

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جيجل-جامعة محمد الصديق بن يحيى -

Université Mohammed Seddik Benyahia Jijel



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département Des Sciences de l'Environnement  
et Sciences Agronomiques

كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم علوم المحيط و العلوم الزراعية

## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie

Option : Environnement et Santé

Présenté par  
M<sup>me</sup> Hanane ROULA

## Thème

**Etude de la toxicité des huiles thermo-oxydées et production  
de biodiesel**

### Membres de Jury :

Mr. Essaid LEGHOUCI	Professeur	Univ-Jijel	Président
Mr. Tayeb IDOUI	Professeur	Univ-Jijel	Encadreur
Mme. Houria OULED HADDAR	M.C.A	Univ-Jijel	Examinatrice
Mr. Mohamed SIFOUR	Professeur	Univ-Jijel	Examineur

Année Universitaire 2016-2017

Numéro d'ordre :.....





**Abstract**

This study was carried out on vegetable oil "*Afia*". Thermal treatment of frying caused oxidative alterations marked by the change in physicochemical properties. The *in vivo* study showed clearly the consequences of these alterations on health. A thermo-oxidized oil diet affects weight gain, digestive microflora and causes liver hypertrophy as well as cytological alterations. Blood lipids (LDL, HDL), cholesterol and triglycerides have showed an evolution that indicates a probable increased cardiovascular risk.

The determination of the antioxidant enzymes GSH and Catalase confirmed an oxidative stress state in the mice treated with thermooxidized oil.

A recovery of waste oils into biodiesel would be a good initiative to limit pollution and protect our environment by producing 'clean' energy.

**Key words:** vegetable oil, thermo oxidation, toxicity, environment

## **Résumé**

Cette étude a été menée sur l'huile végétale « *Afia* ». Le traitement thermique par la friture a provoqué des altérations oxydatives marquées par le changement des propriétés physicochimiques. L'étude *in vivo* a clairement montré les conséquences de ces altérations sur la santé. Un régime à base d'huile thermo oxydée affecte la croissance pondérale, la microflore digestive et provoque une hypertrophie du foie, ainsi que des altérations cytologique. Les lipides sanguins (LDL, HDL), le cholestérol et les triglycérides ont connu une évolution qui indique des risques cardiovasculaires probables.

Le dosage des enzymes antioxydant GSH et Catalase a confirmé un état de stress oxydatif chez les souris des lots traités à l'huile thermo oxydée.

Une valorisation des huiles usagées en biodiesel serait une bonne initiative pour limiter la pollution et protéger notre environnement, en produisant une énergie « propre ».

**Mots Clés :** Huile végétale, thermo oxydation, toxicité, environnement

## ملخص

أجريت هذه الدراسة على الزيت النباتي "عافية". المعالجة الحرارية عن طريق القلي أدت الى تأكسد الزيت مما تسبب في تغيير الخصائص الفيزيوكيميائية. أظهرت الدراسة المجراة على حيوان التجارب بوضوح العواقب الصحية لهذه التفاعلات. فاستعمال الزيت المؤكسد حراريا في النظام الغذائي للحيوانات يؤثر على الوزن، نمو بكتيريا الجهاز الهضمي ويسبب تضخم الكبد وكذلك اتلاف خلاياه. وقد أظهرت نسبة الدهون في الدم (LDL، HDL)، الكولسترول والغليسيريدات الثلاثية تطورا واضحا مما قد يدل على وجود مخاطر على القلب. تحديد تركيز الإنزيمات المضادة للأكسدة GSH و Catalase أكد وجود إجهاد تأكسدي عند الفئران التي عولجت بزيت مؤكسد حراريا تثمين الزيوت المستعملة في وقود الديزل الحيوي قد يكون مبادرة جيدة للحد من التلوث وحماية بيئتنا من خلال إنتاج الطاقة "النظيفة".

**الكلمات المفتاح:** الأكسدة الحرارية، التسمم، البيئة

## Remerciements

*En préambule à ce mémoire, je souhaiterais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.*

*Je tiens à remercier sincèrement Monsieur Tayeb Idoui, en tant qu'encadreur qui s'est montré à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour l'inspiration, l'aide et le temps qu'il a bien voulu me consacrer.*

*Je tiens à remercier vivement les membres de jury pour le temps qui ont consacré pour l'évaluation de ce modeste travail.*

*J'exprime ma gratitude à tous mes collègues rencontrés au sein du laboratoire lors des recherches et expériences effectuées et qui ont accepté de répondre à mes questions avec gentillesse.*

*Je n'oublie pas mon mari pour sa contribution et ma famille pour son soutien.*

## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à ma petite famille:*

*Mon cher mari ISHAK, qui a su être là*

*lors des nombreux moments de doute.*

*A mes deux chers enfants **IYAD** et **AYA***

*A mes parents **Med ABDELRAHMANE** et **SAMIA** qui m'ont tout  
donné*

*sans rien en retour et qui m'ont encouragé et soutenu*

*dans mes moments les plus difficiles.*

*A ma belle famille qui n'a jamais hésité à m'offrir son aide*

*A mon coencadreur Mme Merabet Naima pour sa contribution pour  
ce travail.*

*A mes collègues zyneb, soumia et Afaf qui m'on soutenu et offert  
leur aide*

*A monsieur Khennouf et Yekhlef*

*A tous mes amies en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort.*

*A toute la promotion de magister 2013.*

*Ainsi qu'à toutes les amies qui ont répondu à notre invitation*





*Liste des tableaux*

*Liste des figures*

*Liste des abréviations*

*Introduction*.....01

## *Partie I. Synthèse bibliographique*

### **Chapitre I. Thermo oxydation des huiles à friture**

<b>I.1.Introduction</b> .....	<b>03</b>
<b>I.2.Utilisation des huiles alimentaires comme huiles de friture</b> .....	<b>.03</b>
<b>I.3. Le processus de friture</b> .....	<b>03</b>
<b>I.4. Évolution des corps gras en friture et réactions chimiques au cours de friture</b> .....	<b>04</b>
<b>I.4.1.Réactions d'hydrolyse</b> .....	<b>04</b>
<b>I.4.2.Réactions d'oxydation</b> .....	<b>05</b>
<b>I.4.3. La <math>\beta</math>-scission</b> .....	<b>06</b>
<b>I.4.4.Réactions de polymérisation</b> .....	<b>07</b>
<b>I.5.Les principaux produits d'altération des réactions de thermo oxydation</b> ...	<b>08</b>

### **Chapitre II. Aliments lipidiques, santé et valorisation**

<b>II.1.Introduction</b> .....	<b>10</b>
<b>II.2. Lipoprotéines et effet des huiles thermo oxydées sur le métabolisme lipidique</b> .....	<b>.10</b>
<b>II.2.1. Définition des lipoprotéines</b> .....	<b>10</b>
<b>II.2.2.Effet des différentes classes de lipides sur les lipides sanguins</b> .....	<b>11</b>
<b>II.2.2.1.Les acides gras saturés (AGS)</b> .....	<b>11</b>
<b>II.2.2.2. Les acides gras mono insaturés (AGMI)</b> .....	<b>12</b>
<b>II.2.2.3. Les Acides gras polyinsaturés (AGPI)</b> .....	<b>12</b>
<b>II.3. Impact des huiles thermooxydées sur la santé</b> .....	<b>12</b>
<b>II.4. Les huiles thermo oxydées et le stress oxydatif</b> .....	<b>13</b>
<b>II.4.1.Les radicaux libres</b> .....	<b>14</b>
<b>II.4.2.Oxydation des lipides</b> .....	<b>14</b>
<b>II.4.3. Les systèmes de défense pour lutter contre les radicaux libres</b> .....	<b>15</b>
<b>II.4.3.1.Systèmes antioxydants enzymatiques</b> .....	<b>15</b>

II.4.3.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques .....	16
II.5. Valorisation des huiles à friture usagées en biodiesel.....	17
II.5.1.Définition .....	17
II.5.2. La réaction de transestérification et le biodiesel.....	18

## *Partie II. Matériel et Méthodes*

II.1. Matériel .....	21
II.1.1. L'huile végétale à friture.....	21
II.1.2. La pomme de terre .....	21
II.1.3. Les animaux et l'aliment.....	21
II.1.4. Les milieux de culture .....	21
II.1.5. Les réactifs et produits chimiques .....	21
II.1.6. L'appareillage .....	22
II.2. Méthodes.....	23
II.2.1. Enquête de consommation .....	23
II.2.2. Thermo oxydation de l'huile à friture.....	23
II.2.3. Détermination des propriétés physico-chimiques des huiles à friture thermo-oxydées.....	24
II.2.3.1. Propriétés chimiques .....	24
a. Indice d'acide.....	24
b. Indice de peroxyde .....	24
c. Indice de saponification .....	25
II.2.3.2. Propriétés physiques.....	26
a .Détermination de l'humidité .....	26
b. La densité relative .....	26
c. Impuretés.....	26
d. point de fumé.....	27
e. Détermination des points de fusion et de solidification.....	27
f. Détermination du pH.....	27
g. Détermination du coefficient d'extinction $K_{232}$ et $K_{270}$ .....	27
II.2.4. Etude de l'effet du degré d'oxydation d'huile et sa dose sur la microflore cultivable: essais <i>in vitro</i> .....	28

<b>II.2.5. Evaluation de la toxicité des huiles de friture <i>in vivo</i> .....</b>	<b>28</b>
<b>II.2.5.1. Traitement des souris et régime alimentaire .....</b>	<b>28</b>
<b>II.2.5.2. Paramètres évalués .....</b>	<b>30</b>
<b>a. Gain de poids .....</b>	<b>30</b>
<b>b. Indice hépato somatique (IHS) .....</b>	<b>30</b>
<b>c. Poids des organes .....</b>	<b>30</b>
<b>d. Paramètres sanguins .....</b>	<b>30</b>
<b>d<sub>1</sub>. Prélèvement du sang .....</b>	<b>30</b>
<b>d<sub>2</sub>. Les paramètres lipido-plasmatiques .....</b>	<b>30</b>
<b>Dosage du cholestérol total et des triglycerides .....</b>	<b>31</b>
<b>Dosage du HDL-cholestérol et du LDL-cholestérol sérique.....</b>	<b>32</b>
<b>II.2.5.3. Effet des huiles de friture sur la microflore digestive.....</b>	<b>33</b>
<b>a. Préparation de la solution mère et des dilutions.....</b>	<b>33</b>
<b>b. Microflores dénombrées.....</b>	<b>34</b>
<b>b<sub>1</sub>. Dénombrement de la FTAM .....</b>	<b>34</b>
<b>b<sub>2</sub>. Dénombrement des entérobactéries.....</b>	<b>34</b>
<b>b<sub>3</sub>. Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermo - tolérants.....</b>	<b>34</b>
<b>II.2.5.4. Dosage des paramètres de stress oxydatif .....</b>	<b>34</b>
<b>a. Préparation de la fraction cytosolique .....</b>	<b>34</b>
<b>b. Dosage Du glutathion cellulaire (GSH) .....</b>	<b>35</b>
<b>c. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase (cat).....</b>	<b>36</b>
<b>d. Dosage des protéines tissulaire .....</b>	<b>36</b>
<b>II.2.5.5. Etude histologique .....</b>	<b>37</b>
<b>a. Fixation et inclusion.....</b>	<b>37</b>
<b>b. Réalisation des blocs et étalement.....</b>	<b>37</b>
<b>c. Déparaffinage et réhydratation .....</b>	<b>37</b>
<b>d. Coloration et montage des coupes .....</b>	<b>37</b>
<b>II.2.6. Valorisation des huiles usagées en biodiesel .....</b>	<b>38</b>
<b>II.2.6.1. Synthèse de biodiésel par transestérification.....</b>	<b>38</b>

**II.2.6.2. Caractérisation du biodiesel .....38**  
**II.2.7. Analyse statistique.....39**

*Partie III. Résultats et Discussion*

**III.1. Résultats de l'enquête de consommation .....41**  
**III.2. Propriétés physico-chimiques de l'huile à friture.....42**  
**III.2.1. Propriétés physico-chimiques avant le traitement thermique..... 42**  
**III.2.2. Propriétés physico-chimiques au cours du traitement thermique (friture)..45**  
**III.2.2.1. Paramètres chimiques .....45**  
**III.2.2.2. Paramètres physiques .....48**  
**III.3. Qualité des huiles collectées des restaurants .....53**  
**III. 4. Effet des huiles thermo oxydées sur la viabilité de la microflore cultivable *in vitro*.....54**  
**III.5. Etude de la toxicité des huiles thermo oxydées *in vivo* .....55**  
**III.6. Etude des paramètres du stress oxydatif .....67**  
**III.7.Valorisation des huiles usagées en biodiésel.....71**  
**Conclusion générale et perspectives.....73**  
**Références Bibliographiques.....75**

**Annexes**



*Liste des figures et  
tableaux*





## *Liste des Figures*

---

<b>Figure 1:</b> Réaction de transformation des huiles vierges lors de la friture.....	04
<b>Figure 2:</b> Peroxydation des acides gras polyinsaturés.....	06
<b>Figure 3 :</b> $\beta$ -scission d'un hydroperoxyde lipidique.....	07
<b>Figure 4:</b> Formation de polymère acyclique à partir de l'acide oléique durant la friture.....	08
<b>Figure 5 :</b> Structure de lipoprotéine.....	11
<b>Figure 6:</b> Conséquences cellulaires de la peroxydation lipidique.....	15
<b>Figure 7:</b> Transformation des huiles végétales en EMHV.....	17
<b>Figure 8:</b> Réaction de trans-estérification.....	18
<b>Figure 9 :</b> Répartition des animaux sur les trois lots.....	29
<b>Figure10 :</b> Technique de prélèvement du sang.....	30
<b>Figure11 :</b> Equations du dosage des triglycérides.....	31
<b>Figure 12 :</b> Equation dosage du cholestérol.....	31
<b>Figure 13:</b> Schéma de la réaction entre le DTNB et les groupements -SH.....	35
<b>Figure 14:</b> Evolution de l'indice d'acide en fonction du nombre de friture.....	45
<b>Figure15 :</b> Evolution de l'indice de peroxyde en fonction du nombre de friture.....	47
<b>Figure16 :</b> Evolution de l'indice de saponification en fonction du nombre de friture.....	48
<b>Figure17 :</b> Evolution de $K_{232}$ en fonction du nombre de fritures.....	49
<b>Figure18 :</b> Evolution de $K_{270}$ en fonction du nombre de fritures .....	49
<b>Figure19.</b> Evolution de la densité en fonction du nombre de friture .....	50
<b>Figure20 :</b> Valeurs de l'humidité en fonction du nombre de friture.....	51
<b>Figure21 :</b> Evolution du taux d'impuretés en fonction du nombre de friture.....	51
<b>Figure22 :</b> Valeur du point de fumée en fonction du nombre de friture.....	52
<b>Figure23 :</b> Aspect couleur de l'huile en fonction du nombre de friture.....	52
<b>Figure 24:</b> Evolution de nombre de la microflore cultivable en fonction de la dose d'huile et le nombre de friture.....	55
<b>Figure 25:</b> Variation de gain de poids après traitement à l'huile thermo oxydées.....	56
<b>Figure26 :</b> Poids des organes recueillis après sacrifices des animaux.....	58
<b>Figure 27 :</b> Examen histologique du foie du lot témoin (a) et du lot traité a l'huile de la 21ème friture(b) Et du lot traité a l'huile des restaurants (c) après 15 jours du traitement...	60
<b>Figure 28 :</b> Examen histologique du foie du lot témoin (d) et du lot traité a l'huile de la 21ème friture(e) Et du lot traité a l'huile des restaurants (f) après45 jours du .traitement.....	61
<b>Figure29 :</b> Variation du taux des triglycérides chez les souris.....	62

## *Liste des Figures*

---

<b>Figure30</b> : Variation du taux de cholestérol chez les souris.....	63
<b>Figure 31</b> : Variation du taux LDL-C.....	64
<b>Figure 32</b> : Variation du taux HDL-C.....	64
<b>Figure33</b> : Evolution du nombre de FTAM .....	66
<b>Figure34</b> : Evolution du nombre des Entérobactérie.....	66
<b>Figure35</b> : Evolution du nombre des CT .....	66
<b>Figure 36</b> : Evolution du nombre des CTT .....	66
<b>Figure37</b> : Evolution de la concentration de l'enzyme glutathions réductase (mmol/μg de protéine).....	68
<b>Figure 38</b> : Evolution de la concentration de l'enzyme catalase (UI/μg de protéine).....	70
<b>Figure39</b> : Produit obtenu après distillation.....	71
<b>Figure 40</b> : Décantation du biodiesel.....	71



## *Liste des Tableaux*

---

<b>Tableau 1:</b> Dosage des TG et cholestérol.....	32
<b>Tableau 2 :</b> Dosage du cholestérol -HDL: étape1.....	32
<b>Tableau 3:</b> Dosage du cholestérol- HDL : étape 2.....	33
<b>Tableau 4:</b> Résultats de l'enquête auprès des propriétaires de superettes.....	41
<b>Tableau 5:</b> Résultats de l'enquête auprès des restaurants.....	41
<b>Tableau 6:</b> Caractéristiques physico-chimiques de l'huile fraîche « Afia ».....	43
<b>Tableau7 :</b> Caractéristiques physicochimiques des huiles collectées auprès de restaurateurs.....	54
<b>Tableau8 :</b> Variation de l'indice hépato-somatique au cours de la période d'apport de l'huile thermo oxydée.....	59

## *Liste des abréviations*

---

**AGM** : acides gras mono insaturés

**AGPI** : acides gras polyinsaturés

**AG libres** : acides gras libres

**PL** : phospholipides

**CL** : cholestérols libres

**TG** : triglycérides

**TGp** : triglycérides plasmatiques

**CE** : esters de cholestérols

**OA** : acide oléique

**LA** : acide linoléique

**HDL\_ cholesterol**: high density lipoprotein cholesterol

**LDL\_ cholesterol**: low density lipoprotein cholesterol

**VLDL**: very low density lipoprotein

**ROS**: reactive oxygène spaces

**EOA** : espèces d'oxygène activées

**RL**: radical libre

**ERN** : espèces réactives d'azote

**SOD** : superoxide dismutase

**GPx** : glutathion peroxydase

**GSH**: glutathion réduit

**GSSG**: glutathion oxydé

**GST**: glutathion -s- transferrase

**EMHV**: esters méthyliques d'huiles végétales

**Gélose PCA**: "Plate Count Agar"

**Gélose VRBL**: La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

**Gélose VRBG**: la gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

**FTAM**: flore totale aérobie mésophile

## *Liste des abréviations*

---

**CT:** coliformes totaux

**CTT:** coliformes totaux thermo tolérants

**HIS:** indice hépato -somatique

**Ia:** indice d'acide

**Ip:** indice de peroxyde

**Is:** indice de saponification

**DTNB:** acide 5,5 dithiobis-2-nitrobenzoïque

**TNB:** acide thionitro benzoïque

**BBC:** bleu brillant de comassie

**BSA:** serum albumin bovin

Récemment et pour prévenir l'athérosclérose chez l'homme, les graisses animales saturées ont été remplacées par des huiles végétales, en raison de leur teneur élevée en acides gras mono insaturés (AGM) et en acides gras polyinsaturés (AGPI). Cependant, lors de la cuisson à friture, des huiles de cuisson sont utilisées de façon abusive à des températures élevées en présence d'oxygène atmosphérique conduisant à une dégradation oxydante de ces dernières (**Martin et Ames, 2001; Schiller et al., 2002**). Les propriétés physiques et caractéristiques gustatives des l'huile peuvent changer très rapidement, de plus, le débat sur les la friture reste essentiellement axée sur la manière dont le réapprovisionnement fréquent d'huile usée avec de l'huile fraîche conduit à la détérioration de l'huile à friture (**Romero et al., 1998**).

Lors de la friture, le chauffage fait subir à l'huile une série de réactions chimiques telles que l'oxydation, l'hydrolyse et la polymérisation qui produisent des composés volatils et non volatils ayant des effets physiologiques importants. Au cours de ce processus, de nombreux produits d'oxydation primaire et secondaire sont produits, qui conduisent à un goût indésirable et une réduction de la qualité nutritionnelle par la dégradation des tocophérols, acides aminés essentiels et acides gras présents dans les aliments. Les aliments à frire absorbent une grande quantité de leur huile de friture, ce qui leur permet d'accumuler des produits de dégradation pour devenir une partie de l'alimentation (**Choe et Min, 2007; Halvorsen et Blomhoff, 2011**).

L'ingestion régulière de composés issus d'huile thermo-oxydée induit des modifications du métabolisme hépatique (**Sohet et al., 2010**). De plus, la structure des acides gras ingérés influence le métabolisme des lipoprotéines, et donc la concentration en lipides sanguins à savoir le LDL-Cholestérol, le HDL-Cholestérol et les triglycérides plasmatiques (TGp), ce qui est susceptible de provoquer des risques cardiovasculaires (**Dubois et al., 2007**).

Il est à noter que les lipides qui contiennent des traces d'hydro peroxydes seront décomposés pour donner les radicaux libres initiateurs de la peroxydation lipidique, ces radicaux libres, promoteurs de stress oxydatif stimulent le système de défense antioxydant (**Cillard et Cillard, 2006**).

Du côté environnement, les huiles usagées créent aussi un grave problème écologique. Actuellement, la récupération des huiles alimentaires usagées pour les valoriser en

biocarburant permet de résoudre le problème de destruction de ces déchets tout en respectant le développement durable et écologique (**Gornay, 2006**).

C'est dans ce contexte, que nous nous sommes proposé d'investir nos connaissances, en traitant le sujet intitulé : Etude de la toxicité des huiles thermo oxydées et essai de production de biodiésel. Cette étude a été accomplie en deux parties :

- Une étude bibliographique qui a permis en un premier temps de connaître l'état actuel du sujet ;
- Une étude expérimentale, dans laquelle nous avons suivi l'ensemble des paramètres physicochimiques des huiles au cours des fritures, puis nous avons évalué l'impact de leur ingestion *in vivo* sur le poids du corps et des organes et sur les lipoprotéines sanguines ainsi que sur la microflore digestive. Ensuite, nous nous sommes intéressés à l'ampleur des lésions hépatiques causées par les produits d'altération des huiles thermooxydées. Par ailleurs, nous avons évalué des capacités anti oxydantes enzymatiques et non enzymatiques face à un tel stress oxydatif. Pour en finir notre travail, nous avons fait des essais de valorisation de notre huile usagée en biodiesel.



*Partie I :*  
*Etude bibliographique*

*Chapitre I :*  
*Thermo oxydation des*  
*huiles à fritures*

## I.1. Introduction

Les huiles végétales sont des sources privilégiées de macronutriments essentiels, acides gras divers, vitamines, oméga3, oméga6, phytostérols,... Leurs devenir au cours des opérations culinaires de cuisson, au four, à la poêle et surtout en bain de friture dépend des conditions mise en œuvre, en particulier la température (**Combe et Rossignol-Casterab, 2010**).

La friture est l'une des plus anciennes et populaires préparations alimentaires, elle consiste à immerger les aliments dans l'huile chaude (150- 200°C). Les aliments frits ont une saveur délicieuse, belle couleur et une texture croustillante. Le contact entre l'huile, l'air et l'aliment permet un transfert simultané de chaleur et de masse d'huile (**Choe et Min, 2007**). Maitriser les conditions de fritures, permet de donner des produits de bonne qualité gustative. Cependant, la présence de l'air, humidité des aliments au contact de l'huile permet d'initier des réactions d'oxydation, d'hydrolyse, de polymérisation ou d'isomérisation cis-trans, ce qui conduit à la formation de produits de dégradations primaire et secondaire ainsi que des composés polaires, ces derniers étant à des concentration très faibles (**Combe et Rossignol-Casterab, 2010**).

## I.2. Utilisation des huiles alimentaires comme huiles de friture

Généralement, les huiles végétales utilisées pour la friture des aliments sont des huiles riches en acides gras saturés (AGS), ce sont des huiles raffinées qui subissent éventuellement des traitements post raffinage, il s'agit de l'hydrogénation et du fractionnement physique (**Evrard et al., 2007**).

L'huile de tournesol est généralement la plus utilisée, cette dernière peut être issue de deux variétés de graines, la première, composée de plus de 60% d'acide linoléique et d'oméga3, la deuxième est composée de plus de 80% d'acide oléique et d'oméga 9, ce qui lui confère une grande stabilité à l'oxydation et au chauffage (**Kristott et al., 2003**). Ainsi, on trouve les huiles de tournesol à origine non génétiquement modifiée, riche en vitamine E et exemptes d'acide tri-insaturée comme des matières privilégiées pour la friture, aussi bien au niveau industriel qu'à l'intérieur des foyers (**Combe et Rossignol-Casterab, 2010**).

## I.3. Le processus de friture

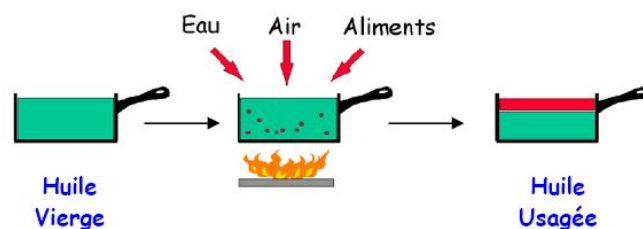
La friture peut être réalisée de deux manières (**Combe et Rossignol-Castera, 2010**) :

- ✓ **Friture plate** : Elle se fait à la poêle, avec une petite quantité de matière grasse. Elle est caractérisée par une cuisson relativement modérée, elle se fait à une température

entre 140 et 180 °C. En l'espace de quelques minutes seulement, le contact important avec l'air favorise l'oxydation de l'huile (Figure 1).

- ✓ **Friture profonde** : Elle se fait dans un bain d'huile à température entre 175 et 200°C. Le temps de friture est plus long, ce qui favorise des réactions purement thermiques. Dans ce type de friture, l'aliment absorbe environ de 4 à 10% d'huile pour la pomme de terre et jusqu'à 30 à 40% pour le cas des chips. Le bain de cuisson, peut être utilisé totalement ou partiellement sur plusieurs cycles de cuisson.

La friture permet de déshydrater, cuire, texturer et formuler des aliments (imprégnation en matière grasse, perte de solutés propres et développement d'arômes).



**Figure 1:** Réaction de transformation des huiles vierges lors de la friture (Gornay, 2006)

Les AG mono insaturés dans les huiles, leurs confèrent la stabilité et peuvent être réutilisés plusieurs fois (comme pour l'huile d'olive et l'huile d'arachides), en revanche les huiles de maïs, soja, ..., riche en AG polyinsaturés y sont moins stables. Il est important de ne pas surchauffer (dépasser 180°C), et remplacer l'huile régulièrement (toutes les 10 utilisations environ) (Graille, 2003).

#### I.4. Évolution des corps gras en friture et réactions chimiques au cours de la friture

La thermo-oxydation est l'ensemble des réactions dans l'huile chauffée. L'huile est utilisée comme « caloporteur » pour frire ou rôtir les aliments. Ce type de réactions abouti à l'altération de l'huile et à la modification des caractéristiques physico-chimiques et nutritionnelles du corps gras (Combe et Rossignol-Casterab, 2010).

**I.4.1. Réactions d'hydrolyse** : Les vapeurs d'eau présentes dans l'huile proviennent des aliments, ces vapeurs interagissent avec l'oxygène et initient des réactions chimiques. L'eau, un nucléophile faible, attaque les liaisons ester du triacylglycérol, ce qui donne des di et mono- acyl glycérol, du glycérol et AG libres (Chung *et al.*, 2004). Le nombre d'acides gras libres présent dans l'huile augmente avec le nombre de fritures. Il est utilisé comme critère de surveillance de qualité d'huile à friture. Les réactions d'hydrolyse thermique se font dans la

phase huileuse, elles sont d'autant plus préférables dans l'huile à courtes chaînes insaturées (plus solubles dans l'eau) que dans l'huile à longues chaînes saturées (**Nawar, 1969**).

Plusieurs facteurs affectent l'hydrolyse (**Frega et al., 1999 ; Naz et al., 2005**):

- ✓ Le remplacement de l'huile de friture avec de l'huile fraîche ralentit l'hydrolyse ;
- ✓ L'hydroxyde de sodium et autres alcalins utilisés pour le nettoyage des friteuses augmentent l'hydrolyse de l'huile ;
- ✓ La durée de friture n'affecte pas l'hydrolyse de l'huile ;
- ✓ Les produits d'hydrolyse : di et mono- acylglycérol, glycérol et autres AG accélèrent l'hydrolyse.

**I.4.2. Réactions d'oxydation :** Lors de la friture des aliments, les AG présents dans l'huile subissent une dégradation oxydative sous l'effet de la chaleur. Cette dégradation conduit à la formation de produits nocifs pour la santé, tels que des radicaux libres, des aldéhydes, des alcools et des peroxydes (**Marquez-Ruiz et Dobarganes, 2007**).

Le mécanisme chimique de la thermo oxydation est quasiment le même que celui de l'auto oxydation, il implique l'initiation, la propagation et la terminaison (**Hoeand et Min, 2007**).

