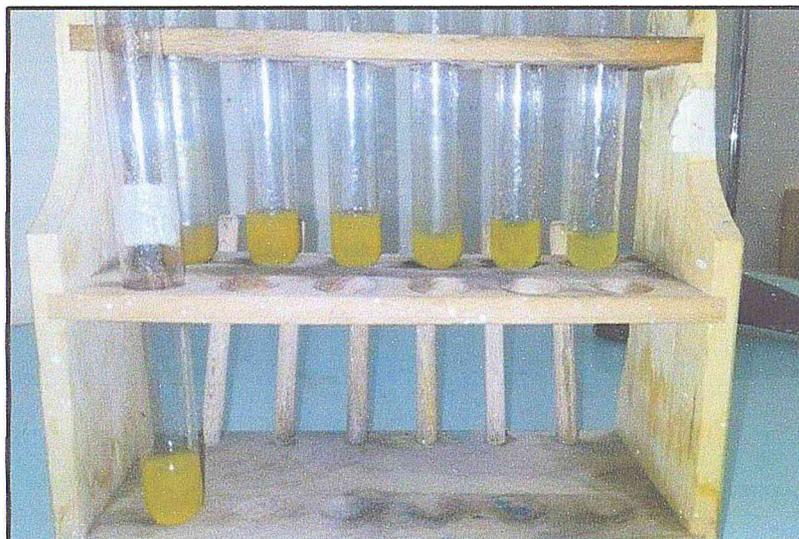


Figure 18 : Tubes à essai après le dosage de la partie inférieure ((huile + alginate) et solution de dosage (tensioactif « Tween 80»).

Phase supérieur :

Les résultats de phase supérieurs sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Phase supérieurs : (huile + TA +solution de dosage « alginate »).

Numéro du tube	8	9	10	11	12	13	14
Masse du tube vide(g)	23.4243	23.5469	15.0246	23.5877	23.3445	23.3484	23.2461
Masse d'huile de sardine(g)	0.125	0.25	0.375	0.5	0.625	0.75	0.875
Masse de tensio-actif(g)	0.875	0.75	0.625	0.5	0.375	0.25	0.125
Masse de tube après dosage(g)	25.4423	26.3004	18.0273	25.4867	25.5471	24.5471	25.0319
Masse de (Huile +TA+ Alginate) (g)	2.018	2.7535	3.0027	1.899	2.6126	1.1991	1.7858
Masse d'alginate (g)	1.018	1.7535	2.0027	0.899	1.6126	0.1991	0.7858
% Huile de sardine	0.0619	0.0907	0.1248	0.2632	0.2392	0.6254	0.4899
% Tensio-actif	0.4335	0.4322	0.3120	0.2632	0.2325	0.2084	0.0699
% Alginate	0.5044	0.6368	0.6669	0.4734	0.6172	0.1660	0.4400

