

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENE  
(U.S.T.H.B.) ALGER**

## **Mémoire**

Présenté pour l'obtention du Diplôme de:

**MAGISTER**

**EN : CHIMIE**

Spécialité : **CHIMIE ORGANIQUE APPLIQUEE**

Par

**TIR RACHID**

Sujet :

**EXTRACTION ET ANALYSE DE L'HUILE DE GRAINE DE SESAME**

Soutenu publiquement le : 4 / 07 / 2005, Devant le Jury composé de :

Mr. B.Y. MEKLATI	Professeur (U.S.T.H.B.)	Président
Mr. A.Y. BADJAH HADJ AHMED	Professeur (U.S.T.H.B.)	Directeur de thèse
Melle A. TAZEROUTI	Professeur (U.S.T.H.B.)	Examineur
Mr. A. AMMOUCHE	Professeur (I.N.A.)	Examineur
Mr. E.H. BENYOUSSEF	Maître de Conférences (E.N.P.)	Examineur

# *Remerciements*

Le présent travail a été effectué au Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimique (CRAPC) et au Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle (LAOF) de la Faculté de Chimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB). Ma plus profonde reconnaissance et toute ma gratitude vont à Monsieur le Professeur A.Y. BADJAH-HADJ-AHMED, Directeur du Mémoire, pour son aide et ses précieux conseils.

Je remercie Monsieur le Professeur A.BAALIOUAMER, Directeur du Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle, pour l'accueil bienveillant qu'il m'a réservé dans son laboratoire.

Je tiens à remercier particulièrement Monsieur le Professeur B.Y. MEKLATI, Directeur du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimique, de m'avoir d'abord autorisé à réaliser ce travail, pour son soutien constant et ensuite pour l'honneur qu'il a voulu me faire en acceptant de présider le Jury de ce Mémoire.

J'adresse mes vifs remerciements à Messieurs A. AMMOUCHE, Professeur à l'Institut National Agronomique d'El Harrach, et E.H. BENYOUSSEF, Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, pour avoir accepté d'examiner ce travail de façon plus approfondie.

Que Madame A.TAZEROUTI, Professeur à l'U.S.T.H.B., trouve ici l'expression de ma reconnaissance pour avoir accepté d'examiner ce mémoire et de participer au jury.

Je ne saurais oublier toutes les personnes qui m'ont apporté une aide morale et technique durant ce travail, en particulier mes collègues du Laboratoire LAOF et du Centre CRAPC et en particulier M<sup>elle</sup> A. KEDDAD, M. K. ASSAMI et M. R. LADJI.

Aussi, je ne saurais remercier assez mes amis Nadir, Rachid et Kamel que je trouve toujours à mes côtés quand besoin est.

Enfin, mes pensées se tournent vers Nabila, ma femme. L'aide, la confiance et la compréhension dont elle a fait preuve tout au long de ces trois années ont été pour moi un soutien indispensable.

	<b>Pages</b>
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I. Généralité</b>	<b>3</b>
<b>I.1 Généralité sur les corps gras</b>	<b>3</b>
<b>I.1.1. Provenance</b>	<b>3</b>
<b>I.1.2. Rôle et importance des corps gras</b>	<b>3</b>
<b>I.1.3. Technologie de production des corps gras</b>	<b>5</b>
<b>I.2. Aperçu général sur la composition des corps gras</b>	<b>7</b>
<b>I.2.1. Composition et nature chimique</b>	<b>7</b>
<b>I.3. Propriétés physico-chimiques des corps gras</b>	<b>21</b>
<b>I.4. Etude de l'huile de graine de sésame</b>	<b>22</b>
<b>I.4.1. Graine de sésame</b>	<b>22</b>
<b>I.4.1.1. Botanique</b>	<b>22</b>
<b>I.4.1.2. Production de la graine de sésame</b>	<b>23</b>
<b>I.4.2. L'huile de sésame</b>	<b>23</b>
<b>I.4.2.1. Constantes physico-chimiques de l'huile de graine de sésame</b>	<b>24</b>
<b>I.4.2.2. Composition en acides gras</b>	<b>24</b>
<b>I.4.2.3. Composition de l'insaponifiable</b>	<b>25</b>
<b>I.4.2.4. Les lignanes de sésame</b>	<b>25</b>
<b>I.4.3. Utilisations pharmaceutiques, alimentaires, industrielles et nutritionnelles du Sésame</b>	<b>28</b>
<b>Conclusion</b>	<b>31</b>
<b>CHAPITRE II. Extraction de l'huile de graine de sésamum indicum.</b>	
<b>Introduction</b>	<b>32</b>
<b>II. Extraction.</b>	<b>32</b>
<b>II.1. Echantillonnage</b>	<b>32</b>
<b>II.1.1. Préparation de l'échantillon</b>	<b>32</b>
<b>II.2. Méthodes d'extractions utilisées</b>	<b>33</b>
<b>II.2.1. A pression</b>	<b>33</b>
<b>II.2.2. Avec solvant</b>	<b>33</b>

<b>II.2.3.</b>	Assisté par ultrason	34
<b>II.3.</b>	Résultats et discussions	35
<b>Conclusion</b>		<b>37</b>

### **CHAPITRE III. Caractéristiques chimiques**

<b>Introduction</b>		38
<b>III.1.</b>	Indice d'acide	38
<b>III.2.</b>	Indice de peroxyde	38
<b>III.3.</b>	Indice de saponification	39
<b>III.3.</b>	Indice d'iode	40
<b>III.5.</b>	Résultats et discussions	40
<b>Conclusion</b>		<b>42</b>

### **CHAPITRE IV. Fractionnement de l'huile de sésame et de l'insaponifiable**

<b>Introduction</b>		<b>43</b>
<b>IV.1.1.</b>	Fractionnement de l'huile de sésame	43
<b>IV.1.1.1</b>	Extraction des phosphatides	43
<b>IV.1.1.2.</b>	Extraction des cires	44
<b>IV.1.1.3.</b>	Extraction de l'insaponifiable	44
<b>IV.1.1.4.</b>	Extraction des acides gras	46
<b>IV.1.1.5.</b>	Résultats et discussion	46
<b>IV.1.2.</b>	Fractionnement de l'insaponifiable par chromatographie colonne en gel d'alumine	47
<b>IV.1.2.4.</b>	Résultats et discussion	49
<b>Conclusion</b>		<b>50</b>

### **CHAPITRE V. Analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile de graine de sésame et de ses fractions (*cires, insaponifiables, hydrocarbures, stérols, tocophérols et alcools*)**

<b>Introduction</b>		<b>51</b>
<b>V.1.</b>	Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graine de sésame.	51
<b>V.1.1.</b>	Préparation des esters méthyliques	51
<b>V.1.2.</b>	Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques	52

V.1.3.	Chromatogramme	52
V.1.4.	Résultats et discussion	52
V.2.	Chromatographie en phase gazeuse de l'huile de graine de sésame	59
V.2.1.	Dérivatisation	59
V.2.2.	Conditions de chromatographie	59
V.2.3.	Chromatogramme	60
V.3.	Analyse par chromatographie en phase gazeuse des cires de l'huile de graine de sésame	60
V.3.1.	Conditions de chromatographie	61
V.3.2.	Chromatogramme	61
V.4.	Analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'insaponifiable de l'huile de graine de sésame	62
V.4.1.	Dérivatisation	62
V.4.2.	Conditions de chromatographie	62
V.4.3.	Chromatogramme	62
V.5.	Analyse par chromatographie en phase gazeuse des fractions de l'insaponifiable	63
V.5.1	Conditions chromatographiques	63
V.5.2.	Analyse des hydrocarbures	63
V.5.3.	Analyse des stérols	63
V.5.3.1.	Préparation des triméthylsilyléthers	64
V.5.3.2.	Chromatogramme	64
V.5.4.	Analyse des alcools et des tocophérols	64
V.5.4.2.	Chromatogramme	65
<b>Conclusion</b>		<b>65</b>
<b>CHAPITRE VI.</b>	<b>Analyse par GC/MS de l'huile de graine de sésame et de ses fractions.</b>	
<b>Introduction</b>		<b>66</b>
VI.1.	Analyse par GC/MS de l'huile de graine de sésame	66
VI.1.1.	Conditions d'analyse	67
VI.1.2.	Résultats et discussion	67
VI.2.	Analyse par GC/MS de la fraction des Cires	78
VI.2.1.	Résultats et discussions	78

<b>VI.3.</b>	Analyse par GC/MS de l'insaponifiable et de ces fractions	81
<b>VI.3.1.</b>	Analyse de la fraction insaponifiable	81
<b>VI.3.1.1.</b>	Conditions de la GC/MS	82
<b>VI.3.1.2.</b>	Résultats et discussions	82
<b>VI.3.2.</b>	Analyse des hydrocarbures	94
<b>VI.3.2.1.</b>	Conditions GC-MS	95
<b>VI.3.2.2.</b>	Résultats et discussions	95
<b>VI.3.3.</b>	Analyse des stérols	105
<b>VI.3.3.1.</b>	Conditions d'analyse en GC-MS	107
<b>VI.3.3.2.</b>	Résultats et discussions.	108
<b>VI.3.4.</b>	Analyse de la fraction tocophérol / alcools.	112
<b>VI.3.4.2.</b>	Conditions GC-MS	112
<b>VI.3.4.2.</b>	Résultats et discussions	112
<b>Conclusion</b>		<b>118</b>
<b>Conclusion Générale</b>		<b>120</b>
<b>Bibliographie</b>		
<b>Annexe</b>		

## Liste des abréviations

<b>AGMI</b>	:	Acides gras monoinsaturés
<b>AGPI</b>	:	Acide gras polyinsaturé.
<b>AGS</b>	:	Acides gras saturés.
<b>ATP</b>	:	Adénosine triphosphate
<b>Avstérol-tms</b>	:	Avénastérol-triméthylsilyléther
<b>BHA</b>	:	Butyl hydroxyanisole
<b>BHT</b>	:	Butyl hydroxytoluène
<b>BSTFA</b>	:	Bis(Trimethylsilyl)-Trifluoroacetamide
<b>b-ststérol</b>	:	Béta-Sitostérol
<b>CCM</b>	:	Chromatographie sur couche mince
<b>CoA</b>	:	Acétyl coenzyme A
<b>Cpstérol-tms</b>	:	Campestérol-triméthylsiloxane
<b>D<sub>20</sub></b>	:	Masse spécifique sans unité
<b>Eb</b>	:	Température d'ébullition
<b>EI</b>	:	Impact électronique.
<b>EMAG</b>	:	Esters méthyliques d'acides gras
<b>EPA</b>	:	Eicosapentaénoïque.
<b>FID</b>	:	Détecteur à ionisation de flamme.
<b>F , Carotène</b>	:	Fraction des carotènes
<b>F , Hydroc</b>	:	Fraction des hydrocarbures
<b>F ,Toco / Alc</b>	:	Fraction tocophérols alcools
<b>F ,Stérol</b>	:	Fraction des stérols
<b>Fstérol</b>	:	Fucostérol
<b>GC</b>	:	Chromatographie en phase gazeuse.
<b>GC /MS /EI</b>	:	Couplage Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse par impact électronique.
<b>g-ststérol</b>	:	Gamma-Sitostérol
<b>HDL</b>	:	Lipoprotéines à haute densité
<b>IA</b>	:	Indice d'acide
<b>IE</b>	:	Indice d'ester
<b>Ifstérol</b>	:	Isofucostérol

## Abréviations

---

<b>II</b>	:	Indice d'iode
<b>I<sub>K</sub></b>	:	Indice de Kovats
<b>IS</b>	:	Indice de saponification
<b>IUPAC</b>	:	Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée
<b>LC/MS</b>	:	Couplage Chromatographie en phase liquide-spectrometrie de masse
<b>LDL</b>	:	Lipoproteine basse densité
<b>n<sup>20</sup><sub>D</sub></b>	:	Indice de réfraction
<b>η (st)</b>	:	viscosité cinématique
<b>NF V</b>	:	Norme Française Version
<b>OAIC</b>	:	Office Algérien Interprofessionnel des Céréales
<b>SPE-GC-FID:</b>	:	Extraction en phase solide associé à la chromatographie en phase gazeuse avec détecteur d'ionisation de flamme
<b>Stgstérol</b>	:	Stigmastérol
<b>TMS</b>	:	Triméthylsilyl
<b>TMCS</b>	:	Triméthylchlorosilane
<b>tr</b>	:	Temps de rétention.
<b>V<sub>20(c.p)</sub></b>	:	Viscosité dynamique

# **Introduction**

Les oléagineux occupent une place importante, à côté des céréales, dans l'alimentation humaine et le commerce mondial. Leur produit d'extraction, présenté sous différentes formes commerciales, intervient dans l'équilibre alimentaire en participant avec une ration de 1/3 avec les glucides et les protéines. Les graines de sésame, considérées à la fois comme épices et comme graines oléagineuses, sont une source d'une huile équilibrée.

Les acides gras insaturés de l'huile de sésame sont bénéfiques pour la santé. Le sésame contient de fortes teneurs en acides oléique et linoléique. Le premier acide stabilise le taux du cholestérol alors que le second permet la diminution des taux de cholestérol ainsi que les risques d'accidents cardio-vasculaires.

La graine de sésame contient également de nombreuses vitamines, entre autres E et A. Cette graine est très résistante au phénomène d'oxydation (grâce à la présence de lignanes antioxydants), c'est pour cette raison d'ailleurs, que de nombreux scientifiques considèrent que la consommation d'huile de sésame empêche le vieillissement des cellules.

De nos jours, cette plante est cultivée en Chine, en Inde, au Soudan, au Japon, au Mexique ainsi que dans de nombreux pays d'Afrique centrale et d'Amérique centrale. L'intérêt des consommateurs pour la valeur nutritive et la qualité du sésame a entraîné un accroissement marqué de sa consommation en Algérie, principalement sous forme de produits de confiserie.

Cette évolution des habitudes de consommation se traduit par une utilisation de plus en plus importante des graines de sésame dans les produits alimentaires aux niveaux domestique et industriel : pains, pâtisseries, confiseries, produits naturels.

L'intérêt pharmaceutique, alimentaire, industriel et nutritionnel que présente l'huile de graine de sésame, nous a incités à mener son étude et sa caractérisation par les techniques analytiques les plus performantes.

Dans cet objectif, nos travaux ont été menés en plusieurs étapes explicitées selon les chapitres suivants.

Dans les premier et deuxième chapitres, sera présenté un rappel sur l'importance des lipides, leurs sources, leurs propriétés et sur leur rôle nutritionnel ainsi que leur caractéristiques sur les plans diététique et physiologique. Il sera suivi d'une présentation du sésame sur le plan botanique et de ses applications.

Le troisième chapitre concernera l'extraction de l'huile de graine de sésame avec différentes méthodes (par pression, au Soxhlet, sous agitation, aux ultrasons) et en utilisant différents solvants. Il sera suivi d'un quatrième chapitre qui traitera de la caractérisation chimique des résidus d'extraction.

Le cinquième chapitre portera sur le fractionnement de l'huile de sésame en ses différents constituants majeurs et mineurs (acides gras, phospholipides, cires, insaponifiable, stérols, hydrocarbures, alcools)

Les sixième et septième chapitres seront consacrés à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse seule (GC) et couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) de l'huile de graine de sésame et de ses différentes fractions. Ils présenteront les résultats obtenus dans la détermination qualitative et quantitative des divers constituants de cette huile et de ses diverses fractions ainsi que la corrélation entre cette composition chimique et les propriétés de cette huile.

Une conclusion résumera les résultats obtenus dans ce travail en mettant en valeur les aspects liés aux constituants caractéristiques mis en évidence dans l'huile de sésame ainsi que son intérêt nutritionnel et diététique, de même que les perspectives qu'i permet d'envisager.

**Chapitre I :**

**Généralités**

## **I.1. Généralités sur les corps gras.**

### **I.1.1. Provenance.**

On entend par corps gras diverses matières fluides ou solides plus ou moins colorées, onctueuses, inflammables, peu ou pas du tout solubles dans l'eau et dans l'alcool et formant des savons avec des bases.

Les corps gras sont d'origine animale ou végétale. Dans le règne végétal, les plantes oléifères appartiennent toutes aux phanérogames, bien qu'on trouve également de faibles quantités de matières grasses dans les cryptogames. Les corps gras se rencontrent principalement dans les graines, ils y sont contenus dans la partie qui donne naissance aux cotylédons. Tel est le cas des graines de colza et de lin par exemple ; quelque fois, on en trouve dans la pulpe qui entoure les noyaux de certains fruits ; c'est le cas de l'olive qui fournit l'huile la plus fine et la plus recherchée pour l'alimentation humaine.

Les matières grasses des plantes proviennent des glucides et plus spécialement de l'amidon<sup>1</sup>. En effet, on constate qu'à mesure que les graines et les fruits oléifères avancent en maturité, leur teneur en huile augmente. Cependant la richesse des plantes en huile ne dépend pas seulement de leur degré de maturité, mais aussi de nombreux autres facteurs tels que la composition du sol, les procédés de culture, la qualité des engrais employés, les influences climatiques etc....

Les huiles végétales sont presque toutes liquides à la température ordinaire. Elles tachent le papier d'une manière persistante et le rendent transparent.

### **I.1.2. Rôle et importance des corps gras**

Les corps gras alimentaires ont plusieurs rôles physiologiques<sup>2,3</sup>:

- sources d'énergie : les lipides sont des sources importantes d'énergie, ainsi un gramme fournit 9 Calories. Le stockage se fait dans les adipocytes sous forme d'acides gras saturés.
- rôle structural important : les acides gras saturés et insaturés sont des constituants importants des phospholipides des membranes cellulaires dont ils assurent la structure (acide gras saturés et polyinsaturés) et la perméabilité (acide gras insaturés). Ils jouent par ailleurs un rôle important dans la disponibilité des protéines fonctionnelles de la membrane cellulaire
- précurseurs de prostaglandines : des voies métaboliques conduisent à la formation de ces composés, dénommés « médiateurs chimiques oxygénés », qui jouent un rôle important dans la coagulation du sang, l'agrégation plaquettaire, la fonction rénale, les phénomènes inflammatoires et immunitaires...

Pour ces deux derniers rôles, certains acides gras ont une place essentielle et pour deux d'entre eux, indispensable: l'acide linoléique (C18:2n-6) et l'acide  $\alpha$ -linoléique (C18:3n-3) car l'homme est incapable de les synthétiser ; il doit donc les trouver en quantité convenable dans son alimentation. Ces deux acides gras appartiennent à la classe des acides gras polyinsaturés (AGPI), étant chacun respectivement chef de file des séries d'AGPI dites (n-6) et (n-3) <sup>4</sup>.

Les acides gras de la famille n-3 n'ont pas un effet hypocholestérolémiant aussi net que les acides gras en n-6. Quant aux acides gras supérieurs, eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque, on leur a reconnu récemment un effet hypotriglycéridémiant et un effet anti-agrégant plaquettaire <sup>5</sup>.

Les autres acides gras se répartissent entre acides gras saturés (AGS) ou acides gras monoinsaturés (AGMI), selon leur structure chimique.

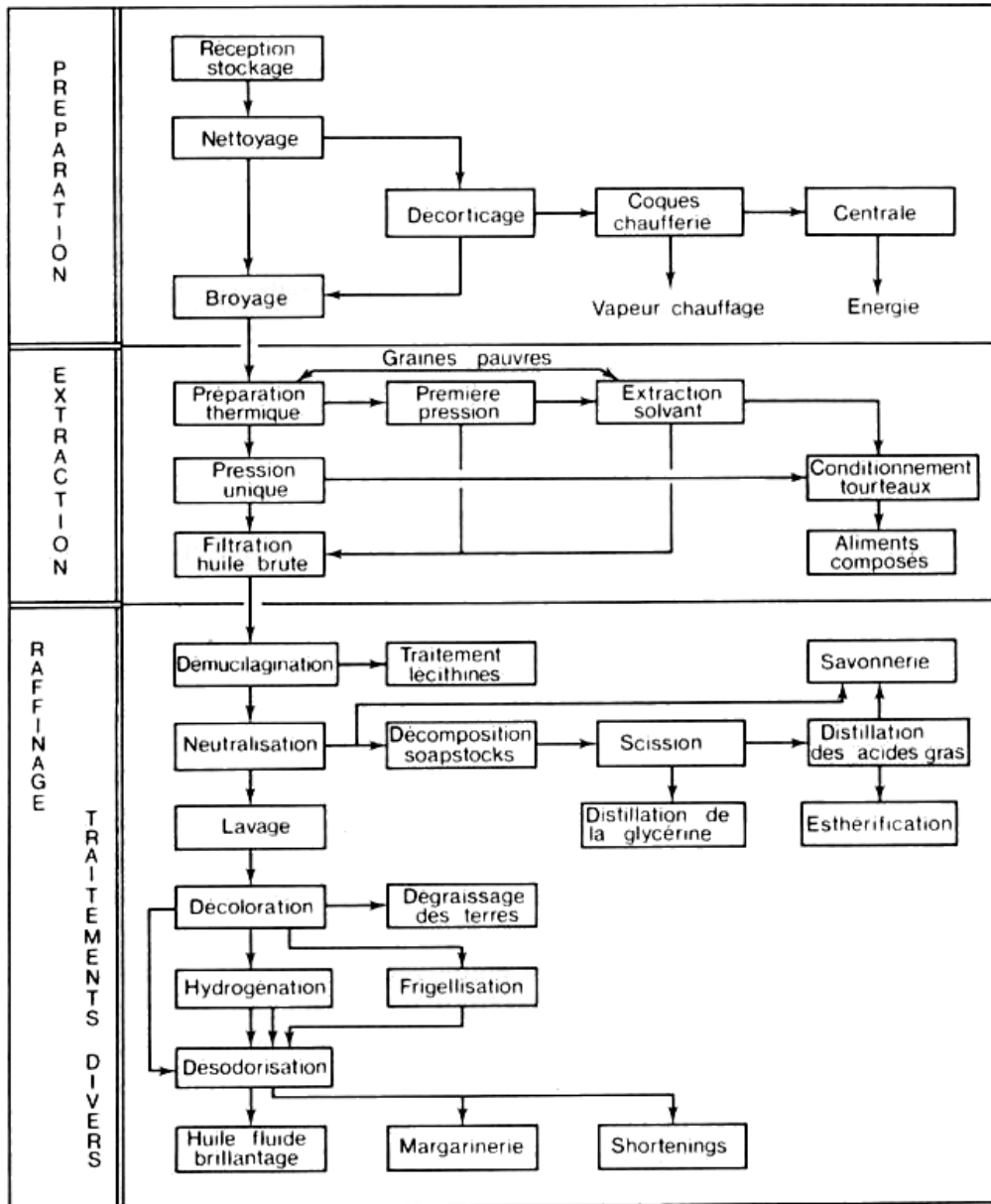
Une consommation excessive en acides gras saturés (AGS) fait augmenter les taux de cholestérol total et de lipides sanguins ; elle accroît en outre l'agrégation plaquettaire. Si l'acide stéarique (C18:0) est de ce point de vue, considéré comme « neutre » (puisque transformé rapidement par le métabolisme en acide oléique C18:1, les acides myristique (C14:0) et palmitique (C16:0) sont plus particulièrement mis en cause dans les facteurs de risques des maladies cardio-vasculaires et font toujours l'objet d'études <sup>6</sup>. La réduction de leur consommation abaisse donc le cholestérol plasmatique, surtout lorsqu'en même temps on augmente la consommation d'acide linoléique, le principal acide gras à effet hypocholestérolémiant.

Les acides gras monoinsaturés (AGMI) pourraient jouer un rôle dans la prévention des dyslipidémies et de l'athérosclérose. Etant donné l'importance qu'il y a à réduire les acides gras saturés de l'alimentation, il est possible de les remplacer, au moins partiellement, par les acides gras monoinsaturés, bien entendu associés à des acides gras polyinsaturés en quantité modérée car, en dépit de leur rôle hypocholestérolémiant, ils sont particulièrement sensibles à la lipopéroxydation <sup>7</sup>. Le principal représentant de cette classe d'acides gras monoinsaturés (AGMI) est l'acide oléique (C18:1) dont l'huile d'olive est particulièrement riche (75%). Des études récentes sur cette huile ont montré le rôle de l'acide oléique dans le métabolisme du cholestérol circulant via les lipoprotéines : il conduit à une diminution du LDL-cholestérol et conjointement à une augmentation du HDL-cholestérol ce qui diminue le risque d'athérogenèse. Les AGMI sont toujours l'objet d'études pour mieux apprécier leur rôle biologique et nutritionnel, en particulier vis à vis des maladies cardio-vasculaires <sup>8</sup>.

Enfin, les corps gras alimentaires jouent un dernier rôle physiologique :  
 - apport et véhicule des vitamines liposolubles : A, D, E et K.

**I.1.3. Technologie de production des corps gras**

Le schéma de la **Figure 1** indique d'une façon générale toutes les phases de la production et du raffinage à partir des graines et des fruits oléagineux <sup>9,10,11</sup>.



**Figure 1 :** Schéma général de la production des corps gras à partir des graines oléagineuses

Quelque soit le procédé d'obtention utilisé, les matières grasses obtenues contiennent des impuretés impropres à la consommation (10 à 15%) qu'on élimine par une série de traitements de purification appelés raffinage (**Tableau 1**)<sup>9,10,11</sup>.

**Tableau 1:** Les opérations élémentaires du raffinage chimique et leurs effets sur les constituants mineurs et les contaminants

<b>Opération élémentaire</b>	<b>Composants éliminés</b>	<b>Composants introduits</b>
Stockage	Acides gras libres	Stockage
Dégommage	Matières mucilagineuses Phosphatides Glycolipides	Eau
Neutralisation chimique	Acides gras libres Phosphatides résiduels Composés de dégradation d'origine oxydative Composés métalliques Gossypol (huile de coton) Aflatoxines (huile d'arachide) Insecticides organophosphorés	Savons Eau
Lavages	Savons Phosphatides résiduels Traces de soude	Eau
Séchage	Eau	
Décoloration	Pigments (caroténoïdes et chlorophylliens) Savons Hydrocarbures polycycliques (en cas de traitement au charbon actif)	Destruction des peroxydes et formations d'isomères à doubles liaisons conjuguées Acides gras libres (par acidification des savons)
Décirage / Frigellisation	Cires Insolubles à basse température	
Désodorisation	Acides gras libres Substances volatiles de l'odeur et du goût Peroxydes et produits de dégradation Pesticides organochlorés Stéroïls et tocophérols	Formation d'isomères géométriques d'acides gras Formation d'oligomères de triacylglycérols (dimères, tri, etc.)

## I.2. Aperçu général sur la composition des corps gras

### I.2.1. Composition et nature chimique

#### I.2.1.1. Définition et origine :

Les corps gras naturels sont essentiellement constitués par des glycérides, des acides gras et du glycérol. Ils renferment en outre, en faible quantité, des phospholipides, des stérols, des alcools, des vitamines, des pigments et des hydrocarbures désignés dans leur ensemble sous le nom de constituants non glycéridiques ou constituants mineurs.

Les corps gras se répartissent en deux groupes selon leur règne:

- Les corps gras d'origine végétale (fruit, pépin, grain, amande).
- Les corps gras d'origine animale (marine et terrestre).

D'autre part, les corps gras peuvent être classés selon leur degré de siccativité :

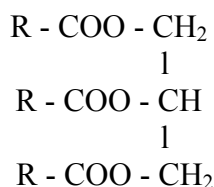
- Les corps gras siccatifs : huiles de lin, de tournesol...
- Les corps gras semi-siccatifs : huiles de sésame, de maïs, de soja, de coton....
- Les corps gras non siccatifs : huiles d'olive, d'arachide, de ricin, d'amande...

#### I.2.1.2. Composition des huiles brutes

Une huile végétale est un mélange complexe de constituants (triglycérides, phosphatides, cires, insaponifiables) que l'on peut grouper selon leur nature, en deux fractions: la fraction glycéridique et la fraction non glycéridique.

### A. Les triglycérides

Ils représentent généralement 98% de l'huile. Ce sont des esters formés par les acides gras R-COOH et d'un trialcool appelé glycérol HOCH<sub>2</sub>-CHOH-CH<sub>2</sub>OH, de formule générale:



Les esters peuvent être partiels, c'est à dire, qu'une ou deux fonctions alcools du glycérol peuvent rester libres.

Les acides peuvent être saturés ou insaturés ; à noter que certains acides polyinsaturés constituent les acides gras essentiels auxquels on attribue des propriétés biologiques particulières.

## **B. L'insaponifiable**

La fraction non glycéridique d'une huile, est constituée par un grand nombre de composants. Les uns sont responsables de sa couleur (pigments caroténoïdes), de sa flaveur (aldéhydes, cétones), d'autres possèdent une valeur biologique reconnue (vitamine E, stérols) ou interviennent dans la conservation du corps gras (tocophérols), alors que d'autres, sans rôle apparent (alcools, certains stérols) existent souvent en pourcentage suffisant pour représenter des critères analytiques <sup>12,13</sup>.

En conséquence, on appellera "insaponifiable", l'ensemble des constituants qui ne réagissent pas avec les bases fortes pour donner des savons.

L'étude de cette fraction non glycéridique se heurte à certaines difficultés:

- . Les différents constituants sont présents en très faible quantité
- . Ils sont liposolubles.
- . Leur séparation de la fraction glycéridique est délicate.

Le problème fondamental de l'étude des composants non glycéridiques est leur extraction de la masse glycéridique, partie prédominante du mélange : en effet, on se trouve en présence d'une solution à très faible concentration de solutés non volatils dans un solvant (les glycérides) également non volatil. C'est pourquoi, il sera nécessaire de transformer la masse glycéridique par saponification afin de la rendre soluble dans l'eau. A ce stade on pourra extraire les substances non saponifiées, par des solvants organiques <sup>14</sup>.

### **B.1. Composition**

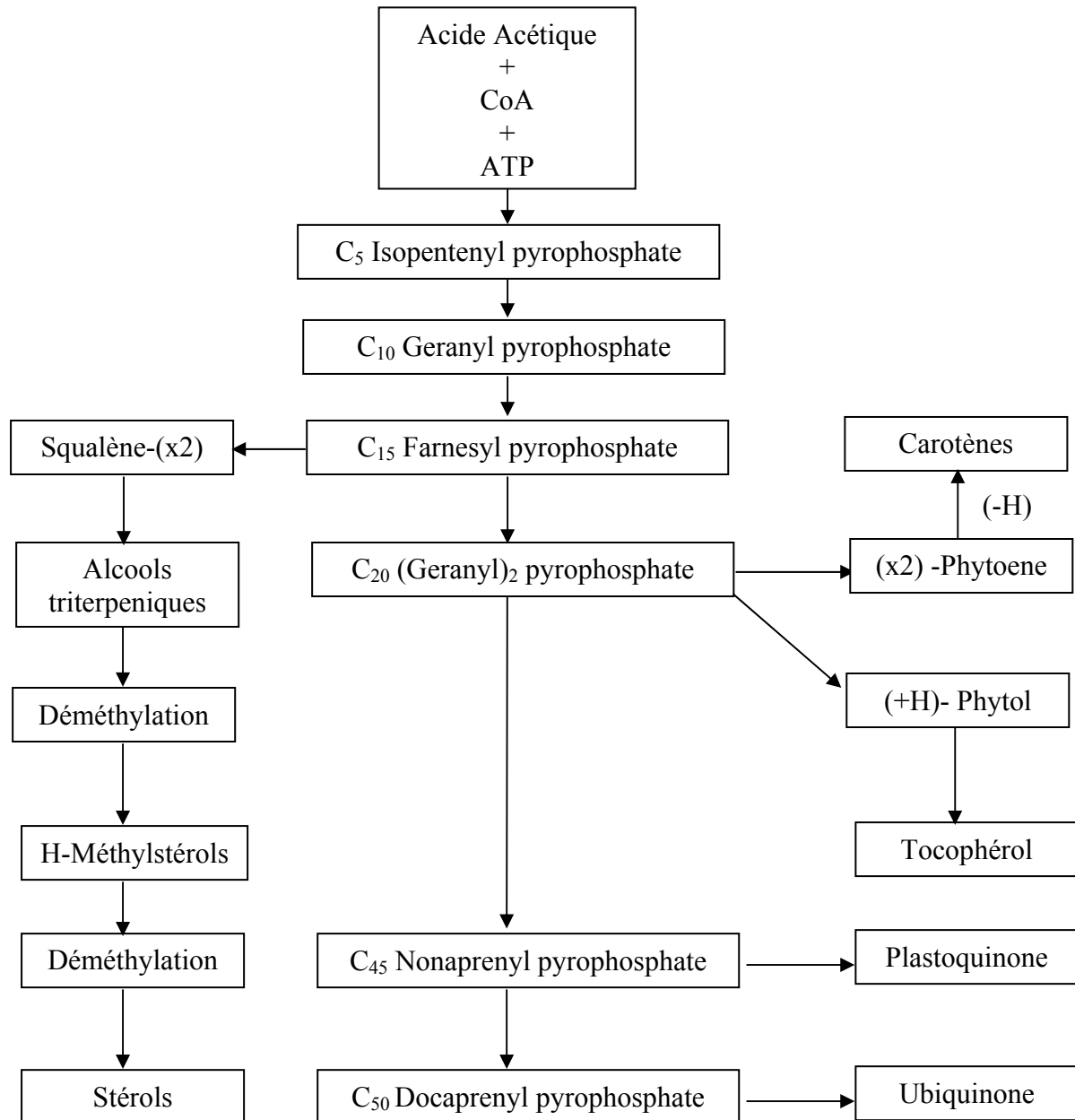
Bien que l'insaponifiable ne soit pas tout à fait identique dans sa composition par rapport à la fraction non glycéridique, il s'en rapproche car il renferme une majorité de constituants naturellement présents dans l'huile (hydrocarbures, stérols, tocophérols...) et des substituants résultant de la saponification de certains esters non glycéridiques (esters de stérols, de monoalcools). Seuls les composés les plus fragiles sont détruits, ou éliminés, par le traitement alcalin (chlorophylles, pigments phénoliques) <sup>5,10,11</sup>. L'insaponifiable brut obtenu est un produit liposoluble, pâteux, de couleur jaune, orangée ou rouge.

Pour une espèce donnée, sa composition, qualitative et quantitative, varie avec le lieu, le moment de la récolte et les conditions de stockage.

Chaque espèce végétale a une composition qui lui est propre <sup>15,16</sup>. L'insaponifiable est donc "un ensemble complexe de molécules qui, ayant en commun la liposolubilité, appartiennent à des familles chimiques les plus diverses et, à première vue, sans rapports mutuels" <sup>17</sup>.

### B.1.1. Origine des insaponifiables

L'origine des constituants de l'insaponifiable résiderait dans la biosynthèse empruntant les voies suivantes (**Figure 2**)<sup>5</sup> :



**Figure 2** : Origine des insaponifiables

- Le farnésyl pyrophosphate conduit par duplication au squalène, précurseur des stéroïls.
- Le géranylgeranyl pyrophosphate, par une réaction du même ordre, donne des phytoènes dont la déshydrogénation aboutit à la formation des caroténoïdes.

- L'hydrogénation de ce métabolite conduit au phytol qui intervient sous forme estérifiée dans la structure des chlorophylles et participe à la biosynthèse des tocophérols.
- Les plastoquinones et ubiquinones dérivent des chaînes polyterpéniques et sont présentes à l'état de traces.
- Par ailleurs, les insaponifiables végétaux renferment d'autres familles de constituants comme les hydrocarbures<sup>18</sup> et les alcools supérieurs<sup>16</sup>.

Les techniques analytiques modernes ont permis de séparer les différents et principaux constituants de l'insaponifiable qui sont<sup>12,19, 20, 21</sup> :

- les stérols
- les tocophérols
- les hydrocarbures
- les caroténoïdes
- les alcools aliphatiques
- les alcools terpéniques

## **B.1.2. Constituants de l'insaponifiable**

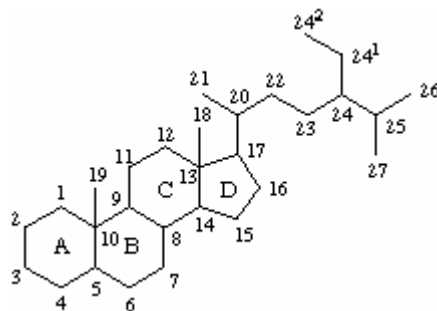
### **a. Les stérols**

Les stérols végétaux ont une fonction cellulaire, dans les plantes, identique à celle du cholestérol chez l'homme et l'animal. Ils entrent dans la composition et la structure des membranes cellulaires<sup>22</sup>.

Au cours des études sur le mécanisme de protection par des aliments d'origine végétale, les phytostérols ont été rendus responsables de la prévention contre le cancer avec d'autres substances biologiquement actives<sup>23</sup>.

#### **a.1. Structure générale des stérols**

Les stérols possèdent tous un système polycyclique cyclopentanophenanthrénique sur lequel des chaînes latérales longues ou courtes peuvent être fixées (**Figure 3**)<sup>24</sup>.



**Figure 3:** Squelette de base des stérols <sup>24</sup>

### a.2. Structure des phytostérols

On trouve les stérols chez les végétaux à l'état libre, sous forme d'ester ou combinés à des sucres sous forme d'hétérosides <sup>23</sup>.

Les phytostérols ont des compositions chimiques similaires entre elles et similaires à celle du cholestérol, les principales différences résidant dans la chaîne latérale greffée sur le cycle pentagonal du squelette moléculaire et parfois aussi dans le nombre des groupements méthyle qui s'y rattachent <sup>25</sup> (**Tableau 2**).

**Tableau 2 :** Caractéristiques des stérols les plus souvent rencontrés <sup>5</sup>.

Nombre de carbone	Stérols	Formule brute	Substitution en 24	Double liaisons	Position des doubles liaisons
C <sub>27</sub>	Cholestérol	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub> O		1	5
C <sub>28</sub>	Ergostérol	C <sub>28</sub> H <sub>44</sub> O		3	5-7-22
	Brassicastérol	C <sub>28</sub> H <sub>46</sub> O	CH <sub>3</sub>	2	5-22
	Campestérol	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O		1	5
C <sub>29</sub>	Stigmastérol	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O		2	5-22
	Sitostérol	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	1	2

Les stérols des huiles végétales sont formés en général de trois composants de base, le  $\beta$ -sitostérol, le stigmastérol et le campestérol, dont les proportions varient avec une prépondérance du sitostérol <sup>26</sup>. Il y a peu d'exceptions à cette règle. C'est ainsi que, la composition en stérols des huiles végétales (**Tableau 3**) étant constante, elle permettra de contrôler la pureté et la nature d'une huile.

En effet, l'oxydation d'une huile ou son hydrogénation, ne modifient pratiquement pas la composition des stérols. On peut donc, par l'étude des stérols, identifier les huiles oxydées, polymérisées ou hydrogénées, alors que la composition en acides gras ne donne plus aucune indication valable sur la nature de l'huile parce que modifiée trop profondément par les traitements antérieurs.

**Tableau 3:** Composition des stérols en pourcentage des stérols totaux <sup>5</sup>.

Nature de l'huile	Cholé	Brassica	Campe	Stigma	$\beta$ -Sito	Fucos	Isofuco	Ergo	$\Delta 5$ Avena	$\Delta 7$ Stigma	$\Delta 7$ Avena
	-Stérol										
<b>Amande</b>	<1	-	2-3	0-1	74-81	1-2	-	-	7-20	0-5	0-4
<b>Noisette</b>	<1	<0.5	4-7	<2	82-88	-	-	-	2-5	1-3	1-6
<b>Olive</b>	<0.3	-	2-4	1-2	75-90	-	-	-	3-14	<0.8	<0.7
<b>Arachide</b>	<0.7	-	12-15	8-11	58-66	-	-	-	9-14	<1	1-2
<b>Colza</b>	<4	7-13	28-40	<1	45-65	-	-	-	*	*	*
<b>Mais</b>	<1	-	16-21	4-10	63-70	-	-	1-2	1-9	<1	<1
<b>Soja</b>	<1	-	19-23	17-19	47-57	-	-	<3	2-4	1-3	1-2
<b>Tournesol</b>	<0.4	0	8-11	7-10	58-64	2-3	0.4-1	-	2-7	9-14	4-6
<b>Sésame</b>	<0.3	<0.1	18-19	6-7	59-62	<0.5	-	-	10-11	0.6-0.8	0.8-1.1

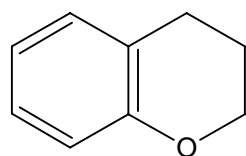
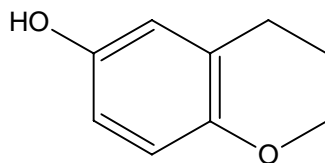
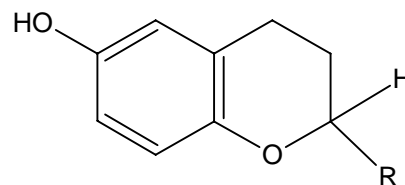
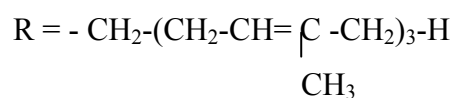
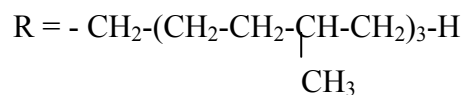
\* ( $\Delta 5$  Avena-stérol,+  $\Delta 7$  Stigma-stérol + $\Delta 7$ Avena-stérol)= 1-3

## b. Les tocophérols

### b.1. Structure :

On a vu que l'hydrogénation du géranygéranylpyrophosphate engendre le phytol. Ce dernier est à l'origine de la biosynthèse des tocophérols <sup>5</sup>.

Ces corps dérivent du noyau benzodihydropyrane ou chromane portant un hydroxyle sur le carbone 6 (6-chromanol). Sur le carbone 2 figurent un groupement méthyle et une chaîne isoprénique à 16 atomes de carbone appelée chaîne phytyl. **(Figure 4)** <sup>27,28</sup>.

**Chromane****Chromanol****Tocophérols****Tocotriénols****Figure 4 :** Structure des tocophérols et tocotriénols**Tableau 4:** Nomenclature des composés tocophéroliques naturels<sup>28</sup>.