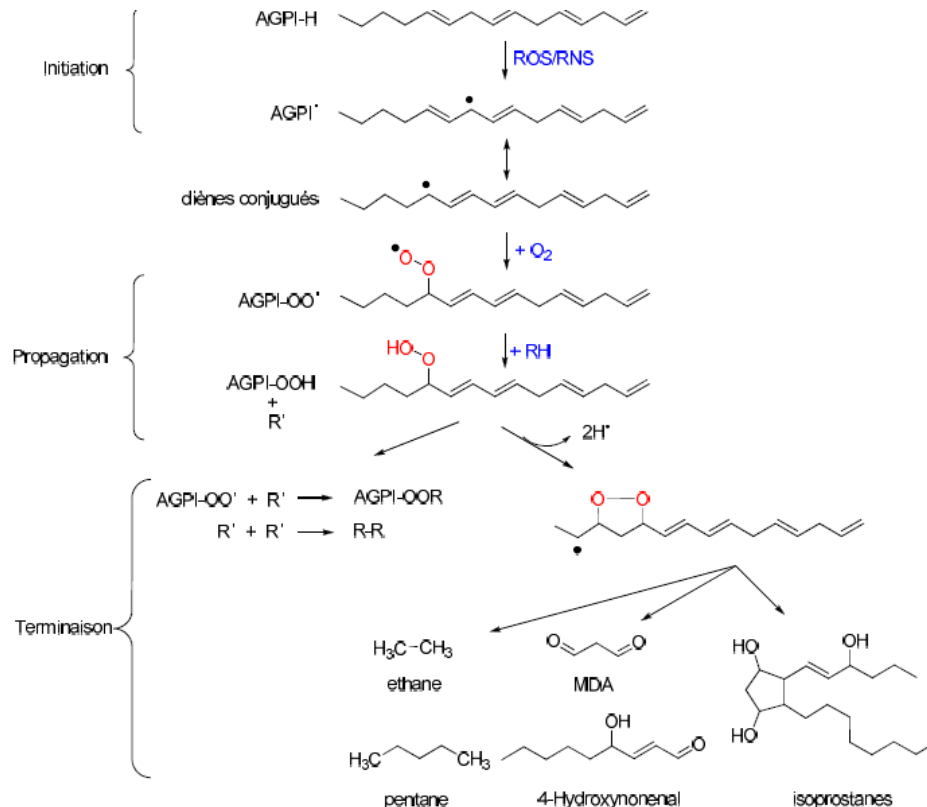
Les étapes sont les suivantes (**Mc. Clement et Decker, 2007**) :

- ✓ **L'initiation :** sous l'effet d'un agent externe, lumière, chaleur, radiation ionisante ou une initiation chimique impliquant un ion métallique, l'AG perd un hydrogène afin de former un radical lipidique.

Un atome d'hydrogène est plus facilement extrait d'une molécule, si la double liaison se trouve sur le carbone adjacent. Ainsi, plus une molécule est insaturée, plus il est facile d'extraire un atome d'hydrogène.

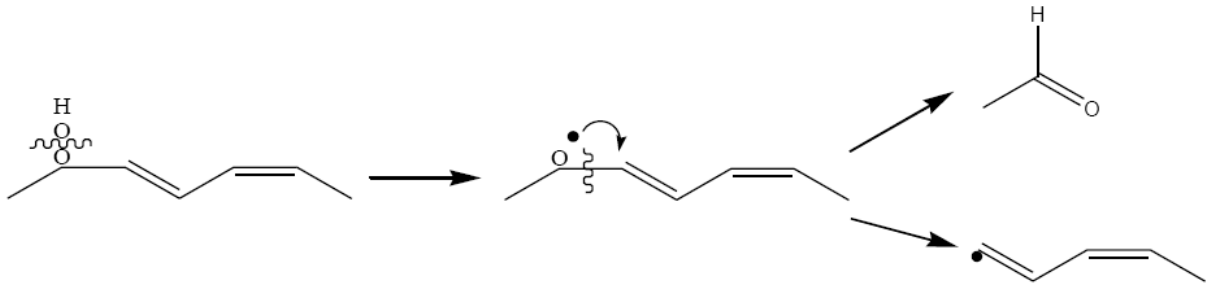
- ✓ **La propagation :** Le radical libre du lipide va réagir avec l'oxygène pour former le radical peroxyde (LOO•). Ce dernier va alors se transformer en une molécule d'hydro peroxyde lipidique (LOOH), car le radical peroxyde libre est doté d'une grande énergie, il va donc arracher un atome d'hydrogène d'une autre molécule d'AG d'une part (la liaison hydrogène d'un AG est très faible) et de libérer un autre radical libre lipidique, d'autre part. La succession de ses réactions permet la propagation de l'oxydation. Les hydro peroxydes ne sont pas généralement stables au cours de la friture, ils sont décomposés en radicaux alcoxy et des radicaux hydroxyles par homolyse (rupture de la liaison peroxyde).

- ✓ **Terminaison** : Lorsque les radicaux libres sont présents en excès, ils vont réagir avec d'autres radicaux libres pour former des éléments non radicalaires (dimères). La figure 2, illustre les trois stades de l'oxydation.



**Figure 2** : Peroxydation des acides gras polyinsaturés (Toussaint *et al.*, 2003).

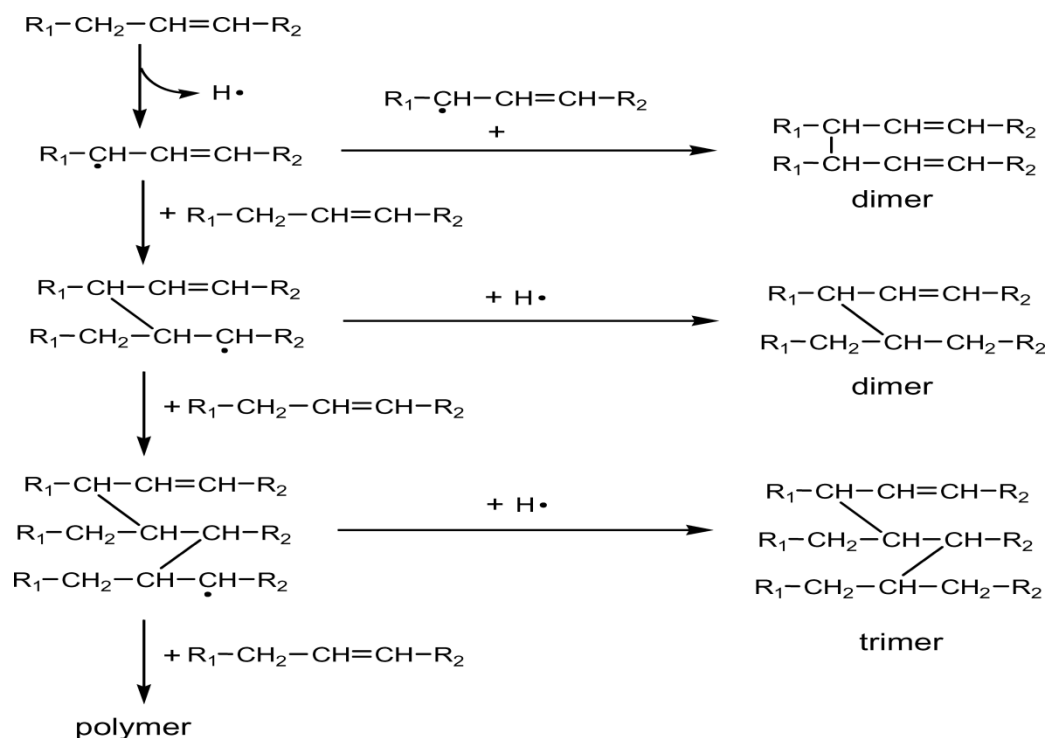
**I.4.3. La β-scission** : Les radicaux d'alkoxy (LO·), très réactifs ont assez d'énergie pour arracher un électron au lien covalent adjacent et causer ainsi le clivage de la chaîne aliphatique. Cette réaction est appelée une β-scission. Un aldéhyde et un radical d'alkyle sont obtenus. Ce radical peut alors réagir avec de l'oxygène pour faire un hydro peroxyde, un radical d'hydroxyle afin de former un alcool ou un radical d'hydrogène pour former un hydrocarbure (Mc-Clements et Decker, 2007). La figure 3, illustre le mécanisme de cette réaction.



**Figure 3 :**  $\beta$ -scission d'un hydroperoxyde lipidique (Mc-Clements et Decker, 2007).

**I.4.4. Réactions de polymérisation :** Bien que les composés volatiles apportent la qualité gustative dans l'huile à friture et les aliments frits, les majeurs composants des huiles à fritures sont les composés polaires, non volatiles, tri glycérol, dimères et polymères (Nawar, 1985). Les dimères et polymères sont de grandes molécules ayant un poids moléculaire entre 692 et 16000 Daltons. Ces dernières se forment par des composition (C-C), (C-O-C) et des liaison (C-O-O-C) (Kim *et al.*, 1999).

Les dimérisation et polymérisation sont des réactions radicalaires, les dimères sont formés à partir des radicaux allyles par des liaisons C-C (Choe et Min, 2007). L'augmentation du nombre de friture et de la température de friture va augmenter la quantité de polymères (Figure 4). Plus rarement, les AG insaturés peuvent se couper, se cycliser, les doubles liaisons peuvent se déplacer ou se modifier et former des AG conjugués ou trans (Comb et Rossignol -Castéra, 2010).



**Figure 4:** Formation de polymère acyclique à partir de l'acide oléique durant la friture (Choe et Min, 2007).

### I.5. Les principaux produits d'altération des réactions de thermo oxydation

Durant le processus de friture, les hydroperoxydes formés à partir des acides gras, poly insaturés sont rapidement transformés en produits secondaires, car comme précédemment mentionné, ils sont instables et seront coupés en molécules volatiles (aldéhydes, hydrocarbures...), soit remaniés en hydroxyle, cétones et époxydes. Ces acides oxydés peuvent à leur tour, sous l'effet de la chaleur se dimériser, voir se polymériser pour conduire à des glycérides plus polaires et à plus haut poids moléculaire que les triglycérides natifs de l'huile (Combe et Rossignole -Caster, 2010).

En résumé, une huile altérée peut contenir les produits suivants (Boatella et Codony, 2000) :

- ✓ Des composés d'oxydation fixes (TG oxydés, époxydes, etc.) ;
- ✓ Des composés volatiles (hexanal, pentane, 2,4-décadienal, pentanol, etc.) ;
- ✓ Des oligomères oxydées ;
- ✓ Des oxydes de stérol.

Par des réactions impliquant l'hydrolyse des triglycérides, on trouve de grandes quantités d'acides gras libres, de diglycérides et des monoglycérides. Par des réactions impliquant la



polymérisation de triglycérides, il se forme des dimères non polaires et d'autres oligomères non polaires (**Boatella et Codony, 2000**).

D'autres composés beaucoup plus toxiques peuvent être trouvés dans les huiles à friture. Les monomères cycliques d'acides gras(MCAG) sont présents en faible quantité dans les huiles à friture polyinsaturées (**Marquez-Ruiz et Dobarganes ,2007**). On peut trouver également des contaminants toxiques comme le piphényl polychloré ou encore des dioxines (**Boatella et Codony, 2000**).

*Chapitre II :*  
*Aliments lipidiques,*  
*santé et valorisation*

## II.1.Introduction

Aujourd'hui, il est universellement admis que la peroxydation des lipides insaturés (acides gras et cholestérol) est à l'origine de la plupart des maladies. Elle provient en grande partie de notre alimentation. En effet, par le stockage et le mode de préparation de certains aliments (friture, grillade, rôtisserie), nous apportons chaque jour à notre organisme un cocktail de radicaux libres, de lipoperoxydes et de divers métabolites issus de la lipoperoxydation, particulièrement nocifs pour notre santé (**Morelle-Lauzanne, 2006**).

Les acides gras insaturés sont plus sensibles à l'oxydation des lipides que les acides gras saturés et, pour cette raison, ils sont une bonne source de radicaux libres (**Chacko et Rajamohan, 2011**). Les radicaux libres toxiques et nocifs de l'huile thermiquement oxydée peuvent être des inhibiteurs enzymatiques, des destructeurs de vitamines, des irritants gastro-intestinaux ou des produits d'oxydation des lipides qui induisent un stress oxydatif (**Srivastava et al., 2010**). Il a été rapporté, que ce stress oxydatif est impliqué dans le développement de nombreux effets nocifs et pathologiques dans de nombreux tissus après la consommation d'huile chauffée (**Isong et al., 1997**). Par exemple, il a été signalé que la consommation à long terme d'huiles oxydées provoque un retard de croissance, une athérosclérose, une thrombose, des foies gras, des carences en acides nucléiques et une malnutrition en micronutriments entraînant la désactivation d'enzymes métaboliques clés (**El -bially et al., 2015**).

De plus, les huiles de cuisson font parties des déchets polluants à cause de leurs composants nocifs pour le vivant. Une énorme augmentation a eu lieu dans la production de ces déchets et d'où la nécessité d'envisager un recyclage. En outre, leur nature liquide empêche leur mise en décharge (**Boatella et Codony, 2000**). Cela signifie qu'il faut chercher des alternatives pour les recycler plus proprement telles que la fabrication de savons, utilisation comme lubrifiants biodégradables, combustion pour récupération d'énergie ou obtention de biocarburants dont le biodiesel constitue une bonne initiative pour valoriser ce genre de déchets.

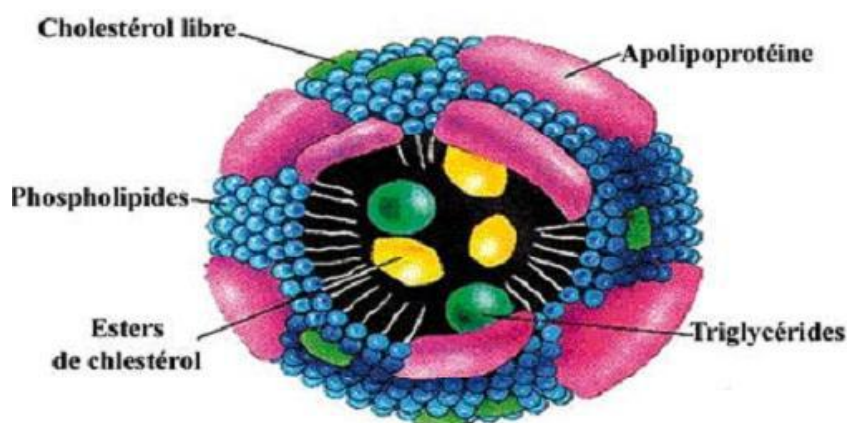
## II.2. Lipoprotéines et effet des huiles thermo oxydées sur le métabolisme lipidique

**II.2.1. Définition des lipoprotéines :** ce sont des particules globulaires de haute masse moléculaire constituées d'un ensemble macromoléculaire de lipides et d'apolipoprotéines (Figure5). Elles sont formées d'une monocouche superficielle de phospholipides (PL) et de cholestérol libre (CL), qui recouvre un cœur lipidique constitué de lipides apolaires, triglycérides (TG) et esters de cholestérol (CE). Les apolipoprotéines situées à la surface de la lipoprotéine servent à l'interaction des lipoprotéines avec des récepteurs (**Patrick et al., 2008**). Différentes

classes de lipoprotéines existent et se différencient selon plusieurs critères comme la densité, la taille et la composition chimique.

Selon leurs différences de densité on distingue (Cuvelier *et al.*, 2005) :

- ✓ Les chylomicrons;
- ✓ VLDL: Very low density lipoproteins;
- ✓ LDL: Low density lipoproteins;
- ✓ HDL: High-density lipoproteins.



**Figure 5** : Structure de lipoprotéine (Saile et Taki, 2007).

## II.2.2. Effet des différentes classes de lipides sur les lipides sanguins

**II.2.2.1. Les acides gras saturés (AGS) :** Les AGS ont un effet hyper-cholestérolémiant car, ils peuvent être responsables de la diminution de l'expression du récepteur hépatique des particules LDL, empêchant une récupération efficace de ces lipoprotéines par le foie, ce qui aurait pour conséquence d'augmenter la concentration plasmatique en LDL-cholestérol. Par ailleurs, leur incorporation dans les phospholipides membranaires pourrait rigidifier la membrane hépatocytaire, du fait de leur point de fusion élevé. Celle-ci perdrait ainsi de sa fluidité, et le fonctionnement des récepteurs aux LDL pourrait en être perturbé (Grundy *et al.*, 1990).

Cependant, il a été rapporté que l'acide gras, laurique et myristique augmentent le LDL-Cholestérol (Hunter, 2001). De même, Khosla *et al.* (1996) ont rapporté qu'au-delà de 400 mg de cholestérol alimentaire ingéré par jour, l'acide palmitique augmenterait le taux de LDL-Cholestérol tandis qu'il serait plutôt neutre en déçu.

Concernant la position de l'acide palmitique sur le squelette glycérique des triacylglycérols, il augmenterait plus le LDL-Cholestérol sanguin en étant placé en position interne (Kubow, 1996).

Quant à l'acide stéarique, il a été prouvé qu'un régime riche, en cet acide n'augmente pas les lipides plasmatiques comparé à un régime riche, soit en acide oléique, soit en acide linoléique (**Hunter et al., 2000**).

**II.2.2.2. Les acides gras mono insaturés (AGMI) :** L'acide oléique (OA) est l'acide gras majoritaire de nombreuses huiles végétales. Il a été montré, selon les études que cet acide gras a un effet neutre ou légèrement positif vis-à-vis du cholestérol total et du LDL-Cholestérol (**Bonanome et al., 1988**). L'action positive des AGMI sur les lipides sanguins a, en effet, été démontrée par des études dans lesquelles le régime témoin était composé d'AGS. Ce choix a introduit un biais dans les résultats du fait de l'action délétère de ces acides gras sur le LDL-Cholestérol (**Grundy et al., 1990**). À part l'action sur le LDL-Cholestérol, il semble que l'acide oléique soit neutre vis-à-vis des TG plasmatiques et du HDL-Cholestérol (**Clarke et al., 1997**).

**III.2.2.3. Les acides gras polyinsaturés (AGPI) :** Parmi les AGPI, l'acide linoléique (LA). Remplacer des AGS par du LA permet de diminuer la concentration en LDL-Cholestérol (**Dubois et al., 2007**). Il diminue également, mais de manière faible, le taux de TG plasmatiques. Par ailleurs, l'acide  $\alpha$ -linoléique semble être neutre vis-à-vis du LDL-Cholestérol (**Kris-etherton et al., 2004**).

### **II.3. Impact des huiles thermooxydées sur la santé**

Les symptômes connus accompagnant l'ingestion de graisses oxydées sont nombreux. Ils comprennent le retard de croissance, l'anémie hémolytique, la thrombose, les foies gras, la carence en acides gras essentiels, la carence en acides nucléiques et la malnutrition en micronutriments, entraînant la désactivation d'enzymes métaboliques clés (**Isong et al., 1997**).

Les huiles végétales comme l'huile de soja contiennent des vitamines E et C qui sont des antioxydants qui peuvent éliminer les radicaux libres. Ces vitamines sont détruites par les hydroperoxydes générés lors de la peroxydation lorsque l'huile à friture est chauffée à plusieurs reprises, ainsi l'effet antioxydant de ces vitamines ne peut plus empêcher l'oxydation des acides gras dans ces huiles. La réduction de la teneur en vitamine E des huiles à friture peut contribuer à l'augmentation de la production d'espèces réactives d'oxygène (ROS) et peut causer des dommages oxydatifs (**El -bially et al., 2015**).

En outre, les espèces de radicaux libres (ROS), très réactives qui sont générées ont été impliquées dans l'étiologie de maladies telles que le cancer, l'athérosclérose, le diabète, l'arthrite, l'anémie et la formation de cataractes (**Lunec, 1992**).

Cependant, il existe peu dans la littérature concernant les conséquences des huiles oxydées ingérées sur la capacité de reproduction de l'homme et des animaux. De plus, les effets possibles sur les populations mal nourries sont rares. Cependant, des données indiquent que l'épuisement des protéines exacerbe la sensibilité aux toxicités en général (**Isong et al., 1997**).

Selon **Srivastava et al. (2010)**, l'utilisation répétée d'huile thermooxydée est associée à la formation de fractions génotoxiques. Cela peut être attribué à la conversion des constituants des substances potentiellement toxiques, telles que des produits de scission en chaîne volatiles, des dérivés oxydés non volatils, des dérivés dimères, polymères ou des substances cycliques, etc.

La consommation des monomères cycliques trouvés en faibles quantités dans les huiles à friture conduit à la réduction de la lipogenèse dans le foie et l'augmentation dans le tissu adipeux qui peut provoquer avec un régime à faible teneur en protéines un retard de croissance et une augmentation du volume du foie (foie gras) (**Boatella et Codony, 2000**).

Par ailleurs, il a été prouvé que les acides gras hydroxylés et autres produits d'oxydation lipidiques secondaires, provoquent une diarrhée, une altération de la fonction hépatique, une élévation des enzymes hépatiques sériques avec une légère hypertrophie et une augmentation des lipides sanguins et du cholestérol (**El-bialy et al., 2015**).

De même, d'après **Chacko et Rajamohan (2011)**, la présence de produits d'oxydation des lipides d'huile thermo oxydée dans le corps augmente les chances de peroxydation des membranes cellulaires. Cela pourrait entraîner des changements structurels, donc fonctionnels dans les membranes d'où, la fuite des enzymes à partir des cellules. Cela provoque des dommages au niveau du foie qui peut aller jusqu'à son dysfonctionnement.

#### **II.4. Les huiles thermo oxydées et le stress oxydatif**

L'oxygène moléculaire indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA) (**Haleng et al., 2007**).

Dans les systèmes biologiques, l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des radicaux libres est appelée état de stress oxydatif, suite à un déséquilibre lié, soit à une production accrue des radicaux libres, soit à une diminution de la capacité de défenses anti oxydantes (**Sies, 1991**), en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques, les radicaux libres causent des dommages importants dans le métabolisme cellulaire (**Angelos et al., 2005**).

L'exposition chronique au stress oxydatif peut favoriser l'apparition de dépôt de lipides oxydés, fibrose, cancers, maladies cardiovasculaires et mutations (**Favier, 2003**).

**II.4.1. Les radicaux libres :** Un radical libre (RL) est une entité chimique (atome, molécule, fragment de molécule) très réactive étant capable de se combiner avec un autre électron pour atteindre la stabilité selon un phénomène d'oxydation car il contient au moins une case quantique libre. Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelque nanosecondes) et il est symbolisé par un point qui indique où l'électron libre se situe (ex : OH<sup>•</sup>) (**Robertson et al., 2007**).

Les radicaux libre sont des dérivés de l'oxygène (ERO) ou d'autres atomes comme l'azote (ERN) (**Delatter et al., 2005**) ils sont produits par de nombreux mécanismes tant endogènes qu'exogènes: phagocytose, chaîne respiratoire mitochondriale, cellules endothéliales, cellules micro gliales, métaux lourds, rayonnements ultraviolets ou ionisants, oxydation dans l'organisme des catécholamines, des pesticides ou certains médicament...etc (**Leverve et al., 2001**).

Généralement les espèces réactives de l'oxygène ERO sont divisées en (**Favier, 2003**):

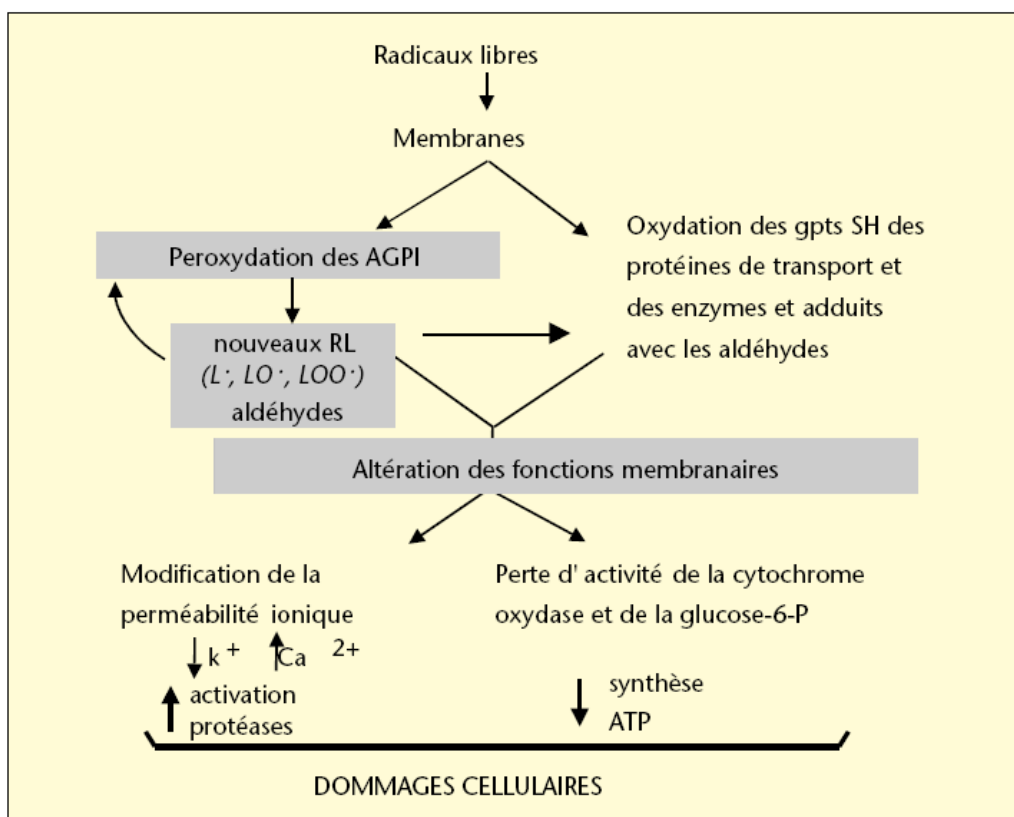
- ✓ Des radicaux oxygénés caractérisés par un électron non apparié (l'anion superoxyde O<sub>2</sub><sup>•</sup>, les radicaux hydroxyles HO<sup>•</sup>, peroxyde ROO<sup>•</sup>, alkoxyde RO<sup>•</sup>) ;
- ✓ Des dérivés de l'oxygène non radicalaires comme le peroxide d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, l'oxygène singulet 1O<sub>2</sub> et le nitroperoxyde (ONOOH) mais qui sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux libres.

**II.4.2. Oxydation des lipides :** La peroxydation lipidique est un phénomène général qui se produit dès la présence de l'oxygène. *In vitro*, l'oxydation des lipides dans les aliments pose de sérieux problèmes pour l'industrie alimentaire qui utilise de plus en plus des acides gras hautement insaturés tels que ceux de la série n-3, très susceptibles à l'auto oxydation. L'oxydation des lipides alimentaires entraîne des altérations qualitatives (rancissement), nutritionnelles (perte en vitamines), voir même une toxicité due aux produits issus de la peroxydation lipidique (peroxydes, aldéhydes) (**Cillard et Cillard, 2006**).

L'action des ERO sur les lipides et surtout les acides gras polyinsaturés se fait comme suit (figure 6) :

- ✓ L'attaque des lipides circulants aboutit à la formation des LDL oxydées, qui, captées par des macrophages forment le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires (**Durand et Beaudeau, 2011**) ;

- ✓ L'attaque des phospholipides membranaires entraîne la perte d'acides gras polyinsaturés, modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (**Favier, 2003**).



**Figure 6:** Conséquences cellulaires de la peroxydation lipidique (**Cillard et Cillard, 2006**).

**II.4.3. Les systèmes de défense pour lutter contre les radicaux libres :** Les antioxydants sont des composés très divers qui regroupent des protéines à activité enzymatique (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase) et non enzymatique (séquestrant des métaux) et des petites molécules liposolubles (vitamine E,  $\beta$ -carotène) ou hydrosolubles (vitamine C, acide urique). La définition large du terme antioxydant est la suivante, « toute substance qui, présente à faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat » (**Cillard et Cillard, 2006**).

**II.4.3.1. Systèmes antioxydants enzymatiques :** Les antioxydants enzymatiques sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les ERO (**Chavan et Melinkeri, 2013**).



La superoxyde dismutase (SOD), catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) en oxygène moléculaire  $O_2$  et peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  (Faraci et Didion, 2004). C'est l'enzyme la plus importante dans la défense contre le stress oxydatif (Buldak *et al.*, 2014).



Par ailleurs, la catalase est responsable de l'élimination d' $H_2O_2$  par une transformation en  $H_2O$  et  $O_2$ . L'affinité de la catalase pour l' $H_2O_2$  est élevée seulement lorsque les teneurs en peroxyde d'hydrogène sont accrues (Buldak *et al.*, 2014). La glutathion peroxydase (GPx), détruit le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes lipidiques. La réduction de ces dérivés réactifs est couplée avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH). La glutathion réductase (GR) a pour rôle la régénération de GSH à partir du GSSG tout en présence du cofacteur NADPH (Sorge, 2004).

Cependant, la glutathion-S-transférase (GST) est un système très important dans la protection de la cellule contre les espèces réactives de l'oxygène, par sa capacité de conjuguer le glutathion avec les composés électrophiles et la réduction des peroxydes (Zhihua *et al.*, 2004).

**II.4.3.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques :** ce sont des antioxydants apportés par l'alimentation qui interagissent avec les radicaux libres dans le but de protéger l'organisme. Le glutathion (GSH) ou thiol non protéique, est le plus abondant des tri-peptides dans le corps humain. Le glutathion joue un rôle physiologiques importants, car il est essentiel dans la protection contre les espèces réactives de l'oxygène comme le peroxyde d'hydrogène (Yu, 1994) ou le monoxyde d'azote (Favier, 2003), le glutathion passe d'une forme réduite (GSH) à une forme oxydée (GSSG), cette réaction est catalysée par la glutathion peroxydase en présence de NADPH comme cofacteur (Hayes et Mclellan, 1999). Dans les érythrocytes, le glutathion est responsable d'entretenir le fer sous sa forme réduite, une des conditions préalables pour la fonction de l'hémoglobine (Darmaun *et al.*, 2005).

Outre le GSH, il y a d'autres anti oxydants non enzymatiques, on cite parmi eux, les oligoéléments, les polyphénols, la vitamine E, la vitamine C et la bêta-carotène (provitamine A) (Morin et Pages-Xatart-Pares, 2012).