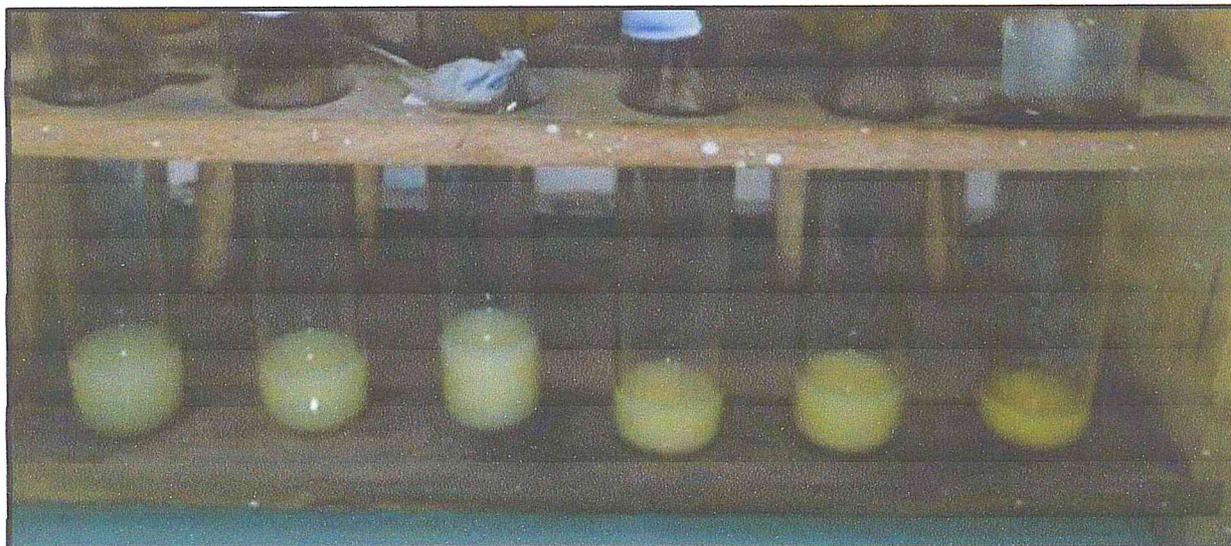


Figure 19 : Tubes à essai après le dosage de la partie supérieure.

Tracer le diagramme de pseudo-ternaire :

Les résultats obtenus sont tracer dans un diagramme avec logiciel « origine »

Tableau 11 : Différentes proportions d'alginate, huile et TA d'une émulsion.

N° du tube	%HUILE(X)	%TA(Y)	%Alginate(Z)
Phase inférieur			
1	0.0555	0.5555	0.3889
2	0.0897	0.6408	0.2693
3	0.1311	0.2186	0.6501
4	0.1570	0.6859	0.1570
5	0.1978	0.6834	0.1186
6	0.2755	0.6326	0.0918
7	0.2746	0.6861	0.0392
Phase supérieur			
8	0.0619	0.4335	0.5044

9	0.0907	0.4322	0.6368
10	0.1248	0.3120	0.6669
11	0.2632	0.2632	0.4734
12	0.2392	0.2325	0.6172
13	0.6254	0.2084	0.1660
14	0.4899	0.0699	0.4400

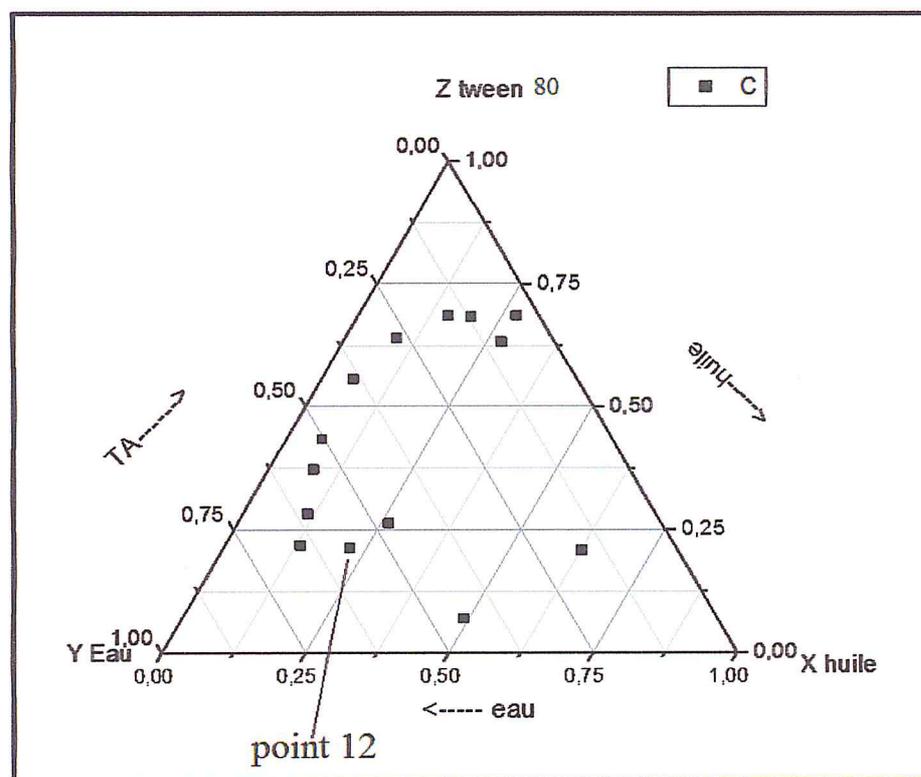


Figure 20 : Diagramme de pseudoternaire (huile/alginate/TA)

Ce diagramme permet d'identifier graphiquement les mélanges optimaux conduisant à la formation d'émulsion.

