

Etude de la Résistance à l'Oxydation des Huiles de *Pentaclethra Macrophylla* Benth Stockées Pendant Six Mois

MWANAMOKI M. P.^{1*}, DUEZ P.², STÉVIGNY C.³, TSHIOMBE V.M.⁴

Paper History

Received:

October 17, 2017

Revised:

August 10, 2018

Accepted:

December 17, 2018

Published:

March 27, 2019

Keywords:

Oils, *Pentaclethra macrophylla* Benth, oxidative stress, stockage, Rancimat method, peroxide value, acid value, Gas phase chromatography.

ABSTRACT

Resistance to oxidation of *Pentaclethra macrophylla* Benth oils store for six months.

Most existing oils are of vegetable origin. Oils extracted from seeds (such as olive, peanut, sesame, rapeseed, maize, sunflower, soybean) by chemical solvents undergo, during their conservation, oxidative alteration leading to the loss of their oxidative potential. Oils extracted by mechanical processes (pressure associated to centrifugation or not) naturally contain more antioxidant substances (tocopherols, polyphenols, etc.), than refined oils, which protect them from oxidation. Lipid oxidation is the principal factor limiting the lifetime of oils rich in polyunsaturated fatty acids and contributes to diminishing their nutritional value. In the present study, oils extracted, from the *Pentaclethra macrophylla* Benth seeds, by pressure and by solvent, were compared on their fatty acids content and their oxidation resistance during six months of storage. Peroxide value increased for oils extracted by solvent whereas acid value revealed low number for both types of extracted oils. Oils extracted by pressure and stored for six months were more resistant to the oxidative stress imposed by the rancimat method. Unsaturated fatty acid content, determined by gas chromatography, showed a regression compared to saturated fatty acids, in both cases. The analysis of variance did not reveal significant difference, at 5% levels, in fatty acids content during six months of storage in both types of oils.

¹ Institut Supérieur des Techniques Médicales/Kinshasa, Section Nutrition et diététique, B.P. 774, Kinshasa XI, République Démocratique du CONGO ;

² Université de Mons, Place du Parc, B7000 Mons, Belgique ;

³ Université Libre de Bruxelles, Institut de Pharmacie, Campus de la Plaine, 1050 Bruxelles, Belgique ;

⁴ Département chimie et industries agricoles, Faculté des Sciences Agronomiques, Université de Kinshasa, B.P. 117, Kinshasa XI, R.D. Congo

* To whom correspondence should be addressed: graciosamwa@gmail.com; mpaolapam@yahoo.fr

INTRODUCTION

L'oxydation des lipides limite la durée de vie des produits alimentaires. De nombreux facteurs sont susceptibles d'influer sur la réaction, soit en la prévenant, soit en la favorisant. Il s'agit de facteurs intrinsèques aux produits tels que la structure des lipides, la présence de molécules pro-oxydantes telles que les hèmes, les ions métalliques, les enzymes, les antioxydants en l'occurrence les tocophérols, les caroténoïdes, les composés phénoliques et des facteurs externes tels que la température, la lumière, la pression partielle en oxygène, l'activité de l'eau, les conditions de stockage et de transformation [BRANNAN, 1997].

Lorsqu'ils sont extraits de leur contexte de protection naturelle (cellules oléifères pour les Graisses et huiles végétales, adipocytes pour les corps gras animaux), tous les lipides subissent au cours de leur conservation ou de leurs utilisations, des altérations de type autoxydatif [PERRIN, 1993].

Les huiles pressées à froid contiennent naturellement plus de substances antioxydantes que les huiles raffinées. Lorsque les antioxydants contenus dans l'huile sont épuisés, elle commence à rancir : elle prend un goût âcre et une odeur désagréable (elle n'est alors plus consommable) [ZOELEIN, 2001 ; KAMAL-ELDIN et al., 2002].

Les antioxydants sont des substances qui, présentes à faibles concentrations par comparaison au substrat oxydable, sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les processus d'oxydation et leurs conséquences [PSZCZOLA, 2001 ; CILLARD et CILLARD, 2004].

L'huile issue d'une seule pression à froid possède tous ses nutriments, notamment les vitamines, oméga-3, oméga-6, ... et aussi des substances comme des cires et des mucilages, et elle a donc souvent une saveur plus végétale et parfois une couleur plus marquée. Elle est toujours pure car elle ne contient pas de mélange des matières premières ni des produits finis [KANSCI, 1996 ; KORTENSKA et al., 2002 ; KULASE et al., 2003].

L'auto oxydation d'un corps gras est un phénomène purement chimique très complexe mettant en jeu des réactions radicalaires capables de s'auto-entretenir et qui ne nécessitent que la présence de l'oxygène atmosphérique [CILLARD et CILLARD, 2006]. Les premiers produits formés par l'attaque de l'oxygène actif sur les doubles liaisons de chaîne d'acides gras, sont des composés peroxydes instables, hydro peroxydes dont les structures dépendent de la nature des acides gras attaqués selon qu'ils sont mono-, di-, tri- ou polyinsaturés.

A ces composés s'ajoutent les radicaux tels que les alcoyles [GRENOT et al., 2004]. Les radicaux alcoyles qui en dérivent par scission, conduisent à de multiples produits secondaires dont la nature et les proportions dépendent de différents paramètres. Parmi ces produits apparaissent des molécules volatiles (principalement des aldéhydes, des hydrocarbures, des alcools, des acides...) qui modifient la saveur d'origine des corps gras. Le groupe de produits volatils le plus important en quantité (quelques centaines de ppb ou µg/kg) est celui des aldéhydes (de C5 à C12), d'où la notion de « rancissement aldéhydique ». Le seuil de perception de ces produits dans les corps gras est très faible [PERRIN, 1993].

Les composés secondaires d'oxydation non volatils sont principalement des triglycérides oxydés monomères comportant au moins un acide gras altéré porteur d'un groupement fonctionnel de type hydroxyle, carbonyle ou époxyde.