## II.5. Valorisation des huiles à friture usagées en biodiesel

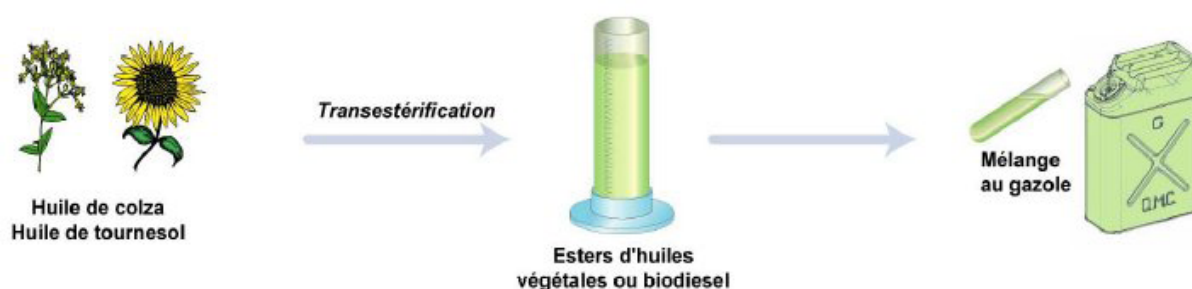
Le rejet des huiles végétales à utilisation alimentaire et friture particulièrement constitue une voie de pollution non négligeable. Le recyclage et la valorisation de ces déchets devient une nécessité pour la durabilité de vie sur la terre pour les générations à venir.

Dû à leur point de fusion élevé, les huiles à friture ne peuvent pas être déversées dans les circuits d'eau usagée et leur collecte et stockage doivent être effectués d'une manière spécifique et adaptée loin des systèmes de valorisation des déchets ménagers. Ces déchets peuvent être le sujet d'une valorisation énergétique, ce sont des cibles importantes pour la fabrication des biocarburants grâce à leur structure chimique formée de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Leur faible teneur en contaminants comme le soufre et l'azote et leur bilan de dioxyde de carbone nul en font des cibles importantes pour la fabrication des biocarburants (Sary, 2011).

Une étude a montré qu'aux Etats-Unis 1,13 millions de tonnes de déchets graisseux sont collectés annuellement parmi 5,3 millions de tonnes produites. Cette étude a également montré que si ces 5,3 millions de tonnes de déchets sont transformés en biodiesel, elles peuvent remplacer 5,67 millions de litres de pétrole (Canakci, 2007).

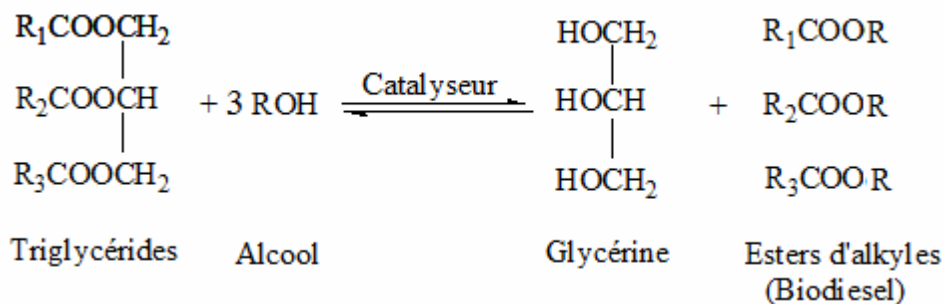
**II.5.1. Définition :** Le biodiesel désigne le produit de la réaction de trans-estérification des triglycérides avec les alcools à courtes chaînes (le méthanol et l'éthanol sont les plus utilisés). Chimiquement, ils sont composés des esters d'acides gras. Ce produit a attiré l'attention des motoristes, vu ses propriétés physiques proches du gazole et la possibilité de l'utiliser sur les moteurs diesel sans introduire de modification (Sary, 2011).

Actuellement, la seule filière industrielle est les EMHV (Esters Méthyliques d'Huiles Végétales), plus connus sous le nom de Diester (contraction de Diesel et Ester). Les EMHV sont, additionnés au gazole jusqu'à hauteur de 2 % (en volume). Le Diester est le seul carburant liquide d'origine végétale, et donc renouvelable, utilisé à grande échelle pour les moteurs Diesel et acheté par les sociétés pétrolières qui l'incorporent elles-mêmes au gazole (Gorney, 2006)



**Figure 7:** Transformation des huiles végétales en EMHV  
(Rapport d'activité I.F.P, 2004)

**II.5.2. La réaction de transestérification et le biodiesel :** la trans estérification est une réaction chimique entre une mole de triglycérides et trois moles d'alcool et qui donne à la fin une mole de glycérine et trois moles d'esters. L'équation de la réaction s'écrit comme ci-dessous (Sary, 2011) :



**Figure 8:** Réaction de trans-estérification (Sary, 2011).

Cette réaction est réversible. Afin de favoriser le sens de transestérification, il faut ajouter un excès d'alcool afin de déplacer l'équilibre dans le sens désiré (Meher *et al.*, 2006). Le catalyseur favorise la réaction de transestérification et l'accélère même à basses températures et pressions (Ellis *et al.*, 2008), les catalyseurs les plus utilisées sont les catalyseurs homogènes qui sont des bases fortes (catalyse alcaline) ou des acides forts (catalyse acide), les catalyseurs hétérogènes acides et basiques et les enzymes (catalyse enzymatique) (Agarwal *et al.*, 2007).

La catalyse basique est la méthode la plus utilisée dans l'industrie due à sa rapidité, simplicité et son coût de production. Les catalyseurs les plus communs sont les hydroxydes de Sodium (NaOH) et de potassium (KOH) (Balat et Balat, 2008).

La pureté des produits de la réaction dépend de plusieurs paramètres :

- ✓ **Température de la réaction :** la plupart des études recommandent de travailler à la température d'ébullition de l'alcool (Dias *et al.*, 2008 ; Sharma et Singh, 2008). D'autre part, lors de l'utilisation d'un catalyseur basique, au-delà de certains seuils de température, d'humidité et d'acidité, la réaction de saponification qui est une réaction concurrente à la transestérification sera favorisée (Sharma et Singh, 2008) ;
- ✓ **La quantité du catalyseur :** Les quantités de catalyseur requises augmentent avec l'acidité initiale de l'huile utilisée (Meher *et al.*, 2006 ; Issaryakul *et al.*, 2007). L'excès de catalyseur aura pour rôle de neutraliser les acides gras libres ;

- ✓ **L'excès d'alcool** : l'excès d'alcool tend à déplacer l'équilibre dans le sens de la transestérification et de l'accélérer (**Meher, 2006**) ;
- ✓ **La durée de la réaction** : il faut bien préciser cette durée pour optimiser la réaction.
- ✓ **La teneur en acides gras libre et en eau** : la saponification est une réaction concurrente à la transestérification. Elle est favorisée par la présence de l'eau et des acides gras libres (**Sary, 2011**).

En catalyse acide, on utilise des acides forts. Les acides les plus utilisés sont l'acide sulfurique, l'acide chlorhydrique et l'acide phosphorique (**Meher et al., 2006 ; Lam, 2010**), mais la réaction à catalyse acide est très lente (4000 fois plus lente que la réaction à catalyse basique (**Fukuda et al., 2001**)).

Les catalyseurs hétérogènes acides offrent l'avantage d'être inaffectés par l'acidité de l'huile utilisée, facile à régénérer et ont moins de risques de corrosion que l'acide minéral, alors que les catalyseurs hétérogènes basiques sont des composés chimiques, insolubles dans l'alcool, comme les zéolites basiques, les oxydes métaux alcalinoterreux et les hydrotalcites. Les oxydes des métaux alcalinoterreux sont les plus intéressants (**Sary, 2011**).

La catalyse enzymatique, consiste à utiliser des lits d'enzymes. La lipase extracellulaire est la plus utilisée (**Haas, 2005; Ranganathan et al., 2008**). Cette méthode a le profil écologique le plus intéressant car elle respecte bien les principes de la chimie verte et donne des produits purs, sans déchet. Elle s'effectue à des basses températures et pressions (on ne dépense pas d'énergie). Mais, jusqu'à présent, il n'y a pas d'installations prêtes à l'échelle de production industrielle (**Kiwjaroun, 2009**).

Il existe aussi des méthodes de transesterification à catalyse basique chauffés aux micro-ondes, ce phénomène se traduit par un chauffage rapide, homogène et plus efficace des réactifs et donc une économie d'énergie (**Lam et al., 2010**). Des rendements variant entre 88 et 94% et la pureté du biodiesel variaient entre 87 et 99%. Aussi, l'utilisation de la trans estérification sous assistance des ondes ultrasonores dans la transestérification au lieu de l'agitation mécanique minimise la consommation d'énergie durant la réaction et diminue le temps de réaction et l'excès d'alcool nécessaire pour cette réaction (**Lam et al., 2010**).

*Partie II : Matériel et  
Méthodes*

## II.1. Matériel

**II.1.1. L'huile végétale à friture :** après une enquête de consommation, nous avons décidé de mener notre étude sur l'huile végétale de marque *Afia* qui est d'après les résultats de l'enquête, la plus utilisée pour la friture (au moins au niveau de la daïra de Jijel). Cette huile est constituée essentiellement de Soja et de Maïs. La composition indiquée sur l'emballage est la suivante : 95% de soja et 5% de maïs.

Pour mener notre étude, quatre échantillons d'huiles végétales utilisées pour la friture par des restaurants ont été prélevés. Les échantillons ont été prélevés dans des flacons en verre de 250ml, et conservés à l'abri de la lumière.

**II.1.2. La pomme de terre :** l'aliment le plus utilisé pour la friture, aliment glucidique, pas cher et à la portée de tout le monde. Une quantité de 3 kg de pomme de terre de variété Ostara a été achetée auprès d'un marchand de légumes situé au niveau de la rue Rouibah Houcine (Jijel).

**II.1.3. Les animaux et l'aliment :** l'étude de l'impact de l'ingestion d'aliments thermo oxydés sur la santé a été réalisée *in vivo* sur 18 souris femelles provenant de l'institut Pasteur d'Alger. Les souris ont été nourries d'aliment standard, qui se présente sous forme de croquettes.

**II.1.4. Les milieux de culture :** pour l'étude de l'impact de l'ingestion d'huiles thermo oxydées sur la microflore digestive, nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- ✓ Géloses PCA et nutritive pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) ;
- ✓ Gélose VRBL pour le dénombrement des coliformes totaux (CT) et coliformes thermo tolérants (CTT) ;
- ✓ Gélose VRBG pour le dénombrement des entérobactéries.

**II.1.5. Les réactifs et produits chimiques :** Pour la réalisation de notre étude, nous avons utilisé ce qui suit :

- ✓ Solution d'acide chlorhydrique 0.5N ;
- ✓ Solution d'acide acétique pur ;
- Solution de chloroforme 95%

- ✓ Solution d'iodure de potassium 30% ;
- ✓ Solution de thiosulfate de sodium 0.1% ;
- ✓ Solution d'empois d'amidon ;
- ✓ Solution de potasse alcoolique 0.5N et 0.1% ;
- ✓ Solution alcoolique de phénolphaléine à 1% ;
- ✓ L'iode en poudre ;
- ✓ chlorure mercurique en poudre ;
- ✓ Solution d'éther de pétrole ;
- ✓ Solution d'iso butanol-éthanol ( v/v) ;
- ✓ l'hydroxyde de potassium en poudre ;
- ✓ Solution d'alcool éthanolique pur à 96°
- ✓ Solution de Bouin alcoolique ;
- ✓ Formol neutre : Formaldéhyde (35% à 40%) 10ml ; Eau distillée (90ml)
- ✓ Solution tampon phosphate (0.1M, pH 7.4);
- ✓ Solution H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.019M) ;
- ✓ Du GSH en poudre ;
- ✓ Du DTNB en poudre ;
- ✓ Solution BSA (sérum albumine bovin )1mg/ml;
- ✓ Solution BBC (bleue brillant de comassie) ;
- ✓ paraffine ;
- ✓ xylène 98.5%.
- ✓ éosine aqueuse
- ✓ l'hématoxyline de Groat 1%
- ✓ l'hémalun 2%
- ✓ bicarbonate de soude 1%

**II.1.6. L'appareillage :** parmi le matériel utilisé pour la réalisation de notre étude, nous citons ce qui suit :

- ✓ Un bain marie (Gerhardt)
- ✓ Une balance analytique (KERN 446-35A) ;
- ✓ Une centrifugeuse électrique (BIOBLOCK SCIENTIFIC)
- ✓ Une plaque chauffante (VELP SCIENTIFIC);
- ✓ Etuve (à 37°C et à 44°C) (Memmert) ;

- ✓ Thermomètre ;
- ✓ pH mètre (Hanna)
- ✓ Spectrophotomètre (JENWAY 7315) ;
- ✓ Vortex électrique (VWR) ;
- ✓ Microtome.

## II.2. Méthodes

**II.2.1. Enquête de consommation :** avant d'initier le travail au laboratoire, une enquête de consommation a été menée et ce afin de choisir l'huile à friture la plus vendue et la plus utilisée par les Fast-foods.

Du côté des vendeurs, nous avons interrogé les responsables de la vente de 3 superettes situées au niveau de la daïra de Jijel à savoir :

- ✓ Superette Ben Souhali située au niveau de la route de la cité administrative ;
- ✓ Superette les Platanes située sur la route de la Soummam ;
- ✓ Superette du Cirque située sur la route Laarbi ben Mhidi.

Nous avons posé deux questions :

**Q<sub>1</sub>**- Quel est la marque d'huile la plus achetée par les consommateurs ?

**Q<sub>2</sub>**- Pourquoi cette huile est si consommée à votre avis, c'est par rapport à son prix ou à sa qualité ?

Ensuite nous nous sommes dirigés vers les Fast-foods et restaurants qui utilisent la friture quotidiennement, nous avons tenu à avoir les réponses sur les deux questions suivantes :

**Q<sub>1</sub>**- Quel est la marque d'huile qu'ils utilisent quotidiennement (généralement) et pourquoi ?

**Q<sub>2</sub>**- Combien de fritures procèdent-ils avec une même huile avant de la jeter ?

## II.2.2. Thermo oxydation de l'huile à friture

Le but de cette opération est d'essayer de reproduire ce qui se passe dans nos friteuses, c'est-à-dire une friture profonde qui provoque la thermo oxydation de l'huile, il en résulte alors des changements profonds en matière de sa composition.

Dans une friteuse ménagère, quatre litres d'huile végétale *Afia* a été chauffé pendant 20 minutes à une température dépassant les 200°C. Lorsque le bain d'huile atteint la température souhaitée, 300g de pomme de terre épluchée, coupée et égouttée est introduit dans le bain d'huile jusqu'à la cuisson des frites (environ 10 min). On procède ainsi jusqu'à 21 fritures



successives. Un échantillon de 100 ml d'huile est prélevé chaque trois friture. Les échantillons ainsi prélevés, sont conservés à température ambiante et à l'abri de la lumière.

### II.2.3. Détermination des propriétés physico-chimiques des huiles à friture thermo-oxydées

**II.2.3.1. Propriétés chimiques :** Nous avons effectué le contrôle de certains paramètres de qualité de nos échantillons d'huiles recueillis. Pour cela, nous avons vérifié trois paramètres chimiques selon des méthodes de référence.

**a. Indice d'acide :** C'est la masse d'hydroxyde de potassium (KOH), exprimée en milligrammes, nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans un gramme de corps gras.

La détermination de cet indice a été réalisée selon la **méthode officielle ISO 660 (1996)**. Dans un bécher, 10ml d'huile est pesé, par la suite, 10ml de KOH alcoolique, 10ml de solution d'isobutanol-éthanol et 3gouttes de solution phénolphtaléine sont ajoutés. Ce mélange est titré avec de l'HCl 0.5 N tout en agitant jusqu'à décoloration totale. La même réaction est réalisée à blanc (sans huile).

L'indice d'acide est calculé selon la formule suivante :

$$I_a \text{ (mg de KOH/g)} = (V_{\text{témoin}} - V_{\text{essai}}) N_{\text{HCl}} PM_{\text{KOH}} / P$$

Avec :

$V_t$  : volume en ml de l'HCl utilisé pour le titrage du blanc ;

$N_{\text{HCl}}$  : normalité de la solution d'hydroxyde de chlorure ;

$PM_{\text{KOH}}$  : masse moléculaire du KOH titré ;

$P$  : poids en gramme de la prise d'essai.

**b. Indice de peroxyde :** c'est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans un kilogramme de produit (**M'Baye et al., 2012**). Il permet essentiellement de prévoir le comportement futur d'une matière grasse puisqu'il mesure la quantité de composés intermédiaires de la réaction d'oxydation. L'indice de peroxyde présente une bonne sensibilité et est considéré comme répétable. Cependant, il a été observé que l'indice de peroxyde pouvait augmenter puis diminuer au cours de la conservation alors que l'oxydation subit une augmentation constante, cela est dû au fait que les peroxydes se transforment en produits secondaires d'oxydation, responsables de l'altération sensorielle. Il ne peut donc en aucun cas être utilisé en mesure ponctuelle (**Delacharlerie et al., 2008**).

La méthode officielle ISO 3960 (2007) été utilisée. Cinq g (5g) de l'huile est dissout dans 30 ml du mélange acide acétique / chloroforme (3V /2V), puis, 0.5ml de solution KI (13.33gKI/10ml d'eau distillée) est ajouté suivie d'une agitation pendant 1 minute. La réaction est par la suite bloquée par addition de 30ml d'eau distillée. Après ajout de quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur coloré, la titration est réalisée avec la solution de thiosulfate de sodium 0.1N tout en agitant jusqu'à décoloration totale. La réaction est reproduite à blanc (sans huile).

L'indice de peroxyde est calculé comme suit :

$$I_p (\mu\text{g d'O}_2/\text{g d'huile}) = (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) 80 / 5P$$

Avec :

$V_t$  : volume de thiosulfate de sodium utilisé dans l'essai (ml);

$V_{\text{blanc}}$  : volume de thiosulfate de sodium utilisé pour le témoin (ml) ;

$P$  : prise d'essai (g)

**c. Indice de saponification** : il indique combien de mg d'hydroxyde de potassium sont nécessaires pour saponifier 1g d'huile ou de graisse (AFNOR ,1988). L'indice de saponification affiche le taux d'acidité fixe et libre d'un lipide. Plus la masse molaire d'un lipide est basse, plus l'indice de saponification est élevé.

La méthode décrite par Guay et Cote (2005) a été appliquée. 1g d'huile est pesé, puis 25ml de potasse alcoolique est ajouté suivie d'une agitation pour une bonne dissolution, le tout est porté à ébullition au bain Marie pendant 15 à 30min. Après refroidissement, quelques gouttes de phénolphtaléine sont ajoutées et l'excès de potasse est titré avec de l'acide chlorhydrique 0.5N jusqu'à décoloration. La réaction est reproduite à blanc (sans huile).

L'indice de saponification est calculé selon la formule suivante :

$$I_s = (V_{\text{HCl blanc}} - V_{\text{HCl essai}}) \times N_{\text{HCl}} \text{ PM}_{\text{KOH}}/P$$

Avec :

$V_{\text{essai}}$  : volume de ml de l'HCl 0.5N utilisé lors de la réaction de l'essai;

$V_{\text{blanc}}$  : volume de ml de l'HCl 0.5N utilisé lors de la réaction du blanc ;

$P$  : prise d'essai (g) ;

$\text{PM}_{\text{KOH}}$  : 56.1 g/mole

### II.2.3.2. Propriétés physiques

**a. Détermination de l'humidité :** Pour la détermination de la teneur en humidité de l'huile, on a appliqué la méthode décrite selon **ISO N°934, 1980; M.E. (2001)**.

Dix g (10g) d'huile est pesé dans un creuset déjà séché et taré, le tout est étuvé à 104°C pendant une heure. Ensuite cette portion est laissée refroidir puis pesée. Les opérations de séchage, de refroidissement et de pesage sont répétées plusieurs fois et ceci en utilisant des périodes de 15minutes jusqu'à ce que la perte en masse entre deux pesés successives soit nulle.

L'humidité est calculée comme suit :

$$\text{Humidité (\%)} = (P_1 - P_2) \cdot 100 / (P_1 - P_0)$$

Avec :

**P<sub>0</sub>** : poids du creuset vide (g) ;

**P<sub>1</sub>** : poids de l'échantillon et du creuset avant séchage(g) ;

**P<sub>2</sub>** : poids de l'échantillon et du creuset après séchage(g).

**b. La densité relative :** est le rapport exprimé en nombre décimal, de la masse volumique d'un liquide à la masse volumique de l'eau à la même température. La détermination de ce paramètre consiste à peser 20ml d'huile, puis le même volume d'eau (20ml). La densité est calculée par l'application de la formule suivante (**CACQE, 2002**) :

$$\text{Densité} = m / m'$$

Avec :

**m** : masse de 20ml d'huile ;

**m'** : masse de 20ml d'eau.

**c. Impuretés :** Le poids d'une prise d'essai (huile) est traité par un excès d'éther de pétrole ou d'hexane suivi d'une filtration. Le filtre et le résidu sont ensuite lavés avec le même solvant pour assurer la solubilisation de la matière grasse, le résidu ainsi obtenu est séché à l'étuve à 103°C, jusqu'à avoir un poids constant. Les impuretés insolubles dans l'hexane et l'éther de pétrole, constituent une mesure de la teneur en composés non lipidiques contenus dans l'huile. Leur taux doit être inférieur à 1% (**ISO 663, 2007**).

Les impuretés sont calculées comme suit :

$$\text{Impuretés(\%)} = (m_2 - m_1) \times 100 / m_0$$

Avec :

$M_0$  : masse en gramme de la prise d'essai ;

$M_1$  : masse en gramme du filtrat une fois séché à l'étuve ;

$M_2$  : masse en gramme du filtrat et du résidu sec.

**d. Détermination du point de fumée :** Un volume de 20 ml de l'huile étudiée est transféré dans un creuset, celui-ci est placé sur une plaque chauffante jusqu'à ce que la fumée devienne visible. A ce moment, la température du point de fumé est mesurée par un thermomètre (**Lecoq, 1965**).

**e. Détermination des points de fusion et de solidification :** Un échantillon d'huile est introduit dans un tube à essai. L'échantillon est ensuite laissé pendant quelque temps au réfrigérateur en vérifiant l'état de solidification de temps à autre. Dès qu'on observe la prise en masse de l'échantillon, on retire l'huile et on détermine la température de solidification à l'aide d'un thermomètre. Ensuite, le même tube est porté au bain Marie tiède, pour la détermination de la température de fusion (**Tremolieres et al., 1984**).

**f. Détermination du pH :** La mesure du pH consiste à plonger l'électrode du pH- mètre dans l'échantillon et lire la valeur enregistrée sur l'écran (**Lecoq, 1965**).

**g. Détermination du coefficient d'extinction  $K_{232}$  et  $K_{270}$  :** 0.25 g d'huile est introduit dans une fiole jaugée de 25 millilitres, le volume est complété avec l'éther de pétrole suivi d'une homogénéisation. La solution obtenue doit être parfaitement limpide, homogène et exempte d'impuretés en suspension. Au cas où la solution présenterait une opalescence ou un trouble, le contenu doit être filtré rapidement sur papier. Enfin, la DO de la solution obtenue est mesuré aux longueurs d'ondes 232 et 270 nm, en utilisant comme référence le solvant employé (**C.O.I. 2001**).

On rapporte les extinctions spécifiques (coefficient d'extinction) aux différentes longueurs d'onde, calculées comme suit :

$$K_{\lambda} = E_{\lambda} / C.S$$

Avec :

$E_{\lambda}$  : extinction mesurée à la longueur d'onde  $\lambda$  ;

C : concentration de la solution en gramme par 100millitres ;

S: épaisseur de la cuvette en centimètres ;

Les résultats sont exprimés avec deux décimales

#### **II.2.4. Etude de l'effet du degré d'oxydation d'huile et sa dose sur microflore cultivable : essais *in vitro***

Pour évaluer l'effet du degré d'oxydation d'huiles ingérées ainsi que sa dose sur la microflore digestive, nous avons procédé comme suit :

1ml de la dilution  $10^{-7}$  de la matière fécale du lot témoin a étéensemencé en profondeur dans des géloses nutritives additionnées de doses variables d'huiles des 7 fritures différentes. Les doses sont celles utilisées dans l'étude *in-vivo* :

- ✓ 1.2g / 100g de gélose
- ✓ 2.4g / 100g de gélose
- ✓ 3.6g / 100g de gélose

Les doses d'huile ont été mélangées à la gélose fondue et homogénéisées puis l'ensemble est refroidi et coulé sur le 1ml de l'échantillon déjà déposé au fond de chaque boîte. La boîte témoins contient uniquement de la gélose nutritive. Après incubation à 37°C pendant 24h, les colonies ont été dénombrées (pour chaque friture et pour chaque dose).

#### **II.2.5. Evaluation de la toxicité des huiles de friture *in vivo***

Cette étude a pour but d'évaluer le degré de toxicité d'huiles thermo oxydées *in-vivo*, pour ce faire, des souris de sexe féminin ont été utilisées :

**II.2.5.1. Traitement des souris et régime alimentaire :** Les souris ont été réparties en trois lots (figure 9) :

**Lot T :** 6 souris témoins non traitées ;

**Lot 1 :** 6 souris recevant un aliment imbibé d'huile de la 21<sup>ème</sup> friture ;

**Lot 2 :** 6 souris recevant un aliment imbibé d'huile récoltée chez le restaurant 2.



**Lot T**

**Lot 1**

**Lot 2**

**Figure 9** : Répartition des animaux sur les trois lots.

Le traitement a duré 45 jours précédés d'une période d'adaptation d'une semaine. Nous avons évalué également l'effet dose en doublant la dose chaque 15 jours, ainsi les phases du traitement étaient comme suit :

- ✓ **La phase d'adaptation** : Les souris des lots 1 et 2 ont reçu un régime alimentaire avec une dose initial de 0.6g d'huile / 100g de croquettes pendant une semaine afin de les faire adapter à ce régime.
- ✓ **La première phase** : Les souris des lots 1 et 2 ont reçu un régime alimentaire avec une dose de 1.2 g d'huile / 100g de croquettes pendant 15 jours.
- ✓ **La deuxième phase** : La dose a été doublée, à 2.4 g d'huile / 100g de croquettes, cette phase a duré 15 jours.
- ✓ **La troisième phase** : Les souris des lot1 et 2 ont reçu une dose de 3.6g d'huile / 100g de croquettes pendant 15 jours.

Chaque 15 jour, nous procédons à ce qui suit :

- ✓ Prélèvement du sang ;
- ✓ Prélèvement des échantillons de la matière fécale ;
- ✓ Pesé des animaux ;
- ✓ Sacrifice de deux souris de chaque lot.

### II.2.5.2. Paramètres évalués

**a. Gain de poids :** Le gain de poids est la différence entre le poids final et initial de la souris, nous avons pesé les animaux au début du traitement et avant chaque sacrifice (Tortuero, 1993).

**b. Indice hépato somatique (IHS) :** Avant le sacrifice, les animaux sont pesés, après leur sacrifice, le foie est prélevé et pesé. L'indice hépato somatique est déterminé selon la formule suivante (Varela *et al.*, 1995):

$$\text{IHS} = \frac{\text{Poids du foie (g)}}{\text{Poids du corps (g)}} \times 100$$

**c. Poids des organes :** après chaque sacrifice, le foie, le duodénum, et l'estomac vidés ont été rincés à l'eau physiologique et pesés aussitôt.

#### d. Paramètres sanguins

**d1. Prélèvement du sang :** Le sang est prélevé et recueilli dans des tubes héparinés par ponction du sinus rétro-orbital à l'aide de tubes hématocrites (figure 10) Le sérum est récupéré par centrifugation à 3600 tr /15min, puis transféré à l'aide d'une micropipette dans des tubes Eppendorf secs.



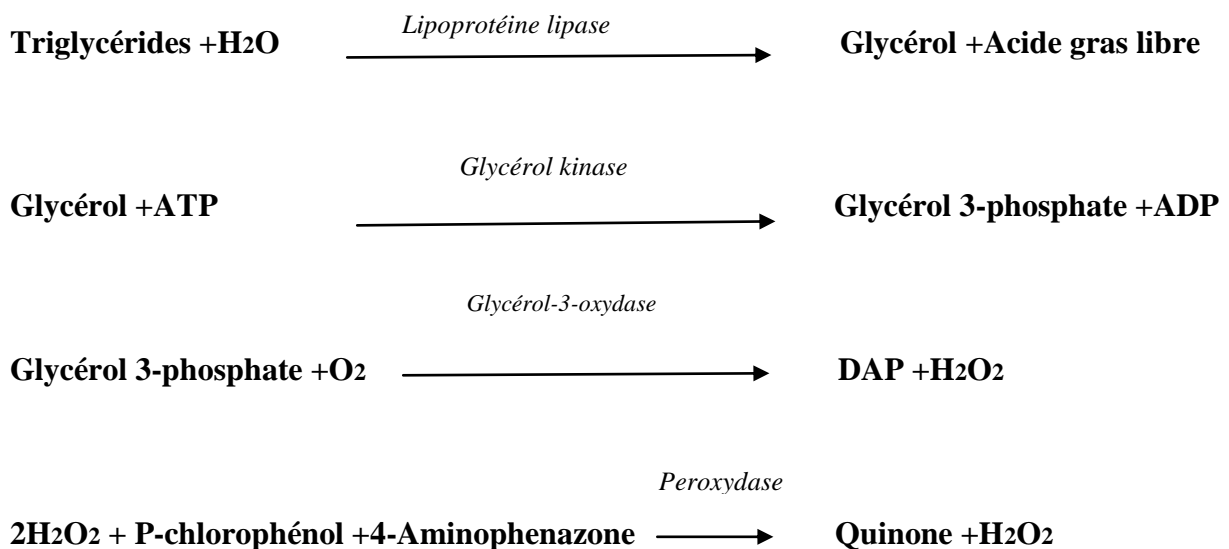
**Figure10 :** Technique de prélèvement du sang

**d2. Les paramètres lipido-plasmatiques :** Le sérum recueilli après chaque sacrifice a été utilisé pour doser les différents paramètres lipido-plasmatiques susceptible d'évoluer après un tel apport d'huile thermo oxydée au régime alimentaire. Il s'agit des triglycérides, du cholestérol total, du cholestérol HDL, du cholestérol LDL.