Ce diagramme de phase n'expliquent pas la stabilité ou l'instabilité des systèmes ternaires, ils ne font que décrire le passage entre les différentes phases et illustrent la conséquence de la variation de la proportion de l'un ou de tous les constituants sur le

système. Ils permettent également de pouvoir déterminer les proportions conduisant à des émulsions.

L'émulsion (Huile de sardine/alginate/TA) de point 12 du diagramme de pseudo ternaire est reste stable après 3 mois de stockage à température ambiante et a loin de lumière.

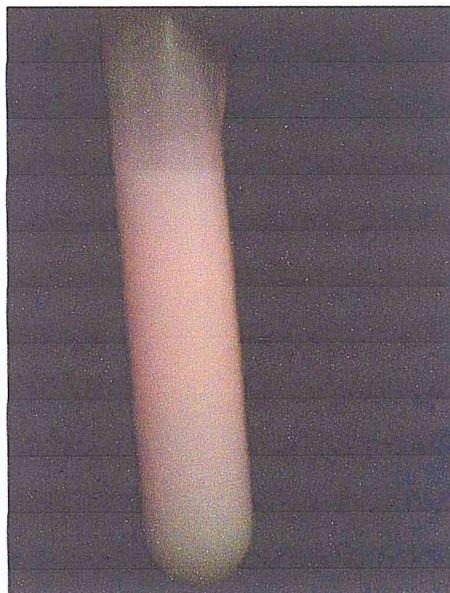


Figure 21 : Aspect des émulsions après 3 mois de stockage.

Les capsules qui ont gardé a la lumière et l'aire à température ambiante sont restés maintenir la forme et la couleur après trois moins mais leur odeur est changer, par contre les capsules qui ont leur exposition à la lumière et l'aire sont sèche après un période de temps et est devenue couleur tend à brun foncé et changés l'odeurs, ce changement n'a pas d'incidence sur l'application des capsules dans leur utilisation en tant quattire-poisson.

Les capsules d'huile gardées à l'abri de la lumière et l'air et stockées dans le réfrigérateur maintiennent leur couleur, leur forme et l'odeur.

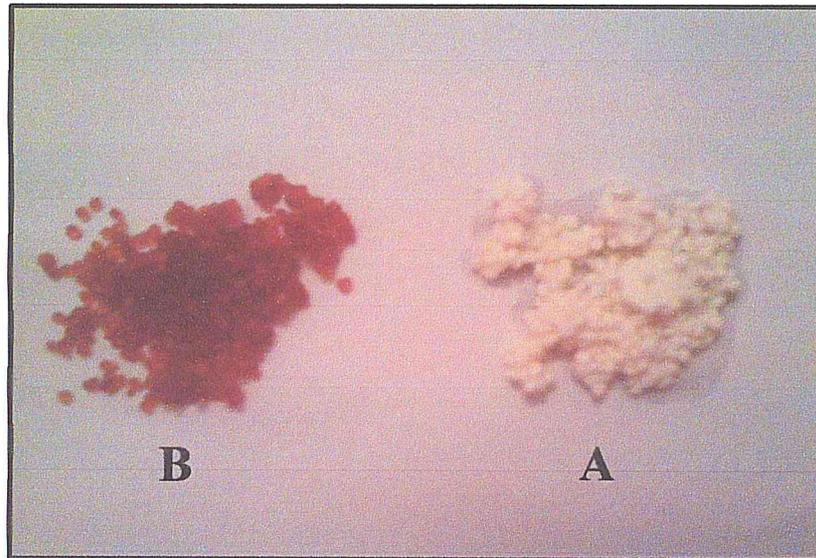


Figure 22 : Capsules d'huile de sardine après 3 mois conservées dans différentes conditions (A : capsules conservées loin de la lumière et l'air à température ambiante / B : capsules exposées normalement à la lumière et l'air, à température ambiante).