La présence de tous ces composés diminue la valeur nutritionnelle des lipides ainsi que leur qualité organoleptique à cause du rancissement aldéhydique qui produit une saveur rance due à des composés carbonylés (C4 à C12) [GRENOT et al., 2004 ; ROSSIGNOL-CASTERA, 2009].

L'oxydation est un phénomène spontané mais dont la cinétique peut être accélérée ou ralentie sous l'effet de différents paramètres dont la nature des lipides et en particulier des acides gras libres, la température, la présence de lumière, en particulier d'UV, la teneur en éléments traces pro-oxydants (métaux), l'état d'hydrolyse des glycérides, l'activité de certaines enzymes initiateurs (lipoxydases et lipoxygénases), la présence de molécules dites « antioxydantes » (ou antioxygènes), la présence d'autres produits à effet ralentisseur (chélateurs de métaux absorbant l'oxygène, etc.) ou accélérateurs (pigments) [FRANKEL, 1998].

Les méthodes analytiques mises en œuvre pour suivre ces réactions sont généralement physico-chimiques et permettent de doser les produits de dégradations formés.

Dans le cas de l'autooxydation, citons principalement l'indice de peroxyde qui est une mesure sensible, utile pour évaluer l'état d'oxydation (en phase d'initiation) d'une huile raffinée, ou pour suivre le comportement d'un corps gras stocké à température peu élevée (phase de propagation),

mais elle ne peut rendre compte du passé oxydatif du corps gras.

Un corps gras fraîchement raffiné a un indice de peroxyde inférieur à 1 milliéquivalent d'O₂ par kg, qui peut atteindre 2 ou 3 meq/kg après conditionnement et transport, 5 ou 10 meq/kg en fin d'un stockage de 12 mois (DLUO des huiles commerciales) dans son emballage d'origine, sans pour autant présenter de défaut inacceptable sur le plan sensoriel.

A titre indicatif, le Codex Alimentarius fixe une valeur de 10 meq/kg pour les huiles raffinées, 15 meq/kg pour les huiles vierges (20 meq/kg pour les huiles d'olive vierges). Cette valeur « seuil » peut cependant être différente dans le cas de matières grasses extraites de matrices alimentaires complexes.

Dans le cadre de la valorisation des ressources phyto-génétiques de la sous-région d'Afrique centrale tant recommandée par la F.A.O., nous avons choisi *Pentaclethra macrophylla* Benth qui est une plante de la famille des mimosaceae [LEJOLLY, 2003]. On en extrait une huile comestible à partir de ses graines qui sont consommées en République Démocratique du Congo [LEMMENS, 2007].

Dans la présente étude, nous avons mesuré la résistance à l'oxydation des huiles de *Pentaclethra macrophylla* Benth extraites par solvant et par presse et cela au bout de six mois de conservation ainsi que la variation de leurs teneurs en acides gras. Ceci conduit à déterminer la qualité nutritionnelle de ces huiles en déterminant les indices chimiques ayant trait à l'altération oxydative de l'huile tels que l'indice de peroxyde, l'indice d'acide et l'acidité. Elles ont également été soumises au stress oxydatif, pour mesurer leur résistance à l'oxydation, par la méthode Rancimat [RAHMANI, 2007]. La chromatographie en phase gazeuse a permis de déterminer la variation des teneurs en acides gras, dans les deux types d'huiles conservées et exposées à l'air libre au bout de six mois de stockage [ALONSO et al., 2007].

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Matériel d'étude

Le matériel végétal de la présente étude est constitué des huiles extraites des amandes des graines de *Pentaclethra macrophylla* Benth.

a. Sites de prélèvement

Les graines utilisées pour l'obtention de ces huiles proviennent du Lac de Ma Vallée (Kinshasa) et du jardin botanique d'Eala (Mbandaka), en République Démocratique du Congo. L'identification a été faite à l'herbarium de l'INERA à la Faculté des Sciences de l'Université de Kinshasa.

b. Obtention des échantillons

Les graines fraîches ont été séchées à l'aide d'un lyophilisateur pendant 5 jours.

Elles ont ensuite été décortiquées pour extraire les amandes qui sont moulues en patte. Les huiles ont été extraites suivant deux procédés différents. Primo, nous avons utilisé la méthode artisanale. C'est une extraction à froid, car elle n'exige ni source de chaleur ni solvant. A l'aide d'un Moulinex, l'huile a été obtenue par pressage de la patte. Secundo, nous avons procédé à l'extraction avec un solvant. La pâte a été macérée dans l'éther de pétrole à 40-60°C pendant 24 heures. Après filtration, le solvant était chassé sous un courant d'azote [MULTON, 1991]. Les huiles obtenues ont été stockées tout en les exposant à l'air libre pour qu'elles subissent l'oxydation. Après stockage de six mois, les différents échantillons ont été analysés.

Méthodologie

a. Paramètres physico-chimiques

a.1. Indice de peroxyde

Il s'agit d'un traitement du corps gras en solution dans l'acide acétique et le chloroforme, par une solution d'iodure de potassium suivi d'un titrage de l'iode libéré par une solution titrée de thiosulfate de sodium.

Dans un erlenmeyer de 250 mL on place 2 g d'huile et 10 mL de chloroforme puis on ajoute 15 mL d'acide acétique et 1 mL d'une solution saturée de KI. L'erlenmeyer a été bouché et agité, pendant une minute puis gardé à l'obscurité et après avoir ajouté 75 mL d'eau distillée. L'iode libéré par le $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ a ensuite été titré en présence d'empois d'amidon [OLLE, 2002].

a.2. Indice d'acide

L'indice d'acide a été déterminé par un dosage en retour. Le corps gras réagit avec un excès connu d'une solution de potasse alcoolique. L'excès de potasse est alors dosé par une solution d'acide chlorhydrique. Le corps gras est mis en solution par un solvant organique neutre. Le mode opératoire suivant a été appliqué :

Dans un bécher de 100 mL on introduit 10 mL de solution de l'échantillon du corps gras préalablement préparé et 10 mL de potasse alcoolique de concentration 0, 1 mol.L⁻¹. On ajoute ensuite 2 à 4 gouttes de phénolphtaléine, puis doser l'excès de potasse par l'acide chlorhydrique de concentration 0, 1 mol.L⁻¹ en agitant constamment jusqu'au virage de l'indicateur à l'incolore. Comme la concentration de la potasse alcoolique n'est pas connue, on la détermine au moyen d'un témoin.

a.3. Acidité

La détermination consiste en la mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solution éthéro – alcoolique, puis au titrage des acides gras libres présents à l'aide d'une solution aqueuse de KOH 0,1 N. Pour ce faire, 10g d'huile ont été prélevés puis mélangé à 50g du mélange éthero-alcoolique auquel on ajoute quelques gouttes de

phénolphtaléine et on titre avec une solution de KOH 0,1N jusqu'à la coloration rouge.

a.4. Indice de saponification

La saponification est réalisée à chaud avec une quantité connue de KOH alcoolique en excès. L'excès de réactif est ensuite titré par une solution acide en présence de la phénolphtaléine.