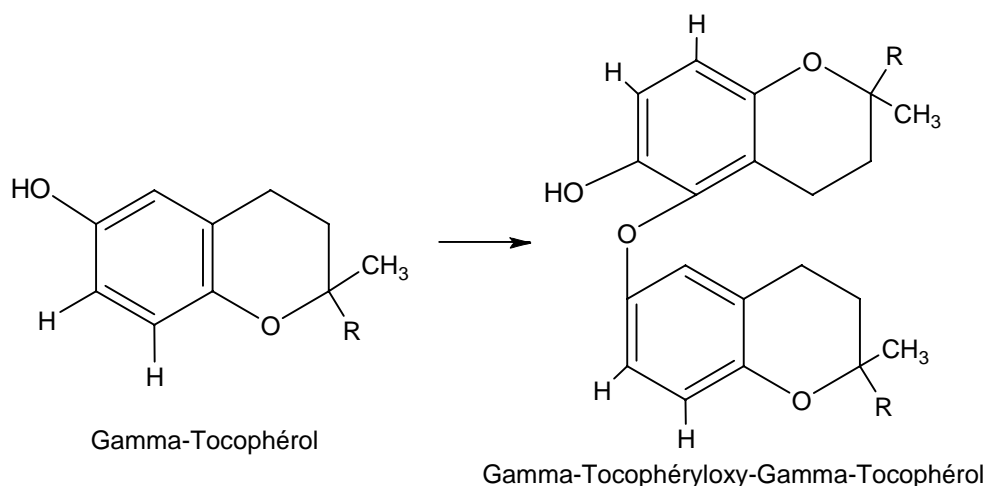
Substituant du noyau	Tocophérols	Tocotrienols
5-7-8 Triméthyl	$\alpha$ -Tocophérol	$\alpha$ -Tocotrienol
5-8 Diméthyl	$\beta$ -Tocophérol	$\beta$ -Tocotrienol
7-8 Diméthyl	$\gamma$ -Tocophérol	$\gamma$ -Tocotrienol
8 Monométhyl	$\delta$ -Tocophérol	$\delta$ -Tocotrienol

A côté des quatre tocophérols normaux, à chaîne latérale R saturée (**Tableau 4**), on distingue quatre tocotriénols à chaîne triinsaturée. Ces derniers sont présents, en particulier, dans l'huile de palme, et jouent probablement le même rôle que les tocophérols<sup>24</sup>.

L'activité biologique des  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -tocophérols et  $\alpha$ -tocotriénol est dans un rapport de 10 : 4 : 1 : 0,1 : 3. Les tocophérols diffèrent aussi dans leur capacité de protection des corps gras contre l'oxydation et le rancissement<sup>29</sup>.

## b.2. Propriétés

Une propriété intéressante à signaler est la polymérisation qui peut se produire sous l'influence d'agents extérieurs ou même spontanément. Le  $\gamma$ -tocophérol se dimérise facilement même conservé à froid. Il a été démontré que le couplage oxydatif a lieu en position 5 lorsqu'il n'y a pas de substituant à cet endroit. Dans le cas contraire (-CH<sub>3</sub> en 5) il y a formation d'un couplage 5- benzylique (**Figure 5**).



**Figure 5:** Dimérisation du  $\gamma$ -tocophérol

Bien que l'origine de ces polymères ne soit pas entièrement élucidée, on admet en général, qu'ils peuvent apparaître comme artéfacts lors du processus d'isolement, par oxydation à l'air et à la lumière et même par voie biosynthétique.

Malgré la déshydrogénation qui accompagne leur formation, ces oxypolymères conservent les propriétés réductrices de la fonction phénol. C'est cette fonction phénol qui est responsable de leur action anti-oxygène, protectrice des corps gras, la chaîne isoprénique leur conférant la liposolubilité.

**Tableau 5 :** Teneurs en tocophérol de quelques corps gras <sup>5</sup>.

Corps gras	Tocophérols totaux (mg/100g de corps gras)	Tocophérols Individuels (Composition Centésimale)			
		$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$
Amande	25-56	92-99	<1	1-7	-
Noisette	30-55	79-98	2-4	2-19	1-6
Olive	5-15	52-87	10-25	-	-
Arachide	244	32.7	-	7-23	-
Colza	60-87	25-38	0-5	62-70	0-6
Mais	113-183	8-22	<3	68-89	2-7
Soja	80-167	5-10	2-3	44-60	30-43
Tournesol	44-120	91-97	3-6	$\leq 2$	-
Sésame	20-50	4	2	83	11

Les teneurs en tocophérols d'un corps gras donné varient dans d'assez grandes proportions selon son origine, son état d'altération ou les opérations technologiques qu'il a pu subir. Les chiffres portés dans le **Tableau 5** correspondent à des valeurs moyennes pour des huiles brutes.

### **c. Les hydrocarbures**

Ce sont des composés non polaires de la partie insaponifiable de l'huile végétale. Leur présence a été détectée en 1940 quand Jasperson et Jones ont rencontré dans le distillat de la désodorisation des huiles végétales une grande quantité d'hydrocarbures terpéniques accompagnés d'une petite quantité d'alcanes <sup>30</sup>.

Selon la configuration ou l'insaturation de leurs chaînes, les hydrocarbures pourront être classés en plusieurs groupes :

les hydrocarbures saturés ou paraffiniques

les hydrocarbures insaturés

les hydrocarbures terpéniques

les hydrocarbures polycycliques

#### **c.1. Les hydrocarbures saturés**

On peut à leur tour les diviser au moins en deux séries :

- la série normale ou n-alcanes; exemple : le tétracosane
- la série iso et/ou anté iso; exemple : le 2-méthyltétracosane

#### **c.2. Les hydrocarbures insaturés**

Ils ne sont pratiquement représentés que par le squalène, composant important de l'insaponifiable dans certains cas (huile d'olive). Le squalène représente un intermédiaire fondamental de la biosynthèse des alcools triterpéniques et des stérols (**Figure 2**). Sa présence est constante dans tous les corps gras (**Tableau 6**) <sup>5</sup>.

**Tableau 6** : Hydrocarbures insaturés de quelques corps gras.

Corps gras	Hydrocarbures (mg/100g)	Squalène (mg/100g)	Références
Amande	30-50	40-50	5
Noisette	10-30	300-700	5
Olive	70-110	300-700	32
Arachide	36-44	40-70	32
Colza	40	50-55	32,5
Mais	-	13-24	32
Tournesol	-	15-20	32
Sésame	200	-	32

### c.3. Les hydrocarbures terpéniques :

Ils sont représentés par les caroténoïdes qui sont des tétraterpènes de configuration linéaire ou cyclique.

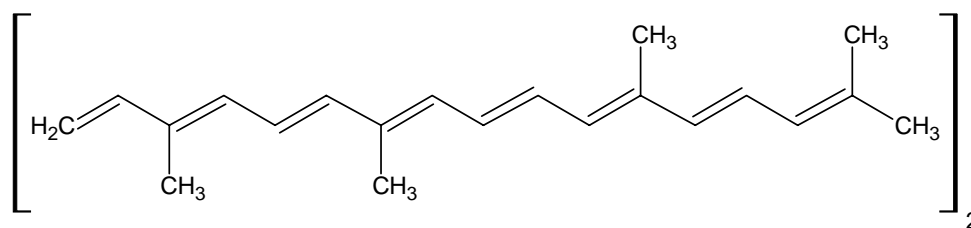
Les caroténoïdes sont une vaste famille de pigments largement utilisés en tant que colorants dans l'alimentation (responsables de la coloration jaune, orangée ou rouge de l'huile brute)<sup>32</sup>, l'industrie pharmaceutique et en tant que supplément nutritionnel<sup>33</sup>.

Les caroténoïdes ont des propriétés caractéristiques :

- ils sont représentés en très faible quantité
- ils sont très sensibles à l'oxydation
- ils sont instables en présence de la plupart des agents chimiques
- leurs produits de dégradation confèrent à l'huile un aspect défavorable
- leur coloration diminue de pair avec le nombre de doubles liaisons conjuguées.

Toutes les structures des molécules caroténoïdiques sont caractérisées par une composition systématique : huit éléments isopréniques sont rangés systématiquement autour d'une double liaison centrale. Les deux groupes méthyle les plus rapprochés du centre de la molécule sont en position 1:6, les autres, exceptés les groupes méthyle terminaux se trouvent en position 1:5.

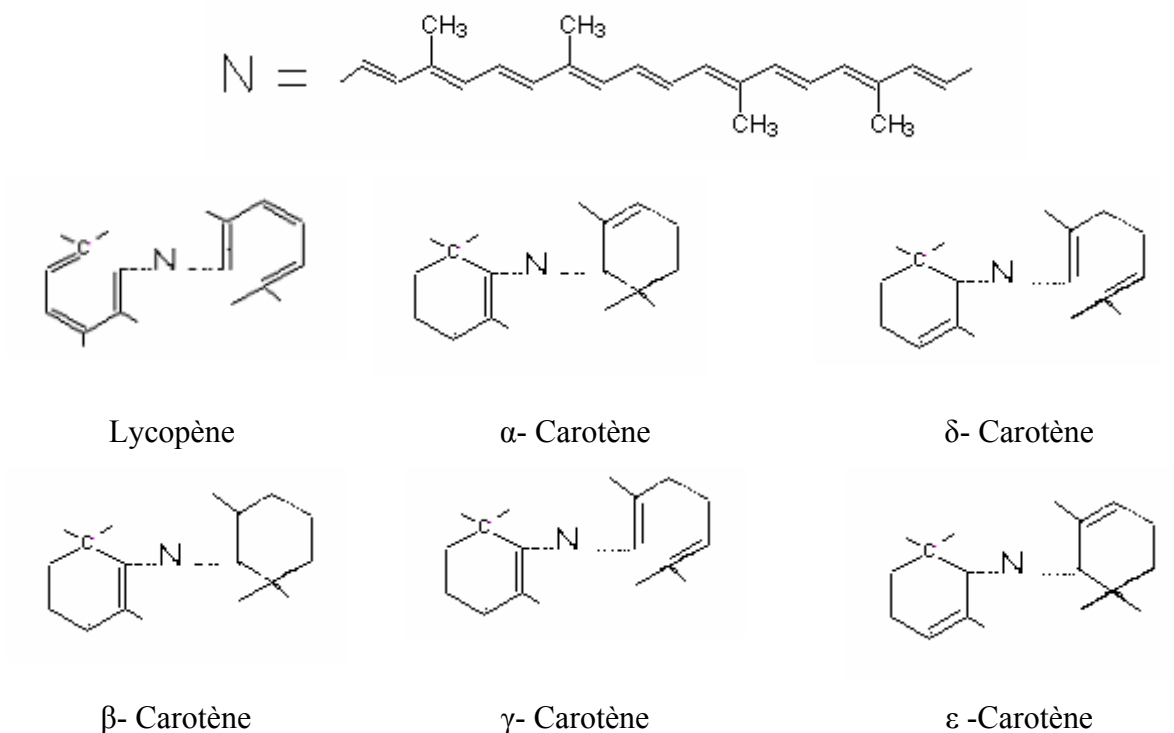
Tous les caroténoïdes peuvent être dérivés d'un hydrocarbure C<sub>48</sub> H<sub>56</sub> de structure acyclique (**Figure 6**).



**Figure 6 :** Structure de base des caroténoïdes.

Selon les règles de nomenclature, le mot « carotène » représente le terme générique de tous les caroténoïdes.

Nous connaissons les carotènes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  et le lycopène, tous constitués à partir de la même chaîne polyène interne (**Figure 7**). Les deux éléments isopréniques terminaux forment des cycles ou sont acycliques. La position des doubles liaisons varie. Dans les tissus végétaux frais les carotènes se trouvent entièrement sous forme trans, mais les processus du séchage, de l'extraction et de l'isolement peuvent provoquer une transformation artificielle trans-cis, une dégradation ou une décomposition<sup>34</sup>.



**Figure 7 :** Structures et nomenclature des caroténoïdes<sup>34</sup>

En raison de leur poids moléculaire et de leur très forte insaturation, les carotènes sont difficiles à étudier en analyse fine et font toujours l'objet de recherches<sup>20, 35</sup>.

#### **d. Les xanthophylles**

Ce sont des dérivés des caroténoïdes contenant dans leurs molécules des atomes d'oxygène engagés sous des forme hydroxy, époxy, carboxy, méthoxy ou cétone<sup>36</sup>.

On peut citer la lutéine, la zéaxanthine, la cryptoxanthine, la cantaxanthine.

#### **e. Les alcools**

La catégorie des alcools comprend deux groupes d'inégale importance<sup>13</sup>:

- Les alcools saturés de la série normale ou alcools aliphatiques
- Les alcools terpéniques qui par la variété de leurs composés et leur intérêt biogénétique représentent le groupe le plus intéressant.

Ces deux groupes, de structure chimique différente, présentent des propriétés communes. Etant de polarité semblable ils posent cependant des problèmes d'analyse.

##### **e.1. Les alcools aliphatiques**

Ils existent dans des proportions comprises entre 0.01 et 0.1% et leur nombre d'atomes de carbone varie de 16 à 32 avec prédominance des termes à poids moléculaire élevé<sup>37</sup>.

La présence d'alcools aliphatiques supérieurs dans les huiles végétales s'explique en partie par le fait que celle-ci renferme presque toujours des cires d'origine cuticulaire entraînées au cours de la pression ou de l'extraction.

La cire est totalement transformée au cours de la saponification et les alcools de constitution se retrouvent dans l'insaponifiable.

##### **e.2. Les alcools terpéniques**

Cette dernière catégorie de composés représente en moyenne 20 à 50% de l'insaponifiable et se trouve habituellement constituée d'un mélange d'au moins cinq composants.

Les alcools terpéniques dérivent des terpènes de formule brute  $(C_5H_8)_n$ , résultant de la condensation du groupe isoprène. (Le **Tableau 7** suivant permet de distinguer les alcools dérivant des différents terpènes).

**Tableau 7 : Principaux alcools terpéniques**

Terpène	Formule brute	n	Alcool correspondant
Isoprène	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub>	=1	-
Monoterpène	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	=2	Menthol
Sesquiterpène	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	=3	Farnésol
Diterpène	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	=4	Phytol
Triterpène	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub>	=6	Cycloartenol

- Alcools monoterpéniques.

Très volatils, ils ont généralement une odeur agréable et sont les principaux constituants des huiles essentielles.

On peut citer à titre d'exemple le citronellol, le géraniol, le menthol, le terpinéol <sup>38</sup>.

- Alcools sesquiterpéniques.

Ces alcools sont d'un poids moléculaire plus élevé que celui des alcools monoterpéniques. Ils sont encore trop volatils pour être retrouvés dans l'insaponifiable ou leur présence n'a pas été signalée jusqu'à présent.

- Alcools diterpéniques.

Ils sont beaucoup moins volatils. On les retrouve dans l'insaponifiable des huiles et des graisses, en particulier le phytol dans l'insaponifiable du beurre de cacao, le géranyl-géraniol dans l'insaponifiable de l'huile de lin <sup>5</sup>.

- Alcools triterpéniques.

Ils possèdent un noyau phénanthrène comme les stérols et ont été identifiés dans l'insaponifiable d'un grand nombre de corps gras.

Très rarement à l'état libre, ils sont, soit estérifiés par des molécules d'acides organiques, soit polymérisés.

Sur les 214 triterpènes connus on dénombre 80 alcools triterpéniques répertoriés en groupes et sous groupes et se classant en monoalcools, diol, triol, tetraols, pentaols, hexaols.

Les principales sources sont constituées par l'insaponifiable des huiles essentielles, des latex, des huiles et des graisses. Les alcools triterpéniques des huiles de graines sont des monoalcools du type de l' $\alpha$  et de la  $\beta$ -amyrine du cycloarténol.

Ce n'est que récemment que l'on s'est intéressé dans l'analyse des corps gras, aux alcools terpéniques et plus spécialement aux monoalcools triterpéniques<sup>39</sup>. Ces études ne sont que la conséquence d'une amélioration des méthodes de fractionnement de l'insaponifiable.

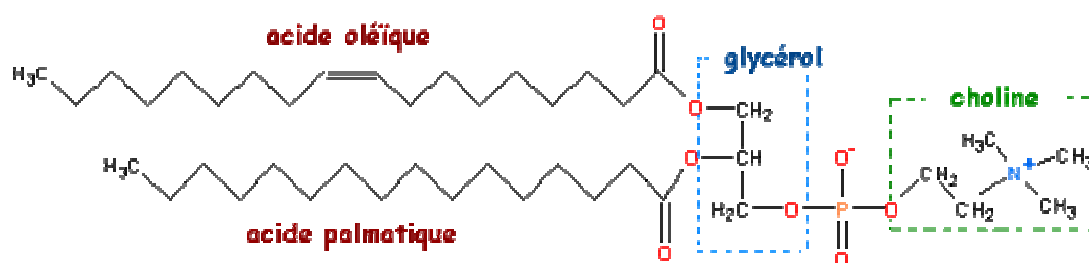
Une douzaine seulement des 80 alcools triterpéniques identifiés semblent se retrouver dans des concentrations variables, dans l'insaponifiable des corps gras végétaux ; le cycloarténol et les 24-méthylèncycloarténol sont presque toujours présents. La présence constante du cycloarténol est liée à son importance biologique puisqu'il est considéré comme le précurseur des stérols<sup>5</sup>. En effet, il existe une parenté très étroite entre les stérols et les alcools, de même que les stérols dérivent des triterpènes par déméthylation (**Figure 2**).

### C. Les phospholipides

Les phospholipides constituent majoritairement (environ 60%) les membranes des cellules et donc des organes vivants et il est indispensable de présenter leurs caractéristiques fondamentales<sup>3,5</sup>:

- leur rôle majeur dans les organismes vivants en qualité de constituant des membranes cellulaires
- leur qualité amphiphile marquée leur donne tout ce qui concerne les milieux dispersés.
- leur dynamique moléculaire est importante, et permet à ces structures complexes de garder une liberté de mouvement à une échelle du micromètre

Ils sont formés d'une molécule de glycérol, dont deux fonctions alcool sont estérifiées par des acides gras, la troisième l'étant par de l'acide phosphorique, lui-même lié à divers composés (sérine, choline, éthanolamine) permettant de définir autant de classes de phospholipides<sup>3</sup> (**Figure 8**).



**Figure 8** : Exemple d'un phospholipide : le palmitoyl oleoyl phosphatidyl choline

C'est ainsi qu'on trouve :

- les esters glycérophosphoriques : ce sont des monophosphates de glycérol
- les phosphatides proprement dits : ce sont des esters mixtes d'acides gras et d'acide phosphorique
- les phosphoglycérines : ce sont des phosphatides dans lesquels un H libre de l'acide phosphorique est remplacé par un groupe amino-alcool
- les phospho-inositides
- les phosphoglycéro-acétols.

#### **D. Les cires**

Les alcools gras estérifiés avec des acides gras à longue chaîne sont les composants principaux d'une multitude de cires naturelles.

Les cires protègent la surface des feuilles, tiges et graines contre le dessèchement et l'infection par des micro-organismes<sup>38</sup>. Lors de l'extraction de la semence non décortiquée, des cires peuvent se retrouver dans l'huile<sup>13</sup>. A haute température, elles sont solubles dans l'huile, mais cristallisent déjà à la température ambiante et provoquent des voiles indésirables.

Les cires apparaissent également dans les huiles de poissons, surtout dans l'huile de baleine. Les alcanes à longue chaîne avec un nombre de carbones impair et les triterpènes font également partie des composants des cires naturelles.

En dehors des considérations phytochimiques ou physiologiques, l'intérêt de ces cires et de leurs constituants est très limité.

#### **I.3. Propriétés physico-chimiques des corps gras**

Ils sont insolubles dans l'eau et extractibles par des solvants non polaires tels que l'hexane.

Leur point de fusion croît avec le nombre de carbones et décroît avec le nombre des doubles liaisons pour une même longueur de chaîne.

Ils ont une consistance grasse ou huileuse d'où le nom de corps gras.

Ils possèdent un minimum de 4 atomes de carbone, mais plus souvent une longue chaîne aliphatique ce qui leur confère leur nature hydrophobe. Ils peuvent appartenir à différentes familles organiques (terpènes, alcools, acides carboxyliques, cétones, esters, ...). De ce fait, certains peuvent posséder des groupes polaires, on parle alors de lipide polaire (en réalité amphiphile)<sup>5, 9, 10, 11</sup>.

## I.4. Etude de l'huile de graine de sésame

### I.4.1. Graine de sésame

#### I.4.1.1. Botanique :

Le sésame, connu sous le nom botanique de *Sesamum indicum*, est une plante annuelle à tige quadrangulaire, dont la hauteur varie de 60 à 200cm selon les variétés. Elle appartient à la famille des Pédaliaceae. Les fleurs sont blanches ou roses en forme de dé à coudre, indistinctement bilabiées avec les bords recourbés. Elles sont individuelles ou en inflorescence. Les feuilles diffèrent énormément d'une variété à l'autre. La capsule quadrangulaire du fruit est d'environ 2cm avec déhiscence à partir du sommet (**Figure 9**)<sup>38</sup>.



**Figure 9** : Présentation de la plante de sésame

Les nombreuses graines qu'elle contient sont d'un blanc crème à presque noires, et sont classées comme suit <sup>40</sup> :

- graines blanches (natural milkish white)
- graines crèmes (whitish)
- graines brun clair (light brown)
- graines brun foncé (dark brown)
- graines noires (dark black)

Les graines bigarrées correspondent à un mélange de plusieurs couleurs.

Sur le marché international, deux classes de produit sont distinguées : les graines non décortiquées, dites natures et les graines décortiquées, blanchies.

#### **I.4.1.2. Production de la graine de sésame**

Le sésame est cultivé de manière significative dans plus de 60 pays, mais la majorité de la production est d'origine asiatique (61% des surfaces et 70% de la production), l'Inde produisant près de 26% du sésame mondial. Quant à l'Afrique, elle a augmenté significativement sa production depuis 1995 est passée au deuxième rang mondial (25%). Le sésame y est cultivé dans 23 pays avec le Soudan, l'Ouganda et le Nigeria comme plus gros producteurs. L'Afrique de l'Ouest dont la production ne dépasse pas 12000 tonnes a une production en hausse et est très dynamique à l'exportation <sup>41</sup>.

La production mondiale de la graine de sésame dans l'année 1997-98 est d'environ 2.67 million de tonnes <sup>42</sup>. En Algérie, les rendements de la culture de sésame enregistrent une régression depuis les cinq dernières années, en raison des aléas climatiques (la pluviométrie). La surface qui lui est consacrée dans la commune de Ouled Ammar, daïra de Djezzar, située à 120 km à l'extrême-ouest du chef-lieu de la wilaya de Batna, est de 1000 ha, réservée aussi aux espèces connues en Algérie tels que : la coriandre, la graine noire, le fenugrec (halba en arabe), l'anis, le cumin, et la variété « Ouled Ammar » du piment.

#### **I.4.2. L'huile de sésame**

L'huile de sésame est expulsée des graines de *Sesamum indicum*, selon les procédés classiques de l'huilerie : prétraitement thermique des graines, pression et extraction au solvant. L'huile obtenue subit un raffinage traditionnel, à savoir : dégommeage, neutralisation, décoloration et désodorisation. L'huile raffinée est de couleur pâle et d'un goût agréable.

L'huile peut aussi être obtenue par pression « à froid » ensuite filtrée sans traitement chimique. Cette dernière est utilisée pour des buts pharmaceutiques <sup>42</sup>.

#### I.4.2.1. Constantes physico-chimiques de l'huile de graine de sésame

**Tableau 8 :** Constantes physico-chimiques de l'huile de graine de sésame <sup>31,42</sup>

Densité (D <sub>20</sub> )	0.918-0.926
Viscosité (V <sub>20(c.p)</sub> )	64-67
Indice de réfraction (n <sup>20</sup> <sub>D</sub> )	1.474-1.477
Point de solidification (°C)	-3 à -6
Titre	20-25
Indice d'iode (II)	104-120
Indice de saponification (IS)	187-195

#### I.4.2.2. Composition en acides gras

Le tableau suivant donne la composition en acide gras de l'huile de graine de *Sesamum indicum*. Cette huile fait partie du groupe oléique - linoléique, qu'elle possède en quantités équivalentes ; la quantité d'acide linoléique étant faible. D'autre part, la présence de C17:0 a été signalée par certains auteurs <sup>5,31</sup>, de même pour l'acide érucique (**Tableau 9**).

**Tableau 9:** Composition des acides gras de l'huile de sésame

Nature	% Acide gras totaux
C12 :0	< 0.1
C16 :0	<0.1
C16 :0	8-11
C16 :1	<0.3
C17 :0	<0.3
C18 :0	4-6
C18 :1	37-42
C18 :2	39-47
C18 :3	<0.6
C20 :0	<1
C20 :1	<0.4
C22 :0	<0.5

### I.4.2.3. Composition de l'insaponifiable

**Tableau 10:** Composition de l'insaponifiable de l'huile de sésame <sup>5</sup>

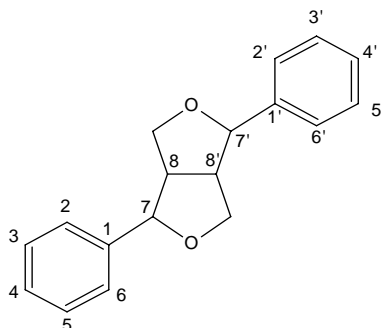
<b>Insaponifiable : 1.0 à 1.5 %</b>			
<b>Teneur en Stérols :</b>		<b>Teneur en tocophérols :</b>	
(en mg/100 g de corps gras)	539-636	(en mg/100 g de corps gras)	20 – 50
<b>Composition des Stérols</b>		<b>Composition des tocophérols</b>	
(en % des stérols totaux)		(en % des tocophérols totaux)	
Cholestérol	< 0.3	$\alpha$ tocophérol	4
Brassicastérol	< 0.1	$\beta$ tocophérol	2
Campestérol	18 - 19	$\gamma$ tocophérol	83
Stigmastérol	6 - 7	$\delta$ tocophérol	11
$\beta$ sitostérol	59 - 62	<b>Composition des lignanes</b>	
$\Delta$ 5 Avenastérol	10 - 11	(en mg/100 g d'huile)	
$\Delta$ 7 Stigmastérol	0.6 - 0.8	Sésamoline	20 - 480
$\Delta$ 7Avenastérol	0.8 - 1.1	Sésamine	70 - 610
Fucostérol	< 0.5	<b>Teneur en alcools</b>	
<b>Teneur en hydrocarbures :</b>		<b>Triterpéniques :</b>	
(en mg/100 g de corps gras)		(en mg/100 g de corps gras)	
(huile brute)	200	(huile brute)	
		180	

### I.4.2.4. Les lignanes de sésame

#### I.4.2.4.1. Définition

Les lignanes désignent habituellement des composés phénoliques dont le squelette résulte de l'établissement d'une liaison entre les carbones  $\beta$  des chaînes latérales et deux unités dérivées du 1-phénylpropane (liaison 8-8').

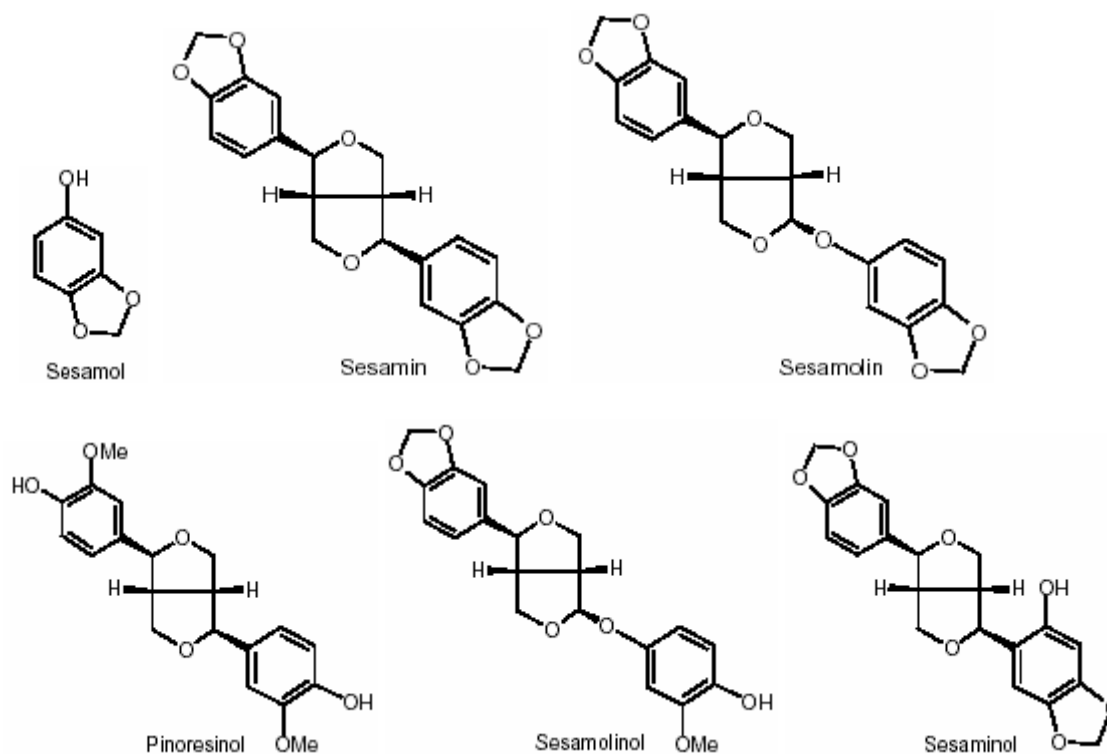
Dans les lignanes on distingue plusieurs groupes structuraux fondamentaux. Les plus simples sont des dibenzylbutanes (liaison 8-8') : qui, par cyclisation, peuvent engendrer des lignanes monofuraniques. La double cyclisation 7-O-7' et 9-O-9' conduit aux lignanes furanofuraniques (**Figure 10**)<sup>38</sup>:



**Figure 10:** Exemple de lignane furanofuranique

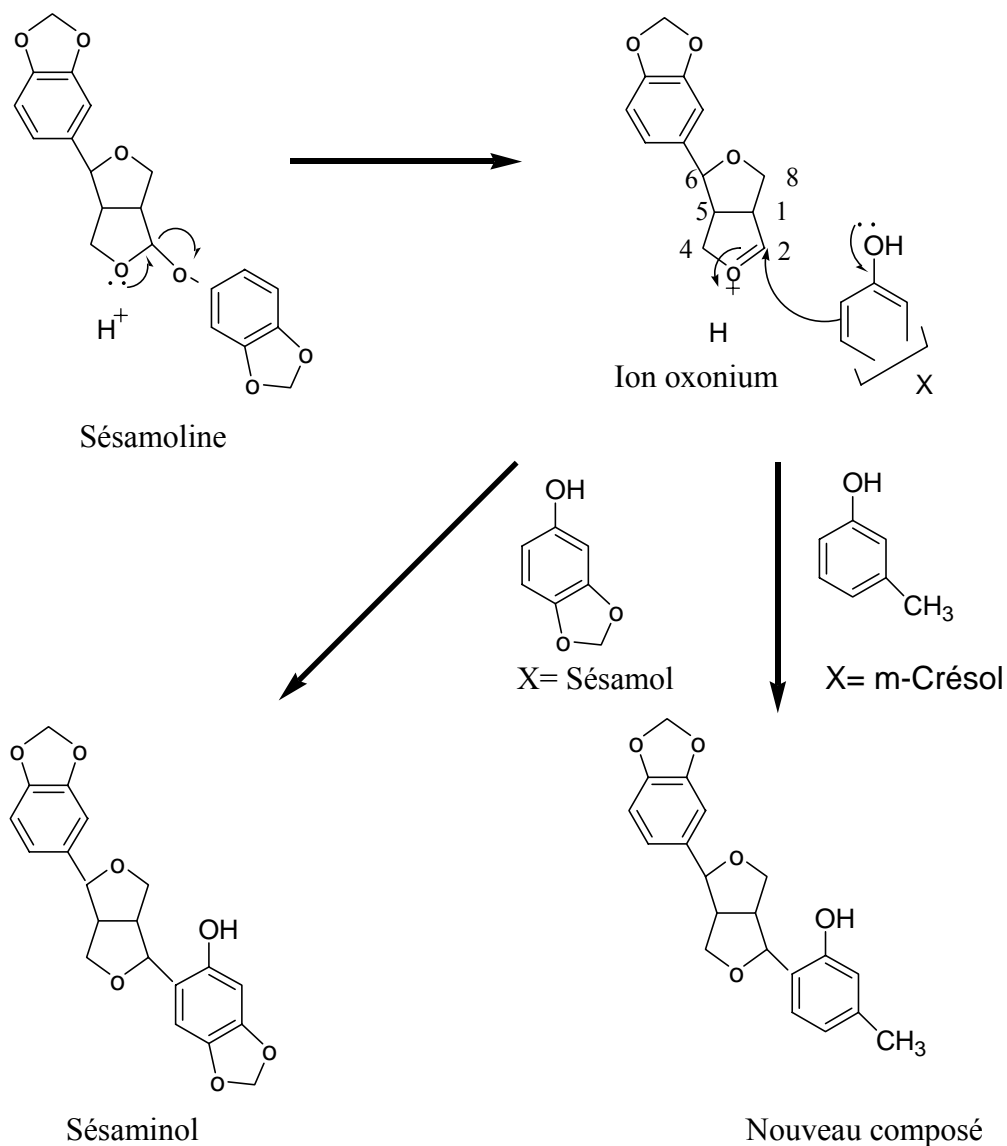
#### I.4.2.4.2. Lignanes du sésame

Le sésamine et le sésamol représentent les lignanes caractéristiques du sésame, leurs teneurs sont de 0.5 – 0.8 et 0.3 - 0.5 %, respectivement, dans la graine. Le sésaminol et ses glucosides, sésamolinol, pinorisinol ont été nouvellement isolés et identifiés comme antioxydants<sup>43</sup> (**Figure 11**).



**Figure 11 :** Les principaux lignanes de l'huile de sésame

L'huile de sésame brute contient une quantité négligeable de sésamol, mais elle est hautement antioxydante. Par contre dans une huile chauffée, un nouveau composé phénolique apparaît : il est appelé sésaminol et a une activité antioxydante comparable à celle du sésamol dans l'huile non chauffée mais plus stable et fortement antioxydante comme le BHA (Butyl hydroxytoluène). Ceci est probablement dû à la structure commune impliquant un substituant à la position ortho- du groupe phénol. Pendant le raffinage de l'huile de sésame et particulièrement pendant la décoloration avec la terre décolorante, des changements dans la composition des lignanes sont remarqués: une perte presque complète du sésamoline et une formation de quantité appréciable de sésamol, de sésaminol et d'épimères. La dégradation est complète dans l'opération suivante de désodorisation.



**Figure 12:** Schéma du mécanisme de formation du sésaminol à partir du sésamoline

Des études ont montré que le sésaminol avec ses épimères sont formés avec des rendements élevés, dans des conditions anhydres. L'addition du m-crésol au système produit un nouveau lignane contenant le groupement crésol. On a proposé un mécanisme de conversion comportant la scission du sésamoline pour produire un ion oxonium et un sésamol, et l'addition électrophile du sésamol à la position ortho- à l'ion d'oxonium pour former le sésaminol <sup>43</sup> (**Figure 12**).

Récemment, la présence de quantités considérables de sésaminol sous forme de glucosides dans une fraction soluble d'eau-alcool de graine de sésame a été démontrée. Ils sont considérés comme facteur potentiel pour le développement des activités fonctionnelles du sésaminol par des processus appropriés tels que le traitement enzymatique et l'hydrolyse acide, et d'ailleurs par l'activité des bactéries intestinales.

### **I.4.3. Utilisations pharmaceutiques, alimentaires, industrielles et nutritionnelles du sésame**

#### **I.4.3.1. Utilisations alimentaires et industrielles <sup>44</sup>**

La graine de sésame est d'une extrême richesse <sup>45</sup> : elle renferme 20 à 22 % de protéines de très haute qualité (les mêmes acides aminés de base que les protéines animales), 48 à 52 % de corps gras et une forte proportion de minéraux et d'oligo-éléments précieux : calcium (Ca), phosphore (P), fer (Fe), magnésium (Mg), silice (Si), aluminium (Al), chrome (Cr), nickel (Ni), cuivre (Cu) et sélénium (Se) ainsi que la quasi-totalité des vitamines du complexe B, E .

Les graines de sésame contiennent trois fois plus de calcium qu'une mesure comparable de lait. Les Européens utilisent son huile en substitution de l'huile d'olive.

La farine du sésame est une poudre brune comestible, crémeuse et légère. Elle est riche en méthionine et en tryptophane ; par contre elle est déficiente en lysine.

L'huile de sésame raffinée est une huile fine à cause de ses propriétés antioxydantes qui tiennent compte de la plus grande résistance au stockage, en plus de l'amélioration de sa saveur et son goût pour l'utilisation alimentaire. L'huile de sésame rôtie résiste au rancissement dû aux antioxydants formés pendant le rôtissage de la graine et la saveur particulière qui améliore le goût du produit frit.

Plusieurs usages industriels ont été identifiés pour le sésame (**Tableau 11**). Il a été utilisé pour préparer des parfums et l'eau de Cologne a été préparée à partir des fleurs du sésame. L'acide myristique (C14:0) est utilisé comme un ingrédient dans les produits de

beauté. Le sésamine a une activité bactéricide et insecticide, et en plus il agit aussi comme un inhibiteur pour l'absorption et la production du cholestérol dans le foie.

**Tableau 11.** Utilisations industrielles, nutritionnelles et pharmaceutiques de l'huile de sésame

44

Utilisations		Phytochimique
<b>Industrielles</b>	Antifongique	Chlorosésamone
	Bactéricide, insecticide	Sésamin, sésamolin
	Cosmétiques Solvant, savon	Acide Myristique
<b>Nutritionnelles</b>	Antioxydant, hepatoprotecteur	Lécithine
	Prévention du cancer	Acide Myristique
	Prévention du cancer, cardioprotecteur	Fibre
<b>L'oxydation des acides gras, antioxydant</b>		<b>Sésamin, sésamolin</b>
	Prévention contre la maladie du coeur	huile du Sésame
	adouçissant de la peau	
<b>Utilisations pharmaceutiques</b>	Véhicule les médicaments et laxative	Huile du Sésame
	Activité Hypoglycémique	Flavonoïdes
	Inhibe la tumeur maligne	Linoléate sous forme de triglycéride

Le sésamoline a aussi des propriétés insecticides et est utilisé comme un synergiste pour les insecticides dérivés du pyrèthre.

L'huile de sésame est utilisée comme un solvant, véhicule oléagineux pour les médicaments, adoucissant de la peau, et utilisé pour la fabrication de la margarine et du savon. Le chlorosésamone obtenu à partir des racines de sésame a une activité antifongique.

#### **I.4.3.2. Utilisations nutritionnelles et médicales**

L'huile de sésame est une huile très intéressante au niveau diététique. Son équilibre entre l'acide oléique C18:1 et l'acide linoléique C18:2 fait de cette huile une très bonne huile de table dans les régimes alimentaires qui ont pour but la prévention des maladies cardiovasculaires et la hausse du "mauvais cholestérol". La présence de la lécithine, par son rôle d'émulsifiant s'oppose au dépôt de cholestérol et de graisses saturées dans les artères.

La présence de deux constituants inhabituels dans l'huile : le sésamine et le sésamoline, donne à l'huile de sésame un fort pouvoir antioxydant donc une grande stabilité à l'oxydation<sup>46</sup>. L'huile de sésame employée en massage augmente l'élasticité de la peau et ralentit le phénomène de vieillissement.

D'autre part, il a été reporté que la sésamine inhibe l'activité de la  $\Delta 5$ -désaturase ainsi que l'absorption du cholestérol<sup>47</sup>; et avec les activités antioxydantes du sésaminol, il a été rendu responsable dans la prévention du cancer<sup>48</sup>. Le sésamol stimule le système digestif et certaines glandes endocrines et fluidifie le sang.

La consommation de la graine de sésame paraît augmenter le taux de  $\gamma$ -tocophérol plasmatique et d'augmenter l'activité de la vitamine E qui évite le cancer et les maladies du coeur<sup>49, 50, 51</sup>.

Historiquement, la fibre est utilisée comme un anti-diabétique, anti-tumeur, anti-ulcère, et évite le cancer et les maladies cardio-vasculaires. La fibre est de 27.100 ppm à 67.000 ppm dans la graine. La graine de sésame contient de la lécithine (un taux de 58 ppm à 395 ppm) qui a une activité antioxydante et hépatoprotectrice. La lécithine est aussi efficace pour réduire la stéatose hépatique pour les patients à maladies de la nutrition parentérale et un traitement efficace contre les dermites et peaux sèches.

Plusieurs utilisations pharmaceutiques ont été identifiées pour le sésame (**Table 12**). L'acide myristique a des effets préventifs contre le cancer. L'huile de sésame est un support pharmaceutique utilisé comme solvant pour les injections intramusculaires, et a des propriétés nutritives, émoullientes et elle a été utilisée comme laxative<sup>38</sup>.

L'huile du sésame est connue pour réduire le cholestérol à cause de la forte teneur en acides gras polyinsaturés contenus dans l'huile; elle a d'autres utilisations pour le traitement des troubles de la vision, vertige, et maux de tête. Les Indiens ont utilisé l'huile de sésame comme un bain de bouche antibactérien, soulager l'inquiétude et l'insomnie. Un récent progrès clinique a prouvé que l'huile du sésame était considérablement plus efficace pour traiter la sécheresse de la muqueuse nasale due à un climat hivernal sec que la solution du chlorure de sodium isotonique<sup>44</sup>.

De plus, l'huile de sésame contient de fortes teneurs en linoléate lié aux triglycérides qui inhibe sélectivement le développement des mélanomes.

**Conclusion**

Pour présenter la graine de sésame ainsi que son huile, sujet de cette étude, ainsi que les corps gras en général, nous avons procédé dans ce premier chapitre à une étude bibliographique.

Nous avons ciblé plus précisément par cette recherche, la composition générale des corps gras et particulièrement de la fraction insaponifiable ; les spécifications de l'huile de la graine de sésame pour introduire le second chapitre consistant en l'échantillonnage de la graine ; l'extraction de l'huile avec différentes méthodes et enfin la caractérisation chimique de cette huile par les techniques de séparation et analytiques les plus performantes.

## **Chapitre II :**

### **Extraction de l'huile de graine de *Sésamum indicum***

## **Introduction.**

Quand on extrait la partie lipidique d'une graine oléagineuse, la méthode aussi bien que les solvants choisis pour exécuter une extraction complète, ou semi complète sont importants. Si ces deux éléments ne sont pas pris en considération, l'extraction peut ne pas être complète, ou l'extrait peut contenir une grande quantité d'impuretés peu désirées.

Dans ce contexte, ce chapitre traitera l'effet de la méthode choisie et du solvant d'extraction sur le rendement et la qualité de l'huile de graine de sésame.

## **II. Extraction.**

### **II.1. Echantillonnage**

L'huile de graine de sésame utilisée dans ce travail a été extraite à partir de graines de *Sesamum indicum*, importées directement de l'Inde par bateau dans des conteneurs de 25 tonnes en sacs de 50 kilogrammes. L'échantillonnage a été réalisé par les inspecteurs du Service de Contrôle de Qualité du Ministère du Commerce (Voir fiche technique en annexe).

La graine choisie n'a pas été décortiquée par des agents chimiques. Elle a gardé son germe coloré et non blanchi.

Nous avons axé notre travail sur l'étude et la caractérisation de l'huile de cette graine qui est très utilisée en Algérie dans les produits de confiserie et de boulangerie, entre autres.

#### **II.1.1. Préparation de l'échantillon :**

L'échantillonnage a été réalisé selon la norme NF V 03-902 en utilisant un diviseur d'échantillon (de marque Seed Buro Quality, Chicago, USA) au niveau du Laboratoire Central de l'OAIC de Chéraga.

Les graines constituant l'échantillon à étudier, ont été d'abord triées afin d'éliminer les graines endommagées. Elles ont subi ensuite un dépoussiérage qui a pour but d'éliminer les corps étrangers.

Nous avons procédé ensuite à la dessiccation partielle de ces graines de sésame dans un four thermostaté à 103°C pendant 4 heures. Le but de cette opération est de maintenir le taux d'humidité à moins de 13% <sup>52</sup>. Un broyage des graines a été effectué ensuite à l'aide d'un broyeur à couteaux afin de réduire les graines de sésame en fines particules et augmenter la surface de contact avec le solvant, facilitant ainsi l'obtention de l'huile.