II.4.7. Spectres obtenus par spectroscopie Infra-Rouge des différents types d'huile de sardine :

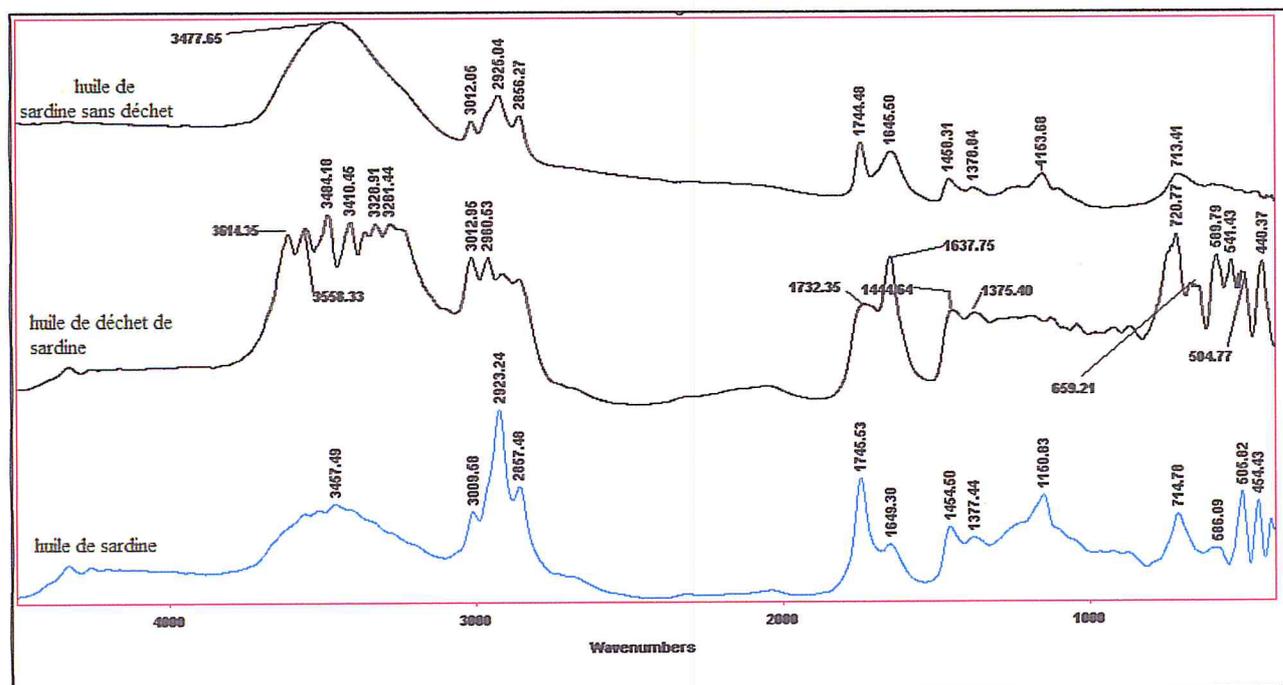


Figure 23 : Spectre TFIR de différents types d'huile de sardine

Présentation des résultats : [32][33]

Dans le spectre d'huile de déchet, on observe des bandes à 3614.35cm^{-1} et 3558.33cm^{-1} due à la vibration d'élongation de groupements O-H libre.

Les bandes 3457.49cm^{-1} et 3477.65cm^{-1} très large dans les spectres de l'huile de sardine et l'huile de sardine sans déchet respectivement attribuées à la vibration d'élongation des groupements O-H associée.

Les bandes, 3484.18cm^{-1} , 3410.45cm^{-1} , 3328.91cm^{-1} et 3281.44cm^{-1} dans le spectre de l'huile de déchet de sardine indiquent la vibration des formations d'élongation des groupements N-H.

Les bandes 3009.58cm^{-1} et 3012.05cm^{-1} dans les spectres de l'huile de sardine et huile de sardine sans déchet respectivement et les bandes 3012.95cm^{-1} dans le spectre de l'huile de déchet de sardine attribuées à la vibration déformations des groupements $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$.