Dans un erlenmeyer de 250 mL on introduit 2 gr d'huile et 25 mL d'une solution éthanolique de KOH en excès. L'ensemble a été adapté au réfrigérant et chauffé à reflux au bain-marie jusqu'à l'ébullition pendant 30 minutes, afin d'homogénéiser la solution. Après l'ajout de quelques gouttes de phénolphtaléine, le mélange a été titré par HCl 0,5 N [OLLE,2002].

a.5. Indice de rancimat

La matière grasse, portée à une température de l'ordre de 120 à 140°C, a été soumise à un courant d'air à débit constant et contrôlé. Les substances générées au cours de l'oxydation, notamment des acides de faible masse moléculaire, ont été collectées dans une cellule conductométrique remplie d'eau distillée, et, quantifiée par une mesure en continu de la conductivité de la solution (la conductivité est exprimée en $\mu\text{S}/\text{cm}$, microSiemens par centimètre) (norme NF EN ISO 6886).

Toutes les opérations se sont déroulées sous hotte. Après la mise en route de la circulation de l'air, on a réglé minutieusement, pour chacun des six postes de travail, les débits à une valeur de 20 L/heure (le débit n'est constant qu'au bout d'une heure environ). Les zones de chauffage ont été portées à 120°C pour les huiles et pour les matières grasses solides et la suite de l'opération s'est faite selon le mode suivant :

Environ 10 mL de l'échantillon d'huile préalablement traitée (centrifugation après fusion et passage sur un filtre PS ; cf Manipulation 3) ont été introduits dans un flacon réacteur qui a été placé dans le poste de travail. Le tube d'amenée d'air doit plonger dans l'échantillon. Les récipients non raccordés à l'arrivée d'air ont été laissés pendant exactement 10 min afin que la température se stabilise. L'arrivée d'air a ensuite été rapidement reliée aux récipients de mesure et avant de démarrer l'analyse à partir du module de commande. En fin d'opération, les différentes parties des postes de travail ont été démontés et les huiles rejetées dans les récipients prévus à cet effet, puis les placer dans les solutions de rinçage. Les récipients de mesure ont été également vidés, puis nettoyés et remplis à nouveau avec 60 mL d'eau de haute pureté (eau MilliQ) [DUEZ et al.,2009].

La comparaison des différents échantillons a été effectuée à l'aide des enregistrements réalisés en continu lors de l'analyse.

Paramètres Racimat :

Température	120°C
-------------	-------

Température de correction	4.7°C
Gamme de conductivité	100 µS/cm
Mode d'évaluation	1/-/-
Temps de propagation	0 h
Alimentation en papier	1 cm/h
Mesure du temps	24 h
Mode de fin	EP arrêter sur Arrêt de chauffage sur Arrêt de l'air sur

8°C/min, puis 230°C en isotherme pendant 6 min.

- o Volumes injectés : environ 1 µL.

Analyse statistique

L'analyse de la variance (ANOVA) a été utilisée pour comparer les moyennes des échantillons. L'analyse de variance à un facteur, est un test statistique qui permet de comparer les moyennes de plusieurs échantillons et de se prononcer sur une différence ou une similarité entre ces moyennes. Il s'agit de savoir si une variable quantitative a des valeurs significativement différentes selon les modalités d'une variable qualitative. Autrement dit il s'agit d'apprécier l'effet de variables qualitatives sur une variable numérique.

Analyse des acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les triglycérides des huiles alimentaires sont, sans traitement préalable, transestérifiés en esters méthyliques d'acides gras au moyen d'une solution d'acide chlorhydrique 0,5N dans le méthanol. Après addition d'une solution de NaOH 0,5N, les esters méthyliques obtenus sont extraits par un solvant apolaire et analysés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire. Le mode opératoire ci-après a été suivi :

Dans un flacon muni d'un septum on introduit environ 15,0 mg de matière grasse et 2,5 mL d'une solution d'acide chlorhydrique 0,5N dans le méthanol anhydre. On ferme rapidement et hermétiquement le flacon, et on l'agite au vortex pendant 1 minute puis au bain à ultra-sons pendant 5 minutes avant de le placer à l'étuve à 80°C pendant 30 minutes. On retire le flacon de l'étuve et on le laisse refroidir pendant quelques minutes avant d'introduire successivement 2,5 mL d'une solution de NaOH 0,5N ainsi que 10 mL de n-hexane. On agite au vortex pendant 1 minute avant d'introduire 500 mg de chlorure de sodium et on agite de nouveau au vortex, durant 60 secondes. Après séparation des deux phases, on prélève la phase supérieure organique et la dessèche, durant 5 minutes sur sulfate de sodium anhydre avant de l'utiliser pour l'analyse par CPG [DUEZ et al., 2009].