Un tamisage à travers un crible de 4 mm de diamètre a permis d'homogénéiser les dimensions des particules. Afin d'éviter la dégradation de l'huile contenue dans la graine contre le brunissement thermique, le broyeur utilisé est doté d'une chambre thermostatée.

## **II.2. Méthodes d'extractions utilisées :**

### **II.2.1. Par pression**

L'extraction mécanique est souvent la méthode préférée pour l'extraction de l'huile à partir des graines oléagineuses. Dans notre cas, Il s'agit d'un procédé au cours duquel les graines de sésame non préchauffées sont pressées une seule fois, à travers une presse manuelle à vis sans fin, sans chauffage, afin d'extraire l'huile qu'elles contiennent. Ce type de pressage permet de conserver les éléments nutritifs de l'huile (stérols, lignanes, vitamines, tocophérols, acides gras essentiels, etc...) ainsi que son arôme et son goût.

La température n'excède pas 50°C durant le pressage. Cette chaleur résulte de la friction entre les graines et la vis sans fin qui achemine les oléagineux à travers la presse, les triture et tente d'en expulser l'huile. Après extraction, celle-ci est ensuite filtrée afin de la débarrasser des résidus de graines qu'elle contient, puis stockée dans un flacon ambré.

Cependant, dans le cas des tourteaux (ou grignons) d'olive, le rendement en huile obtenu varie de 15 à 20% avec une teneur en eau de 40 à 50%. L'huile de tourteaux, appelée communément huile de seconde pression peut être extraite par la suite à l'aide d'un solvant <sup>10</sup>.

### **II.2.2. Extraction au solvant**

Un broyage préalable est nécessaire pour obtenir une bonne extraction de l'huile. Les graines, étuvées à 105°C pendant 4 heures, sont réduites au moyen d'un broyeur à lames (Prolabo), libérant ainsi une farine plus ou moins fine. Dans notre cas, la granulométrie obtenue est comprise entre 1 et 1,25 mm.

Par la suite, les conditions optimales d'extraction au "Soxhlet" ont été déterminées. Cinq solvants ont été utilisés: hexane (Eb.: 68-70°C), éther diéthylique (Eb.: 34-35°C), isopropanol (Eb.: 81-83°C), heptane (Eb.: 98-99°C) et acétone (Eb.: 55-57°C), avec des pouvoirs d'extraction semblables. Des mélanges binaires tels que hexane/isopropanol (3:1 vol/vol) et heptane/isopropanol (3:1 vol/vol) ont été aussi utilisés pour augmenter le rendement de l'extraction. Le dernier mélange a été déjà cité en littérature pour l'extraction de l'huile de gaine de sésame <sup>53</sup>. Il est à noter que le solvant le plus utilisé actuellement à l'échelle industrielle dans le domaine des corps gras est l'hexane <sup>10, 11, 5</sup>.

Dans notre cas, c'est ce solvant qui a été retenu pour les extractions de quantités importantes d'huile à cause de son point d'ébullition. La volatilité de l'éther diéthylique occasionne des pertes importantes de ce solvant, tandis qu'avec l'isopropanol l'huile est colorée et contient des particules au fond du tube. Le contact solvant-broyat est de type percolation-macération, il a lieu dans la cartouche d'un "Soxhlet" contenant 50g de broyat. Le maximum d'extraction a été obtenu après 40 passages de solvant (cycles de reflux).

La séparation de l'huile et du solvant est réalisée en deux opérations, une distillation à pression réduite au moyen d'un évaporateur rotatif (température du bain chauffant 35-50°C en fonction du solvant). Les dernières traces de solvant sont éliminées sous jet d'azote afin de préserver les composés volatils de l'huile.

L'huile brute extraite a une couleur jaune et contient des particules blanchâtres en suspension (entraînées physiquement par le solvant, ou dissoutes par le solvant d'extraction puis libérées après l'élimination de celui-ci).

Cette extraction repose sur le principe suivant : les composés apolaires comme les corps gras sont insolubles dans les composés polaires comme l'eau, mais solubles dans les solvants apolaires tels que l'hexane. Le point d'évaporation de l'hexane étant inférieur à celui des matières grasses à extraire, il est donc très facile de les séparer par chauffage.

### **II.2.3. Extraction assistée par ultrasons**

L'application des ondes ultrasonores améliore la cinétique de l'extraction par solvant de l'huile de la graine car certains auteurs ont relevé que l'effet mécanique de ces vibrations favorise le transfert de masse et ce, pour plusieurs raisons <sup>54</sup>:

- le pouvoir des ultrasons facilite une meilleure pénétration du solvant dans la cellule de la graine
- ils provoquent la destruction des parois cellulaires facilitant ainsi la libération de l'huile.

Dans notre cas, 100g de flocons de graines de sésame ont été ajoutés à 150 mL d'hexane. Le mélange a été soumis aux ultrasons à un niveau d'intensité correspondant à 40W/cm<sup>2</sup> pendant 6 heures. Nous avons utilisé une faible puissance avec une fréquence élevée pour éviter les phénomènes de destruction et de cavitation <sup>55</sup>.

## **II.3. Résultats et discussion**

Les rendements d'extraction obtenus par les différents procédés utilisés sont présentés dans le **tableau 12**.

**Tableau 12 :** Rendement de l'extraction de l'huile de graine de sésame.

Type d'extraction	Solvant	Rendement en huile (%)	
		Graine broyée	Graine non broyée
Soxhlet	Hexane	48.46	0.11
Soxhlet	Hexane /Isopropanol	53.54	0.358
Soxhlet	Ether	47.38	0.045
Soxhlet	Isopropanol	45.97	0.76
Soxhlet	Heptane	53.89	-
Soxhlet	Acétone	49.05	0.328
Soxhlet	Heptane/Isopropanol	56.21	-
Sous agitation	Hexane	41.57	-
Ultrasons (40 Hz)	Hexane	31.15	-
Pression mécanique	-	14.5	11.67

(-) : valeur inférieure à 0.001%.

#### Effet du solvant:

Il apparaît sur le tableau ci-dessus que le rendement de l'extraction au Soxhlet de l'huile de la graine broyée avec les différents solvants est élevé et compris entre 45% et 56%. Les solvants polaires tels que l'éther et l'isopropanol donnent un rendement moindre en huile que les solvants apolaires tels que l'heptane et l'hexane. Par contre, dans le cas des mélanges hexane/isopropanol (3:1 v/v) et heptane/isopropanol (3:1 v/v), le rendement en extraction est plus élevé par rapport aux autres solvants homogènes, le pourcentage étant respectivement de 53.54% et 56.21%. Ceci montre qu'il y a eu une augmentation de 2.32% par rapport à l'heptane et 5.08% par rapport à l'hexane (**Tableau 13**).

**Tableau 13:** Effet du solvant sur le rendement d'extraction au Soxhlet.

Type d'extraction	Solvant d'extraction	Rendement d'extraction (%)	Polarité du solvant	Point d'ébullition (°C)	Viscosité $\eta$ du solvant (cps)
Soxhlet	Heptane/Isopropanol	56.21	-	85-87	-
Soxhlet	Heptane	53.89	0.2	98-99	0.4
Soxhlet	Hexane/Isopropanol	53.54	-	77-80	-
Soxhlet	Acétone	49.05	5.1	55-57	0.3
Soxhlet	Hexane	48.46	0.1	68-70	0.3
Soxhlet	Ether	47.38	2.8	34-35	0.24
Soxhlet	Isopropanol	45.97	3.9	81-83	1.9

En conclusion, l'extraction par Soxhlet avec les solvants apolaires donne un rendement relativement élevé qui peut être amélioré par l'addition d'isopropanol, ce dernier favorisant l'obtention des constituants moyennement polaires.

#### Effet de la méthode d'extraction

**Tableau 14:** Rendement des différentes méthodes d'extractions.

Méthode d'extraction	Solvant	Temps (h)	Rendement d'extraction(%)	
			Graine broyée	Graine non broyée
Soxhlet	Hexane	6	<b>48.46</b>	<b>0.11</b>
Sous agitation	Hexane	6	<b>41.57</b>	-
Ultrasons	Hexane	6	<b>31.15</b>	-
Pression mécanique	-	-	<b>14.9</b>	<b>11.67</b>

Le rendement en huile des graines broyées est nettement plus prononcé dans le cas de l'extraction avec le Soxhlet et en utilisant comme solvant l'hexane. Par contre pour la graine non broyée, le faible rendement observé peut s'expliquer par la présence de la pellicule de la graine qui montre une résistance à la diffusion du solvant. L'importance du broyage apparaît également dans le cas de la pression mécanique où l'huile est libérée plus facilement (**Tableau 14**).

**Conclusion :**

Nous avons constaté que le choix de la méthode d'extraction et du solvant utilisé a un grand effet sur le rendement en huile.

Dans notre cas nous avons remarqué que le procédé au Soxhlet, avec le mélange de solvant heptane/isopropanol (3/1, v/v) fournit le rendement le plus élevé en huile de graine de sésame estimé à 56.21%.

# **Chapitre III :**

## **Caractéristiques chimiques**

**Introduction.**

Les indices physico-chimiques sont des critères essentiels pour la caractérisation des corps gras car, malgré les progrès des techniques analytiques, certains de ces critères sont toujours considérés pour une évaluation rapide et fiable de leur qualité.

On peut considérer grossièrement que l'indice d'acide définit la qualité de la graine, l'indice de peroxyde l'âge de l'huile, l'indice d'iode son degré d'insaturation alors que l'indice de saponification offre des informations sur la longueur de la chaîne des acides gras. D'autre part, la différence entre l'indice de saponification et l'indice d'acide permet de déduire la teneur en glycérol, la valeur obtenue correspondant à l'indice d'ester.

**III.1. Indice d'acide** (Norme Française T60 204):

L'indice d'acide est défini comme étant le nombre de milligrammes de potasse nécessaires pour neutraliser l'acidité de 1 gramme de l'huile. La détermination de l'acidité de l'huile extraite est une mesure qui a souvent une très grande importance commerciale. Elle se fait sur l'huile séchée et pesée.

Dans une fiole conique de 250mL, peser à 0.01g près 5 g d'huile. Dissoudre la prise d'essai dans 100mL environ du mélange à parts égales d'éthanol et de diéthyléther préalablement neutralisé. Titrer en agitant, avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium 0.1N jusqu'à coloration rose de la phénophtaléine persistant pendant au moins 10s<sup>31, 56</sup>. L'indice d'acide est donné par la relation :

$$I_A = (V \times 56.1 \times N) / P$$

où V désigne le volume de potasse employé, N la normalité de la solution et P la masse de la prise d'essai.

**III.2. Indice de peroxyde :** (Norme Française T60 220)

L'indice de peroxyde représente la quantité de substance de l'échantillon (exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme) qui oxydent l'iodure de potassium dans les conditions de travail décrites.

Dans une fiole, peser à 0,001 gramme près, 2 grammes d'échantillon. Ajouter 10 millilitres de chloroforme. Dissoudre rapidement la prise d'essai en agitant. Ajouter 15 millilitres d'acide acétique puis 1 millilitre de solution d'iodure de potassium.

Remettre le bouchon rapidement, agiter pendant une minute et laisser reposer pendant exactement 5 minutes à l'abri de la lumière et à une température de 15 à 25 °C.

Ajouter environ 75 millilitres d'eau distillée. Titrer l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,002 N en agitant vigoureusement et en employant une solution d'empois d'amidon (6.5) comme indicateur.

Effectuer simultanément un essai à blanc. Si le résultat de ce dernier excède 0,05 millilitre de solution de thiosulfate de sodium (6.4) 0,001N, remplacer les réactifs impurs<sup>31,56</sup>.

L'indice de peroxyde ( $I_P$ ), exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme, est fourni par la formule:

$$I_P = (V \times T \times 1\,000) / m \quad \text{où:}$$

V: = nombre de millilitres de solution de thiosulfate de sodium normalisée utilisée pour l'essai, corrigé en fonction des résultats de l'essai à blanc;

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

m: masse (en grammes) de la prise d'essai.

### III.3. Indice de saponification : (Norme Française T60 206)

L'indice de saponification est la quantité de potasse exprimée en milligrammes nécessaire pour saponifier 1 gramme de l'huile.

Peser au milligramme dans un erlenmeyer à fond plat, 2 g d'huile. Ajouter 25 mL, exactement mesurés, de potasse alcoolique (0.5 N), et porter à ébullition sous un réfrigérant à reflux. Il est conseillé d'ajouter dans l'erlenmeyer un régulateur d'ébullition (pierre ponce, billes de verre..). Maintenir l'ébullition pendant une heure en agitant de temps en temps. Titrer l'excès d'alcali dans la solution savonneuse chaude avec de l'acide chlorhydrique (0.5 N) en présence de phénolphtaléine.

Faire un essai à blanc dans les mêmes conditions pour titrer la liqueur alcoolique de potasse<sup>31,56</sup>.

Soient m la masse en gramme de la prise d'essai,  $C_1$  le nombre de millilitres d'acide chlorhydrique utilisé dans l'essai à blanc et  $C_2$  le nombre de millilitres d'acide chlorhydrique utilisé dans l'essai avec l'huile.

L'indice de saponification est donné par la formule :

$$I_S = ((C_1 - C_2) \times 28) / m$$

### III.3. Indice d'iode : (Norme Française T60 203)

L'indice d'iode est le nombre de grammes d'iode fixés par 100 grammes d'huile. L'unité choisie pour l'indice d'iode est dix fois plus grande que celles retenues pour les autres indices.

Introduire la prise d'essai (0.13g d'huile) dans une fiole de 500 millilitres. Ajouter 20 millilitres de solvant pour dissoudre l'huile. Ajouter exactement 25 millilitres du réactif de Wijs, boucher, agiter le contenu et placer la fiole dans un endroit sombre pendant une heure. Préparer un essai à blanc avec le solvant et le réactif mais sans la prise d'essai.

Une fois ce laps de temps écoulé, ajouter 20 millilitres de la solution d'iodure de potassium et 150 millilitres d'eau dans chaque fiole.

Titrer avec la solution de thiosulfate de sodium 0.1N en présence d'empois d'amidon jusqu'à ce que la couleur jaune due à l'iode ait pratiquement disparu. Ajouter quelques gouttes de la solution d'amidon et poursuivre la titration jusqu'au moment où la couleur bleue disparaît après avoir agité vigoureusement le contenu<sup>31, 56</sup>.

L'indice d'iode est égal à:

$$I_1 = (12,96 C (V1 - V2)) / m \quad \text{où:}$$

C: concentration, en moles par litre, de la solution de thiosulfate de sodium utilisée;

V1: volume, en millilitres, de la solution Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utilisée pour l'essai à blanc;

V2: volume, en millilitres, de la solution Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> utilisée pour la détermination;

m: masse, en grammes, de la prise d'essai.

### III.5. Résultats et discussion :

Les résultats des indices chimiques de l'huile de graine de sésame extraite avec différents solvants et différentes méthodes sont reportés dans le **tableau15**.

La valeur des indices d'acide des résidus d'extraction est relativement inférieure à celle citée par la littérature (indice d'acide = 4.50 mg KOH) sauf dans le cas de l'huile de pression de graine broyée qui dépasse légèrement l'acidité citée. La faible valeur d'indice caractérise la stabilité de l'huile de sésame (**Tableau 15**)<sup>57</sup>.

L'indice d'acide des résidus est compris entre 1 et 5. C'est un signe de la présence d'acides gras libres en quantité. L'origine de ces derniers est la réaction d'hydrolyse des lipides de réserve par la lipase. Cette réaction n'aurait lieu que lors du broyage de la graine qui mettrait alors en contact la lipase avec l'huile<sup>58</sup>.

**Tableau 15** : Résultats d'analyse chimique de l'huile obtenus par différentes méthodes d'extraction

Type d'extraction		Solvants	Indices			
			Acide	Peroxyde	Saponification	Iode
Soxhlet		Hexane	3.51	7	194	105
Soxhlet		Hexane /Isopropanol	1.27	9	194	106
Soxhlet		Ether diéthylique	1.67	11	191	106
Soxhlet		Isopropanol	1.08	10	189	104
Soxhlet		Heptane	4.02	8	191	108
Soxhlet		Acétone	2.34	7	193	106
Soxhlet		Heptane/Isopropanol	1.70	10	187	105
Sous agitation		Hexane	2.23	2	187	105
Ultrason (40 Hz)		Hexane	2.49	2	187	105
Pression mécanique	Broyée	-	4.55	2	185	106
	Non Broyée	-	1.10	2	194	105

Les solvants apolaires tels que l'hexane et l'heptane, donnent une huile à indice d'acide élevé de 3.5 à 4 mg de KOH/g d'huile, et qui sera réduit environ au 1/3 de leurs valeurs par l'adjonction de l'isopropanol à raison de trois (03) fois le volume de l'hexane ou bien l'heptane. Ceci est dû à l'inhibition de l'activité de la lipase par l'isopropanol <sup>59</sup>. Ce dernier solvant (isopropanol) a été utilisé à 100% pour l'extraction, et l'acidité du résidu est d'environ 1mg de KOH/g de l'huile et c'est l'indice le plus faible même par rapport aux résidus obtenus par pression mécanique et sous ultrasons.

L'indice de peroxydes des huiles (**Tableau 15**) varie significativement selon la méthode d'extraction. L'indice de peroxydes selon la norme codex pour l'huile de sésame vierge est de 10 meq O<sub>2</sub>/kg <sup>60</sup>. Les huiles obtenues par Soxhlet avec les différents solvants présentent un indice de peroxydes légèrement proche de la norme Codex à l'exception de celle extraite avec l'éther diéthylique (11 meq O<sub>2</sub>/kg). D'autre part, dans le cas des extractions sans l'intervention de la chaleur, l'indice de peroxyde est faible (2 meq O<sub>2</sub>/kg)

L'indice de saponification présente une différence significative en fonction de la méthode d'extraction (voir **Tableau 4**). Par la méthode de pression mécanique de la graine broyée, le résidu obtenu enregistre la plus petite valeur (185 mg KOH/g d'huile). Ceux obtenus par la méthode au Soxhlet avec l'hexane et pression mécanique de la graine broyée enregistrent la plus grande valeur (194 mg KOH/g d'huile) (**Tableau 15**).

L'indice d'iode varie légèrement avec la méthode d'extraction de 105 à 106. Par contre, dans le cas des huiles obtenues par différents solvants (hexane, éther, isopropanol, heptane, acétone) l'indice d'iode enregistre une variation significative. La plus grande valeur est obtenue avec l'heptane (108) comme solvant d'extraction, et la valeur la plus basse (104) est enregistrée avec l'isopropanol (**Tableau 15**).

### **Conclusion :**

Les huiles sont généralement caractérisées par des indices relatifs à leur composition chimique en constituants caractéristiques.

Ces indices révèlent les propriétés de l'huile et leur détermination est conséquente au choix de la méthode d'extraction et du solvant employé.

Dans notre cas nous avons constaté que les solvants apolaires tels que l'hexane et l'heptane, sont favorables à un indice d'acide élevé, et qui s'avère réduit environ au tiers après adjonction de l'isopropanol à raison de trois (03) fois le volume d'hexane ou bien d'heptane.

Nous avons constaté par ailleurs que la méthode d'extraction influence significativement la détermination de l'indice de saponification et de peroxydes alors qu'une légère variation a été marquée pour l'indice d'iode.

D'autre part, dans le cas des extractions sans l'intervention de la chaleur nous avons obtenu un faible indice de peroxyde (2 meq O<sub>2</sub>/kg).

## **Chapitre IV :**

# **Fractionnement de l'huile de sésame et de l'insaponifiable**

## **Introduction.**

La capacité d'une méthode analytique pour caractériser une huile végétale est basée sur l'identification et la quantification de ses composés qui sont attendus pour être en liaison avec leurs attributs d'origine et de qualité. C'est, cependant, une tâche difficile car ces groupes contiennent de nombreuses espèces avec une grande diversité de polarités, de concentrations et de structures chimiques. Par conséquent, les méthodes exigent habituellement l'isolement et l'analyse des constituants mineurs au moyen de plusieurs procédures de séparation, d'identification et de quantification. Pour analyser ces constituants, une étape préliminaire d'isolement de la matrice des triglycérides est exigée.

Dans ce but, trois procédures sont généralement utilisées : la saponification, l'extraction liquide-liquide et les techniques chromatographiques. La chromatographie sur colonne est largement répandue pour séparer des fractions ayant des constituants de polarités semblables.

### **IV.1.1. Fractionnement de l'huile de sésame**

#### **IV.1.1.1 Extraction des phosphatides.**

Les phosphatides forment des mélanges complexes de plusieurs classes de composés où entrent les acides gras, le glycérol, l'acide phosphorique et, dans certains cas, des bases alcooliques azotées ou des acides aminés.

Leur faible solubilité dans l'acétone permet de les précipiter de manière simple et de les doser par gravimétrie. La méthode normalisée par IUPAC et AOCS <sup>31</sup> est décrite ci-après :

Dissoudre 25 g d'huile dans 200mL d'acétone, soit P cette masse. Laisser reposer 2 heures à 4°C. Filtrer sur un filtre taré. Laver à l'acétone jusqu'à ce que l'acétone de lavage ne contienne plus de corps gras. Sécher à 100-105°C et peser. Soit P<sub>1</sub> ce poids. La teneur en phosphatides est donnée par :

$$\% \text{ phosphatides} = (P_1 / P) \times 100$$

#### **IV.1.1.2. Extraction des cires.**

La détermination des cires est importante pour évaluer la qualité et l'authenticité de l'huile. Les méthodes décrites pour isoler ces cires utilisent généralement la CCM sur gel de silice. Cependant, la méthode la plus préconisée est la chromatographie sur colonne; elle a été adoptée par l'Union Européenne comme méthode officielle. La séparation est affectée par la

nature du solvant d'élution (hexane/éther diéthylique, 99:1), la température et l'activation du gel de silice<sup>13</sup>.

Le protocole utilisé dans ce travail est celui qui a été adopté par le Comité Scientifique de l'Union Européenne<sup>13</sup> et le Conseil International de l'Huile d'Olive «Oleicol»<sup>61</sup>.

#### **IV.1.1.2.1. Préparation de la phase stationnaire.**

Le gel de silice 70-230 mesh (Merck.) est placé dans un four à 500°C pendant 4 heures. Après refroidissement, on ajoute 2% d'eau et on agite convenablement afin d'homogénéiser la masse. Conserver à l'obscurité pendant au moins 12 heures avant emploi.

#### **IV.1.1.2.2. Préparation de la colonne chromatographique**

Suspendre 15g de gel de silice hydratée à 2% dans le n-hexane anhydre et les introduire dans la colonne. Après tassement spontané, compléter à l'aide d'un agitateur électrique pour rendre la couche chromatographique plus homogène. Faire percoler 30 mL de n-hexane afin d'éliminer les impuretés éventuelles.

#### **IV.1.1.2.3. Conduite de la chromatographie sur colonne**

Peser exactement 500mg (**M**) de l'échantillon dans un erlenmeyer de 25 mL. Transférer l'échantillon ainsi préparé dans la colonne chromatographique préparée comme indiqué en (IV.1.1.2.2) à l'aide de deux portions de 2 mL chacune de n-hexane.

Laisser s'écouler le solvant jusqu'à 1 mm au-dessus du niveau supérieur de l'absorbant. À ce point commence l'élution chromatographique; recueillir 140 mL du mélange n-hexane/éther diéthylique, 99:1, tout en respectant un débit d'environ 15 gouttes toutes les 10 secondes.

La fraction ainsi obtenue est concentrée à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à élimination pratiquement totale du solvant. Les 2 ou 3 derniers mL du solvant sont éliminés sous faible courant d'azote. Soit **m** la masse des cires ainsi obtenue. La teneur en cires est donnée par :

$$\% \text{ cires} = (m/M).100$$

#### **IV.1.1.3. Extraction de l'insaponifiable.**

L'extraction de l'insaponifiable repose sur le choix du système d'extraction. Certains auteurs préconisent un procédé d'extraction au moyen d'un hydrocarbure gazeux sous pression<sup>21</sup>, d'autres proposent l'extraction après saponification alcoolique et précipitation du concentrat par hydratation du filtrat alcoolique<sup>24</sup>.

Dans notre cas, pour l'extraction de l'insaponifiable de l'huile de graine de sésame, nous avons opté pour la saponification suivie d'une extraction de l'insaponifiable avec un

solvant tel que l'éther diéthylique<sup>56,31</sup>. Certains auteurs conseillent d'utiliser l'éther diéthylique pour l'extraction de l'insaponifiable quand on a besoin d'étudier les stérols.

Le seul inconvénient de cette méthode, c'est que ces insaponifiables extraits à l'oxyde diéthylique sont généralement contaminés par des acides gras libres<sup>31,62</sup>.

Dans ce travail, l'extraction de l'insaponifiable a été conduite de la manière suivante :

Dans un ballon à col rodé de 250mL, peser 5g de l'échantillon (soit **M** cette masse). Ajouter 50mL d'une solution de potasse alcoolique de concentration minimum 3% dans l'alcool éthylique et quelques graines de pierre ponce. Munir le ballon d'un réfrigérant ascendant. Porter à légère ébullition pendant 1 heure .

Retirer le ballon du bain marie. Transvaser le contenu dans une ampoule à décanter. Faire un premier rinçage du ballon avec au maximum 100 mL d'eau qui seront versées ensuite dans l'ampoule, puis un second rinçage avec 100mL d'oxyde d'éthyle qui seront également versées dans l'ampoule. Boucher l'ampoule et secouer vigoureusement. Laisser décanter jusqu'à séparation des deux couches.

Soutirer la couche hydroalcoolique par le robinet, dans le ballon de saponification. Verser la couche étherée par le haut de l'ampoule dans la deuxième ampoule à décantation contenant 40mL d'eau. Extraire à nouveau la solution hydroalcoolique de savon dans la première ampoule, deux fois encore par 100mL d'oxyde d'éthyle de la même manière. Réunir les trois fractions étherées dans la deuxième ampoule.

Faire tourner l'ampoule contenant la solution étherée et les 40 mL d'eau, sur elle-même sans secousse violente; laisser décanter et soutirer l'eau de lavage. Laver la solution étherée 2 fois avec 40mL d'eau en secouant vigoureusement, puis laver successivement en secouant vigoureusement avec alternativement 40mL de solution aqueuse de potasse (à 3%), 40mL d'eau, 40mL de solution aqueuse de potasse, 40 mL d'eau jusqu'à ce que les eaux de lavages ne se colorent plus en rose par addition de cinq gouttes de phénolphtaléine.

Transvaser la solution étherée dans un ballon taré, évaporer complètement le solvant en chauffant au bain marie. Ajouter 6mL d'acétone et les évaporer en s'aidant d'un léger courant d'air. Tenir le ballon obliquement presque entièrement immergé, et le faire tourner dans un bain-marie d'eau bouillante.

Terminer le séchage à 105°C dans l'étuve et peser. Soit **m** la masse trouvée. La teneur en insaponifiable est donnée par:

$$\% \text{ insaponifiable} = (m/M).100$$

#### IV.1.1.4. Extraction des acides gras.

Les eaux savonneuses récupérées au cours de la phase finale de l'extraction de l'insaponifiable sont transvasées quantitativement (**Paragraphe IV.1.1.3**) dans une fiole. Après addition de 20 mL d'acide sulfurique à 20%, le tout est chauffé en présence d'un régulateur d'ébullition, jusqu'à la formation d'une couche supérieure limpide d'acides gras.

La solution est refroidie et transvasée dans l'ampoule à décanter initiale où il y a déjà 10 mL d'éther de pétrole. Ajouter 40mL d'éther de pétrole et agiter énergiquement l'ampoule. Après séparation des deux phases, la phase aqueuse inférieure est récupérée puis lavée par deux fois 20 mL d'éther de pétrole.

Réunir toutes les phases étherées contenant les acides gras dans l'ampoule à décanter. Laver par l'eau distillée jusqu'à réaction neutre avec le méthyl orange.

La solution étherée est séchée sur sulfate de sodium anhydre dans un ballon préalablement séché à 105°C et pesé jusqu'à poids constant. (Soit  $P_1$  la masse du ballon vide).

L'éther est distillé au bain marie, puis le ballon contenant les acides gras est séché à l'étuve à 105°C pendant une heure. Continuer le séchage jusqu'à ce que la perte de masse entre deux pesées consécutives soit inférieure à 2 mg. Soit  $P_2$  la masse du ballon contenant les acides gras<sup>31</sup>. La teneur en acides gras est donnée par :

$$\%AG = (P_2 - P_1).100/P$$

$P$  est la masse de la prise d'essai qui a servi à l'extraction de l'insaponifiable (**III.1.1.3**)

#### IV.1.1.5. Résultats et discussion :

Les différentes teneurs des composés mineurs et majeurs de l'huile de graine de sésame sont représentées dans le tableau 16:

**Tableau 16 :** Teneurs en composés mineurs et majeurs de l'huile de graine de sésame

Cires	1.72 %
Phospholipides	0.92 %
Insaponifiable	1.69 %
Acide gras	85.21 %

Ces résultats sont proches des valeurs citées dans la littérature<sup>5, 31, 63</sup> à l'exception de certaines fractions qui sont liées à la technique d'extraction. La teneur de l'huile en

insaponifiable est de 1.69%. Les phospholipides se situent à 0.92%, une valeur très supérieure à celle citée par A. Kamal-Eldin <sup>53</sup>; par contre les teneurs en cires et en acides gras sont plus importantes, leurs valeurs sont respectivement 1.72 et 85.21%. En utilisant l'indice de saponification et l'indice d'acide pour l'huile extraite dans les mêmes conditions (solvant hexane avec Soxhlet), on peut obtenir l'indice d'ester d'après la formule suivante :

$$\text{Indice d'ester} = \text{Indice de saponification} - \text{Indice d'acide}$$

L'indice d'ester correspond à la masse de potasse (en mg) nécessaire pour saponifier les esters contenus dans 1 g de corps gras. C'est-à-dire la quantité de KOH nécessaire pour transformer en savons, les acides gras sous forme de triglycérides contenus dans 1g de corps gras. Dans notre cas, il est de 190 mg KOH/g d'huile.

D'autre part, la détermination de l'indice d'ester nous permet de calculer la teneur en glycérol lié aux triglycérides d'après la formule suivante:

$$\text{G\%} = (9.20 \times \text{IE} \times 100) / (56.11 \times 3 \times 1000)$$

Pour notre huile, le taux de glycérol calculé est de 10.39%.

En faisant la somme de cette valeur calculée théoriquement avec les teneurs des autres fractions obtenues expérimentalement, on obtient un total de **99.93%**. On peut raisonnablement supposer que les traces restantes pourraient correspondre soit au glycérol libre (non estérifié) ou bien à certaines parties de l'insaponifiable qui sont retenues par la phase stationnaire de la colonne.

#### **IV.1.2. Fractionnement de l'insaponifiable par chromatographie colonne en gel d'alumine.**

Le fractionnement de l'insaponifiable en ses divers groupes de constituants (stérols, alcools, tocophérols, carbures...) est le préambule indispensable à toute étude complète de sa composition. L'utilisation de la chromatographie sur colonne pour le fractionnement complet de l'insaponifiable, s'avère extrêmement longue. Aussi la tendance actuelle est-elle de ne l'employer que pour étudier les constituants de l'insaponifiable les plus facilement élués lors d'une chromatographie d'adsorption, c'est-à-dire les hydrocarbures.

La méthode est à conseiller pour les insaponifiables extraits à l'oxyde diéthylique qui peuvent être chromatographiés directement, sans séparation préalable des acides gras qui seront retenus très facilement par la colonne<sup>31</sup>.

#### IV.1.2.1. Préparation de la phase stationnaire.

Le gel d'alumine doit être placé dans le four à 500°C pendant 4 heures. Après refroidissement, lui ajouter 2% d'eau. Agiter convenablement afin d'homogénéiser la masse. Conserver à l'obscurité pendant au moins 12 heures avant emploi.

#### IV.1.2.2. Préparation de la colonne chromatographique

Suspendre 15 g de gel d'alumine hydraté à 2% dans le n-hexane anhydre et les introduire dans la colonne.

Après tassement spontané, le compléter à l'aide d'un agitateur électrique pour rendre la couche chromatographique plus homogène. Percoler 30 ml de n-hexane afin d'éliminer les impuretés éventuelles.

#### IV.1.2.3. Conduite de la chromatographie sur colonne

Dissoudre exactement 300 mg d'insaponifiable dans quelques millilitres d'hexane et les verser en haut de la colonne. Adapter le réservoir de solvant et faire couler l'hexane qu'il contient à travers la colonne. Une grande précision est recommandée lors de cette étape<sup>31</sup>.

L'élution des hydrocarbures et du squalène est totale lorsque 60 mL d'hexane auront été recueillis en bas de la colonne.

Recueillir alors les fractions suivantes dans un autre erlenmeyer et poursuivre l'élution avec le mélange hexane-benzène jusqu'à élution totale du carotène, qui forme un anneau jaune visible sur la colonne; pour cela, 50 mL du mélange généralement suffisent.

Les alcools sont élués en même temps que les tocophérols par un mélange plus polaire que celui utilisé pour les carotènes et qui est constitué par 60 volumes d'hexane et 40 volumes d'oxyde d'éthyle.

Les stérols sont élués avec un mélange plus polaire encore (hexane/oxyde d'éthyle à volumes égaux). Distiller la majeure partie du solvant dans les deux fractions recueillies. Finir de chasser le solvant sous gaz inerte et peser les deux fractions obtenues.

Soit  $P_1$  le poids d'hydrocarbures obtenu,  $P_2$  celui de carotènes,  $P_3$  celui du mélange alcools/tocophérol et  $P_4$  celui des stérols. Si  $P$  est le poids de la prise d'essai, les différentes teneurs sont données par :

$$\text{Hydrocarbures (en \% de l'insaponifiable)} = (P_1/P).100$$

$$\text{Carotènes (en \% de l'insaponifiable)} = (P_2/P).100$$

$$\text{Alcools / tocophérols (en \% de l'insaponifiable)} = (P_3/P).100$$

$$\text{Stérols (en \% de l'insaponifiable)} = (P_4/P).100$$

#### IV.1.2.4. Résultats et discussion :

Le tableau 17 donne les teneurs et la composition des différents constituants de l'insaponifiable

**Tableau 17 :** Composition de l'insaponifiable de l'huile de graine de sésame

<b>Insaponifiable : 1.69%</b>	
Teneur en hydrocarbure : <b>58.03</b> <i>(en mg/100g d'huile de sésame)</i>	Teneur en stérols : <b>620</b> <i>(en mg/100g d'huile de sésame)</i>
Teneur en carotène : <b>23.2</b> <i>(en mg/100g d'huile de sésame)</i>	Teneur en tocophérols et alcools : <b>134.77</b> <i>(en mg/100g d'huile de sésame)</i>

Le fractionnement de l'insaponifiable a été conduit dans les conditions prescrites ci dessus. Le tableau 17 montre la forte teneur en stérols qui se situe à 620mg dans 100g de l'huile de sésame, c'est un résultat qui coïncide avec les pourcentages trouvés dans les travaux de A. Kamal-Edine<sup>64</sup> ainsi que d'autres travaux concernant les stérols des graines oléagineuses. D'autre part, le pourcentage du mélange tocophérol et alcool est faible par rapport à ce que donne la bibliographie<sup>5</sup>. La quantité d'hydrocarbure trouvée dans l'huile de graine de sésame est estimée à 58mg par 100g d'huile, elle très faible par rapport à ce que donne Wolff<sup>31</sup> et Karleskind<sup>5</sup> pour une huile brute (**voir tableau 10**). Pour nous, c'est un résultat logique du fait que l'huile brute contient une certaine quantité de farinette et d'autres impuretés ainsi qu'un certain taux d'humidité. Ces paramètres favorisent les réactions de dégradation de l'huile dont les produits constituent la fraction d'hydrocarbure.

En ce qui concerne les carotènes, une teneur de 23.2 mg/100g d'huile a été trouvée. Par rapport à la littérature aucune donnée sur les carotènes de l'huile de graine de sésame n'a été citée. Néanmoins c'est un chiffre qu'on peut trouver généralement pour une huile d'origine de graine oléagineuse. Des teneurs en carotènes particulièrement élevées sont rencontrées dans l'huile d'origine de fruit, par exemple pour l'huile de palme on a 500 à 800 mg/kg.

#### Conclusion :

La composition centésimale des fractions mineure et majeure de l'huile de graine de sésame est similaire à celle donnée par la littérature<sup>5, 31, 63</sup> à l'exception de la fraction phospholipide qui présente une valeur (0.92%) très élevée par rapport à celle citée par la littérature<sup>53</sup>.

---

Comme toute graine oléagineuse, les phytostérols représentent la majeure partie de l'insaponifiable. Les fractions hydrocarbures et tocophérols alcools obtenues sont faibles par rapport à la bibliographie. Pour les carotènes, la teneur obtenue est caractéristique d'une huile végétale.

# **Chapitre V :**

**Analyse par GC de l'huile de  
graine de sésame et de ses  
fractions** (*cires, insaponifiables,  
hydrocarbures, stérols, tocophérols  
et alcools*).

**Introduction.**

La totalité des analyses ont été effectuées par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne capillaire non polaire, à l'exception de l'analyse des esters méthyliques qui ont été séparés sur une colonne polaire. Le choix de la colonne non polaire pour le fractionnement des cires par chromatographie en phase gazeuse, est basé sur la composition proposée pour cette fraction dans la littérature <sup>65</sup>.

Nous avons utilisé dans le fractionnement de l'huile, une programmation de température prolongée, afin d'éviter le chevauchement des pics et d'affiner leur résolution. La même programmation a été reprise pour les fractions de l'huile, afin de faciliter l'identification des constituants en couplage GC-MS et ce, par comparaison de leurs temps de rétention. Dans le cas des fractions hydrocarbures et cires, nous avons utilisé les indices de Kovats pour la confirmation des propositions.

**V.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graine de sésame.**

L'analyse par introduction directe des acides gras dans la colonne est possible, mais, généralement, ces substances ont des points de fusion assez élevés, alors que leurs esters méthyliques sont bien plus volatils. Il est donc préférable de procéder à une méthylation préalable, ce qui permettra de travailler à une température plus basse et d'utiliser des phases polaires qui ne supporteraient pas une température trop élevée <sup>66</sup>.

**V.1.1. Préparation des esters méthyliques :**

Les acides gras sont transformés préalablement en esters méthyliques. La matière grasse à analyser est chauffée à reflux dans l'alcool méthylique en présence de méthylate de sodium. Les esters méthyliques obtenus sont extraits à l'éther éthylique.

Dans le ballon de 100 mL, introduire 4 g de matière grasse préalablement déshydratée au sulfate de sodium et filtrée. Ajouter 50 mL de méthanol, adapter le réfrigérant et faire bouillir à reflux durant quelques minutes.

Interrompre le chauffage, détacher le réfrigérant et ajouter rapidement 1 mL de solution de méthylate de sodium; remettre le réfrigérant et faire bouillir à reflux durant 10 min au moins (sous agitation magnétique). La méthylation est considérée comme complète quand toute la matière grasse sera passée dans la solution et que le mélange de réaction soit parfaitement limpide à température ambiante. Interrompre alors le chauffage et l'agitation. Verser par le réfrigérant 30mL d'eau.

Refroidir et verser le mélange réactionnel dans une ampoule à décanter de 250 mL. Rincer le ballon plusieurs fois avec 20mL d'eau, puis 20 mL de chloroforme et les verser dans l'ampoule à décanter. Agiter et attendre la séparation des strates: la phase aqueuse est transférée dans une deuxième ampoule à décanter et à nouveau extraite avec 20 mL de chloroforme.

Recueillir la phase organique dans la seconde ampoule, laver deux fois avec 10mL d'eau, puis sécher ensuite sur sulfate de sodium. Filtrer sur coton et évaporer la presque totalité du solvant au bain-marie puis le restant sous courant d'azote<sup>31</sup>.

### V.1.2. Chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques :

Les esters méthyliques sont séparés par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne capillaire polaire. Les conditions opératoires sont les suivantes:

- Colonne capillaire HP-Wax (longueur colonne : 60m, diamètre interne : 0.32mm, épaisseur du film =0.15 $\mu$ m )
- température du four: 200°C(0min)/2°C /220°C(30min)
- température de l'injecteur: 230°C;
- température du détecteur: 230°C;
- débit de gaz vecteur (azote): 0.5 mL/min.;
- quantité de substance injectée: 0.1  $\mu$ L de solution dans le chloroforme.

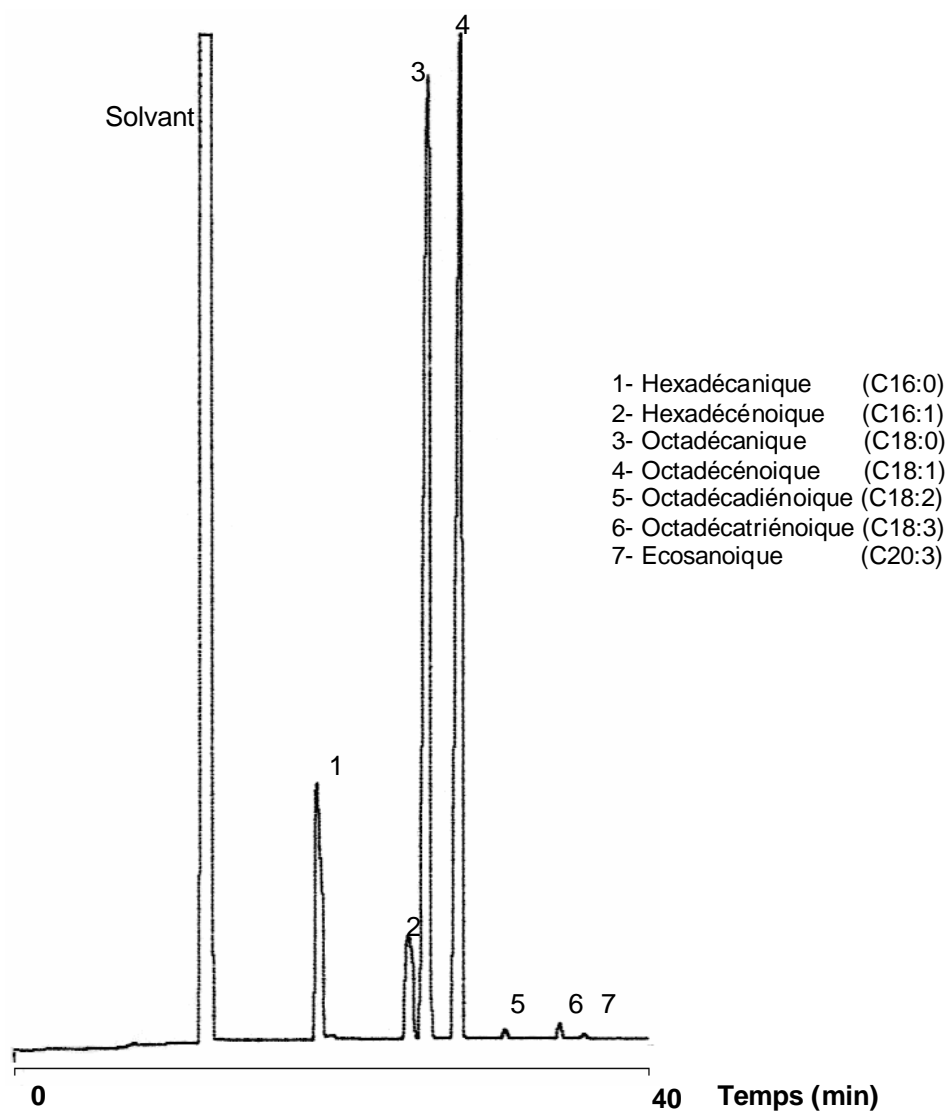
### V.1.3. Chromatogramme.