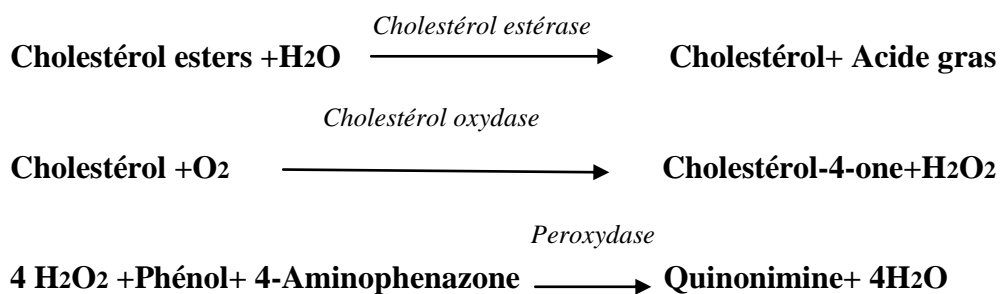
Le protocole utilisé est celui indiqué dans la notice du kit **biosystems S.A** certifié selon la norme **ISO13485** et **ISO9001** des dispositifs médicaux.

- ✓ **Dosage du cholestérol total et des triglycérides** : La méthode enzymatique de dosage des triglycérides repose sur la mesure du glycérol libéré après action d'une lipase. Le dosage du cholestérol repose sur la mesure du cholestérol libéré après l'hydrolyse des esters cholestérol (**Durand et al., 2011**).

Les équations du dosage des triglycérides et du cholestérol sont représentées sur les figures 11 et 12 respectivement.



**Figure11** : Equations du dosage des triglycérides



**Figure 12** : Equation dosage du cholestérol

Pour les deux paramètres, la méthode est la même : Trois tubes secs sont préparés, dans lesquels, les réactifs et l'échantillon sont introduit comme résumé dans le tableau 1.



**Tableau 1 :** Dosage des TG et cholestérol

	Blanc	Standard	Echantillon
<b>Standard</b>	-	10µl	-
<b>Echantillon</b>	-	-	10µl
<b>Réactifs</b>	1ml	1ml	1ml

Après agitation et incubation pendant 5min à 37°C, les DO de l'échantillon et du standard sont lus à la longueur d'onde 505 nm. Le zéro du spectrophotomètre est ajusté sur le blanc. Les résultats sont exprimés par la formule suivante :

$$\text{Cholestérol ou TG (g/l)} = \frac{\text{DO. Echantillon}}{\text{DO. Standard}} \times 2$$

- ✓ **Dosage du HDL-cholestérol et du LDL-cholestérol sérique :** Le dosage du HDL-cholestérol et du LDL –cholestérol permet une très bonne appréciation des lipoprotéines correspondantes (**Durand et al ., 2011**). Les lipoprotéines (chylomicron, VLDL et LDL) sont précipitées par l'ajout de l'acide phosphotungstique et du chlorure de magnésium. Après centrifugation, on récupère le surnageant (**Young, 2001**).

**Etape 1 : précipitation :** A l'aide d'une pipette, on introduit dans des tubes à essais le sérum et le réactif comme mentionné sur le tableau 2.

**Tableau 2 :** Dosage du cholestérol HDL: étape1

	Standard	Echantillon
<b>Standard</b>	200 µl	-
<b>Echantillon</b>	-	200 µl
<b>Réactifs de précipitation</b>	500 µl	500 µl

Le contenu de chaque tube est homogénéisé, puis laissé reposer pendant 5 min à température ambiante, ensuite il est centrifugé pendant 10 min à 4000 tours/min. Les tubes sont laissés au repos pendant 2 heures. Enfin, le surnageant est prélevé pour la détermination du HDL -cholestérol.

**Etape2 : photométrie** : Pour le dosage du cholestérol-HDL, les préparations se font selon les consignes renseignées dans le tableau 3.

**Tableau 3:** Dosage du cholestérol HDL (étape 2)

	<b>Blanc</b>	<b>Standard</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Eau distillée</b>	100 µl	-	-
<b>Surnageant de l'échantillon</b>	-	-	100µl
<b>Standard de standard</b>	-	100µl	-
<b>Solution réactionnelle</b>	1000µl	1000µl	1000µl

Les préparations sont mélangées et incubées pendant 5 min à 37°C puis l'absorbance de l'échantillon et du standard est mesurée à 500 nm. Le zéro de spectrophotomètre est ajusté sur le blanc.

Les résultats sont exprimés par la formule suivante :

$$\text{Concentration du HDL- cholestérol (g/l)} = \frac{A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{standard}}} \times [\text{standard}]$$

La concentration du taux des LDL-cholestérol sérique est calculée selon la formule suivante :

$$\text{LDL-cholesterol (mg/dl)} = \text{CT} - (\text{HDL-C}) - \text{TG}/5.$$

Avec:

**CT:** cholestérol total;

**HDL-C:** concentration HDL- cholestérol;

**TG:** concentration des triglycérides.

**II.2.5.3. Effet des huiles de friture sur la microflore digestive** : Cette partie a pour but d'évaluer l'effet cytotoxique des huiles thermo oxydées. La microflore digestive cultivable a été dénombrée au début et à la fin de chaque phase de traitement.

**a. Préparation de la solution mère et des dilutions** : A l'aide d'une spatule stérile, 1g de la matière fécale est prélevé. Le poids prélevé est introduit aseptiquement dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologie stérile, ainsi, on obtient une dilution de  $10^{-1}$ , on

homogénéise à l'aide d'un vortex électrique. Puis, à l'aide d'une pipette stérile, 1 ml de la dilution  $10^{-1}$ , est transféré dans un autre tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, ainsi, s'obtient la dilution de  $10^{-2}$ , de la même manière la dilution est poussée jusqu'à  $10^{-7}$  (Guiraud, 1998).

**b. Microflores dénombrées**

**b1. Dénombrement de la FTAM :** 0.5 ml de la dilution  $10^{-7}$  est étalé en surface de la gélose PCA coulée et solidifiée, Après une incubation de 24 heures à  $37^{\circ}\text{C}$ , les colonies lenticulaires sont dénombrées (Joffin et Joffin, 2003).

**b2. Dénombrement des entérobactéries :** 1 ml de la dilution  $10^{-6}$  est déposé sous forme de gouttelettes au fond d'une boîte de Pétri puis la gélose VRBG (gélose glucosée biliée au violet de cristal et au rouge neutre) chauffée et refroidie a été coulée. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24-48 heures. Après incubation, toutes les colonies rouge de 1 à 3 mm de diamètre ont été on dénombrées (Campaniello *et al.*, 2005).

**b3. Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes thermo tolérants :** 1 ml de la dilution  $10^{-3}$  est déposé au fond d'une boîte de Pétri puis, la gélose VRBL (gélose lactosée biliée au violet de cristal et au rouge neutre) chauffée et refroidie à  $45^{\circ}\text{C}$  est coulée. L'incubation se fait à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 24-48 heures. Après incubation, toutes les colonies violettes d'un diamètre voisin de 0.5 à 1 mm, entourées d'un halo de précipité des sels biliaires ont été dénombrées (ISO 4832).

Le dénombrement des coliformes thermo tolérants a été réalisé sur la gélose VRBL, en partant de la dilution  $10^{-3}$  et l'incubation se fait à  $44^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures (NFV 08-060).

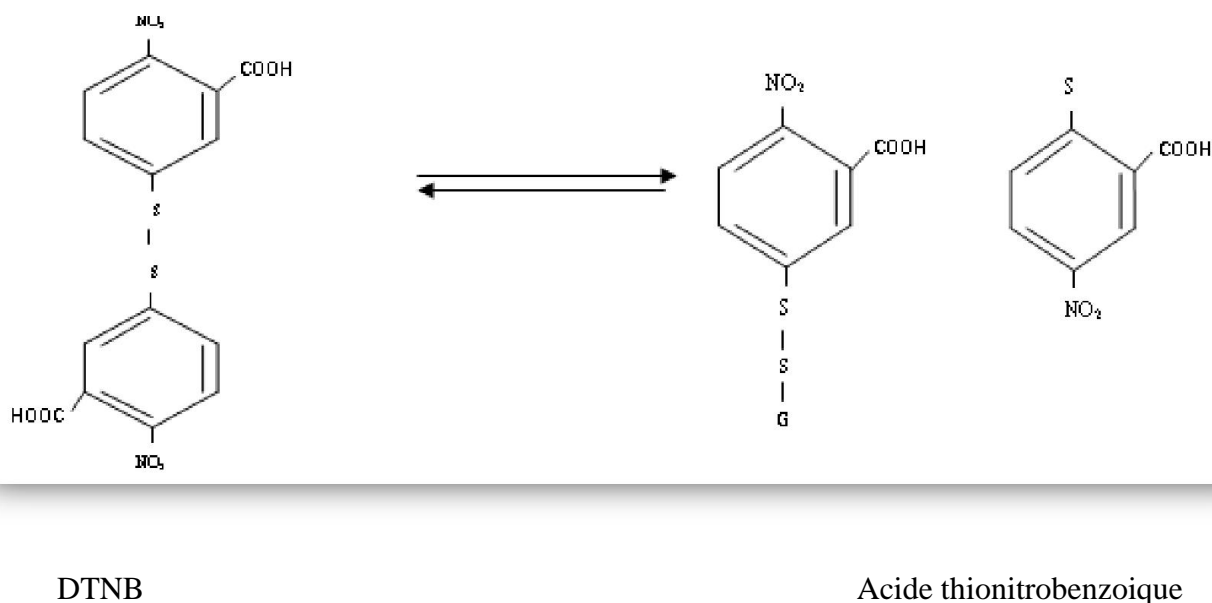
**II.2.5.4. Dosage des paramètres de stress oxydatif**

**a. Préparation de la fraction cytosolique :** après chaque sacrifice, le foie de chaque souris est pesé et un morceau est conservé dans du Bouin alcoolique et le reste est conservé dans de la glace puis congelé. 0.5 g de foie de chaque souris est coupé, broyé manuellement et homogénéisé avec 3 volumes du tampon phosphate (0.1 M ; pH 7.4) contenant du KCl à 1.17%. Après dilution totale, l'homogénat est d'abord centrifugé à 2000 tours/min pendant 15 min à  $4^{\circ}\text{C}$  pour séparer les débris nucléaires ensuite à 9600 tours /min, pendant 30.

Le surnageant ainsi obtenu est utilisé comme source pour le dosage des paramètres cytosoliques (Iqbal *et al.*, 2003).

**b. Dosage du glutathion cellulaire (GSH) :** Dans notre étude, le glutathion réduit (GSH) érythrocytaire a été déterminé suivant la méthode colorimétrique décrite par **Akerboom et al. (1981)** qui est basée sur l'évaluation du contenu en groupement –SH par spectrophotométrie. Lors de l'oxydation des protéines, les groupements –SH sont oxydés et forment des ponts disulfures S-S.

Le principe du dosage est basé sur la réaction avec le réactif d'Ellman, (DTNB) (**Ellman, 1959**). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB), un composé jaunâtre ayant une densité optique maximale à  $\lambda = 412\text{nm}$  selon la réaction suivante :



**Figure 13:** Schéma de la réaction entre le DTNB et les groupements –SH

On prélève 50 $\mu\text{l}$  de la fraction cytosolique et on ajoute 10ml du tampon phosphate 0.1M, pH=8. Après agitation, 3ml de ce mélange est prélevé auquel 20 $\mu\text{l}$  de la solution DTNB (0.01) M est ajouté. Après incubation pendant 15 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 412nm.

Le taux de GSH est déduit à partir d'une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions et dans laquelle l'absorbance est une fonction linéaire de la concentration en GSH ( $\mu\text{mol/ml}$ ). Les résultats seront exprimés en  $\mu\text{mol/mg}$  de tissu.

**c. Mesure de l'activité enzymatique de la catalase (cat) :** L'activité de la catalase érythrocytaire est déterminée selon la méthode de **Claiborne (1985)**. Le principe repose sur la disparition de l' $\text{H}_2\text{O}_2$  à 25°C par la présence de la source enzymatique catalase. La lecture continue du changement d'absorbance à 240 nm est faite après chaque minute dans un intervalle de temps de deux minutes.

1ml de tampon phosphate 0.1M, pH7.2 est additionné à 0.95ml de peroxyde d'hydrogène 0.019M et 25µl de fraction cytosolique. La mesure de l'absorbance est faite à 240 nm après chaque minute dans un intervalle de temps de deux minutes.

L'activité de l'enzyme est exprimée en Unité/ml de lysat après le calcul suivant:

$$K = (2,303 / \Delta t) \times (\log DO_0 / DO_t)$$

Où :

2,303: Constante de vitesse de la réaction

$\Delta t$  : Intervalle de temps

DO0: Absorbance dans le temps zéro

DOt : Absorbance après dix minutes

L'activité enzymatique est exprimée en unités UI/g de protéines.

**d. Dosage des protéines tissulaires :** Dans notre étude, les protéines tissulaires ont été déterminées suivant une méthode colorimétrique par un spectrophotomètre en utilisant le bleu de Comassie comme réactif qui réagit avec les groupements amines ( $-\text{NH}_2$ ) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines). L'absorption est mesurée à 595 nm (**Bradford, 1976**).

100µl de la fraction cytosolique diluée à la cinquième dilution avec de l'eau distillée est additionné à 4ml du réactif bleu brillant de comassie (BBC). Après agitation, le mélange est laissé à température ambiante pendant 5minutes. La lecture de la densité est faite à la longueur d'onde  $\lambda=595\text{nm}$ . La concentration des protéines est ensuite déduite à partir d'une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions, et dans laquelle l'absorbance est une fonction linéaire de la concentration en BSA (sérum albumine bovin). Les résultats seront exprimés en µg/ml.

**II.2.5.5. Etude histologique :** Les coupes histologiques des morceaux de foie récupérés des souris de chaque lot du début du traitement et à la fin ont été réalisées au laboratoire d'anatomie pathologie au niveau de l'Hôpital Mohammed Seddik Benyahia – Jijel-. La technique utilisée est celle décrite par **Houlot (1984)**, qui comporte les étapes suivantes :

**a. Fixation et inclusion :** Des fragments de foie ont été mis dans le fixateur (Bouin alcoolique) dans le but d'immobiliser les structures cellulaires tout en conservant leurs morphologies. Il permet de ne pas abimer l'échantillon.

Après fixation, les pièces de foie sont retirées du Bouin puis rincées à l'eau distillée. Des coupes transversales sont réalisées puis les échantillons sont placés dans des cassettes spéciales qui permettent le passage des liquides au cours des manipulations qui suivent.

La déshydratation : elle se fait grâce à un automate qui fait immerger les échantillons dans des bains d'éthanol à concentration croissante (70, 95 et 100 %) pendant 20min chacun, puis dans deux bains de xylène qui constitue un agent éclaircissant donnant au tissu une certaine transparence. L'échantillon doit être complètement déshydraté et ne contient plus de solvant intermédiaire (alcool). Les pièces sont plongées (2 heures) dans des bains de paraffine liquide fondue à 60° C.

**b. Réalisation des blocs et étalement :** Les blocs de paraffine sont coupés à l'aide d'un microtome en coupes de 5µm d'épaisseur puis étalées et collées sur des lames avec un gel de gélatine 2%, ces dernières sont ensuite séchées pendant une nuit dans une étuve à 35-42°C.

**c. Déparaffinage et réhydratation :** Les coupes sont débarrassées de la paraffine en étant plongées dans deux bains successifs de 15 minutes chacun dans du xylène suivis de deux autres bains de même durée dans l'éthanol absolu. Elles sont ensuite réhydratées dans des bains successifs d'éthanol 95°, deux bains d'éthanol 70° et un bain d'eau distillée.

**e. Coloration et montage des coupes :** on utilise l'hématoxyline de Groat 1% suivie de l'éosine. Pour colorier les coupes, les lames sont plongées et laissées dans des bains successifs de l'hémalun 2% pendant 5 minutes, dans l'eau pendant 3 minutes, l'éthanol – HCl pendant 5 secondes puis dans l'eau pendant 2 minutes.

Les lames sont ensuite plongées dans un bain d'éosine pendant 2 minutes suivies d'un bain d'eau distillée de 20 secondes. Ensuite, elles sont plongées dans une solution de bicarbonate de soude 1% pendant 20 secondes pour bleuir l'hémalun avant une déshydratation dans deux bains d'alcool absolu et deux autres de xylène.

## **II.2.6. Valorisation des huiles usagées en biodiesel**

**II.2.6.1. Synthèse de biodiesel par trans-estérification :** L'idée de ce travail consiste, à synthétiser le biodiesel par trans-estérification à partir des huiles usagées (de la 21<sup>ème</sup> friture).

Le mode opératoire est le suivant :

On a choisi le rapport huile /méthanol de (1 :8) qui selon la littérature donnerait un rendement supérieur. Le mélange est formé de 50g d'huile thermooxydée de la 21<sup>ème</sup> friture, de 14.4g de méthanol et de 0.5g de KOH (Noureddini, 1997; Zhou *et al.*, 2003).

Les étapes sont les suivantes :

La potasse alcoolique est dissoute dans le méthanol et chauffée légèrement puis la solution est versée à l'huile. Le tout est agité vigoureusement pendant 120 min.

Le contenu du ballon est ensuite versé dans une ampoule à décanter et laissé reposer pendant environ une demi-journée ; Le succès de la réaction est matérialisé par la présence de deux phases, le glycérol plus dense que l'ester est situé en bas. Le biodiesel obtenu doit être lavé pour éliminer l'excès d'alcool et de catalyseur. Pour cela il faut placer le biodiesel dans une ampoule à décanter et verser lentement l'eau pour le rinçage (environ 20ml). Cette opération est délicate, elle doit être réalisée très doucement avec le moins d'agitation possible car l'agitation provoque la formation d'une émulsion qui diminue le rendement de la synthèse.

Le produit est laissé décanter pendant 24h avant de récupérer le biodiesel ;

En fin, il faut purifier le biodiesel par une distillation pour éliminer l'excès en eau et en méthanol avant de le peser et de calculer le rendement.

**II.2.6.2. Caractérisation du biodiesel :** on s'est limité de mesurer certaines propriétés physicochimiques les plus importantes. Il s'agit de la densité, l'indice d'acide et l'indice de saponification. Les mêmes protocoles décrits précédemment pour la caractérisation des huiles ont été utilisés.

### II.2.7. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type. Après analyse de la Variance, l'évaluation statistique a été effectuée en comparant les moyennes de groupe témoin et traité, en utilisant le test T de Student à l'aide du logiciel **XLSTAT 2009** avec :

- ✓  $P > 0.05$  : la différence n'est pas significative (ns) ;
- ✓  $P < 0.05$  : la différence est significative (\*) ;
- ✓  $P < 0.01$  : la différence est très significative (\*\*) ;
- ✓  $P < 0.001$  : la différence est hautement significative (\*\*\*) .



*Partie III : Résultats et  
Discussions*

### III.1. Résultats de l'enquête de consommation

Les réponses recueillies auprès des propriétaires de superettes sont résumés dans le tableau 4. Pour ce qui est des restaurants, les réponses étaient comme indiqué sur le tableau 5. D'après les résultats obtenus, la marque d'huile Afia a fait l'unanimité, autant bien pour son prix que pour sa qualité. En effet, l'huile végétale Afia est la seule en Algérie, dont l'industriel a introduit dans sa formule de l'huile de germes de maïs. Cette huile est très riche en graisses polyinsaturées et possède des propriétés anti-oxydantes, anti-dermatoses et aide à réduire le mauvais cholestérol. L'huile de maïs supporte un chauffage jusqu'à 170-180°C (Alfred, 2000).

**Tableau 4:** Résultats de l'enquête auprès des propriétaires des superettes

Superettes	Ben Souhali	Platanes	Cirque
<b>Questions</b>			
<b>La marque la plus achetée ?</b>	Afia	Afia	Afia
<b>Pourquoi ?</b>	Le prix (une promotion)	La qualité	Le prix

**Tableau 5:** Résultats de l'enquête auprès des restaurants

Question	Restaurant 1	Restaurant 2	Restaurant3
<b>La marque la plus achetée ?</b>	Afia	Elio	Afia
<b>Pourquoi ?</b>	Le prix	Le prix	Le prix
<b>Le nombre de friture ?</b>	30	Toute une journée (variable)	Ajout d'huile fraîche quant le volume diminue

L'huile Afia est constituée aussi de 90% de l'huile de soja, une huile riche en acides gras polyinsaturés et contient aussi de la lécithine avec son action hypocholestérolémiant, de la vitamine E, surtout sous forme de gamma tocophérol et des phytostérols (340 mg/100ml) dont ces derniers inhibent l'absorption du cholestérol alimentaire (Lecerf et Fressin, 1995).

Ceci dit, le nombre élevé de friture avec une même huile chez les gargotiers ou bien le fait de rajouter de l'huile fraîche à une déjà thermo oxydée est plutôt inquiétant car quel que soit la qualité de l'huile, son altération est inévitable après un certain nombre de friture.

### III.2. Propriétés physico-chimiques de l'huile à friture

**III.2.1. Propriétés physico-chimiques avant le traitement thermique :** Les caractéristiques de base de l'huile végétale étudiée sont résumées dans le tableau 6. D'après ces résultats, il est remarquable que cette huile a une acidité supérieure aux normes ( $>0.6\text{mg}$  de KOH/g d'huile), donc, un début de dégradation avant son usage pour les opérations de friture (traitement thermique). Cela peut s'expliquer par une longue conservation de plus de 6 mois au froid (**Ndjouenkeu et Ngassoum, 2002**). Des réactions d'oxydation et d'hydrolyse se sont initiées surtout en présence d'un pourcentage d'impuretés qui contribuent à l'augmentation de l'acidité (**Cantarelli, 1969**), aussi, la valeur élevée de l'indice d'acide est un critère qui permet de distinguer les huiles en termes de procédé d'obtention plus que de qualité. Il a été rapporté que les huiles acides issues de condensats de distillation sont à acidité très élevée (**Rossignol-Casterab et al., 2005**) et les résidus d'extraction présents dans le milieu augmentent l'acidité, si le produit n'a pas subi une purification adéquate (**Ndjouenkeu et Ngassoum, 2002**).

Les résultats montrent que la valeur d'indice de peroxyde est très faible ( $1.76\text{ meq}$  d' $\text{O}_2/\text{Kg}$  d'huile), elle est strictement inférieure à la norme rapportée par **Wolf (1991)** qui est de  $10\text{ meq}$  d' $\text{O}_2/\text{Kg}$  d'huile.

Cet indice mesuré pour contrôler les conditions de conservation peut en témoigner de la faible concentration en peroxydes. La valeur trouvée de cet indice, peut être liée à l'exposition du produit à la lumière du jour, qui, peut-être le facteur inducteur de la peroxydation.

En effet, **Okogeri et Tasioula–Margari (2002)** avaient constaté que l'huile exposée à la lumière présentait un indice de peroxyde de  $34.7\text{ meq}$  d' $\text{O}_2/\text{kg}$  d'huile au bout de 6 mois contre  $19.2\text{ meq}$  d' $\text{O}_2/\text{kg}$  d'huile pour la même huile conservée à l'obscurité pendant la même période. L'oxydation lente observée au cours des 6 premiers mois de stockage correspondrait à la phase d'initiation au cours de laquelle il y a formation des radicaux libres sous l'influence d'agents pro oxydants (traces de métaux et d'eau), de l'oxygène et de la lumière (**Krishnamurthy, 1982**). Par ailleurs, **Kondratowicz et Ostasz (2000)** ont rapporté qu'au cours de cette phase d'initiation, la vitesse de formation serait sensiblement égale à la vitesse de décomposition des hydro peroxydes, d'où leur faible accumulation.

**Tableau 6** : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile fraîche « Afia »

Caractéristiques physicochimiques	Huile fraîche « Afia »	Normes
Indice d'acide (mg de KOH /g)	2.92	0.6
Indice de peroxyde (meq d'O <sub>2</sub> /Kg)	1.76	10
Indice de saponification (mg de KOH/g)	228.97	184_198
Indice d'extinction ( $\lambda=232\text{nm}$ )	0.0365	/
Indice d'extinction ( $\lambda=270\text{nm}$ )	0.0375	/
Densité	0.584	0.910_0.916
Humidité(%)	0.45	0.05_0.10
Impureté(%)	0.18	0.05_0.10
pH	7.02	5.5_8
Point de fusion (°C)	13.1	15
Point de solidification (°C)	-11.0	-15
Point de fumée (°C)	215	232
Couleur	Jaune clair	Jaune clair
Odeur	Exempte	Exempte
Gout	Neutre	Neutre
Consistance	Liquide limpide	Liquide limpide

L'indice de saponification nous renseigne sur la composition de l'huile. Les résultats montrent que cet indice était de 228.97mg de KOH/g d'huile, valeur supérieure à la norme fixée entre 184 et 198 mg de KOH/g d'huile. Cette valeur signifie que l'huile est riche en acides gras saturés à courte ou moyenne chaîne. Ceci peut impliquer une faible tendance à la libération de substances volatiles au cours du chauffage (Ndjouenkeu et Ngassoum, 2002).

En ce qui concerne les propriétés physiques, la mesure des densités optiques, nous a permis de calculer les coefficients d'extinction à deux longueurs d'ondes distinctes à 232nm et à 270nm. La détermination de ces coefficients permettait de déterminer si l'huile avait été bien raffinée. Le traitement thermique du raffinage et le passage sur terre activée entraînent d'une part l'élimination de composants mineurs et d'autre part, une conjugaison des doubles liaisons des acides gras avec formation de diènes et de triènes conjugués qui absorbent entre 225 nm et 280 nm. Ces derniers critères permettent de connaître aussi le niveau d'oxydation du corps gras (Denis, 2003).

Le coefficient d'extinction à 232 nm ( $K_{232}$ ) mesure la quantité de diènes conjugués et des peroxydes, alors que l'évolution des composés secondaires d'oxydation des huiles est évaluée par la mesure du coefficient d'extinction à 270 nm ( $K_{270}$ ) (**Almeck et al., 2008**). Les résultats de la détermination de ces deux coefficients ( $K_{270}$ ) et ( $K_{232}$ ) sont de 0.0375 et 0.0365 respectivement, des valeurs assez faibles indiquant une faible teneur en produits d'altération primaires et secondaires.

L'huile Afia est une huile faible en densité avec une valeur de  $0.584\text{g/cm}^3$ , inférieure aux normes fixées par l'institut Français des huiles végétales (**2005**) ( $0.910\text{-}0.916\text{g/cm}^3$ ). La densité des huiles est liée à leur poids moléculaire et structure en particulier la longueur des chaînes carbonées (**Bourre, 1993**).

Le pourcentage d'humidité est largement supérieur aux normes (0.05% - 0.10%), cette humidité ne peut être expliquée que par une défaillance lors de la déshydratation du produit. En effet, le raffinage de l'huile comprend une étape de lavage suivie d'une déshydratation sous vide à environ  $90^\circ\text{C}$  pour obtenir de l'huile séchée (**Emilie, 2005**). Cette étape a surement été mal menée. Il faut noter que cette humidité risque d'accélérer l'altération de l'huile (**Chung et al., 2004**).

Un pourcentage d'impuretés élevé est aussi notable, 0.18% est supérieur à celui préconisé par la norme (0.05% - 0.10%), ces impuretés ne peuvent qu'incriminer à leur tour le processus de raffinage, car ce dernier a pour but de maintenir ou d'améliorer les caractères organoleptiques, nutritionnels et la stabilité des corps gras. Pour ce faire, il met en œuvre plusieurs étapes pour éliminer des composés indésirables (gommes, cires, acides gras libres, pigments, traces métalliques, composés odorants volatils) et les contaminants potentiellement présents dans les matières premières, tout en maîtrisant la formation de nouveaux composés indésirables par hydrolyse, oxydation isomérisation (**Morin et Pagés, 2012**).

Les résultats du même tableau montrent également que le pH de l'échantillon d'huile est neutre de 7.02, cette valeur appartient à l'intervalle requis selon les normes qui est entre pH 5.5 et pH 8.

Les températures de fusion et de solidification sont de  $13.1^\circ\text{C}$  et  $-11.0^\circ\text{C}$ , respectivement. Ces valeurs se trouvent dans la fourchette des normes indiquées par l'institut Français des huiles végétales. La fusion et la solidification d'un corps gras dépend de sa composition en chaînes carbonées et du nombre d'acide gras insaturés.

La température de fumée, est la température pour laquelle les huiles commencent à se décomposer et à se dénaturer. Une température de fumée de 215°C rend l'huile végétale adéquate pour l'utilisation en friture qui nécessite des hautes températures.