Conditions chromatographiques :

- o Colonne : en silice fondue, longueur 25m, diamètre intérieur 0,32mm ; phase stationnaire : FFAP CB (phase très polaire constituée de polyéthylène glycol sous forme d'ester, chimiquement greffée au verre ; épaisseur du film : 30 µm ; nombre total de plateaux théoriques = 165300).
- o Gaz vecteur : Hélium (52 kPa ; débit dans la colonne : approximativement 2,3 mL/min ; vitesse linéaire : 43 cm/sec) ; une division 1 :50 de l'effluent (et de l'échantillon injecté) est réalisée à l'entrée de la colonne.
- o Détecteur : à ionisation de flamme (FID, température 250°C).
- o Température de l'injecteur : 250° C.
- o Température du four : Isotherme à 80°C, durant 1 min, puis programmation de 80°C à 230°C à raison de

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Résultats

a. Paramètres physico-chimiques

Les résultats obtenus sont présentés dans les Tableaux 1, 2, 3 et 4 :

Tableau 1 | Indices chimiques des huiles de *Pentaclethra macrophylla* Benth extraites avec l'éther de pétrole

Echantillons	Indice de peroxyde (még.Kg ⁻¹)	Indice d'acide (mg)	Acidité (%)	Indice de saponification
PMV	15,0 ± 0,1	10,7 ± 0,1	6,2 ± 0,1	230,0 ± 0,3
PMVO1	20,0 ± 0,1	10,8 ± 0,1	6,4 ± 0,2	238,4 ± 0,1
PMVO2	8,0 ± 0,1	12,8 ± 0,1	6,6 ± 1,5	244,0 ± 0,5
PMVO3	13,0 ± 0,1	8,4 ± 0,1	3,3 ± 0,7	112,2 ± 0,2
PMVO4	8,5 ± 0,1	12,8 ± 0,4	3,2 ± 0,2	109,0 ± 0,4
PMVO5	10,8 ± 0	11,2 ± 0,1	0,9 ± 0,3	84,15 ± 0
PMVO6	8,5 ± 0,1	10,8 ± 0,1	2,3 ± 0,2	145,3 ± 04
PMM	30,4 ± 0,1	40,0 ± 0,2	2,3 ± 0,4	218,0 ± 0,5
PMMO1	33,6 ± 0,2	41,8 ± 0,1	2,5 ± 0,1	211,0 ± 0,7
PMMO2	40,5 ± 0,0	29,2 ± 0,0	5,6 ± 0,3	209,0 ± 0,2
PMMO3	37,5 ± 0,1	33,1 ± 0,1	2,3 ± 0,4	163,0 ± 0,3
PMMO4	34,3 ± 0,1	32,3 ± 0,0	2,8 ± 0,2	137,0 ± 0,8
PMMO5	33,0 ± 0,1	34,8 ± 0,0	3,1 ± 0,2	159,0 ± 0,3
PMMO6	42,0 ± 0,2	33,8 ± 0,3	3,5 ± 0,3	156,0 ± 0,5

Légende :

- PMV, PMVO1, PMVO2, PMVO3, PMVO4, PMVO5 et PMVO6 : huiles de *Pentaclethra macrophylla* (graines de Kinshasa) conservées au frais juste après extraction au solvant et oxydation à l'air libre après un, deux, trois, quatre, cinq et six mois respectivement.
- PMM, PMMO1, PMMO2, PMMO3, PMMO4, PMMO5 et PMMO6 : huiles de *Pentaclethra macrophylla* (graines de Mbandaka) conservées au frais juste après extraction au solvant et oxydation à l'air libre après un, trois et cinq mois respectivement.

Tableau 2| Indices chimiques des huiles de *Pentaclethra macrophylla* Benth extraites Par presse

Echantillons	Indice de peroxyde (mégq/kg)	Indice d'acide (mg)	Acidité (%)	Indice de saponification
PMVM	12,5±0,1	9,6 ±0,3	5,0 ± 1	109,3±0
PMVMO1	16,0±0,1	10,0 ±0,1	1,7 ±4,3	143,1 ±0,2
PMVMO2	10,0 ±0,9	13,2 ±0,1	5,9 ±2,8	148,6 ±0,1
PMVMO3	13,5 ±0,1	14,4 ±0,1	6,0 ±1,5	120,6 ±0,1
PMVMO4	16,0 ±0,2	14,4 ±0,4	3,1 ±1	140,9±0,1
PMVMO5	7,0 ±0,1	3,18 ±0,1	13,2 ±1,1	171,1±0,1
PMVMO6	13,0 ±0,2	44,0 ±0,1	14,0 ±1,1	176,7±0,1
PMMM	29,4 ±0,1	44,2 ±0,0	3,4 ±0,3	98,4 ±0,7
PMMMO1	23,0 ±0,2	33,1 ±0,1	3,4 ±0,1	134,0 ±0,3
PMMMO2	47,2±0,1	37,3 ±0,2	6,0 ±0,7	133,0 ±0,2
PMMMO3	45,6 ±0,2	46,2±0,1	3,6 ±0,5	165,3 ±0,9
PMMMO4	36,6 ±0,2	43,6±0,1	4,5 ±0,2	149,2 ±0,7
PMMMO5	37,0 ±0,1	35,1 ±0,2	4,7 ±0,2	105,0 ±0,2
PMMMO6	33,0 ±0,1	35,0 ±0,2	4,3 ±0,3	101,0 ±0,3

Légende :

- PMVM, PMVMO1, PMVMO2, PMVMO3, PMVMO4, PMVMO5 et PMVMO6 : huiles de *Pentaclethra macrophylla* (graines de Kinshasa) conservées au frais juste après l'extraction par presse et oxydation à l'air libre après un, deux, trois, quatre, cinq et six mois respectivement.
- PMMM, PMMMO1, PMMMO2, PMMMO3, PMMMO4, PMMMO5 et PMMMO6 : huiles de *Pentaclethra macrophylla* (graines de Mbandaka) conservées au frais juste après extraction par presse et oxydation à l'air libre après un, deux, trois, quatre, cinq et six mois respectivement.