Voir figure 14.

### V.1.4. Résultats et discussion :

La méthylation a été réalisée selon un protocole proposé par Wolf<sup>31, 56</sup> spécifique aux corps gras à acidité faible avec lesquels il n'est pas aisé d'obtenir les esters méthyliques. C'est pour cette raison qu'on trouve dans la littérature l'utilisation du réactif trifluorure de bore malgré qu'il soit toxique et agressif. Metcalfe et Schmitz montrent que ce dernier réactif est souhaitable pour la méthylation des acides gras libres<sup>67</sup>. Il est préconisé par certaines méthodes officielles telles que les normes NF T60-233 et AOAC969.33<sup>56,68,31</sup>.

Toutes les analyses chromatographiques en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graine de sésame ont été réalisées sur une colonne capillaire HP-Wax en programmation de température.



**Figure14** : Exemple de chromatogramme des esters méthyliques

Les esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graine de sésame (EMAG) ont été identifiés par comparaison de leurs données de rétention avec celles des produits de référence.

Les profils obtenus par GC des esters méthyliques montrent que pour toutes les huiles obtenues par les différents solvants et méthodes d'extraction, les six acides gras majeurs sont: les acides hexadécanoïque, hexadécénoïque, octadécanoïque, octadécénoïque, octadécadiénoïque, octadécatriénoïque et eicosanoïque (voir **figure 14** et **tableau 18**). Les proportions de ces différents acides gras majoritaires sont de 40.31–43.47% (acide octadécénoïque), 38.16–43.29% (acide octadécadiénoïque) et 10.36–13.44% (acide hexadécanoïque). Elles sont proches de celles obtenues par A. Kamal Edine<sup>53</sup> qui étaient de 7-12%, 3.5-6%, 35-50% et 35-50% respectivement pour les acides hexadécanoïque, octadécanoïque, octadécénoïque et octadécadiénoïque.

**Tableau 18** : composition en acides gras de l'huile de graine de sésame par différentes méthodes et solvants d'extraction.

References	1	2	3	10	4	5	6	7	8	9	11
<b>Mode d'extraction</b>	Soxhlet	A froid	Ultrason	Pression *	Soxhlet	Soxhlet	Soxhlet	Soxhlet	Soxhlet	Soxhlet	Pression **
<b>Solvant d'extraction</b>	Hexane	Hexane	Hexane	-	Heptane	Isopropanol	Heptane/ Isopropanol	Hexane/ Isopropanol	Ether	Acétone	-
<b>C16 :0 Acide Hexadécanique</b>	12.865	12.583	12.729	13.762	10.356	10.523	10.996	12.923	11.098	10.829	13.439
<b>C16 :1 Acide Hexadécénoïque</b>	0.245	0.263	0.241	0.265	0.186	0.248	0.229	0.237	0.085	0.2172	0.241
<b>C18 :0 Acide Octadécannique</b>	5.420	5.247	5.919	3.098	5.789	5.423	4.553	5.215	4.482	5.3362	2.376
<b>C18 :1 Acide Octadécénoïque</b>	41.528	41.458	43.254	41.299	42.919	42.397	40.177	41.887	40.309	41.997	43.475
<b>C18 :2 Acide Octadécadiénoïque</b>	39.164	39.458	38.316	40.998	39.874	40.611	43.333	41.688	43.292	40.456	39.982
<b>C18 :3 Acide Octadécatriénoïque</b>	0.2963	0.2923	0.2535	0.2948	0.2338	0.3118	0.3770	0.3256	0.3503	0.3037	0.2638
<b>C20 :0 Acide Eicosanique</b>	0.4700	0.3807	0.4749	0.2811	0.6410	0.4845	0.3321	0.3911	0.3811	0.4959	0.2088

\* Pression de la graine broyée, \*\* Pression de la graine non broyée

**Tableau 19:** Effet du solvant sur la composition en acides gras (%)

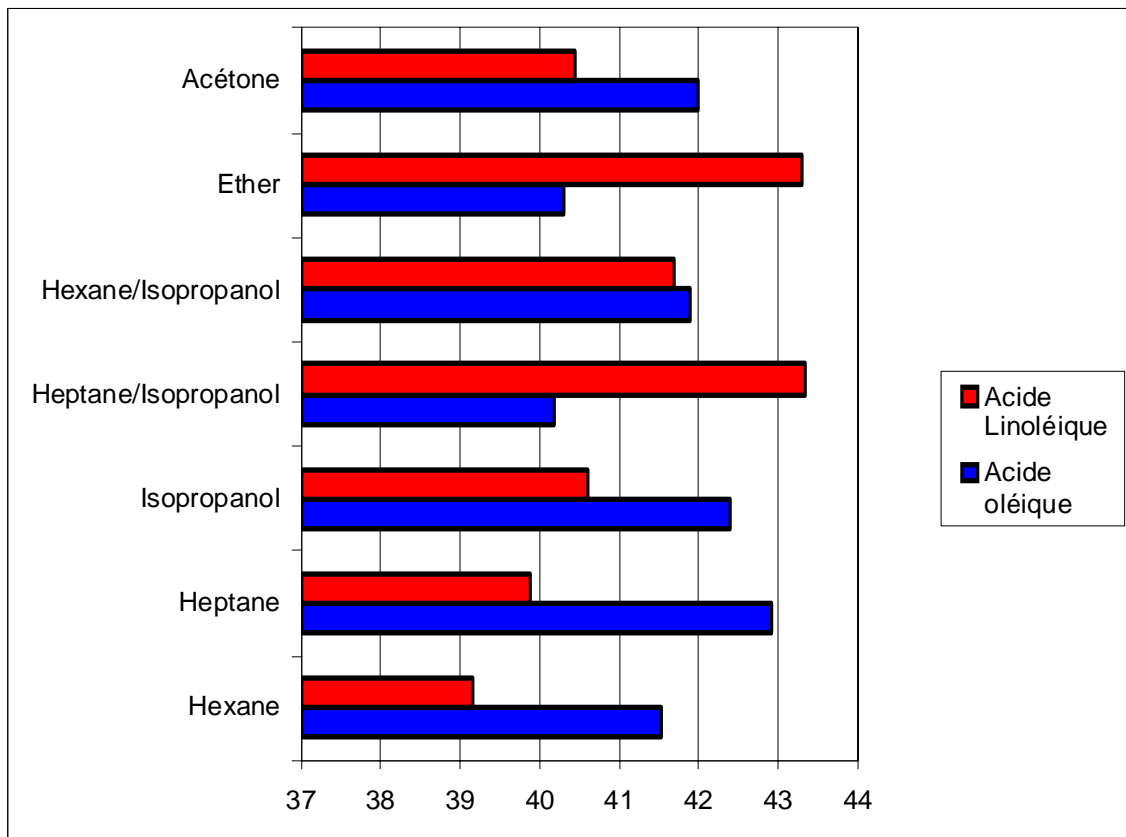
<b>Extrait N°</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<i>Mode d'extraction</i>	Soxhlet	Soxhlet	Soxhlet	Soxhlet	Soxhlet	Soxhlet	Soxhlet
<i>Solvant</i>	Hexane	Heptane	Isopropanol	Heptane/ Isopropanol	Hexane/ isopropanol	Ether	Acétone
<b>Acide hexadécanoïque C16:0</b>	12.86	10.36	10.523	10.9	12.92	11.09	10.83
<b>Acide hexadécénoïque C16:1</b>	0.24	0.19	0.248	0.23	0.24	0.08	0.22
<b>Acide octadécanoïque C18:0</b>	5.43	5.79	5.423	4.55	5.21	4.48	5.33
<b>Acide octadécénoïque C18:1</b>	41.53	42.92	42.397	40.18	41.89	40.31	41.99
<b>Acide octadécadiénoïque C18:2</b>	39.16	39.87	40.612	43.33	41.69	43.29	40.45
<b>Acide octadécatriénoïque C18:3</b>	0.29	0.23	0.312	0.37	0.32	0.35	0.30
<b>Acide eicosanoïque C20:0</b>	0.47	0.64	0.485	0.33	0.39	0.38	0.49
<b>Indice d'iode (AOCS)*</b>	104.53	106.74	107.83	110.78	109.28	110.63	107.17
<b>Acides gras saturés (AGS)</b>	18.76	16.78	16.431	15.88	18.53	15.96	16.66
<b>Acides gras monoinsaturés (AGMI)</b>	41.77	43.10	42.645	40.40	42.12	40.39	42.21
<b>Acides gras polyinsaturés (AGPI)</b>	39.46	40.11	40.924	43.71	42.03	43.64	40.76
<b>Rapport AGPI/ AGS</b>	2.10	2.39	2.491	2.75	2.27	2.73	2.44

\* calculé selon la formule AOCS : indice d'iode = % C18:1 x 0,860 + % C18:2 x 1,732 + % C18:3 x 2,616 <sup>68</sup>

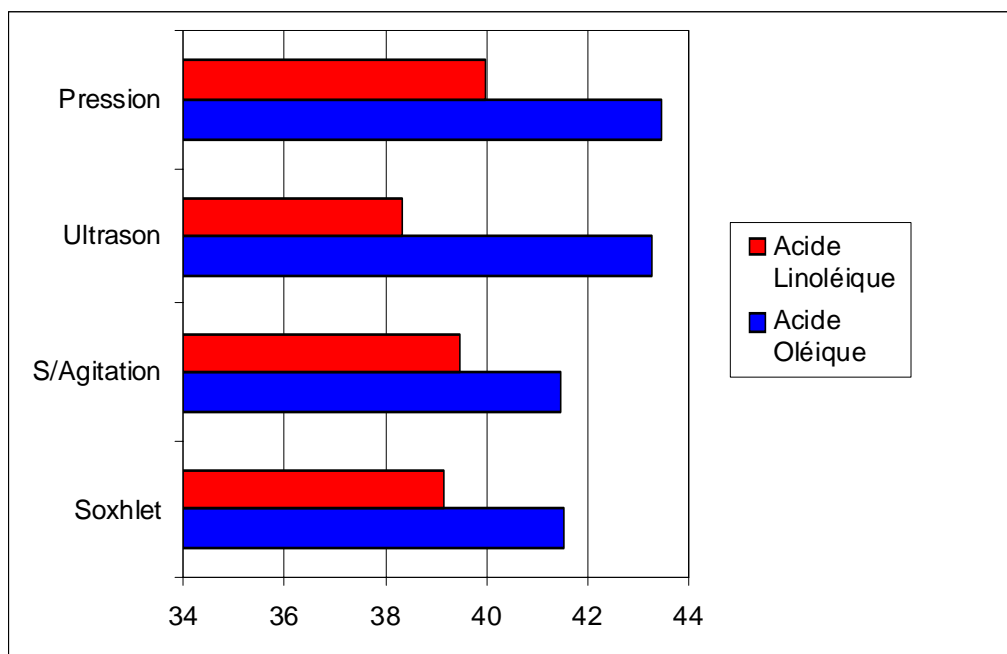
**Tableau 20 :** Effet de la méthode d'extraction sur la composition en acides gras (%)

<b>Extrait N°</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>10</b>
<i>Mode d'extraction</i>	Soxhlet	A froid	Ultrasons	Pression
<i>Solvant</i>	Hexane	Hexane	Hexane	-
<b>Acide hexadécanoïque C16:0</b>	12.87	12.58	12.73	13.44
<b>Acide hexadécénoïque C16:1</b>	0.24	0.26	0.24	0.24
<b>Acide octadécanoïque C18:0</b>	5.43	5.25	5.92	2.37
<b>Acide octadécénoïque C18:1</b>	41.53	41.46	43.25	43.47
<b>Acide octadécadiénoïque C18:2</b>	39.16	39.46	38.32	39.98
<b>Acide octadécatriénoïque C18:3</b>	0.29	0.29	0.25	0.26
<b>Acide eicosanoïque C20:0</b>	0.47	0.38	0.47	0.21
<b>Indice d'iode (AOCS)*</b>	108.62	104.98	104.43	107.54
<b>Acides gras saturés (AGS)</b>	18.76	18.21	19.12	16.02
<b>Acides gras monoinsaturés (AGMI)</b>	41.77	41.72	43.49	43.72
<b>Acides gras polyinsaturés (AGPI)</b>	39.63	39.75	38.57	40.25
<b>Rapport AGPI/ AGS</b>	2.11	2.18	2.02	2.51

\* calculé selon la formule AOCS : indice d'iode = % C18:1 x 0,860 + % C18:2 x 1,732 + % C18:3 x 2,616 <sup>68</sup>

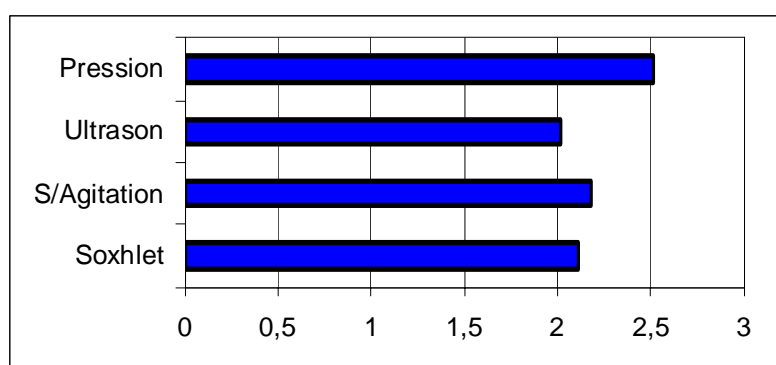


**Figure15 :** Variation de la teneur en acide oléique et linoléique dans le cas des différents solvants

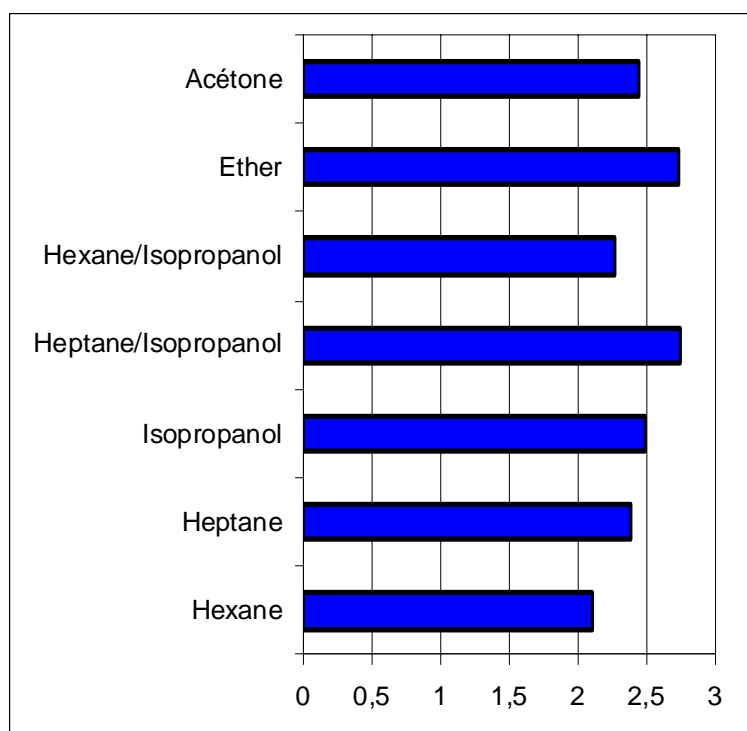


**Figure16 :** Variation des teneurs en acides oléique et linoléique pour les différentes méthodes d'extractions

L'étude de la variation des teneurs en acide oléique et linoléique vis-à-vis du solvant d'extraction et de la méthode mise en œuvre montre que le mélange de solvant hexane/isopropanol fournit une huile dont le rapport C18:1/C18:2 est environ égal à 1 (Figures 15 et 16, Tableaux 19 et 20). Dans le cas de l'extraction à l'éther diéthylique et le mélange heptane/isopropanol, l'acide gras prédominant est l'acide linoléique, par contre pour les différentes méthodes d'extraction, c'est la méthode à pression suivie de celle aux ultrasons qui présentent une prédominance en acide oléique. Des valeurs faibles en acide oléique ont été trouvées dans les cas d'extraction de l'huile avec le mélange heptane/isopropanol et avec la méthode par agitation.



**Figure17:** L'effet de la méthode d'extraction sur le rapport AGPI/ AGS

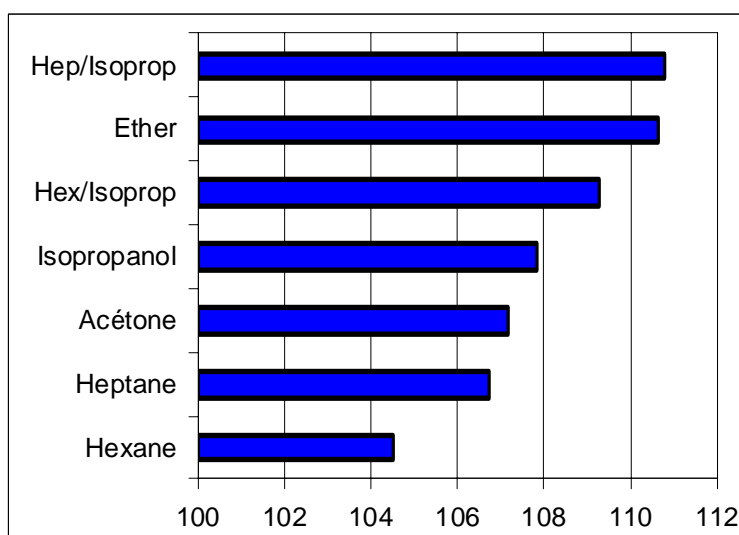


**Figure18:** L'effet du solvant d'extraction sur le rapport AGPI/ AGS

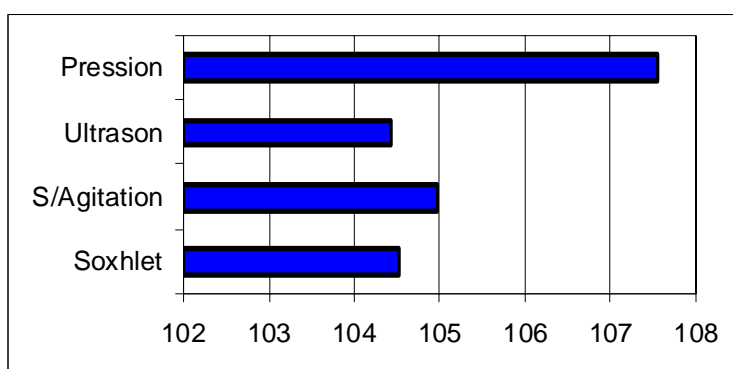
Le rapport des acides gras polyinsaturés sur les acides gras saturés (AGPI/ AGS) varie entre 2 et 3 pour toutes ces huiles (**Figures 17 et 18**). Les nutritionnistes utilisent ce rapport (AGPI/ AGS) comme indicateur pour le traitement des régimes en rapport avec la cholestérolémie pour la prévention des maladies cardiovasculaires. A titre indicatif, le rapport recommandé par le « **Anticoronary Club Study Diet** » est de 1.25 à 1.50 <sup>11</sup>.

Le rapport AGPI/ AGS et la valeur de l'indice d'iode permettent de classer l'huile étudiée parmi les huiles oléiques/linoléiques offrant des propriétés potentiellement nutritionnelles <sup>5</sup>.

Par ailleurs, les acides gras à longue chaîne tels que l'acide eicosanoïque et l'acide linoléique sont identifiés en faible quantité dans l'huile de graine de sésame obtenue par les différentes méthodes et solvants.



**Figure19:** Variation de l'indice d'iode calculé en fonction du solvant d'extraction



**Figure20:** Variation de l'indice d'iode calculé en fonction de la méthode d'extraction

Dans l'étude en fonction du solvant d'extraction, le degré d'insaturation est très élevé avec l'utilisation du mélange de solvant heptane/isopropanol ainsi que pour l'éther. La valeur de l'indice d'iode calculée est bien prononcée dans le cas de l'huile de graine de sésame obtenue par pression (**Figure 20**) de même que pour le cas de l'extraction avec le mélange heptane/isopropanol (**Figure 19**).

Il faut signaler qu'au cours d'un traitement thermique ou bien d'un stockage, la valeur du rapport (AGPI/ AGS) qui est liée à l'insaturation est un indicateur de la stabilité de l'huile vis-à-vis de l'oxydation.

## **V.2.Chromatographie en phase gazeuse de l'huile de graine de sésame.**

Dans le domaine des corps gras, la littérature cite rarement la chromatographie en phase gazeuse directe de l'huile complète (contenant des acides gras à longue chaîne) avec ou sans dérivation. Certains auteurs présentent des conditions pour l'analyse directe des triglycérides à chaîne moyenne en chromatographie en phase gazeuse sur des colonnes courtes et des phases apolaires ou peu polaires, alors que d'autres préconisent le fractionnement des triglycérides en fonctions du nombre de carbones (après élimination de tous les composés mineurs)<sup>69,70</sup>. Dans ce travail, nous avons procédé à un dosage direct des composés mineurs (tous les constituants de l'insaponifiable ainsi que les cires et les phosphatides) et les composants majeurs (tels que les acides gras libres et liés) sans fractionnement préalable sur une colonne apolaire HP1.

### **V.2.1.Dérivatisation.**

Une des méthodes les plus utilisées dans l'analyse des groupements fonctionnels des corps gras est la dérivation sous forme de trimethylsilyl éther (TMS)<sup>71</sup>. L'hydrogène du groupement hydroxyle est substitué par le radical -TMS, donnant un -OTMS.

Dans un tube à essai, 100 mg d'huile de graine de sésame sont dissous dans 1mL de dichlorométhane. A 100µL de la solution sont additionnés 200µL du réactif TMCS (triméthylchlorosilane). Mettre le tube à 60°C pendant 20minutes. Le réactif est éliminé sous jet d'azote. Dissoudre le résidu dans 250µL de dichlorométhane. Stocker la solution à froid pour analyse ultérieure par chromatographie gazeuse<sup>72</sup>.

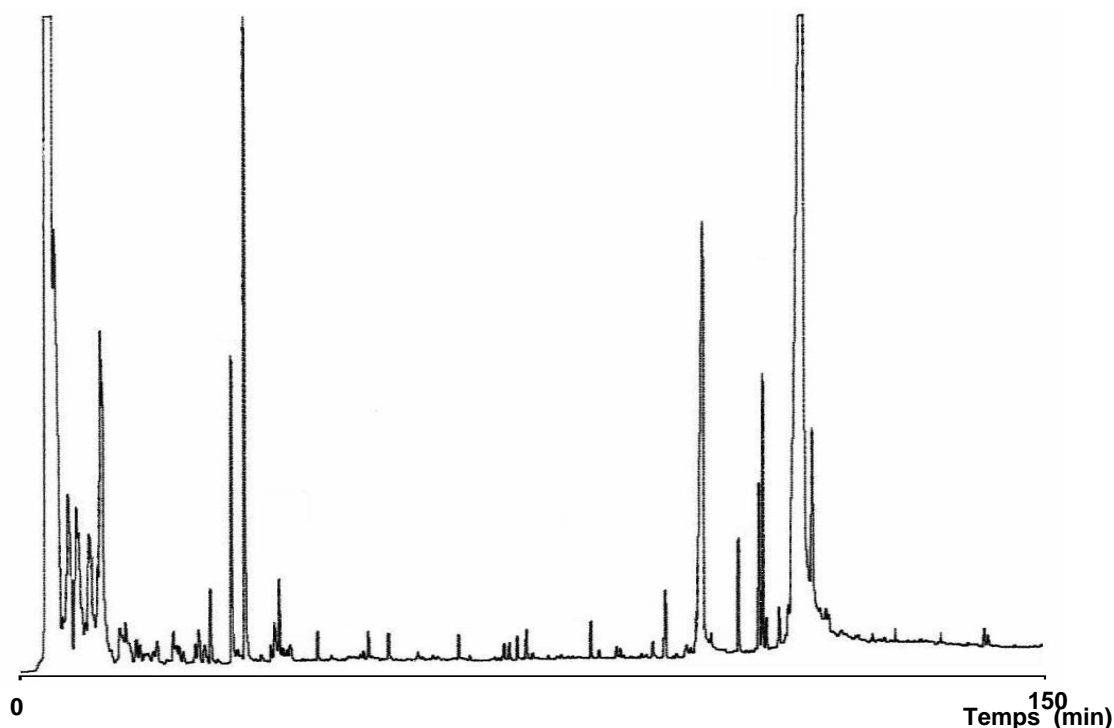
### **V.2.2.Conditions de chromatographie.**

Le mélange silylé est séparé par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne capillaire HP1 (longueur : 30m, diamètre interne : 0.32mm, épaisseur du film : 0.25µm ).

Les analyses sont réalisées sur un appareil Hewlett Packard série **HP 6890**, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme ; les températures de l'injecteur et du détecteur sont

respectivement 280°C et 290°C. La température du four est initialement de 60°C ensuite elle progresse à raison de 2°C/mn jusqu'à 250°C avec un palier de 60 minutes. Le débit du gaz vecteur est de 0.8 mL/min avec un débit de fuite de 74 mL/min. Le volume injecté est de 0.1 µL.

### V.2.3. chromatogramme.



**Figure21** : Chromatographie en phase gazeuse de l'huile de graine de sésame

### V.3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse des cires de l'huile de graine de sésame.

Les cires forment une couche microcristalline qui représente la frontière externe entre la plante et l'atmosphère. Sa principale fonction est de limiter la diffusion de l'eau et des corps dissous, tout en permettant un dégagement commandé de produits volatils. Elle assure la protection contre des maladies et les insectes et aide les plantes à résister à la sécheresse. Dans les cires, il peut y avoir des n-alcane, esters d'alkyles, esters d'acides gras, alcools gras (primaires et secondaires), aldéhydes gras, cétones, β-dicétones, triterpènes et des acides triterpéniques.

La quantité, la nature et les proportions des divers classes de lipides dans les cires changent considérablement selon l'espèce, l'emplacement de la plante et du dépôt de la cire (feuille, fleur, fruit, etc..) <sup>73</sup>.

Lors de l'extraction de l'huile de la graine non décortiquée, les cires sont entraînées dans l'huile. A haute température, elles sont solubles dans l'huile, mais cristallisent déjà à la température ambiante et provoquent des voiles indésirables. L'extraction des cires est effectuée sur chromatographie de colonne de gel de silice.

La fraction éluée est analysée directement par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire sans dérivation.

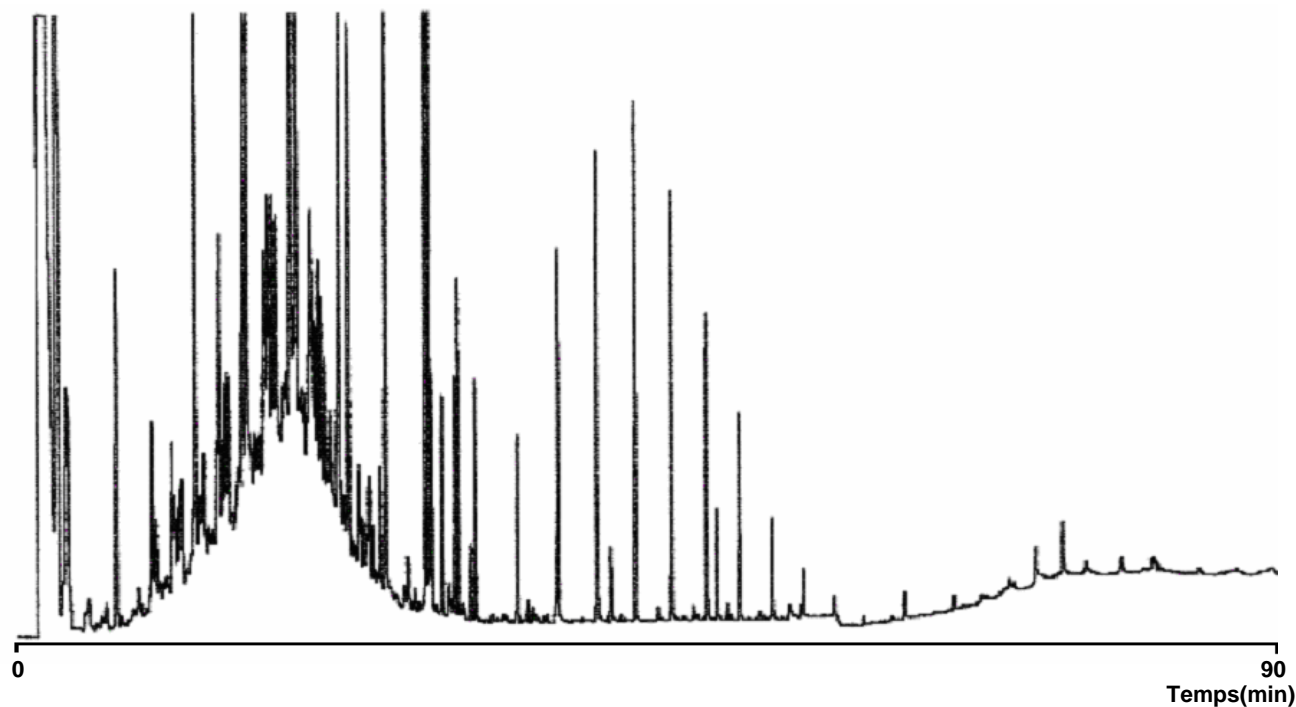
### V.3.1. Conditions de chromatographie.

La fraction des cires est séparée directement par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne capillaire apolaire HP1 (longueur : 30m, diamètre interne : 0.32mm, épaisseur du film : 0.25 $\mu$ m ).

Les analyses sont réalisées sur un appareil Hewlett Packard série **HP 6890**, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme, dont les températures de l'injecteur et du détecteur sont à 300°C. La température du four est de 120°C pendant 4 minutes ensuite progresse de 2°C/mn et se stabilise à 300°C pendant 60 minutes. Le débit du gaz vecteur (azote) est de 0.19 mL/min avec une fuite de 80 mL/min. La quantité d'échantillon injectée est de 0.2  $\mu$ L.

### V.3.2. chromatogramme.

La durée de programmation dans le four dure 150min, l'analyse est interrompue après 90 min de l'injection, car après ce temps, aucun composé n'est détecté (**Figure 22**).



**Figure 22** : Chromatographie en phase gazeuse de la fraction des cires

#### V.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'insaponifiable de l'huile de graine de sésame.

En général, les analyses pour les hydrocarbures, les stérols et les tocophérols dans les huiles végétales sont exécutées séparément. Dans ce travail, un procédé simple et fiable est présenté pour la quantification du squalène, du  $\gamma$ -tocophérol et des stérols de l'huile de graine de sésame par une méthode directe impliquant l'analyse de chromatographie en phase gazeuse de la fraction non saponifiable après silylation. Cette méthode élimine le besoin de fractionnement préliminaire (généralement par chromatographie sur colonne) avant la chromatographie en phase gazeuse.

##### V.4.1. Dérivatisation.

Dans un tube à essai, l'insaponifiable de 10 grammes de l'huile de sésame est dissous dans 1mL de dichlorométhane. A 100 $\mu$ L de la solution sont additionnées 200 $\mu$ L de TMS (triméthylchlorosilane). Le tube est porté à 60°C pendant 20 minutes. Le réactif est éliminé sous jet d'azote. Dissoudre le résidu dans 250 $\mu$ L de dichlorométhane. Stocker la solution à froid pour analyse ultérieure par GC <sup>72</sup>.

##### V.4.2. Conditions de chromatographie.

Les mêmes conditions chromatographiques utilisées pour l'huile ont été reprises pour la séparation de l'insaponifiable.

##### V.4.3. Chromatogramme.

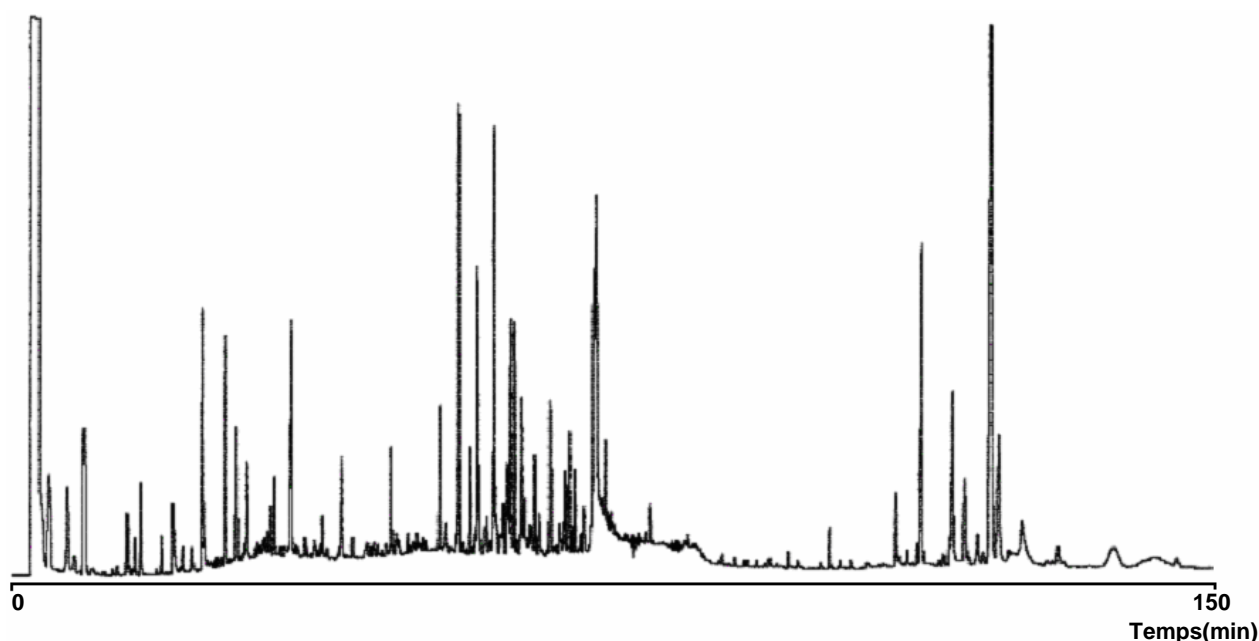


Figure 23 : Chromatographie en phase gazeuse de la fraction insaponifiable

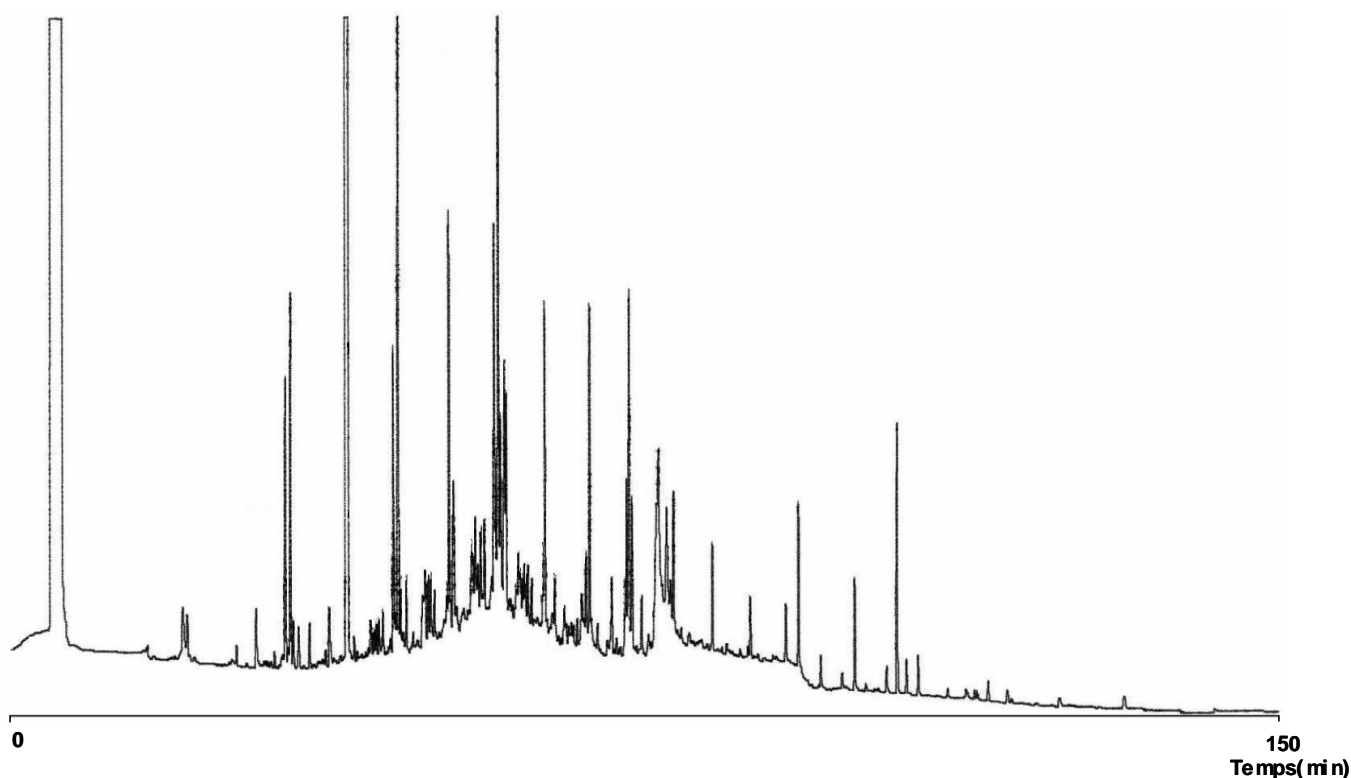
## V.5. Analyse par chromatographie en phase gazeuse des fractions de l'insaponifiable.

### V.5.1 Conditions chromatographiques.

Les mêmes conditions utilisées pour la chromatographie en phase gazeuse de l'huile de graine de sésame et de l'insaponifiable sont reprises pour la chromatographie de chaque famille de composés extraits de l'insaponifiable à l'exception de la fraction hydrocarbures pour laquelle nous avons utilisé les mêmes conditions que pour les cires.

### V.5.2. Analyse des hydrocarbures.

La fraction hydrocarbure récupérée par chromatographie sur colonne de gel d'alumine est analysée directement par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne capillaire apolaire HP1. Les conditions de chromatographie utilisées dans le cas de la fraction des cires sont reprises ici pour la séparation des hydrocarbures. Le chromatogramme obtenu est représenté sur la **Figure 24**.



**Figure24:** Chromatographie en phase gazeuse de la fraction hydrocarbures

### V.5.3. Analyse des stérols.

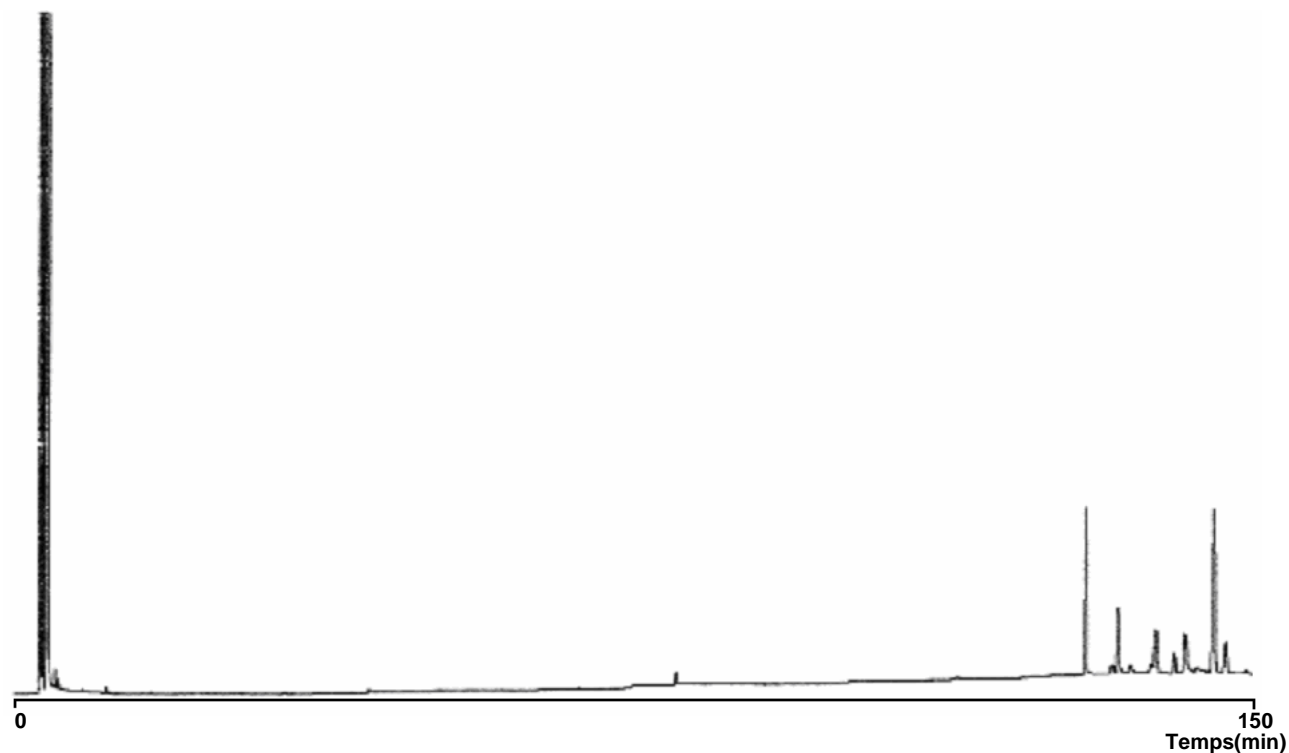
Les stérols récupérés par la chromatographie sur colonne gel d'alumine sont transformés en triméthylsilyléthers et analysés par chromatographie en phase gazeuse sur une colonne capillaire apolaire.

### V.5.3.1. Préparation des triméthylsilyléthers

Ajouter, dans l'éprouvette contenant la fraction stérolique, le réactif de silylation TMCS (triméthylchlorosilane) dans une proportion de 50 $\mu$ L par milligramme de stérols, en évitant toute absorption d'humidité.

Boucher l'éprouvette, agiter soigneusement (sans retourner) jusqu'à solubilisation complète des stérols. Laisser reposer pendant au moins 15 minutes à température ambiante, puis centrifuger pendant quelques minutes: la solution limpide est prête pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse.

