

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
**Université A. MIRA - Bejaïa**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Alimentaires**  
**Spécialité Science des corps gras**

**Réf :.....**

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

**MASTER**

***Thème***

**Etude de la stabilité oxydative de l'huile de table  
additionnée d'extraits phénoliques d'écorces de grenade  
et grains de raisins.**

Présenté par :

**HEBBACHE Amina et KHIREDDINE Kaouther**

Soutenu le : **01 Juillet 2019**

Devant le jury composé de :

Mme SOUFI O.	MCA	Président
Mme AIDLI A.	MAA	Encadreur
Mme BERKATI S.	MAA	Examineur

**Année universitaire : 2018 / 2019**

# Remerciement

On remercie tout d'abord le bon dieu, le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage, la volonté et la patience de réaliser ce modeste travail.

□ □ □ □ □ □ □ □ □ □

C'est au sein du laboratoire de microbiologie alimentaire que l'ensemble des travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés. Nous tenons à exprimer notre gratitude, notre profond respect et nos remerciements les plus sincères en premier lieu à notre promotrice **Mme AIDLIA** enseignante à l'université de Bejaia qui nous a accordé sa confiance, son soutien et qui nous a voué toute sa gentillesse et nous a permis grâce à sa permanente présence à nos côtés de réaliser ce travail de recherche.

□ □ □ □ □ □ □ □ □ □

Nos remerciements s'adressent également à :

Mme **SOUFI. O** de présider le jury ;

Mme **BERKATIS** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

□ □ □ □ □ □ □ □ □ □

Nos remerciements vont également à tous nos enseignants qui nous ont transmis leurs savoirs durant notre cursus universitaire.

□ □ □ □ □ □ □ □ □ □

Nous adressons enfin, et surtout, notre plus profonde gratitude à nos parents, nos sœurs et nos frères, qui ont su nous faire confiance et nous soutenir en toutes circonstances, ainsi qu'à tous nos proches amis qui ont toujours été avec nous avec leur soutien et encouragement même dans les périodes les plus difficiles.

□ □ □ □ □ □ □ □ □ □

Nos sentiments de reconnaissance vont également à toute personne ayant participé de près ou de loin à élaborer ce travail.



# Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

***À ma chère mère,***

« Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.

Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

En témoignage, je t'offre ce modeste travail pour te remercier pour tes sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée. »

***À la mémoire de mon père,***

« Ce travail est dédié à mon père, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études.

Que Dieu garde leurs âmes dans son vaste paradis. »

***À mes frères***

***À mes sœurs***

***À ma binôme***

***À mes amies***

A tous ceux qui ont une relation de proche ou de loin avec la réalisation de ce travail.





# Dédicace

Du plus profond de mon cœur, je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéniables et sans limites de ;

## *Mes chers parents,*

Qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Que dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

## *Mes frères et sœurs*

SOHEIB, ISRAA (khoutchi) et ANFEL ainsi que son mari RIAD et mon petit prince NEDAL.

## *Mes sœurs de cœur*

Tema, kahina, baya, hania, amanda, kenza, lamia et kahina R.

## *Mon binôme*

Je tiens à la remercier pour ce travail qu'on a partagé.



# Sommaire

## Liste des abréviations

## Table des figures

## Liste des tableaux

## Table des matières

Introduction ..... 1

## Synthèse bibliographique

### Sous-produits

I. Généralités sur le raisin ..... 3

I.1. Pépin de Raisin ..... 3

I.2. Valeurs nutritionnelle du pépin de raisin ..... 4

I.3. Composition chimique du pépin de raisin ..... 4

II. Généralités sur la grenade..... 4

II.1. Valeur nutritionnelle de la partie comestible de la grenade ..... 6

II.2. Ecorce de grenade..... 6

II.3. Composition chimique de l'écorce de grenade ..... 6

### Huile de soja

I. soja ..... 7

I.1 Description botanique de la plante ..... 7

II. Huile de soja ..... 7

II.1. Composition de l'huile de soja ..... 8

II.2. Production mondiale ..... 8

III. Raffinage de l'huile de soja

III.1. Définition du raffinage ..... 9

III.2. Procédé du raffinage ..... 10

III.3. Etapes du raffinage chimique ..... 10

### Oxydation et antioxydants

#### I. Oxydation

I.1. Oxydation des lipides ..... 12

I.2. Mécanismes d'oxydation ..... 12

I.2.1. Types d'oxydations ..... 12

I.2.2 Facteurs influençant l'oxydation..... 13

#### II. Antioxydants

II.1. Définition..... 14

# Sommaire

II.2. Classes d'antioxydants .....	14
II.2.1 Mécanisme d'action des antioxydants .....	15
II.2.2 Origine des antioxydants .....	15
<b>Expérimentation</b>	
<b>Partie 01 : Matériels et méthodes</b>	
I. Matériel végétal .....	17
I.1. classification taxonomique .....	17
I.2. préparations du matériel végétal .....	17
I.3. Choix des huiles .....	18
II. Caractérisation d'écorces de grenade et grains de raisins .....	18
II.1. extraction des polyphénols .....	18
II.2. Dosage des composés phénoliques totaux .....	19
III. activité antioxydant d'écorces de grenade et grains de raisins.....	19
III.1. activité antiradicalaire sur le DPPH <sup>•</sup> .....	19
III.2.activité réductrice du molybdate .....	20
IV. enrichissement de l'huile de soja .....	20
IV.1. procédure d'enrichissement .....	20
IV.2.étude de l'activité antioxydante de l'huile enrichie .....	21
IV.3 Teste de stabilité oxydative « Rancimat ».....	21
IV.4 Mesure de la couleur .....	22
V. Test d'oxydation accélérée à l'étuve ou test de Shaal.....	22
V.1 Acidité .....	22
V.2 Indice de peroxyde .....	23
V.3 Extinction spécifique dans l'UV .....	24
VII. Etude statistique.....	25
<b>Partie 02 : Résultats et discussions</b>	
I. Caractérisation des sous-produits .....	26
I.1. Dosage des composés phénoliques totaux .....	26
I.2. Activité antioxydant des sous-produits .....	27
I.2.1. Activité antiradicalaire sur le DPPH.....	27
I.2.2. Activité réductrice du molybdate.....	28
II. Caractérisation de l'huile de soja.....	29
II.1. Détermination des indices de qualités de l'huile de soja.....	29

# *Sommaire*

III.Enrichissement de l'huile de soja.....	29
III.1. Activité antiradicalaire de l'huile enrichie sur le radical DPPH.....	29
III.2. Test de stabilité oxydative « Rancimat ».....	31
III.3.La couleur des huiles enrichies .....	31
III.4.Test de stabilité oxydative (test shaal) .....	32
Conclusion.....	42

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**

## **Résumer**

## Liste des figures

Numéro	Titre	page
<b>Figure 1</b>	Anatomie d'une grappe et d'une baie de raisin.	3
<b>Figure 2</b>	Représentation du pépin de raisin et de ses structures cellulaires.	3
<b>Figure 3</b>	Le grenadier, <i>punica granatum</i> L.	5
<b>Figure 4</b>	Description des différentes parties de la plante.	7
<b>Figure 5</b>	Principaux pays producteurs de soja dans le monde en 2010.	9
<b>Figure 6</b>	Préparation des poudres de pelures	17
<b>Figure 7</b>	Etape d'extraction des composés phénoliques	18
<b>Figure 8</b>	Teneur en polyphenols totaux des échantillons étudiés.	26
<b>Figure 9</b>	Activité antiradicalaire de l'huile témoin et les huiles enrichies avec les différents extraits phénoliques sur le DPPH comparés au standard.	30
<b>Figure 10</b>	Evolution de l'acidité de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques de grains de raisins au cours de l'oxydation accélérée à 65°C.	32
<b>Figure 11</b>	Evolution de l'acidité de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques d'écorces de grenade au cours de l'oxydation accélérée à 65°C.	32
<b>Figure 12</b>	Pourcentage de réduction de l'acidité des huiles enrichies et du standard.	33
<b>Figure 13</b>	Evolution de l'indice peroxyde de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques de grains de raisins au cours de l'oxydation accélérée à 65°C.	34
<b>Figure 14</b>	Evolution de l'indice peroxyde de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques d'écorces de grenade au cours de l'oxydation accélérée à 65°C.	35
<b>Figure 15</b>	Pourcentage de réduction de l'IP des huiles enrichies et du standard.	36

## *Liste des figures*

<b>Figure 16</b>	Evolution de l'extinction spécifique $K_{232}$ de l'huile de soja enrichie en extraits EG et GR au cours de l'oxydation accélérée à 65°C comparée au témoin et au standard.	37
<b>Figure 17</b>	Pourcentage de réduction de l'extinction spécifique dans l'UV $K_{232}$ des huiles enrichies et du standard au cours du stockage à 65°C.	38
<b>Figure 18</b>	Evolution de l'extinction spécifique $K_{270}$ de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques EG et de GR au cours de l'oxydation accélérée à 65°C.	39
<b>Figure 19</b>	Pourcentage de réduction de l'extinction spécifique dans l'UV $K_{270}$ des huiles enrichies et du standard au cours du stockage à 65°C.	40

## *Liste des tableaux*

<b>Chiffre</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>I</b>	Composition biochimiques des pépins en pourcentage de poids frais.	4
<b>II</b>	Composition nutritionnelle de la partie comestible.	6
<b>III</b>	Teneurs en acides gras de l'huile de soja en %.	8
<b>IV</b>	Les facteurs favorisant l'oxydation.	14
<b>V</b>	La classification taxinomique de <i>Punica granatum</i> et <i>vitis vinifera</i> .	17
<b>VI</b>	IC <sub>50</sub> de l'activité antiradicalaire sur le DPPH des différents extraits.	27
<b>VII</b>	EC <sub>50</sub> de l'activité réductrice du molybdate des différents extraits.	28
<b>VIII</b>	Caractéristiques physico-chimiques de l'huile de soja raffinée.	29
<b>IX</b>	résultat de la couleur de l'huile de soja enrichie, standard et témoin.	31
<b>X</b>	Résultats du test au Rancimat des échantillons étudiés.	41

## *Liste des abréviations*

Abs : Absorbance.

AGI : acide gras insaturé.

AO• : un radical libre.

AOH : molécule d'acide gras insaturé.

BHA : Hydroxy anisole butyle.

BHT : Hydroxy toluène butyle.

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl.

EC50 : Concentration efficace pour avoir une absorbance 0,5.

EG : Ecorces de grenade.

GR : grains de raisins.

H : huile

H° : molécule d'hydrogène.

IC50 : Concentration efficace pour inhiber 50% du radical DPPH

ISO : Organisation Internationale de Normalisation.

LOO• : radical libre.

LOOH : hydroperoxyde.

Méq O<sub>2</sub> /Kg : milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme.

MS : Matière sèche.

OPC : oligomères proanthocyanidiques de catéchine.

PG : le gallate de propyle.

ppm : Particule Par Million.

PPT : Polyphénols totaux.

PS : Poudre sèche.

R° : un radical libre alkyles.

RH : molécule d'acide gras insaturés.

ROO° : le radical libre peroxyde.

ROOH : hydroperoxydes.

ROOR : peroxyde.

TBHQ : Butylhydroquinone tertiaire.

UV : Ultra-Violet.

% RA : pourcentage de réduction de l'acidité.

% RIP : pourcentage de réduction de l'indice de peroxyde.

% RUV232 : pourcentage de réduction de l'extinction spécifique dans l'UV K232.

% RUV270 : pourcentage de réduction de l'extinction spécifique dans l'UV K270.

# *Introduction*



## *Introduction*

L'oxydation des lipides est, de même, considérée comme l'une des réactions majeures correspondant à la dégradation de la qualité de l'huile durant la cuisson et la friture. Il s'agit d'un problème qui touche, principalement, les produits industriels. En effet, l'oxydation des lipides entraîne une diminution de la qualité organoleptique du produit non seulement par la formation d'odeur et goût rances mais également par la diminution de la qualité nutritionnelle. Cette dernière se manifeste à travers la formation de radicaux libres, d'hydrocarbures, d'aldéhydes, de cétones, d'acides, d'esters, de peroxydes. Ces éléments constituent, pour la plupart, des composés toxiques, voire, cancérigènes, favorisant le développement de certaines maladies telle que l'artériosclérose (**Wu et Nawar, 1986 ; Kubow, 1990**).

Parmi les diverses solutions technologiques possibles, l'addition d'agents antioxydants aux huiles et aux aliments riches en lipides est pratiquée depuis fort longtemps (**Gertz, 2000**). Toutefois, les antioxydants synthétiques comme le butylhydroxytoluène (BHT) et terbutylhydroxyanisole (BHA) ont des effets négatifs sur la santé humaine (**Farag et al., 2003**) et sont facilement volatiles à haute température. L'ampleur de ce problème a fait que des antioxydants naturels deviennent de plus en plus recommandés pour remplacer les antioxydants synthétiques. Dans cette démarche, la stabilisation des huiles végétales, dont l'oxydation mène à la réduction de la qualité des huiles et des aliments frits, a fait l'objet de nombreuses recherches ayant opté pour l'utilisation des antioxydants naturels à pouvoir antioxydant remarquable (**Gertz, 2000 ; Warner, 2002**).

Les composés phénoliques sont les antioxydants naturels les plus importants qui se trouvent dans les différentes parties des plantes (fruit, feuilles, pelures, graines...). Ils possèdent une structure chimique ayant une capacité à piéger les radicaux libres, réagir comme donneurs d'électrons ou de protons et chélater des ions métalliques (**Rice-Evans et al., 1996**).

L'industrie de transformation des fruits et légumes génère de grandes quantités de déchets comme les pelures et les graines qui sont jetés dans l'environnement engendrant des conséquences négatives. Pour remédier à ce problème, ces déchets peuvent être considérés comme des sous-produits et exploités pour la production des additifs alimentaires et antioxydants naturels de haute valeur nutritionnelle présentant un avantage économique (**Babbar et al. 2012**). Les antioxydants issus des sous-produits agroalimentaires ont un rôle dans l'amélioration de la stabilité oxydative d'un aliment par la prévention de la peroxydation des lipides (**Gordon, 1990**).

## *Introduction*

La valorisation des fruits et légumes sous forme de produits séchés, concentrés, congelés, etc. conduit à l'apparition d'une gamme variée de sous-produits et déchets composés notamment de pulpe de fruits, de peaux et de pépins (**Grigoras, 2012**).

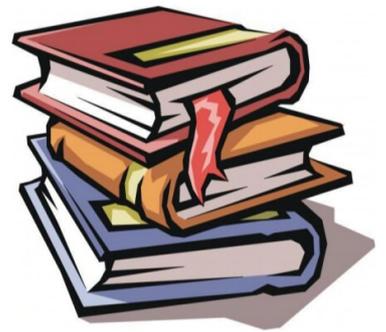
Les pelures et les grains des fruits et légumes sont connus par leur richesse en antioxydants, notamment, les composés phénolique (**Garcia-Jares *et al.* 2015**).

Le but de ce travail est d'extraire des substances bioactives à partir de pépins de raisin, et pelure de grenade, pour les incorporer dans l'huile de table (huile de soja) afin étudier sa stabilité oxydative ainsi que son activité antioxydante. Quelle est donc le meilleur sous produit qui peut stabiliser l'oxydation de l'huile de soja ?

Ce travail est axé sur deux parties principales :

- Synthèse bibliographique : portée sur les sous produits, huile de soja et oxydation et antioxydants
- Expérimentation :
  - ❖ La première étape est consacrée pour la partie matériel et méthodes où seront développés les protocoles expérimentaux.
  - ❖ La deuxième étape est consacrée pour la partie résultats et discussion.

# *Synthèse bibliographique*



*Sous-produits*

## I. Généralités sur le raisin

Le raisin est le fruit de la vigne cultivé (*Vitis vinifera*). C'est le deuxième fruit le plus cultivé au monde. Il se présente sous la forme de grappe composée de nombreux grains, qui sont sur le plan botanique des baies, de petite taille et de couleur claire : le raisin blanc (verdâtre, jaunâtre, jaune doré) ou plus foncée ; le raisin rouge (rose ou noir-violet). *Vitis vinifera* originaire d'Europe là où découlent tous les grands cépages pour le vin et le raisin de table. (Chira *et al.*, 2008).

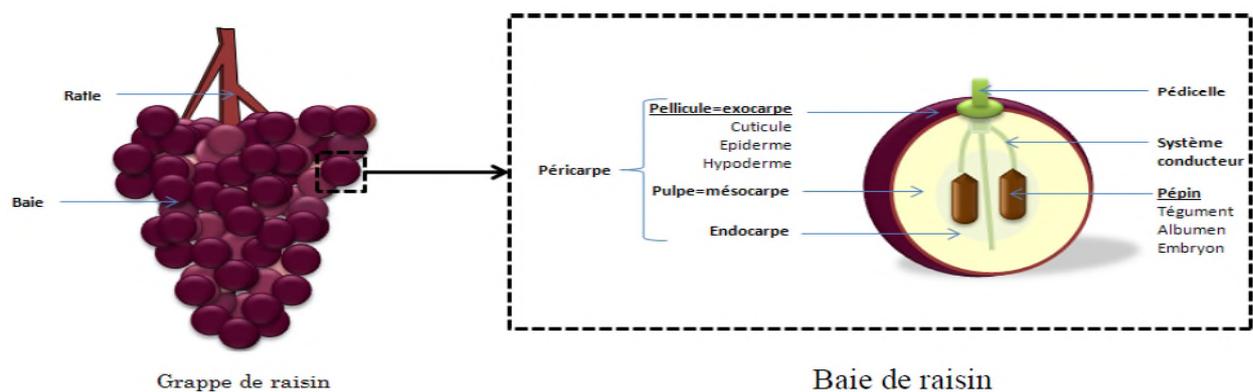


Figure 1: Anatomie d'une grappe et d'une baie de raisin (Doumouya, 2014).

### I.1 Pétiole de raisin

Le pétiole de raisin fait partie des graines albuminées. Chaque pétiole est composé d'un embryon entouré d'un albumen. L'ensemble des trois parties du tégument (interne, intermédiaire et externe) constitue la coque ligneuse du pétiole, entourant l'albumen. Enfin, une fine cuticule constitue la dernière assise cellulaire du pétiole. La couleur des pétioles évolue du vert au marron au cours de leur développement (Cadot *et al.* 2006).

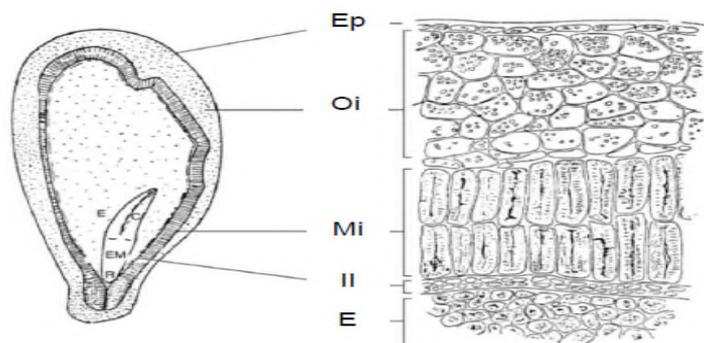


Figure 2 : Représentation du pétiole de raisin et de ses structures cellulaires (Levadoux, 1951)  
 C : cotylédons ; E : endosperme (albumen) ; EM : embryon ; Ep : épiderme ; II : tégument inférieur ; MI : tégument intermédiaire ; OI : tégument supérieur ; R : radicule.