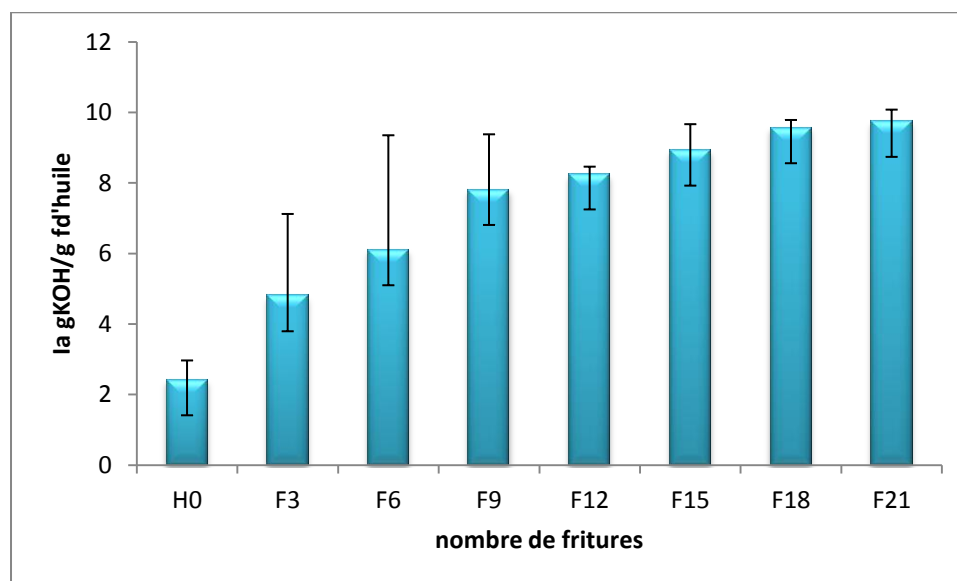
Enfin, du point de vue organoleptique, l'huile végétale Afia est caractérisée par une couleur jaune clair, sans odeur, de gout neutre et de consistance liquide limpide, donc sans détérioration apparente.

### III.2.2. Propriétés physico-chimiques au cours du traitement thermique (friture)

#### III.2.2.1. Paramètres chimiques

**III.2.2.1.1. Indice d'acidité :** Les résultats de la détermination de l'indice d'acidité au cours des différentes fritures sont illustrés par la figure 14.

Dès la 3<sup>ème</sup> friture, on remarque une augmentation de l'acidité de l'huile végétale, l'indice d'acidité a carrément doublé après trois fritures. A partir de la 3<sup>ème</sup> friture, l'évolution de l'acidité n'est pas accentuée, certes, elle continue de monter mais légèrement, variant entre  $6.1 \pm 3.2$  mg de KOH/g d'huile à la 6<sup>ème</sup> friture et  $9.95 \pm 0.7$  mg de KOH/g d'huile à la 21<sup>ème</sup> friture.



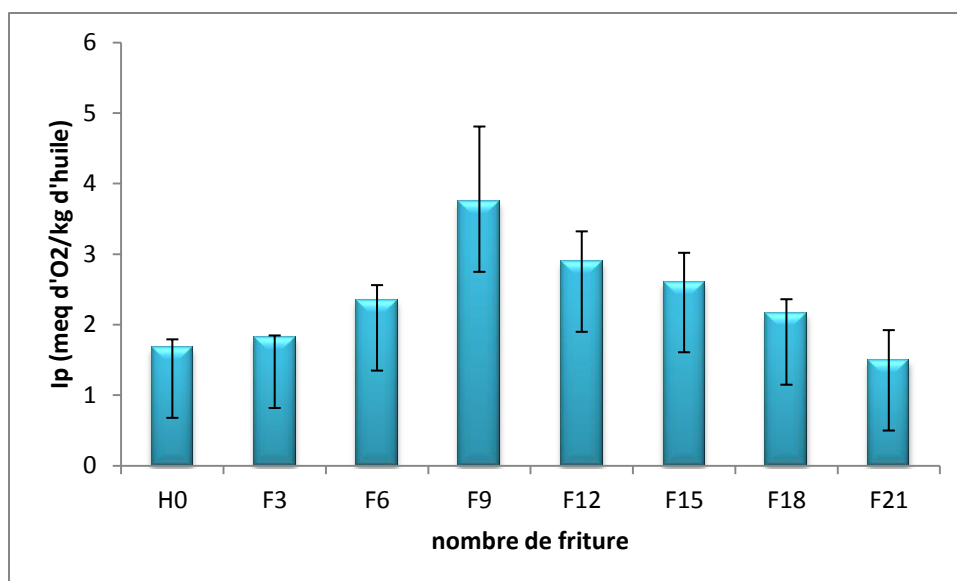
**Figure 14:** Evolution de l'indice d'acide en fonction du nombre de friture.

**Ndjouenkeu et Ngassoum (2001)** avaient réalisé la même expérimentation et avaient expliqué que le chauffage de l'huile conduit à l'hydrolyse des triglycérides. L'eau qui est un nucléophile faible attaque les liaisons ester du triacylglycérol, ce qui donne des di et mono acyl glycérol, du glycérol et AG libres (**Chung et al ., 2004**). Par contre, selon **Richardson et**

**Finley (1985)**, le chauffage favorise l'évaporation des acides gras volatils, réduisant du même coup les fonctions des acides titrables; d'autre part la polymérisation des acides gras qui prend place pendant le chauffage de l'huile, bloque certaines fonctions acides, d'où leur réduction. Ce qui explique une augmentation de l'acidité de nos échantillons sans qu'elle soit trop accentuée.

**III.2.2.1.2. Indice de peroxyde :** Les résultats sont représentés par la figure 15. La peroxydation de l'huile varie entre l'huile fraîche et celle thermo oxydée. En effet, l'indice de peroxyde augmente au fur et à mesure du nombre de fritures pour atteindre une valeur maximale au bout de la neuvième friture qui est estimée à 3.1 meq d'O<sub>2</sub>/kg d'huile. Au-delà de cette friture, le fait qu'on continue de frire fait au contraire diminuer l'indice de peroxyde jusqu'à une valeur de 1.8 meq d'O<sub>2</sub>/kg d'huile.

L'indice de peroxyde des huiles au cours des fritures ne permet pas de tirer une conclusion valable sur le comportement des huiles au chauffage. En effet, au bout de quelques fritures, l'indice de peroxyde chute alors que la thermo oxydation continue. **Ndjouenkeu et Ngassoum (2001)** avaient supposés que les peroxydes formés, en raison de leur caractère très instable, sont complètement détruits au cours du chauffage, d'où la décroissance de l'indice de peroxyde. Ils évoluent ensuite en produits de dégradation secondaires tels que des molécules volatiles (aldéhydes, hydrocarbures.) ou remaniés en hydroxyle, cétones et époxydes (**Combe et Rossignole-Casterab, 2000**).



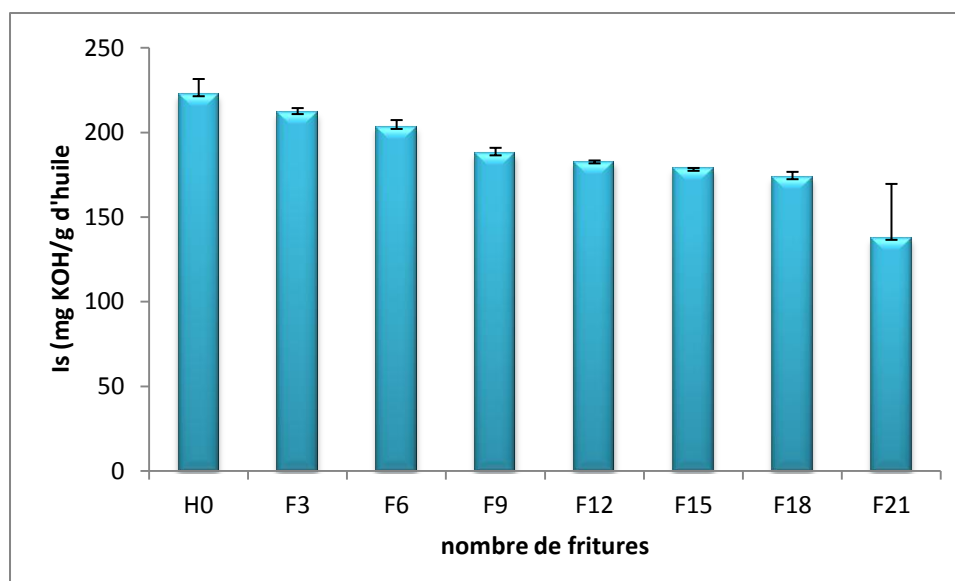
**Figure15** : Evolution de l'indice de peroxyde en fonction du nombre de friture

Dans le même sens, **Boatella et Codony (2000)**, avaient précisé qu'il n'est pas très important d'évaluer ce paramètre dans le cas des fritures, car des températures élevées catalysent la destruction des peroxydes, générant d'autres composés dérivés. Ils avaient proposé alors, la détermination des indices d'oxydation secondaire : La panisidine, l'indice de référence ou l'indice des carbonyles totaux sont un exemple de ce type de déterminations.

**III.2.2.1.3. Indice de saponification** : Les résultats trouvés sont illustrés sur la figure16. Cet indice nous renseigne sur le taux d'acides gras saturés à courtes ou moyennes chaînes.

D'après l'analyse des résultats, la valeur de cet indice passe de 215.185mg de KOH/g d'huile à l'état initial vers 115.005 mg de KOH/g d'huile ; soit une différence de - 100.180mg de KOH/g d'huile.



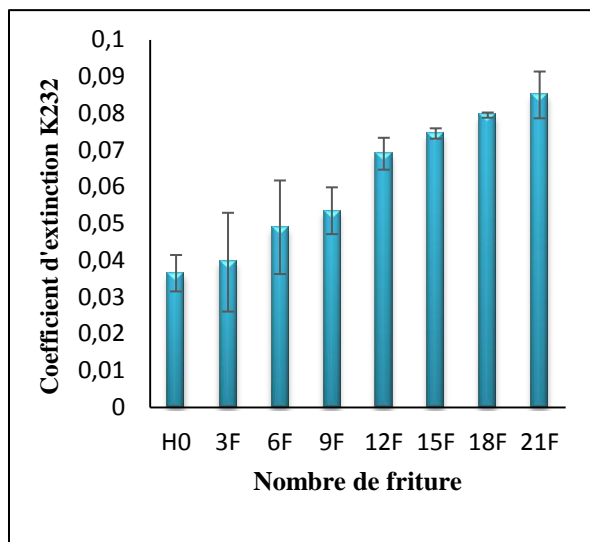


**Figure16** : Evolution de l'indice de saponification en fonction du nombre de friture.

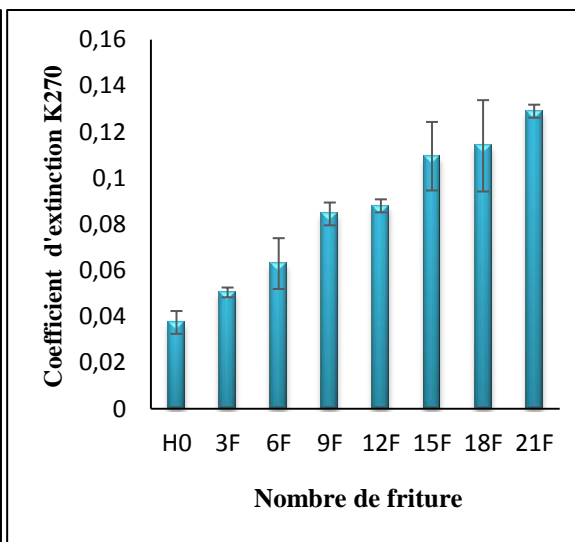
La diminution de cet indice est attribuée à la rupture des doubles liaisons des chaînes insaturées par réactions d'hydrolyse qui se produisent au cours des fritures et qui permettent la libération d'acides gras libres (Chung *et al.* , 2004).

### III.2.2.2. Paramètres physiques

**III.2.2.2.1. Les coefficients d'extinctions** : Les résultats de la figure17 et 18 montrent comment les fritures successives augmentaient le pourcentage des produits d'altérations primaires. Les hydroperoxydes, les diènes et triènes conjugués qui sont des produits d'oxydation des acides gras qui se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical alkyle des acides gras polyinsaturés, puisque le coefficient d'extinction ( $K_{232}$ ) qui était très bas dans l'huile végétale, partaient en hausse au fur et à mesure qu'on fritait, la même chose est remarquable, concernant le ( $K_{270}$ ) qui décrit la teneur en produits d'altération secondaire (aldéhydes, hydrocarbures, cétones et époxydes), il est en augmentation.



**Figure17 :** Evolution de  $K_{232}$  en fonction du nombre de fritures

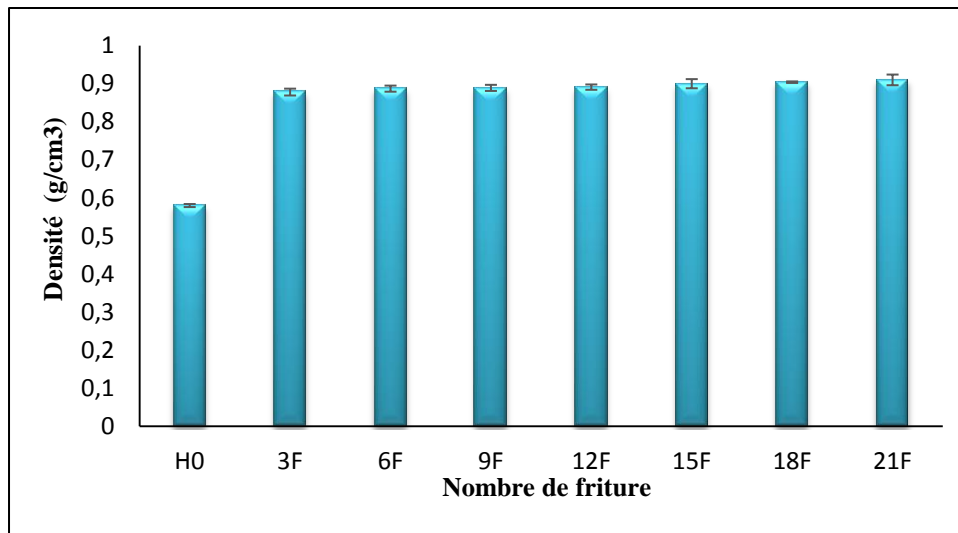


**Figure18 :** Evolution de  $K_{270}$  en fonction du nombre de fritures

Les hydro peroxydes formés à partir des acides gras poly-insaturés sont rapidement soit coupés en molécules volatiles (aldéhydes, hydrocarbures) soit remaniés sous forme d'acides oxydés porteurs d'une ou plusieurs fonctions du type hydroxyl –OH, cétone =O ou époxyde –O-. Ces acides oxydés peuvent eux-mêmes sous l'effet de la chaleur, se dimériser, voire se polymériser pour conduire à des glycérides à la fois plus polaires et à plus haut poids moléculaire que les triglycérides natifs de l'huile (**Combe et Rossignol-Casterab, 2010**).

En se basant sur ses données rapportées par ces auteurs, l'augmentation de la densité au bout des différentes fritures successives semble logique, il y a eu polymérisation des radicaux allyles pour donner des structures à poids moléculaire élevé, ce qui a augmenté l'apport solide/liquide. D'autant plus que **Romero et al. (1998)** avaient expliqué que les dimères, polymères et triglycérides oxydés, étaient les composés majeores présents dans l'huile à friture. **Sebedio et al. (1990)** avaient noté une hausse de 13.7% de polymères dans l'huile usagée à base de soja.

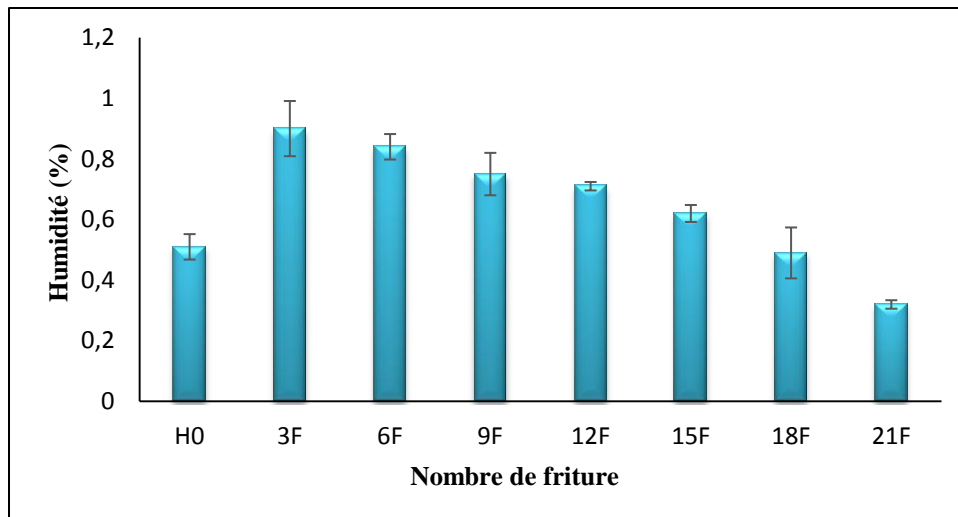
**III.2.2.2.2. La densité :** Les résultats sont résumés sur la figure 19. D'après ces résultats, il apparait clairement que ce paramètre est en évolution en fonction du nombre de fritures. Cette augmentation est logique du moment qu'il y a un effet combiné de température et de la pomme de terre. La polymérisation est également à la base de l'augmentation de la densité de notre huile à friture.



**Figure19.** Evolution de la densité en fonction du nombre de friture

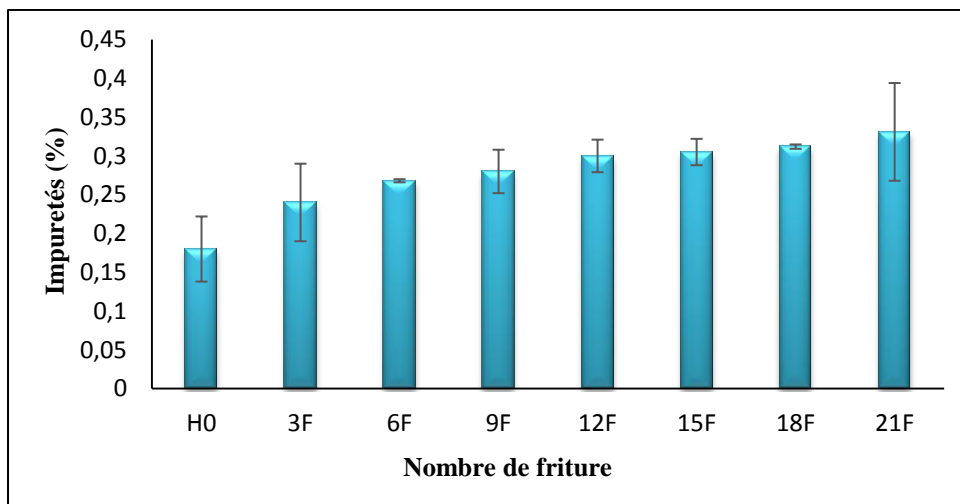
**III.2.2.2.3. Humidité :** Les pourcentages d'humidité enregistrés sont illustrés par la figure20 On remarque que le pourcentage en eau a quasiment doublé entre l'avant et l'après ajout de l'aliment dans le bain à friture. En effet, les vapeurs d'eau présentes dans l'huile proviennent des aliments (**Chung et al ., 2004**). Cependant, on remarque que cette hausse est vite passée en baisse de la 3<sup>ème</sup> friture à la 21<sup>ème</sup> pour atteindre un pourcentage minimal de  $0.32 \pm 0,014$  %. Pour **Choe et Min (2007)**, lorsque les aliments sont frits dans de l'huile chauffée, l'humidité forme de la vapeur qui s'évapore avec une action bouillonnante et diminue graduellement.

Ceci dit, selon **Combe et Rossignol-Casterab (2010)**, l'eau apportée par l'aliment peut provoquer une hydrolyse partielle de l'huile avec libération d'acides gras libres et de glycérides partiels, voire de glycérol pouvant en conditions très drastiques conduire à l'acroléine. Le dégagement de vapeur d'eau entraîne des composés volatils oxydés responsables de l'odeur caractéristique d'huile chauffée.



**Figure20** : Valeurs de l'humidité en fonction du nombre de friture.

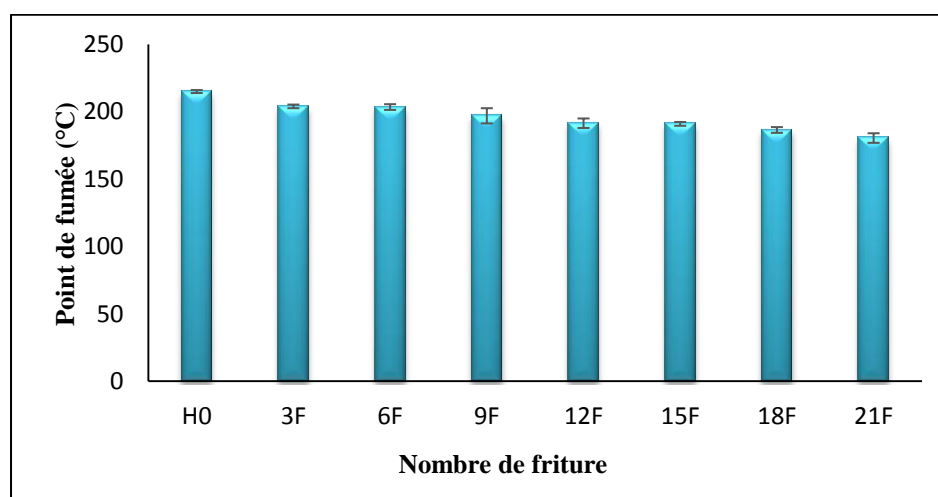
**III.2.2.2.4. Impuretés** : Le pourcentage des impuretés a connu une hausse progressive puisque à chaque friture on avait introduit 100g de pomme de terre. Après friture, l'aliment laisse des résidus dans l'huile qui sont considérés comme des impuretés. D'après les résultats illustrés sur la figure 21, il apparaît clairement que le maximum du taux d'impuretés est obtenu après la 21<sup>ème</sup> friture estimé à  $0,331 \pm 0,083$  %.



**Figure21** : Evolution du taux d'impuretés en fonction du nombre de friture.

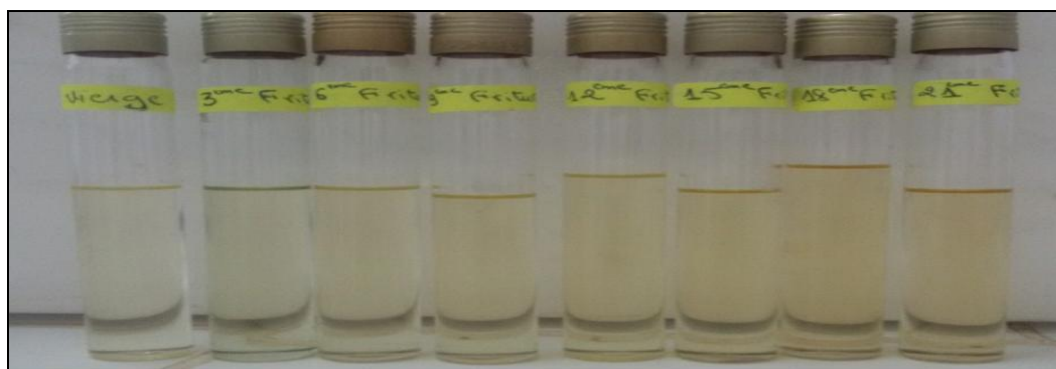
**III.2.2.2.5. Point de fumée et aspect couleur :** La lecture des résultats du graphe 22 détaillant les différents points de fumées recueillis montre une diminution progressive du point de fumée à des valeurs très basses dont la plus faible est enregistrée lors de la dernière friture à  $180.5 \pm 3.53^\circ\text{C}$ .

Un point de fumée élevé est désirable, en particulier lorsque l'huile est utilisée pour la friture (Graille, 2003). Le point de fumé de l'huile végétale à friture Afia composée essentiellement de soja atteint jusqu'à  $200^\circ\text{C}$ . Ce sont les acides gras polyinsaturés qui supportent les grandes températures, leur dégradation thermo oxydative fait diminuer par conséquent le point de fumée. De plus, selon Bennion et Marion (1980), la présence de mono et di-glycérides ou d'impuretés dans les huiles peut contribuer à la réduction du point de fumée.



**Figure22 :** Valeur du point de fumée en fonction du nombre de friture

L'image ci-dessous illustre clairement l'intensification de la couleur de l'huile après chaque trois friture.



**Figure 23 :** Aspect couleur de l'huile en fonction du nombre de friture

D'après **Graille(2003)**, la couleur revient aux monomères cycliques, dimères et polymères bruns. **Belitz et al. (2004)** ont aussi invoqué l'effet sur la couleur des produits de la réaction de Maillard mettant en jeu les glucides et acides aminées de pomme de terre qui sont des composés de couleur rouge-brun ou marron (pré mélanoidines, déoxysones ou réductones, mélanoidines et amines hétérocycliques).

### III.3. Qualité des huiles collectées des restaurants

Le tableau 7 regroupe les résultats de l'analyse physico-chimique des échantillons d'huile à friture prélevés auprès des restaurateurs. La lecture de ces résultats, nous permet de tirer les conclusions suivantes :

- ✓ Les valeurs des propriétés physicochimiques des 4 échantillons se rapprochent, néanmoins, il y a des différences entre quelques propriétés, ce qui nous permet de distinguer l'échantillon le plus altéré ;
- ✓ L'échantillon 2 possède la valeur de l'indice d'acidité la plus élevée par rapport aux autres échantillons, elle atteint  $10.45 \pm 0.056$  mg KOH/g d'huile. Les valeurs d'extinction sont plus élevées ( $K_{232} = 0.1425 \pm 0.002$  et  $K_{270} = 0.117 \pm 0.005$ ), ainsi que sa densité et son taux d'impuretés. D'autre part, son taux de peroxydes et son indice de saponification sont faibles par rapport aux autres. Son humidité est minimale et l'émission de fumée commence à partir de  $164.5^{\circ}\text{C}$ . Il est clair qu'il fait partie des échantillons les plus altérés avec une estimation de son usage de plus de 21 fritures ;
- ✓ La quantité de peroxydes la plus importante est obtenue avec l'échantillon 3, dont l'indice de peroxyde était de  $1.7 \text{ meqd}^{\circ}\text{O}_2/\text{kg}$ , de même, la présence d'eau la plus importante est enregistrée avec la même huile, elle était de 0.46%. Par ailleurs, les valeurs les plus élevées de pH et de point de fusion sont obtenues avec le même échantillon, elles étaient de pH 6.01 et  $9.1^{\circ}\text{C}$  respectivement. L'analyse des résultats relatifs à cet échantillon, montre que ce dernier a été utilisé entre 15 à 21 fois ;
- ✓ Le dernier constat est que les échantillons 1,2 et 3 ont été utilisés plus que 21 fois.

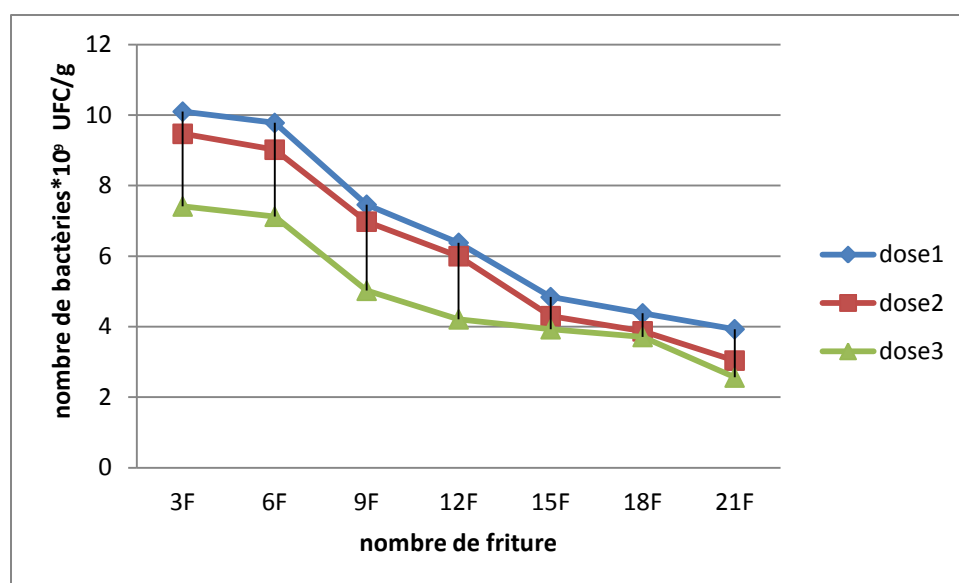
**Tableau7** : Caractéristiques physicochimiques des huiles collectées auprès des restaurateurs

Echantillons	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>
Indice d'acide (mg de KOH/g)	9.65	10.45	9.52	9.45
Indice de peroxyde (meq d'O <sub>2</sub> /kg)	1.2	0.8	1.7	1.2
Indice de saponification (mg de KOH/g)	141.86	117.81	143.50	145.86
Indice d'extinction ( $\lambda=232\text{nm}$ )	0.099	0.117	0.070	0.103
Indice d'extinction ( $\lambda=270\text{nm}$ )	0.1330	0.1425	0.1300	0.1375
Densité (g/cm <sup>3</sup> )	0.910	0.931	0.900	0.920
Humidité (%)	0.27	0.20	0.46	0.30
Impuretés (%)	0.33	0.37	0.30	0.35
pH	5.82	5.40	6.01	5.95
Point de fusion (°C)	6.9	6.1	9.1	6.5
Point de solidification (°C)	-0.2	0.0	-4.2	-0.1
Point de fumée (°C)	177.5	164.5	180.5	167.0
Estimation du Nombre de friture	Plus 21F	Plus 21F	15à21	plus 21F

F : friture

#### III. 4. Effet des huiles thermo oxydées sur la viabilité de la microflore cultivable *in vitro*

Les résultats du dénombrement des bactéries de la flore endogène cultivable sur des milieux additionnés de l'huile thermo oxydée sont illustrés sur la figure 24.