### V.5.3.2. Chromatogramme.

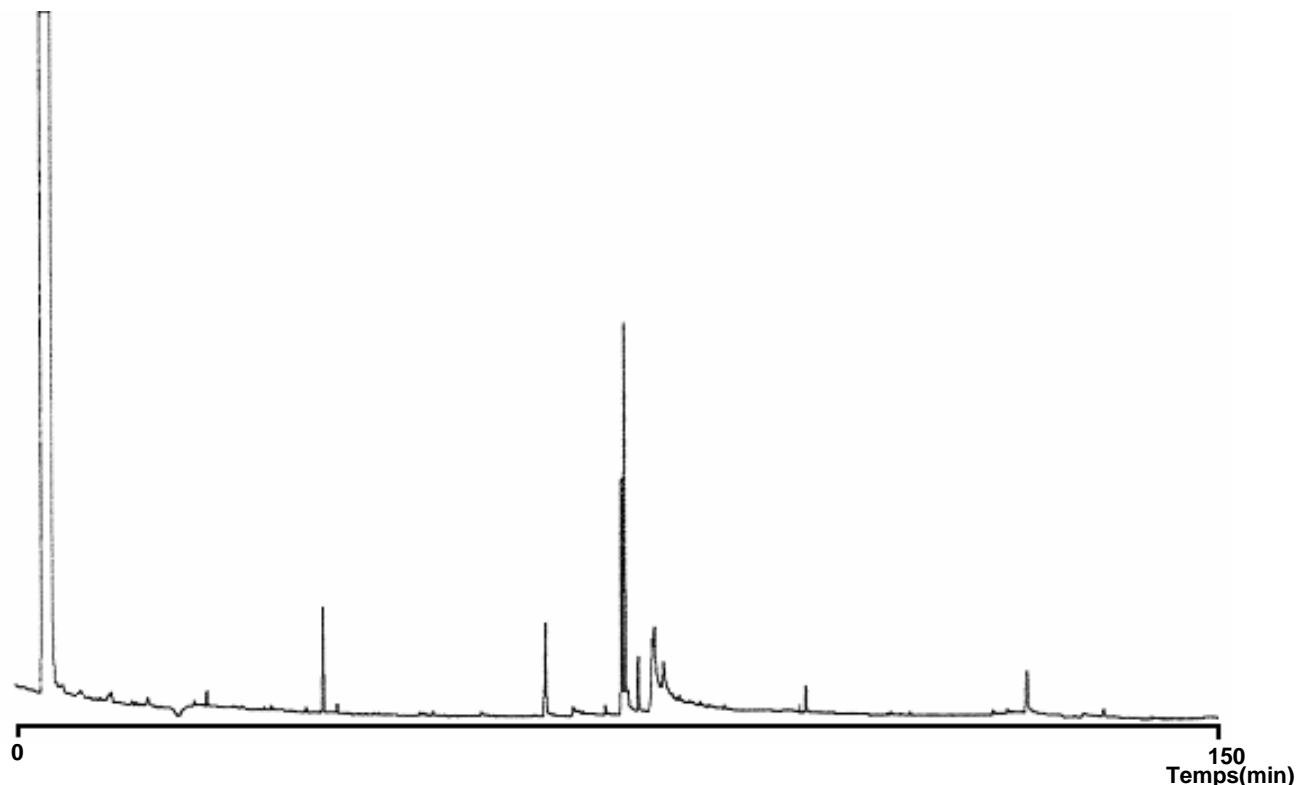


**Figure25** : Chromatographie en phase gazeuse de la fraction des stérols

### V.5.4. Analyse des alcools et des tocophérols.

La fraction récupérée par chromatographie sur colonne en gel d'alumine est transformée en dérivés triméthylsilyléthers selon le même protocole que celui utilisé dans le cas des stérols, ensuite analysée par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire dans les mêmes conditions que l'huile.

#### V.5.4.2. Chromatogramme.



**Figure26** : Chromatographie en phase gazeuse de la fraction tocophérols et alcools

#### Conclusion :

Les profils obtenus par GC des esters méthyliques ont révélé que l'huile est oléique linoléique à caractère diététique. Le rapport (AGPI/ AGS) est supérieur à 2 pour tous les cas d'extraction, ce qui confère à cette huile des propriétés thérapeutiques dans la prévention des maladies cardiovasculaires relatives à la cholestérolémie et ceci par l'établissement de régimes alimentaires adéquats.

Concernant les chromatogrammes obtenus pour les cas de l'huile, de la fraction des cires, de l'insaponifiable et de ses fractions (hydrocarbures, stérols et la fraction alcools/tocophérols), ils ont servi de support pour la GC-MS et les résultats n'ont pas été exploités par manque d'alcane à haut poids moléculaires nécessaires pour le calcul des indices de rétention ainsi que des références bibliographiques.

**Chapitre VI :**

**Analyse par GC/MS**

**de l'huile de graine de sésame**

**et de ses fractions**

## Introduction.

Pendant notre recherche bibliographique, nous avons constaté qu'aucun auteur n'a traité une injection directe de l'huile dérivée ou non en chromatographie en phase gazeuse, en vue de l'analyse de ses composés mineurs (tels que tocophérols, stérols, composés phénoliques..etc.).

Ces derniers, qui sont caractéristiques et jouent un rôle important dans le contrôle de la falsification des huiles végétales sont analysées généralement en deux étapes. La première consiste en une extraction préalable de chaque famille de composés suivie dans une seconde étape par l'analyse chromatographique proprement dite de chaque fraction. Dans ce chapitre, nous avons procédé à l'analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en mode impact électronique (GC-MS-IE) de l'huile complète ainsi que les fractions suivantes : cires, insaponifiables, hydrocarbures, stérols et enfin les alcools et tocophérols.

L'identification et la confirmation de chaque constituant de l'huile de graine de sésame et de ses fractions ont été réalisées par GC/MS après séparation sur une colonne HP-5-MS et comparaison des indices de rétention et des spectres de masse à ceux des produits de référence.

## Détermination des indices de rétention

Un mélange étalon des n-alcane linéaires ( $C_5 - C_{28}$ ) en solution dans l'heptane, est analysé chaque jour après le démarrage du chromatographe et le calcul des indices de rétention de chaque composé de l'échantillon est effectué. Après injection de ce mélange de référence (0.1 $\mu$ L), le solvant est éliminé par une purge de 5minutes. Ces alcanes sont utilisés comme des standards externes de référence dans le calcul des indices de rétention.

L'indice de rétention de chaque composé est calculé à partir de son temps de rétention et ceux des alcanes linéaires et en utilisant l'équation de van den Dool et Kratz<sup>74,66</sup>:

$$I = 100 \left( \frac{X - M_{(n)}}{M_{(n+1)} - M_{(n)}} \right) + 100n$$

où n est le nombre d'atomes de carbone dans le n-alcane ; X,  $M_{(n)}$  et  $M_{(n+1)}$  sont respectivement les temps de rétention du soluté X, du n-alcane à n atomes de carbone précédant X, du n-alcane à (n+1) atomes de carbone qui suit X.

## VI.1. Analyse par GC/MS de l'huile de graine de sésame.

La chromatographie en phase gazeuse de l'huile complète (triglycérides, cires, insaponifiable et phospholipides) n'a pas été citée dans les travaux publiés dans la littérature. Ce qui est présenté généralement comme analyse directe de l'huile par GC est celle de la fraction des triglycérides obtenue après purification de l'huile par chromatographie sur

colonne de silice. L'analyse de l'huile purifiée est réalisée après fractionnement selon leur insaturation <sup>70</sup> par chromatographie en phase gazeuse selon le protocole proposé par IUPAC (IUPAC 2.323) <sup>69</sup>.

Dans ce travail, en se basant sur les valeurs des quantités approximatives obtenues par les analyses (**Tableau 17**) et celles présumées d'après la littérature pour chaque famille de composants qui constituent l'huile (**Tableau 10**), nous avons essayé de réaliser une réaction de dérivation sur l'ensemble des composés susceptibles d'être dérivés en composés triméthylsilyléthers et ceci dans l'huile sans fractionnement.

### VI.1.1. Conditions d'analyse.

Les dérivés TMS de l'huile sont analysés par GC/MS utilisant un spectromètre de masse Hewlett Packard MSD 5973 à impact électronique. Le chromatographe est équipé d'une colonne HP-MS 5 (longueur 30m, diamètre interne 0.25mm, épaisseur du film 0.25 $\mu$ m). La température de la colonne est programmée de 60°C jusqu'à 250°C à 2°C/minute avec un palier de 60 minutes. L'hélium est le gaz vecteur à un débit de 0.5 mL/minute. L'injection est réalisée en mode splitless ; l'injecteur, la ligne de transfert et le bloc étant portés respectivement aux températures de 250°C, 280°C et 230°C. Le spectre de masse est obtenu en mode d'ionisation à impact électronique à 70eV avec un balayage du domaine de 50 à 600 uma (unités de masse atomique) à 2.83 scan/s.

### VI.1.2. Résultats et discussion.

Nous avons repris ici les conditions utilisées en GC. Cependant nous avons procédé à des changements au niveau de la colonne et du gaz vecteur ainsi que de son débit. La polarité des deux colonnes utilisées en GC (HP1) et en GC-MS (HP5-MS) sont très proches. Par exemple la littérature donne un indice de Kovats pour le 1-octanol de 1072 sur une colonne DB5 (équivalente à HP5-MS) et de 1071 sur une colonne OV101 (équivalente à HP1) <sup>75,76</sup>.

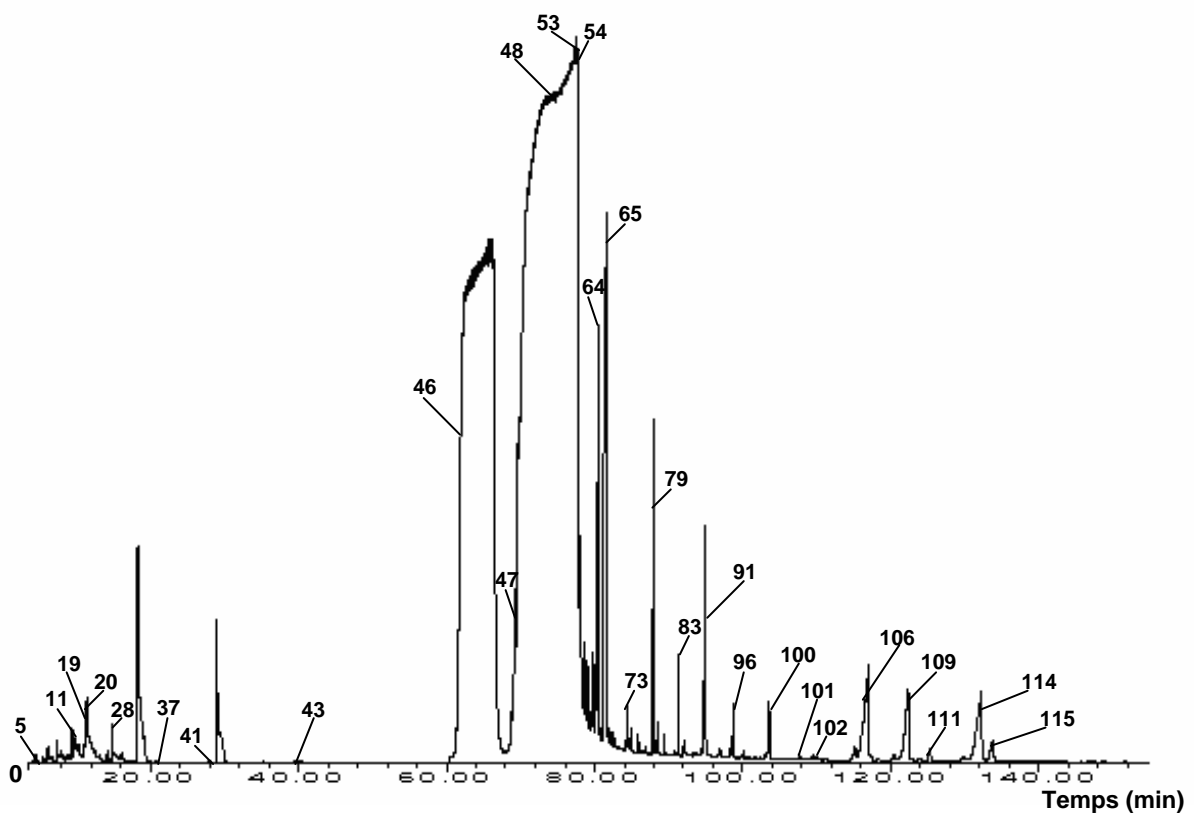
L'analyse de l'huile par GC/MS s'avère être la technique la plus rapide permettant d'obtenir en 2 heures environ des informations détaillées sur les différentes fractions qui constituent l'huile aboutissant par conséquent à des indications utiles sur la qualité de l'huile. Le chromatogramme obtenu est représenté en **Figure27**; parmi les 118 pics intégrés, 91 pics ont été identifiés grâce aux bases de données disponibles (NIST2002, Wiley7, Flavors, Fame).

Le chromatogramme présente en début d'élution une fraction légère similaire à celle des huiles essentielles des plantes, suivie par un certain nombre d'esters d'acides gras qui

pourraient constituer la fraction des cires et ensuite la fraction des tocophérols et des stérols. Les lignanes caractéristiques du sésame ont été identifiés dans la fraction légère (sésamol) et entre la fraction tocophérols et stérols (sésamoline).

Un chromatogramme similaire à celui que nous avons obtenu dans l'analyse de l'huile a été présenté dans la littérature. Il y est indiqué que la méthode utilisée est la SPE-GC-FID, le chromatogramme a fait l'objet d'une interprétation des derniers pics élués correspondant au squalène, tocophérols et stérols, alors que la première moitié du chromatogramme n'a pas été interprétée<sup>77</sup>.

Les résultats concernant la GC/MS de l'huile figurent dans le **Tableau 21**.



**Figure 27** : Chromatogramme de l'huile de graine de sésame sur une colonne HP 5MS

**Tableau 21:** Composition chimique des constituant de l'huile de graine de sésame

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
1	5.31	Ethylbenzene	0.000	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	106	100-41-4	91.106.57.56.41	857
2	5.48	m-xylene	0.01	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	106	108-38-3	91.106.105.77.51	865
3	5.67	P-xylene	0.017	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	106	106-42-3	91.106.105.77.51	874
4	6.36	Nonane	0.083	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub>	128	111-84-2	57.43.85.41.91	903
5	7.76	α-pinene	0.050	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	7785-26-4	93.91.92.77.79	939
6	7.90	Camphene	0.011	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	79-92-5	93.121.91.92.79	942
7	8.04	Benzene,propyl	0.017	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>	120	103-65-1	91.120.65.78.92	946
8	8.33	Benzaldehyde	0.010	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	106	100-52-7	105.106.77.51.91	953
9	8.60	(-)-trans pinane	0.004	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	33626-25-4	95.83.55.82.67	960
10	8.80	Thujene,4(10): Sabinene	0.002	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	3387-41-5	93.77.79.136.41	965
11	9.064	β. Pinene	0.008	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	471-84-1	93.79.69.136.121	972
12	9.47	β. Myrcene	0.030	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	123-35-3	93.69.41.91.79	982
13	9.66	3-Octanol	0.001	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	130	20296-29-1	59.83.101.55.41	987
14	10.05	Delta.3-Carene	0.003	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	13466-78-9	93.91.92.136.79	997
15	10.35	Benzene,1methy ,4propyl	0.009	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	1074-55-1	105.134.91.77.79	1003
16	10.88	Benzene,1,2,3 trimethyl	0.006	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>	120	526-73-8	105.120.95.119.77	1013
17	11.00	Benzene,1methyl-3-(1methylethyl)-	0.015	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	535-77-3	119.134.91.117.115	1015
18	11.19	D-limonene	0.040	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	5989-27-5	68.93.67.79.94	1019
19	11.33	Eucalyptol: 1.8 Cineole	0.068	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	470-82-6	43.81.108.71.111	1022
20	11.46	BenzylAlcool	0.081	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O	108	100-51-6	79.108.77.107.91	1024
21	11.60	Non identifié	0.147	-	-	-	93.68.67.79.108	1027
22	12.51	Benzene butyl	0.009	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	104-51-8	91.92.134.65.78	1044
23	12.66	Gamma-terpinene	0.010	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	99-85-4	93.136.77.121.91	1047
24	13.26	1-Octanol	0.003	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	130	111-87-5	56.55.70.71.41	1058
25	14.22	L-fenchone	0.012	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	126-21-6	81.69.41.93.152	1076
26	14.441	2-Nonanone	0.003	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	142	821-55-6	58.43.71.81.59	1080
27	14.536	Non identifié	0.003	-	-	-	81.69.136.121.41	1082
28	14.85	Undecane	0.040	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	156	1120-21-4	57.43.71.41.85	1088
29	15.18	β-Thujone : Cis-Thujone	0.031	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	471-15-8	110.95.68. 109.67	1094
30	15.413	Non identifié	0.012	-	-	-	69.41.97.139.95	1098
31	15.71	Benzene,1-ethyl-2,4,5,trimethyl-	0.009	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub>	148	17851-27-3	133.148.119.134.91	1103
32	15.93	Benzene, 1-methyl-2-(1-methylethyl)-	0.014	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	527-84-4	119.134.91.120.115	1107
33	16.26	Octanoic acid,methylester	0.015	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	158	111-11-5	74.87.43.55.127	1113
34	17.36	Bicyclo(2.2.1)heptano-2-one-7.7.7 trimethyl : camphor	0.002	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	464-49-3	95.81.108.152.69	1132

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
35	17.90	Cyclohexanone,5-methyl-2-(1-methylethyl)-, cis- : trans-Menthone	0.001	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	491-07-6	112.69.139.154.41	1141
36	18.07	Benzene,pentyl	0.001	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub>	148	538-68-1	91.92.148.105.65	1144
37	20.70	Dodecane	0.001	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	170	112-40-3	57.71.43.85.41	1189
38	21.02	Bicyclo(3.1.1)heptan-2-one-3.6.6 trimethyl	0.001	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	16022-08-5	83.95.55.67.82.	1194
39	26.51	2,4-Decadienal(E,E)	0.001	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	25152-84-5	81.95.43.41.67	1280
40	26.89	Tridecane	0.002	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	629-50-5	57.71.43.85.74	1286
41	27.89	1,3benzodioxol-5-ol : sésamol	0.008	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138	533-31-3	138.137.81.52.53	1302
42	32.67	4-octanoic acid,methyl ester(Z)	0.002	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	156	21063-71-8	74.87.55.59.41	1386
43	35.18	Nonanoic acid,9 oxo,methyl ester	0.002	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	186	1931-63-1	74.87.55.83.111	1429
44	52.12	Methyltetradecanoate	0.004	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	242	124-10-7	74.87.43.143.55	1727
45	60.73	9-Hexadecenoic acid, methyl ester(Z)	0.016	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	268	1120-25-8	55.74.69.41.83	1896
46	62.43	Hexadecanoic acid methyl ester	27.796	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	112-39-0	74.87.143.43.75	1934
47	69.69	9,12octadecadienoic acid(ZZ)methyl ester	1.527	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	112-63-0	67.81.55.74.95	2093
48	71.04	8,11-octadecadienoic acid,methyl ester	7.256	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	56599-58-7	55.67.81.41.69	2124
49	72.36	9-Octadecenoic acid,methylester(Z)	9.932	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	1937-62-8	264.55.41.265.294	2125
50	73.44	10-Octadecenoic acid,methylester(Z)	8.541	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	13481-95-3	41.55.67.43.74	2178
51	73.78	11-Octadecenoic acid,methylester(Z)	19.251	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	52380-33-3	41.55.43.54.59	2185
52	77.34	16-Octadecenoic acid,methylester(Z)	11.350	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	56554-47-3	41.55.43.264.74	2268
53	77.51	Octadecanoic acid,methylester	2.270	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	298	112-61-8	74.87.43.55.298	2272
54	77.84	Octadec-9-enoic acid	1.234	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282	1000190-13-7	55.69.81.83.67	2280
55	78.04	7,10-octadecadienoic acid, methyl ester	0.173	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	56554-24-6	67.81.79.95.82	2284
56	78.17	(1S,3aR,4S,6aR)-4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-tetrahydro-1H, 3H-Furo(3,4-c)Furan-1-ol(+)-samin	0.238	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	250	-	149.150.250.74.55	2287
57	78.38	9.17-Octadecadienal(Z)	0.042	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O		56554-35-9	55.69.67.41.81	2292
58	78.53	Nonadecanoic acid, methyl ester	0.084	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	312	1731-94-8	74.87.55.43.143	2296
59	78.81	6,9,12-Octadecatrienoic acid, methyl ester	0.117	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	292	2676-41-7	79.91.93.67.55	2302
60	79.08	9,12,15Octadecatrienoic acid, methylester	0.104	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	292	7361-80-0	79.93.91.80.292	2309
61	79.34	Non identifié	0.008	-	-	-	67.55.81.95.79	2316
62	79.45	Non identifié	0.020	-	-	-	149.150.248.135.164	2319
63	79.88	Non identifié	0.019	-	-	-	79.91.93.80.292	2329

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>k</sub>
64	80.55	11-Eicosenoic acid,methyl ester	1.191	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	324	3946-08-5	55.69.83.97.74	2346
65	81.65	Eicosanoic acid, methylester	2.803	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	326	1120-28-1	74.87.143.326.43	2374
66	82.06	Non identifié	0.035	-	-	-	55.139.81.69.41	2385
67	82.18	Non identifié	0.024	-	-	-	55.59.41.67.69	2388
68	82.42	Methyl 2 octylcyclopropene-1-octanoate	0.047	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	308	3220-60-8	81.151.95.99.67	2393
69	82.69	Methyl octadecan-10(E),12(E)-dien-9-onoate	0.029	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	308	-	81.95.151.166.55	2400
70	82.81	Non identifié	0.026	-	-	-	87.43.113.99.83	2403
71	83.21	Eicosanoic acid, ethyl ester	0.038	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	340	18281-15-5	88.101.89.157.340	2414
72	83.34	tetracosane	0.058	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	296	629-94-7	57.71.85.43.41	2417
73	84.36	Heicosanoic acid, methyl ester	0.104	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	340	6064-90-0	74.87.43.57.75	2444
74	84.93	Methyloctadecan-9,10-dien-13-onoate	0.045	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub>	308	3220-60-8	151.81.95.67.55	2459
75	85.92	Octadecanoic acid.9.10-dihydroxy-methyl ester	0.027	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	330	1115-01-1	155.87.74.55.69	2486
76	86.39	Non identifié	0.002	-	-	-	144.112.129.149.101	2498
77	86.72	Non identifié	0.002	-	-	-	57.71.43.85.67	2507
78	86.88	13-Docosenoic acid, methyl ester (Z)	0.007	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	352	1120-34-9	69.55.83.74.112	2511
79	88.08	Docosanoic acid, methyl ester	0.837	C <sub>23</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>	354	929-77-1	74.87.143.43.75	2543
81	90.17	Hexacosane	0.001	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	630-01-3	57.71.43.85.55	2598
82	90.89	Non identifié	0.006	-	-	-	191.387.204.133.149	2617
83	91.34	Tricosanoic acid, methyl ester	0.120	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	368	2433-97-8	74.87.43.75.143	2630
84	91.96	Non identifié	0.011	-	-	-	131.101.67.117.81	2647
85	92.11	Non identifié	0.030	-	-	-	131.101.117.55.69	2651
86	92.98	Non identifié	0.002	-	-	-	130.117.129.399.267	2675
87	93.44	Non identifié	0.005	-	-	-	144.112.129.55.43	2688
88	93.64	Heptacosane	0.003	C <sub>27</sub> H <sub>46</sub>	380	593-49-7	57.71.85.43.99	2693
89	93.83	Non identifié	0.006	-	-	-	112.70.57.71.43	2698
90	94.11	Non identifié	0.001	-	-	-	117.149.98.135.81	2715
91	94.99	Tetracosanoic acid, methyl ester	0.550	C <sub>25</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>	382	2442-49-1	74.87.43.143.57	2782
92	96.84	Non identifié	0.016	-	-	-	149.133.175.55.191	2786
93	96.98	Non identifié	0.011	-	-	-	149.175.133.55.191	
94	98.03	Non identifié	0.001	-	-	-	191.415.204.133.149	
95	98.40	Squalene	0.018	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	410	7683-64-9	69.74.81.87.55	
96	98.71	Pentacosanoic acid methyl ester	0.082	C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	396	55373-89-2	74.87.43.75.57	
97	100.92	Non identifié	0.003	-	-	-	158.43.125.140.422	

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
98	101.70	Triacotane	0.007	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	422	638-68-6	57.71.43.85.55	
99	102.32	Non identifié	0.005	-	-	-	172.115.140.154.55	
100	103.56	Hexacosanoic acid, methyl ester	0.140	C <sub>27</sub> H <sub>54</sub> O <sub>2</sub>	410	5802-82-4	74.87.75.43.57	
101	107.67	Tocopherol-gamma(tms-derivat)	0.014	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub> Si	488	1000288- 29-7	488.223.489.222.224	
102	109.47	Heptacosanoic acid, methyl ester	0.011	C <sub>28</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub>	424	55682-91-2	74.87.75.43.57	
103	109.96	Gamma-tocopherol	0.015	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	416	7616-22-0	151.416.150.417.191	
104	111.38	Stigmastan-3,5-diene	0.005	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub>	396	1000214- 16-4	396.147.145.43.81	
106	117.04	1,3-Benzodioxole, 5,5'-(tetrahydro-1H,3H-furo[3,4-c]furan-1,4-diyl)bis-, [1S-(1.alpha.,3a.alpha., 4.beta.,6a.alpha.)]- : sesamine	0.909	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	354	133-03-9	149.135.150.161.354	
107	117.32	Octacosanoic acid, methyl ester	0.016	C <sub>29</sub> H <sub>58</sub> O <sub>2</sub>	438	055682-92- 3	74.87.75.43.57	
108	120.34	1,3-benzodioxol-5-yl (1R,3aR,4S, 6aR) -4-(1,3-benzodioxol-5-yl) perhydrofuro(3,4-c)furan-1-yl ether: sésamoline	0.036	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	370	-	135.138.81.137.82	
109	122.34	Mélange: Sésamolin+Campestérol	0.482	-	-	-	135.138.81.137.136	
110	123.91	Lignane non identifié	0.013	-	-	-	135.138.137.136.203	
111	125.29	Stigmastérol	0.051	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412	83-48-7	55.83.69.81.159	
112	129.86	γ -sitosterol	0.032	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414	83-46-5	43.414.55.107.145	
113	132.17	β -sitosterol	0.543	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414	83-47-6	43.414.105.145.107	
114	132.24	Stigmasterol,22,23-dihydro	0.105	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414	1000214- 20-7	43.414.105.145.107	
115	133.76	Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol, (3beta,24E): Fucosterol	0.006	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412.	17605-67-3	314.55.69.97.289	
116	136.25	Stigmastal-5,24(28)-dien-3-ol- (3beta,24Z): isofucosterol	0.115	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	412	481-14-1	314.55.69.281.229	
117	139.52	Non identifié	0.000	-	-	-	271.314.55.272.69	
118	147.37	Stigmast-4-en-3-one	0.007	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412	1058-61-3	124.229.43.55.412	

Les hydrocarbures aliphatiques sont représentés par certains composés de la série homologue de n-C<sub>9</sub> à n-C<sub>30</sub>. Cette même série a déjà été citée par H.M.A.Mohamed et al <sup>63</sup>. D'autre part, nous notons la présence du squalène (triterpène acyclique) qui est considéré comme une référence des hydrocarbures des huiles végétales. Il est à relever aussi la présence de dérivés benzéniques tels que: xylène, propylbenzène, benzaldéhyde ainsi que certains hydrocarbures monoterpéniques comme l' $\alpha$ -pinène, le limonène, et l' $\alpha$ -thujène. De même, nous avons pu identifier un hydrocarbure stéroïdal le 3.5-stigmastadiène qui provient probablement de la dégradation du  $\beta$ -sitosterol <sup>39</sup>.

Des alcools sont identifiés dans ce chromatogramme : il s'agit du 1- et 3-octanol et un alcool benzénique. Pour les éthers oxydes nous avons détecté la présence de l'eucalyptol.

Le chromatogramme a révélé aussi la présence de cinq cétones (fenchone, thujone, camphre, isomenthone et 2-norpinanone-3,6,6-triméthyl) et deux aldéhydes (E,E-2,4-décadiénal et 9,17-octadécadiénal).

Les acides gras identifiés présentent une teneur importante. Ils sont sous forme soit d'acides gras libres (acide octadec-9-énoïque), d'esters méthyliques (ester méthylique de l'acide octadécanoïque), d'esters éthyliques (ester éthylique de l'acide eicosanoïque) et enfin sous forme d'esters octyliques (ester octylique de l'acide myristique). Ces derniers composés constituent la fraction des cires de l'huile de graine de sésame. Il faut signaler aussi que les acides gras constituent la majeure partie des huiles végétales et l'injection directe de l'huile présente des interférences de certains acides gras avec leurs isomères surtout pour le cas des AGPI (**Figure 27**).

Concernant les esters méthyliques d'acide gras saturés, nous en avons identifié toute une série allant du C8, C14, C16, C18 au C28. Des esters d'acides gras ayant un nombre impair d'atomes de carbone ont été également identifiés, mais en faible quantité.

Pour ce qui est des esters d'acides gras mono et polyinsaturés, nous avons pu identifier ceux cités par la littérature<sup>45</sup> tels que les méthyl hexadécénoate, octadécadiénoate, octadécénoate et octadécatriénoate en plus d'autres esters non cités par la littérature tels que les méthyl 4-octénoate et 13-docosénoate.

Comme exemple des esters méthyliques identifiés, un spectre de masse représentant l'ester méthylique de l'acide octadécanoïque est représenté sur la **Figure 28**.

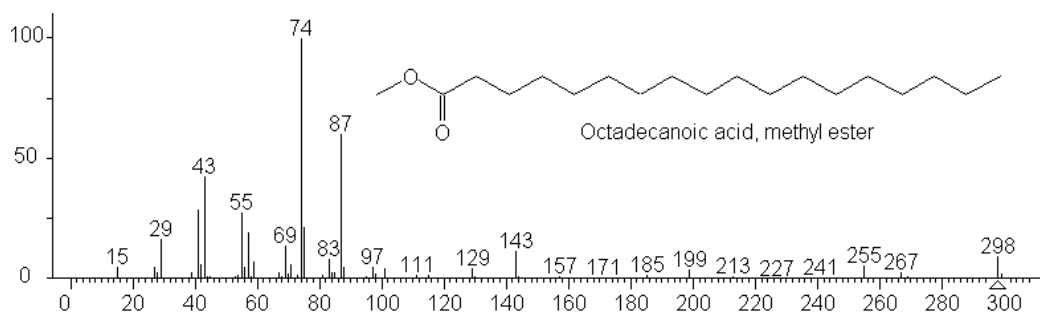


Figure 28: Spectre de masse de l'ester méthylique de l'acide octadécanoïque

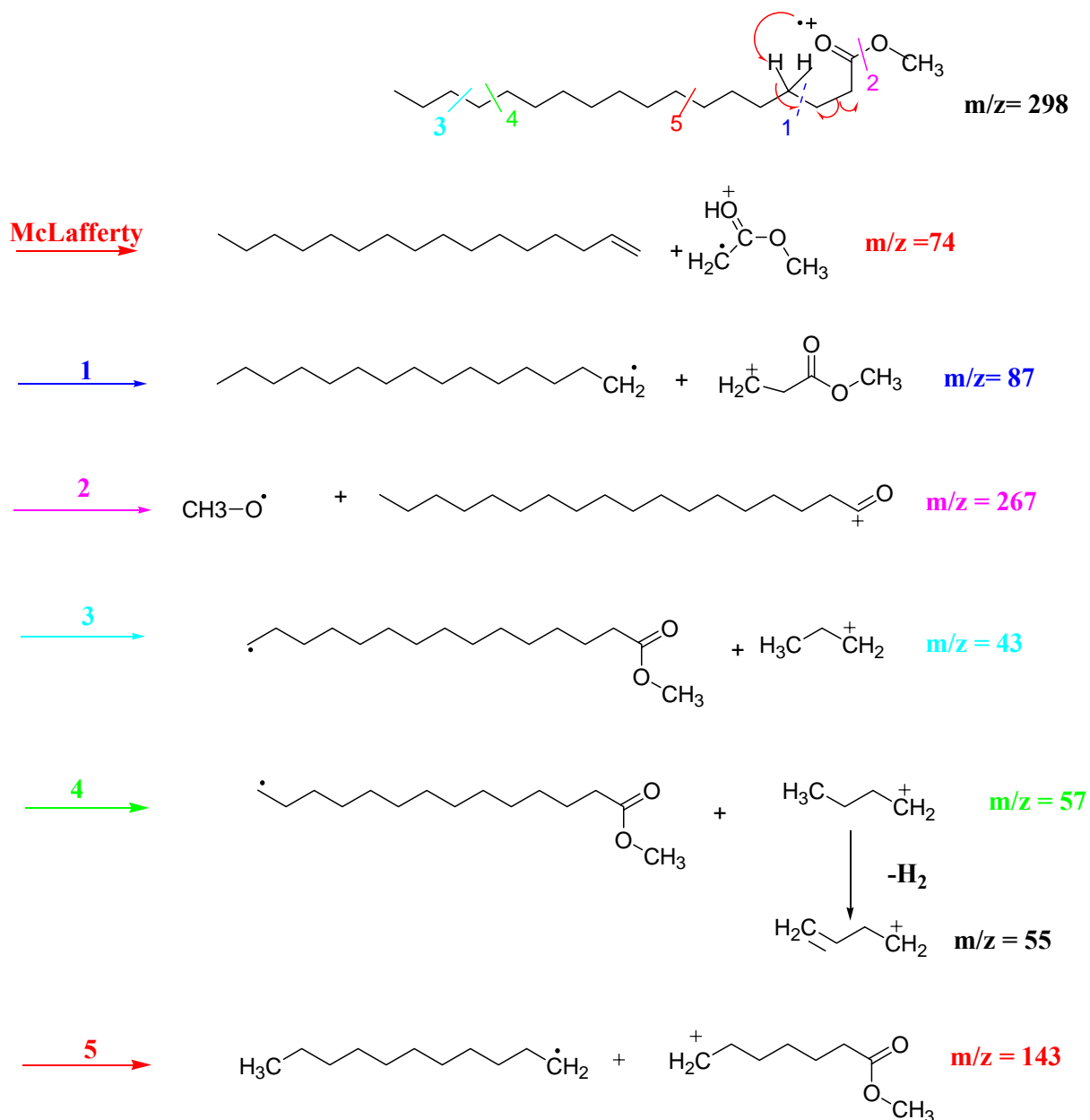


Figure 29: Schéma de fragmentation proposé pour l'ester méthylique de l'acide octadécanoïque

La **Figure 29** illustre le mécanisme proposé pour sa fragmentation. Les esters méthyliques présentent un pic de base  $m/z = 74$  dû au réarrangement de McLafferty et au clivage d'une liaison en  $\alpha$  du groupe  $C=O$  qui donne un pic à  $m/z = 87$ .

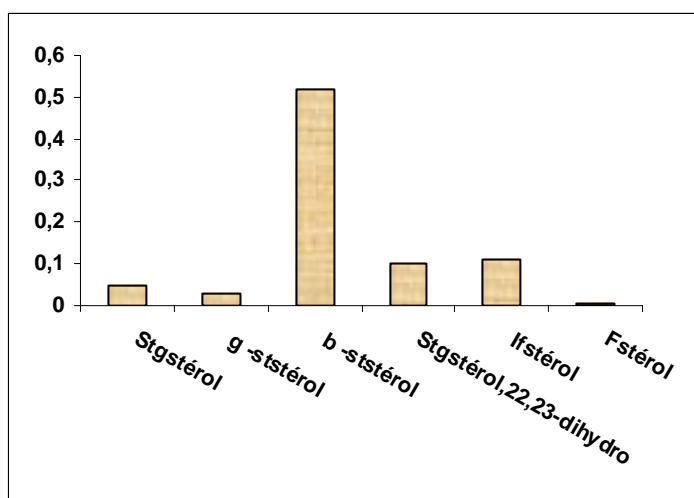
Parmi les acides gras nous avons identifié le méthyl 1,2-octylcyclopropène-1-octanoate qui est un acide gras caractérisé par un enchaînement cyclopropénique entre les carbones 9 et 10. Cet acide a été déjà identifié en quantité significative dans certaines huiles utilisées en alimentation humaine à Madagascar et aux Indes. Nous avons également mis en évidence le méthyl 9,10-dihydroxy-octadécanoate qui a déjà été identifié dans l'huile de ricin en petites quantités<sup>5</sup>.

D'autre part, nous avons aussi identifié certains esters qui n'ont pas été cités auparavant par la littérature tels que les méthyl 9-oxo-nonanoate, 10(E),12(E)-octadécandiène-9-onoate et octadécane-9,10-dien-13-onoate. Un composé de la même famille que le méthyl 9-oxo-nonanoate et qui est le méthyl 9-oxo-octadécanoate a déjà été identifié dans l'huile de lin<sup>78</sup>. Il est à noter que l'huile de lin comme celle de sésame contient des lignanes<sup>79</sup>.

En ce qui concerne les tocophérols, nous avons pu identifier le  $\gamma$ -tocophérol à l'état libre et sous sa forme dérivée en TMS.

Pour les stérols, une tentative d'identification a permis de conclure à la présence de 6 stérols parmi lesquels le majoritaire est le  $\beta$ -sitostérol (**Figure30**). On signale aussi que l'ensemble de ces stérols sont détectés à l'état libre, la réaction de silylation n'ayant pas eu lieu.

D'autre part, il faut remarquer que les quatres stérols : stigmastérol,  $\beta$ -sitostérol,  $\gamma$ -sitostérol, 22,23-dihydrostigmastérol, isofucostérol et fucostérol sont bien séparés à l'exception du campestérol dont le pic interfère avec celui du sésamoline.

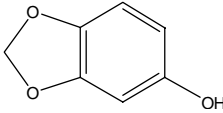
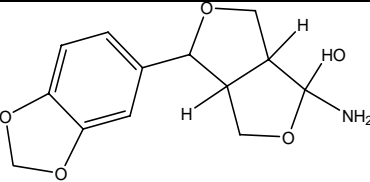
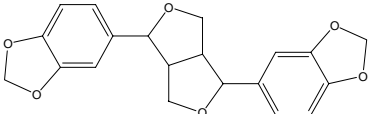
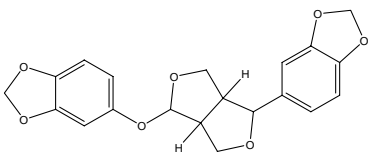


**Figure30** : Composition stérolique de l'huile de graine de sésame

La présence du  $\beta$ -sitostérol en forte teneur (549 mg/100g d'huile) (**Figure30**) confirme ce qu'ont rapporté certains auteurs sur l'action de l'huile de sésame sur l'inhibition de l'absorption du cholestérol plasmatique <sup>22</sup>.

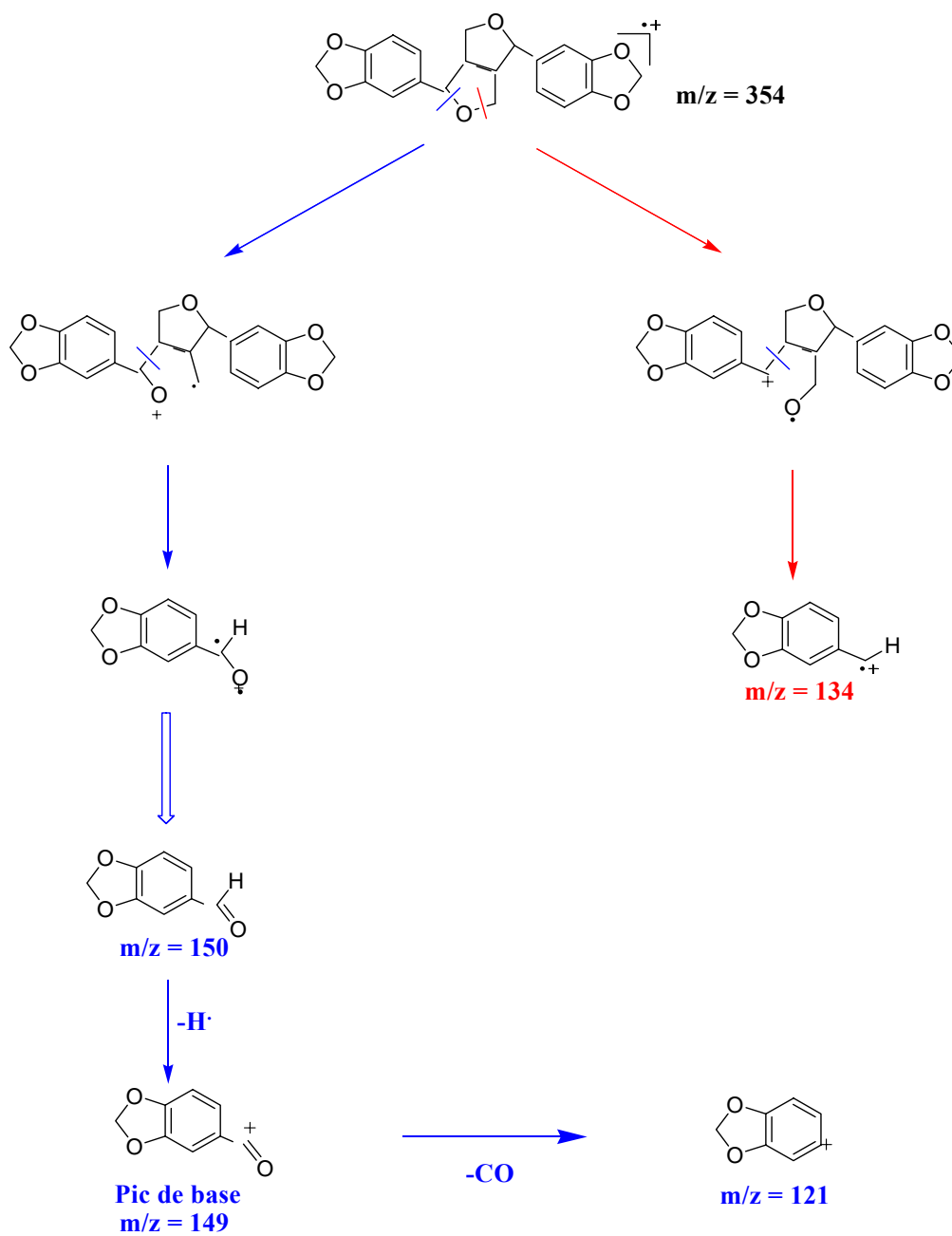
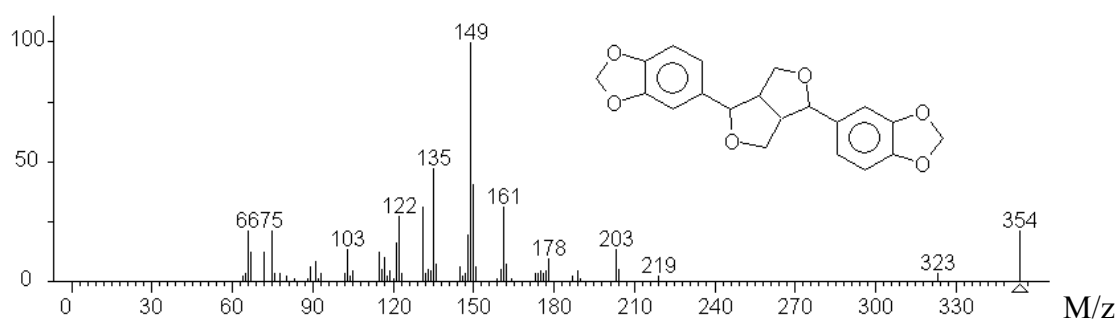
Pour les lignanes, composés caractéristiques de l'huile de graine de sésame, nous avons pu en identifier quatre dont l'un porte un groupement amine ; ils sont repris dans le **Tableau 22**.