## I.2 Valeur nutritionnelle du pépin de raisin

Le pépin de raisin contient une quantité élevée d'huile comestible de très grande qualité, connue pour ses vertus alimentaires et ses propriétés diététiques. Autre son utilisation endiététique, elle est aussi employée pour la fabrication de produits cosmétiques : sa richesse en acides gras essentiels alliée à une grande fluidité, en fait une excellente huile de massage. Les pépins de raisins étant très riches en oligomères proanthocyanidiques de catéchine et d'épicatéchine (OPC), nous en retrouvons une grande quantité dans l'huile. Elle a également des propriétés antioxydantes qui vont lui permettre de lutter contre les radicaux libres et donc contre le vieillissement prématuré des cellules : elle aide à combattre les rides et le relâchement cutané et à renforcer la fibre capillaire (Demelin, 2012).

## I.3 Composition chimique du pépin de raisin

Le pépin représente jusqu'à 6% du poids total de la baie. En principe, en nombre de quatre dans la plupart des cépages, leur nombre peut varier à la suite de mauvaises fécondations des fleurs (Amrani et Glories, 1995 ; Cadot *et al.*, 2006).

La composition biochimique globale des pépins matures est donnée dans le tableau I.

**Tableau I:** Composition biochimique des pépins (Cabanis *et al.* 1998).

Constituants	Teneurs exprimées en % poids frais
Eau	25-45%
Composé glucidique	34 - 36%
Lipides	13 -20%
Matières azotées	4 - 6.5%
Tanins	4 - 10%
Matières minérales	2- 4 %

## II. Généralité sur la grenade

Le grenadier ou le *Punicagranatum* fait partie des espèces médicinales. C'est une espèce qui appartient à la famille de **Punicaceae**. C'est un arbre ou arbuste buissonnant de 2 à 5 m de hauteur, légèrement épineux, au feuillage caduc et au tronc tortueux (Lairini *et al.*, 2014). Ses fruits contiennent de nombreuses graines, chacun enrobé dans une pulpe gélatineuse rouge cramoisi, le tout enveloppé dans une peau (écorce) coriace dont la couleur peut aller du jaune au rouge foncé (Hmid, 2013).



**Figure 3** : Le grenadier, *Punicagranatum* L. (Anonyme1, 1885)

La patrie phylogénétique du Grenadier (*Punica granatum* Linné) se trouve selon certains botanistes, dans toute la vaste région englobant l'Iran, l'Afghanistan et la Transcaucasie orientale. On observe dans ces pays une multitude de formes spontanées et de variétés cultivées (Evreinoff, 1957).

Le grenadier est cultivé dans la plupart des régions à climat chaud, car il a besoin de fortes chaleurs pendant toute la période de fructification (Melgarejo, 1993).

## II.1 Valeur nutritionnelle de la partie comestible de la grenade

**Tableau II** : Composition nutritionnelle de la partie comestible (L'officiel Phytothérapie Nature et Santé, 2011)

Grenade (valeur nutritive pour 100g)			
Eau : 79 à 80%	Matière azotée : 1.2%	Mat hydrocarbonée : 16%	Fibres : 3 à 3.5 g
Protéines : 1 g	Lipides : 0.5g	Glucides : 13g	
Sels minéraux & oligo-éléments			
Potassium : 250 mg	Phosphore : 22 mg	Calcium : 11 mg	Magnésium : 5mg
Sodium : 5 mg	Fer : 1 mg	Zinc : 200 µg	Cuivre : 100 µg
Manganèse : 100 µg			
Vitamines			
Vitamines C : 20mg	Vitamines B1 : 30 µg	Vitamines B2 : 20 µg	B3/PP/Niacine : 20µg
Vitamines B5 : 50µg	Vitamines B6 : 10 µg	Vitamines A : 30 µg	

## II.2 Ecorce de grenade

L'écorce du fruit du grenadier est également appelée « **malicorium** ». Il s'agit de la partie dure du fruit. Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtres sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient appliquées (Wald, 2009).

Ces fragments sont de consistance coriace. Ils sont formés d'un parenchyme de cellules à parois minces, au milieu desquelles on distingue des groupes de cellules pierreuses et des faisceaux fibro-vasculaires. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente. (Planchon *et al.*, 1875).

## II.3 Composition chimique de l'écorce de grenade

Diverses propriétés biologiques démontrées par la peau de grenade ont été associées à la présence de flavonoïdes et de tanins. Parmi les graines, la pelure et le jus, la pelure est le constituant qui possède une activité antioxydante la plus élevée *in vitro*, en bonne corrélation avec la teneur élevée en polyphénols (Guo *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2006). Cette partie du fruit contient les punicalagins, les ellagitannins typiques de la grenade. La punicalagine fait partie d'une famille d'ellagitannins qui comprend les tanins mineurs appelés punicaline et acide gallagique. Tous ces ellagitannins ont la capacité d'être hydrolysés en acide ellagique, ce qui entraîne une libération prolongée de cet acide dans le sang. La punicalagine est un polyphénol volumineux, dont le poids moléculaire est supérieur à 1000 (Faria *et al.*, 2011).

*Huile de soja*

## I. Soja

Le soja constitue la principale graine oléagineuse produite dans le monde, en raison de ses caractéristiques agronomiques, ses protéines de haute qualité ainsi que pour la valeur de son huile comestible (Gunstone et Wang, 2002).

### I.1 Description botanique de la plante

Le soja ou soya (*Glycine max L*), est une plante protéo-oléagineuse grimpante de la famille des fabacées proche du haricot, ses graines constituent les aliments naturels les plus riches, à usage alimentaire et non alimentaire (Bertrand *et al.*, 1984).

Les tiges dressées ayant une longueur de 0,3m à 1m, sont couvertes de poils roux et étalées. Les feuilles trifoliées entières et opposées sont des gousses velues, longues de 3 à 8 cm de forme droite ou arquées, et contiennent en générale 2 à 4 graines. Les fleurs, blanches ou pourpres, de petites tailles, apparaissent à l'aisselle des feuilles, groupées en grappes de 3 à 5 (Allain *et al.*, 1999).



Feuilles trifoliées



Fleurs violacées



Graine



Plante du soja

**Figure 4 :** Description des différentes parties de la plante (Anonyme, 2013).

## II. Huile de soja

L'huile de soja est fluide et d'un jaune plus ou moins foncé suivant la nature des graines et les procédés d'extraction. Fraîche, elle a une saveur assez prononcée d'haricot qui s'atténue peu à

peu. Elle est riche en acides gras polyinsaturés et notamment en acide gras essentiel linoléique. Elle est recommandée pour les assaisonnements (Cossut *et al.* 2002).

## II.1 Composition de l'huile de soja

L'huile de soja est une huile très digeste de grande qualité qui possède les vitamines A, E, K et les phytostérols (Labat, 2013). Elle est pauvre en acides gras mono-insaturés et saturés, elle fait partie des huiles les plus riches en acides gras polyinsaturés totalisant 54 à 72 % des lipides totaux (Lecerf, 2011). Parmi ces acides gras polyinsaturés, l'acide linoléique (oméga 6) et alpha-linolénique (oméga 3) qui font parti des principaux acides gras essentiels pour l'organisme (Ward et Singh, 2005). La composition moyenne de l'huile de soja en acides gras est illustrée dans le Tableau III.

**Tableau III:** Teneurs en acides gras de l'huile de soja (en %) (Lecerf, 2011).

Acide gras saturés	Acide gras monoinsaturés	Acide gras polyinsaturés
Acide stéarique (3-6%).	Acide oléique (17-26%).	Acide linoléique 50-62%
Acide palmitique (8-13%).		Acide alpha-linolénique (4-10%)

## II.2 Production mondiale

Les surfaces de soja dans le monde ont considérablement augmenté et placé cette culture au premier rang des oléagineux, avec plus de la moitié de la production planétaire de graines. Son développement a été tiré par la demande en tourteaux émanant des élevages, d'abord européens et nord-américains et, par la suite, par des pays du bloc asiatique ; Chine en tête. Par conséquent, si sa culture reste concentrée entre les mains de trois grands pays du continent américain : États-Unis, Brésil et Argentine, la consommation des graines, des tourteaux et de l'huile de soja est davantage répartie à travers le monde, avec pour conséquence d'intenses échanges internationaux (30 à 35 % des produits du soja sont échangés (Labalette *et al.* 2010). La figure 5 représente la production du soja dans les principaux pays producteurs dans le monde.

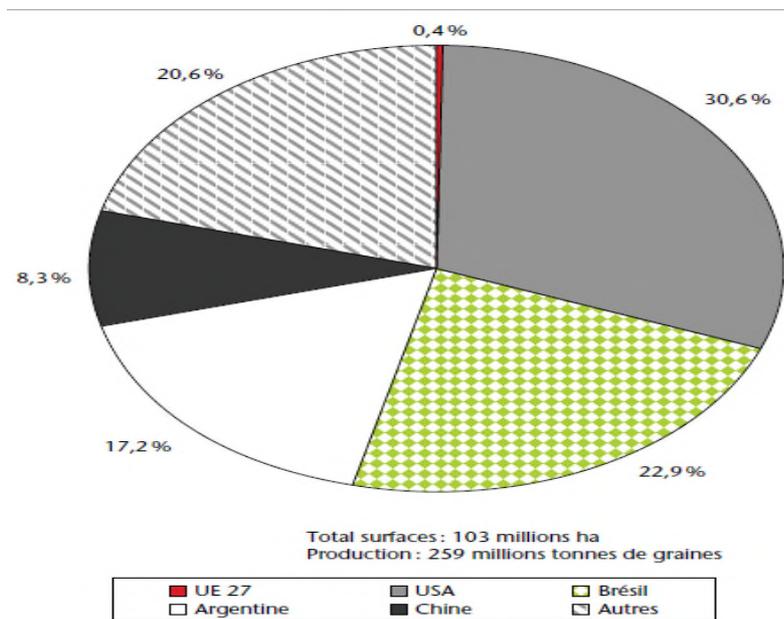


Figure 5 : Principaux pays producteurs de soja dans le monde en 2010 (Labalette *et al.* 2010).

### III. Raffinage de l'huile de soja

#### III.1 Définition du raffinage

Le raffinage est une opération destinée à débarrasser les huiles alimentaires des impuretés présentes (pigments, pesticides...), afin de leur conférer un goût discret et à permettre leur bonne conservation. (Cossut *et al.*, 2002).

Le raffinage a pour objectif :

- ❖ d'éliminer les produits d'oxydation et de décomposition ;
- ❖ de modifier la structure des triglycérides nécessaires ;
- ❖ de réduire le niveau de la couleur ;
- ❖ de préserver le contenu en vitamines ;
- ❖ de minimiser les pertes en triglycéride ;
- ❖ de protéger les triglycérides de la dégradation au cours du processus (François, 1974).

### III.2 Procédés du raffinage

#### ➤ Raffinage chimique et physique

Il existe deux types de raffinage : chimique et « physique », qu'il conviendrait mieux d'appeler « distillation neutralisante ». Le raffinage chimique élimine les acides gras libres par une étape de neutralisation à la soude ; la distillation neutralisante élimine ces composés indésirables (désacidification) par distillation sous vide poussé avec injection de vapeur (Pages, 2010).

#### ➤ Dégommage enzymatique

La méthode la plus récente pour dégommer les huiles végétales est le dégomme enzymatique. D'autre part, il existe le procédé EnzyMax de Lurgi, qui a été développé spécialement pour l'élimination spécifique des phosphatides non hydratables. Il utilise l'hydrolyse enzymatique catalysée d'un phosphatide en lyso-phosphatide (Buchold *et al.*, 1993).

### III.3 Etapes du raffinage chimique

#### ➤ Dégommage

Cette opération, qui consiste en l'ajout d'acide et/ou d'eau aux huiles brutes, permet d'éliminer les 0,2 à 1,8 % de phospholipides qu'elles contiennent. Seul environ 3 % d'eau sont ajoutés à l'huile brute de soja. Après malaxage, centrifugation et séchage des gommages formés, la lécithine est récupérée afin d'être valorisée (Régis *et al.* 2016).

#### ➤ Neutralisation

Les acides gras libres, dont les teneurs dans les huiles varient entre 0,3 et 5 %, sont extraits au cours de la neutralisation. Cette étape du procédé consiste en l'ajout d'une solution de soude, dont la concentration dépend de l'acidité de l'huile, aux mélanges issus du dégomme. Après mélange et centrifugation, les pâtes de neutralisation formées sont lavées à l'eau à plusieurs reprises avant d'être séchées sous vide (Régis *et al.* 2016).

#### ➤ Lavage et séchage

Un à deux lavage(s) à l'eau chaude permet d'éliminer la quasi-totalité des traces de savons résiduels. Puis l'huile est séchée par pulvérisation sous vide à environ 90°C (Cossut *et al.*, 2002).

➤ **Décoloration**

Dans un décolorateur contenant de l'huile à 90–110 °C sont introduits de 0,2 à 2 % d'agents d'adsorption tels que les terres décolorantes. Après une mise en contact de 30 min sous agitation et sous vide poussé, l'huile est refroidie puis filtrée afin d'en extraire les pigments encore présents (**Régis *etal.*2016**).

➤ **Décirage**

Cette opération de purification complémentaire a pour but d'éliminer les cires naturelles, solubles à 40°C, mais très peu solubles à température ambiante. La présence de ces cires se traduit par des défauts d'aspect divers (trouble, dépôt, flocons) qui nuisent à la présentation du produit. Un refroidissement de l'huile aux environs de 5°C est nécessaire pour assurer la cristallisation complète des cires qui seront séparées de l'huile par centrifugation et filtration (**Cossutetal., 2002**).

➤ **Désodorisation**

Les composés volatils contenus dans l'huile sont enlevés par entraînement à la vapeur d'eau sous vide très poussé à 180–240 °C (**Régis *etal.*2016**).

Dans l'**Annexe I** figure un diagramme résumant les étapes du raffinage chimique des huiles végétales brutes.

# *Oxydation et antioxydants*

## I. Oxydation

### I.1 Oxydation des lipides

L'oxydation des lipides se traduit par une perte de la valeur nutritionnelle des produits alimentaires et par la détérioration de leurs qualités sensorielles. L'oxydation rend non seulement l'alimentation moins acceptable ou inacceptable par le consommateur, mais aussi, cause de grandes pertes économiques à l'industrie alimentaire (**Kim *et al.* 2007**).

La réaction d'oxydation des lipides est initiée entre les acides gras, le plus souvent, polyinsaturés, et l'oxygène. Durant celle-ci, plusieurs réactions de décompositions et de polymérisations interviennent simultanément conduisant à la formation d'un mélange de différents produits de réaction : aldéhydes, cétones, alcools, hydrocarbures et polymères responsables des caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques (rancissement) des lipides gras oxydés (**Jeantet *et al.* 2008**).

### I.2 Mécanisme d'oxydation

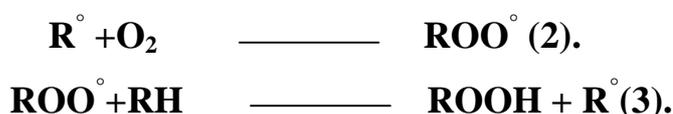
#### I.2.1 Types d'oxydation

➤ **Auto-oxydation** : L'auto oxydation est un enchaînement de réactions radicalaires qui se déroulent en 3 étapes :

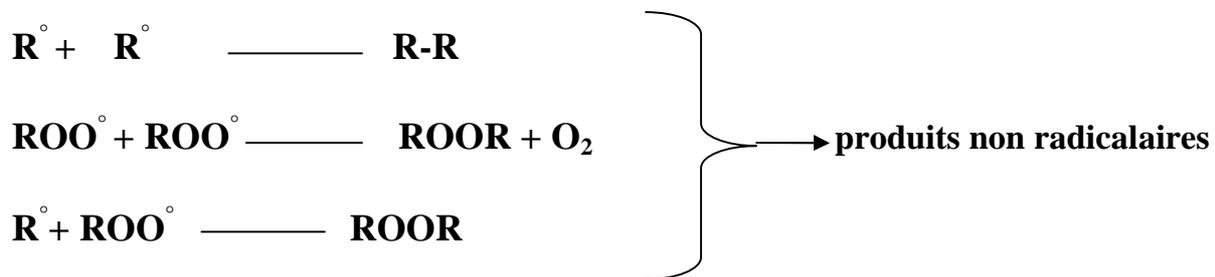
- **Initiation** : C'est la phase de déclenchement où se forme un premier radical libre. En présence d'un initiateur ; les acides gras insaturés (RH) perdent un hydrogène à proximité de la double liaison pour former des radicaux libres ( $R^\bullet$ ) (1). Cette réaction peut être produite par une dissociation thermique, par des catalyseurs métalliques ou par des radiations ionisantes avec ou sans intervention de substances photosensibilisatrices (**Frankel, 1980**).



- **Réaction de propagation** : Les radicaux libres alkyles ( $R^\bullet$ ) formés lors de l'initiation, fixent l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) et forment des radicaux libres peroxydes ( $ROO^\bullet$ ) instables (2) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras insaturée et conduire à la formation d'un néo-radical et un hydroperoxyde ( $ROOH$ ) (3), selon les réactions suivantes (**Marc *et al.* 2004 ; Mezita, 2009 ; Poaty, 2009**).



• **Réaction de terminaison** : les radicaux libres dans le milieu réagissent entre eux et forment des substances non radicalaires (Frankel, 1980).



➤ **Photo-oxydation** : Elle est initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs qui sont de deux types :

**Type I** : telle que la riboflavine agissant comme les radicaux libres initiateurs.

**Type II** : telle que la chlorophylle et l'érythrocyne qui réagissent dans leur état excité avec l'oxygène triplet pour donner de l'oxygène singulet, ce dernier est très électrophile et peut réagir directement sur des acides gras insaturés formant ainsi des hydroperoxydes ROOH, ces derniers sont différents de ceux formés par auto-oxydation (Frankel, 1998).

➤ **Oxydation enzymatique** : Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés (AGI) peut être d'origine enzymatique et l'enzyme, principalement, impliquée est la lipoxygénase (Eymard, 2003). L'oxydation enzymatique se fait selon la réaction suivant :



## I.2.2 Facteurs influençant l'oxydation

Un phénomène purement chimique et spontané lorsque les AGI sont en présence d'oxygène atmosphérique; on parle du rancissement oxydatif, notons aussi que la lumière ou la température sont des facteurs accélérateurs mais ne sont pas des éléments nécessaires et suffisants pour déclencher des phénomènes d'oxydation (Judde, 2004). Le tableau IV montre les différents facteurs qui favorisent l'oxydation.