Les bandes 2857.48cm^{-1} et 2923.24cm^{-1} d'huile de sardine, 2960.53cm^{-1} d'huile de déchet et 2856.27cm^{-1} et 2925.04cm^{-1} dans le spectre d'huile de sardine sans déchet attribuées à la vibration d'élongation des groupements $-\text{CH}$.

Les bandes 1745.53cm^{-1} , 1732.35cm^{-1} et 1744.48cm^{-1} Dans le spectre d'huile de sardine, d'huile de déchet de sardine et huile de sardine sans déchet respectivement sont correspond à une vibration d'élongation des groupements $\text{C}=\text{O}$.

Les bandes 1649.30cm^{-1} , 1637.75cm^{-1} et 1645.50cm^{-1} dans les spectres de l'huile de sardine sans déchet et huile de déchet correspond à la vibration de l'élongation des groupements $\text{C}=\text{C}$.

Les bandes 1454.50cm^{-1} de l'huile de sardine, 1444.60cm^{-1} de l'huile de déchet et 1458.31cm^{-1} d'huile de sardine sans déchet indiquent la vibration déformation des groupements $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{H}$.

Les bandes 1377.44cm^{-1} , 1375.40cm^{-1} et 1378.84cm^{-1} dans les spectres de l'huile de sardine, huile de déchet et huile de sardine sans déchet respectivement attribuées à la vibration d'élongation des groupements $\text{C}-\text{NO}_2$.

Les bandes 1150.83cm^{-1} d'huile de sardine et 1153.68cm^{-1} de l'huile de sardine sans déchet correspond à la vibration de l'élongation des groupements $\text{C}-\text{O}$, elles correspondent un groupement éther.

Les bandes 714.78cm^{-1} , 720.77cm^{-1} et 713.41cm^{-1} dans les spectres de l'huile de sardine, huile de déchet et huile de sardine sans déchet respectivement attribuées à la vibration déformation des groupements $\text{C}_{\text{sp}^2}-\text{H}$.

La bande 659.21cm^{-1} dans le spectre de l'huile de déchet correspondent un $\text{C}_{2\text{SP}}-\text{H}$, elles correspondent un aromatique monosubstitué.

La bande 586.09cm^{-1} , 505.89cm^{-1} et 454.43cm^{-1} dans le spectre d'huile de sardine et les bandes 589.79cm^{-1} , 541.43cm^{-1} , 504.77cm^{-1} et 440.37cm^{-1} dans le spectre d'huile de déchet de sardine correspondent à la vibration d'élongation des groupements $\text{C}-\text{Br}$, $\text{C}-\text{I}$ et $\text{C}-\text{Cl}$.

La lecture des différents spectres infrarouge indique clairement la présence au sein dans nos huiles analysées de composé doué des fonctions telle alcools, phénols, amines, acides, acides gras saturés, insaturés et des métaux.

II.4.8. Spectres obtenu par spectroscopie Infra-Rouge des capsules d'huile de sardine :