**Tableau 22** : Composition en lignanes de l'huile de graine de sésame

Lignanes identifiés	Structure moléculaire	mg / 100g d'huile	mg / 100g d'huile <sup>63</sup>
1,3-benzodioxol-5-ol : <b>sésamol</b>		8	0.04
1S,3aR,4S,6aR)-4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-tetrahydro-1H,3H-Furo(3,4-c)Furan -1-ol(+)-samine		291	Non cité
1,3-Benzodioxole,5,5'-(tetrahydro-1H, 3H-furo[3,4-c]furan-1,4-diyl)bis-[1S-(1. $\alpha$ ,3a. $\alpha$ ., 4. $\beta$ .,6a . $\alpha$ .)]- : <b>sésamine</b>		866	302.1
1,3-benzodioxol-5-yl (1R,3aR,4S, 6aR) -4-(1,3-benzodioxol-5-yl) perhydrofuro (3,4-c)furan-1-yl ether : <b>sésamoline</b>		34	227.4

Le sésamine est le composé majoritaire de cette huile comme cela a été déjà relevé par H..M..A. Mohamed <sup>63</sup>. Le sésamol est présent ici en plus forte teneur par rapport à ce qui a été trouvé dans la littérature. Par contre, le sésamoline a un pourcentage inférieur (0.034%) à celui qui a été trouvé dans les travaux de H..M..A. Mohamed (0.227%). Le spectre de masse du sésamine ainsi qu'une proposition de son schéma de fragmentation sont proposés respectivement dans les figures 31 et 32.

Abundance (%)



**Figure 32:** Schéma de fragmentation proposé pour le sésamine

D'après la littérature, sous l'effet de la chaleur, on observe une dégradation presque complète du sésamoline avec formation d'une quantité appréciable de sésamol, de sésaminol et d'épimères<sup>43</sup>. Ceci explique la forte teneur de sésamol (8 mg/100g d'huile) et la faible quantité de sésamoline (34 mg/100g d'huile) par rapport aux données bibliographiques.

## VI.2. Analyse par GC/MS de la fraction des Cires

Les cires ne font pas partie de l'insaponifiable puisqu'il s'agit principalement d'esters d'alcools gras et d'acides gras mais elles sont difficilement saponifiables. Leur analyse chromatographique peut être réalisée soit sous forme libre ou bien après dérivatisation (le plus souvent sous forme de dérivés silyléthers)<sup>80, 81</sup>.

Les conditions en GC-MS sont similaires à celles utilisées pour l'analyse de l'huile sauf pour la programmation de température du four qui est identique à celle utilisée par chromatographie en phase gazeuse seule.

### VI.2.1. Résultats et discussions :

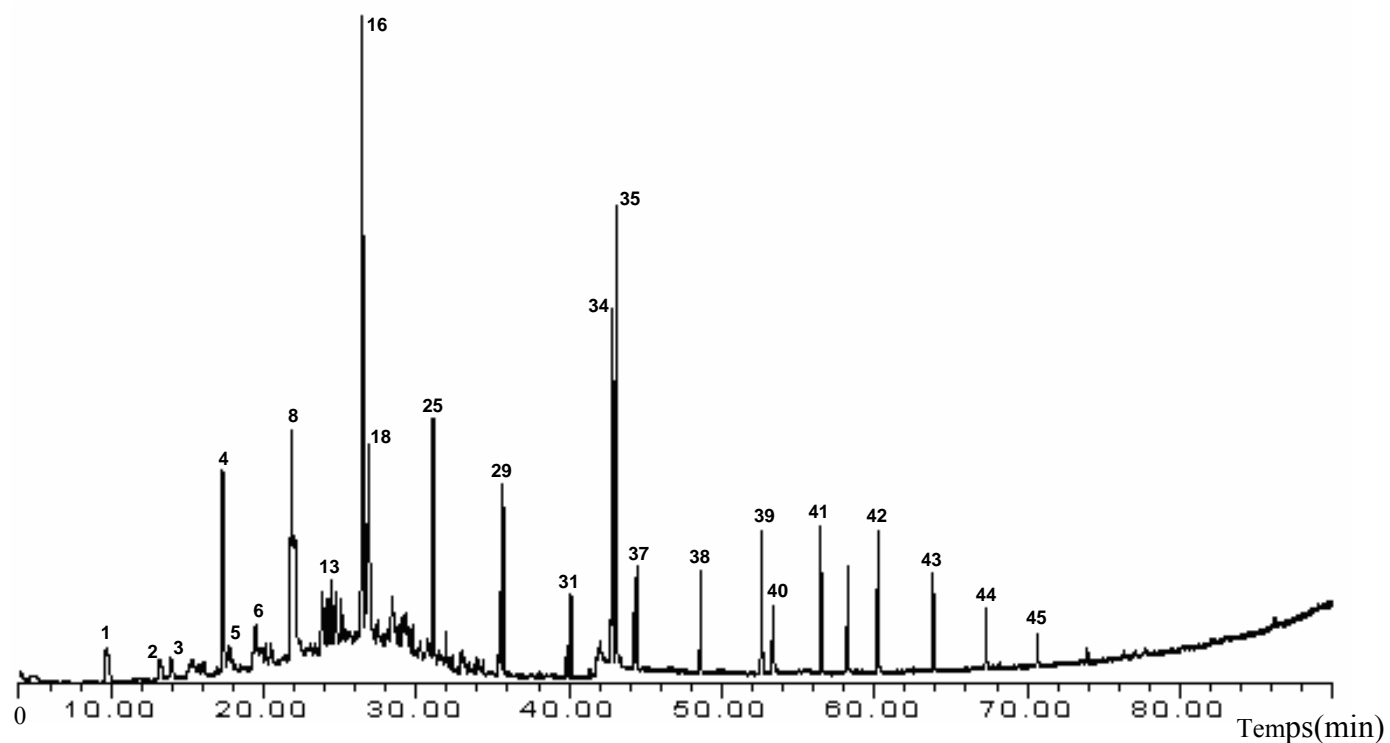
Les cires sont un groupe de composés formés par estérification des alcools et des acides gras. Elles sont présentes dans l'huile en tant que fraction mineure. Dans notre huile, nous avons décelé 1.72 % de cires. Le chromatogramme de la fraction des cires analysée par GC/MS a révélé 45 pics parmi lesquels 4 (dont un alcane) n'ont pu être identifiés. La composition qualitative de cette fraction se présente comme suit :

- hydrocarbures aliphatiques linéaires de C<sub>14</sub> à C<sub>29</sub>,
- hydrocarbures aliphatiques ramifiés,
- composés phénoliques,
- acides gras,
- esters méthyliques et éthyliques d'acides gras.
- un alcool gras ramifié (2-éthyl-2-méthyltridécanol,).

La composition qualitative observée d'après l'interprétation donnée au **Tableau 23** est proche de celle donnée par la littérature<sup>13</sup> dans le cas des cires d'origine végétale à l'exception de l'absence des esters de stérols et des alcools terpéniques.

L'absence du squalène (hydrocarbure triterpénique) et du stigmastan-3,5-diène (hydrocarbure stéroïdal) donne une idée sur la sélectivité du solvant d'extraction des cires

D'autre part, nous avons la présence de trois composés phénoliques de type alkylphénol à caractère antioxydant : le 4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)-phénol, le Phénol,2,2'-méthylène bis(6-(1,1-diméthyléthyl)-4-méthyl et le 2,6-bis(1,1-diméthyléthyl)-4-méthylphénol,.



**Figure33** : chromatogramme de la fraction des cires en GC-MS-IE

**Tableau23** : Composition chimique de la fraction des cires

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
1	9.74	Tetradecane	0.045	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198	629-59-4	57.71.43.85.41	1401
2	13.20	Pentadecane	0.002	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	629-62-9	57.71.43.85.41	1500
3	13.91	Phenol,2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	0.800	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	128-37-0	205.220.206.145.105	1517
4	17.33	Hexadecane	6.531	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	544-76-3	57.71.43.85.41	1600
5	17.73	Phenol,4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-	0.718	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O	206	140-66-9	135.107.136.206.119	1609
6	19.49	Tridecanol,2-ethyl-2-methyl	1.535	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	1000115-66-1	57.71.43.85.41	1648
7	20.48	Hexadecane,3methyl	0.431	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	6418-43-5	57.71.85.56.43	1670
8	21.82	Heptadecane	6.378	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	629-78-7	57.71.43.85.41	1700
9	21.96	Non identifié	0.896	-	-	-	97.123.81.82.83	1703
10	22.07	Pentadecane,2,6,10,14-tetramethyl	3.822	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	1921-70-6	71.57.85.43.113	1705
11	23.86	Hexadecane,7-methyl	2.494	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	26730-20-1	71.57.43.85.41	1744
12	24.21	Tetradecane,4-ethyl	1.395	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	55045-14-2	57.85.71.43.84	1751
13	24.47	Cyclopropane,1-methyl-1-(2-methylpropyl)-2-nonyl-	1.480	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub>	238	41977-41-7	71.57.83.43.55	1757
14	24.73	Heptadecane,2methyl	1.042	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	1560-89-0	57.43.71.85.41	1763
15	25.09	Heptadecane,3methyl	0.799	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	6418-44-6	57.71.85.43.56	1770
16	26.46	Octadecane	12.757	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	593-45-3	57.71.43.85.41	1800
17	26.69	Non identifié	0.831	-	-	-	97.105.98.120.119	1805
18	26.89	Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl: <b>Phytane</b>	6.446	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	638-36-8	71.57.85.43.41	1809
19	27.44	Heptadecane,4propyl	0.304	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	55044-10-5	57.71.85.43.41	1821
20	28.29	Non identifié	0.361	-	-	-	68.95.69.82.81	1839
21	28.42	Alcane non identifié	1.650	-	-	-	57.71.85.43.42	1842
22	29.12	Heptadecane,2,3-dimethyl	0.760	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	61868-03-9	71.43.57.70.133	1836
23	29.38	Octadecane,2-methyl	1.130	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	1560-88-9	57.43.71.85.41	1863
24	29.76	Octadecane,3-methyl	0.546	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	6561-44-0	57.71.85.43.56	1863
25	31.10	Nonadecane	4.665	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	629-92-5	57.71.43.85.41	1871
26	31.96	(E,E)-7,11,15-Trimethyl-3-methylene-hexadeca-1,6,10,14-tetraene	0.628	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	272	70901-63-2	69.93.81.41.67	1900
27	32.96	Nonadecane,9methyl	0.296	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	13287-24-6	57.71.85.43.41	1919
28	35.46	Hexadecanoic acid,ethylester	1.589	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	284	628-97-7	88.101.43.55.57	1941
29	35.68	Eicosane	3.427	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	112-95-8	57.71.85.43.41	1995
30	39.85	9,12-octadecadienoic acid(Z,Z) methylester	0.596	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	112-63-0	67.81.95.55.82	2000
31	40.14	Heneicosane	1.585	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	629-94-7	57.71.43.85.55	2094

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
32	41.89	9,12-octadecadienoic acid(Z,Z)	0.378	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	280	60-33-3	57.71.67.55.85	2100
33	42.04	9octadecenoic acid (Z)	0.862	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	282	112-80-1	55.69.67.41.81	2121
34	42.81	Linoleic acid ethylester	6.729	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	308	544-35-4	67.81.95.55.79	2162
35	43.09	Ethylolate	8.223	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	310	111-62-6	55.69.88.83.97	2169
36	44.27	Octadecanoic acid, ethylester	1.113	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	312	111-61-5	88.101.43.55.89	2196
37	44.44	Docosane	1.648	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	310	629-97-0	57.71.85.43.41	2200
38	48.61	tricosane	1.841	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	324	638-67-5	57.71.85.43.41	2300
39	52.62	Tetracosane	2.660	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	646-31-1	57.71.85.43.55	2400
40	53.34	Phenol,2,2'-methylene bis(6-(1,1-dimethylethyl)-4-methyl	1.344	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	340	119-47-1	177.161.164.149.340	2418
41	56.50	Pentacosane	2.694	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	352	629-99-2	57.71.85.43.55	2500
42	60.23	Hexacosane	2.629	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	630-01-3	57.71.85.43.55	2600
43	63.84	Heptacosane	1.885	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380	593-49-7	57.71.85.43.55	2700
44	67.32	Octacosane	1.135	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	394	630-02-4	57.71.85.43.55	2800
45	70.68	Nonacosane	0.623	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	630-03-5	57.71.85.43.55	2900

Les esters constituant la fraction des cires sont des esters éthyliques des acides hexadécanoïque, linoléique, oléique et octadécanoïque. En plus, nous notons la présence d'acides gras libres résultant de l'hydrolyse de ces esters et qui sont les acides 9-octadécénoïque et 9.12-octadécadiénoïque ainsi que l'ester méthylique de ce dernier.

### VI.3. Analyse par GC/MS de l'insaponifiable et de ses fractions

#### VI.3.1. Analyse de la fraction insaponifiable

La détermination des stérols, tocophérols, lignanes, alcools et hydrocarbures dans l'huile végétale est compliquée suite au nombre d'étapes nécessaires pour arriver au résultat final sans oublier les pertes entraînées par chaque opération alors que ces composés sont souvent à l'état de traces. Une procédure analytique est proposée ici pour éliminer l'étape du fractionnement par chromatographie liquide (sur colonne ou couche mince).

Pour la détermination des composés mineurs dans l'huile, certains auteurs, proposent l'utilisation de la méthode LC-GC laquelle nécessite une silylation préalable des fractions recueillies avant la GC<sup>82</sup>. L'analyse directe de l'insaponifiable de l'huile fournit beaucoup d'informations détaillées sur l'identité et la qualité de l'huile<sup>83</sup>. Jasminka conseille l'application en priorité de la saponification suivie ensuite de l'analyse de l'insaponifiable car d'après elle, la détermination des composés mineurs de l'huile est facile<sup>82</sup>.

Pour la réaction de silylation, il n'est pas aisé de dériver en une seule étape des composés assez différents. A. Grandgirard et C. Cordelet proposent de dériver séparément chaque groupe de composés pour que les groupes hydroxyles difficilement accessibles soient dérivés<sup>84</sup>. Mais il faut alors séparer ces composés au préalable et cette étape supplémentaire peut être génératrice d'artefacts, si elle est réalisée dans des conditions où il y a une possibilité d'oxydation.

Il ne sera ici question que de la séparation directe de l'insaponifiable par chromatographie en phase gazeuse, après transformation du résidu en dérivés silyléthers pour améliorer la stabilité thermique des composés et éviter la traînée des pics.

#### **VI.3.1.1. Conditions de la GC/MS**

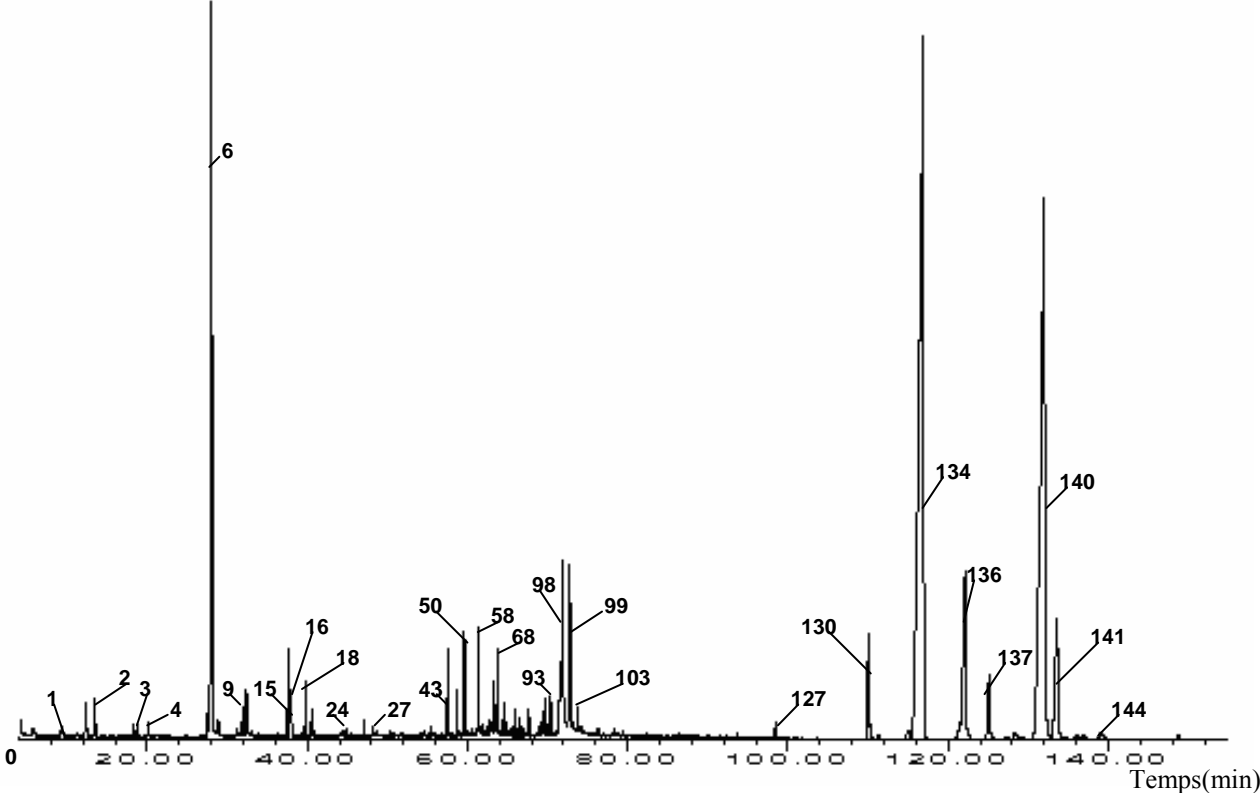
Les dérivés TMS de l'insaponifiable obtenus dans les mêmes conditions que ceux injectés en GC, ont été repris pour être analysés par GC/MS. Les conditions d'injection utilisées pour l'analyse de l'huile ont servi à l'analyse de la fraction insaponifiable silylée (**Voir paragraphe VI.I.I.**).

#### **VI.3.1.2. Résultats et discussions :**

La teneur en insaponifiable est de 1.69% de l'huile selon la méthode utilisant l'éther diéthylique. L'insaponifiable total est globalement analysé par chromatographie en phase gazeuse qui fournit rapidement un insapogramme où l'on trouve les principaux constituants : hydrocarbures, lignanes, tocophérols, stérols

L'insapogramme obtenu par GC-MS constitue un « finger-print » caractéristique de l'huile (**Figure 34**) à l'instar de ceux présentés par la littérature dans le cas de la chromatographie en phase gazeuse directe de l'insaponifiable<sup>83</sup>. Seulement, les auteurs ne se sont intéressés qu'aux stérols, tocophérols et parfois aux alcools gras<sup>85</sup>.

Les résultats obtenus à partir de l'analyse de la fraction insaponifiable sont représentés dans le **Tableau 24**. On note la persistance de la majorité des composés qui n'ont pas réagi avec le produit de dérivatisation et il est intéressant de noter la présence de certains composés simultanément à l'état libre et silylé. On remarque aussi que l'identification n'est pas très aisée en raison des chevauchements de pics. Le couplage de la GC à la spectrométrie de masse est d'un intérêt primordial pour l'identification des composés de l'insapogramme.



**Figure34** : Chromatogramme de la fraction insaponifiable de l'huile de graine de sésame

**Tableau24:** Composition de la fraction insaponifiable de l'huile de graine de sésame

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
1	11.27	D-Limonene	0.017	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	5989-27-5	68.93.67.79.94	1021
2	13.41	Non identifié	0.534	-	-	-	79.93.43.94.137	1061
3	18.74	P-Mentha-1,5-dien-8-ol: α-Phellandren-8-ol	0.123	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	1686-20-0	59.94.79.91.93	1156
4	22.76	Non identifié	0.013	-	-	-	147.73.281.45 .282	1222
5	27.61	1,3-Isobenzofurandione	0.362	C <sub>8</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	148	85-44-9	104.76.50.148.74	1298
6	28.06	1,3-Benzodioxol-5-ol : sesamol	9.064	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138	533-31-3	138.137.52.53.51	1305
7	28.88	Piperonal: 1,3 Benzodioxol-5-ol-carboxaldehyde	0.052	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	150	120-57-0	149.150.121.73.63	1320
8	31.21	Tridecane-3-methyl	0.061	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198	6418-41-3	57.73.43.72.85	1360
9	31.93	5-Trimethylsilyloxy-1,3 benzodioxole	0.209	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> Si	210	17903-26-3	210.195.165.73.137	1373
10	33.09	Tetradecane	0.039	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198	629-59-4	57.43.71.85.41	1393
11	33.88	6-Nonynoic acid-methyl ester	0.021	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	168	20731-17-3	59.94.79.43.93	1407
12	36.19	Tridecane 2,5-dimethyl	0.011	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	56292-66-1	57.98.43.85.140	1446
13	36.24	Tetradecane,5methyl	0.002	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	25117-32-2	43.85.69.55.42	1447
14	36.94	Non identifié	0.015	-	-	-	71.57.43.85.41	1459
15	37.36	2,6-di(t-butyl)-4-hydroxy-4-methyl-2,5-cyclohexadien-1-one	0.175	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	236	-	185.57.180.205.137	1467
16	37.99	Propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester	0.219	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	286	74381-40-1	71.43.41.159.56	1477
17	39.47	Pentadecane	0.118	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	629-62-9	57.43.73.85.41	1503
18	39.77	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	0.372	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	128-37-0	205.220.206.57.145	1508
19	40.82	Pentanoic acid, 2,2,4-trimethyl-3-carboxyisopropyl, isobutyl ester	0.029	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	286	1000140-77-5	71.43.56.111.70	1526
20	42.38	N.id Pentadecane,4-methyl	0.011	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	2801-87-8	73.87.43.69	1552
21	44.06	Non identifié	0.011	-	-	-	71.57.85.43.73	1581
22	44.19	Non identifié	0.011	-	-	-	57.43.85.71.123	1583
23	44.39	Non identifié	0.050	-	-	-	149.97.83.41.56	1587
24	44.81	Hexadecane	0.052	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	544-76-3	57.43.85.71.41	1594
25	45.43	Non identifié	0.003	-	-	-	81.108.126.57.80	1605
26	47.53	Non identifié	0.010	-	-	-	73.123.57.97.85	1643
27	48.11	Alcane non identifié	0.085	-	-	-	57.43.71.85.41	1653
28	48.45	Alcane non identifié	0.016	-	-	-	57.43.71.85.41	1660

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
29	48.57	Tetradecane,2,6,10-trimethyl	0.018	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	14905-56-7	57.71.43.85.56	1662
30	50.30	Heptadecane	0.038	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	629-78-7	57.43.71.85.41	1693
31	50.56	Alcane non identifié	0.005	-	-	-	71.43.57.85.44	1698
32	51.68	Non identifié	0.029	-	-	-	108.135.207.109. 359	1719
33	51.92	Alcane non identifié	0.013	-	-	-	56.70.71.57.43	1724
34	54.13	Non identifié	0.015	-	-	-	43.85.109.123.84	1766
35	54.54	Alcane non identifié	0.060	-	-	-	57.43.71.85.41	1774
36	55.01	Non identifié	0.017	-	-	-	57.43.71.85.41	1783
37	55.14	1-Heptadecanol	0.028	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> O	256	1454-85-9	97.83.56.41.55	1785
38	55.53	Octadecane	0.068	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	593-45-3	57.43.71.85.41	1793
39	55.65	Non identifié	0.004				97.85.96.84.69	1795
40	55.94	Hexadecane,2,6,10,14-tetramethyl :phytane	0.013	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	638-36-8	57.71.85.56.41	1800
41	57.23	Non identifié	0.005	-	-	-	70.56.43.83.42.109	1826
42	57.50	Non identifié	0.615	-	-	-	68.95.43.82.44	1832
43	57.63	Non identifié	0.007	-	-	-	85.43.71.97.109. 110	1834
44	57.81	Non identifié	0.019	-	-	-	70.43.97.58.56	1838
45	57.85	Non identifié	0.025	-	-	-	70.111.56.69.55	1839
46	58.13	Non identifié	0.019	-	-	-	149.73.41.57.148	1844
47	58.73	Non identifié	0.352	-	-	-	82.81.43.95.68	1856
48	59.29	Non identifié	0.029	-	-	-	109.96.81.69.95	1867
49	59.61	Neophytadiene: 2,6,10,Trimethyl,14-ethylene-14- pentadecene	0.919	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub>	278	-	82.81.43.95.68	1874
50	60.04	Nonadecane	0.043	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	629-92-5	57.71.43.85.41	1883
51	60.38	Non identifié	0.023	-	-	-	69.93.81.43.111	1889
52	60.52	Alcane non identifié	0.034	-	-	-	57.43.71.41.85	1892
53	60.55	Alcane non identifié	0.052	-	-	-	57.43.71.41.85	1893
54	60.75	Non identifié	0.029	-	-	-	82.95.67.81.57	1897
55	61.16	Non identifié	0.055	-	-	-	81.41.69.91.105	1906
56	61.23	Non identifié	0.016	-	-	-	67.119.93.120.79	1907
57	61.40	(E,E)-7,11,15-trimethyl-3methylene- hexadeca-1,6,10,14 tetraene	0.934	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	272	3- 070901- 63-2	69.41.81.93.133	1911
58	61.79	Non identifié	0.089	-	-	-	105.93.119.92.79	1920
59	62.16	Non identifié	0.010	-	-	-	121.79.120.107.80	1928

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
60	62.19	Non identifié	0.030	-	-	-	121.203.79.120. 107	1929
61	62.49	Non identifié	0.063	-	-	-	93.203.119.120.79	1935
62	62.81	Isophytol	0.117	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	296	505-32-8	71.43.97.82.41	1942
63	63.01	Non identifié	0.118	-	-	-	69.119.149.41.93	1947
64	63.19	1,5,9-Cyclotetradecatriene,1,5,9-trimethyl-12-(1-methylethenyl)-: Neocembren A	0.402	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	272	38748-84-4	68.93.67.81.107	1951
65	63.61	Hexadecanoic acid	0.182	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256	57-10-3	73.43.60.41.57	1960
66	63.75	(E,E,E)-3,7,11,15 –tetramethyl hexa-deca-1,3,6,10,14-pentaene	0.577	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	272	77898-97-6	69.93.41.81.107	1964
67	64.21	Non identifié	0.019	-	-	-	67.81.71.95.109	1974
68	64.50	Non identifié	0.304	-	-	-	69.41.81.93.67	1980
69	64.80	Non identifié	0.113	-	-	-	119.107.134.149. 93	1987
70	64.93	Non identifié	0.008	-	-	-	43.85.111.97.71	1990
71	64.98	Non identifié	0.009	-	-	-	43.85.111.97.71	1991
72	65.07	Hexadecnoic acid,ethyl ester	0.056	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284	628-97-7	88.101.57.71.41	1993
73	65.29	Eicosane	0.025	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	112-95-8	57.43.71.85.99.56	1998
74	65.41	Non identifié	0.033	-	-	-	121.93.136.79.68	2001
75	65.55	Non identifié	0.094	-	-	-	107.93.69.134.135	2004
76	65.92	Non identifié	0.211	-	-	-	123.41.69.93.109	2012
77	66.30	Non identifié	0.059	-	-	-	121.93.67.107.92	2020
78	66.58	Hexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol, 3,7,11,16tetramethylethyl(E,E,E)	0.130	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	290	7614-21-3	69.41.81.93.107	2026
79	66.83	Non identifié	0.010	-	-	-	85.43.109.84.69	2032
80	66.98	Non identifié	0.060	-	-	-	85.43.109.57.84	2035
81	67.25	Non identifié	0.011	-	-	-	57.111.43.41.109	2041
82	67.35	Non identifié	0.028	-	-	-	85.43.73.45.69.111	2043
83	67.68	Non identifié	0.205	-	-	-	135.107.41.69.93. 117	2050
84	68.52	Non identifié	0.005	-	-	-	108.93.135.92.107	2068
85	68.58	Non identifié	0.026	-	-	-	108.93.135.92.107	2070
86	68.81	Non identifié	0.094	-	-	-	43.163.57.164.41	2075
87	69.23	Non identifié	0.113	-	-	-	43.57.82.68.95	2084
88	69.43	9,12octadecadienoic acid methyl ester(E,E)	0.242	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	2566-97-4	67.81.55.95.41	2088

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
89	69.74	9-Octadecenoic acid, methyl ester(Z)	0.370	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	1937-62-8	55.41.43.69.74.83	2095
90	70.05	2-Nonadecene	0.093	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O	282	629-66-3	58.43.59.71.55.41	2102
91	70.38	Phytol	0.327	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	296	150-86-7	43.57.68.71.55.82	2109
92	70.81	Non identifié	0.022	-	-	-	111.85.69.43.95	2119
93	71.01	Heptadecanoic acid-10- methyl- methyl ester	0.062	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	298	2490-25-7	74.87.59.79.43	2123
94	71.19	Non identifié	0.011	-	-	-	71.43.45.81.69.95	2127
95	71.60	9,12-Octadecadienoic acid (ZZ)	1.302	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	280	60-33-3	67.55.41.81.95	2137
96	71.92	9-Octadecenoic acid	3.037	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	282	112-80-1	55.69.83.41.97	2144
97	72.77	(1S,3aR,4S,6aR)-4-(1,3- Benzodioxol-5-yl)-tetrahydro-1H, 3H-Furo(3,4-c)Furan-1-ol(+)-samine	2.288	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>	250	-	149.150.250.74.55	2163
98	73.00	Non identifié	0.057	-	-	-	149.150.250.74.55	2168
99	73.24	Non identifié	0.074	-	-	-	93.107.68.121.	2174
100	73.28	Non identifié	0.113	-	-	-	93.107.68.121.	2175
101	73.83	1,6,10,14-Hexadecatetraen- 3ol,3,7,11,15-tetramethyl EE-	0.285	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	290	1113-21-9	69.41.81.93.67	2187
102	73.99	Non identifié	0.054	-	-	-	43.69.88.41.55	2191
103	74.05	Non identifié	0.046	-	-	-	43.69.88.41.55	2192
104	74.20	Docosane	0.118	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	310	629-97-0	57.43.71.85.41	2195
105	74.42	Non identifié	0.048	-	-	-	91.92.69.121.79	2200
106	74.58	Non identifié	0.026	-	-	-	69.93.41.1107.81	2204
107	74.61	Non identifié	0.045	-	-	-	69.93.41.1107.81	2205
108	76.05	Non identifié	0.020	-	-	-	149.135.150.129. 73	2238
109	76.24	Non identifié	0.006	-	-	-	149.150.135.248. 134	2243
110	76.31	Non identifié	0.061	-	-	-	149.150.135.248. 134	2245
111	76.89	Non identifié	0.027	-	-	-	85.43.69.111.110	2258
112	76.94	Non identifié	0.011	-	-	-	85.43.69.111.110	2259
113	77.27	Non identifié	0.010	-	-	-	85.111.43.95.71	2267
114	78.411	Tricosane	0.049	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	324	638-67-5	57.71.43.85.41	2293
115	78.735	Non identifié	0.015	-	-	-	58.43.59.71.85.69	2301
116	78.77	Non identifié	0.018	-	-	-	58.43.59.71.85.69	2302
117	79.40	Non identifié	0.006	-	-	-	108.181.93.135. 109	2318

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
118	80.00	Non identifié	0.007	-	-	-	111.85.69.95.109	2333
119	82.43	Tetracosane	0.027	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	646-31-1	57.71.43.85.41	2394
120	86.34	Pentacosane	0.043	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	352	629-99-2	57.71.43.85.97	2497
121	88.30	Non identifié	0.009	-	-	-	69.85.109.81.123	2549
122	90.07	Hexacosane	0.021	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	630-01-3	57.71.85.43.97	2595
123	93.65	Heptacosane	0.035	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380	593-49-7	57.71.43.85.41	2694
124	97.29	Octacosane	0.022	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	394	630-02-4	57.71.85.43.41	2795
125	98.41	Squalene	0.159	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	410	7683-64-9	69.81.41.95.136	
126	99.96	Non identifié	0.020	-	-	-	57.43.71.85.55	
127	101.72	Nonacosane	0.016	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	630-03-5	57.71.85.43.55	
128	110.02	Gamma-Tocopherol	1.555	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	416	7616-22-0	151.416.43.150. 152	
129	110.32	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene, 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-	0.220	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	410	7683-64-9	69.81.95.121.41	
130	111.37	Stigmastan-3,5-diene	0.053	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub>	396	1000214- 16-4	147.43.57.81.146	
131	115.13	1,3benzodioxole,5,5'(tetrahydro-1H, 3H-furo(3,4-c)furan-1,4-diy)bis- (1S-(1.alpha,3a.alpha-,4.beta- ,6a.alpha)- : sesamine	0.304	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	354	133-03-9	149.135.150.161. 130	
132	116.70	2,6-Bis(3,4-methylenedioxyphenyl) -3,7-dioxobicyclo(3,3,0)octane	33.855	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	354	7076-24-6	149.135.150.161. 130	
133	121.41	1,3-benzodioxol-5-yl (1R,3aR,4S, 6aR) -4-(1,3-benzodioxol-5-yl) perhydrofuro(3,4-c)furan-1-yl ether: sesamoline	0.289	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	370	-	135.138.81.137.82	
134	122.12	Campesterol	4.629	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O	400	474-62-4	43.55.107.105.145	
135	125.12	Stigmasterol	1.435	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412	83-48-7	55.83.69.81.43	
136	127.23	Non identifié	0.002	-	-	-	83.55.69.91.105	
137	128.26	Obtusifoliol	0.144	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>	448	16910-32-0	69.55.41.95.81	
138	131.99	β -sitosterol	25.548	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414	83-46-5	43.57.55.107.105. 145	
139	133.56	Fucosterol	3.902	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412	17605-67-3	43.57.55.107.106	
140	136.07	Isofucosterol	0.101	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412	481-14-1	55.314.69.105.41	
141	136.88	Non identifié	0.091	-	-	-	69.95.109.313.411	
142	139.05	Non identifié	0.104	-	-	-	69.55.95.107.119	
143	148.75	α-1-Sitostérol: Citrostadienol	0.114	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O	426	474-40-8	285.55.69.41.105	

Des quantités considérables d'hydrocarbures sont formées dans l'huile suite aux traitements thermiques subis pendant les processus d'extraction (de l'huile et de l'insaponifiable).

L'allure du chromatogramme de l'insaponifiable est similaire à celle de l'huile. La fraction contient une certaine quantité d'hydrocarbures constituée par un mélange d'hydrocarbures aliphatiques linéaires, ramifiés, saturés et insaturés similaire à celle de la plupart des huiles végétales<sup>30</sup>.

Les alcanes linéaires sont représentés par la série homologue allant de n-C<sub>14</sub> à n-C<sub>29</sub> (**Tableau 25**) semblable à celle obtenue pour l'huile. Cette même série a été identifiée par H.M.A.Mohamed et al<sup>63,30</sup>.

**Tableau 25:** Concentrations des n-alcanes de la fraction insaponifiable de l'huile de graine de sésame (ce travail et résultats publiés en bibliographie)

Hydrocarbures	Concentration mg/100g (ce travail)	Concentration mg/100g <sup>63</sup>	Concentration mg/100g <sup>30</sup>
C14	0.65	25.3	-
C15	1.99	7.7	0.16
C16	0.85	17.6	0.11
C17	0.64	11	0.15
C18	1.15	25.3	0.09
C19	0.73	34.1	0.10
C20	0.42	2.2	0.07
C22	1.99	3.3	0.14
C23	0.82	50.6	0.54
C24	0.46	8.8	0.30
C25	0.73	3.3	1.08
C26	0.35	5.5	0.59
C27	0.59	3.3	6.29
C28	0.37	40.7	1.63
Squalène	2.68	18.7	-
C29	0.27	-	18.45

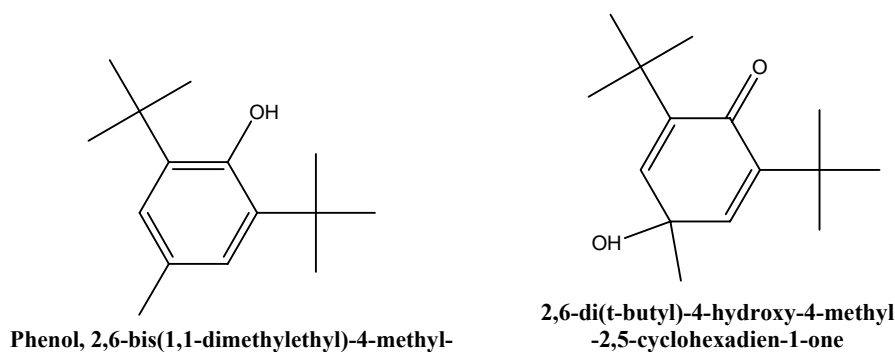
Les quantités d'hydrocarbures aliphatiques observées dans l'insaponifiable sont nettement plus faibles que celles publiées par d'autres auteurs. La composition de la fraction en hydrocarbures stéroïdaux permet d'identifier l'origine de l'huile, du fait que leur composition reflète celle des stérols. Dans notre cas, nous avons identifié le stigmastan-3,5-diène qui provient de la déshydratation thermique du  $\beta$ -sitostérol.

Il est intéressant de signaler la présence du squalène qui est un hydrocarbure triterpénique acyclique ainsi qu'un isomère de masse 410 (2,6,10,15,19,23-hexaméthyl-

2,6,10,14,18,22-tétracosahexaène) déjà cité par la littérature <sup>86</sup>. La teneur en squalène est très faible par rapport aux valeurs rapportées. Il est à signaler aussi l'identification du phytane (2,6,10,14-tétraméthylhexadécane), un produit de dégradation thermique du squalène.

D'autre part, nous notons la présence d'hydrocarbures monoterpéniques tels que le limonène, du phytol, diterpène acyclique formé par la saponification de la chlorophylle, de l'isophytol qui est un produit de départ pour la synthèse des vitamines E et K<sub>1</sub>, ainsi que le néophytadiène, un hydrocarbure diterpénique insaturé qui résulte de la déshydratation thermique du phytol <sup>5,87</sup>.

Des composés phénoliques ont été aussi identifiés. L'un d'eux est le 2,6-bis(1,1-diméthyléthyl)-4-méthylphénol (BHT) un antioxydant fort et l'autre le 2,6-di(*t*-butyl)-4-hydroxy-4-méthyl-2,5-cyclohexadiène-1-one présentant une structure proche de celle du premier.



**Figure35** : Structure des composés phénoliques présents dans l'insaponifiable

Ces deux composés d'origine synthétique ne font pas partie de la composition naturelle de la graine, ils sont ajoutés pour conserver la graine durant les périodes du transport maritime et du stockage <sup>88</sup>.

Nous citerons enfin la présence d'alcools gras à 17 carbones (1-heptadécanol et 13-heptadécyn-1-ol) dont l'origine serait l'hydrolyse d'une cire contenant un alcool à 17 carbones.

Des acides gras ont été identifiés dans la fraction insaponifiable, confirmant les travaux précédents. En ce qui concerne le choix de la préparation de l'insaponifiable utilisant l'éther diéthylique, celle-ci est conseillée pour l'étude des fractions de l'insaponifiable et spécialement la fraction des stérols. Dans notre fraction nous avons pu identifier les acides gras libres suivants hexadécanoïque et 9-octadécénoïque. D'autre part, nous avons aussi la présence de certains esters de méthyl et d'éthyl qui sont formés au cours du processus de préparation du résidu depuis le broyage de la graine (**Tableau 24**), ils peuvent faire partie des

cires du fait que la graine n'a pas été dépelliculée avant le broyage. Parmi ces acides gras méthylés, nous avons la présence du (E,E)-méthyl-9,12-octadécadiénoate présentant une configuration trans qui n'est pas d'origine naturelle mais provient probablement d'une transformation cis/trans sous l'effet de la température et en présence du 1-octanol. Ce dernier paramètre a été cité en littérature comme étant un activateur de l'isomérisation cis-trans des acides gras insaturés <sup>89</sup>. En plus de la configuration trans caractéristique des acides gras d'origine animale, nous remarquons également un autre composant caractéristique des lipides du règne animal et qui est l'ester méthylique de l'acide 10-méthylheptadécanoïque <sup>5</sup>.

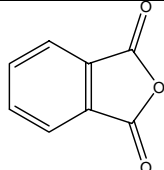
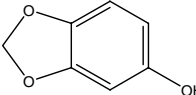
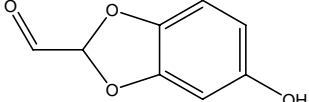
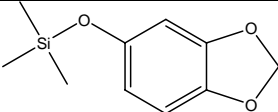
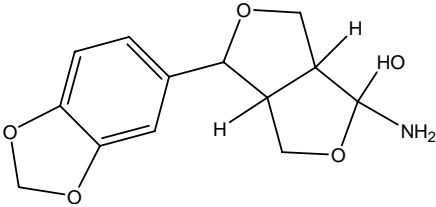
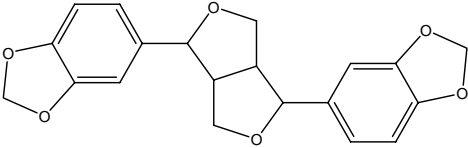
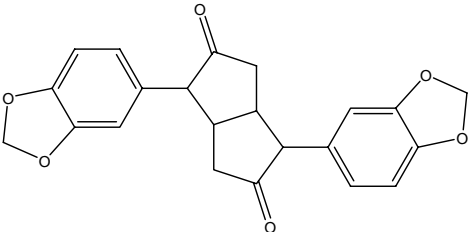
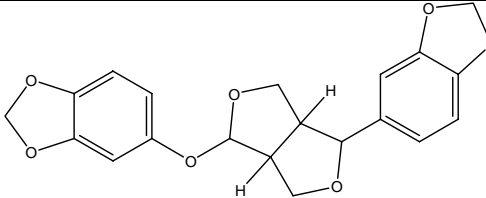
Les travaux réalisés sur l'huile de graine de sésame n'ont présenté que les acides gras linéaires, avec un nombre pair de carbone.

Le **Tableau 24** montre la présence du  $\gamma$ -tocophérol non silylé à une concentration de 26.28mg /100g d'huile, une valeur qui se situe dans l'intervalle donné par la littérature <sup>5</sup> (16.6-41.50mg/100g de corps gras), un alcool terpénique cyclique (p-mentha-1,5-dien-8-ol ou  $\alpha$ -phellandrène-8-ol), deux diterpènes acycliques (phytol, isophytol), des alcools aliphatiques linéaires et ramifiés (1-heptadécanol, 13-heptadécyn-1-ol, (E,E,E)-3,7,11,16-tétraméthyléthylhexadéca-2,6,10,14-tétraen-1-ol) et enfin de cétones (2,6-di(t-butyl)-4-hydroxy-4-méthyl-2,5-cyclohexadien-1-one, 2-nonadécaneone).

En plus des hydrocarbures, nous avons pu identifier un certain nombre de composés caractéristiques du sésame appelés lignanes et possédant un grand pouvoir antioxydant. Un de ces lignanes, le sésamol a été identifié sous la forme libre (1,3-benzodioxol-5-ol), sous forme de dérivé carboxaldéhyde (1,3-benzodioxol-5-ol-carboxaldéhyde) et sous forme de dérivé silylé (5-trimethylsilyloxy-1,3 benzodioxole) (**Voir tableau26**).