Tableau IV : Les facteurs favorisant l'oxydation (Multon, 2002).

Facteurs interne	Facteurs externes
*Nature et/ou la qualité de la matière grasse	
*Insaturations (nombre et position).	*Oxygène.
*Dispersion (augmentant la surface d'échange avec O <sub>2</sub> ).	*Températures.
*Activité de l'eau > 0,3 (favorisant l'oxydation enzymatique et l'activité des métaux).	*L'aération.
*Enzymes (lipases, lipoxygénases).	*Lumière (radiation UV ou ionisation).
*Pigments (catalysant la photo-oxydation).	
*Métaux de transition (fer, cuivre).	
*Les traces de photosensibilisateurs.	
*Absence d'antioxydants naturels.	

## II. Antioxydants

Certaines molécules naturellement présentes dans les aliments exercent une action antioxydante sur les lipides soit en limitant la propagation des radicaux libres, soit par un contrôle de l'activité des catalyseurs de l'oxydation (Jeantet *et al.*, 2008).

### II.1. Définition

Les antioxydants sont définis comme toute substance qui, lorsqu'elle est présente à faible concentration par rapport à un substrat oxydable, retarde ou empêche de façon significative l'oxydation de ce substrat (Halliwell *et al.*, 1989).

Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire (Tanguy et Begué-Simon, 2009).

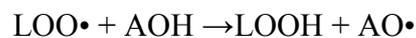
### II.2. Classes d'antioxydants

Les antioxydants sont classés selon leurs cibles et leurs mécanismes d'action ou selon leurs origines :

### II.2.1 Mécanisme d'action des antioxydants

Il y a deux options pour retarder la réaction d'oxydation: Soit intercepter les radicaux libres responsables de la réaction en chaîne (antioxydants primaires) ou alors éviter la décomposition des hydroperoxydes dans les radicaux libres (antioxydants secondaires) (Kouame, 2004).

- **Antioxydants primaires** : Également appelés antiradicalaires, sont des molécules capables de bloquer les radicaux lipidiques L•, LO• et LOO• par transfert d'un hydrogène, l'antioxydant devient alors lui-même porteur d'un radical mais à la différence des radicaux lipidiques, il est peu réactif, ce qui stoppe la propagation radicalaire (Cuvelier et Maillard, 2012).



- **Antioxydants secondaires** : ils 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 synergique car ils sont souvent employés en combinaison avec les antiradicalaires dont ils renforcent l'action. (Cuvelier et Maillard, 2012).

### II.2.2 Origine des antioxydants

- **Antioxydants synthétiques** : Afin de préserver la saveur et la couleur et éviter la destruction des vitamines ; l'ajout des antioxydants est nécessaire. Les types synthétiques, les plus souvent utilisés pour conserver les aliments sont hydroxyanisolebutylé (BHA), hydroxytoluènebutylé (BHT), le gallate de propyle (PG) et l'hydroquinone de tert-butyle (TBHQ) (Sherwin, 1990; Wanasundara et Shahidi, 1998).
- **Antioxydants naturels** : Les matières végétales contiennent de nombreux composés ayant une activité antioxydante. Plusieurs plantes ont été étudiées en tant que sources d'antioxydants naturels potentiellement sûrs pour l'industrie alimentaire; divers composés ont été isolés, dont beaucoup sont des polyphénols. Une large gamme de composés polyphénoliques végétaux de bas et de haut poids moléculaire présentant des propriétés antioxydantes a été étudiée et proposée pour la protection contre l'oxydation des lipides (Hagerman *et al.*, 1998).

Le remplacement d'antioxydants synthétiques par des antioxydants naturels peut présenter des avantages en termes d'incidences sur la santé et de fonctionnalités telles que la solubilité dans l'huile et dans l'eau, d'intérêt pour les émulsions, dans les systèmes alimentaires (**Reglero et al., 1999**).

Les substances antioxydantes naturelles doivent également faire l'objet de test de sécurité. La prudence concernant l'hypothèse d'innocuité des antioxydants naturels a souvent été recommandée, car le fait qu'un antioxydant provienne d'une source naturelle ne prouve pas l'innocuité de celui-ci (**Hattoriet al., 1998**).

# *Expérimentation*



# *Matériel et méthodes*



## I. Matériel végétal

Les matières végétales utilisées au cours de notre étude sont : écorce de grenade, pépins de raisin. On s'est intéressé à en extraire les substances bioactives pour évaluer leur effet antioxydant sur l'huile de soja.

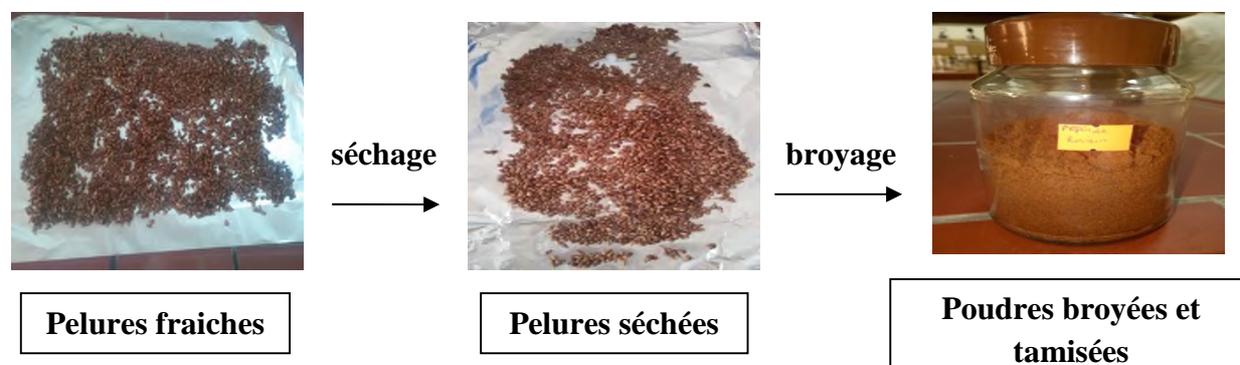
### I.1 Classification taxinomique

**Tableau V** : La classification taxinomique de *Punica granatum* (Nizamulet *al.*, 2015) et *Vitis vinifera* (Ghedira *et al.*, 2012).

<i>Punica granatum</i>		<i>Vitis vinifera</i>	
Règne	Plantae	Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta	Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida	Classe	Magnoliopsida
Ordre	Myrtales	Ordre	Vitales
Famille	Punicaceae	Famille	Vitaceae
Genre	Punica	Genre	Vitis
Espèce	Granatum	Espèces	<i>Vitis vinifera</i>

### I.2 Préparation du matériel végétale

Les échantillons sont achetés sur le marché local. Une fois au laboratoire, les écorces de grenades et les pépins de raisins sont récupérés, puis séchés à l'étuve à 40 °C pendant quelque jour jusqu'à stabilité du poids. Une fois séchées on procède à un broyage à l'aide d'un broyeur à café, les poudres obtenues sont tamisées à l'aide d'un tamiseur électrique, et la dimension des pores est  $\leq 250\mu\text{m}$ , pour obtenir des poudres bien lisse. Ces dernières sont conservées à température ambiante à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des flacons en verre.



**Figure 6** : Préparation des poudres de pelures

### I.3 Choix del'huile

Dans cette étude, l'huile de soja fabriquée par CEVITAL à fait l'objet d'un enrichissement par des extraits phénoliques d'écorces de grenade et des pépins de raisins.

Avant l'enrichissement, l'huile de soja raffinée a subit un ensemble d'analyses chimiques au niveau du laboratoire (Acidité, indice de peroxyde et extinction spécifique dans l'UV) afin de vérifier sa qualité.

## II. Caractérisation d'écorces de grenade et grains de raisins

### II.1 Extraction des polyphénols

L'extraction des composés phénoliques est réalisée selon la méthode décrite par **Chougui et al., (2014)**, 10g de poudre est laissée macérer dans 100ml d'éthanol-eau (70%-30%) pendant 2h à température ambiante. Après agitation le mélange est filtré à l'aide d'un papier filtre, les résidus de poudres subissent une deuxième extraction cette fois ci avec 50ml éthanol-eau et agité pendant 1h. Le solvant est évaporé à l'aided'un évaporateur rotatifet l'extrait sec est conservé à 4°C en attendant les analyses.



Macération pendant 2h



Filtration à l'aide d'un papier filtre



Rota vapeur pour récupérer l'extrait



L'extrait et conservée a 4°C

**Figure 7** : Etape d'extraction des composés phénoliques.

## II.2 Dosage des composés phénoliques totaux

L'estimation de la teneur en composés phénoliques totaux (PPT) est réalisée par la méthode colorimétrique au réactif de Folin Ciocalteu décrite par **Li et al., (2006)**,

- **Principe**

Le réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. (**Nathalie, Jean-paul, 2006**).

- **Mode opératoire**

Le protocole adopté est celui de **Li et al. (2006)**, dans des tubes à essai, 0,5ml de l'extrait méthanolique de l'EG et des GR est mélangé à 2.5ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué à (1/10). Après 2min à l'obscurité, on ajoute 2 ml de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (75g /L).Le mélange réactionnel est incubé dans un bain marie à 50°C pendant 15min, après refroidissement l'absorbance est mesurée à 760 nm. Un blanc est préparé dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait méthanolique par le méthanol. Les polyphénols totaux sont quantifiés en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique représentée dans l'annexe II. Les résultats sont exprimés en équivalent acide gallique par 100 gramme de poudre sèche (mg EAG/100g PS).

## III. Activité antioxydant d'écorces de grenade et grains de raisins

### III.1 Activité antiradicalaire sur le radical DPPH•

- **Principe**

Le diphenyle picryl-hydrazyle (DPPH•), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517nm. La couleur violette disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphenyle picrylhydrazine (DPPH-H) par un composé à propriété antiradicalaire (AH)<sub>n</sub>, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (**Sanchez-Moreno, 2002**). On peut résumer la réaction de la manière suivante :  $DPPH + (AH)_n \longrightarrow DPPH-H + (A)_n$

- **Mode opératoire**

Le test est réalisé en suivant la méthode décrite par **Sahinet al., (2004)**, dans des tubes à essai on a introduit 2,9 ml de la solution méthanolique du radical DPPH auquel on a ajouté 100 µl d'extrait méthanolique à différentes concentrations pour déterminer la concentration inhibitrice 50 (IC<sub>50</sub>), le mélange est incubé pendant 30 min à l'obscurité et l'absorbance est mesurée à 515 nm. Un contrôle est préparé en mélangeant une quantité de la solution de DPPH avec le méthanol.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs_c - Abs_e)/Abs_c] * 100$$

**Abs<sub>c</sub>** : absorbances du Control ;

**Abs<sub>e</sub>** : absorbances de l'échantillon.

### III.2 Activité réductrice du molybdate

- **Principe**

Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo(VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup> en molybdène Mo(V) MoO<sub>2</sub><sup>+</sup>, en présence de l'extrait pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) dans un milieu acide (**Prieto et al., 1999**).

- **Mode opératoire**

L'activité réductrice des extraits est évaluée par la méthode de phosphomolybdène de **Prieto et al., (1999)**, 0,2 ml de chaque extrait à différentes concentrations sont ajoutés à 2 ml de la solution du phosphomolybdate. Les tubes sont incubés à 95 °C pendant 1 h. Après refroidissement, l'absorbance des solutions est mesurée à 695 nm. L'activité réductrice du molybdate est exprimée en concentration efficace 50 (EC<sub>50</sub>).

## IV. Enrichissement de l'huile de soja

### IV.1. Procédure d'enrichissement

L'enrichissement de l'huile de soja est réalisé comme suit : Des quantités d'extrait d'écorces de grenades et de pépins de raisins sont pesés puis dissoutes dans un volume approprié d'eau distillé, afin d'obtenir la concentration de l'huile en extrait désirée : C1 ppm, C2 ppm et C3 ppm. Après l'ajout des extraits, les huiles sont agitées pendant 30 min, ensuite on a procédé à la sonication des mélanges pour une dissolution complète des extraits dans l'huile. La même

procédure d'enrichissement est suivie pour la  $\alpha$ -tocophérol utilisés comme standards à une concentration de 100 ppm.

#### **IV.2. Etude de l'activité antioxydante de l'huile enrichie**

L'activité antioxydante des huiles enrichies est évaluée par le test de réduction du radical DPPH selon le protocole décrit par **Salta et al. (2010)**.

- **Mode opératoire :**

Peser dans des petites fioles de 10ml des quantités variables de l'huile de soja enrichie et de l'huile témoin (de 0.1g à 0,6g) pour obtenir différentes concentrations d'huile dans le chloroforme.

Dans des tubes à essais ajouter 1ml de la solution d'huile à 4ml de la solution de DPPH (DPPH dans le chloroforme,  $6 \times 10^{-5} M$ ), un contrôle est préparé en parallèle. Après incubation de 30 min à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm. Les pourcentages d'inhibition sont calculés et les  $IC_{50}$  sont déterminées graphiquement.

#### **IV.3 Test de stabilité oxydative « Rancimat »**

Ce test est très utilisé dans les cahiers des charges pour évaluer la stabilité oxydative des matières grasses. La spécification de Temps d'Induction au test Rancimat, exprimé en heures correspond au temps pendant lequel la matière grasse a résisté à un stress oxydatif (**Rahmani, 2007**).

- **Principe du test de Rancimat : (ISO 6886, 2006)**

Le principe du test consiste à vieillir prématurément les matières grasses par décomposition thermique à une température spécifiée. Elle se fait généralement à des températures allant de 98 à 120° C, et débit d'air de 10 à 20 L/H. Le temps est déterminé par conductimétrie et correspond au temps d'induction au test de Rancimat ou période d'induction. La fin de celle-ci est indiquée lorsque la conductivité se met à augmenter rapidement.

- **Mode opératoire : (ISO 6886, 2006)**

La stabilité de notre mélange est déterminée à l'aide d'un appareil Rancimat Metrohm 743. Un flux d'air fixé à 10 L/H traverse l'échantillon de  $3 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$  près, chauffé à 98° C. Les produits de dégradation de cette oxydation poussée, sont entraînés par un courant d'air et recueillis dans une cellule de mesure remplie d'eau ultra pure (60 ml) dans laquelle est

immergée une électrode de la mesure de la conductivité électrique. L'électrode est connectée à un dispositif de mesure et d'enregistrement. La fin de la période d'induction est indiquée lorsque la conductivité se met à augmenter rapidement, cette augmentation accélérée est provoquée par l'accumulation de produits volatils.

#### **IV.4 Mesure de la couleur (ISO 15305 : 1998).**

La couleur joue un rôle important dans l'évaluation de la qualité d'une huile, elle est souvent liée à la maturité des graine, à la mise en œuvre approprié ou défectueux d'un traitement technologique ou de mauvaises conditions d'entreposage ou un début de détérioration. La couleur de la lumière transmise au travers d'une épaisseur connue de corps gras liquide est comparée à la couleur de la lumière émise par la même source et transmise à travers des étalons chromatiques en verre. La couleur est déterminée à l'aide d'un appareil appelé colorimètre « LOVIBOND ».

La couleur des huiles est mesurée au niveau du laboratoire de recherche du complexe agro-alimentaire CEVITAL. L'échantillon d'huile à analyser est filtré puis chauffé à 60°C. La cuve de Lovibond est remplie au trait indiqué de l'huile chauffée à 60°C. La couleur est exprimée en nombre d'unités rouge (R) et jaune (J).

#### **V. Test d'oxydation accélérée à l'étuve ou test de Shaal**

En se référant à la méthode de **Besbes *et al.*, (2004)**, la température de 65°C est utilisée comme méthode rapide permettant de simuler les conditions extrêmes de stockage. Tous les échantillons sont placés dans une série de bouteilles en verre transparentes ayant un volume de 250 ml, sans bouchon et stockés dans une étuve à une température fixe de 65°C pendant 35 jours. L'échantillon témoin est également placé dans les mêmes conditions. Les analyses sont effectuées à des intervalles réguliers de 7 jours.

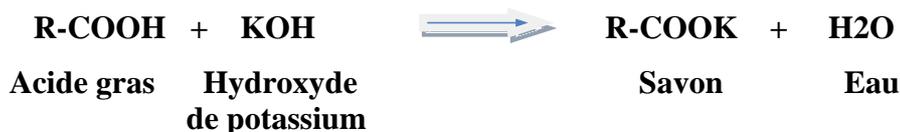
#### **V.1. Acidité**

- **Principe**

L'acidité exprimée conventionnellement en pourcentage d'acide gras prédominant dans le corps gras, notamment l'acide oléique pour l'huile de soja (**ISO 660/2009**).

La mesure de référence de l'acidité est réalisée par la méthode normalisée **NF EN ISO 660**. Celle-ci est réalisée par titrage de l'échantillon solubilisé dans un mélange éther éthylique/éthanol par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium.

Le principe est de neutraliser les acides gras par une base en présence de phénol phtaléine.



- **Mode opératoire**

Peser dans un bécher 5g d'huile, faire chauffer un volume de 50 ml d'alcool éthylique à 95% et le verser dans le bécher contenant la prise d'essai, ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine, agiter et titrer avec la solution de KOH jusqu'à apparition (0,1N) d'une couleur rose pale.

Un essai blanc est effectué en l'absence de matière grasse et ce afin d'éliminer une éventuelle acidité du solvant (ISO 660/2009).

$$\text{Acidité} = \frac{\mathbf{N \times V \times EG}}{\mathbf{10 \times P}}$$

Avec :

N : normalité de KOH;

V : volume dépensé pour le titrage;

P : prise d'essai;

EG : équivalent gramme de l'acide gras en laquelle l'acidité est exprimée (282 pour l'acide oléique).

## V.2. Indice de peroxyde

- **Principe**

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de microgrammes de peroxyde actif contenu dans un gramme de produit, ce paramètre nous renseigne sur le degré d'oxydation de l'huile (COI, 2015).

L'indice de peroxyde de référence est déterminé par la méthode normalisée NF T 60-220. Le principe de cette méthode repose sur le titrage par une solution de thiosulfate de sodium des molécules d'iode libérées par oxydation des iodures par les hydroperoxydes de l'échantillon solubilisé dans un mélange acide acétique/chloroforme. Les résultats sont exprimés en Milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme d'échantillon.



- **Mode opératoire**

Peser 5g d'huile dans un bécher, ajouter 12ml de chloroforme et 18ml d'acide acétique glaciale puis 1ml de solution d'iodure de potassium saturé. Boucher aussitôt le flacon, l'agiter et le laisser 5 minute à l'abri de la lumière, à température ambiante. Ajouter 75ml d'eau distillé. En agitant vigoureusement et en présence de quelque gouttes d'empois d'amidon comme indicateur coloré, titrer l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium (0.01N). Parallèlement à la détermination, effectuer un essai a blanc **ISO 3960 : 2007**.

$$IP = \frac{T(V1 - V0)}{m} \times 1000$$

Avec :

V0 : le volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc ;

V1 : le volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la détermination;

T : la normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée ;

m : la masse en gramme de la prise d'essai.