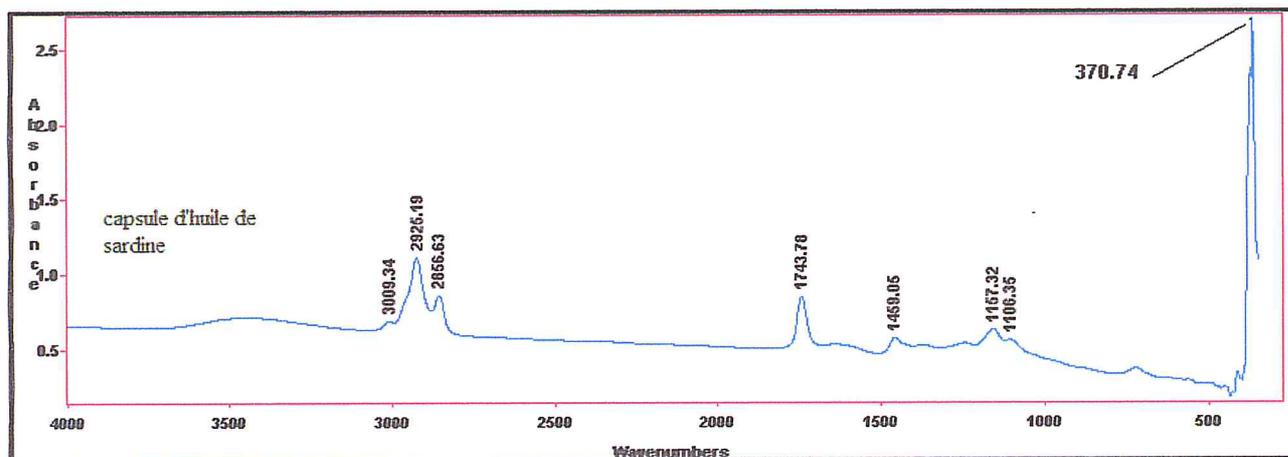


Figure 24 : Spectre TFIR de la capsule de l'huile de sardine

Présentation des résultats : [32] [33]

Les bandes 3009.34cm^{-1} , 2825.19cm^{-1} et 2858.63cm^{-1} dans les spectres des capsules de l'huile de sardine, correspondent à une vibration de déformation des groupements C-H.

La bande 1743.78cm^{-1} dans le spectre des capsules de l'huile de sardine, correspond à une vibration d'élongation des groupements C=O.

La bande 1459.05cm^{-1} dans le spectre des capsules de l'huile de sardine, correspond à une vibration de déformation des groupements $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{H}$.

La bande 1157.32cm^{-1} dans le spectre des capsules de l'huile de sardine, correspond à une vibration d'élongation des groupements C-O.

La bande 1106.35cm^{-1} dans le spectre des capsules de l'huile de sardine, correspond à une vibration d'élongation des groupements N-H.

La bande 370.74cm^{-1} dans le spectre des capsules de l'huile de sardine, correspond à une vibration d'élongation des groupements R-I.

CONCLUSION

CONCLUSION GENERALE

Dans cette étude nous avons démontré qu'il est possible d'extraire l'huile de sardine selon une procédure relativement simple. L'extrait est caractérisé par une forte odeur de sardines ; elle est plus forte pour l'huile extraite à partir des déchets par rapport l'huile extraite à partir des sardines sans déchet. En effet, il semble que des composés fortement odorants se trouvent beaucoup plus dans les déchets.

De plus, l'intensité de cette 'mauvaise odeur' se trouve accentuée lorsque l'huile est conservée à température ambiante (25C°). Cependant, l'odeur d'huile à qui on ajoute au préalable un antioxydant (4000ppm) et ensuite on la conserve dans le réfrigérateur loin de la lumière et de l'humidité reste comme l'huile de premier jour. En conclusion, l'huile de sardine est instable aux conditions ambiantes (présence de l'oxygène, de la lumière, ...etc). A température ambiante (25C°), l'huile obtenue se constitue de trois phases, la première est solide et de couleur blanche, deuxième étant un liquide jaune et visqueux et la troisième phase est un liquide orange.

D'habitude, la quantité des lipides dans la sardine est variable selon la longueur et la masse de la sardine. Dans cette étude, le rendement en huile de la sardine du mois de juin est supérieur par rapport à celui du mois d'avril. En outre, il est bien connu que la teneur en lipides dans la sardine varie selon la partie considérée de son corps (déchet, corps). En effet, les résultats obtenus montrent que le déchet fournit plus d'huile par rapport au corps de la sardine.

La caractérisation de l'huile par la mesure des différents indices montre bien sa dégradabilité chimique qui peut être complexe dans les conditions ambiantes sans mesures spéciales de conservation (froid, antioxydants, ...etc.). Durant la période de testes (02 semaines), l'augmentation de l'indice d'acide conjuguée à une diminution de l'indice de saponification indique qu'il y a un phénomène d'hydrolyse du corps gras (l'huile) à la température ambiante avec libération d'acides. Ceux-ci sont de plus en plus oxydés par l'oxygène de l'air comme le montre aussi la mesure de l'indice de peroxyde. Cette interprétation aurait pu être soutenue si des mesures supplémentaires (indice d'iode, CPG) ont été accomplies. Malheureusement, les moyens disponibles ne permettaient pas cela.