Tableau 3| Indice de rancimat, temps d'induction des huiles de *Pentaclethra macrophylla* Benth extraites avec l'éther de pétrole

Echantillons	Temps d'induction (H)
PMV	0,77
PMVO1	-
PMVO2	-
PMVO3	-
PMVO4	-
PMVO5	-
PMM	12,8
PMMO1	-
PMMO2	12,9
PMMO3	-
PMMO4	-
PMMO5	-

Tableau 4| Indice de rancimat, temps d'induction des huiles de *Pentaclethra macrophylla* Benth extraites par presse

Echantillons	Temps d'induction (H)
PMV	1,95
PMVO1	0,72
PMVO2	0,65
PMVO3	0,55
PMVO4	-
PMVO5	-
PMM	2,32
PMMO1	1,98
PMMO2	1,78
PMMO3	1,30
PMMO4	1,32
PMMO5	0,97

b. Teneurs en acides gras

Les résultats obtenus sont présentés dans les Tableaux 5 et 6 :

Tableau 5| Teneurs (%) en acides gras dans les huiles de *Pentaclethra macrophylla* extraites avec l'éther de pétrole

Echantillons Acides gras	PMV	PMVO1	PMVO3	PMVO5	PMM	PMMO1	PMMO3	PMMO5
C8	-	2,36±0,03	-	-	1,87±0,01	1,82±0,01	13,26±0,02	21,28±0,02
C10	3,43±0,02	-	3,12±0,04	-	3,06±0,03	1,45±0,02	12,65±0,05	8,06±0,05
C12	-	-	2,75±0,03	-	4,76±0,01	5,09±0,09	2,19±0,01	3,10±0,06
C14	8,64±0,02	9,16±0,02	6,79±0,03	6,65±0,02	3,91±0,05	14,55±0,11	7,91±0,06	7,64±0,05
C16	12,9±0,03	5,89±0,02	8,81±0,01	9,74±0,02	6,80±0,06	7,82±0,05	5,96±0,06	7,44±0,06
C18 :0	6,31±0,01	3,53±0,03	4,77±0,02	5,70±0,02	5,10±0,05	0,55±0,09	7,54±0,09	3,93±0,01
C18 :1	32,9±0,02	30,76±0,02	34,50±0,02	39,43±0,02	34,18±0,05	32,73±0,06	26,03±0,14	22,52±0,09

Echantillons Acides gras	PMV	PMVO1	PMVO3	PMVO5	PMM	PMMO1	PMMO3	PMMO5
C18 :2	34,3±0,01	32,07±0,02	35,60±0,02	36,82±0,33	38,44±0,06	35,45±0,06	23,24±0,04	24,79±0,06
C18 :3	1,51±0,01	16,23±1,07	3,67±0,02	1,66±0,01	1,87±0,04	0,55±0,03	1,22±0,02	1,24±0,02

Tableau 6| Teneurs (%) en acides gras dans les huiles de *Pentaclethra macrophylla* extraites par presse

Echantillons Acides gras	PMVM	PMVMO1	PMVMO3	PMVMO5	PMMM	PMMMO1	PMMMO3	PMMMO5
C8	-	7,35±0,03	0,95±0,03	2,81±0,01	3,38±0,07	9,77±0,22	2,84±0,14	10,62±0,24
C10	-	5,71±0,04	4,42±0,03	3,37±0,02	4,69±0,02	1,22±0,22	3,79±0,23	3,21±0,07
C12	2,42±0,04	3,57±0,03	6,32±0,02	2,81±0,02	2,06±0,03	1,22±0,07	7,71±0,2	4,20±0,11
C14	7,58±0,06	12,76±0,03	4,74±0,02	9,27±0,01	2,63±0,4	11,84±0,18	7,85±0,16	4,69±0,23
C16	8,79±0,05	5,92±0,06	8,69±0,05	6,46±0,02	9,57±0,04	5,86±0,18	8,39±0,16	10,62±0,23
C18 :0	5,00±0,02	4,80±0,03	8,85±0,02	3,37±0,01	5,25±0,04	8,06±0,01	6,50±0,21	4,20±0,1
C18 :1	37,12±0,02	29,18±0,02	29,23±0,01	32,30±0,42	33,21±0,17	29,30±0,28	31,26±0,1	28,89±0,11
C18 :2	36,97±0,03	28,88±0,03	32,54±0,02	34,83±0,02	36,59±0,05	30,65±0,21	30,58±0,2	32,10±0,21
C18 :3	2,12±0,02	1,84±0,02	4,27±0,02	4,78±0,02	2,63±0,06	2,08±0,09	1,08±0,02	1,48±0,02

Discussion

c. Paramètres physico- chimiques

Les valeurs trouvées pour l'indice de peroxyde aux **Tableaux 1 et 2** sont assez élevées par rapport aux valeurs de la littérature, comprises entre 5 à 10 méq/kg pour une huile stockée pendant 12 mois [PERRIN,1993]. Ces résultats montrent que les huiles de *Pentaclethra macrophylla* Benth extraites par solvant et par presse sont chargées des peroxydes pour les échantillons d'huiles obtenues à partir des graines provenant du jardin botanique d'Eala, Equateur. C'est curieux car les échantillons PMM et PMMM qui sont supposés frais, parce que n'ayant pas été exposés à l'oxygène de l'air, donnent des valeurs de 30,4 et 29,4 méq.kg-1 respectivement. Ceci signifie que l'oxygène aurait attaqué ces huiles déjà à partir de l'extraction. Le fait que ces valeurs ont évolué de 30,4 à 42 méq.kg-1 pour l'huile extraite avec l'éther de pétrole et de 29,4 à 47,2 méq.kg-1 pour l'huile extraite par presse, prouve que l'oxygène de l'air a agi sur ces huiles. En ce qui concerne les échantillons des huiles extraites des graines récoltées au Lac de Ma Vallée, les valeurs trouvées sont comprises entre 8 et 20 méq.kg-1 pour les échantillons obtenus par l'éther de pétrole. Trois échantillons, PMVO2, PMVO4 et PMVO6 ont donné respectivement 8 ; 8,5 et 8,5 méq.kg-1 et rejoignent les résultats de PERRIN [1993] alors que pour ceux extraits par presse, deux d'entre eux, c'est-à-dire PMVMO2 avec 10 méq.kg-1 et PMVMO5 7 méq.kg-1 et sont en accord avec les résultats trouvés par PERRIN [1993].