**V.3. extinction spécifique dans l'UV** L'examen spectrophotométrique dans l'ultraviolet peut fournir des informations sur la qualité d'une matière grasse, sur son état de conservation et sur les modifications dues aux processus technologiques (**CEE, 1991**). En effet, l'extinction spécifique d'une huile est une image de son état d'oxydation, plus son extinction à 232 nm est élevée, plus elle est oxydée par la présence d'hydroperoxyde. De même, plus l'extinction à 270 nm est forte, plus l'huile est riche en produits secondaires d'oxydation qui traduit ainsi sa faible aptitude à la conservation (**Wolff, 1968**).

- **Mode opératoire**

Une prise de 0,1 g d'échantillon est dissoute dans 10 ml de cyclohexane, l'absorbance de la solution est mesurée dans une cuve en quartz aux deux longueurs d'onde 232 et 270 nm contre un blanc contenant uniquement le solvant (**COI, 2015**). Les extinctions spécifiques à 232 et 270 nm sont calculées comme suit :

$$E = \frac{Abs}{C \times L}$$

**E** : Extinction spécifique à la longueur d'onde spécifique.

**Abs** : Densité optique à la longueur d'onde spécifique.

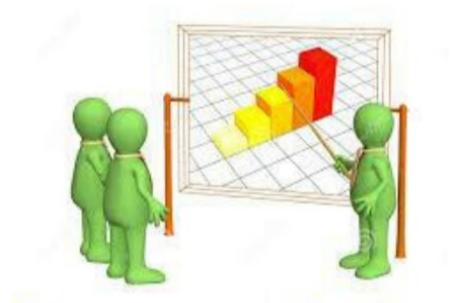
**C** : Concentration de la solution à analyser g/100ml.

**L** : Longueur de la cuve en cm.

## **VII. Etude statistique**

Trois essais sont effectués pour les différentes analyses et des méthodes statistiques conventionnelles sont utilisées pour calculer les moyennes et les écarts-types des trois mesures. Une analyse statistique est réalisée pour la comparaison des résultats et la mise en évidence des différences significatives entre les échantillons, et ce, pour chaque paramètre en appliquant une analyse de la variance (ANOVA) suivie du test de LSD de Fisher à l'aide d'un logiciel STATISTICA 7.1. Le degré de signification des résultats est pris à la probabilité  $p < 0,05$ .

# *Résultats et discussion*



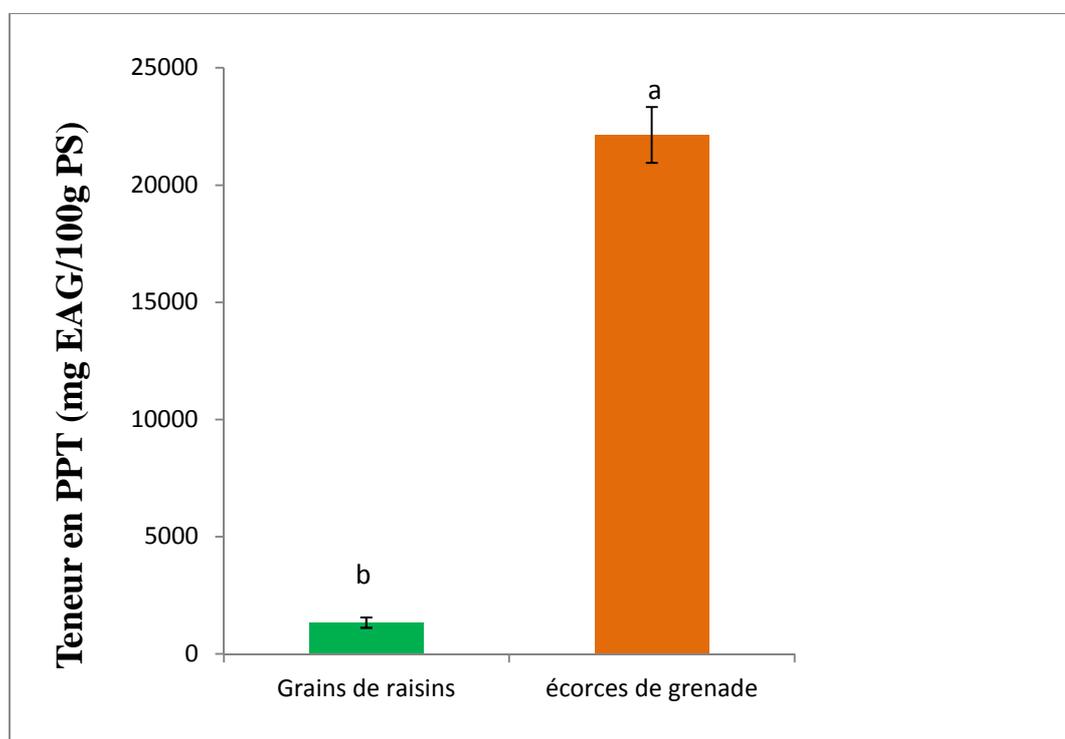
## I. Caractérisation des sous produits

### I.1 Dosage des composés phénoliques totaux

L'objectif de cette analyse est la quantification des polyphénols totaux (PPT) dans les sous produits alimentaire (l'écorce de grenade ; grains de raisins).

Les PPT sont quantifiés en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique (**Annexe II**). Les résultats sont exprimés en équivalent acide gallique par 100 gramme de poudre sèche, (mg EAG/100g PS).

Les résultats sont représentés dans la **figure 8**. L'analyse statistique révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les teneurs en PPT de GR et EG.



**Figure 8** : Teneur en polyphénols totaux des échantillons étudiés.

\*Les barres verticales représentent l'écart-type ;

\*Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures;

\*Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives  $a > b$ ;

Les résultats, montrent que la teneur en PPT des écorces de grenade est largement supérieure a celle des grains de raisins avec les valeurs de 22143mg EAG/100g PS et 1336 mg EAG/ 100g PS, respectivement.

Concernant l'écorce de grenadela valeur obtenue pour notre échantillon est plus au moins similaire à celle de **Ben Nasr et al., (1996)**,de la variété tunisien chelfi avec une teneur de

21690 mg EAG/ 100g PS et celle de **Li et al., (2006)**, de la région Lintong en chine avec une teneur de 249,4 mg/g PS (24940 mg EAG/ 100g PS). Cependant les résultats obtenus pour notre échantillon de grains de raisins sont inférieurs à ceux obtenus par **Zhou et al., (2016)**, avec une valeur de 2297mg EAG/ 100g PS de la région de Nanjing en chine, et supérieurs à ceux de **Anamarija et al., (2009)**, qui ont enregistré une valeur de 580 EAG/100g PS de la variété *Župljanka*.

Ces différences avec les résultats des auteurs peuvent être expliquées par l'influence de plusieurs facteurs tels que :

- la méthode et conditions d'extraction ainsi que le solvant utilisé ;
- la variété ;
- le stade de maturation ;
- le sol et les conditions climatiques etc.

## I.2 Activité antioxydant d'écorces de grenade et grains de raisins

### I.2.1 Activité antiradicalaire sur le DPPH<sup>•</sup>

L'activité antiradicalaire des extraits phénoliques de l'écorce de grenade et des grains de raisins est exprimée en IC<sub>50</sub> déterminée graphiquement à partir des courbes réalisées des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait (**Annexe III**). Les valeurs des IC<sub>50</sub> sont présentées dans le **tableau VI** avec mention d'une différence significative à ( $P \leq 0,05$ ) entre l'écorce de grenade et les grains de raisins.

**Tableau VI** : IC<sub>50</sub> de l'activité antiradicalaire sur le DPPH des différents extraits

Extrait	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Grains de raisins	0,6 <sup>a</sup> ± 0,025
Ecorces de grenade	0,08 <sup>b</sup> ± 0,0026

Les valeurs désignées par des lettres différentes présentent des différences significatives ( $P \leq 0,05$ )  
 $a > b$

La IC<sub>50</sub> est la concentration de l'extrait ayant un pourcentage d'inhibition du DPPH de 50%. Elle permet de comparer entre l'activité des différents extraits, une faible IC<sub>50</sub> est synonyme d'une activité antiradicalaire élevée.

D'après les résultats l'extrait d'écorces de grenade présente une meilleure capacité à piéger le radical DPPH<sup>•</sup>

La  $IC_{50}$  de notre échantillon EG (0,08 $\mu$ g/ml) est supérieure à celle obtenue par **Zhang et al., (2006)**, (0,000136  $\mu$ g/ml) concernant les extraits des écorces de grenade de la même variété cultivés à Daqingpi en chine.

**Bozan et al., (2008)**, ont trouvé une valeur de la  $IC_{50}$  des grains de raisins de la variété *Papaz Karasi* de Tekirdag institut de recherches de vignoble (2,71  $\mu$ g/ml) qui est supérieure à celle enregistrée dans notre étude. D'autre part ; **Baydar et al., (2007)**, ont rapporté la valeur de la  $IC_{50}$  de 0,255  $\mu$ g/ml des extraits de GR cultivés en Turquie qui sont inférieurs à nos résultats.

Ces différences avec les auteurs peuvent être justifié par : le milieu de culture, la méthode de DPPH utilisée ou encore la variété des échantillons.

### I.2.2 Activité réductrice du molybdate

L'activité réductrice du molybdate est exprimée en  $EC_{50}$ . Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau VII** et les courbes dans l'**annexe IV**.

L'étude statistique montre qu'il y'a une différence significative ( $P \leq 0,05$ ) entre les deux échantillons.

**Tableau VII** :  $EC_{50}$  de l'activité réductrice du molybdate des différents extraits

Extrait	$EC_{50}$ ( $\mu$ g/ml)
Grains de raisins	0,171333 <sup>a</sup> $\pm$ 0,0198
Ecorces de grenade	0,456333 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0068

Les valeurs désignées par des lettres différentes présentent des différences significatives ( $P \leq 0,05$ )  
 $a > b$ .

Les résultats nous indiquent que l'extrait d'EG étudié présente une  $EC_{50}$  plus élevée que celle des GR. Ce qui implique que les GR possèdent une meilleure activité réductrice du molybdate.

**Baydar et al., (2007)**, ont enregistré des valeurs d' $EC_{50}$  variant entre 0,863 et 0,125  $\mu$ g/ml pour les grains de raisins cultivés en Turquie, et la valeur enregistrée pour notre échantillon de GR est comprise dans cet intervalle.

## II. Caractérisation de l'huile de soja

### II.1 Détermination des indices de qualité de l'huile de soja

Le contrôle physico-chimique a pour objectif de garantir un produit de qualité conforme aux exigences de l'entreprise.

Les résultats obtenus lors de la détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'huile de soja raffinée sont résumés dans le **tableau VIII**.

**Tableau VIII** :Caractéristiques physico-chimiques de l'huile de soja raffinée

Paramètres	Valeurs	Normes d'entreprise
Acidité (%)	0,0846± 0,0054	0,12 Max
Indice de peroxyde (meq O <sub>2</sub> / Kg)	0,2± 0,1	1 Max
Absorbance dans l'UV		
K <sub>232</sub>	3,430±0,0065	3,665
K <sub>270</sub>	3,056±0,0065	1,437

D'après le **tableau VIII** nous remarquons que l'acidité de notre échantillon d'huile ainsi que son indice de peroxyde sont conformes aux normes internes de l'entreprise **CODEX-STAN 210**, ce qui témoigne des bonnes conditions du raffinage de l'huile brute.

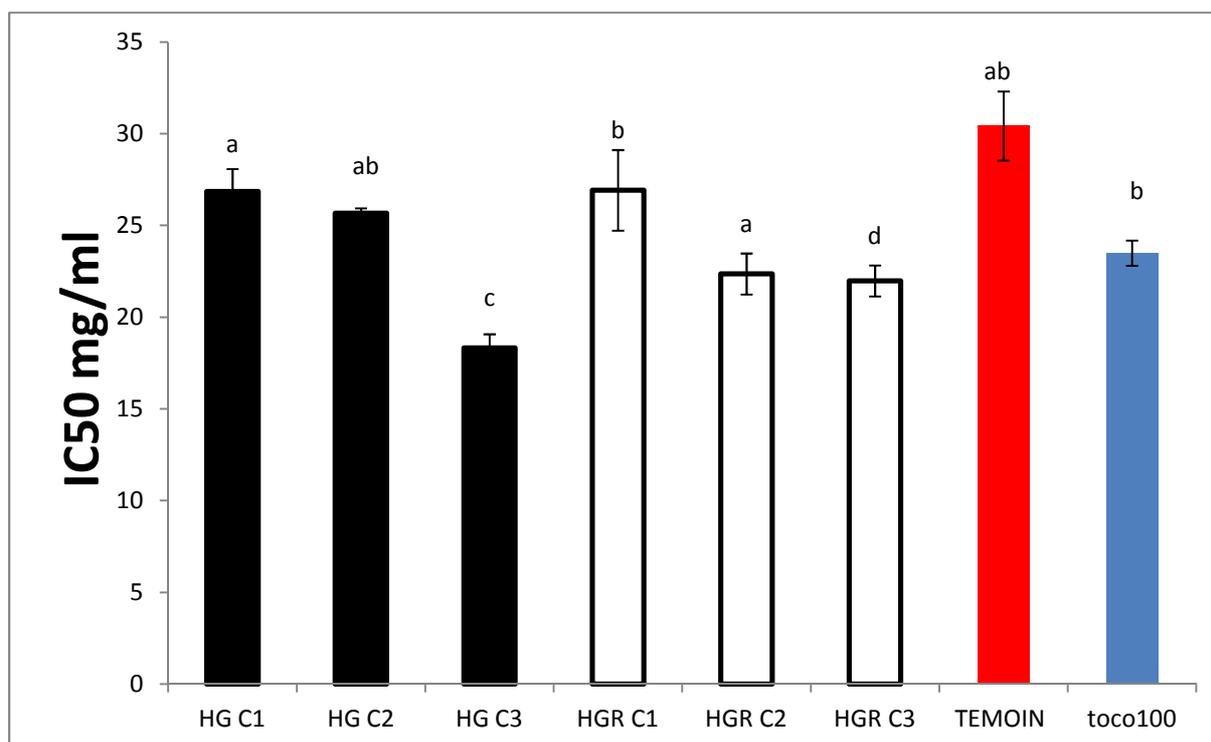
Concernant l'extinction spécifique dans l'UV, K<sub>232</sub> répond à la norme préconisée par l'**ISO (2002)**. Quant à K<sub>270</sub> est relativement élevé donc ne répond pas à la norme.

### III. Enrichissement de l'huile de soja

#### III.1 Activité antiradicalaire de l'huile enrichie sur le radical DPPH

La **figure 9** représente les différents résultats de l'activité antiradicalaire des huiles enrichies à différentes concentrations, standard et l'huile témoin qui sont exprimés en IC<sub>50</sub>.

L'analyse statistique indique qu'il existe une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre HG C3 et HGR C3 et l'ensemble des huiles enrichies ainsi que l'huile témoin. Cependant il n'y a pas de différence significative ( $p < 0,05$ ) entre HG C2, HGR C2, HG C1, témoin, HGR C1 et toco100, toutefois il existe une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre HGR C2, HG C1 et HGR C1, toco100.



**Figure 9 :** Activité antiradicalaire de l'huile témoin et les huiles enrichies avec les différents extraits phénoliques sur le DPPH comparés au standard.

*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ( $p < 0,05$ ) ;*

*Les barres verticales représentent les écarts types ;*

*Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures ;*

D'après les résultats obtenus, les huiles enrichies montrent une activité antiradicalaire plus importante que l'huile témoin avec une IC<sub>50</sub> de 30,43mg/ml ce qui implique que les extraits qu'on a rajouté ont amélioré l'activité antioxydante sur le radical DPPH<sup>•</sup>.

L'huile enrichie avec 150 ppm d'extraits phénoliques d'écorces de grenade possède la IC<sub>50</sub> la plus faible (18,33mg/ml), amenant la conséquence qu'il manifeste l'activité la plus importante contre le radical DPPH, suivi de celle enrichie avec 150 ppm d'extrait phénoliques de grains de raisins (21.98mg/ml), vient ensuite HGR C2, toco100, HG C2, HG C1 et enfin HGR C1 qui exerce l'activité antiradicalaire la plus faible parmi les huiles enrichies avec des IC<sub>50</sub> respectives de 22,36 mg/ml ; 23,5 mg/ml ; 25,65 mg/ml ; 26,84 mg/ml ; 26,92 mg/ml.

### III.2. Test de stabilité oxydative « Rancimat »

Les temps d'induction obtenus par le test au Rancimat des huiles enrichies formulées par addition d'extraits d'écorces de grenade et de grains de raisins, standard et l'huile témoin formulées sont représentés dans le **tableau X**.

**Tableau X** : Résultats du test au Rancimat des échantillons étudiés.

Echantillon	Témoin	Standard	HG C1	HGR C1
Temps d'induction (h)	11,41	14,19	12,35	11,95

D'après le **tableau X**, nous avons obtenus un temps d'induction pour l'huile témoin le plus court par rapport aux restes des échantillons. Ce qui implique qu'elle présente une faible stabilité oxydative. À l'opposé du standard  $\alpha$ -tocophérol a enregistré un temps plus long.

Nos extraits ont quand même amélioré la stabilité de l'huile qui se traduit par l'élévation du temps d'induction par rapport au témoin.

Généralement, une période d'induction plus longue indique un effet de conservation meilleur, une valeur faible de celle-ci indique une susceptibilité accrue à l'oxydation.

### III.3 Test de la couleur

Dans les **tableaux IX** sont représentés les résultats obtenus pour la couleur des huiles.

**Tableau IX** : résultat de la couleur de l'huile de soja enrichie, standard et témoin :

Couleur	Résultat	Normes (ISO15305)
Témoin	J : 14/R : 1.0	J : 16 / R : 1.2
Standard (Toco100)		
Huiles enrichies		

La mesure de la couleur, qui est un caractère de qualité est exprimée en terme d'unité rouge et jaune. Cette mesure indique que l'échantillon d'huile étudiée présente un nombre d'unités de jaune (14) et rouge (1.0) pour toutes les huiles enrichies ainsi que le témoin et standard.

Cela signifie que les différents extraits phénoliques rajoutés à l'huile n'ont pas eu d'influence sur la couleur.