Dans une seconde étape de cette étude, nous avons pu montrer que la formulation d'une émulsion stable constituée par l'huile de sardine-alginate- Tween 80 était possible.

Rappelons ici que l'alginate est un biopolymère et que le Tween 80 est un tensioactif non ionique de type polysorbate. Cette réussite était possible après l'accomplissement de plusieurs tests et l'utilisation d'un diagramme pseudoternaire de phases. Nous avons choisi le point de mélange qui correspond à la proportion d'alginate la plus grande afin d'obtenir des conditions de gélification meilleures. Les émulsions obtenues dans ces conditions ont montré après encapsulation une bonne stabilité après trois mois de stockage. Cependant, il serait certainement intéressant d'étudier ce système ternaire d'une manière plus approfondie en s'aidant de techniques analytiques appropriées. Les variations de la température, des compositions et du temps seraient les facteurs essentiels.

REFERENCES

REFERENCE

- [1] Lepierre Charles. Huiles de Sardine. Professeur à l'institut Supérieur Technique (Lisbonne).
- [2] Ian H. Pike et Andrew Jackson, Fish oil: production and use now and in the future. Interscience discover something great, (2010).
- [3] LINDER Michel, FANNI Jacques et PARMENTIER Michel. Extraction, fractionnement et concentration des huiles marines. Article. Laboratoire de Physico-chimie et Génie Alimentaires, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et Industries Alimentaires (ENSAIA). 54505 Vandœuvre-lès-Nancy, France. (2004).
- [4] EYMARD Sylvie. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat. Ecole polytechnique de l'Université de Nantes. (2003).
- [5] REVUE DES METHODES DE FABRICATION DES CONCENTRES PROTETQUES ET HUILES DE POISSON. Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches marit., no 261, septembre 1976.
- [6] NJINKOUE Michel. Etude des lipides extraits de trois (3) espèces de poissons des côtes sénégalaises: *Sardinella maderensis* ; *Sardinella aurita* et *Cephalopholis taeniops*. (Etude de trois (3) acides gras originaux). Thèse de Doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. (1995).
- [7] GROSDÉMANGE Anne-Gaëlle. De l'huile de foie de morue aux huiles de poisson concentrées, riches en acides gras polyinsaturés, Vue d'ensemble des techniques de production d'huile de poisson. 17 N° 4 JUILLET-AOÛT 2010.
- [8] Ndéye Anta KANDJI. Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées au Sénégal. Thèse de doctorat. université cheikh anta diop de dakar. (2001).
- [9] BELFADEL Fatima Zohra. Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Mémoire de magister en chimie organique. Université Mentouri Constantine, (2009).
- [10] Cuvelier C., Cabaraux J.-F., Dufrasne I., Hornick J.-L. et Istasse L. Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. Formation continue – article de synthèse. Nutrition, Département des Productions Animales, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège. Belgique. (2004).
- [11] Awada Manar. L'oxydation modifie les effets métaboliques d'acides gras polyinsaturés de la série n-3 incorporés par différents vecteurs dans des régimes hyperlipidiques : contribution de l'absorption intestinale et de la réactivité cellulaire du 4-hydroxy-hexéanal, Thèse de doctorat, Ecole doctorale interdisciplinaire sciences-santé. (2012).

[12] Bouhadjra Kahina. Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Mémoire de magister. Université Mouloud Maamri, tizi-ouzou. (2011).

[13] Jean-Pierre Canler. Performances des systèmes de traitement biologique aérobie des graisses. Graisses issues des dégraisseurs de stations d'épuration traitant des effluents à dominante domestique. FNDAE n° 24. Document technique, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.

[14] HINAR Gustave. Traitement des déchets de poisson et utilisation des sous-produits. Recherches techniques.