**Figure 24 :** Evolution de nombre de la microflore cultivable en fonction de la dose d'huile et le nombre de friture (dose 1=1.2g/100g de gélose, dose 2=2.4g/100g de gélose et dose 3=3.6/100g de gélose).

Il est clair sur le graphe qu'il y a un effet croisé du nombre de friture et de la dose infligé sur la charge bactérienne, puisqu'il y a une diminution du nombre d'UFC /g avec l'accroissement du nombre de fritures et de la dose.

Sur la boîte témoin, il y avait  $11,28 \times 10^9$  UFC/g, ce nombre a diminué dès la 3<sup>ème</sup> friture à la dose la plus faible pour atteindre  $10,1 \times 10^9$  UFC/g. La charge bactérienne la plus réduite est dénombrée sur la boîte additionnée de l'huile de la 21<sup>ème</sup> friture avec une dose 3 de 3.6g /100g de gélose et qui a conduit à l'apparition de  $2,56 \times 10^9$  UFC/g.

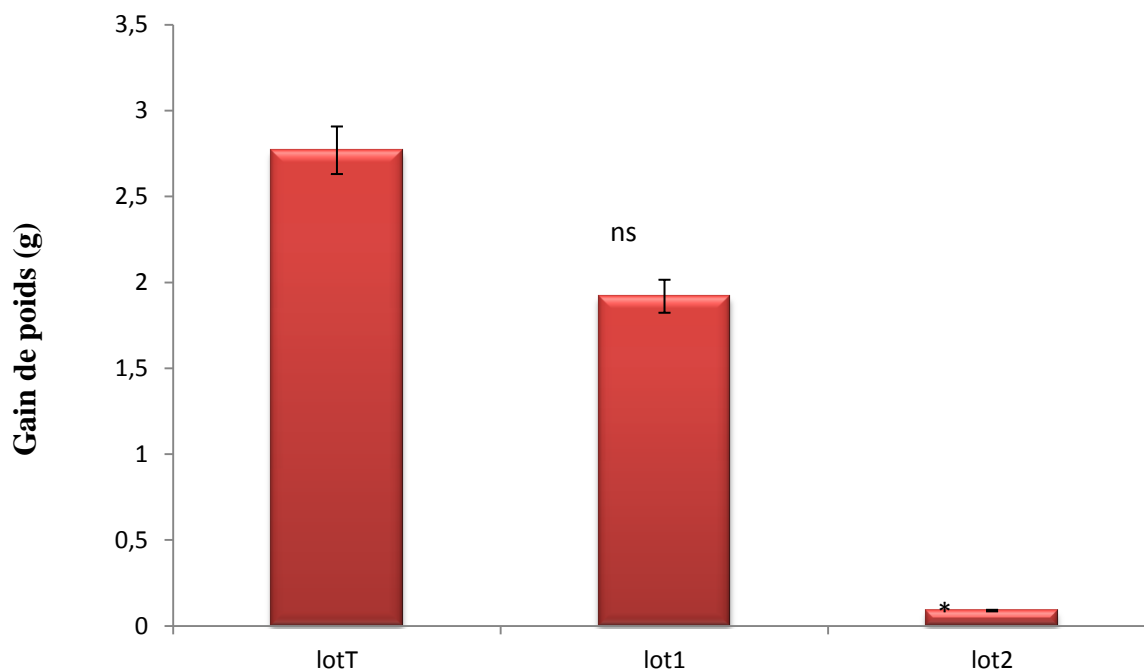
Cette diminution confirme le contenu de composés toxique des huiles usagées puisqu'il y a eu inhibition de la croissance bactérienne suite à un effet cytotoxique et bactéricide des produits d'altération de la thermo oxydation.

### III.5. Etude de la toxicité des huiles thermo oxydées *in vivo*

L'alimentation d'aujourd'hui est caractérisée par des quantités non négligeables de lipides oxydés formés lors du chauffage ou de la friture d'huile et d'aliments gras. Le but de cette étude est d'évaluer l'influence de composés formés lors de la thermo-oxydation d'huile végétale sur le métabolisme lipidique chez la souris.

**III.5.1. Effet sur le gain de poids :** La figure 25 représente la variation de poids corporel des souris témoins et celles traitées quotidiennement par l'huile thermo oxydées de la 21<sup>ème</sup> friture et celle recueillies des restaurants pendant 45 jours.





**Figure 25 :** Variation de gain de poids après traitement à l'huile thermo oxydées

ns : différence non significative ;(\*) : différence significative

Les résultats obtenus montrent que les valeurs de gain de poids corporel des souris à régime standard étaient clairement plus élevées que celles des animaux aux régimes contenant de l'huile à friture thermo oxydée. Les deux groupes ont montré une différence par rapport au témoin. Les souris du lot1 dont l'huile de la 21<sup>ème</sup> friture a été ajoutée à l'alimentation ont montré un gain de poids de 1.92 g soit une différence non significative par rapport à celui des animaux du lot T, alors que les souris du lot 2 ont marqué une différence significative ( $p < 0.05$ ) avec un gain de poids de 0,09 g.

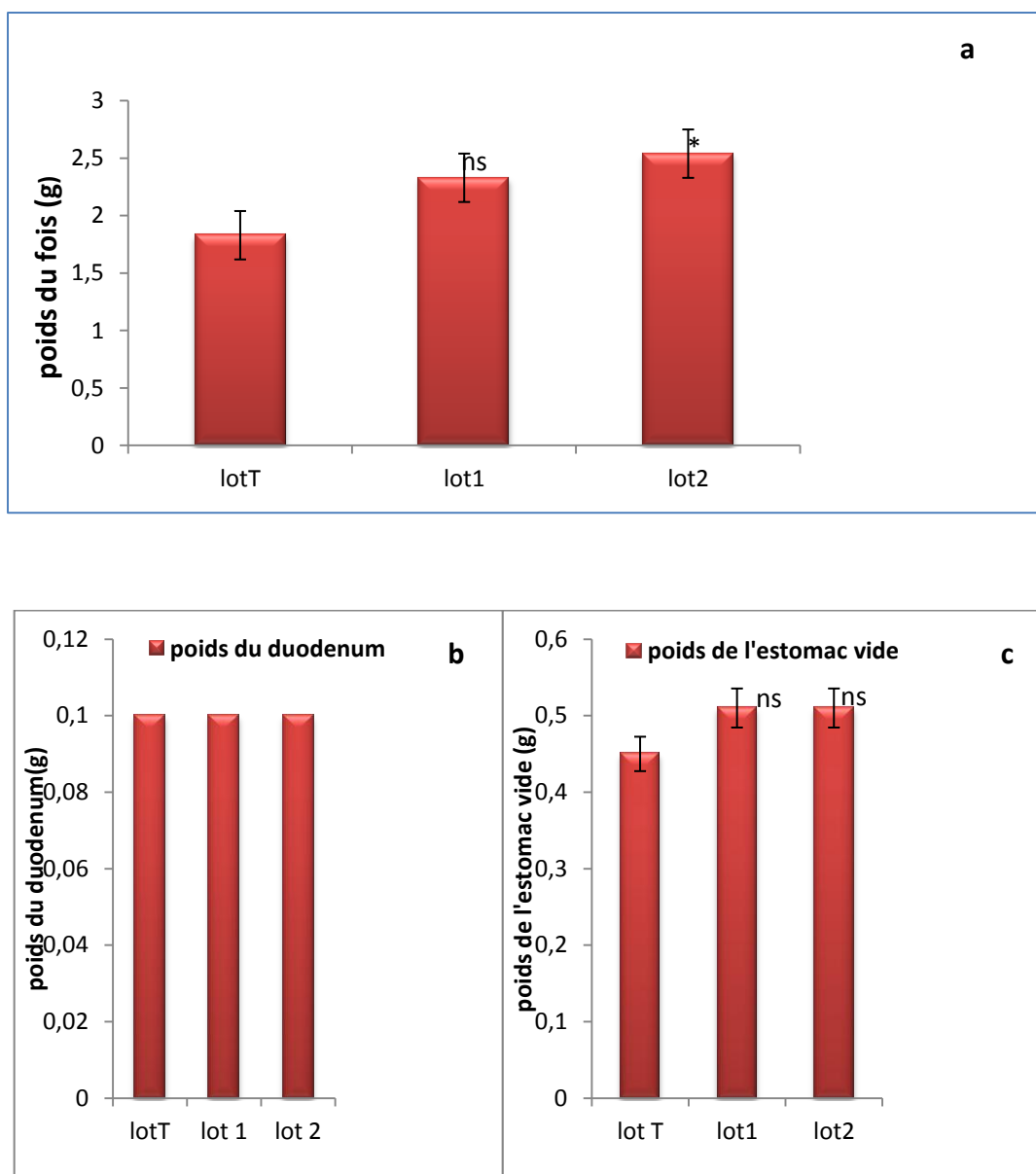
Ce retard de croissance chez les souris pourra être lié à plusieurs facteurs. Le premier constat a été rapporté par **Shastry et al. (2011)** dont, la perte d'appétit, la diarrhée et la perturbation des activités des enzymes musculaires et squelettiques peuvent être à l'origine du retard de croissance dans ces deux groupes.

En outre, d'après **El-bialy et al. (2015)**, lorsque les huiles oxydées sont données en grandes quantités à des animaux, les caractéristiques gustatives et odorantes de l'alimentation peuvent se détériorer avec une diminution subséquente de l'apport alimentaire ce qui conduit à un retard de croissance. Par ailleurs, les mêmes auteurs ont rapporté que les polymères à longue chaîne qui sont produits pendant le processus d'oxydation peuvent rendre la graisse moins absorbable et pourrait interférer avec l'absorption des autres nutriments liposolubles dans l'alimentation.

De son côté, Kirk (1984) a montré que l'irritation de la muqueuse intestinale par les peroxydes pourrait constituer une autre raison possible qui pourrait interférer avec l'absorption des nutriments. De même, cet auteur a rapporté que la consommation d'huile à friture à plusieurs reprises dans le régime alimentaire, non seulement diminue le gain de poids corporel, mais aussi induit des carences en éléments nutritifs. Ceci concerne la destruction thermique de vitamines et d'acides gras essentiels dans l'huile oxydée avec une diminution de la digestibilité et de l'absorption des protéines due aux réactions de réticulation de produits d'oxydation lipidiques secondaires avec des protéines.

Dans une étude menée par Marquez- Ruiz *et al.* (1999), un déséquilibre de la flore endogène causée par les huiles thermooxydées a provoqué une diminution de la valorisation de l'aliment par les souris. Enfin, la diminution de la disponibilité en acides aminés, suite à la formation de complexes avec les produits de l'oxydation peut être une cause de perte du gain de poids.

**III.5.2. Effet sur le poids des organes :** Sur la figure 26 sont représentés les poids des organes pesés après chaque sacrifice sous forme de moyennes  $\pm$  écart type. D'après ces résultats, on remarque que les différences en poids des différents organes entre le lot témoins et le reste des lots sont majoritairement non significatives ( $p > 0.05$ ) à l'exception du poids du foie du lot2 dont la différence était significative ( $p < 0.05$ ).



**Figure 26 :** Poids des organes recueillis après sacrifices des animaux

(a) Poids du foie      (b) poids du duodénum      (c) poids de l'estomac vide

ns : différence non significative (\*) : différence significative

Les poids relatifs des organes peuvent être utilisés comme indice de gonflement, d'atrophie ou d'inflammation des organes (Oladiji *et al.*, 2009). Dans le présent travail, la croissance enregistrée dans le foie chez les souris traitées avec de l'huile thermooxydée était concomitante avec les altérations histopathologiques telles que la congestion, l'infiltration de cellules inflammatoires. La croissance du foie à la suite de l'utilisation d'huiles dégradées a été rapportée auparavant par plusieurs auteurs (Paul et Mittal, 1997). Billek (2000) a révélé que certaines fractions des graisses chauffées, les composés polaires totaux (PTC) peuvent

entraîner un retard de croissance, des poids augmentés du foie et des reins et des troubles du système enzymatique.

**III.5.3. Effet sur l'indice hépato-somatique :** Cet indice met en évidence l'effet de l'apport d'huile thermo oxydée dans l'alimentation sur les fonctions hépatiques. Les valeurs de l'indice hépato-somatique sont résumés dans le tableau 8.

Comme précédemment indiqué, le poids du foie connaît une notable augmentation entre le lot témoin et les lots traités, alors que le gain en poids baissait. De ce fait, l'indice hépato somatique des animaux recevant les huiles thermo oxydées (lot1 et lot 2) enregistre des valeurs assez importantes comparativement à celui du témoin.

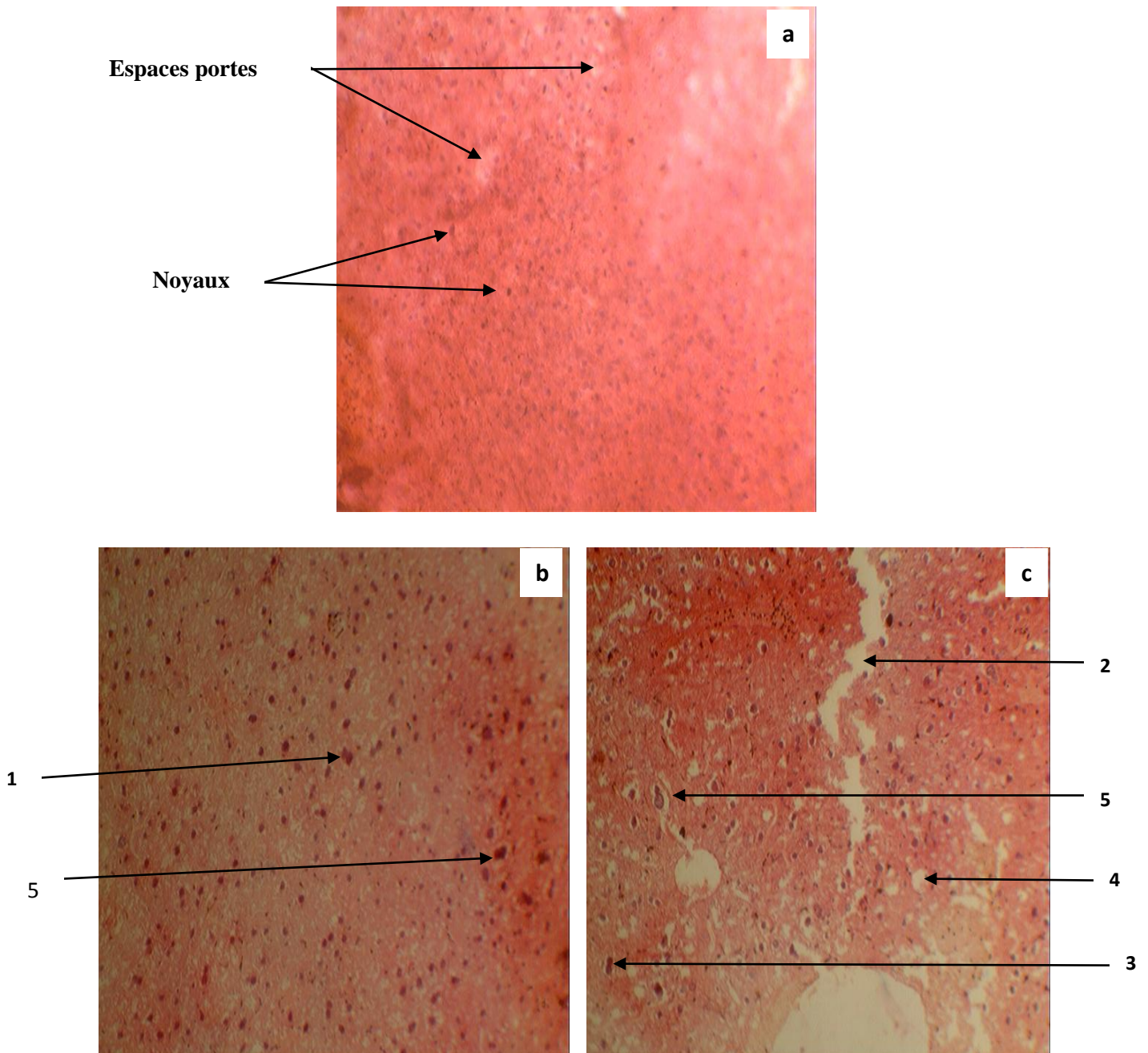
**Tableau8 :** Variation de l'indice hépato-somatique au cours de la période d'apport de l'huile thermo oxydée.

	<b>P(g)</b>	<b>P<sub>f</sub> (g)</b>	<b>IHS (%)</b>
<b>Lot T</b>	44.07 ± 2.569	1.83 ±0.24	4.15
<b>Lot 1</b>	40.12 ±4.920	2.33 ±0.30	5.80
<b>Lot 2</b>	41.05 ±1.825	2.50 ±0.35	6.09
	<b>P<sub>f</sub> = poids de foie</b>	<b>IHS = Indice Hépato somatique</b>	

Un indice de 6.09% pour les animaux du lot2 ayant reçu l'huile des restaurants et 5.8% pour ceux du lot 1ayant reçu dans leur aliment de l'huile de la 21<sup>ème</sup> friture. Ces deux valeurs sont largement supérieures à l'indice hépato somatique des souris témoins (4.15%).

Ces résultats, confirment le fait qu'il y a eu gonflement, atrophie ou inflammation du foie suite à l'apport de produits d'oxydation des huiles. Ceci n'est pas sans conséquences sur la santé car **Totani et Ojiri (2007)** et **Shastri et al. (2011)** avaient rapportés qu'un apport excessif en produits d'oxydation des huiles contribue à un dysfonctionnement du foie ou à la naissance des symptômes de certaines maladies à savoir le foie gras et les cirrhoses hépatiques.

**III.5.4. Effet sur la structure hépatique (histologie) :** Les figures27et 28 montrent l'aspect des coupes histologiques réalisées sur les foies prélevés de chaque lot après la première phase du traitement puis à la fin du traitement. Après 15jours d'apport de l'huile thermo oxydée aux animaux, nous avons obtenus les structures illustrées par la figure 27.



**Figure 27** : Examen histologique du foie des animaux ( $G^* 100$  )

(a) : Témoin (b) : Après 15 j de la consommation de l'huile de la 21<sup>ème</sup> friture

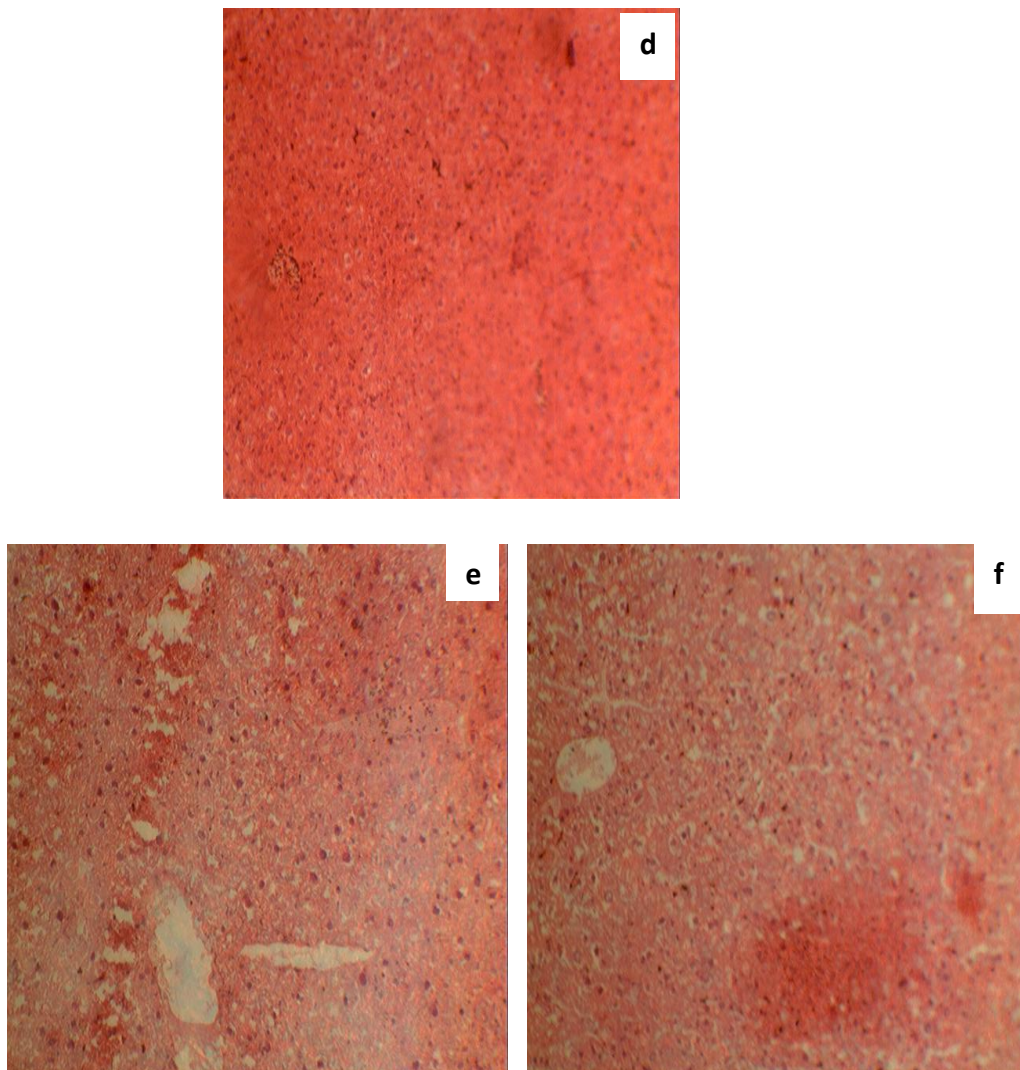
(c) : Après 15 j de la consommation de l'huile du restaurant.

**1 : Désintégration du noyau 2 : augmentation des espaces portes 3 : désintégration cellulaire et jumelage de noyaux 4 : hépatocyte déformé avec aspect inflammatoire 5 : foyer nécrotique probable**

L'analyse de ces coupes montre de grandes différences entre le foie du lot témoin et celui des lots traités. Le foie du lot témoin (a) ne montre aucune altération apparentes alors que pour le lot 1 (b), on remarque un rapprochement des noyaux avec polymorphisme et une altération de la structure hépatique.

Le foie du lot 2 sur la figure(c) apparaît beaucoup plus altéré, on remarque beaucoup d'espaces péri plasmiques, invaginations cellulaires et désintégrations des noyaux, il y a même des cellules nécrotiques.

Après 45 jours d'apport de l'huile thermo oxydée dans le régime des souris, nous avons obtenu les structures hépatiques illustrées par la figure 28.



**Figure 28** : Examen histologique du foie des animaux (G\* 100 )

<sup>(a)</sup> : Témoin <sup>(b)</sup> : Après 45 j de la consommation de l'huile de la 21<sup>ème</sup> friture <sup>(c)</sup> : Après 45 j de la consommation de l'huile du restaurant

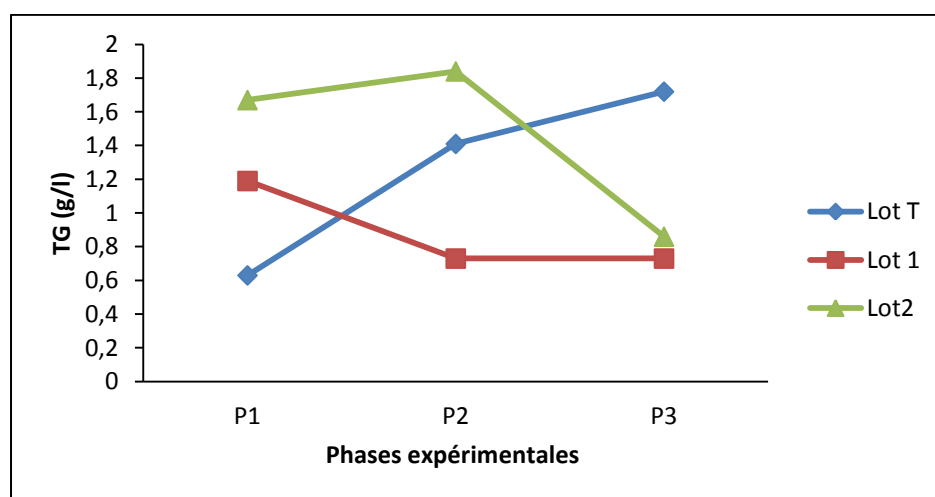
Après 45 jours, la structure hépatique des animaux traités à l'huile thermo oxydée illustrée par les figures (e) et (f) pour les lots 1 et 2 respectivement montre une altération accentuée avec des modifications plus avancées comparativement à celles observées après 15 jours. Si on compare avec la structure hépatique du lot témoin (figure d), on remarque une augmentation

de l'espace péri plasmique, désintégration des noyaux et des cellules avec des foyers nécrotiques. Ceci vient confirmer l'effet toxique de l'huile ingérée avec les conséquences sur la santé en particulier le foie étant le premier organe de détoxification.

### III.5.5. Effet sur le taux des lipides sériques

Les altérations des concentrations de lipides majeurs peuvent fournir des informations utiles sur le métabolisme lipidique et la prédisposition d'un animal au risque cardiovasculaire.

**III.5.5.1. Evolution du taux des triglycérides :** La figure29 montre comment les valeurs des triglycérides des trois lots évoluent au cours des trois périodes d'apport de l'huile thermo oxydée comparativement à ceux du lot témoin.



**Figure29 :** Variation du taux des triglycérides chez les souris

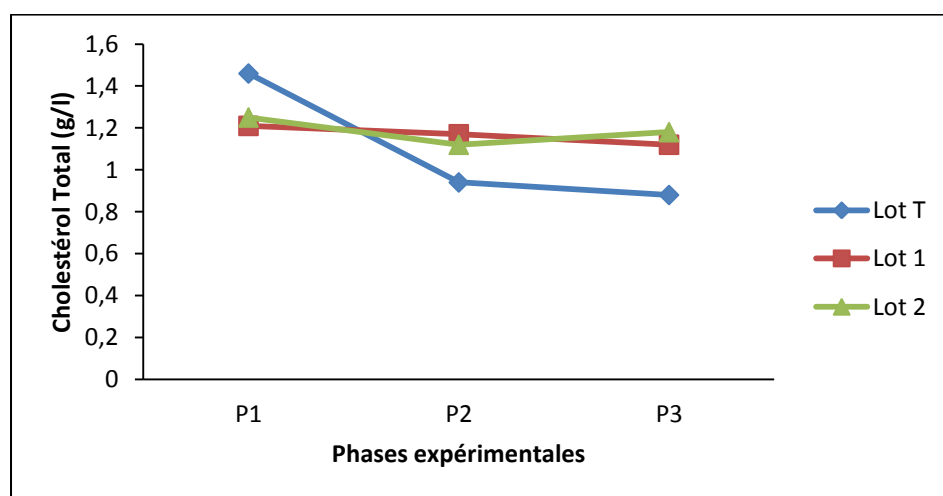
D'après la figure, juste après l'apport de la première dose d'huile thermo oxydée (1.2gd'huile/100g de croquettes) le taux de triglycérides a augmenté pour les deux lots expérimentaux comparativement à celui des animaux du lot témoin. Cela peut s'expliquer par l'apport d'aliment lipidique riche en triglycérides (huile) contrairement à celui du lot témoin, qui est un aliment standard. En augmentant les doses d'huile thermo oxydée, le taux de triglycérides des animaux du lot 2 évolue pour diminuer complètement au bout de la 3<sup>ème</sup> phase expérimentale. Cependant, pour les animaux du lot 1, le taux de triglycérides reste stable pendant les périodes 2 et 3. Pour les animaux du lot T, il est remarquable que le taux de triglycérides augmente au cours des phases expérimentales.

L'analyse statistique a montré qu'il n'y a pas une différence significative entre le lot T et le Lot 1 ( $p = 0,534 > 0,05$ ) et entre le lot T et le lot 2 ( $p = 0,743 > 0,05$ ).

**Al-bialy et al. (2015)** avaient obtenu des résultats similaires avec des lots de rats et avaient expliqué que la diminution des taux de triglycérides après l'ingestion d'huile thermo oxydée peut être due à l'augmentation de la disponibilité d'acides gras libres pour l'estérification.

Cela dit, selon **Sohet et al. (2010)**, la diète peroxydée par l'ajout de l'huile thermo-oxydée induit une diminution des triglycérides hépatiques et sériques ainsi que des acides gras libres circulants car ce type d'alimentation induit des modifications du métabolisme hépatique. Ces altérations sont associées à l'activation de la voie liver X receptor (LXR) et sont indépendantes des peroxydes formés lors de l'oxydation de l'huile.

**III.5.5.2. Evolution du cholestérol total :** Les résultats obtenus sont résumés dans la figure 30 La figure illustre que la cholestérolémie prend la même allure chez les animaux des lots expérimentaux, en revanche, celle des animaux témoins se détache du reste, ce qui prouve qu'il y a une différence de chiffres. Cependant, statistiquement, il n'y a aucune différence significative entre la concentration de cholestérol sérique des animaux du lot T et celle du lot 1 ( $p = 0,695 > 0,05$ ), et idem avec celle du lot 2 ( $p = 0,618 > 0,05$ ). Mais on remarque comme même un taux de cholestérol total chez les souris traitées à partir de la 2<sup>ème</sup> phase du traitement supérieur à celui des animaux du lot témoin.