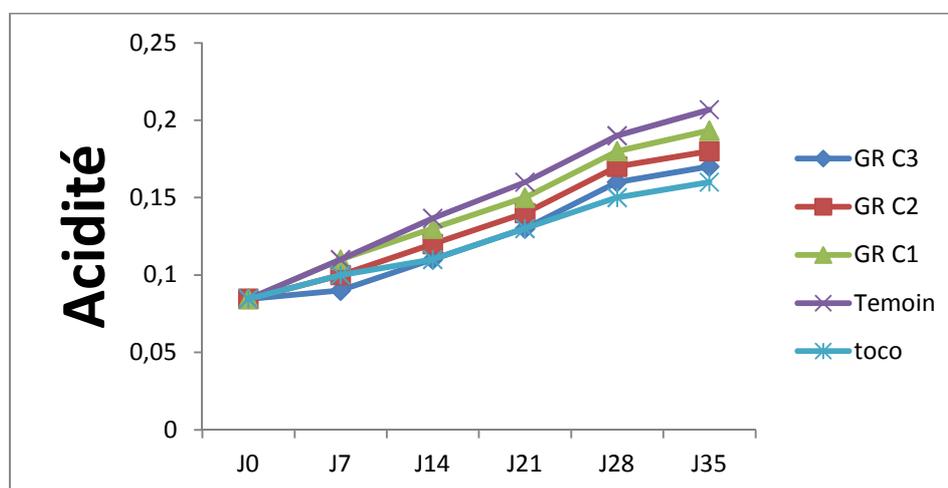
### III.4 Test de stabilité oxydative (test shaal)

La stabilité oxydative de l'huile de soja est évaluée par le test de Shaal. Ce test rend compte de l'altération des corps gras par oxydation, inconvénient majeur touchant essentiellement les acides gras insaturés (**Karleskind, 1992**). L'évolution de l'état d'oxydation est estimée par l'indice de peroxyde et l'extinction spécifique à 232 et 270 nm.

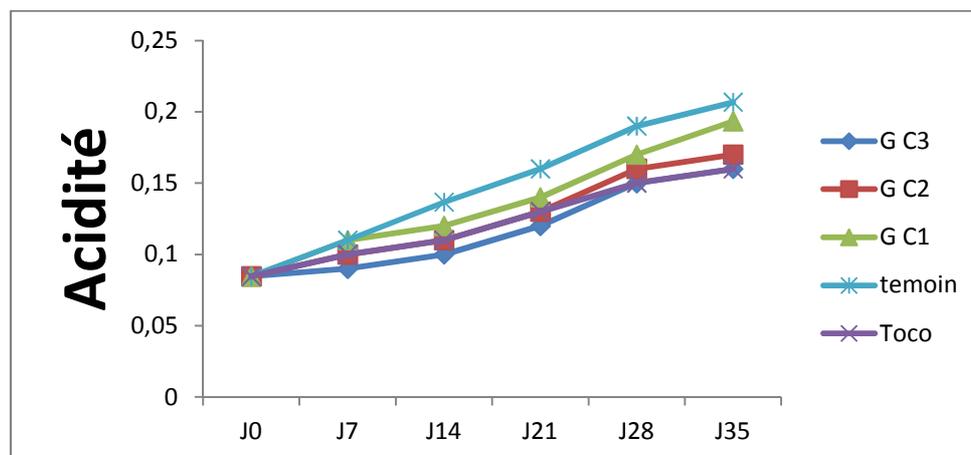
#### ✓ Acidité

L'acidité libre est un facteur important dans l'évaluation de la qualité de l'huile. De plus, un facteur qui fournit des informations sur l'altération de l'huile par hydrolyse.

Les **figures 10,11** représentent l'évolution de l'acidité de l'huile de soja enrichie d'extraits phénolique de GR et d'EG, respectivement au cours de l'oxydation accélérée comparée au témoin.



**Figure 10** : Evolution de l'acidité de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques de grains de raisins au cours de l'oxydation accélérée à 65°C.



**Figure 11** : Evolution de l'acidité de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques d'écorces de grenade au cours de l'oxydation accélérée à 65°C comparée au témoin.

L'analyse des deux graphes montre une augmentation au fur et à mesure des semaines passées pendant 35 jours. Ceci peut-être expliqué par l'influence significative de la durée du stockage a température élevée sur l'hydrolyse de l'huile.

La valeur initiale de l'acidité de l'huile témoin et les huiles enrichies est de 0,0846 %.

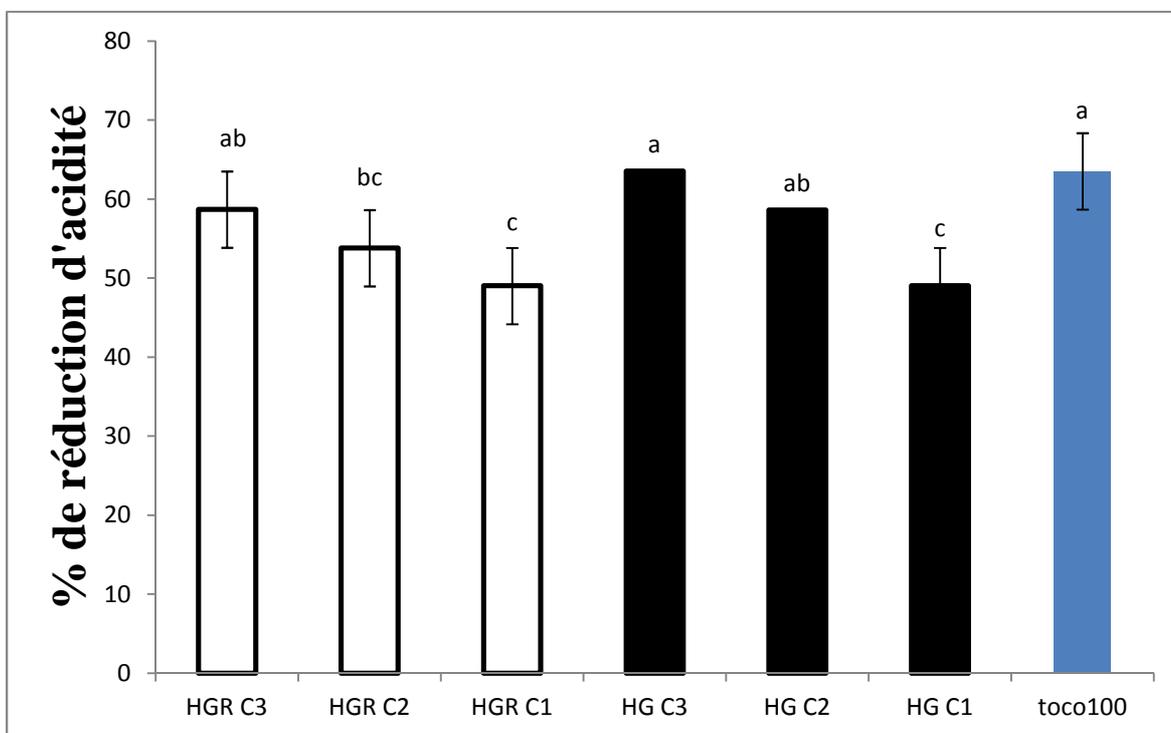
L'analyse périodique effectuée pendant 35 jours de stockage à 65°C à montrer que l'acidité du témoin atteint la valeur la plus importante en acidité (0.2068%), cela s'explique par la l'hydrolyse intense qui se traduit par la libération des acides gras.

Les différentes huiles enrichies et le standard augmente parallèlement au cours du stockage, avec des acidités plus importantes a J35 pour HG C1 et HGR C1 (0,19%) suivi par HGR C2 (0,18%) ensuite HGR C3 et HG C2 (0,17%), et la valeur la plus faible est attribuée à Toco100 et HG C3 (0,16%).

Cette analyse permet de conclure que l'huile enrichie par  $\alpha$ -tocophérol et GR C3 ppm ont la meilleure stabilité du point de vue hydrolyse.

### ✓ Pourcentage de réduction d'acidité

Les résultats du % de réduction d'acidité (%RA) des huiles enrichies sont représentés dans la figure 12.



**Figure 12 :** Pourcentage de réduction de l'acidité des huiles enrichies et du standard.

*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ( $p < 0,05$ );*

*Les barres verticales représentent les écarts types ;  
Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures ;*

Les %RA sont calculés pour évaluer l'action des antioxydants naturels ainsi que  $\alpha$ -tocophérol sur l'inhibition de l'hydrolyse de notre huile de soja.

D'une part l'étude statistique révèle qu'il n'y a pas de différence significative ( $P < 0,05$ ) entre HGR C2 et (HGR C1, HG C1), en revanche ces dernières sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ) aux reste des huiles enrichies et standard.

D'autre part il n'existe pas de différence significative ( $P < 0,05$ ) entre Toco100, HG C3, HG C2 et HGR C3, et ces deux dernières ne présentent pas également de différence significative ( $P < 0,05$ ) avec HGR C2. Cependant  $\alpha$ -tocophérol et HG C3 sont significativement différents ( $P < 0,05$ ) de HGR C2.

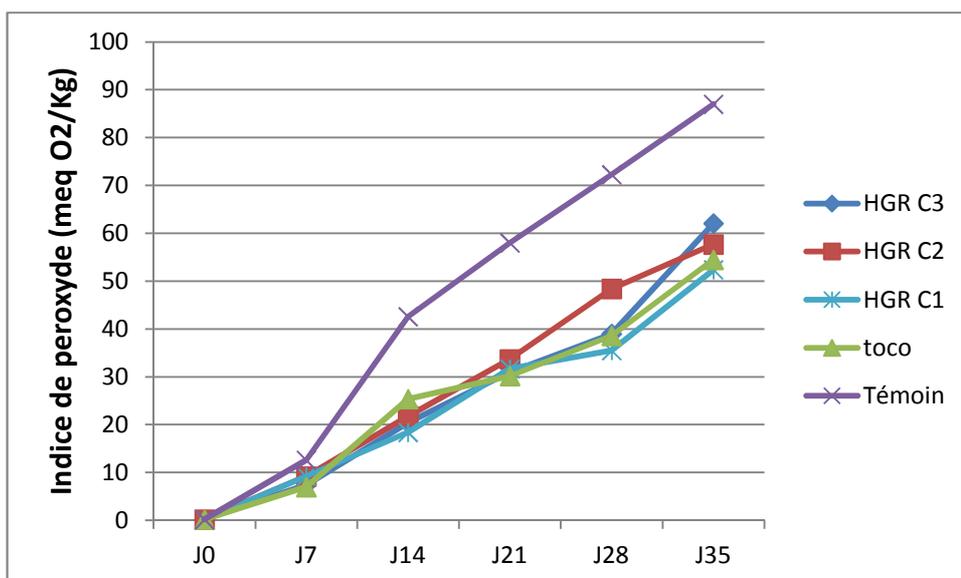
D'après l'histogramme, l'huile enrichie HG C3 et  $\alpha$ -tocophérol enregistrent le %RA le plus élevé (63,53%) par apport aux restes des huiles enrichies. En revanche la HGR C1 et la HG C1 enregistrent le plus faible %RA (47,41%).

Les % de réduction de l'acidité des différentes huiles enrichies varient selon l'ordre suivant :  
HG C3 = toco100 > HGR C3  $\approx$  HG C2 > HGR C2 > HG C1 = HGR C1.

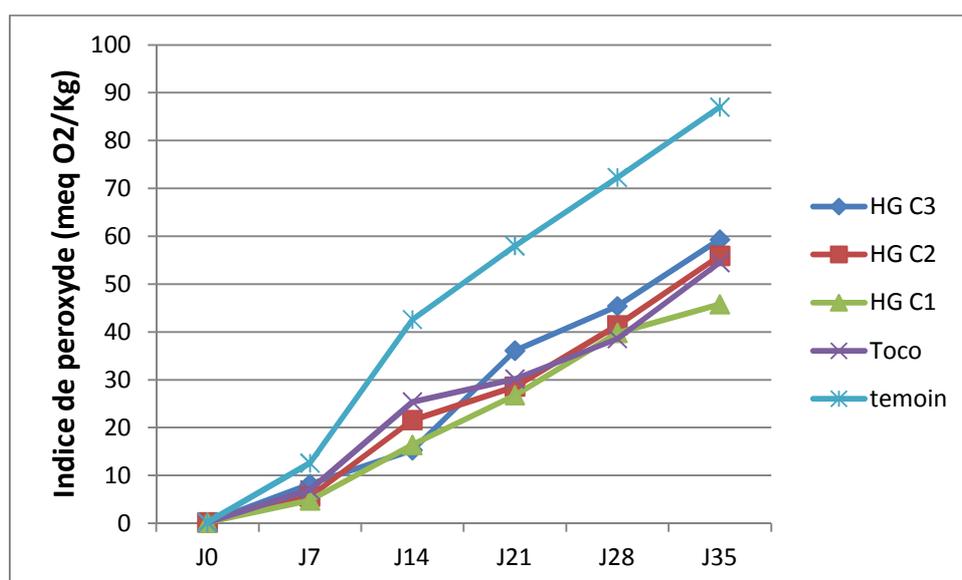
### ✓ Indice de peroxyde

La valeur de peroxyde est une mesure de la concentration de peroxydes et d'hydroperoxydes formés dans les étapes initiales de l'oxydation des lipides. Cette mesure est l'un des tests les plus largement utilisés pour l'évaluation du rancissement oxydatif dans les huiles et les graisses (Mohdalyet al., 2010).

Les figures 13, 14 représentent l'évolution de l'indice de peroxyde de l'huile de soja enrichie d'extraits phénolique de GR et d'EG, respectivement au cours de l'oxydation accélérée comparée au témoin.



**Figure 13** : Evolution de l'indice peroxyde de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques de grains de raisins au cours de l'oxydation accélérée à 65°C.



**Figure 14** : Evolution de l'indice peroxyde de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques d'écorces de grenade au cours de l'oxydation accélérée à 65°C.

L'analyse des graphes montrent une augmentation continue de l'indice de peroxyde de l'huile de soja en fonction du temps pour tous les échantillons, Cette augmentation est attribuée à l'effet du stockage à température élevée sur la formation des hydroperoxydes (produits primaires d'oxydation).

La valeur initiale de l'indice de peroxyde de l'huile de soja enrichie et l'huile témoin est de 0,2 meqO<sub>2</sub>/kg. A partir de la première semaine du stockage (J7) tout les échantillons évoluent

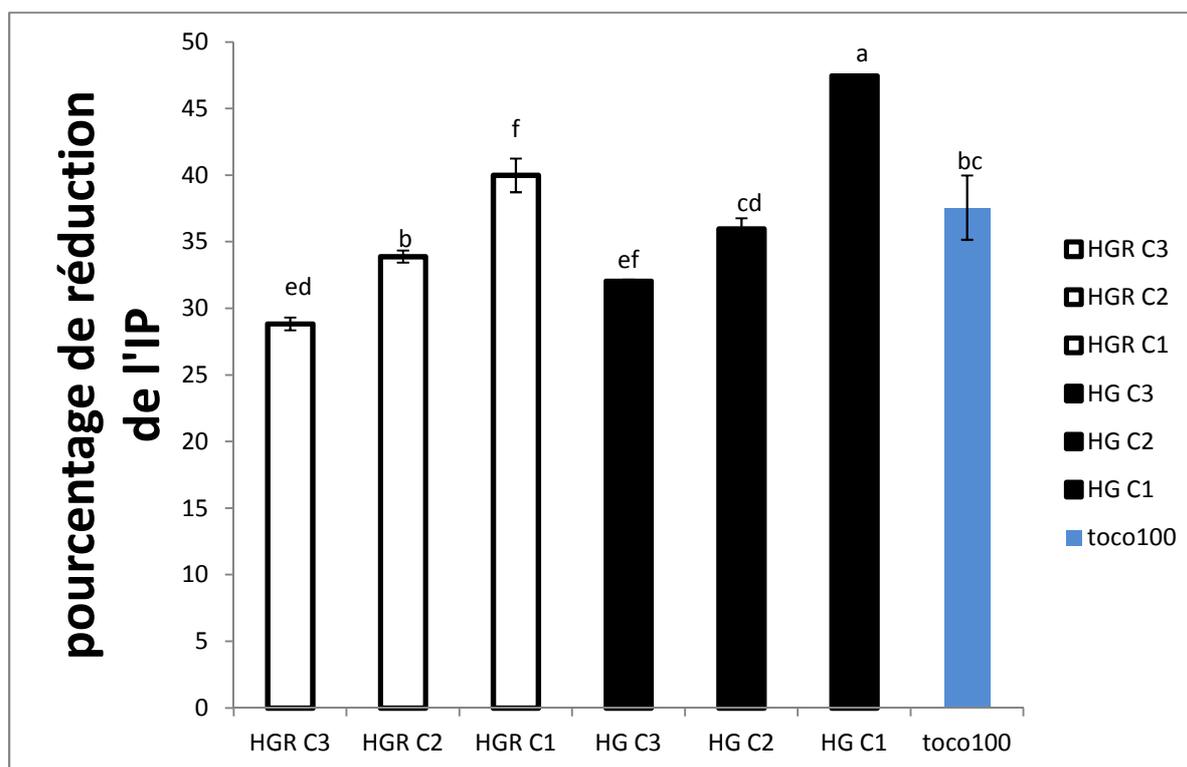
de la même façon jusqu'au J35, à l'exception du témoin qui témoigne une augmentation accrue.

On constate que le témoin a la valeur d'indice de peroxyde la plus élevée (87 meqO<sub>2</sub> /kg) à J35 par rapport aux différentes huiles enrichies et le standard ( $\alpha$ -tocophérol), cela pourrait être expliqué par la protection des huiles enrichies par les extraits phénoliques contre l'oxydation. L'huile enrichie HGR C3 a une valeur plus importante que les autres échantillons avec un IP de 62,1 meqO<sub>2</sub> /kg, suivi par HG C3 (59,3 meqO<sub>2</sub> /kg) ; HGR C2 (57,7 meqO<sub>2</sub> /kg) ; HG C2 (55,9 meqO<sub>2</sub> /kg) ;  $\alpha$ -tocophérol (54,5 meqO<sub>2</sub> /kg), HGR C1 (52,4 meqO<sub>2</sub> /kg) et enfin la teneur la plus faible est celle de HG C1 avec la valeur de 45,8 meqO<sub>2</sub> /kg. En effet plus l'indice de peroxyde est faible, meilleure est la stabilité oxydative de l'huile au cours du stockage, et cela est due à la capacité de nos extraits à piéger l'O<sub>2</sub> actif par la réduction des composés primaires au cours de l'oxydation.

#### ✓ **Pourcentage de réduction d'indice peroxyde**

La **figure 15** représente les %RIP des huiles enrichies.

Les résultats de l'analyse statistique révèlent une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre l'ensemble des huiles enrichies et le standard Toco100 à l'exception de HGR C2 et HG C2, toute fois ces dernières sont significativement différentes. Par ailleurs l'huile enrichie d'extraits phénoliques d'écorce de grenade à C2ppm ne montre pas de différence significative avec HGR C3, celui-ci ne présente pas à son tour de différence significative avec HG C3 qui lui-même n'est pas significativement différent à HGR C1. Et enfin la HG C1 est significativement différente par rapport à toutes les autres huiles.