[15] COSSUT Juliette, DEFRENNE Benoît, DESMEDT Carole, FERROUL Dorothée et GARNET Sébastien. Les Corps Gras : Entre Tradition et Modernité. Projet réalisé dans le cadre du DESS QUALIMAPA (Gestion de la Qualité Nutritionnelle et Marketing des Produits Alimentaires). Institut Agro-Alimentaire de Lille. (2001/2002).

[16] ABOUBAKAR DANDJOUMA Almeck K., TCHIEGANG Clergé et PARMENTIER Michel. Evolution de quelques paramètres de qualité physico-chimique de l'huile de la pulpe des fruits de *Canarium schweinfurthii* Engl. au cours du stockage. International journal of biological and chemical Sciences. (2008).

[17] ROLLAND Yohan. Antioxydants naturels végétaux. Burgundy Botanical Extracts (France).(2004).

[18] BAUDU Michel. Co-valorisation d'effluents graisseux et de résidus lignocellulosiques : deshydratation mécanique et compostage. Thèse de doctorat. UNIVERSITE DE LIMOGES ECOLE DOCTORALE Science – Technique – Santé. (2007).

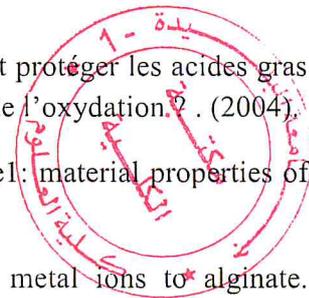
[19] Indrasena W.M. et Barrow C.J. Oxydation et stabilité de l'huile de poisson alimentaire : rôle des antioxydants. (2011).

[20] Mathieu Zongo.W . Etude de l'oxydation des huiles de poisson microencapsulées par DSC sous pression. Haute école Spécialisées de Suisse occidentale. University of Applied science Western Switzerland. (2009).

[21] GENOT Claude, EYMARD Sylvie et VIAU Michèle. Comment protéger les acides gras polyinsaturés à longues chaînes oméga 3 (AGPI -- LC ω 3) vis-à-vis de l'oxydation. (2004).

[22] Bernd H.A Rehm. Alginate: Biology and applications. Chapitre1: material properties of alginates. Massy university. New Zealand. (2009).

[23] Seely, G. R. et R. L. Hart. The binding of alkaline earth metal ions to alginate. Macromolecules. (1974).



- [24] Hammad Umer, Hemlata Nigam, Asif M Tamboli et M. Sundara Moort Nainar. Microencapsulation: Process, Techniques and Application Reviews. International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences. ISSN: 2229-3701NMIMS. University Mumbai,India. (2011).
- [25] Sokrani nadir. Préparation et étude du comportement de membranes biopolymères alginate de sodium /chitosane. Mémoire de magister. Université Mehamed Bougara .Boumardes. (2012).
- [26] Smidsrod, O. Smidsrod, R.M. Glover, S.G. Whittington, The relative extension of alginates having different chemical composition. Carbohydr. (1973).
- [27] VINCENT Emilie, les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie application à la construction d'un biomatériau. (2010).
- [28] Draget, K., Skjakbrak, G., and Smidsrod, O. Alginic acid gels: the effect of alginate chemical composition and molecular weight. Carbohydrate Polymers. (1994).
- [29] CHAIB Faiza et KHENFER Afaf. Synthèse de biodiesel par la transestérification des huiles commercialisées. Mémoire master académique. UNIVERSITE KASDI MARBAH OUARGLA. (2012/2013).
- [30] C. Baaziz, N. Baghouil, N. Guffens, J. Geerts, V. Sternotte, M. Stassin, A. Theys. Les matières grasses: Anges ou démons? . Université Catholique de Louvain. (2004/2005).
- [31] GIARDI Chloé. Synthèse de surfactifs à base de polyoxazoline Propriétés physicochimiques et formulation. Thèse de doctorat. Ecole nationale supérieure de chimie de Montpellier. (2011)
- [32] RABASSO Nicolas. Généralités, étude des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques. 2^e édition.
- [33] BIEMONT Emile. Spectroscopie moléculaire. Structures moléculaires et analyse spectrale. 1^{er} édition. 2008.