La GC-MS a permis d'établir l'identité des lignanes présents dans l'insaponifiable. Parmi ces lignanes, trois (sésamol, sésamine, sésamoline) ont été cités comme constituants du sésame par H.M.A.Mohamed <sup>63</sup>. Les autres lignanes (quatre molécules), dont les structures sont données dans le tableau 26, n'ont pas été cités par la littérature. Ces lignanes sont le 1,3-isobenzofurandione qui a deux fonctions cétoniques, le 1,3-benzodioxol-5-ol-carboxaldéhyde, et le (1S,3aR,4S,6aR)-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)-tetrahydro-1H,3H-furo(3,4-c)furan-1-ol(+)-sésamine qui est caractérisé par une fonction amine et l'autre le 2,6-bis(3,4-méthylènedioxyphényl)-3,7-dioxobicyclo(3,3,0)octane.

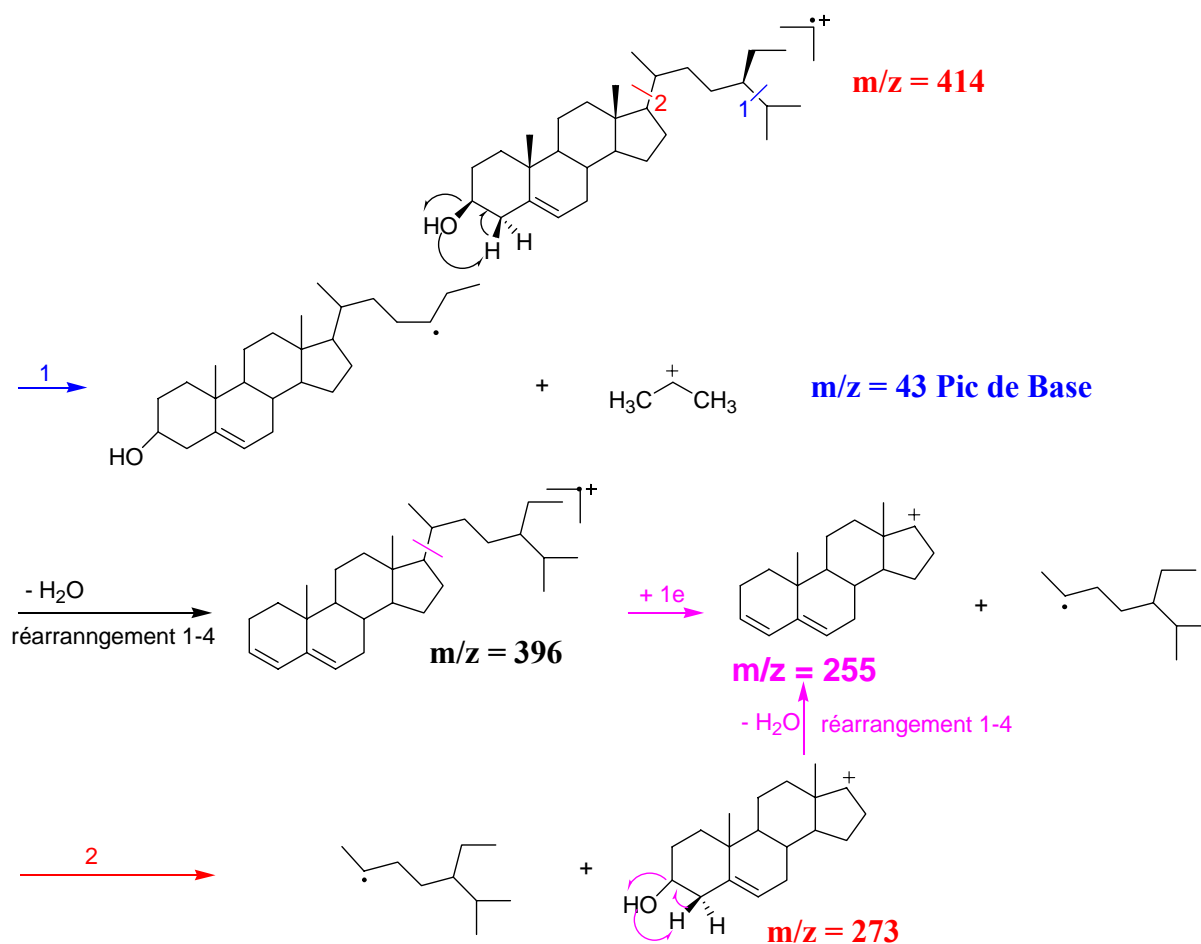
Tableau 26 : lignanes identifiés dans l'insaponifiable.

Composé proposé	%	mg/100g corps gras	Formule développée
1,3-Isobenzofurandione	0.362	6.117	
1,3-Benzodioxol-5-ol : <b>sesamol</b>	9.064	153.181	
1,3 Benzodioxol-5-ol-carboxaldehyde: <b>Piperonal</b>	0.052	0.878	
5-Trimethylsilyloxy-1,3 benzodioxole	0.209	3.532	
(1S,3aR,4S,6aR)-4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-tetrahydro-1H, 3H-Furo(3,4-c)Furan-1-ol(+)-samine: <b>(1S,3aR,4S,6aR)-1-amino-4-(1,3-benzodioxol-5-yl) tetrahydro-1H,3H-furo[3,4-c]furan-1-ol</b>	2.288	38.667	
1,3benzodioxole,5,5' (tetrahydro-1H, 3H-furo(3,4-c)furan-1,4-diyl)bis-(1S-(1.alpha,3.alpha.-,4.beta-,6a.alpha)- : <b>sesamine</b>	0.304	5.137	
2,6-Bis(3,4-methylenedioxyphenyl) -3,7-dioxobicyclo(3,3,0)octane: <b>1,4-bis(1,3-benzodioxol-5-yl)tetrahydropentalene-2,5(1H,3H)-dione</b>	33.85 5	572.149	
1,3-benzodioxol-5-yl (1R,3aR, 4S, 6aR) -4-(1,3-benzodioxol-5-yl) perhydrofuro(3,4-c)furan-1-yl ether: <b>sesamolin</b>	0.289	4.884	

En ce qui concerne la dernière partie du chromatogramme, l'allure est similaire à celle qui a été présentée dans la littérature pour l'analyse simultanée des tocophérols et des phytostérols par GC sur la même colonne HP-5MS<sup>85</sup>. Cette partie révèle la présence de sept stérols à l'état libres: campestérol, stigmastérol, obtusifoliol, isofucostérol,  $\beta$ -sitostérol, fucostérol et  $\alpha$ -1-sitostérol (**Tableau 27**). Une proposition de fragmentation du  $\beta$ -sitostérol est représentée sur la **Figure 36**.

**Tableau 27** : Stérols identifiés dans l'insaponifiable

<b>Composé proposé</b>	<b>Stérols en % dans l'insaponifiable</b>	<b>Stérols en % des stérols totaux</b>
campestérol	4.63	12.90
stigmastérol	1.43	4.00
obtusifoliol	0.14	0.40
$\beta$ -sitostérol	25.55	72.12
fucostérol	3.90	10.88
isofucostérol	0.10	0.28
$\alpha$ -1-sitostérol	0.11	0.32



**Figure 36 :** Proposition de fragmentation du  $\beta$ -sitostérol

La quantité totale des stérols identifiés est de 35.87 %, une valeur inférieure à celle qui a été donnée par la littérature (58.2%) de même le rapport du  $\beta$ -sitostérol/campestérol donné est largement inférieur à celui qui a été calculé (2.8 contre 5.52).

### VI.3.2. Analyse des hydrocarbures

Les hydrocarbures sont les composés les moins polaires de l'insaponifiable des huiles végétales. Les dernières études ont confirmé que les huiles végétales brutes contenaient des éléments de la série n-alcanes de  $\text{C}_{10}$  à  $\text{C}_{35}$ . En plus, de petites quantités d'autres hydrocarbures ont été détectés, tel que n-alcènes, monoterpènes, sesquiterpènes (farnésène), carotènes, composés aromatiques de bas poids moléculaire (benzène, tétraméthylbenzène, styrène) ainsi que des hydrocarbures polyaromatiques cycliques.

Les huiles végétales brutes montrent une différence qualitative et quantitative dans la fraction des hydrocarbures et ces différences ont été utilisées pour caractériser l'origine des huiles végétales.

Dans les huiles végétales raffinées, de nouveaux hydrocarbures sont formés pendant le processus du raffinage. Ces hydrocarbures sont de type stéroïdal, issus de la déshydratation des stérols, entre autres. La présence de ces produits de dégradation est la base de la méthode analytique officielle pour détecter les huiles raffinées des huiles brutes<sup>30</sup>.

#### **VI.3.2.1. Conditions GC-MS**

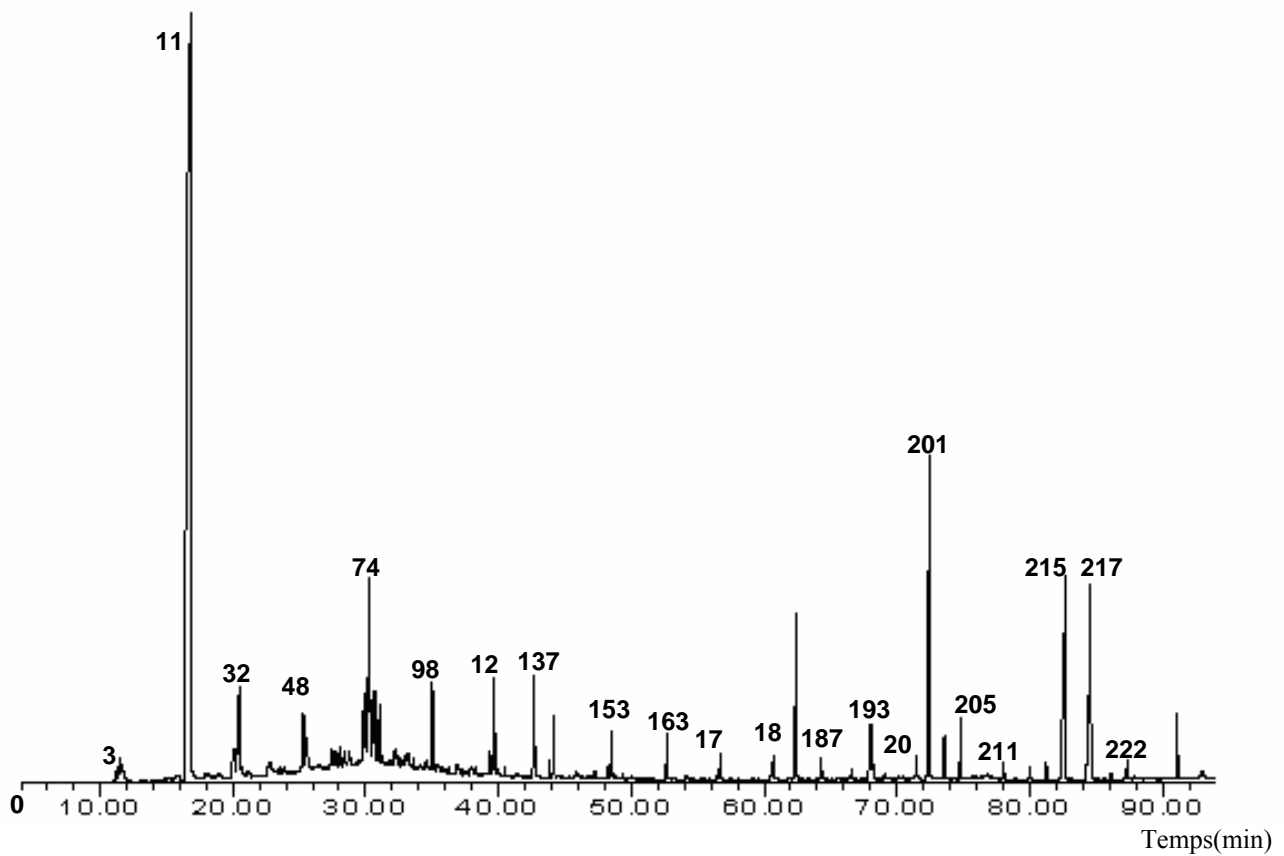
Dans les mêmes conditions que celles utilisées pour l'huile, le même échantillon injecté en chromatographie en phase gazeuse a été repris ici.

#### **VI.3.2.2. Résultats et discussions**

Dans l'identification des hydrocarbures, le couplage GC/MS s'avère d'un très grand apport puisque que la GC permet de séparer pratiquement tous les constituants qui peuvent être caractérisés ensuite d'après leur spectre de masse.

L'analyse du chromatogramme représentant la fraction des hydrocarbures a permis de repérer 227 pics parmi lesquels 101 composés ont été identifiés alors que 91 alcanes n'ont pu être clairement mis en évidence (**Figure 37**).

La composition en hydrocarbures de l'huile de sésame est reportée dans le **Tableau 28** où il apparaît que la prédominance des hydrocarbures à longue chaîne est bien prononcée.



**Figure37** : Chromatogramme de la fraction hydrocarbure de l'insaponifiable de l'huile de graine de sésame par GC-MS-IE

**Tableau 28:** Composition de la fraction hydrocarbure de l'huile de graine de sésame.

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
1	11.16	1-Tetradecene	0.136	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	196	1120-36-1	55.83.69.41.70	1380
3	11.64	Tetradecane	1.061	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198	629-59-4	57.71.43.85.41	1395
4	12.07	Cyclotetradecane	0.031	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub>	196	295-17-0	55.69.83.97.70	1406
5	13.12	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)- : <b>alpha.-Bergamotene</b>	0.037	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	17699-05-7	119.93.41.69.107	1432
7	13.39	3,7,11-trimethyl-1,(Z)3,(E)6,10-dodecatetraene: <b>(Z,E)-.alpha.-farnesene</b>	0.001	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	26560-14-5	119.93.69.41.91	1438
11	15.23	2,6-Di-T-Butyl-4-methylene-2,5-cyclohexadiene-1-one : <b>BHT-quinonemethide</b>	0.167	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	218	2607-52-5	161.203.175.218.1 63	1483
12	15.65	Pentadecane	0.275	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	629-62-9	57.71.43.85.41	1493
16	16.75	Butylated Hydroxytoluene: Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl- : <b>p-Cresol, 2,6-di-tert-butyl-</b>	37.42 4	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	128-37-0	205.220.145.206.1 77	1517
18	17.93	Alcane non identifié	0.132	-	-	-	57.71.43.85.41	1542
19	18.01	Tetradecane, 6,9-dimethyl-	0.013	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	055045-13- 1	57.71.43.85.41	1544
20	18.06	Alcane non identifié	0.079	-	-	-	83.82.84.69.55	1545
21	18.17	Alcane non identifié	0.026	-	-	-	83.82.85.55.84	1547
22	18.21	Alcane non identifié	0.122	-	-	-	83.82.84.85.43	1548
23	18.72	Alcane non identifié	0.047	-	-	-	57.43.71.85.56	1559
24	18.75	Alcane non identifié	0.060	-	-	-	57.71.85.56.43	1560
26	19.07	Pentadecane, 3-methyl	0.177	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	2882-96-4	57.71.43.85.56	1566
28	19.85	Cyclopropane,1-methyl-1-(1-methylethyl)-2-nonyl-	0.046	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224	041977-40- 6	70.55.71.41.57	1583
30	20.14	1-Hexadecene	0.927	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224	629-73-2	70.55.71.41.57	1590
32	20.50	Hexadecane	2.394	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	544-76-3	57.71.43.85.41	1597
33	20.71	1-Heptadecene	0.478	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub>	238	6765-39-5	55.57.97.69.70	1601
35	21.72	Non identifié	0.019	-	-	-	73.105.182.77.71	1622
36	21.83	Non identifié	0.031	-	-	-	73.105.182.77.71	1624
37	21.86	Non identifié	0.022	-	-	-	73.105.182.77.71	1625
38	22.81	Pentadecane, 2,6,10-trimethyl	0.479	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	3892-00-00	57.71.43.85.41	1644
40	22.97	Cyclohexane,undecyl-	0.128	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub>	238	054105-66- 7	83.82.68.55.69	1648
41	23.08	Alcane non identifié	0.035	-	-	-	71.83.70.67.55	1650

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
42	23.13	Alcane non identifié	0.046	-	-	-	71.43.70.85.57	1651
43	23.53	Alcane non identifié	0.181	-	-	-	57.43.71.85.41	1659
44	23.88	Alcane non identifié	0.171	-	-	-	57.71.43.85.56	1666
45	24.44	Non identifié	0.012	-	-	-	197.212.155.153.1 51	1678
46	24.87	Alcane non identifié	0.018	-	-	-	69.55.57.97.83	1687
47	24.91	Alcane non identifié	0.006	-	-	-	69.55.57.97.83	1688
48	25.33	Heptadecane	1.229	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	629-78-7	57.71.43.85.41	1696
49	25.59	Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl	0.741	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	1921-70-6	71.57.43.85.113	1702
50	25.78	Alcane non identifié	0.007	-	-	-	71.57.85.41.83	1705
51	25.87	Alcane non identifié	0.072	-	-	-	71.57.85.41.83	1707
55	26.46	Alcane non identifié	0.019	-	-	-	71.57.43.155	1719
56	26.48	Alcane non identifié	0.010	-	-	-	57.71.85.56.43	1720
57	26.53	Non identifié	0.028	-	-	-	197.212.155.198.1 53	1721
58	26.97	Alcane non identifié	0.043	-	-	-	57.71.85.43.196	1730
59	27.47	Heptadecane, 7methyl	0.616	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	20959-33-5	57.71.43.85.41	1740
60	27.84	Alcane non identifié	0.416				57.85.71.43.55	1748
61	28.13	Heptadecane, 4methyl	0.473	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	26429-11-8	85.57.71.43.84	1754
62	28.41	Heptadecane, 2methyl	0.512	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	1560-89-0	57.71.43.85.41	1759
63	28.78	Heptadecane, 3methyl	0.623	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	6418-44-6	57.71.85.43.56	1767
64	29.06	Non identifié	0.030	-	-	-	92.91.133.232.195	1773
65	29.13	Non identifié	0.068	-	-	-	92.91.133.232.195	1774
66	29.17	Non identifié	0.024	-	-	-	92.91.133.232.195	1775
67	29.29	Non identifié	0.112	-	-	-	105.83.106.71.55	1777
68	29.32	Non identifié	0.112	-	-	-	105.83.106.71.55	1778
69	29.41	Alcane non identifié	0.028	-	-	-	71.57.85.119.43	1780
70	29.49	5-Octadecene(E)	0.07	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	252	7206-21-5	55.83.70.69.97	1781
72	29.60	3-Octadecene(E)	0.205	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	252	7206-19-1	70.55.71.97.83	1784
73	29.91	1-Octadecene	2.099	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	252	112-88-9	97.83.55.57.69	1790
74	30.31	Octadecene	3.884	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	593-45-3	57.71.43.85.41	1798
75	30.50	E-15-Heptadecenal	1.101	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O	252	-	97.55.83.69.70	1802
76	30.70	Hexadecane, 2, 6, 10, 14-tetramethyl: <b>Phytane</b>	1.796	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	638-36-8	71.57.85.43.113	1806
77	31.07	Non identifié	1.055	-	-	-	97.55.83.69.41	1814
78	31.23	Alcane non identifié	0.409	-	-	-	57.85.71.43.105	1817
79	31.55	Alcane non identifié	0.209	-	-	-	71.57.91.97.43	1824

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
80	31.89	Alcane non identifié	0.384	-	-	-	57.71.85.43.41	1831
81	32.08	Non identifié	0.090	-	-	-	97.55.69.70.81	1835
82	32.24	Alcane non identifié	0.647	-	-	-	57.71.85.43.41	1838
83	32.45	Non identifié	0.299	-	-	-	57.98.196.91.195	1843
84	32.67	Alcane non identifié	0.339	-	-	-	85.43.84.71.119	1847
85	32.98	Heptadecane,2,3-dimethyl	0.503	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	61868-03-9	71.43.57.70.85	1854
86	33.11	Non identifié	0.069	-	-	-	83.82.55.67.68	1857
88	33.23	Octadecane, 2, methyl	0.338	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	1560-88-9	57.43.71.85.41	1859
89	33.61	Octadecane, 3, methyl	0.263	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	6561-44-0	57.71.85.56.43	1867
90	33.82	Non identifié	0.177	-	-	-	119.97.105.71.57	1871
91	34.08	Alcane non identifié	0.113	-	-	-	92.91.57.71.43	1877
92	34.10	Alcane non identifié	0.130	-	-	-	92.91.57.71.43	1877
93	34.31	Non identifié	0.099	-	-	-	192.191.105.119.1 89	1882
94	34.36	Non identifié	0.032	-	-	-	192.191.105.119.1 89	1883
95	34.41	Alcane non identifié	0.066	-	-	-	57.71.85.43.198	1884
96	34.62	Alcane non identifié	0.216	-	-	-	71.57.81.43.192	1888
97	34.64	Alcane non identifié	0.13	-	-	-	71.57.81.43.192	1889
98	35.03	Nonadecane	1.437	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	629-92-5	57.71.43.85.41	1897
99	35.37	Benzène, (1-methyldodecyl)-	0.228	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub>	260	4534-53-6	105.57.106.91.83	1904
100	35.53	Non identifié	0.145	-	-	-	192.191.71.57.11	1907
101	35.85	(E,E)-7,11,15-Trimethyl-3-methylene-hexadeca-1,6,10,14-tetraene	0.162	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	272	070901-63-2	69.93.41.81.205	1915
102	36.24	Hexadecanoic acid, methyl ester	0.117	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	112-39-0	74.87.57.43.71	1923
103	36.59	Alcane non identifié	0.041	-	-	-	57.43.71.85.83	1931
104	36.91	Nonadecane,9 methyl	0.179	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	13287-24-6	57.71.85.43.41	1938
105	37.02	Alcane non identifié	0.149	-	-	-	71.57.43.85.112	1941
106	37.13	Heptadecane,4-propyl	0.060	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	55044-10-5	57.71.43.98.85	1943
107	37.37	Octadecane,2,6 dimethyl	0.084	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	75163-97-2	85.57.43.71.84	1949
108	37.50	Non identifié	0.012	-	-	-	97.119.55.70.83	1952
109	37.52	Non identifié	0.018	-	-	-	97.119.55.70.83	1956
110	37.68	Nonadecane,4methyl	0.082	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	25117-27-5	71.57.43.70.85	1961
111	37.92	Nonadecane,2 methyl	0.183	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	1560-87-7	57.43.71.85.41	1963
112	38.02	Non identifié	0.128	-	-	-	83.82.55.56.212	1970
113	38.31	Nonadecane,3 methyl	0.148	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	6418-45-7	57.71.85.43.56	1976

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
114	38.61	Alcane non identifié	0.012	-	-	-	57.71.85.43.69	1977
115	38.64	Alcane non identifié	0.015	-	-	-	57.71.85.43.69	1981
116	38.82	Alcane non identifié	0.033	-	-	-	71.57.85.43.70	1982
117	38.84	Alcane non identifié	0.013	-	-	-	71.57.85.43.70	1982
118	38.87	Alcane non identifié	0.013	-	-	-	71.57.85.43.70	1987
119	39.07	Alcane non identifié	0.074	-	-	-	70.97.55.83.212	1993
120	39.36	5-Eicosene, (E)	0.474	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub>	280	74685-30-6	97.83.55.57.69	2001
121	39.71	Eicosane	1.356	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	112-95-8	57.71.43.85.41	2005
122	39.88	Cycloeicosane	0.146	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub>	280	296-56-0	55.97.83.57.69	2018
123	40.50	Alcane non identifié	0.161	-	-	-	97.55.57.69.83	2034
124	41.22	5,15-Dimethylnonadecane	0.018	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	-	57.206.71.85.97	2035
125	41.28	Alcane non identifié	0.013	-	-	-	57.206.71.85.97	2038
126	41.42	Eicosane ,10-methyl	0.08	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	54833-23-7	57.71.85.43.41	2042
127	41.60	Non identifié	0.044	-	-	-	71.57.112.69.43	2045
128	41.73	Alcane non identifié	0.038	-	-	-	57.202.71.43.85	2050
129	41.95	Alcane non identifié	0.037	-	-	-	85.43.84.57.71	2057
130	42.25	Alcane non identifié	0.051	-	-	-	71.57.43.70.85	2062
131	42.50	Eicosane ,2-methyl	0.026	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	1560-84-5	57.43.71.85.41	2066
132	42.70	Non identifié	1.410	-	-	-	219.163.220.86.30 5	2070
133	42.86	Alcane non identifié	0.050	-	-	-	57.71.85.43.56	2074
134	43.06	Alcane non identifié	0.058	-	-	-	57.71.85.43.99	2076
135	43.13	Alcane non identifié	0.031	-	-	-	57.71.85.43.99	2092
136	43.87	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	0.232	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	2566-97-4	67.81.95.55.82	2099
137	44.18	Heneicosane	0.776	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	629-94-7	57.71.43.85.55	2106
138	44.48	Non identifié	0.043	-	-	-	57.83.43.85.71	2110
139	44.69	Non identifié	0.003	-	-	-	97.55.96.83.57	2111
140	44.70	Non identifié	0.006	-	-	-	97.55.96.83.57	2126
141	45.37	Octadecanoic acid, methyl ester	0.037	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	298	112-61-8	74.87.97.55.43	2132
142	45.62	Alcane non identifié	0.025	-	-	-	57.71.85.220.197	2137
143	45.82	Alcane non identifié	0.126	-	-	-	57.71.43.85.55	2141
144	46.01	Alcane non identifié	0.083	-	-	-	71.57.112.43.41	2143
145	46.10	Alcane non identifié	0.009	-	-	-	57.71.43.85.69	2144
146	46.12	Non identifié	0.044	-	-	-	57.71.43.85.69	2149
147	46.37	Nonadecane,2,3 dimethyl	0.055	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	75163-99-4	85.84.43.57.71	2156
148	46.66	Alcane non identifié	0.031	-	-	-	71.43.57.70.85	2161

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
149	46.87	Alcane non identifié	0.062	-	-	-	57.71.43.85.238	2166
150	47.09	Non identifié	0.048	-	-	-	69.83.55.68.97	2170
151	47.27	3-Methyleneicosane	0.105	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	310	6418-47-9	57.83.71.82.85	2193
152	48.24	1-Docosene	0.194	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub>	308	1599-67-3	97.83.57.69.55	2199
153	48.52	Docosane	0.612	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	310	629-97-0	57.71.85.43.41	2203
154	48.70	Non identifié	0.094	-	-	-	219.234.97.204.55	2208
155	48.89	1-Docosanol	0.022	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> O	326	661-19-8	70.71.83.57.55	2218
156	49.33	Alcane non identifié	0.081	-	-	-	97.55.69.83.56	2225
157	49.61	Non identifié	0.021	-	-	-	159.161.75.111.28 6	2235
158	50.04	Alcane non identifié	0.093	-	-	-	57.71.85.43.42	2248
159	50.62	Non identifié	0.030	-	-	-	85.84.43.41.55	2255
160	50.91	Non identifié	0.022	-	-	-	71.43.57.70.97	2260
161	51.13	Alcane non identifié	0.026	-	-	-	57.85.43.71.99	2269
162	51.49	Alcane non identifié	0.026	-	-	-	57.71.43.69.85	2297
163	52.70	Tricosane	0.632	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	324	638-67-5	57.71.85.43.41	2309
164	53.16	Alcane non identifié	0.043	-	-	-	57.83.97.71.55	2314
165	53.37	Alcane non identifié	0.040	-	-	-	57.71.85.43.83	2333
166	54.12	Alcane non identifié	0.114	-	-	-	57.71.85.43.55	2340
167	54.38	Alcane non identifié	0.028	-	-	-	71.57.43.85.112	2343
168	54.50	Alcane non identifié	0.025	-	-	-	57.71.43.85.149	2348
169	54.72	5-Methyltricosane	0.040	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	-	85.57.43.84.71	2360
170	55.20	2-Methyltricosane	0.019	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	1928-30-9	57.71.43.85.97	2366
171	55.42	Alcane non identifié	0.026	-	-	-	69.81.41.95.67	2370
172	55.59	3-Methyltricosane	0.051	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	-	57.71.43.85.69	2377
173	55.88	n-Heptadecylcyclohexane	0.020	C <sub>23</sub> H <sub>46</sub>	322	19781-73-8	83.82.55.43.85	2393
174	56.49	Cyclotetracosane	0.069	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub>	336	297-03-0	97.83.57.69.55	2398
175	56.72	Tetracosane	0.321	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	646-31-1	57.71.85.43.41	2402
176	56.85	Alcane non identifié	0.001	-	-	-	57.97.71.83.43	2419
177	57.52	Alcane non identifié	0.046	-	-	-	97.55.57.83.69	2433
178	58.06	Alcane non identifié	0.017	-	-	-	57.71.85.43.99	2462
179	59.14	Alcane non identifié	0.026	-	-	-	57.71.43.85.99	2500
180	60.59	Pentacosane	0.251	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	352	629-99-2	57.71.85.43.55	2504
181	60.75	Palmitic acid-noctylester	0.302	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	368	629-99-2	112.57.70.71.83	2534
182	61.89	Alcane non identifié	0.050	-	-	-	57.71.85.43.99	2548
184	62.94	Heptadecane,9-Octyl	0.014	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	352	7225-64-1	57.71.43.85.41	2571
185	63.30	Alcane non identifié	0.015	-	-	-	57.71.85.43.56	2593

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
186	64.13	Alcane non identifié	0.035	-	-	-	97.57.83.69.55	2599
187	64.32	Hexacosane	0.261	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	630-01-3	57.71.85.43.56	2603
188	64.47	Alcane non identifié	0.037	-	-	-	57.71.56.112.43	2621
189	65.14	Alcane non identifié	0.023	-	-	-	97.83.57.55.69	2632
190	65.54	Alcane non identifié	0.055	-	-	-	57.71.85.43.99	2656
191	66.40	Alcane non identifié	0.026	-	-	-	71.57.85.43.55	2661
192	66.59	Alcane non identifié	0.128	-	-	-	57.71.43.85.55	2700
193	67.98	Heptacosane	0.806	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380	593-49-7	57.71.85.43.55	2705
194	68.16	Non identifié	0.660	-	-	-	112.70.57.71.83	2732
195	69.19	Alcane non identifié	0.127	-	-	-	57.71.85.43.55	2762
196	70.13	Alcane non identifié	0.065	-	-	-	57.71.43.85.69	2772
197	70.48	Alcane non identifié	0.078	-	-	-	57.219.71.56.85	2791
198	71.14	Alcane non identifié	0.021	-	-	-	69.81.149.41.121	2796
199	71.30	Alcane non identifié	0.037	-	-	-	69.149.57.81.70	
200	71.48	Octacosane	0.366	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	394	630-02-4	57.71.85.43.55	
201	72.46	Squalene	5.847	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	410	7683-64-9	69.81.41.95.136	
204	73.56	4,8-dimethylheptacosane	0.517	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	-	57.71.43.85.77	
205	74.82	Nonacosane	0.786	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	630-03-5	57.71.43.85.55	
206	75.79	Alcane non identifié	0.056	-	-	-	57.71.85.43.69	
207	75.94	Alcane non identifié	0.036	-	-	-	69.57.71.85.43	
208	76.65	Alcane non identifié	0.064	-	-	-	57.71.43.129.55	
209	76.81	Alcane non identifié	0.132	-	-	-	57.71.43.85.55	
210	77.16	Alcane non identifié	0.063	-	-	-	57.71.85.56.43	
211	78.04	Tricontane	0.219	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	422	638-68-6	57.71.85.43.55	3000
212	80.02	Alcane non identifié	0.171	-	-	-	57.71.43.85.69	
213	81.24	Hentriacontane	0.276	C <sub>31</sub> H <sub>64</sub>	437	630-04-6	57.71.85.43.55	3100
214	82.14	Alcane non identifié	0.019	-	-	-	57.71.85.149.43	
215	82.68	2,6-Bis(3,4-methylenedioxyphenyl) -3,7-dioxabicyclo(3.3.0)octane: <b>Sésamine</b>	5.514	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	354	7076-24-6	149.135.150.161.1 31	
216	83.13	Alcane non identifié	0.019	-	-	-	57.71.43.85.69	
217	84.60	1,3-benzodioxol-5-yl (1R,3aR,4S, 6aR) -4-(1,3-benzodioxol-5-yl) perhydrofuro(3,4-c)furan-1-yl ether: <b>Sesamoline</b>	4.722	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	370	-	135.138.81.137.13 6	
219	85.65	stigmasterol	0.031	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412	83-48-7	55.83.69.159.255	
220	86.14	Alcane non identifié	0.09	-	-	-	57.71.43.85.69	

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
221	87.24	Tritriacontane	0.120	C <sub>33</sub> H <sub>68</sub>	464	630-05-7	57.71.43.85.69	3300
222	87.37	Beta-sitosterol	0.325	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414	83-46-5	43.414.57.55.107	
223	87.88	Fucosterol	0.081	C <sub>29</sub> H <sub>48</sub> O	412	17605-67-3	314.55.281.69.229	
224	90.11	Tettratriacontane	0.027	C <sub>34</sub> H <sub>70</sub>	478	14167-59-0	57.71.85.43.69	3400
225	91.11	Non identifié	0.810	-	-	-	441.57.147.442.91	
226	91.87	Alcane non identifié	0.012	-	-	-	57.71.43.85.69	
227	92.96	Non identifié	0.268	-	-	-	57.371.71.55.129	

Les n-alcanes sont endogènes à la graine, ils sont formés suite à la décarboxylation des acides gras à longue chaîne et la fraction en contient déjà quatre sous forme d'esters: les méthyl hexadécanoate, 9.12-octadécadienoate, octadécanoate et le n-octyl palmitate<sup>30</sup>. Comme la composition de l'huile renferme 98% en triglycérides (esters d'acides gras et de glycérol), la dégradation de ces derniers génèrent des hydrocarbures dont la structure dépend des acides gras de départ, ce qui confirme la prédominance des hydrocarbures à longue chaîne dans notre fraction d'hydrocarbures.

Une comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature révèle des différences notables. En effet, alors que nous décelons d'une manière indiscutable des alcanes linéaires ou ramifiés, des alcènes ainsi que d'autres hydrocarbures, ces auteurs ne parlent que des hydrocarbures aliphatiques et du squalène sans mentionner les autres tels que les hydrocarbures stéroïdaux.

Une autre divergence apparaît aussi au niveau de la composition quantitative trouvée pour les n-alcanes qui sont principalement constitués de la gamme C<sub>14</sub>-C<sub>34</sub>, (**Tableau 29**). Nous observons des concentrations très faibles par rapport à la littérature à partir du pentacosane jusqu'au tritriacontane. Le tétratriacontane n'a pas été cité par la littérature<sup>63,30</sup>.

**Tableau 29** : Teneurs en n-alcane de la fraction hydrocarbure (mg/kg d huile)

n-alcane	Concentration	Concentration	n-alcane	Concentration	Concentration
	calcule	donnée <sup>30</sup>		calcule	donnée <sup>30</sup>
	(mg/g d'huile)			(mg/g d'huile)	
<b>C14</b>	0.16	-	<b>C25</b>	0.25	1.08
<b>C15</b>	0.28	0.16	<b>C26</b>	0.26	0.59
<b>C16</b>	2.39	0.11	<b>C27</b>	0.81	6.29
<b>C17</b>	1.23	0.15	<b>C28</b>	0.37	1.63
<b>C18</b>	3.88	0.09	<b>C29</b>	0.79	18.45
<b>C19</b>	1.44	0.10	<b>C30</b>	0.22	N.id
<b>C20</b>	1.36	0.07	<b>C31</b>	0.28	14.19
<b>C21</b>	0.78	0.23	<b>C32</b>	-	-
<b>C22</b>	0.61	0.14	<b>C33</b>	0.12	1.44
<b>C23</b>	0.63	0.54	<b>C34</b>	0.46	-
<b>C24</b>	0.32	0.30			

En plus des hydrocarbures aliphatiques linéaires et ramifiés, saturés et insaturés, nous notons la présence de six hydrocarbures cycliques (tels que : cyclotétradécane, 1-méthyl-1-(1-méthylethyl)-2-nonyl-cyclopropane, undecylcyclohexane, cycloeicosane, n-heptadecylcyclohexane, cyclotetracosane) et un dérivé benzénique : 1-méthylododécybenzène (**Tableau 28**).

Ce qui est nouveau dans cette fraction par rapport aux résultats précédemment publiés, c'est la mise en évidence de certains hydrocarbures saturés ramifiés comme les isomères en  $C_{18}H_{38}$  : 2, 3, 4 et 7 méthylhéptadécane. Certains articles parlent d'une tentative d'identification obtenue par comparaison des temps de rétention avec ceux des standards par chromatographie en phase gazeuse, mais sans confirmation par une autre méthode <sup>30</sup>.

En ce qui concerne, les hydrocarbures insaturés, 12 composés ont été identifiés (**Tableau 28**) directement sans dérivatisation. La littérature a déjà traité ce genre de composés en déterminant la position des doubles liaisons des alcènes par GC-MS par analyse de leurs dérivés obtenus par réaction avec le diméthyl disulfide <sup>30</sup>.

Dans la fraction des hydrocarbures de l'insaponifiable de l'huile de graine de sésame, de petites quantités d'hydrocarbures sesquiterpéniques tels que (Z,E)- $\alpha$ -farnésène et le  $\alpha$ -bergamotène ont été élués au cours des 13 premières minutes.

Enfin, nous citons l'identification du squalène (2,6,10,15,19,23-hexaméthyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaène) appelé phytosqualène et qui est un hydrocarbure triterpénique naturel trouvé dans les huiles qui est aussi un composant important de la biosynthèse de l'insaponifiable. Sa teneur est estimée à 3.4mg/100g d'huile d'après la fraction des hydrocarbures.

Dans la littérature, on parle d'une isomérisation du squalène pendant le traitement thermique (l'extraction de l'huile et de l'insaponifiable) qui donne naissance à plusieurs composants ayant une masse moléculaire de 410. Les alcènes isopréniques de masse moléculaire 408 ont aussi été caractérisés et attribués à la déshydrogénation du squalène<sup>13</sup>. Dans notre cas, nous avons également identifié un composé de masse moléculaire 408 et qui est élué juste après le squalène (**Tableau 37**) c'est le 4,8,diméthylheptacosane.

Pour les hydrocarbures aromatiques, deux dérivés phénoliques ont été identifiés: 2,6-di-*t*-butyl-4-méthylène-2,5-cyclohexadiène-1-one ou BHT-quinonemethide et 2,6-bis(1,1-diméthylethyl)-4-méthylphénol, ou butylated hydroxytoluene. Ces deux composés ont un pouvoir antioxydant très élevé.

Nous signalons enfin la présence de deux lignanes (2,6-bis(3,4-méthylènedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo(3.3.0)octane et 1,3-benzodioxol-5-yl-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)-perhydrofuro(3,4-*c*)furan-1-yl-éther, ainsi que trois stérols (stigmastérol,  $\beta$ -sitostérol et fucostérol), un alcool (1-docosanol) et un aldéhyde (E-15-heptadécanal) dans la fraction des hydrocarbures (**Tableau 28**).

### VI.3.3. Analyse des stérols

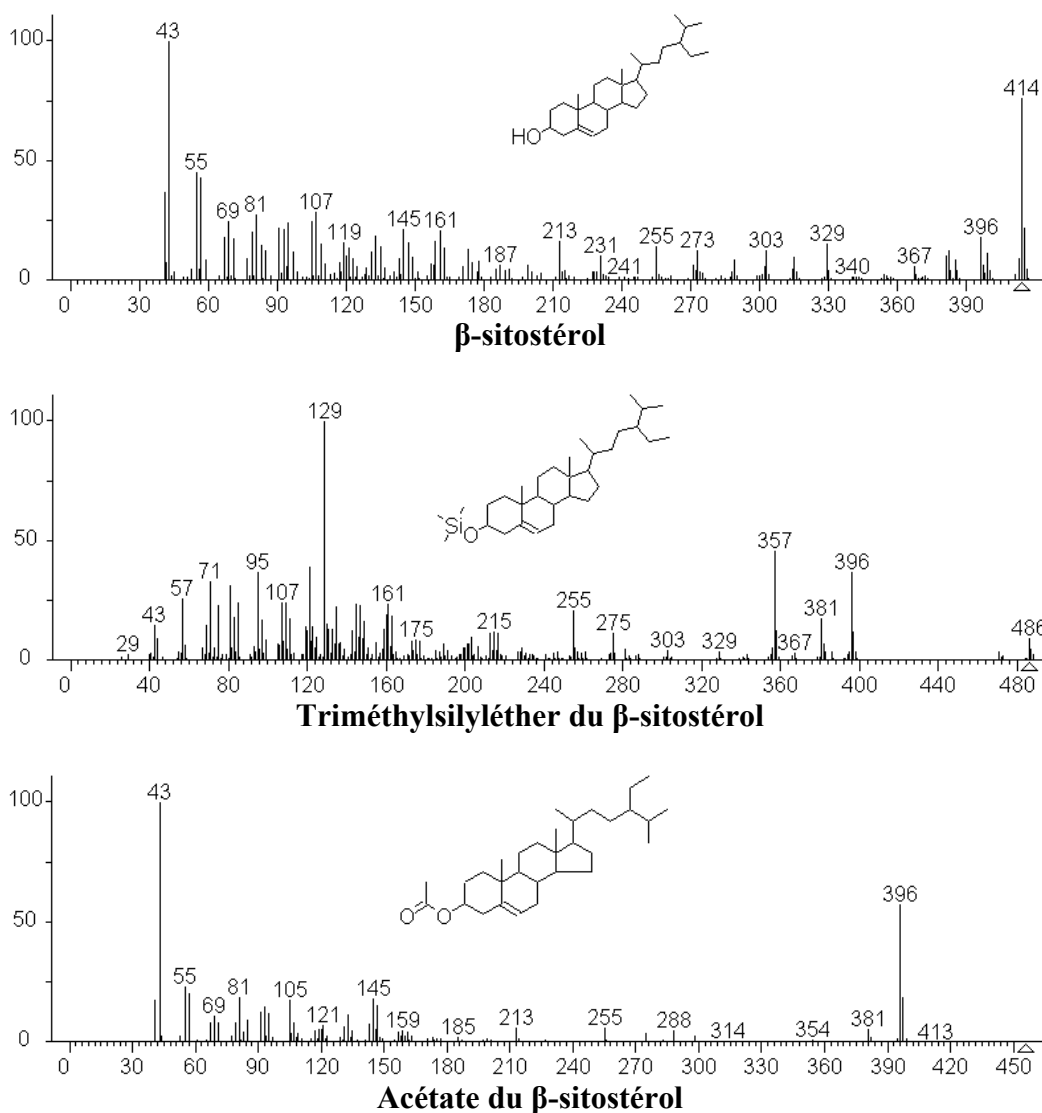
Les stérols sont parmi les produits naturels les plus étudiés. Les recherches se sont concentrées sur le développement de nouvelles techniques analytiques pour leur détermination qualitative et quantitative dans différentes matrices, l'élucidation des mécanismes biosynthétiques, la détermination des fonctions physiologiques des stérols et le rôle qu'ils jouent dans la santé et la prévention des maladies.