**Figure 15 :** Pourcentage de réduction de l'IP des huiles enrichies et du standard.

Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ( $p < 0,05$ ) ;

Les barres verticales représentent les écarts types ;

Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures ;

D'après l'histogramme, l'huile enrichie HG C1 enregistre un %RIP plus élevée

(47.47%) par rapport aux restes des huiles enrichies et le standard Toco100. parmi les huiles enrichies il ya une faible réduction de l'IP enregistrer pour HGR C3 (28.85%).

Les pourcentages de réduction de l'indice de peroxyde des différentes huiles enrichies varient selon l'ordre suivant :

HG C1 > HGR C1 > Toco100 > HG C2 > HGR C2 > HG C3 > HGR C3.

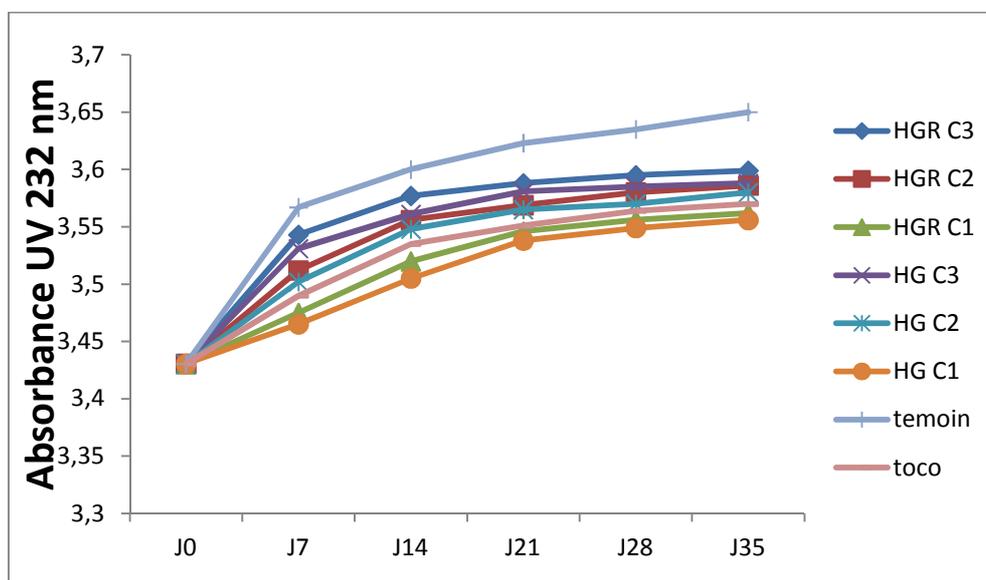
- **Extinction spécifique dans l'UV**

- ✓ **K232**

Le spectre UV fournit des informations sur l'état d'oxydation des huiles. En effet, les produits d'oxydation des huiles ayant un spectre caractéristique dans l'UV, en effet les hydroperoxydes linoléiques et les acides gras oxydés qui sont des diènes résultant de la décomposition des peroxydes présentent une bande d'absorption au voisinage de 232 nm (Gharbi *et al.*, 2015).

La **figure 16** représente l'évolution de l'extinction spécifique  $K_{232}$  de l'huile de soja enrichie d'extraits phénoliques d'écorces de grenade et de grains de raisins.

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative ( $P < 0,05$ ) entre l'ensemble des échantillons. Néanmoins GR C2 et G C3 ne sont pas significativement différents ( $P < 0,05$ ).



**Figure 16** : Evolution de l'extinction spécifique  $K_{232}$  de l'huile de soja enrichie en extraits EG et GR au cours de l'oxydation accélérée à 65°C comparée au témoin et au standard.

**Farmer et Sutton (2002)**, ont indiqué que l'augmentation de l'absorbance due à la formation des diènes conjugués est proportionnelle à la prise de l'oxygène et à la formation des peroxydes pendant la première étape d'oxydation.

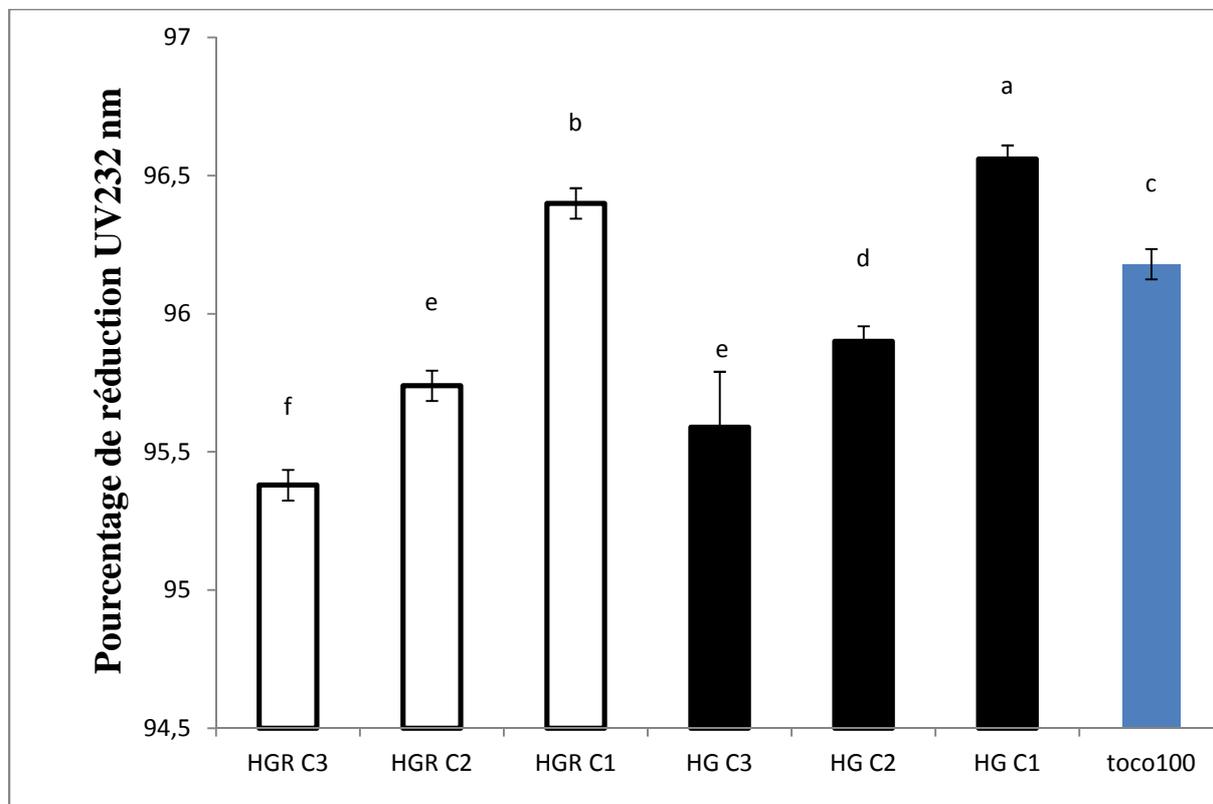
L'absorbance initiale à 232 de l'huile de soja enrichie et l'huile témoin est de 3,430. La valeur enregistrée pour l'huile témoin marque une augmentation accrue durant les 35 jours de stockage avec la valeur du coefficient d'extinction la plus importante au dernier jour de stockage soit 3,65.

Les huiles enrichies à différentes concentrations et le standard  $\alpha$ -tocophérol à 100 ppm ont donné des valeurs inférieures à celle du témoin. Cela peut s'expliquer par l'effet antioxydant des polyphénols sur la formation des composés primaires d'oxydation.

L'huile enrichie d'extrait d'écorces de grenade à C1 ppm semble être la plus stable par rapport aux autres huiles enrichies, standard et huile témoin, ce qui implique que l'extrait d'EG C1 ppm présenterait une meilleure protection de l'huile contre la peroxydation.

### ✓ Pourcentage de réduction de l'extinction spécifique $K_{232}$

La figure 17 représente les %R  $K_{232}$  de l'huile de soja enrichie d'extraits phénoliques d'écorces de grenade et de grains de raisins, et du standard.



**Figure 17 :** Pourcentage de réduction de l'extinction spécifique dans l'UV  $K_{232}$  des huiles enrichies et du standard au cours du stockage à 65°C.

*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ( $p < 0,05$ ) ;*

*Les barres verticales représentent les écarts types ;*

*Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures ;*

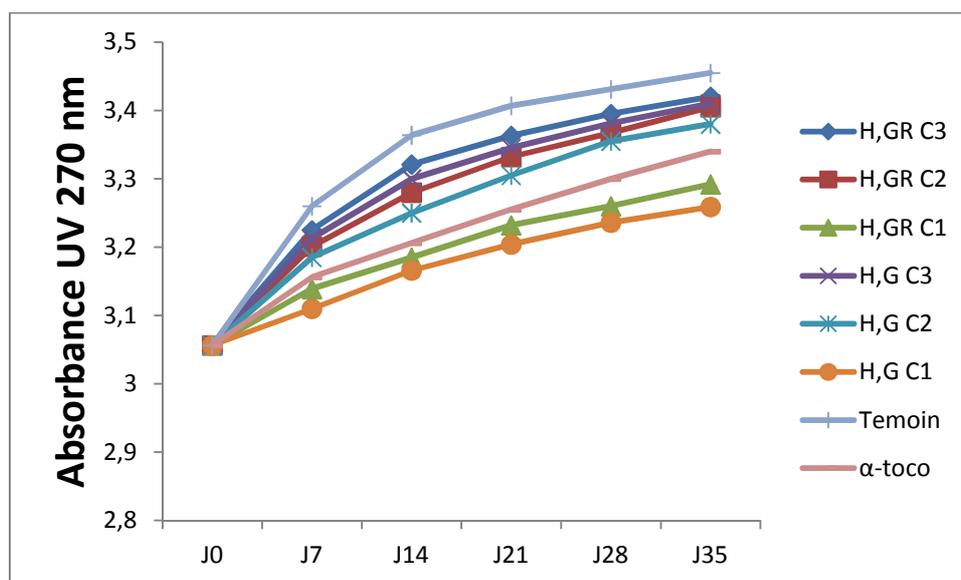
D'après l'histogramme, les résultats indiquent que l'huile enrichie HG C1 a un pourcentage plus élevé (96,56%) par rapport aux restes des huiles enrichies et le standard Toco100. Parmi les huiles enrichies il y a une faible valeur qui représente la HGR C3 (95,38%). Les pourcentages de réduction de l'extinction spécifique à 232nm des différentes huiles enrichies varient selon l'ordre suivant:

HG C1 > HGR C1 >  $\alpha$ -tocophérol > HG C2 > HGR C2  $\approx$  HG C3 > HGR C3.

### ✓ $K_{270}$

La figure 18 représente l'évolution de l'extinction spécifique  $K_{270}$  de l'huile de soja, enrichie d'extraits phénoliques d'écorces de grenade et de grains de raisins.

L'analyse statistique indique qu'il y a des différences significatives ( $P < 0,05$ ) entre tous les échantillons.



**Figure 18** : Evolution de l'extinction spécifique  $K_{270}$  de l'huile de soja enrichie en extraits phénoliques d'EG et de GR au cours de l'oxydation accélérée à 65°C.

L'absorbance initiale de l'extinction spécifique  $K_{270}$  de l'huile de soja enrichie et l'huile témoin est de 3,056.

D'après la **figure 18** l'extinction spécifique à 270nm de tous les échantillons a tendance à augmenter. Ce qui explique que la formation des produits secondaires d'oxydation (triènes) a augmenté légèrement durant toute la période de stockage à 65°C pour tous les échantillons étudiés.

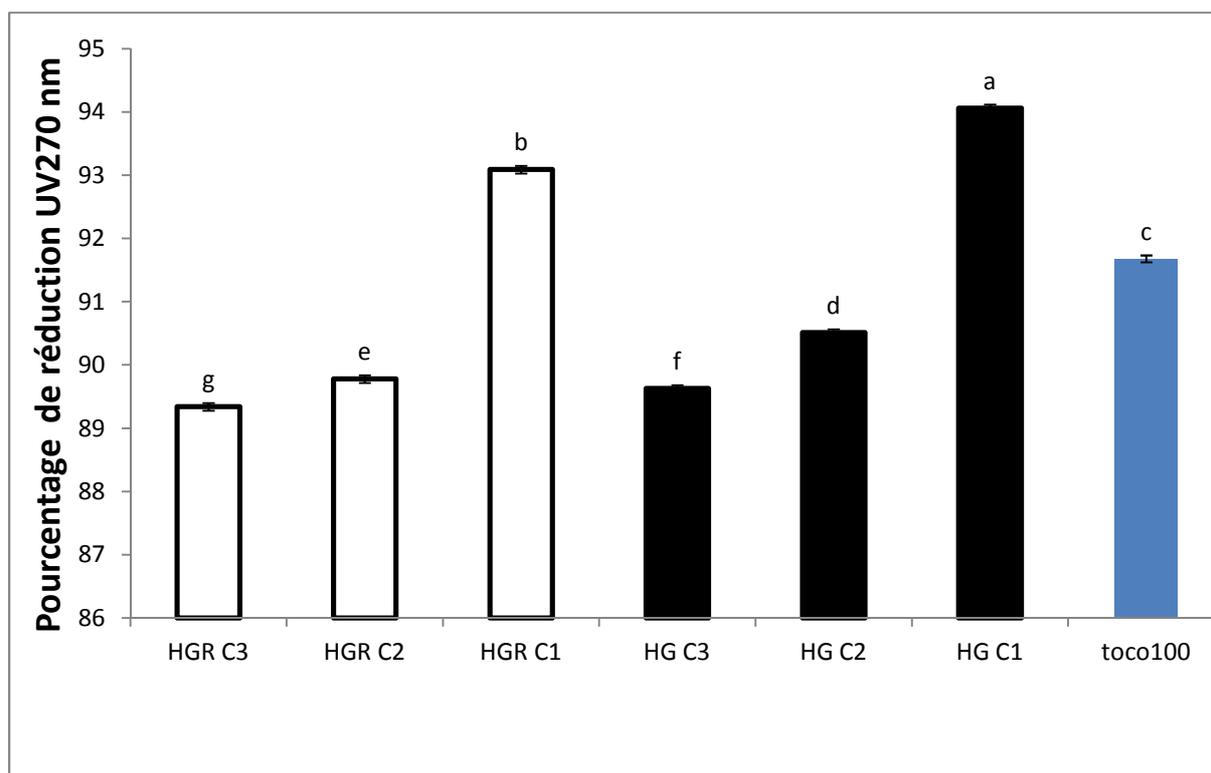
L'huile témoin marque une augmentation différente à celle des huiles enrichies et standard, en effet sa valeur augmente jusqu'à 3,455 à J35.

En ce qui concerne les huiles enrichies et le standard  $\alpha$ -tocophérol, les coefficients d'extinction sont plus faibles que ceux de l'huile témoin.

Plus l'extinction spécifique à 232nm est forte, plus le corps gras est peroxydé, plus celle à 270nm est forte, plus le corps gras est riche en produits secondaires d'oxydation (**Wolff, 1991**).

#### ✓ Pourcentage de réduction de l'extinction spécifique $K_{270}$

La **figure 19** représente les %R  $K_{232}$  de l'huile de soja enrichie d'extraits phénoliques d'écorces de grenade et de grains de raisins, et du standard.



**Figure 19 :** Pourcentage de réduction de l'extinction spécifique dans l'UV  $K_{270}$  des huiles enrichies et du standard au cours du stockage à 65°C.

*Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ( $p < 0,05$ ) ;*

*Les barres verticales représentent les écarts types ;*

*Les valeurs représentent la moyenne de trois mesures ;*

D'après l'histogramme présentés dans la **figure 19** les résultats indiquent que l'huile enrichie HG C1 a un pourcentage plus élevé (94,06%) par apport aux restes des huiles enrichies et le standard Toco100. parmi les huiles enrichies il ya une faible valeur enregistrée pour la HGR C3 (89,34%).

Les pourcentages de réduction de l'extinction spécifique des différentes huiles enrichies varient selon l'ordre suivant:

HG C1 > HGR C1 >  $\alpha$ -tocophérol > HG C2 > HGR C2 > HG C3 > HGR C3.

# *Conclusion*



## Conclusion

Ce présent travail a été mené en vue de l'extraction des composés phénoliques contenus dans les grains de raisin et l'écorce de grenade, ces derniers sont incorporer dans l'huiles de soja afin d'étudiée sa stabilité oxydative.

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux ont révélé que les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux sont obtenues pour l'extrait d'écorce de grenade (22143 mg EAG/100g) qui dépasse ceux de l'extrait des grains de raisin.

A la lumière des résultats obtenus, il résulte également que l'extrait d'écorce de grenade utilisé révèle une meilleure capacité à piéger le radical DPPH<sup>•</sup>, avec une IC<sub>50</sub> de (0,08µg/ml), quant à l'extrait des grains de raisin ils possèdent une meilleure activité réductrice du molybdate avec une EC<sub>50</sub> de 0,171333<sup>a</sup> (µg/ml).

Pour l'activité antioxydant d'huile enrichie. L'huile enrichie de l'extrait phénolique d'écorces de grenade à C3 possède la IC<sub>50</sub> la plus faible avec 18,33 mg/ml, amenant la conséquence qu'elle manifeste l'activité la plus importante contre le radical DPPH<sup>•</sup>, cependant l'huile témoin enregistre la IC<sub>50</sub> la plus élevée (30,433 mg/ml) cela démontre qu'elle possède l'activité antioxydante la plus faible.

Les extraits des échantillons (grains de raisin, écorces de grenade) sont utilisés avantageusement dans l'huile de soja afin de l'enrichir.

La stabilité oxydative est évaluée par la méthode de Shall, impliquant un stockage pendant 35 jours à l'étuve à une température de 65°C, les résultats de l'acidité, l'indice de peroxyde, l'extinction spécifique et le test du rancimat obtenus sont comme suit :

L'huile de soja a eu une meilleure stabilité à l'oxydation par hydrolyse (acidité) suite à l'ajout des extraits phénoliques d'écorce de grenade à C3 ainsi que le standard  $\alpha$ -tocophérol à 100ppm. L'extrait qui réduit le plus d'indice de peroxyde et extinction spécifique est l'huile G C1, donc meilleur stabilité a la peroxydation. Le temps d'induction obtenu par le test du rancimat est meilleur pour le standard  $\alpha$ -tocophérol ensuite HG C1 suivi de HGR C1.

La stabilité oxydative de l'huile de soja est dépendante de sa composition en acide gras polyinsaturés tel que l'acide linoléique et l'acide linoléique qui sont très importants du point

## *Conclusion*

de vue nutritionnel. L'addition de l'extrait d'écorce de grenade à cette huile assure donc la stabilité de ces acides gras.

Sur la base de ces propriétés, il serait possible d'utiliser l'extrait d'écorce de grenade pour formuler de nouveaux produits à utiliser dans l'industrie alimentaire comme antioxydants naturels et également comme conservateurs naturels et en pharmacologie.