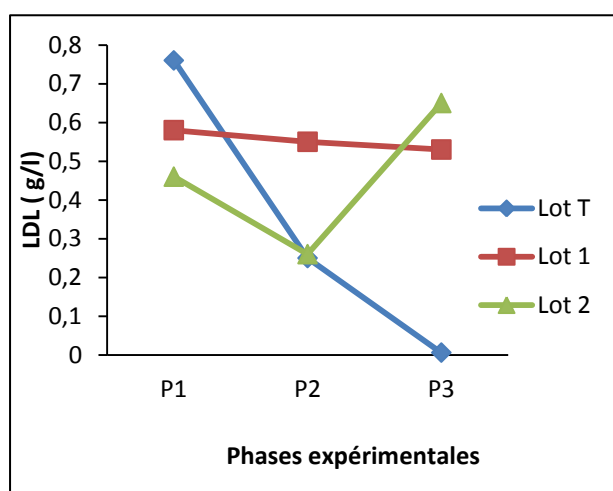
**Figure30 :** Variation du taux de cholestérol chez les souris.



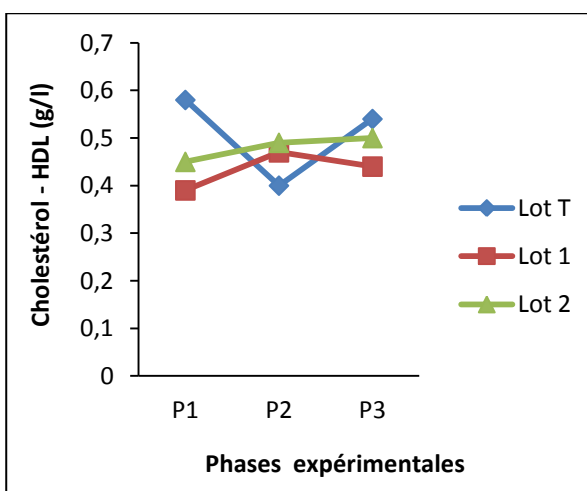
Pour expliquer cette évolution, **Aruna et al. (2004)** avaient rapporté que l'ingestion de lipides oxydés riches en acide linoléique provoque une altération profonde de la fluidité et de la fonction de la composition membranaire qui est susceptible d'être associée à une augmentation du taux de cholestérol. **El\_bialy et al. (2015)** ont également rapporté que le processus d'oxydation de l'huile chauffée provoque des changements dans la configuration des acides gras de l'isomère cis (apparition de la forme trans). L'apport de gras trans est corrélé à l'augmentation du taux sérique de cholestérol total.

**III.5.5.3. Evolution du taux des LDL et HDL :** Les résultats numériques sont illustrés par les figures 31 et 32.

Il est constaté qu'il y a une différence de chiffres entre les valeurs du taux des HDL et LDL. Cependant, il n'y a pas de différence significative entre le lot T et le Lot 1 ( $p = 0,409 > 0,05$ ) et le lot T et le lot 2 ( $p = 0,719 > 0,05$ ) pour le taux LDL-C. La même chose avec l'analyse statistique des résultats obtenus avec l'HDL-C où aucune différence significative n'a été obtenue ( $p = 0,438$  : lot T et Lot1) et ( $p = 0,463$  : Lot T et Lot2).



**Figure 31 :** Variation du taux LDL-C.



**Figure 32 :** Variation du taux HDL-C.

Alors que le taux LDL-C chute entre la phase 1 et la phase 3 chez les animaux témoins, il diminue légèrement chez les souris traitées, puis augmente dès que la dose triple pour le lot 2. La quantité d'huiles ingérée influe considérablement sur le taux du mauvais cholestérol. En moyenne, une différence de  $+ 0,22 \pm 0,34$  g/l entre le lot 1 et le lot T et  $+0,05 \pm 0,245$  g/l entre le lot 2 et le lot T.

D'autre part, la concentration en HDL-C qui était chez les animaux des lots 1 et 2 inférieure à celle de leur congénères témoins, enregistre une légère augmentation au bout de la

phase 2, pour diminuer de nouveau avec une dose de 3.6g d'huile/100g de croquettes. Des différences respectives de  $-0.01 \pm 0.084$  g/l entre lot1 et lot T et  $-0.01 \pm 0.052$  g/l entre lot2 et lot T ont été obtenues.

Les LDL-C sont des lipoprotéines qui transportent le cholestérol dans le sang. Elles constituent le mauvais cholestérol, leur concentration est associée à celle du cholestérol, suite à l'oxydation des triglycérides, le taux de cholestérol augmente, ainsi que celui des LDL qui le transporte vers les tissus, où il est stocké dans les tissus sous forme d'esters.

Les HDL-C quant à eux sont les lipoprotéines qui s'occupent de l'excès en cholestérol et le transportent vers le foie pour l'éliminer et permet ainsi d'éviter son accumulation dans les artères, il constitue le bon cholestérol.

Selon **Sohet et al. (2010)**, l'augmentation du taux du cholestérol total et de l' LDL-cholestérol sérique ainsi que la diminution du taux de l'HDL cholestérol au niveau hépatique est directement lié à l'augmentation du catabolisme et de la sécrétion du cholestérol résultant de l'activation de la voie liver X receptor (augmentation de l'expression de l'ARNm de gène cibles de LXR. Le liver X receptor (LXR) appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires qui jouent un rôle dans la protection des cellules de l'organisme contre une élévation brusque de composés potentiellement toxiques tels que le cholestérol (**Côté, 2013**). D'après **El\_bialy et al. (2015)**, c'est l'apport d'acides gras sans dû au traitement thermique oxydatif qui conduit à l'augmentation du taux du cholestérol total et de LDL et à la diminution des valeurs de HDL.

### **III.5.6. Effet des huiles à friture sur la microflore endogène :**

Pour l'étude microbiologique, nous nous sommes intéressés à la flore endogène et son évolution suite à l'ingestion d'huile thermo oxydée de la 21<sup>ème</sup> friture ou plus. Les flores dénombrées sont la FTAM, CT, CTT et entérobactéries naturellement présentes dans le tube digestif.

Les résultats du dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) et des entérobactéries dans la matière fécale sont illustrés dans les figures 33, 34 respectivement et Ceux du dénombrement des coliformes totaux (Ct) et coliformes thermotolérants (CTT) sont représentés par les figures 35 et 36 respectivement.

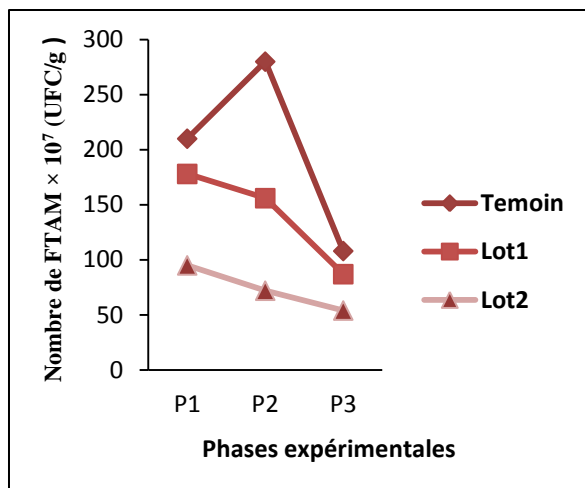


Figure33 : Evolution du nombre de FTAM

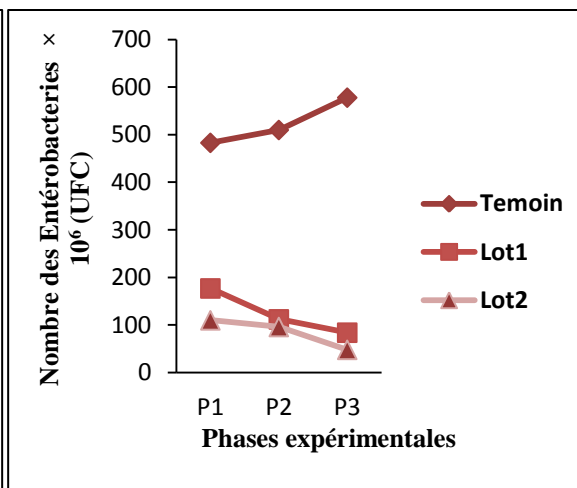


Figure34 : Evolution du nombre des Entérobactéries

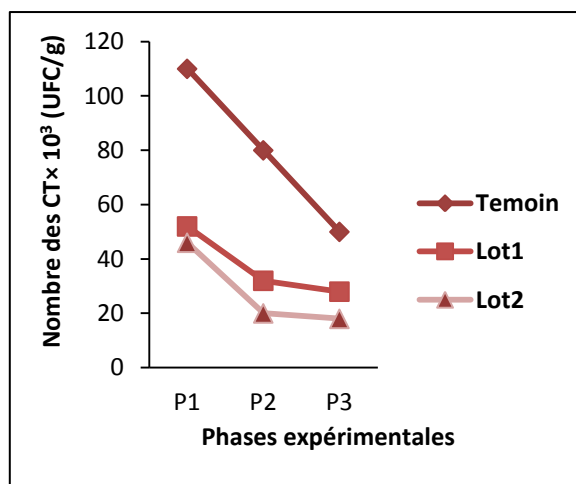


Figure35 : Evolution du nombre des CT

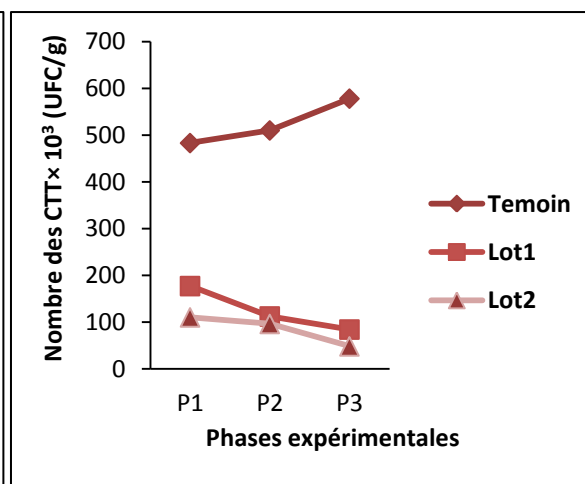


Figure 36 : Evolution du nombre des CTT

En observant les résultats, il est clair que les microflores cultivables de la matière fécale des souris témoins sont plus nombreuses que celles contenues dans la matière fécale des souris ayant ingéré de l'huile thermo oxydée.

La flore totale aérobie mésophile (FTAM) diminue au cours des phases du traitement chez les souris du lot 1 et 2 alors que chez les témoins, le nombre augmente puis diminue en phase 3 mais reste toujours supérieur à ceux des lots expérimentaux.

Les coliformes totaux, connaissent aussi une baisse de charge en fonction des doses. Dès la première dose la plus faible, leur nombre est largement inférieur à celui dénombré à partir de la matière fécale des témoins.

Pour ce qui est des entérobactéries et des coliformes thermo-tolérants, alors que le nombre d'UFC croît au fil du temps chez les témoins, l'ingestion d'huiles thermo oxydées fait baisser la charge bactérienne d'une façon considérable ; qui se voit avoisiner le zéro en phase 3 pour les 2 groupes de bactéries et pour les deux lots.

A noter également que le lot 2 traité par l'huile des restaurants connaît une baisse plus accentuée que celle du lot 1. Cela est attribuée au fait que l'huile de restaurant est plus altérée que celle de l'huile de la 21<sup>ème</sup> friture.

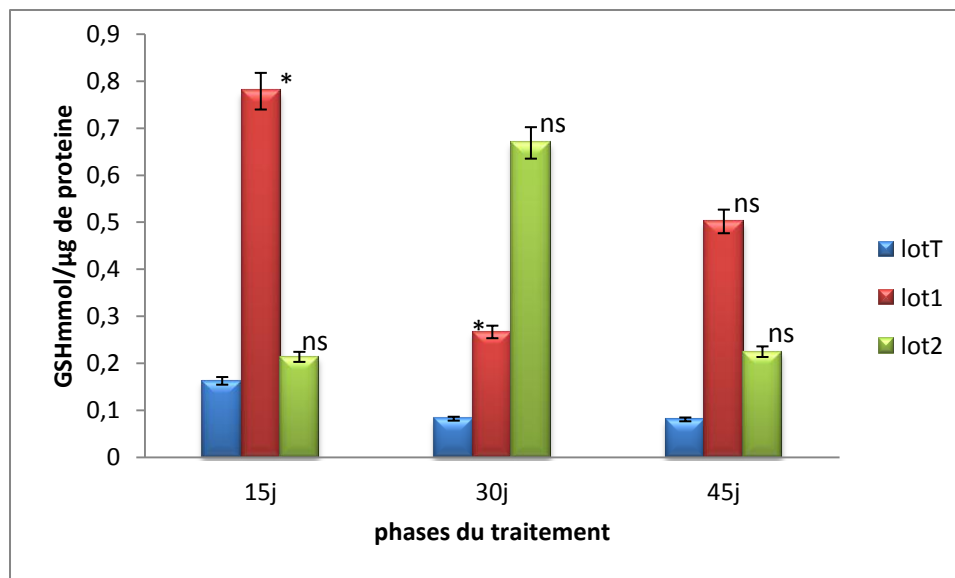
Ces résultats témoignent de l'effet néfaste de l'apport des huiles thermo oxydées. Cette inhibition ne fait qu'incriminer les produits d'altération de la thermo oxydation qui exercent un effet bactéricide et cytotoxique sur la flore endogène. Cela aura pour conséquence une perturbation de l'équilibre du système digestif avec tous ce qui s'en suit comme les diarrhées et troubles digestifs.

**III.6. Etudes des paramètres du stress oxydatif :** Les niveaux de ces antioxydants peuvent fournir une idée claire sur l'ampleur des dégâts cytotoxiques qui se produisent dans ces tissus  
(Sies, 1993).

**III.6.1. Dosage des GSH :** Le GSH agit comme l'antioxydant le plus important dans les systèmes vivants, car il est un décapant de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, des peroxydes lipidiques et leur produit comme 4-hydroxynonental (Kumar *et al.*, 2006).

L'un des rôles importants du glutathion sont : la réduction ou l'inactivation des ROS par la formation de glutathion disulfure (GSSG) et la conjugaison du glutathion réduit (GSH) pour l'élimination des xénobiotiques (Hayes et McLellen, 1999).

Les concentrations obtenues du dosage des Glutathions réductases sont représenté sur la figure 37 :



**Figure37** : Evolution de la concentration de l'enzyme glutathion réductase (mmol/μg de protéine) ns : différence non significative ; (\*) : différence significative

L'analyse de ces résultats montre une variation du taux de GSH entre les souris du lot témoin et celles des lots traités à l'huile thermoxydée.

Il y a une différence significative ( $p=0.031 < 0.05$ ) entre le lot T et le lot 1 dès les premiers 15 jours du traitement, alors qu'elle est non significative entre le lot T et le lot 2 ( $p=0.741 > 0.05$ ). Les mêmes différences sont enregistrées après 30 jours.

Après 45 jours du traitement, la différence devient non significative entre le lot T et les lots 1 et 2 avec des valeurs de P (0.798 et 0.526) respectivement. Il est clair selon la figure que les lots traités possèdent des concentrations de GSH supérieures à celles des témoins.

Selon **Kariya et al. (2007)**, les souris ont un certain niveau de stress oxydatif basal qui est indiqué par une augmentation de l'oxydation de l'ADN et l'augmentation des activités des enzymes antioxydantes ceci conduit à une augmentation de la demande sur le GSH ce qui peut limiter sa disponibilité d'où sa faible concentration chez les souris témoins.

Cela dit, **Chan (1993)** avait mentionné que le GSH étant l'antioxydant majeur de la cellule grâce à sa concentration élevée dans cette dernière. Il agit en synergie avec la vitamine C et la vitamine E, présentes dans l'huile de soja constituant majeure de l'huile végétale étudiée. Son augmentation témoigne donc d'un stress oxydatif combattu.

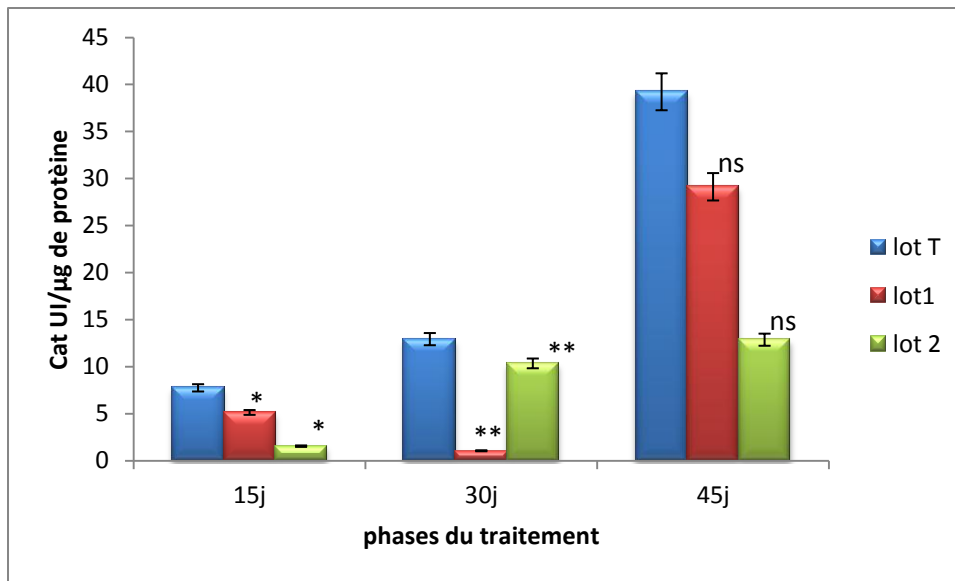
Beaucoup d'études ont montré que le glutathion obtenu à partir de l'alimentation est directement absorbé par le tractus gastro-intestinal ce dernier réduit les peroxydes lipidiques formés lors des fritures successives suite à la dégradation des acides gras poly insaturés car le glutathion joue un rôle de substrat pour la glutathion peroxydase.

**III.6.2. Dosage de l'activité de la catalase :** La catalase (CAT) a pour unique substrat le peroxyde d'hydrogène qu'elle réduit en eau. L'inconvénient de cette enzyme est qu'elle est localisée uniquement dans les peroxysomes et ne peut donc pas agir dans les autres compartiments cellulaires (cytoplasme, mitochondrie, lysosome, noyau) où le peroxyde d'hydrogène est également présent. Ce dernier diffuse très facilement à travers les membranes et peut donc agir à distance de son lieu de production (**Cillard et Cillard, 2006**).

Les résultats du dosage des concentrations de la catalase dans le foie des souris à travers les différentes phases du traitement sont représentés dans la figure 38.

Les concentrations en enzyme catalase varient d'une phase à une autre et d'un lot à un autre. On remarque que le lot témoin possède une plus grande concentration par rapport aux autres lots et ceci sur les trois phases du traitement.

Les concentrations étaient basses dans la première quinzaine de jours, avec des différences significatives entre le lot T et les lots 1 et 2 ( $p=0.023<0.05$ ) et ( $p=0.034<0.05$ ) respectivement. Après 30 jours, la concentration en CAT a augmenté chez le lot 2 mais reste toujours inférieure à celle du témoin les différences sont devenues très significatives entre le lot T et les lots 1 et 2. A la fin du traitement, le foie des souris a connu une forte augmentation de la concentration en enzyme catalase avec des différences non significatives avec le lot témoin, ce dernier possédant toujours la plus forte concentration.



**Figure 38** : évolution de la concentration de l'enzyme catalase (UI/μg de protéine)

ns : différence non significative ; (\*) : différence significative ;(\*\*) : différence hautement significative

La réduction du niveau de CAT est peut être due à la production excessive d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> suite à la peroxydation lipidique dans le foie des souris ayant consommé de l'huile thermooxydée. Les composés toxiques endogènes et exogènes telles que les espèces réactives de l'oxygène et des produits d'altération de la thermooxydation, provoquent l'induction des enzymes anti-oxydantes, c'est une stratégie majeure pour la protection des cellules contre une grande variété de composés toxiques.

Une augmentation de la Superoxyde Dismutase (SOD), un paramètre qui n'est pas été étudié ici, entraîne une augmentation de la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, cela cause également une diminution de la catalase.

### III.7. Valorisation des huiles usagées en biodiesel

Le produit final de la synthèse du biodiesel s'est présenté comme le montre les figures 39 et 40.



Figure 39: Produit obtenu après distillation



Figure 40 : Décantation du biodiesel

**III.7.1. Le rendement de la biosynthèse :** Théoriquement 50g d'huile donne 50g de biodiesel par la réaction de transestérification. La masse expérimentale obtenue est de 28.77g, soit un rendement de 57.54% un rendement relativement bas puisque. Selon Sary (2011), un rendement de 75 à 97% est facilement atteint si on optimisait les conditions opératoires. Selon le même auteur, il est possible d'améliorer le rendement en jouant sur plusieurs facteurs tels que :

La température, le catalyseur ou la nature de l'alcool choisie

De même, les conditions opératoires sont fortement liées à la matière première utilisée. La présence de l'humidité ou des acides gras libres réduisent le rendement de la transestérification à catalyse basique ce qui nécessite des prétraitements.



### **III.7.2 Caractérisation du biodiesel**

**III.7.2.1. L'indice d'acide :** l'acidité du biodiesel obtenu est de 1.12 mg de KOH/g d'huile, cette valeur est supérieure à celle fixée par la norme standard Européenne pour le biodiesel (**EN 14112**) fixée à un maximum de 0.5 mg de KOH/g d'huile.

Ce résultat est similaire à celui obtenu par **Sunthitikawinsakul et Sangatith (2011)**, qui avaient obtenu une acidité supérieure aux normes et qui avaient conclu que le temps de cuisson subi par l'huile usagée influençait significativement l'acidité du biodiesel, les triglycérides naturellement présents dans l'huile s'hydrolysaient sous l'effet de la chaleur et libéraient des acides gras libres qui contribuaient à la hausse d'acidité du biodiesel.

Ceci oblige des traitements spécifiques, afin de réduire le taux d'acides organiques libres tel que faire une deuxième étape d'estérification à catalyse acide des acides gras libres (**Sary, 2011**)

**III.7.2.2. La densité :** Le biodiesel avait une densité de 0.89, conforme aux normes (0.86-0.9). Cela dit, pour bien évaluer le produit obtenu d'autres mesures peuvent être réalisées à savoir, le point d'éclair, l'indice de cétone, la viscosité, le point d'inflammation et une caractérisation à l'infrarouge.

Les résultats des différentes parties expérimentales de notre sujet, nous ont permis de tirer les constatations suivantes :

Les huiles végétales commercialisées présentent des variations qualité- prix, de ce fait les défaillances au niveau de la chaîne de production contribuent à l'accélération du processus d'altération.

Une huile utilisée en friture perd de ces valeurs nutritives au cours des fritures successives. Dès la troisième friture, son acidité augmente ainsi que son taux de peroxydes. Nous avons remarqué aussi, l'augmentation de production de produits d'altération primaire et secondaires pour laquelle, les valeurs des coefficients d'extinction  $K_{232}$  et  $K_{270}$  ont connu un changement remarquable.

Les aliments frits au sein des restaurants représentent à notre sens un réel danger pour la santé, car le contrôle réalisé sur 4 échantillons d'huiles recueillis a démontré qu'ils ont subi au moins 21 fritures.

Les essais *in vivo* sur des souris ont prouvé que l'ingestion d'huiles thermo oxydées serait à l'origine d'un retard de croissance, alors que le foie a connu une hypertrophie, aussi les coupes histologiques ont confirmé des altérations cytologiques.

Les produits des lipides peroxydés ne sont pas sans conséquences sur les lipides sanguins, au contraire, ce type d'aliment fait monter le taux du cholestérol et du LDL-Cholestérol (mauvais cholestérol) alors que le taux de triglycérides et de HDL- Cholestérol (bon cholestérol) diminue.

Les produits d'altération des huiles thermo oxydées sont aussi générateurs de stress oxydatif, puisque nous avons noté une évolution du taux d'antioxydants chez les souris traitées par rapport aux témoins. Le taux des GSH a augmenté, alors que le taux de catalase a diminué par rapport au témoin, ce qui témoigne d'une activité antioxydante.

Enfin, l'énergie propre est amie de la nature et de l'économie. Nous avons obtenu un bon produit de valorisation qui réglerait le problème de pollution posé par les déchets lipidiques.

En perspective, pour ce qui est de la dégradation oxydative, différents moyens peuvent être utilisés afin de la limiter ou de la retarder tels que l'usage des antioxydants.

Il serait intéressant de rajouter des antioxydants naturels ou synthétiques et de refaire les mêmes examens pour évaluer leur efficacité.

Pour la suite du sujet d'autres examens pourrait venir compléter le diagnostic tel que des paramètres biochimiques sanguins (glucose, créatinine...), dosage des transaminases (TGO, TGP). Comme on pourrait rechercher d'éventuelles altérations en examinant l'histologie d'autres organes (estomac, reins...).

L'analyse chromatographique serait aussi d'une grande utilité pour déterminer la composition exacte de l'huile thermo oxydée. Mais, la solution à prendre reste toujours l'amélioration du mode d'alimentation, le consommateur devrait être conscient des risques sanitaires de ce type d'aliments. De même, l'utilisation domestique des fritures devrait être réalisée dans des bonnes conditions en respectant la température et les fréquences de friture.

*Références  
bibliographiques*

## Références Bibliographiques

---

- Agarwal, A. K. (2008).** Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. *Progress in Energy and Combustion Science*, 33: 233–271.
- Akerboom, T. P., Sies H. (1981).** Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods in Enzymology*, 77: 373-382.
- Alfred, T. (2000)** .*Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 6<sup>th</sup> Edition, Fats and Fatty Oils*, pp:10-13.
- Almeck, K., Aboubakar, D., Tchegang, C., Parmentier, M. (2008).** Evolution de quelques paramètres de qualité physico-chimique de l'huile de la pulpe des fruits de *Canarium schweinfurthii* Engl au cours du stockage. *International Journal Biology Chemistry Science*, 2: 249-257.
- Angelos , M.G., Kutala ,V.K., Torres ,C.A., HE ,G., Stoner, J.D., Mohammed, M., Kuppusamy, P. (2005).** Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radiacal generation. *American Journal Physiology Health Circulatory Physiology*, 290: 341-347.
- Aruna, K., Rukkumani, R., Sureshvarma, P. (2004).** Role of an aminothiazole derivative on ethonal and thermally oxidized sunflower oil - induced toxicity. *Polish Journal of Pharmacology*,56: 233-40.
- Balat, M., Balat, H. (2008).** A critical review of bio-diesel as a vehicular fuel. *Energy Conversion and Management*, 49: 2727–2741.
- Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P. (2004).** La science alimentaire de A à Z. *Food Chemistry*, 45: 1121 -1124.
- Bennion, T., Marion,O. (1980).**The Science of Food . *Wiley New York*, pp :22-28.
- Billek, G. (2000).** Health aspects of thermoxidized oils and fats. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102: 587-593.
- Boatella riera, J., Codony, R. (2000).** Recycled Cooking Oils: Assessment of risks for public health. *Scientific and Technological Options Assessment, Luxembourg*, 80 p.
- Bonanome, A., Grundy, S.M. (1988).** Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *The New England Journal of Medicine*, 318: 1244-1248.
- Bourre, J.M. (1993).** Besoin en acides gras essential, nutrition pratique. *Technique et Documentation, Lavoisier, Paris*.
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye bindin. *Analytical biochemistry*, 72 : 248-254.
- Buldak, L., Labuzek, K., Buldak, R.J., Kozlowski, M., Machnik, G., Liber, S., Suchy, D., Dulawa-Buldak, A., Okopien, B. (2014).** Metformin affects macrophages' phenotype,

## Références Bibliographiques

---

- improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase, and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages. *Pharmacological Reports*, 66:418-429.
- Cahuzac-Picaud, M. (2010).** Les huiles végétales, intérêt diététique et gastronomique. *Phytothérapie*, 8: 113–117.
- Campaniello, D., Bevelacqua, A., D'Amato, D., Rosario Corbo, M., Alteiri, C., Singaglia, M. (2005).** Microbial characterization of table olives processed according styles. *Grasas Y Aceites*, 4:289-294
- Canakci, M., Ozsezena, A. N., Turkcan, A. (2009).** Combustion analysis of preheated crude sunflower oil in an IDI diesel engine. *Biomass and Bioenergy*, 33: 760 -767
- Cantarelli, C. (1996).** Les corps gras. *Inal Oleic*, 47:41-54.
- Chacko, C., Rajamohan, T. (2011).** Repeatedly heated cooking oils alter platelet functions in cholesterol fed sprague-dawley rats. *International Journal of Biological and Medical Research*, 2: 991 - 997
- Chan, A. C. (1993).** Partners in defense, vitamin E and vitamin C. *Canadian Journal Physiology and Pharmacology*, 71: 725-731.
- Chatzilazarou, A., Gortzi, O., Lalas, S., Zoidis, E., Tsaknis, J. (2005).** Physicochemical changes of olive oil and selected vegetable oils during frying. *Journal of Food Lipids*, 13 :27-35.
- Chavan, V.U., Melikeri, R.R. (2013).** Study of protein carbonyl group, nitric oxide and MDA (index of lipid peroxidation) as biomarkers of oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *National Journal of Community Medicine*, 4: 294-299.
- Choe, E., Min, D.B. (2007).** Chemistry of deep fat frying oils. *Journal of Food Science*, 2: 77-78.
- Chung, J., Lee, J., Choe, E. (2004).** Oxidative stability of soybean and sesame oil mixture during frying of flour dough. *Journal of Food Science*, 69:574-578.
- Cillard, J., Cillard, P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations *Oil seeds Fats and Lipids*, 13 : 24- 29.
- Claiborne, A. (1985).** Catalase activity .Handbook of methods for oxygen radical research. *Greenwald, Boca Raton*, pp :283-284.
- Clarke, R., Frost, C., Collins, R., Appleby, P., Peto, R. (1997).** Dietary lipids and blood cholesterol: quantitative meta-analysis of metabolic ward studies. *British Medical Journal*, 314: 112-117.
- Colette, C., Monnier, L. (2011).** Acides gras: classification, fonction et équilibre entre les différentes familles. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 5 :237-243.