L'Union Européenne donne une valeur limite supérieure de 20 méq.kg-1 en ce qui concerne l'huile d'olive vierge (CE1989/2003). Pour ceci, tous les échantillons des huiles extraites à partir des graines récoltées au Lac de Ma Vallée sont conformes à cette valeur pour ceux obtenus par

presse, PMVM(12,5 méq.kg-1), PMVMO1(16 méq.kg-1), PMVMO2(10 méq.kg-1), PMVMO3(13,5 méq.kg-1), PMVMO4(16 méq.kg-1), PMVMO5(7 méq.kg-1), PMVMO6(13 méq.kg-1) et par solvant dont PMV, PMVO1, PMVO2, PMVO3, PMVO4, PMVO5 et PMVO6 ont respectivement 15 ; 20 ; 8 ; 13 ; 8,5 ; 10,8 et 8,5 méq.kg-1.

Dans une étude antérieure, l'huile d'olive extra vierge (EVOO) dont la période de stockage était de 21 mois, l'indice de peroxyde était inférieur à 6,6 méq.kg-1 au début et aucun des 7 échantillons n'a dépassé la valeur de 20 méq.kg-1 [ALONSO et al.,2007]. Leurs résultats avaient démontré l'effet significatif des composés mineurs de l'insaponifiable sur la stabilité de l'huile.

Pour l'indice d'acide qui permet de juger de l'état de détérioration des huiles, les valeurs trouvées et consignées dans les **Tableaux 1 et 2** montrent qu'elles n'ont pas sensiblement varié avec le temps. Les indices d'acide ont au contraire subi une légère diminution pour les huiles extraites avec l'éther de pétrole et à partir des graines provenant du jardin botanique d'Eala, cet indice passe de 40mg pour PMM qui est l'échantillon frais à 33,8mg pour PMMO6 qui est l'échantillon le plus exposé car ayant été stocké pendant six mois. C'est la même observation faite pour les huiles extraites par presse, il est passé de 44,2 mg pour PMMM à 35mg pour PMMMO6. Cette régression prouve encore que les huiles de *Pentaclethra macrophylla* Benth seraient protégées par les composés mineurs. Cet indice accuse, d'une manière générale, des faibles valeurs pour les échantillons obtenus à partir des graines récoltées au Lac de Ma Vallée, elles varient de 8,4 à 12,8mg pour ceux extraits à l'éther de pétrole et stockés pendant six mois. Ceux extraits par presse ont donné des valeurs comprises entre 3,18 et 14,4mg.

Pour l'acidité, toutes les valeurs obtenues pour les huiles obtenues à partir des graines provenant du Jardin botanique d'Eala, sont en dessous de 5mg, à l'exception de PMMO2 et PMMMO2 qui ont 5,6 et 6,0mg respectivement. Ceci prouve que les huiles fraîches et oxydées sont toutes de basse acidité car les valeurs trouvées pour PMM, PMMO1, PMMO3, PMMO4, PMMO5 et PMMO6 sont de 2,3 ; 2,5 ; 2,8 ; 3,10 et 3,51% respectivement ainsi que celles de PMMM, PMMMO1, PMMMO3, PMMMO4, PMMMO5 et PMMMO6 sont de 3,4 ; 3,38 ; 3,6 ; 4,51 ; 4,7 et 4,26 mg respectivement. Pour les huiles obtenues à partir des graines provenant du Lac de Ma Vallée, l'acidité varie de 0,9 à 6,6% pour les échantillons extraits à l'éther de pétrole. Deux échantillons parmi les six obtenus par presse et stockés pendant six mois, PMVMO5 et PMVMO6 ont donné des valeurs élevées, soit 13,2 et 14mg respectivement. Les valeurs trouvées pour l'acidité ne répondent pas toutes aux exigences de l'Union Européenne (0,84mg) (CE1989/2003) bien que ces huiles soient de basse acidité [ARANDA et al., 2004].

L'indice de saponification a montré des valeurs de 230 ; 238,4 et 244 pour les échantillons PMV, PMVO1 et PMVO2 en ce qui concerne les huiles du Lac de Ma Vallée extraites par l'éther de pétrole, il en est de même pour ceux des graines du Jardin botanique d'Eala où les valeurs de 218, 211 et 209 ont été trouvées pour PMM, PMMO1 et PMMO2 respectivement. Ces échantillons sont non comestibles car les valeurs de 230 ; 238,4 et 244 ainsi que de 218, 211 et 209 sont au-delà de 200, tolérable [LINDEN, 1991]. Toutes les valeurs trouvées pour les échantillons d'huiles extraites des graines du Lac de Ma Vallée, par presse, et stockées pendant six mois varient de 109,3 à 171,1mg et ceux extraits également par presse des graines provenant du Jardin botanique d'Eala ont donné des valeurs qui varient de 98,4 à 165,3. Ce sont des valeurs en deçà de 200. Tous les échantillons obtenus par presse sont donc comestibles même au bout de six mois de stockage. Ceci prouve, une fois de plus que ces huiles ont conservé les composés mineurs de l'insaponifiable qui les protègent.

La stabilité à l'oxydation, telle que déterminée aux **Tableaux 3 et 4** montre que les huiles extraites par presse ont le plus résisté au stress oxydatif imposé par la méthode Rancimat. L'huile fraîche de PMMM a le plus résisté au stress oxydatif avec un temps d'induction de 2,32h suivi de PMMMO1(1,98h), PMMMO2(1,32h), PMMMO5(0,97h) de même que PMVM qui a aussi le plus résisté avec 1,95h suivi de PMVMO1(0,72h), PMVMO2(0,65h), PMVMO3(0,55h) Ces huiles fraîches et oxydées obtenues par presse n'étaient pas totalement oxydées et seraient protégées par les composés mineurs qui sont les antioxydants [CANUTO et CRUTIERREZ, 2002] et cette résistance au stress oxydatif des huiles vieilles et exposées à l'air pendant six mois est également liée à la méthode d'extraction (presse) qui conserve les composés mineurs par rapport à la méthode d'extraction au solvant [DENISE, 1992].