Pour compléter notre étude il serait intéressant d'envisager d'autres aspects à savoir :

- De déterminer d'autres types d'activités telles que les activités anti-inflammatoires, antibactériennes etc;
- Augmenter la période de stockage pour le test de stabilité oxydative ;
- Effectuer une analyse sensorielle pour l'huile enrichie ;
- Quantification et identification des composés phénoliques par HPLC ;
- Étaler l'étude sur d'autres sous-produits.

# *Références bibliographiques*



## Références bibliographique

### A

**Alain Karleskind 1992.** Manuel des corps gras, Paris : Tec et Doc.

**Allain E, Comeaux L, Gorlier P, Lemarchand S, Le Strat P, Merlot M et Najman R. 1999.** Le Soja. Projet de première année 1999, Ecole Nationale Supérieure De Chimie De Rennes. France, pp. 1- 32.

**Amrani Joutei, K. et Y. Glories. 1994.** Etude en conditions modèles de l'extractibilité des composés phénoliques des pellicules et des pépins de raisins rouges. J. Int. Sci. Vigne Vin 28 : 303-317.

**Anamarija I. Mandić, Sonja M. Djilas, Jasna M. Čanadanović-Brunet, Gordana S. Ćetković and Jelena J. Vulić. 2009.** Antioxidant activity of white grape seed extracts on dpph radicals. Biblid: 1450-7188.P56

**Anonyme, 2013.**

### B

**Babbar N., Oberoi H., Sandhu S. et Bhargav H, 2012.** Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. Journal of Food Science and Technology, 51(10):2568–2575.

**Baydar N. G., Özkan G., Yaşar S. 2007.** Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. Food control, 18 (9): 1131-1136.

**Ben Nasr C., Ayed N. et Metche M. 1996.** Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel. Z Lebensm Unters Forsch, 203:374-378.

**Bertrand J.P., Laurent C., Leclercq., 1984.** Le monde du soja. Ed. La découverte, Repères p.6.

**Besbes S., Blecker, C., Deroanne, C., Lognay, G., Drira, N., & Attia, H. 2004.** Quality characteristics and oxidative stability of date seed oil during storage. Food science and technology international, 10(5), 333-338.

**Bozan B., Tosun G. et Ozgan D. 2008.** Study on polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera L.*) varieties cultivated in Turkey and their antioxidant activity. Food chemistry, 209: 426-430.

## Références bibliographique

**Buchold, H., Fat Sci. Technol 1993.** Enzymatic Separation of Phosphatides from Vegetable Oils, **95: 300–304.**

### C

**Cabanis, J. C., Cabanis, M. T., Cheynier, V., Teissedre, P. L. 1998.** Caractérisation de la matière première et des produits élaborés. Dans : OEnologie : fondements scientifiques et technologiques. Eds Flanzly, C., Lavoisier, Tec & Doc, Paris, pp 291-336.

**Cadot, Y., Miñana-Castelló, M. T., Chevalier, M. 2006.** histochemical changes in grape seeds from *Vitis vinifera L.* cv Cabernet franc during fruit development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, pp 9206-9215.

**C.E.E. 2568/91.** Communauté Economique Européenne. Règlement (CEE) N°2568/91 de la commission du 11 juillet 1991. Relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes : 27630.

**Chiou A, N Kalogeropoulos, Fotini N. Salta, Panayiota Efstathiou, Nikolaos K. Andrikopoulos,** Pan-frying of French fries in three different edible oils enriched with olive leaf extract: Oxidative stability and fate of microconstituents. *LWT - Food Science and Technology* 42 (2009) 1090–1097

**Chira K., Suh J.H., Saucier C. et Teissédre P.L. 2008.** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*. **6:75 –82.**

**Chougui N., Djerroud N., Naraoui F., Hadjal S., Khellaf A., Zeroual B. et Larbat R. 2014.** Physicochemical properties and storage stability of margarine containing *Opuntia ficus-indica* peel extract as antioxidant. *Food chemistry*, 173: 382-390.

**C.O.I. 2015.** Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux huiles de grignons d'olive. Madrid. Espagne. Conseil Oléicole International/T.15/NC n°3/rév.8

**Cossut J., Defrenne B., Desmedt C., Ferroul S., Garnet S., Humbert S., Roelstraete L., Vanuxeem M., Vidal D. 2002.** 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 Agroalimentaire de Lille. Université des Sciences et Technologies de Lille, Institut d'Administration des Entreprises de Lille, pp. 35.

## *Références bibliographique*

**Cossut, J., Defrenne B., Desmedt C., Ferroul S., Garnet S.,Humbert S., Roelstraete L., Vanuxeem M., Vidal D. 2002**"Les corps gras: Entre tradition et modernité."DESS QUALIMAPA (Gestion de la Qualité Nutritionnelle et Marketing des Produits Alimentaires), Institut Agro-Alimentaire de Lille Université des Sciences et Technologies de Lille, Institut d'Administration des Entreprises de Lille, pp. 26.

**Cossut, J., Defrenne B., Desmedt C., Ferroul S., Garnet S.,Humbert S., Roelstraete L., Vanuxeem M., Vidal D.(2002)** "Les corps gras: Entre tradition et modernité." DESS QUALIMAPA (Gestion de la Qualité Nutritionnelle et Marketing des Produits Alimentaires), Institut Agro-Alimentaire de Lille Université des Sciences et Technologies de Lille, Institut d'Administration des Entreprises de Lille, pp. 27± 28.

**Cuvelier, M.E. et Maillard, M.N. (2012).**Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. OCL ; 19 (2) :125-132. Doi : 10.1684/ocl.2012.0440.

### **D**

**Demelin E. 2012.**Le raisin et ses applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université de Limoges, Faculté de Pharmacie, 109 p.

**Doumouya S. 2014.**Compréhension des facteurs physiques et physiologiques impliqués dans les changements de propriétés mécaniques de la baie de raisin au cours de la maturation : impact de l'hétérogénéité de la matière première. Thèse de Doctorat. Université de NANTES, faculté des sciences et des techniques, 238 p.

### **E**

**Evans, R. J., & Reyhout, G. S. 1992.**Alternates to synthetic antioxidants. In G.Charalambous (Ed.). Food science and human nutrition (pp. 27-42). Amsterdam Elsevier.

**Evreinoff, V. 1957.**Contribution à l'étude du Grenadier. Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée **4**(3). 124-138.

**Eymard S. (2003).** Mise en évidence et suivit de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*trachurus trachurus*) choix des procédés. These de l'Universite de Nantes. pp 126-128.

## Références bibliographique

### F

**Farag, A.M., Skaar D., Nimick DA., MacConnell E., et Hogstrand C. 2003.**Characterizing aquatic health using salmonid mortality, physiology, and biomass estimates in streams with elevated concentrations of arsenic, cadmium, copper, lead, and zinc in the Boulder River watershed, Montana. *Transactions of the American Fisheries Society*. 132:450-467.

**Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedi, F. M., & El-Baroty, G. S. A. 1989.**Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, 52, 665-667.

**Faria, A. and C. Calhau 2011.**"The bioactivity of pomegranate: impact on health and disease." *Critical reviews in food science and nutrition*51 (7): 626-634.

**Farmer et Sutton 2002.**Peroxidation in relation to oleifenic structure. In : *Foods lipids chemistry, Nutrition and Biotechnology*. pp 470.

**François R. 1974.**Les industries des corps gras : biochimie - extraction –raffinagenuisances et réglementation. Edition : Tec et Doc- Lavoisier.

**Frankel, E.N. 1998.**Lipid oxidation. The Oily Press (vol. 10). Dundee, Scotland.

### G

**Garcia-jares C ., Vazquez A., Lamas J. P., Pajaro M., Alvarez-Casas M. et Lors M. 2015.** Antioxidant white grape seed phenolic pressurized liquid extracts from different varieties.*antioxydants*, 4: 737-749.

**Gertz, C, Klostermann, S., & Kochhar, S. P. 2000.** Testing and comparing oxidative stability of vegetable oil and fats at frying temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102, 543-551.

**Gharbi , S & Harhar H & Bouzoubaâ, Z & Elmadani, N & Charrouf, Z. 2015.** The Effect of Storage Conditions and Roasting Kernels on Extra Virgin Argan Oil Quality. *J. Mater. Environ. Sci.*. 6. p254-263.

**GhediraK. Goetz P.Le jeune 2012.** "Vitis vinifera var. tinctoria L. : vigne rouge Ampelidaceae (Vitaceae)." *Dumenat de phytothérapie*, Paris-XIII, F-93017 Bobigny cedex, France. Laboratoire de pharmacognosie, faculté de pharmacie de Monastir, rue Avicenne, 5000 Monastir, Tunisie.F-91800 Epinay-sous-Senart, France.P258.

## Références bibliographique

**Gordon MH. 1990.** The mechanism of antioxidant in vitro. In: Hudson BJJ(ed) Food antioxidants. Elsevier Applied Science, London.

**Grigoraş C. G. 2012.** Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse de Doctorat. Université Orléans, école Doctorale sciences et technologies, 262 p.

**Gunstone, Frank D., & Wang, Tong. 2002.** Vegetable oils in food technology composition, properties and uses.

**Guo, S., Deng, Q., Xiao, J., Xie, B., and Sun, Z. 2007.** Evaluation of antioxidant activity and preventing DNA damage effect of pomegranate extracts by chemiluminescence method. *J Agric Food Chem.* **55**(8): 3134–3140.

### H

**Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T. L. 1998.** High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 1887±1892.

**Halliwell B, Gutteridge JMC. 1989.** Free radicals in biology and medicine. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford University press.

**Hattori, M., Yamaji-Tsukamoto, K., Kimagai, H., Feng, Y., & Takahashi, K. 1998.** Antioxidative activity of soluble elastin peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**, 2167±2170.

**Hmid, I. 2013.** Contribution à la valorisation alimentaire de la Grenade Marocaine (*Punica Granatum L*) caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité de leur jus frais, Université d'Angers.

### I

**ISO 15305 : 1998.** Norme internationale. Corps gras d'origines animale et végétale.

**ISO 36562002.** Corps gras d'origine animale et végétale. Détermination de l'absorbance dans l'ultraviolet, exprimée sous la forme d'extinction spécifique en lumière ultraviolette.

**ISO 3960/ 2007(F).**

**ISO 660/2009 (f).**

## *Références bibliographique*

**ISO NORME INTERNATIONALE 2006. Méthode ISO 6886:2006 (F).** Corps gras d'origines animale et végétale – détermination de la stabilité à l'oxydation (essai d'oxydation accélérée). Ed. 2: 1-14.

### **J**

**Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brulé G, 2008.**Oxydation des lipides. In : Science des aliments. Edition TEC & DOC. Lavoisier. pp 96-120.

**Judde A, 2004.** Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique. Oléagineux corps gras Lipides.11 : 414-418.

### **K**

**Karleskind A, 1992.**coordination manuel des corps gras. Eddition Tec et Doc. Paris

**Kim H. d., Halim, T. S. and Min, D.B, 2007.** Hydroperoxide as a prooxidant in the oxidative stability of soybean oil. Journal of the American oil chemists' society.

**Kim WG, Kim JP, Kim CJ, Lee KH, Yoo ID. 1996.** Benzastatin A, B, C and D: new free radical scavengers from *Streptomyces nitrosporeus* 30643 J Antibiot 49:20-25.

**Kim, S.Y., Kim, J.H., Kim, S.K., OH, M.Y. & Hung, M.Y. 1994.**Antioxidant activities of selected oriental herbs extracts. Journal of the American Oil Chemical Society, 71,631-640.

**Kouame.28 juin 2004.**A. E .F : Etude de la migration des antioxydants phénoliques dans les boissons en sachet (Abidjan-cote d'ivoire). Thèse de doctorat en pharmacie. Université Cheikh anta diop de DakarN° 26.

### **L**

**L'officiel N°86.2011.** Phytothérapie Nature te Sante : La grenade fruit du grande. L'officiel (EDS), 3p.

**Labalette, F., Bourrel, C., Jouffret, P., Lecomte, V., Quinsac, A., Ledoux, S. 2010.**Panorama et futur de la filière du soja français. Premier oléagineux mondial.V17.N6.P345-355.

**labat E, 2013.** Le soja : Influence de sa consommation sur la santé humaine et conséquences de l'expansion de sa culture au niveau mondiale. Thèse de doctorat. Université

## Références bibliographique

de Toulouse III Paul Sabatier. Faculté des sciences pharmaceutiques. pp 22, 23.

**Lairini S., Bouslamti R., Zerrouq F., Farah A. 2014.** "Valorisation de l'extrait aqueux de l'écorce de fruit de *Punica granatum* par l'étude de ses activités antimicrobienne et antioxydante (Enhancement of the aqueous extract of the bark of *Punica granatum* fruit through the study of its antimicrobial and antioxidant activities)." *J Mater Env. Sci* **5** (S1): 2314-2318.

**Lecerf, J.-M. 2011.** Vegetable oils: Particularities and usefulness. *Médecine des maladies Métaboliques*, 5(3): pp. 257-262.

**Levadoux, L. 1951.** La sélection et l'hybridation chez la vigne. *Dans* : Eds Montpellier, A. E. N. A., pp 9-195.

**Li, Y. F., Guo, C. J., Yang, J. J., Wei, J. Y., Xu, J., and Cheng, S. 2006.** Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96: 254–260.

### M

**Marc F., Davin A., Deglene-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P. 2004.** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S:medicine sciences* 20: 458-63.

**Melgarejo, P., 1993.** Selección y tipificación varietal de granado (*Punica granatum* L.) [Ph.D. thesis]. Valencia. Spain : Univ. Politécnica de Valencia (UPV).

**Mezita A. 2009.** Activités antioxydants des extraits des graines de *Nigella Sativa* Etude in vitro. These de l'université el Haj Lakhdar Batna.

**Mohdaly, A. A. A., Sarhan, M. A., Mahmoud, A., Ramadan, M. F., et Smetanska, I. 2010.** Antioxydant efficacy of potato peels and sugar beet pulpe extracts in vegetable oils protection. *Food chemistry*. 123 (4). 1019-1026

**Multon J.L, 2002.** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaire. 3ème éd, collection science et technique agroalimentaire paris Tec et Doc : Lavoisier, 2002.747p.

## Références bibliographique

### N

**Nathalie B., Jean-paul C., 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.

**NF EN ISO 660 : 1999.** Corps gras d'origines animale et végétale. Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité.

**NF T 60-220 : 1995.** Corps gras d'origines animale et végétale. Détermination de l'indice de peroxyde.

**Nizamul Gulamuddin S. Waris A. Mohd R. et Malik I. 2015.** A comprehensive review of phytochemical and pharmacological profile of Anar (*Punica granatum* Linn): A heaven's fruit. *Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*. 1(1): 22-26.

### O

**Okonogi, S., Duangrat, C., Anuchpreeda, S., Tachakittirungrod, S., and Chowwanapoonpohn, S. 2007.** Comparison of antioxidant capacities and cytotoxicities of certain fruit peels. *Food Chem.* **103**(3) 839–846.

### P

**Pages, X., Morin, O., Birot, C., Gaud, M., Fazeuilh, S., & Gouband, M. 2010.** Raffinage des huiles et des corps gras et élimination des contaminants. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 17(2), 86–99. doi:10.1051/ocl.2010.030.

**PLANCHON G., COLLIN E. 1875** Traité pratique de la détermination des drogues simples d'origine végétale. Librairie F. Savy. Tome I. Pages 235-236 et 307-308.

**Poaty- poaty B. 2009.** Modification chimique, activités pour les rendre lipophiles application aux tanins. These de l'universite de Henri –Poincaré NancyI.

**Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. 1999.** Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphor molybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*. 269, 337–341.

## Références bibliographique

### R

**Rahmani M. 2007.** Méthode d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides : les technologies de laboratoire. N°2.

**Régis J, Joffre F et fine 2016.** "Impact de la trituration et du raffinage sur la teneur en micronutriments des huiles végétales de colza, soja et tournesol." V23. N3.P5.

**Reglero, R. G. J., Tabera, G. J. J., Ibañez, E. M. E., López-Sebastián, L. S., Ramos, M. E., Ballester, S. L. & Bueno, M. J. M. 1999.** Proceso de extracción de antioxidantes naturales y antioxidante obtenido mediante dicho proceso. Patente española 2 128 996).

**Ribéreau-Gayon, 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Edition. Dunod. Paris p1-23.

**Rice-Evans. 1996.** Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol Med* 20:933–956.

### S

**Sahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., Özer, H. 2004.** Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food control*, 15(7), 549-557.

**Salta F.N., Mylona A., Chiou A., Boskou G. et Andrikopoulos N.K. 2009.** Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International*, 13: 413-421.

**Sanchez Moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.

**Sherwin, E. R. (1990).** Antioxidants. In A. L. Branen, P. M. Davidson & S. Salminen, *Food antioxidants*. New York: Marcel Dekker Inc.) (Wanasundara, U. N., & Shahidi, F. (1998). Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils. *Food Chemistry*, 63, 335±342).

## *Références bibliographique*

### **T**

**Tanguy M., 2009.**Antioxydants première partie : les antioxydants dans l'alimentation. Médecine vol 5 (6) : 256- 260.

### **W**

**Wald, E. 2009.**Le grenadier (*punica granatum*): Plante historique et évolutions thérapeutiques récentes, UHP-Université Henri Poincaré.

**Ward, O. P. and A. Singh 2005.**"Omega-3/6 fatty acids: alternative sources of production." *Process Biochemistry*40 (12): 3627-3652.

**Warner K. 2002.**Chemistry of frying fats. In: Akoh CC and Min D.B. (eds), 104.

**Wolff, 1968.**Manuel d'analyse des corps gras. p. p.245.

**Wu P. et W. W. Nawar. 1986.** A technique for monitoring the quality of used frying oils. *JAOCS*.n°10Vol.63,

### **Z**

**Zhang L.-H., Li L.-L., Li Y.-X., Zhang Y.-H. 2006.** In vitro antioxidant activities of fruits and leaves of pomegranate. XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Plants as Food and Medicine: The Utilization 765.