## Références Bibliographiques

---

- Combe, N., Rossignol-Casterab, A. (2010).** Vegetable oils and frying. *Cahiers de Nutrition et Diététique*, 45: 44-51
- Côté, I. (2013).** Le rôle de la dysrégulation du métabolisme du cholestérol par le retrait des estrogènes sur la stéatose hépatique. *Thèse Doctorat, Université de Montréal*. 176p.
- Cuvelier, M.E., Maillard, M.N. (2012).** Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Oil seeds Fats and Lipids*, 19:125- 132.
- Darmaun, D., Smith, S.D., Sweeten, S., Sager, B.K, Welch, S., Mauras, N. (2005).** Evidence for accelerated rates of glutathione utilization and glutathione depletion in adolescents with poorly controlled type 1 diabetes. *Diabetes*, 54: 190-196.
- Delachalerie, S., Biourge, S., Chéné, C., Sindinc, M. (2003).** HACCP organoleptique : guide pratique. *Les Presses Agronomique de Gembloux*, 176 p.
- Delatter, J., Beaudeau, J .L., Bonnefont, R. (2005).** Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques. *Technique et Documentation, Lavoisier Paris*, 587p.
- Denis, O. (2003).** Recherche d'adultération dans les huiles végétales : application à la qualité des huiles vierges et notamment de l'huile d'olive Oléagineux, Corps Gras, Lipides. *Oil seeds Fats and Lipids*, 10 : 315-320.
- Dias, J. M., Alvim-Ferraz, M. C.M., Almeida M. F. (2008).** Comparison of the performance of different homogeneous alkali catalysts during transesterification of waste and virgin oils and evaluation of biodiesel quality. *Fuel*, 87: 3572-3578.
- Dubois, V., Breton, S., Linder, M. (2008).** Proposition de classement des sources végétales d'acides gras en fonction de leur profil nutritionnel. *Oléagineux Corps Gras et Lipides*, 15:56-75.
- Durand, G., Beaudeau, J.L. (2011).** Biochimie médicale : Marqueurs actuels et perspectives. *Technique et Documentation, Lavoisier Paris*, 607 p.
- El-bialy, B.S., Thabet, S.N., Abou –Elkhair, R.M. (2015).** Potential hazards of feeding albino rats on diet containing repeatedly boiled cooking oil: Clinico-pathological and toxicological studies. *Journal of Advanced Research*, 3: 114-147.
- Ellis, N., Guan, F., Chen, T., Poon, C. (2008).** Monitoring biodiesel production (transesterification) using in situ viscometer. *Chemical Engineering Journal*, 138: 200-206.
- Ellman, G.L. (1959).** Tissue sulphhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82: 70-77.
- Emilie, F. (2005).** Connaissance des aliments, bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. *Technique et Documentation, Lavoisier, Paris*, 314 p.

- Evrard, J., Pagès-Xatart-Pares, X., Argenson, C., Morin, O. (2007).** Procédé d'obtention et compositions nutritionnelles des huiles de tournesol, olive et colza. *Cahier Nutrition. Diététique*, 42:13-23.
- Faracif, M., Didion, S.P. (2004).** Vascular protection superoxide dismutase isoforms in the vessel wall. *Thrombosis and Vascular Biology*, 24: 1161 -1168.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité Chimique*, 4: 108 - 115.
- Frega, N., Mozzon, M., Lecker, G. (1999).** Effects of free fatty acids on oxidative stability of vegetable oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76:325-329.
- Fukuda, H., Kondoand, A., Noda, H. (2001).** Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 92: 405 – 416.
- Gornay, J. (2006)** .Transformation par voie thermique de triglycérides et d'acides gras application à la valorisation chimique des déchets lipidiques. *Thèse de doctorat*, E.N.S.I.C. Nancy.
- Graille, G. (2003).** Lipides et corps gras alimentaires. *Technique et Documentation, Lavoisier, Paris*, 187 p.
- Grundy, S.M., Denke, M.A. (1990).** Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *Journal of Lipid Research*, 31: 1149-1172.
- Guay, V., Cote, P.E. (2005).** Les conséquences du chauffage sur l'huile. *Expo-Journal, Rapport Interne, Programme des Sciences de la Nature. Cégep de Saint-Félicien*
- Guiraud, J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. *DUNOD*, 652p.
- Haas, M. J. (2005).** Improving the economics of biodiesel production through the use of low value lipids as feedstocks: vegetable oil soapstock. *Fuel Processing Technology*, 86:1087-1096.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J.P. (2007).** Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62: 628-638.
- Halvorsen, B.L., Blomhoff, R. (2011).** Determination of lipid oxidation products in vegetable oils and marine omega-3 supplements. *Journal of Food and Nutrition Research*, 55 : 1-10
- Hayes, J.D., McLellan, L.I. (1990).** Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-coordinately regulated defense against oxidative stress. *Free Radical Research*, 31: 273-300.
- Houlot, R. (1984).** Techniques d'histologie et de cytologie. *Maloine, Paris*.
- Hunter, J.E. (2001).** Studies on effects of dietary fatty acids as related to their position on triglycerides. *Lipids*, 36: 655-668.



## Références Bibliographiques

---

- Hunter, K.A., Crosbie, L.C., Weir, A., Miller, G.J., Dutta-roy, A.K. (2000).** A residential study comparing the effects of diets rich in stearic acid, oleic acid, and linoleic acid on fasting blood lipids, hemostatic variables and platelets in young healthy men. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 11: 408-416.
- Iqbal, J., Hussain, M.M. (2009).** Intestinal lipid absorption. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, 296:1183-1194.
- Isong, E.U., Ifon, E.T., Eka, O.U. Essien, E.U., Umoh, I.B. (1992).** Effect of intermittently thermoxidized palm oil on normal and malnourished rats. *Tropical Journal of Applied Sciences*, 2: 118-121.
- Issariyakul, T., Kulkarni, M. G., Dalai, A. K., Bakhshi, N. N. (2007).** Production of biodiesel from waste fryer grease using mixed methanol/ethanol system. *Fuel Processing Technology*, 88: 429-436.
- Joffin, C.H., Joffin, J.N.(2003).** Microbiologie alimentaire. *CANOPE, Bordeaux*, 122p.
- Kariya, C., Leitner, H., Min, E., Heeckeren, C., Heeckeren, A., Day, B. J. (2007).** A role for CFTR in the elevation of glutathione levels in the lung by oral glutathione administration. *American Journal of Physiology-lung Cellular and Molecular Physiology*, 292: 1590-1597.
- Khosla, P., Sundram, K. (1996).** Effects of dietary fatty acid composition on plasma cholesterol. *Progress in Lipid Research*, 35: 93-132.
- Kim, I.H., Kim, C.J., Kim, D.H. (1999).** Physicochemical properties of methyl linoleate oxidized at various temperatures. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 31:600-605.
- Kirk, J.R. (1984).** Biological availability of nutrients in processed foods. *Journal of Chemical Education*. 61: 364-367.
- Kiwjaroun ,C., Tubtimdee ,C., Piumsomboon ,P.(2009).** LCA studies comparing biodiesel synthesized by conventional and supercritical methanol methods. *Journal of Cleaner Production*, 17:143-153.
- Kondratowicz, E.P., Ostasz, L. (2000).** Quality changes in edible oils at high temperature kinetic analysis. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102: 276 - 281.
- Kris-etherton, P.M., Hecker, K.D., Binkoski, A.E. (2004).** Polyunsaturated fatty acids and cardiovascular health. *Nutrition Reviews*, 62: 414-426.
- Krishnamurthy, R.G. (1982).** Cooking oils, salad oils and salad dressings. *Bailey's Industrial Oils and Fat Products*, 24 :175-205 .
- Kristott, J. (2003).** High-oleic oils - how good are they for frying? *Lipid Technology*,3:29-32.

## Références Bibliographiques

---

- Kubow, S. (1996).** The influence of positional distribution of fatty acids in native, interesterified and structure-specific lipids on lipoprotein metabolism and atherogenesis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7: 530-541.
- Kumar, R. V., Ravikumar, V., Shivashaugari, K. S., Kamaraj S., Dvaki ,T.(2006).** Chemopreventive role of lycopene and D- arginine in B(a)P induced lung cancer with reference to lipid peroxidation, aAntioxydant system and tumor marker enzymes. *International Journal of Cancer Research*, 2: 224-233.
- Lam, M. K., Lee, K. T., Mohamed, A. (2010).** Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel. *Biotechnology Advances*, 28: 500-518.
- Lecerf,J.M., Fressin,C. (1995).** L'intérêt nutritionnel du soja. *Nutr. Clin. Mdtabol*,9: 137-144
- Leverve ,X., Cosnes ,J., Erny, P., Hasselmann M.( 2001)** Traité de nutrition artificielle de l'adulte. *Springer, France*, 957 p
- Lorgeril, M., Salen, P., Martin, J.L., Monjaud, I., Delaye, J., Mamelle, N.(1999).** Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction. *Circulation*, 99 : 779-785.
- Lunec, J . (1992).** Oxygen radicals. Their measurement and role in major disease. *Journal of the International Federation of Clinical Chemistry*, 14: 58-63.
- M'Baye, B.K.,Diop,A.,Lo,B.,Bassen,E.(2012).**Etude de l'effet de la température sur les huiles alimentaires en Mauritanie: Dosage des indices de peroxide. *La Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, 19 : 26-33.
- Maher, K.D., Bressler, D.C. (2007).** Pyrolysis of triglyceride materials for the production of renewable fuels and chemicals. *Bioresource and Technology*, 98: 2351–2368.
- Márquez Ruiz,G., Martín ,M.P., Jorge, N., Ruiz Méndez, M.V ., Dobarganes, M.C. (1999).** Influence of Used Frying Oil Quality and Natural Tocopherol Content on Oxidative Stability of Fried Potatoes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76: 421-425
- Marquez-Ruiz, G., Dobarganes, M. C. (2007),** Nutritional and Physiological Effects of Used Frying Oils and Fats. *Chemistry, Nutrition, and Practical Applications* ,2:173-203.
- Martín, F. L., Ames, J. M. (2001).** Formation of Strecker aldehydes and pyrazines in a fried potato model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 3885-3892.
- McClements, D. J., Decker, E., (2008).**Influence of Lipid Physical State on the in Vitro Digestibility of Emulsified lipids.*American Chemical Society*, 56:3791-3797.
- Morelle-Lauzanne,E. (2006).** L'alimentation, le stress oxydatif : sources de lipoperoxydation, comment s'en protéger. *Phytothérapie*, 5:234-240.

- Morin, O., Pages-Xatart-Pares ,X.(2012).** Huiles et corps gras vegetaux : ressources fonctionnelles et interet nutritionnel. *Oil seeds Fats and Lipids*, 19 : 63-75.
- Lecoq, R.(1965).**Manuel d'analyses alimentaires et d'expertises usuelles. *Doin,Paris*, pp: 938- 1964
- Naz, S., Siddiqi, R., Sheikh, H., Sayeed, S.A. (2005).** Deterioration of olive, corn, and soybean oils due to air, light, heat, and deep-f rying. *Food Research International*, 38:127-134.
- Ndjuouenkeu , R., Ngassoum, M.(2002).** Etude de la valeur en friture de quelques huiles végétales. *Journal of Food Engineering*,52 : 121-125.
- Nawar,W.W.(1969.)** Thermal degradation of lipids.Areview. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 17:18–21.
- Nawar, W.W. (1985).** Chemistry of thermal oxidation. *Flavor chemistry of fats and oils*. 39-60.
- Noureddini, H., Zhu, D.( 1997).** Kinetics of transesterification of soybean oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*; 74: 1457-1463.
- Okogeri, O., Tasioula–Margari ,M. (2002).**Changes occuring in phenolic compounds and tocopherol of virgin olive oil during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 1077 - 1080.
- Oladiji, A.T., Shoremekun, K.L., Yakubu, M.T. (2009).** Physicochemical Properties of the Oil from the Fruit of Blighiasapida and Toxicological Evaluation of the Oil-Based Diet in WistarRats. *Journal of Medicinal Food*, 12: 1127-1135.
- Oyewole, O.I., Olayinka, E.T. (2007).** Protective role of onion and garlic on physicochemical alterations and toxicity of heated soybean oil. *African Journal of Biotechnology*, 6: 2158-2161.
- Patrick, L., Dominique, B., Chantal, B., Bijan, G., Gerbaise, L., Florence P., Janelise, S. (2008).** Biologie et pathologie du cœur et des vaisseaux. *John Libbey Eurotext, France*, 677p.
- Paul ,S., Mittal ,G.S.(1997).** Regulating the use of degraded oil/fat in deep-fat/oil food frying. *Food Science and Nutrition*, 37:635-662.
- Ranganathan, S. V., Narasimhan, S. L., Muthukumar, K. (2008).** An overview of enzymatic production of biodiesel. *Bioresource Technology*, 99:3975-3981.
- Richardson, T., Finley, J. W. (1985).** Chemical changes in food during processing. Westport, Connecticut. *Van Nostrand Company, New York*, 503p.

- Robertson, R., Zhou ,H., Zhang ,T., Harmon ,J.S. (2007).** Chronic oxidative stress as a mechanism for glucose toxicity of the beta cell in type 2 diabetes. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 48:139-146.
- Romero,A., Cuesta,C.,Sánchez-Muniz,F.J.(1998).** Effect of oil replenishment during deep-fat frying of frozen foods in sunflower oil and high-oleic acid sunflower. *American Oil Chemists' Society*, 75:161-167.
- Rossignol-Castera, A., Coustille, J., Mazette, S., Bouvarel,I .(2005).** Etude de la composition et de la qualité des huiles acides Industrielle en vue d'une connaissance De leur valeur nutritionnelle. *Sixièmes Journées de la Recherche Avicole, St Malo, 30 et 31 mars 2005*.
- Saile,R., Taki, H.(2007).** Cholestérol, lipoprotéines et athérosclérose : de la biochimie à la physiopathologie. *Les technologies de Laboratoire*, 6:5-11.
- Sary, A. (2011).** Contribution à l'étude de la valorisation énergétique des résidus gras et de leur combustion dans les moteurs à combustion interne. *Thèse de doctorat, Ecole polytechnique de l'Université de Nantes*.
- Schiller, J., Suss, R., Petkovic, M., Hanke, G., Vogel, A., Arnold, K. (2002).** Effects of thermal stressing on saturated vegetable oils and isolated triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 496-505.
- Sébedio, J.H., Chardigny, J.M.(1996).** Physiological effects of trans and cyclic fatty acids en deep frying. *Chemistry Nutrition and Practical Applications*,10:1541-1543.
- Sebidio, J.L. (2007).** Acid gras trans : Nature, origine et impact sur la santé. *Cahier de, Nutrition et du Diététique*, 42: 239-243.
- Sharma ,Y.C., Singh, B.(2008).** Development of biodiesel from Karanja, a tree found in rural India. *Fuel*,87: 1740-1742.
- Shastry, C.S., Narendrakumar ,P.A., Himanshu, J., Aswathanarayana, B. J. (2011).** *Nitte University Journal of Health Science*,1: 10-15.
- Sies, H. (1991).**Oxidative stress: from basic research to clinical application. *American Journal of Medicine*, 91: 31-38.
- Sohet, F.M .,Neyrinck, A.M., Druart, C ., de Backer, F.C ., Pachikian, B.D., Dewulf, E.M., Bindels, L.B., Cani, P.D Delzenne N.M.(2010).** Impact du traitement thermique des graisses sur le métabolisme hépatique des lipides : importance de la peroxydation lipidique. *Masson*, 36 :234-237

- Solis-Fuentes, J.A., Duran-de-Bazua, M.C. (2004).** Mango seed uses: thermal behaviour of mango seed almond fat and its mixtures with cocoa butter. *Bioresource Technology*, 92:71-78.
- Sorge, O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies*, 327: 649-662.
- Srivastava, S., Singh, M., George, J., Bhui, K., Shukla, Y. (2010).** Genotoxic and carcinogenic risks associated with the consumption of repeatedly boiled sunflower oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 11179-11186.
- Sunthitikawinsakul, A., Sangatith, N. (2012).** Study on the quantitative fatty acids correlation of fried vegetable oil for biodiesel with heating value. *Procedia Engineering*, 32: 219 – 224.
- Totani, N., Ojiri, Y. (2007).** Mild ingestion of used frying oil damages hepatic and renal cells in Wistar rats. *Journal of Oleo Science*, 56: 261-267.
- Tortuero, F.(1993).**Influence of implantation of *Lactobacillus acidophilus* in chicks on the growth,feed conversion,mal absorption of fats syndrome and intestinal flora. *Poultry Science*,52 :197-203.
- Toussaint, J.F., Jacob, M.P., Lagrost, L., Chapman, J. (2003).** L'athérosclérose: physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques. *Masson*, 676 p.
- Tremolieres, J., Vaisy Genser ,M., Eskin, N.A.M. (1984) .**Quality control in the use of deep frying oils. *Journal of the American Chemical Society*, 61:1102-1108.
- Varela, L., Sanchez, M.F.J., Cuesta, C.(1995).** Decreased food efficiency ratio, growth retardation and change in liver fatty acid composition in rat consuming thermally oxidized and polymerized sunflower oil used for frying. *Chemical Toxicology*,33:181-189.
- Wolff, J. P. (1991).** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. analyse des constituants alimentaires. *Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris*, 476p.
- Young, D.S. (2001).** Effects of drugs on clinical laboratory tests. *American Association for Clinical Chemistry*,1 : 2200 .
- Yu, B.P. (1994).** Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*, 74: 62- 139
- Zhijhua, J., Elia.,S.J., Ying, M., Linda, J., Jinming, S., Siqu, Z., Shuju, L., Ruiying, W., Tianzhu, Z., Ganglin, Y., Junqiu, L., Jiacong, S., Guimin, L.( 2004).** Expression of selenocysteine-containing glutathione S-transferase in *Escherichia coli*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 321: 94-101.

## *Références Bibliographiques*

---

**Zhou,W., Konar,S.K., Boocock, D.G.B. (2003).** Ethyl ester from single phase and alkaline – earth metals compounds as catalysts for the methanolysis of single -phase base - catalyzed ethanolysis of vegetable oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80: 367-371.

### Textes réglementaires

- **AFNOR (Association Française de Normalisation) (1988)**. Corps gras - grains oléagineux – produits dérivés 4<sup>ème</sup> édition, Paris.
- **AOCS (2003)**. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemist's Society. 4<sup>th</sup> ed. AOCS Press, Champaign, Illinois.
- **C.O.I (2001)**. Conseil oléicole international : règles de concours international d'huile d'olive vierge. C.O.I /T.20/ Doc-N°11.
- **C.A.C.Q (Centre Algérienne de contrôle de Qualité) (2002)**. Méthodes d'analyse : huiles et graisse : Détermination de la densité relative à température 20°C, N° 11, 95,02.
- **Codex Alimentarius (1993)**. Annexe V, avant-projet de norme pour les huiles végétales portant un nom scientifique. compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité en chimie*,
- **EN (Normes européenne)14112 (2006)** Overview and Recommendations on Biofuel Standards for Transport in the EU
- I.F.P. Rapport d'activité, 2004, [www.ifp.fr](http://www.ifp.fr)
- **Institut Français des Huiles Végétales Pures (2005)**. Les huiles végétales.
- **I.S.O. 3960 (Organisation Internationale de Normalisation) (2007)**. Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice de peroxyde - Détermination avec point d'arrêt iodométrique.
- **I.S.O. 663 (Organisation Internationale de Normalisation) (2007)**. Corps gras d'origines animale et végétale -- Détermination de la teneur en impuretés insolubles
- 
- **I.S.O. 934 (Organisation Internationale de Normalisation) (2001)**. Corps gras d'origine animale et végétale détermination de la teneur en eau.
- **I.S.O. 4832/2006 Microbiologie des aliments** : Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes-Méthode par comptage des colonies.
- **I.S.O.13485 (2003)** exigences des systèmes de management de la qualité (SMQ) pour l'industrie des dispositifs médicaux
- **I.S.O.9001 (2008)** exigences des systèmes de management de la qualité (SMQ) pour l'industrie des dispositifs médicaux

## *Références Bibliographiques*

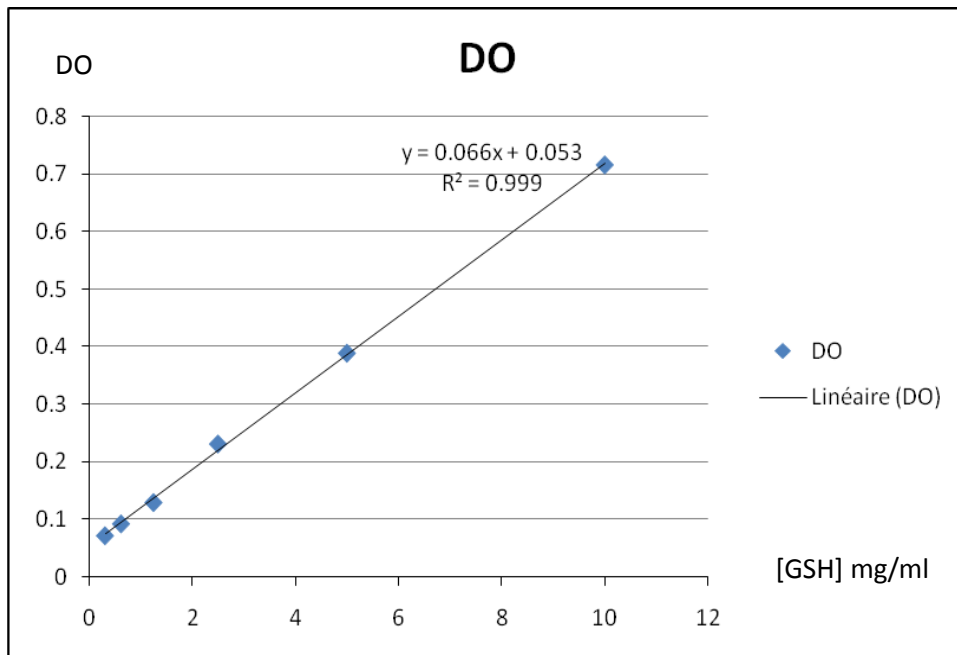
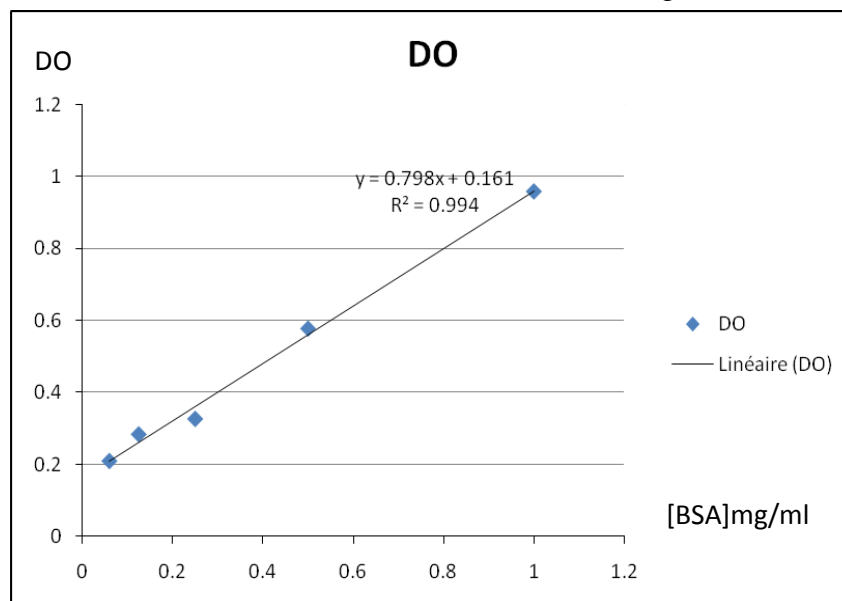
---

- **I.S.O. 660 (1996)** .Corps gras d'origines animale et végétale -Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité.
- **NFV08-060/2009. Microbiologie des aliments.** Dénombrement des coliformes thermo tolérants par comptage des colonies obtenues à 44°C.



## *Annexes*

## ANNEXE I : Courbes d'étalonnages

**Figure1** : Courbe étalon tracée en fonction de GSH de glutathion (GSH)**Figure 2:** La courbe d'étalonnage de la BSA (Serum Bovin Albumin)

### ANNEXE II : Résultats de l'étude *in-vivo*

**Tableau1** : Effet des huiles thermo oxydées sur le poids des organes.

Organes	Lot T	Lot 1	Lot2
<b>Poids du foie(g)</b>	1.83±0.24	2.33±0.30	2.54 ±0.35
<b>Poids du duodénum(g)</b>	0.1± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1± 0.0
<b>Poids d'estomac vide(g)</b>	0.45 ±0.05	0.51 ±0.07	0.51±0.09

**Tableau2** : Le gain de poids des animaux des trois lots au cours de la période d'apport des huiles thermo oxydées.

Lots	Poids initial (g)	Poids final (g)	Gains de poids(g)
<b>Lot T</b>	41.30 ± 0.973	44.07 ± 2.569	2.77 ± 1.596
<b>Lot 1</b>	38.20 ± 3.180	40.12 ± 4.920	1.92 ± 1.740
<b>Lot 2</b>	40.96 ± 1.504	41.05±1.825	0.09 ± 0.321

**Tableau 3** : Valeurs des lipides sanguins

		Période(j)	15	30	45	Moyenne
Paramètre (g/l)						
TG	Lot T		0.63	1.41	1.72	1.25±0.56
	Lot1		1.19	0.73	0.73	0.88±0.26
	Lot 2		1.67	1.84	0.86	2.91±0.52
Cholestérol	Lot T		1.46	0.94	0.88	1.09±0.32
	Lot 1		1.21	1.17	1.12	1.66±0.06
	Lot 2		1.25	1.12	1.18	1.18±0.39
LDL	Lot T		0.75	0.25	0.04	0.37±0.39
	Lot 1		0.58	0.55	0.53	0.59±0.05
	Lot2		0.47	0.26	0.54	0.42±0.15
HDL	Lot T		0.58	0.40	0.54	0.44±0.124
	Lot 1		0.39	0.47	0.44	0.43±0.040
	Lot 2		0.45	0.49	0.35	0.43±0.072

**Encadré par :**  
P<sup>r</sup> . Tayeb IDOUI

**Présenté par :**  
M<sup>me</sup> .Hanane ROULA

**Soutenue le:** 21/ 03/2017

### Résumé

Cette étude a été menée sur l'huile végétale « *Afia* ». Le traitement thermique par la friture a provoqué des altérations oxydatives marquées par le changement des propriétés physicochimiques. L'étude *in vivo* a clairement montré les conséquences de ces altérations sur la santé. Un régime à base d'huile thermo oxydée affecte la croissance pondérale, la microflore digestive et provoque une hypertrophie du foie, ainsi que des altérations cytologique. Les lipides sanguins (LDL, HDL), le cholestérol et les triglycérides ont connu une évolution qui indique des risques cardiovasculaires probables.

Le dosage des enzymes antioxydant GSH et Catalase a confirmé un état de stress oxydatif chez les souris des lots traités à l'huile thermo oxydée.

Une valorisation des huiles usagées en biodiesel serait une bonne initiative pour limiter la pollution et protéger notre environnement, en produisant une énergie « propre ».

**Mots Clés :** Huile végétale, thermo oxydation, toxicité, environnement

### Abstract

This study was carried out on vegetable oil "*Afia*". Thermal treatment of frying caused oxidative alterations marked by the change in physicochemical properties. The *in vivo* study showed clearly the consequences of these alterations on health. A thermo-oxidized oil diet affects weight gain, digestive microflora and causes liver hypertrophy as well as cytological alterations. Blood lipids (LDL, HDL), cholesterol and triglycerides have showed an evolution that indicates a probable increased cardiovascular risk.

The determination of the antioxidant enzymes GSH and Catalase confirmed an oxidative stress state in the mice treated with thermooxidized oil.

A recovery of waste oils into biodiesel would be a good initiative to limit pollution and protect our environment by producing 'clean' energy.

**Key words:** vegetable oil, thermo oxidation, toxicity, environment

### ملخص

أجريت هذه الدراسة على الزيت النباتي "عافية". المعالجة الحرارية عن طريق القلي أدت الى تأكسد الزيت مما تسبب في تغيير الخصائص الفيزيوكيميائية. أظهرت الدراسة المجرات على حيوان التجارب بوضوح العواقب الصحية لهذه التفاعلات. فاستعمال الزيت المؤكسد حراريا في النظام الغذائي للحيوانات يؤثر على الوزن، نمو بكتيريا الجهاز الهضمي ويسبب تضخم الكبد وكذلك اتلاف خلاياه. وقد أظهرت نسبة الدهون في الدم (LDL، HDL) الكولسترول والجليسيريدات الثلاثية تطورا واضحا مما قد يدل على وجود مخاطر على القلب.

تحديد تركيز إنزيمات المضادة للأكسدة GSH و Catalase أكد وجود إجهاد تأكسدي عند الفئران التي عولجت بزيت مؤكسدة حراريا

تثمين الزيوت المستعملة في وقود الديزل الحيوي قد يكون مبادرة جيدة للحد من التلوث وحماية بيئتنا من خلال إنتاج الطاقة "النظيفة".

**الكلمات المفتاح:** الزيوت النباتية، الأكسدة الحرارية، التسمم، البيئة.