Variation de la composition en acides gras

Nous avons identifié et dosé les acides gras en C8 (acide caprylique), en C10 (acide caprique), en C12 (acide laurique), en C14 (acide myristique), en C16 (acide palmitique), en C18 :0 (acide stéarique), en C18 :1 (acide oléique), en C18 :2 (acide linoléique), en C18 :3 (acide linoléique) dans les échantillons d'huiles de *Pentaclethra macrophylla* Benth extraites par l'éther de pétrole et par presse et ayant subi une oxydation à l'air durant six mois de stockage et obtenus à partir des graines provenant du Lac de Ma Vallée et du Jardin botanique d'Eala.

Les huiles extraites, par l'éther de pétrole, des graines provenant du jardin botanique d'Eala ont montré une diminution des teneurs en C12, de PMM (4,76%) à PMMO5 (3,10%) ; en C18 :0, de PMM (5,10%) à PMMO5 (3,93%) ; en C18 :1 de PMM (34,18%) à PMMO5 (22,52%) ; en C18 :2 de PMM (38,44%) à PMMO5 (24,79%) et en C18 :3 de PMM (1,87%) à PMMO5 (1,24%).

Au regard de ceci, nous voyons que ce sont des acides gras insaturés qui sont les plus concernés par ces diminutions des teneurs. Cela confirme l'attaque de l'oxygène sur les insaturations des acides gras alors que les acides gras saturés sont les moins concernés.

Des diminutions des teneurs sont également observées dans les huiles obtenues par presse des graines provenant du jardin botanique d'Eala pour C10 de PMMM (4,69%) à PMMMO5 (3,21%) ; pour C18 :0 de PMMM (5,25%) à PMMMO5 (4,20%) ; pour C18 :1 de PMMM (33,2%) à PMMMO5 (28,89%) ; pour C18 :2 de PMMM (36,59%) à PMMMO5 (32,10%) et pour C18 :3 de PMMM (2,63%) à PMMMO5 (1,48%).

Il en est de même pour les teneurs des huiles obtenus par presse des graines provenant du Lac de Ma Vallée. Les diminutions des teneurs sont également en C8 de 7,35 à 2,81% pour PMVMO1 et PMVMO5 respectivement, en C10 de 5,71 à 3,37% ; en C16 de 8,79 à 6,46% ; en C18 :0 de 5 à 3,37% ; en C18 :1 de 37,12 à 32,30% et en C18 :2 de 36,97 à 34,83% respectivement pour PMVM et PMVMO5.

Les diminutions sont plus importantes dans les huiles extraites par solvant des graines provenant du jardin d'Eala, soit 11,66% pour C18 :1 et 13,65 % pour C18 :2 par rapport à 4,32% pour C18 :1 et 4,49 pour C18 :2 observés pour les échantillons obtenus par presse. Ces acides gras insaturés sont mieux protégés dans les huiles extraites par presse. ALONSO et al., [2007] ont trouvé des diminutions de 5,8 à 10% pour C18 :2 dans les échantillons d'huile d'olive vierge stockée pendant 21 mois.

Les pourcentages de diminution sont plus élevés dans les huiles extraites par solvant. Ces divergences pourraient trouver l'explication dans le fait que ces huiles n'ont pas les mêmes teneurs en composés antioxydants et les conditions de stockage sont différentes. Signalons aussi que l'activité des antioxydants diffère selon les substrats d'oxydation [YAMISHLIEVA, 2001].

En ce qui concerne les tests des moyennes entre les échantillons appariés, nous n'avons relevé aucune différence significative entre les teneurs moyennes des acides gras dans l'intervalle de confiance de 95% ; cette observation est valable pour les deux types d'huiles.

CONCLUSION

Les indices physico chimiques déterminés sont l'indice de peroxyde, l'indice d'acide, l'acidité et l'indice de rancimat. Les acides gras révélés et dosés par la chromatographie en phase gazeuse sont : l'acide caprylique, l'acide caprique, l'acide laurique, l'acide myristique, l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide linoléique. Les résultats des analyses ont montré que l'indice de peroxyde accuse des valeurs très élevées qui ne cadrent pas avec celles des études antérieures et celles exigées par l'Union Européenne, que ce soit pour les huiles extraites par presse que celles extraites par solvant des échantillons frais et ceux stockés pendant six mois. L'acidité dans tous les échantillons est d'une manière générale faible et a permis de classer tous les échantillons dans la classe des huiles de basse acidité. Les huiles extraites par presse et stockées pendant six mois ont le plus résisté au stress oxydatif imposé par la méthode rancimat.

Quelques teneurs en acides gras saturés et insaturés ont connu une régression au bout de cinq mois de stockage par rapport à leurs teneurs initiales mais cela est plus remarqué pour les acides gras insaturés dans les échantillons extraits avec l'éther de pétrole. Ces résultats ont montré que ces huiles seraient protégées par les composés mineurs de l'insaponifiable.

Nous suggérons la poursuite de la présente étude en ce qui concerne l'identification et le dosage des composés de l'insaponifiable, spécialement les antioxydants et les plus importants sont les polyphénols et les tocophérols. Un stockage plus prolongé est utile pour bien visualiser les différents changements éventuellement opérés dans ces huiles tant pour les indices d'altération que pour les teneurs en acides gras.

RÉSUMÉ

La majorité des huiles provient du règne végétal et la plupart des huiles des graines (l'huile d'olive, d'arachide, de sésame, de colza, de maïs, de tournesol et de soja), obtenues par extraction aux solvants, subissent au cours de leur conservation des altérations du type oxydatif. Les huiles extraites par procédés mécaniques (pression avec ou sans centrifugation) contiennent naturellement plus des substances antioxydantes (tocophérols, polyphénols, etc.), que les huiles raffinées, qui les protègent de l'oxydation. L'oxydation des lipides est ainsi le premier facteur limitant la durée de vie des huiles riches en acides gras polyinsaturés et contribue à diminuer leur valeur nutritionnelle. Dans la présente étude, nous avons déterminé la variation des teneurs en acides gras et la résistance à l'oxydation dans les huiles des graines de *Pentaclethra macrophylla* Benth extraites par solvant et par presse et cela pendant six mois de stockage. L'indice de

peroxyde a varié dans le sens de la hausse pour les huiles extraites par solvant, l'indice d'acide accuse des valeurs faibles pour les deux types d'huiles. Les huiles extraites par presse et stockées pendant six mois ont plus résisté au stress oxydatif imposé par la méthode au rancimat. Les teneurs en acides gras insaturés, déterminées par chromatographie en phase gazeuse, ont connu une régression par rapport à celles des acides gras saturés dans les deux cas. L'analyse de la variance n'a pas donné des différences significatives au seuil de 5% pour les teneurs en acides gras au bout de six mois de stockage dans les deux types d'huiles.