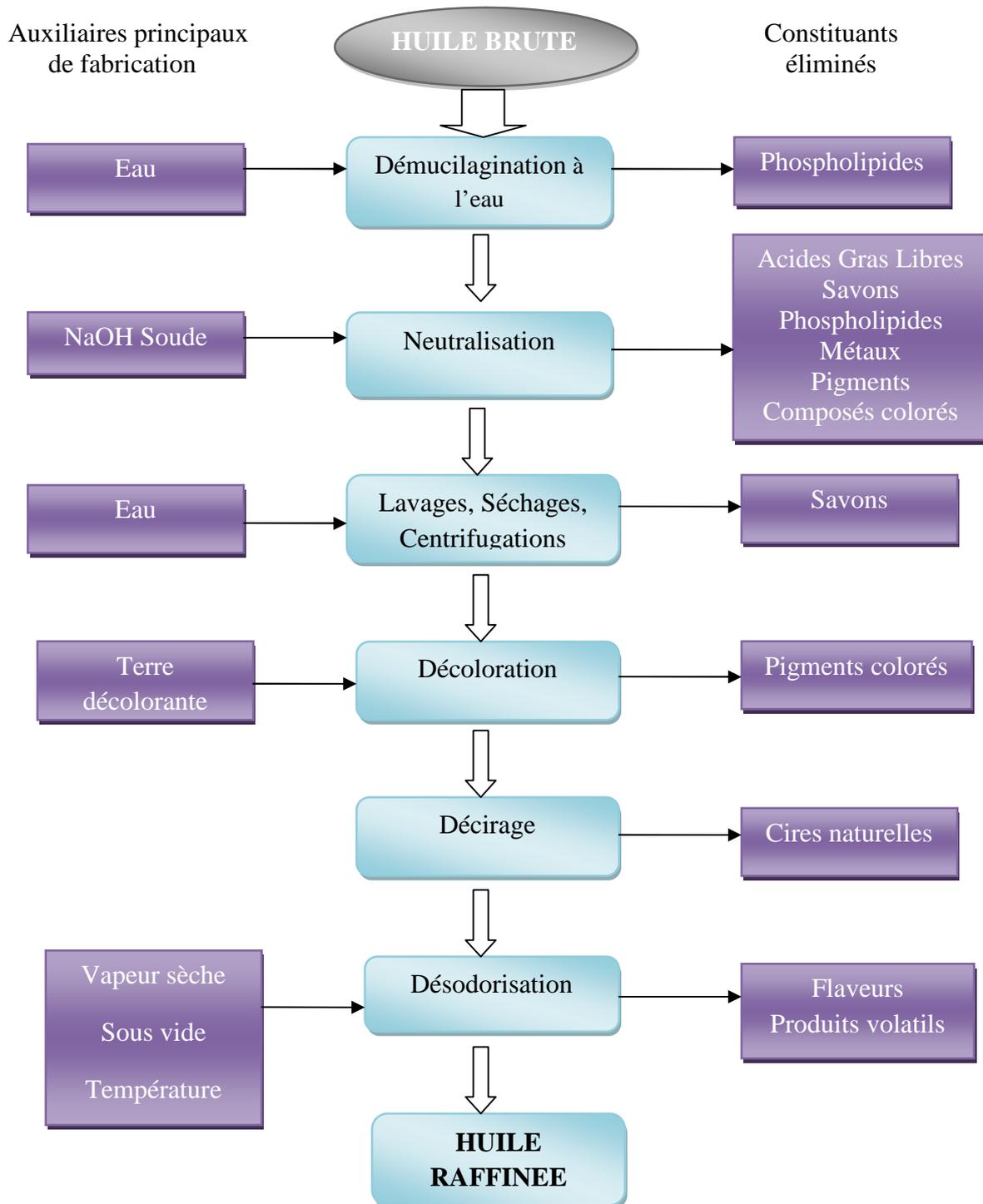
**Zhou L., Wang W., Huang J., Ding Y., Pan Z., Zhao Y., Zhang R., Hua B., et Zeng X. 2016.** *In vitro* extraction and fermentation ph polyphenols from grape seeds (*Vitis vinifer*) by human intestinal microbiota. *Food and Function*, 7: 1959-1967.

[http://fr.wikipedia.org/wiki/Punica\\_granatum](http://fr.wikipedia.org/wiki/Punica_granatum)

# *Annexes*

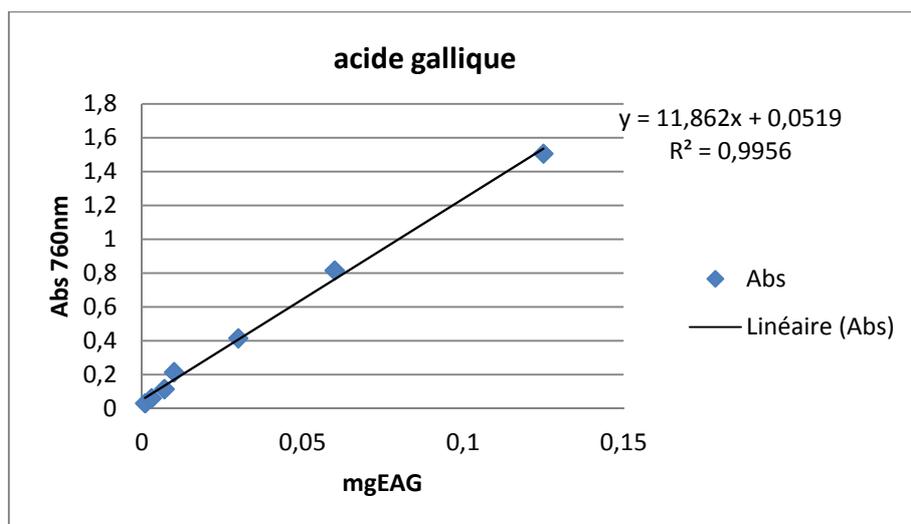
# Annexe

**Annexe I : Les étapes du raffinage chimique des huiles végétales brutes Cossut, J., B. Defrenne, et al. (2002).**

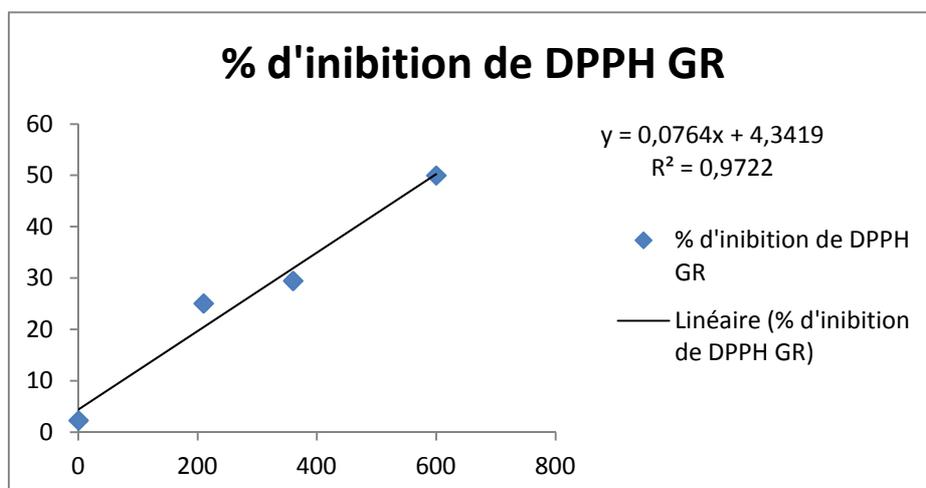
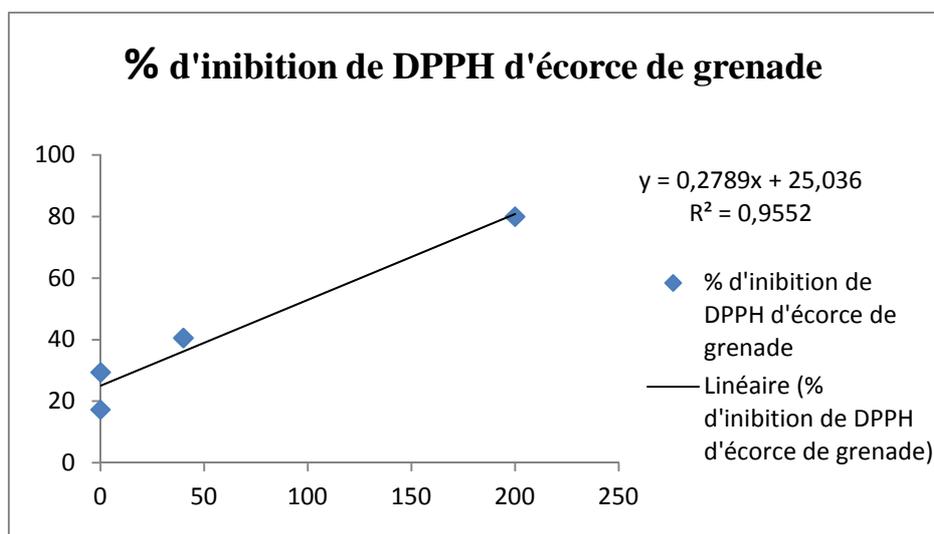


## Annexe

### Annexe II : Courbe d'étalonnage acide gallique.

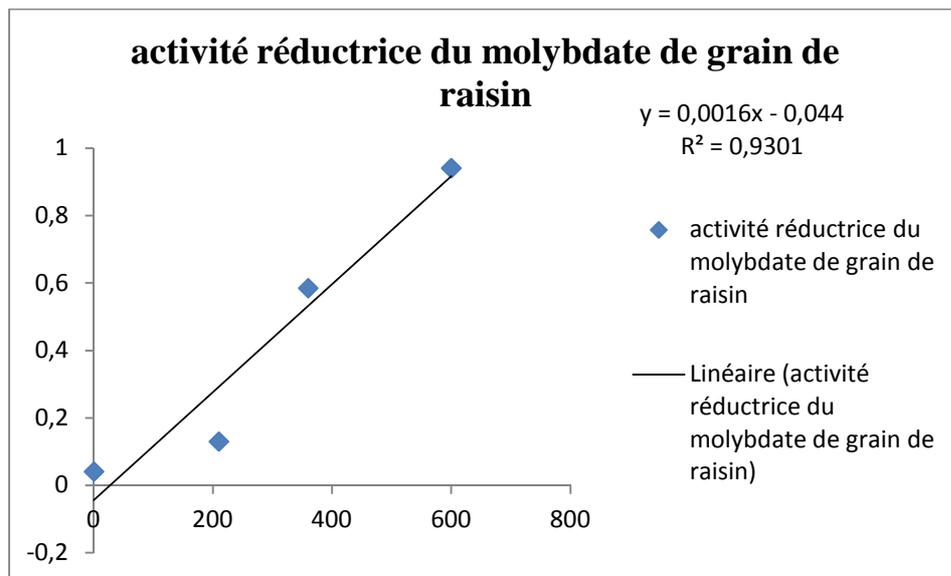
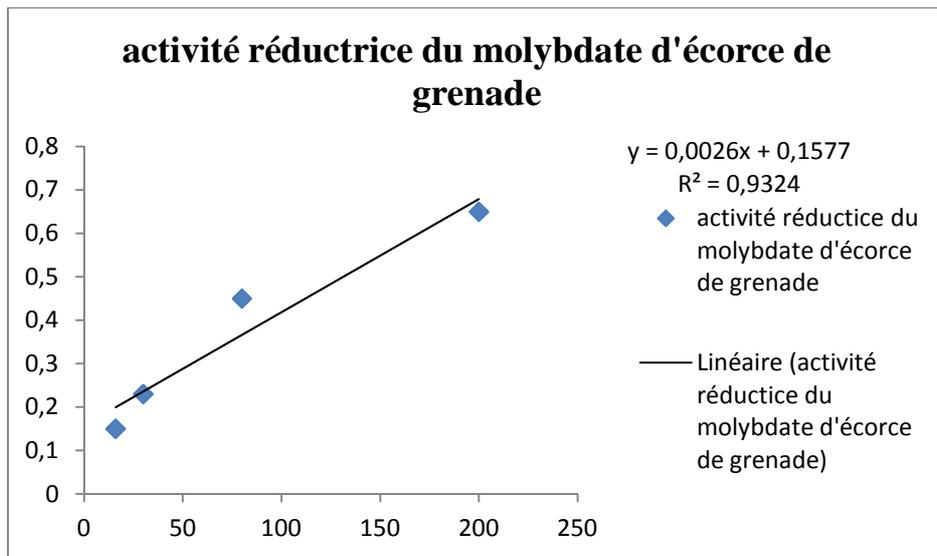


### Annexe III : pourcentage d'inhibition du radical DPPH pour la grenade et grains de raisins .

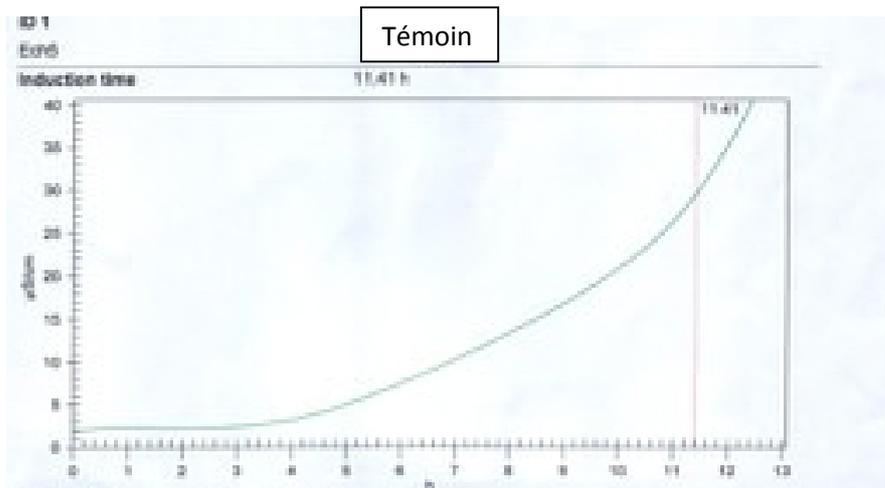


## Annexe

### Annexe IV : activité réductrice du molybdate d'écorce de grenade et de grains de raisins.

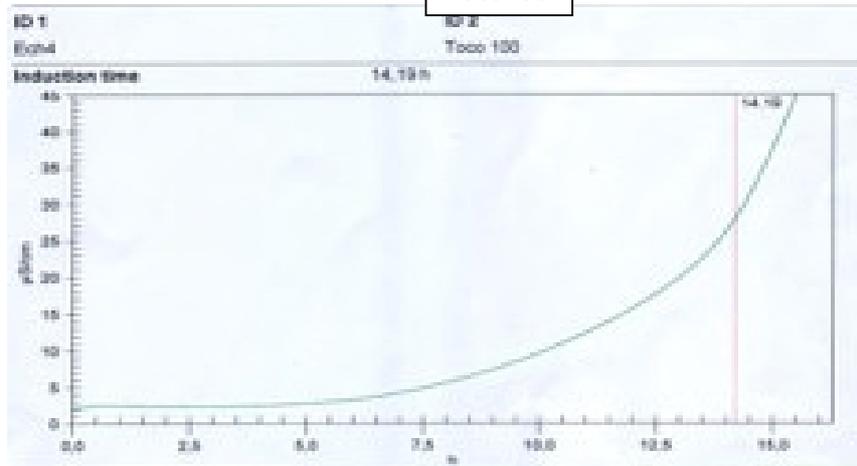


### Annexe V : Résultat du test de stabilité oxydative « Rancimat »

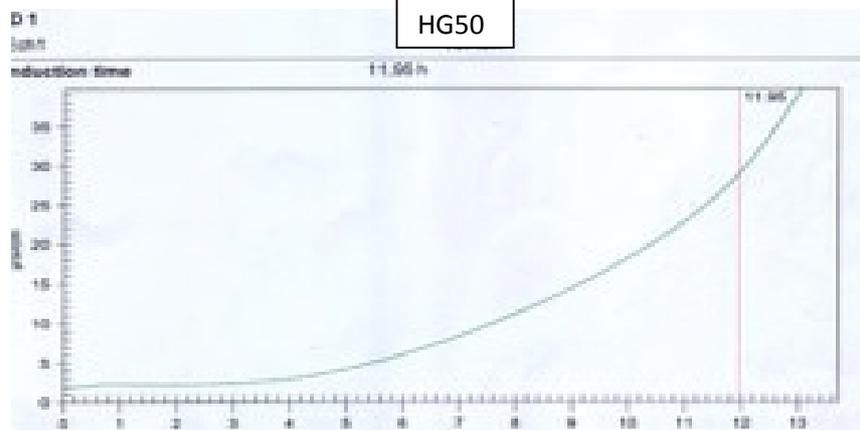


# Annexe

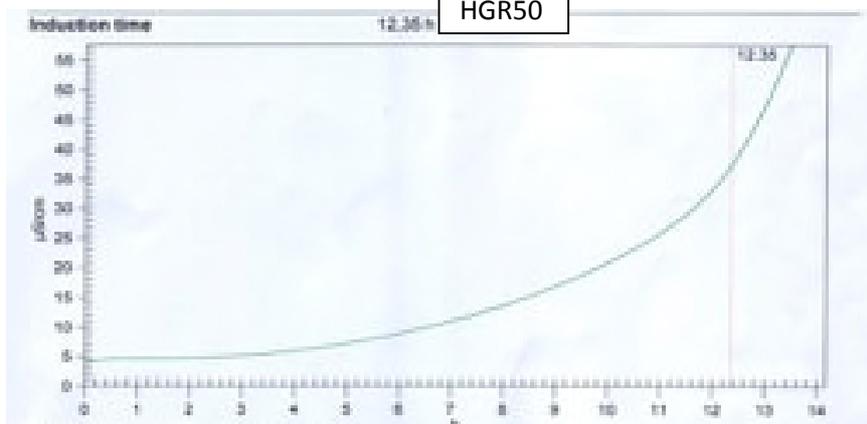
Toco100



HG50



HGR50



## Résumé

La présente étude porte sur l'extraction des composés phénoliques et l'activité antioxydante d'écorces de grenade et des grains de raisins obtenus par méthode de macération.

L'activité antioxydante sur le DPPH• d'EG est meilleure que celle des GR. A l'opposé, l'activité réductrice du molybdate est meilleure pour les GR.

Une huile de soja est additionnée d'extraits d'EG et de GR et la stabilité oxydative est évaluée par le test de shaal à 65° C.

L'évolution de l'état d'oxydation mesurée par l'indice de peroxyde (IP), l'extinction spécifique dans l'ultraviolet et l'acidité a révélé une bonne stabilité pour les huiles enrichies.

Le test de rancimata montré un temps d'induction plus faible pour standard  $\alpha$ -tocophérol a 100 ppm, HG C1 et HGR C1 par rapport au témoin.

L'activité antioxydante sur le DPPH• des huiles enrichies est meilleure que celle de l'huile témoin.

**Mots clés :** écorces de grenades, grains de raisins, polyphénols, extrait phénolique, antioxydants, huile de soja, oxydation, stabilité oxydative.

## Abstract

The present study focuses the extraction of phenolic compounds and the antioxidant activity of pomegranate peels and grape seeds obtained by maceration.

Antioxidant activity on EG DPPH is better than GR. In contrast, the reducing activity of molybdate is better for GR.

Soybean oil is supplemented with EG and GR extracts and the oxidative stability is evaluated by the shaal test at 65 ° C.

The evolution of the oxidation state measured by the peroxide index (IP), the specific extinction in the ultraviolet and the acidity revealed a good stability for the enriched oils.

The rancimat test showed a lower induction time for standard  $\alpha$ -tocopherol at 100 ppm, HG C1 and HGR C1 compared to the control.

The antioxidant activity on DPPH of enriched oils is better than that of the control oil.

**Key words:** pomegranate peels, grape seeds, polyphenols, phenolic extract, antioxidants, soybean oil, oxidation, oxidative stability.