Mots Clés

Huiles, Pentaclethra macrophylla Benth, stress oxydatif, stockage, indice de peroxyde, indice d'acide, méthode de rancimat, chromatographie en phase gazeuse

REFERENCES

- ALONSO S.G., MANCEBO-CAMPOS V., FREGAPANE G. SALVADOR M.D. [2007]. Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature Food Chemistry 100, 36–42 Elsevier.
- ARANDA S., GOMEZ – ALONSO, RIVERA T. A., SALVADOR M.D., FREGA P. [2004]. Triglycéride, total and 2- position fatty acid composition of cornicabra virge olive oil: comparaison with other sparrish cultivans Food Chemistry, 86., 485-492.
- BRANNAN D.K. [1997]. Cosmetic microbiology; pratcal hand book; paris 323.
- CANUTO M.M., CRUTIERREZ F. [2002]. Antifungal resistance to a azoles and polyenes. Lancet Infect. Dis. ;2,9,500-63.
- CILLARD J., CILLARD P. [2004]. Antioxydants naturels végétaux Oléagineux, Corps Gras, Lipides. 11, 6, 419-24.
- CILLARD J., CILLARD P. [2006]. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. Oléagineux, Corps Gras, Lipides.13, 1, 24-9.
- DENISE J. [1992]. Raffinage des corps gras, in manuel des corps gras, tome II, Lavoisier, éd. Paris, p.789-881.
- DUEZ P., FAES M.L., CALLEWAERT P. [2009]. Travaux pratiques de Bromatologie, laboratoire de pharmacognosie, de bromatologie et de nutrition humaine. Université Libre de Bruxelles (ULB), Institut de Pharmacie.
- FRANKEL EN. [1998]. Lipid oxidation. The Oily Press, Dundee, GB. 303 pages.
- GRENOT C., MARD E.Y., VIAU M. [2004]. Comment protéger les acides gras polyinsaturés à longue chaines oméga 3 vis à vis de l'oxydation. Oléagineux, Corps Gras, Lipides 11 ,2, 133-141.
- KAMAL-ELDIN A., MAKINEN M., LAMPI A.M. [2003]. The Challenging Contribution of Hydroperoxydes to the Lipid Oxidation Mechanism. In: Lipid oxidation pathways. A. Kamal-Eldin Ed., AOCs Press, Champaign (Il., USA) Pub.,1- 36.
- KANSCI G. [1996]. Effets antioxydants de peptides et d'hydrolysats de proteines sur l'oxydation des phospholipides. Thèse de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes (ENSAR) ; 179 p.
- KORTENSKA V.D., YANISHLIEVA N.V., KASAIKINA O.T., TOTZEVA. I.A.L. [2002]. Phenol antioxydant efficiency in various lipid substrates containing hydroxy compounds. Eur J Lipid Sci Technol; 104: 513-9.

- KULAS E., OLSEN E., ACKMAN R.G.** [2003]. Oxidation of Fish Lipids and Its Inhibition with Tocopherols. In: Lipid oxidation pathways. A. Kamal-Eldin Ed., AOCS Pr Champaign (Il., USA) Pub. 37-69.
- LEJOLLY J.** [2003]. Systématiques des plantes (phanérogames et cryptogames), 2ème édition, Bruxelles, p 156.
- LEMMENS R.** [2007]. Pentaclethra etetveldeana De Wild et durand, Prota 14, huile végétale oléagineux.
- LINDEN G.** [1991]. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires : Principe des techniques d'analyse. Volume 2, 2ème édition. Lavoisier Technique & Documentation, Paris, pp 75 – 89.
- MULTON J.L.** [1991]. Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, analyses des constituants alimentaires, 2ème édition, volume IV, Lavoisier TEC et DOC, Paris, p.20.
- NF EN ISO 6886.** [2009]. Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de la stabilité à l'oxydation (essai d'oxydation accéléré).
- OLLÉ M.** [2002]. Techniques d'analyses, Pour développer vos méthodes d'analyse et les faire évoluer en fonction des nouvelles techniques, analyses des corps gras. Référence P3325.
- PERRIN J.L.** [1993]. Analyse des corps gras II ; détermination de l'altération, vol. II. Lavoisier Tec et Doc. ; Paris, p118.
- PSZCZOLA D.E.** [2001]. Antioxydants, from preserving food quality to quality of life. Food Technol 55 : 51-9.
- RAHMANI M.** [2007]. Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides. Les technologies de laboratoire, N°2, janvier-février 2007.
- REGLEMENT (CE) n° 1989/2003.** [2003]. REGLEMENT (CE) n° 1989/2003 de la Commission du 6 novembre 2003 modifiant le règlement (CEE) n° 2568/91 relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes.
- ROSSIGNOL-CASTERA A.** [2009]. L'oxydation des produits alimentaires et le rôle préventif des anti- oxydants ITERG – Pessac, France JIEL.
- YANISHLIEVA N.V., MARINOVA E.M.** [2001]. Stabilisation of edible oils with natural antioxidants, dans European Journal of Lipid Science and Technology, WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim vol. 103, no 11, p. 752 – 767.
- YANISHLIEVA-MASLAROVA N.V.** [2001]. Inhibiting oxidation. Antioxidation in food, Woodhead publishing LTD, Cambridge. pp 22-27.
- ZOEBELEIN H.** [2001]. Dictionary of renewable resources, 2nd ed, WILEY – VCH. Weinheim, Germany.



This work is in open access, licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>