La plupart des méthodes en chromatographie gazeuse pour analyse des stérols nécessitent leur dérivatisation préalable pour former des triméthylsilyl (TMS) éthers par utilisation d'un réactif de silylation (tel que le BSTFA) ou des acétates de stéryl (par acétylation avec la pyridine et l'anhydride acétique). Il existe cependant des méthodes qui donnent une meilleure séparation et quantification des stérols non dérivés<sup>90,91</sup>.

Bien que l'analyse quantitative par GC des stérols non dérivés paraît efficace et fiable, quelques chercheurs optent pour les stérols dérivés afin d'éviter leur déshydratation et leur dégradation qui pourraient conduire à une mauvaise résolution<sup>24, 92</sup>

Plusieurs méthodes par HPLC en mode inverse ont été proposées pour la séparation des stérols<sup>93</sup>. Ces méthodes ont été rapportées dans la littérature ; il apparaît que la séparation et la sensibilité sont généralement inférieures en comparaison à la GC<sup>84</sup>.

La spectrométrie de masse est un outil précieux pour l'identification des stérols. La GC-MS en mode impact de l'électron (EI) a été largement employée pour déterminer leur structure. Plusieurs points communs de fragmentation en EI-MS peuvent être utilisés pour prédire les fragments des stérols avec les autres structures (exemple : **Figure 38** fragmentation du  $\beta$ -sitostérol). Dans un article<sup>92</sup> Rahier et Benveniste ont décrit les spectres de masse de six stérols communs qui ont été analysés par GC-MS à l'état libre, ou sous forme d'esters acétate (M+42) ou encore à l'état d'éthers TMS (M+72). Les schémas de fragmentation des stérols diffèrent selon qu'ils sont analysés sous une forme ou une autre (**Figure 38**). L'identification structurale exacte est possible si seulement le spectre du composé inconnu correspond à un spectre de référence dans la bibliothèque et sous la même forme (c'est-à-dire libre, acétate, ou TMS)<sup>92</sup>.



**Figure 38** : Spectre de masse des trois formes de sitostérol

Dans les travaux cités en littérature, l'analyse des stérols par GC-MS est généralement basée sur les dérivés silylés<sup>94.95</sup>.

Sur cette base, nous avons choisi, pour l'analyse de notre fraction des stérols, la dérivatisation avec un réactif de silylation (triméthylchlorosilane) selon le même protocole cité auparavant (**voir paragraphe V.4.1. Dérivatisation**).

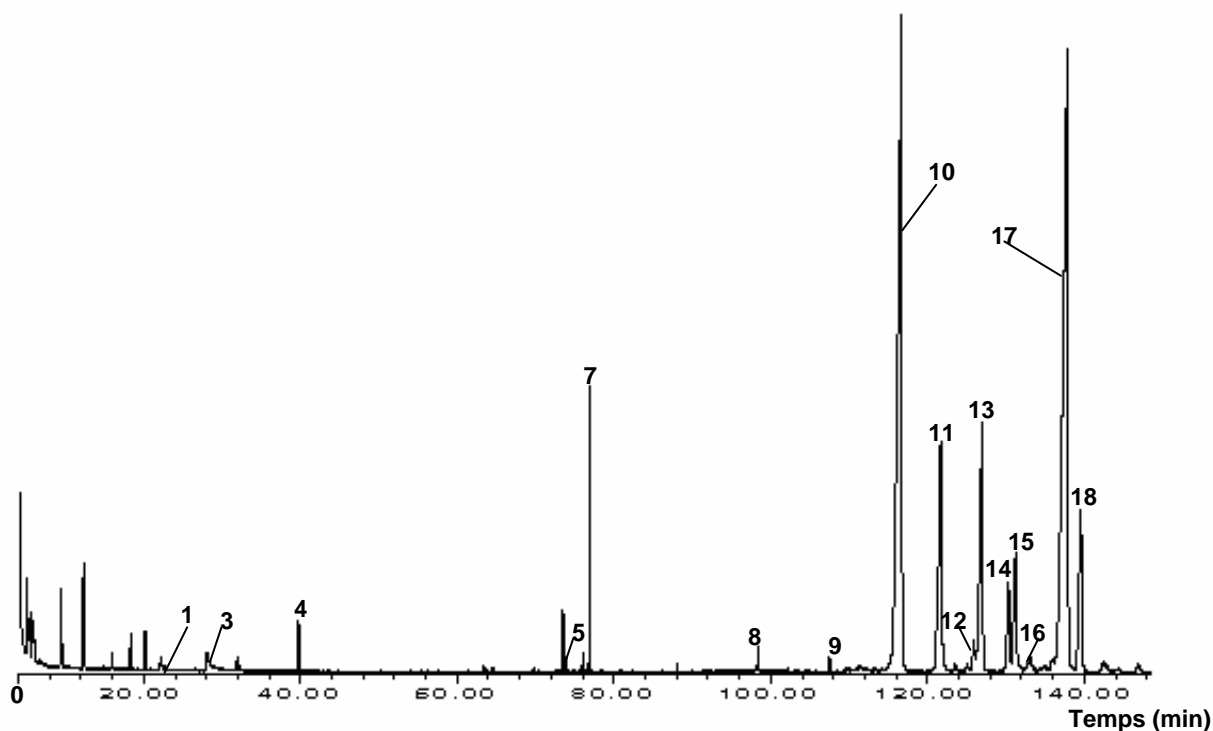
### VI.3.3.1. Conditions d'analyse en GC-MS

Les mêmes colonnes qui sont utilisées dans l'analyse en GC-FID sont employées ici pour la GC-MS. Dans cette étude, une colonne HP-5MS mesurant 60m x 0.32 mm a été employée. L'injection en mode splitless a été appliquée en même temps qu'une programmation de température.

### VI.3.3.2. Résultats et discussions.

Le chromatogramme de la fraction des stérols présente au total 18 pics (**Figure 39**) dont un seul pic n'a pu être identifié. Ce dernier présente un temps de rétention de 76.03 min et un indice de Kovats de 2238 (**Tableau 30**).

La connaissance de la composition en stérols fournit un outil puissant pour le contrôle de la qualité des huiles végétales et pour la détection des ajouts d'huiles et de mélanges non identifiés par le profil d'acides gras. La fraction des stérols de l'huile de graine de sésame est caractérisée par la présence de six stérols confirmés par le couplage GC-MS conduisant à des spectres de masses identiques à ceux proposés par la banque de données NIST2002 et Wiley7 (**Tableau 30**).



**Figure 39** : Chromatogramme de la fraction stérolique obtenu par GC-MS en mode impact électronique

**Tableau 30** : Composition de la fraction des stérols

N°	t <sub>r</sub>	Composé proposé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	fragments	I <sub>K</sub>
1	22.12	Methenamine	0.041	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub>	140	100-97-0	42.140.85.112.141	1212
2	28.10	<b>Sésamol</b>	0.09	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138	533-31-3	138.137.52.69.53	1306
3	31.94	5-Trimethylsilyloxy-1,3-benzodioxole	0.119	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> Si	210	17903-26-3	210.195.165.137.7 3	1373
4	39.77	Phenol,2,6-bis(1,1-dimethylethyl)4-methyl- : <b>BHT</b>	0.400	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	128-37-0	205.220.206.145.5 7	1508
5	73.52	Silane, trimethyl[[5-methyl-2-(1-methylethyl)cyclohexyl]oxy]-	0.452	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> OSi	228	18419-38-0	143.73.75.123.144	2180
5	73.79	1,6,10,14-Hexadecatetraen-3ol,3,7,11,15-tetramethyl EE-	0.155	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	290	113-21-9	69.41.81.93.67	2186
6	76.03	Non identifié	0.180				135.149.150.44.73	2238
7	76.89	Trans,trans-farnesol ,trimethylsilyl	2.092	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> OSi	294	1000079-12-1	69.73.81.75.93	2258
8	98.37	Squalene	0.255	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	410	7683-64-9	69.81.41.95.136	
9	107.55	Tocophérol-gamma(tms derivat)	0.201	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub> Si	488	1000288-29-7	488.233.73.489.22 2	
10	116.68	<b>sesamine</b>	32.027	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	354	133-03-9	149.135.150.161.1 31	
11	121.69	<b>sesamoline</b>	7.739	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	370	-	135.138.81.137.82	
12	125.96	Trimethylsilyl derivative of 3.beta.-hydroxypregn-5,16-dien-20-one	0.770	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub> Si	386	-	129.73.75.69.119	
13	126.96	Silane, [[[3.beta.,24R)-ergost-5-en-3-yl]oxy] trimethyl-: <b>Campestérol-tms</b>	8.710	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> OSi	472	55429-62-4	129.73.343.43.382	
14	130.35	Stigmasterol trimethylsilyléther : <b>Stigmastérol-tms</b>	2.854	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> OSi	484	14030-29-6	83.129.73.69.55	
15	131.22	Gamma sitosterol	3.526	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414	83-47-6	43.105.107.414.57	
16	133.09	Stigmasterol-5,24(28)-dien-3-ol-(3beta,24Z): <b>fucosterol</b>	0.019	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	412	17605-67-3	314.55.69.281.229	
17	137.86	Beta-Sitosteroltrimethylsilylether : <b>β-sitostérol-tms</b>	34.817	C <sub>32</sub> H <sub>58</sub> OSi	486	2625-46-9	129.73.357.396.74	
18	139.58	Silane,trimethyl(((3beta)stigmasta-5,24(28)-dien-3-yl)oxy)-: <b>Δ-5-Avenastérol-tms</b>	5.553	C <sub>32</sub> H <sub>56</sub> OSi	484	55527-94-1	129.73.386.55.69	

Ce qui est remarquable dans cette fraction, c'est la présence d'un certain nombre de composés ayant soit un rôle de conservateur (tel que la méthénamine, conservateur alimentaire correspondant à la nomenclature E239 de la Communauté Européenne) ou un rôle d'antioxydant (tels que : 2,6-bis(1,1-diméthylethyl)4-méthylphénol ou BHT qui correspond à la nomenclature E321) et le  $\gamma$ -tocophérol-TMS (la Communauté Européenne attribue la nomenclature E306 aux extraits d'origine naturelle riches en tocophérols) <sup>88</sup>.

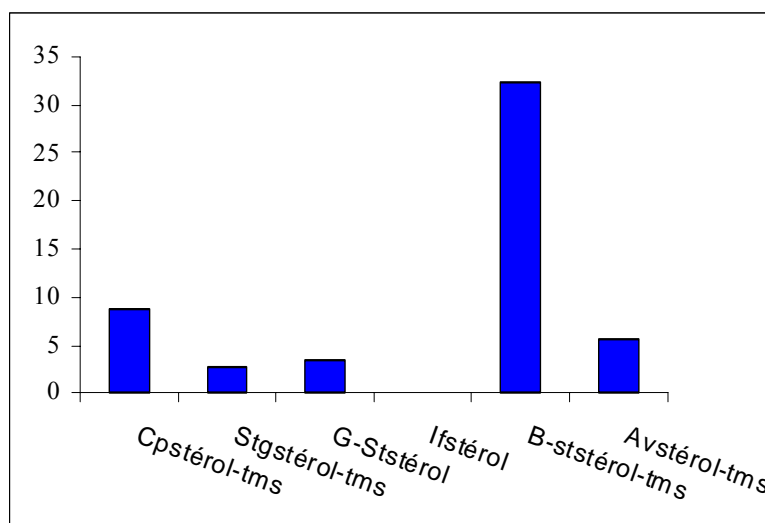
En parallèle nous avons la présence des lignanes tels que : 1,3benzodioxol-5-ol : (sésamol), 5,5'-(tetrahydro-1H,3H-furo(3,4-c)furan-1,4-diyl)bis-1S-(1 $\alpha$ ,3 $\alpha$ - $\alpha$ -,4- $\beta$ -,6 $\alpha$ .alpha)-1,3benzodioxole (sésamine) et le (1R,3aR,4S,6aR)-4-(1,3-benzodioxol-5-yl)perhydrofuro(3,4-c)furan-1-yl ether 1,3-benzodioxol-5-yl (sésamoline). Les trois composés suscités ont un fort pouvoir antioxydant et leur présence avec le  $\gamma$ -tocophérol leur confère une efficacité antioxydante exceptionnelle avec en plus une activité vitaminique du  $\gamma$ -tocophérol <sup>96, 51, 46</sup>.

Les composés cités ci-dessus inhibent la dégradation des stérols durant les opérations d'extraction et facilitent leur analyse chromatographique en phase gazeuse.

La présence des stérols dans l'huile de graine de sésame est, par ordre de concentration décroissante :

$\beta$ -sitostérol > campestérol > stigmastérol > 5-avenasterol > 7-avenasterol.

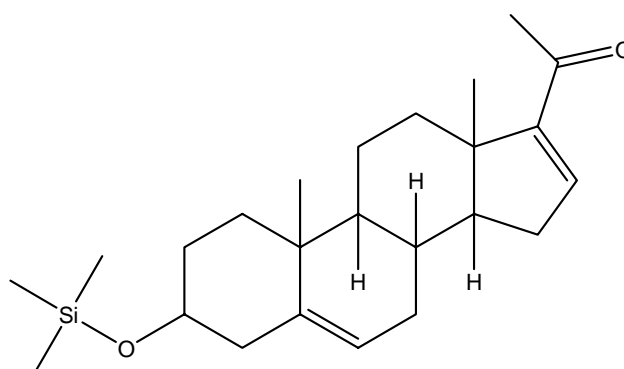
Le composant principal est le  $\beta$ -sitostérol constituant environ 32% du contenu de la fraction des stérols, son schéma de fragmentation est présenté dans la figure 38. Le campestérol et le stigmastérol ont été détectés à des teneurs d'environ 8% et 2% de la fraction des stérols, respectivement (**Figure 39**).



**Figure 39:** Présentation de la composition stérolique

En plus, le  $\Delta$ -5-avenastérol est présent à 5%, alors que de petites quantités de  $\gamma$ -sitostérol (3 %) et stigmastérol (3%) sont identifiés dans la même fraction. Les valeurs précédentes de la fraction stérolique de l'huile de graines de sésame montrèrent un profil proche de celui des huiles d'arachide et de carthame du fait que les  $\beta$ -sitostérols sont prédominants (32% de la fraction totale) suivis du campestérol, du  $\Delta$ -5-avenastérol et du stigmastérol. Ces huiles sont caractérisées par une concentration élevée en  $\beta$ -sitostérol <sup>94</sup>.

La composition des stérols de notre huile est en accord avec la littérature <sup>63,26</sup>. Le  $\beta$ -sitostérol, campestérol,  $\gamma$ -sitostérol et stigmastérol sont les constituants majoritaires. Parallèlement à ces stérols, nous avons pu identifier certains lignanes, un composé phénolique, un sesquiterpène, un hydrocarbure triterpénique (squalène) ainsi que le  $\gamma$ -tocophérol-TMS. Nous avons aussi mis en évidence le 3- $\beta$ -hydroxy-pregna-5,16-diène-20-one-TMS qui représente une partie de la structure des stérols dont la structure développée est donnée par la **figure 40**.



**Figure 40** : Structure moléculaire du 3.  $\beta$ -hydroxy-pregna-5,16-diène-20-one

La composition stérolique par rapport à l'huile est représentée dans le **tableau 31**.

**Tableau 31** : Composition stérolique de la fraction stérols.

Stérol : 620 mg/100g d'huile						
N°	t <sub>r</sub>	Composés proposés	mg/100g d'huile	Formule brute	Masse	Fragments
1	125.96	3-beta-hydroxypregn-5,16-dien-20-one-tms	4.46	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub> Si	386	129.73.75.69.119.95
2	126.96	Campestérol-tms	54.25	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> OSi	472	129.73.343.43.382
3	130.35	Stigmastérol-tms	16.49	C <sub>31</sub> H <sub>56</sub> OSi	484	83.129.73.69.55
4	131.22	Gamma sitostérol	21.95	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	414	43.105.107.414.57
5	133.09	fucostérol	0.12	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	412	314.55.69.281.229
6	137.86	Beta-sitostérol-tms	201.12	C <sub>32</sub> H <sub>58</sub> OSi	486	129.73.357.396.74
7	139.58	Δ-5-Avenastérol-tms	34.60	C <sub>32</sub> H <sub>56</sub> OSi	484	129.73.386.55.69

#### VI.3.4. Analyse de la fraction tocophérol / alcools.

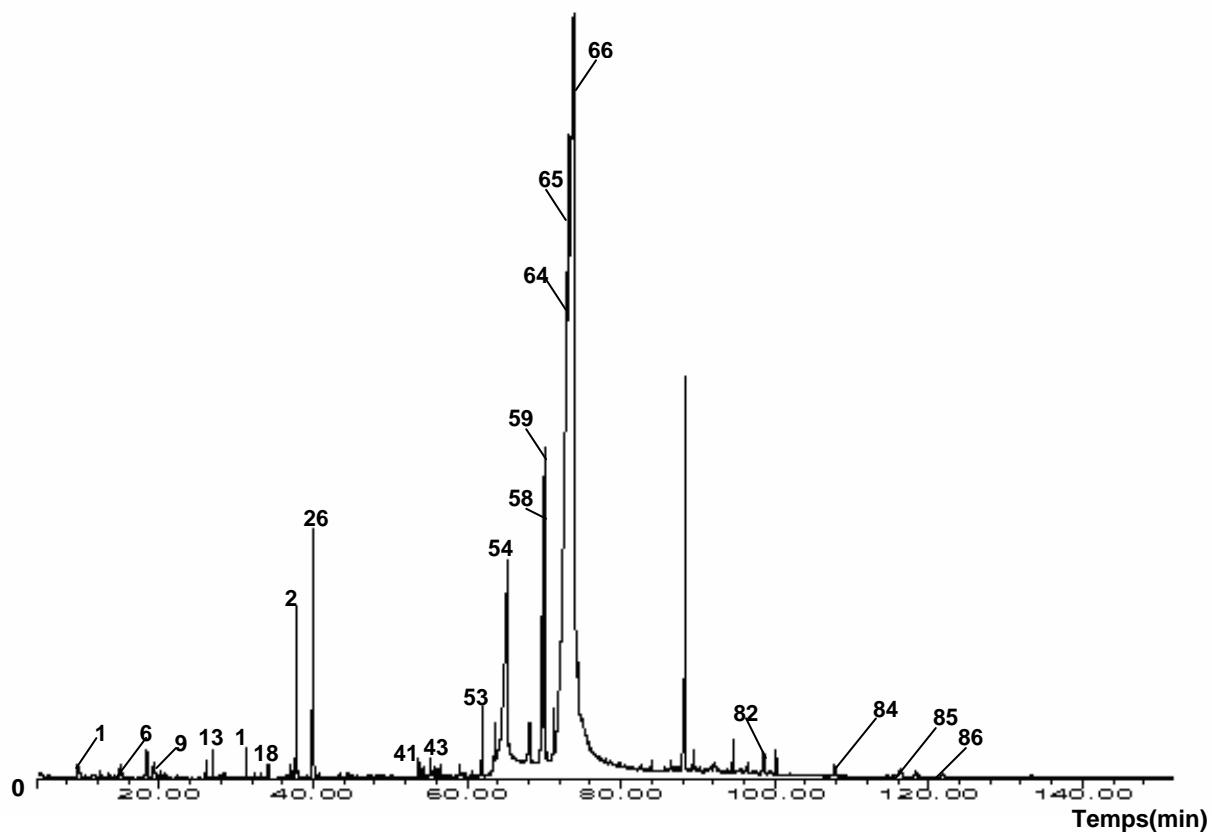
L'étude qualitative et quantitative des tocophérols dans une huile végétale permet de prévoir la résistance et la stabilité de cette huile lors des différentes étapes de sa production. De très nombreuses techniques ont été décrites pour le dosage des tocophérols, nous pouvons citer les méthodes colorimétriques classiques <sup>97</sup> et les méthodes actuelles basées sur la chromatographie liquide ou encore la spectroscopie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse <sup>98</sup>.

##### VI.3.4.2. Conditions GC-MS.

Similaires aux conditions de la GC-MS des stérols.

##### VI.3.4.2. Résultats et discussions

L'étude par GC-MS de la fraction tocophérols/alcools, après silylation, a révélé sur le chromatogramme (**Figure 41**) 86 pics dont 63 pics représentant différents constituants identifiés. La mesure des indices de Kovats, l'observation des ions moléculaires et des fragments caractéristiques, l'étude des spectres de masse et leurs comparaison avec les spectres de référence des bibliothèques spectrales NIST 2002, Wiley7, FAME et Flavors conduisent aux identifications qui sont représentées dans le tableau 32.



**Figure41** : Chromatogramme de la fraction Alcools/Tocophérols obtenu par GC-MS en mode impact électronique

**Tableau 32: Composition de la fraction tocophérols/alcool.**

N°	t <sub>r</sub>	Proposé Composé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	Fragments	I <sub>K</sub>
1	5.50	p-Xylène	0.008	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	106	106-42-3	91.106.105.77.79	866
2	8.07	Benzène,propyl-	0.002	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>	120	103-65-1	91.120.65.92.78	947
3	11.37	Eucalyptol: <b>1.8 Cinéole</b>	0.014	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	470-82-6	93.68.43.81.67	1023
4	13.39	1-Octanol	0.104	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O	130	111-87-5	56.55.70.71.41	1061
5	14.30	Cyclohexène,1-méthyl-4-(1-méthyléthylidène)-: <b>Alpha-Terpinolène</b>	0.025	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	29050-33-7	81.121.136.93.91	1078
6	14.90	Undécane	0.224	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub>	156	1120-21-4	57.43.71.85.41	1089
7	15.19	Nonanal	0.085	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	142	124-19-6	56.42.82.41.68	1095
8	18.15	Benzène, pentyl-	0.042	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub>	148	538-68-1	91.92.148.65.105	1146
9	19.28	Benzène,1,3,5-trichloro	0.319	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> Cl <sub>3</sub>	180	120-82-1	180.182.184.145.109	1165
10	20.76	Dodecane	0.089	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	170	112-40-3	57.43.71.85.41	1190
11	22.46	Non identifié	0.027	-	-	-	125.140.111.57.41	1217
12	26.09	Benzene,1-méthoxy-4-(1-propenyl) : <b>Anethole</b>	0.197	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	148	104-46-1	148.147.117.77.133	1274
13	27.00	Tridecane	0.252	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	629-50-5	57.71.43.85.41	1288
14	27.85	1,3-Isobenzofurandione	0.029	C <sub>8</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	148	85-44-9	104.76.148.50.74	1302
15	28.48	1,3-Benzodioxol-5-ol : <b>Sesamol</b>	0.075	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138	533-31-3	138.137.52.53.69	1313
16	31.31	Ethanol,2-(2-butoxyethoxy)-acetate	0.278	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	204	124-17-4	87.57.43.41.56	1362
17	33.17	Tetradecane	0.040	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198	629-59-4	57.71.43.85.41	1395
18	34.19	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene,4,11,11-triméthyl-8-méthylène-, [1R-(1R*,4E,9S*)]-: <b>Trans-Caryophyllène</b>	0.135	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	87-44-5	93.133.91.69.79	1412
19	35.71	Non identifié	0.024	-	-	-	131.174.145.115.91	1438
20	36.24	1,4,8-Cycloundecatriène,2,6,6,9-tétraméthyl-, (E,E,E)-: <b>α-Humulène</b>	0.010	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	6753-98-6	93.80.121.91.147	1447
21	36.62	1H-Cycloprop[e]azulène,decahydro-1,1,7-triméthyl-4-méthylène- [1aR-(1a.α,4a.β,7.α,7a.β,7b.α)]-: <b>Allo-Aromadendrene</b>	0.027	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	25246-27-9	91.148.105.79.77	1454
22	37.11	2,5-Cyclohexadiène-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-diméthylethyl)-	0.134	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	220	719-22-2	177.220.135.149.67	
23	37.57	2,6-di(t-butyl)-4-hydroxy-4-méthyl-2,5-cyclohexadiène-1-one	0.235	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	236	-	185.180.57.137.179	1476
24	37.89	4-méthylène-2,6-di(t-butyl)-2,5-cyclohexadiène-1-one : <b>BHT-quinone-méthide</b>	1.714	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	218	2607-52-5	181.203.175.218.163	1476

N°	t <sub>r</sub>	Proposé Composé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	Fragments	I <sub>K</sub>
25	39.17	Pentadecane	0.023	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	629-62-9	57.71.43.85.41	1498
26	39.97	Butylated Hydroxytoluene: <b>BHT</b>	2.575	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	128-37-0	205.220-206.145.57	1072
27	40.11	Non identifié	0.382	-	-	-	293.73.251.237.252	1514
28	40.56	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-: <b>Delta - Cadinene</b>	0.031	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	483-76-1	161.147.119.134.204	1521
29	40.84	Non identifié	0.040	-	-	-	93.91.234.77.191	1526
30	43.58	Dodecanoic acide	0.054	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	200	143-07-7	73.60.43.41.129	1573
31	44.49	1-Hexadecene	0.044	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224	629-73-2	83.97.55.69.41	1588
32	44.71	Non identifié	0.062	-	-	-	211.227.242.149.152	1592
33	44.91	Hexadecane	0.030	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	544-76-3	57.85.71.43.41	1596
34	45.20	Cyclohexadecane	0.022	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224	295-65-8	55.69.70.83.97	1601
35	45.81	Non identifié	0.013	-	-	-	55.69.97.83.70	1612
36	47.52	Non identifié	0.033	-	-	-	163.205.220.164.206	1643
37	48.32	Non identifié	0.031	-	-	-	57.219.177.163.41	1657
38	49.07	Non identifié	0.023	-	-	-	100.101.73.43.41	1671
39	50.09	Non identifié	0.020	-	-	-	219.55.73.70.83	1689
40	50.41	Heptadecane	0.032	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	629-78-7	57.71.43.85.41	1695
41	53.72	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	0.189	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	234	1620-98-0	219.234.191.220.57	1758
42	54.32	Tetradecanoic acid	0.131	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228	544-63-8	73.60.43.129.55	1770
43	55.29	5-Octadecene (E)	0.205	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	252	7206-21-5	97.83.55.57.69	1788
44	55.42	3- Octadecene (E)	0.025	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub>	252	7206-19-1	69.97.55.83.41	1791
45	55.63	Octadecane	0.047	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	254	593-45-3	57.71.43.85.41	1794
46	55.91	Non identifié	0.072	-	-	-	55.97.83.69.70	1800
47	56.52	Non identifié	0.134	-	-	-	55.97.69.83.233	1812
48	56.97	Non identifié	0.017	-	-	-	247.248.57.91.41	1821
49	58.53	Tetradecanoic acid,trimethylsilylester	0.019	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> Si	300	1860-17-3	117.285.73.75.132	1852
50	59.28	Pentadecanoic acid	0.025	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	242	1002-84-2	73.69.43.55.129	1867
51	59.75	Non identifié	0.036	-	-	-	100.101.41.56.43	1877
52	60.63	Nonadecane	0.049	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	268	629-92-5	57.71.43.85.41	1894
53	61.98	Hexadecanoic acid, methyl ester	0.697	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	112-39-0	74.87.43.55.75	1924
54	65.22	Hexadecanoic acid	7.819	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256	57-10-3	73.60.43.57.55	1996
55	68.13	Hexadecanoic acid,trimethylsilylester	0.941	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> Si <sub>2</sub>	328	55520-89-3	117.73.75.129.132	2060
56	68.58	Non identifié	0.018	-	-	-	303.219.304.57.163	2070
57	68.61	Non identifié	0.030	-	-	-	303.219.304.57.163	2070

N°	t <sub>r</sub>	Proposé Composé	%	Formule brute	Masse	N°Cas	Fragments	I <sub>K</sub>
58	69.86	9,12-octadecadienoic acide (Z,Z)methyl ester	3.650	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	112-63-0	67.81.95.55.82	2097
59	70.18	9-octadecenoic acid (Z)methyl ester	3.591	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	112-62-9	55.69.74.41.83	2105
60	70.33	9-octadecenoic acid, methyl ester (E)	0.055	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	1937-62-8	55.69.74.41.83	2108
61	71.31	Octadecanoic acid, methyl ester	0.457	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	298	112-62-9	74.87.43.55.41	2130
62	72.61	9,12 Octadécadienoic acid(ZZ)	8.673	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	280	60-33-3	67.81.55.95.41	2159
63	72.86	Linoleic acid éthyl ester	8.977	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	308	544-35-4	67.81.95.55.92	2165
64	72.93	Non identifié	0.696	-	-	-	67.81.55.69.95	2167
65	73.18	Oleic acid éthyl ester	13.723	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	310	111-62-6	55.69.83.81.96	2172
66	73.65	9-Octadecenoic acid (Z): Acide oléique	39.693	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282	112-80-1	81.69.55.67.83	2183
67	74.38	Octadecanoic acid,ethyl ester	1.006	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	312	111-61-5	88.101.157.43.89	2200
68	74.90	Oleic acid, triméthylsilyl ester	0.002	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub> Si	354	21556-26-3	73.75.42.80.67	2212
69	78.62	Tricosane	0.051	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	324	638-67-5	57.71.85.43.55	2298
70	79.83	Eicosanoic acid méthyl ester	0.036	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	326	1120-28-1	74.87.43.75.143	2328
71	82.51	Eicosanoic acid éthyl ester	0.033	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	340	18281-05-5	88.101.57.43.55	2396
72	82.62	Tétracosane	0.046	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	646-31-1	57.71.43.55.69	2398
73	85.73	Non identifié	0.028	-	-	-	130.117.131.43.101	2481
74	87.73	Non identifié	0.006	-	-	-	73.74.484.233.427	2534
75	90.19	Hexacosane	0.042	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	630-01-3	57.71.85.43.69	2599
76	92.07	Non identifié	0.059	-	-	-	131.101.67.117.132	2650
77	92.23	Non identifié	0.100	-	-	-	131.117.101.130.69	2655
78	93.82	Heptacosane	0.027	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380	593-49-7	57.71.85.43.55	2698
79	95.44	Non identifié	0.040	-	-	-	67.69.81.95.55	2743
80	95.58	Non identifié	0.048	-	-	-	83.69.55.97.264	2747
81	96.45	1,2Bis-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)éthane	0.177	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>	438	-	219.220.57.438.149	2771
82	98.58	Squalène	0.307	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	410	7683-64-9	69.81.41.95.149	
83	101.91	Nonacosane	0.013	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	408	630-03-5	57.71.43.85.55	
84	107.76	γ-Tocophérol(tms-derivat) + Derivé siloxané	0.201	-	-	-	73.147.221.281.355	
85	116.38	<b>sesamine</b>	0.229	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>	354	133-03-9	149.135.150.161.354	
86	121.76	<b>sesamoline</b>	0.075	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	370	-	135.138.81.137.82	

La composition de la fraction se présente sous forme d'un mélange de plusieurs familles de composés. Les hydrocarbures aliphatiques saturés et insaturés (de C<sub>11</sub> à C<sub>29</sub>) sont présents parallèlement aux hydrocarbures terpéniques ( $\alpha$ -terpinolène), triterpéniques (squalène) et sesquiterpéniques (trans-caryophyllène,  $\alpha$ -humulène, allo-aromadendrène,  $\Delta$ -cadinène).

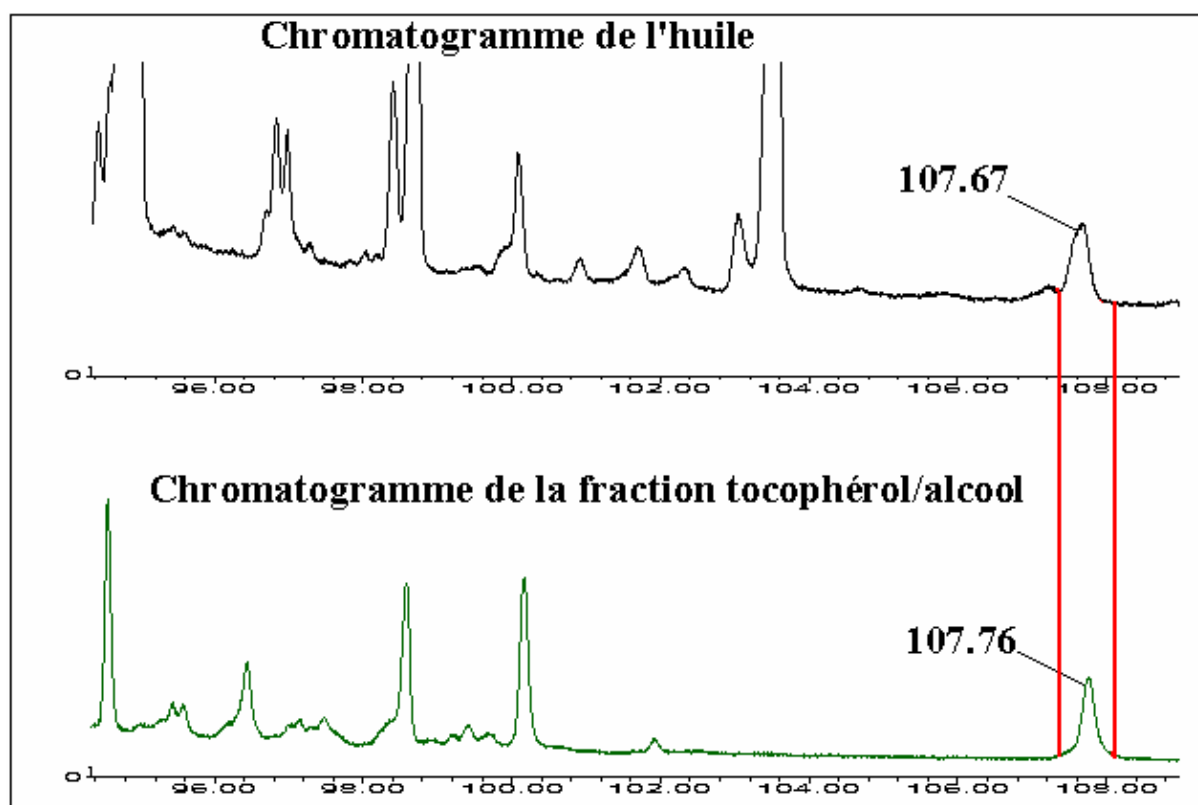
D'autre part, on a identifié quelques dérivés benzéniques comme : le pentyl et propylbenzène, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-benzène, les composés phénoliques tels que : butyl-hydroxytoluène, des acides gras comme l'acide hexadécanoïque, des esters d'acides gras tels que le méthyl-octadécanoate et l'éthyl-oléate et enfin un alcool qui est le 1-octanol.

Des observations ont été faites sur la présence d'un grand nombre de composés qui possèdent une fonction hydroxyle et on pense que c'est le choix du solvant d'élution qui les a entraînés, et de même pour la co-élution d'un dérivé siloxané avec le pic du  $\gamma$ -Tocophérol(tms-dérivat) et ceci, en comparant le temps de rétention de l'identification du  $\gamma$ -Tocophérol(tms-dérivat) dans le chromatogramme de l'huile (107.67) avec le pic observé au même temps de rétention sur le chromatogramme de la fraction (voir **figure 42**). On signale aussi que le  $\gamma$ -Tocophérol dans son état naturel n'a pas été identifié contrairement à ce qui a été observé dans les chromatogrammes de la fraction insaponifiable et de l'huile.

Dans la littérature, il a été rapporté que la réaction de saponification dégrade généralement les tocophérols et en particulier l'utilisation de la potasse à 10% dans le méthanol<sup>99</sup>.

Dans notre cas, on a utilisé une solution alcoolique de potasse à 3%, une concentration faible qu'on pense sans effet dégradant sur les tocophérols.

D'autre part, nous signalons que c'est le gamma-tocophérol (83 mg/100g de corps gras) qui est majoritaire dans cette huile et non pas le delta (11mg/100g de corps gras), ou bien l'alpha (4 mg/100g de corps gras) ou encore le bêta-tocophérol (2 mg/100g de corps gras) (voir **tableau 10**<sup>5</sup>). La raison est que des pertes par oxydation sont faciles à enregistrer lors de l'isolation des tocophérols. Dans certains protocoles, on conseille de rajouter des antioxydants BHA et BHT dans l'huile avant la saponification pour éviter la dégradation des différents tocophérols existants en faibles quantités<sup>100</sup> et même de travailler avec HPLC.



**Figure 42:** Présentation du pic  $\gamma$ -Tocophérol (tms-derivat) sur le chromatogramme de l'huile et celui présumé sur le chromatogramme de la fraction Tocophérol/Alcool.

Il faut noter aussi que dans cette fraction et comme dans la fraction des hydrocarbures, on a la présence d'un certain nombre de composés qui ont un pouvoir antioxydant fort tels que les lignanes (sésamol, sésamine, sésamoline), BHT, BHT-quinone-methide et squalene.

### Conclusion

La GC-MS de l'huile complète a révélé 118 pics intégrés dont 91 pics identifiés sous forme d'un mélange complexe caractéristique de l'huile de graine de sésame. Ce dernier, obtenu en 2 heures environ d'analyse, est constitué par les mêmes familles de composés qu'on obtient par CCM en un temps beaucoup plus élevé. On observe sur le chromatogramme une fraction légère similaire à celle des huiles essentielles des plantes, un certain nombre d'acides gras libres et liés, des tocophérols, des stérols, des lignanes, des hydrocarbures aliphatiques, des dérivés benzéniques, des hydrocarbures monoterpéniques et aromatiques, des alcools, des éthers oxydes, des cétones et des aldéhydes.

La GC/MS de la fraction des cires a révélé 45 pics dont 3 pics et un alcane non identifiés. La composition qualitative de la fraction annonce un mélange complexe de plusieurs familles de composés des hydrocarbures aliphatiques de C14 à C29, des hydrocarbures ramifiés, des composés phénoliques, des acides gras, des esters méthyliques et éthyliques d'acides gras et un alcool gras ramifié.

L'insapogramme obtenu par GC-MS constitue un « finger-print » similaire à ceux présentés par la littérature dans le cas de la chromatographie directe de l'insaponifiable en phase gazeuse <sup>83</sup>. L'identification des constituants de l'insapogramme présente un mélange complexe d'hydrocarbures, de composés phénoliques, d'alcools gras, d'acides gras, de tocophérol, de lignanes ainsi qu'une famille de phytostérols.

Pour les fractions de l'insaponifiable, obtenues par chromatographie sur colonne, leur composition est résumée par les familles obtenues par le chromatogramme de l'huile et l'insapogramme.

# **Conclusion Générale**

Le présent travail constitue une contribution à une meilleure connaissance de l'huile de graine de sésame afin de promouvoir sa mise en valeur.

Nous avons choisi la variété la plus répandue qui est le *Sesamum indicum* de couleur marron. Nous avons mis l'accent sur l'importance de l'isolement des extraits de l'huile de graine de sésame par différentes méthodes d'extraction (agitation, ultrasons, pression et avec Soxhlet). Dans le cas du Soxhlet, différents solvants et mélanges de solvants ont été utilisés. Le rendement de l'extraction le plus élevé était de 56% pour cette méthode, en utilisant le mélange heptane/isopropanol.

Les extraits ainsi obtenus ont été ensuite caractérisés par leurs indices chimiques et leurs compositions en acides gras, les valeurs obtenues ainsi sont conformes aux normes Codex.

Dans le but d'étudier les constituants mineurs de l'huile de graine de sésame, nous avons choisi le résidu obtenu par le procédé au Soxhlet et comme solvant d'extraction l'hexane. Le choix de la méthode est justifié par les normes admises AFNOR et IUPAC.

La séparation des divers composés mineurs ainsi que leurs fractionnement ont été réalisés par chromatographie sur colonne en utilisant comme phase stationnaire le gel de silice pour l'extraction des cires et le gel d'alumine pour le fractionnement de l'insaponifiable.

Pour le dosage quantitatif des phospholipides, nous avons utilisé un protocole basé sur l'insolubilité des phospholipides par l'acétone et agréé par AOCS.

Parallèlement à la méthode conventionnelle de l'analyse de l'huile et de l'insaponifiable, nous avons utilisé dans ce travail un procédé simple et fiable pour la quantification des alcanes, des lignanes, du squalène, du  $\gamma$ -tocophérol et des stérols. Il s'agit d'une méthode directe impliquant l'analyse par GC de l'huile et de la fraction insaponifiable après silylation qui a l'avantage d'éliminer le besoin de fractionnement chromatographique préliminaire (sur CCM ou sur colonne).

L'utilisation du couplage GC-MS-IE a permis d'identifier un nombre important de constituants dans l'huile et ses différentes fractions (voir tableau récapitulatif).

**Tableau récapitulatif**

Fraction	Nombres de pics repérés	Nombre de pics identifiés
Huile	118	93
Fraction cires	45	42
Fraction insaponifiable	145	67
Hydrocarbures	227	105
Stérols	18	17
Alcools tocophérols	86	63

La GC et GC-MS directe de l'huile et de l'insaponifiable ont montré des différences dans leurs compositions. Alors qu'un mélange d'hydrocarbures a été mis en évidence dans l'insaponifiable, de fortes concentrations en acides gras libres et liés ont été identifiés dans le chromatogramme de l'huile. Pour les lignanes, l'insaponifiable a révélé ceux détectés dans l'huile, en plus du sésamol lié (1,3-benzodioxol-5-ol carboxyaldéhyde et 5-trimethylsilyloxy-1,3 benzodioxole) ainsi que le 1,3-isobenzofurandione et le 2,6-bis-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxobicyclo-(3,3,0)-octane. Ces deux derniers lignanes n'ont pas été cités par les travaux antérieurs. Pour les stérols, l'insaponifiable contient les mêmes molécules que celles détectées dans l'huile en plus de l'obtusifoliol et  $\alpha$ -1-sitostérol, alors que le  $\gamma$ -sitostérol n'a pas été détecté.

Pour les autres fractions, leur analyse a révélé pratiquement les mêmes composés déjà détectés dans l'huile et l'insaponifiable, à part la présence de certains composés phénoliques à caractère antioxydant ou conservateur dans les fractions hydrocarbures, stérols, tocophérols et alcools. D'autre part, dans la fraction des stérols, en plus de ceux cités dans l'huile nous avons noté la présence du  $\Delta$ -5-avenastérol-TMS et l'absence de l'isofucostérol.

En conclusion, ce travail apporte une contribution à l'étude de l'huile de graine de sésame en utilisant des techniques de séparation et de fractionnement complémentaires à celles citées usuellement dans la littérature. Il a permis de compléter et d'affiner les résultats obtenus jusqu'à présent, particulièrement dans l'identification des composés mineurs.

Pour l'enrichissement de ce sujet, nous pensons poursuivre ce travail par une optimisation de la méthode de saponification, une étude par LC-MS de la fraction polaire et de la fraction des carotènes. Des tests d'activité nutritionnelle des acides gras sur la régulation du cholestérol, sur l'effet antioxydant conjugué des lignanes et tocophérols et sur l'effet inhibiteur des stérols sur la cholestérolémie sont recommandés.

## Bibliographie

1. P. Mazliak, *Physiologie végétale nutrition et métabolisme*, Hermann Collection Methodes.editeurs des sciences et des arts. Paris. 1981, 160-163
2. A.Trémolières, **Analisis**, **3**, 1998, 19-26
3. Chris Somerville. John Browse. Jan G. Jaworski. John B. Ohlrogge, *Lipids. Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, Eds. 2000, American Society of Plant Physiologists.Chapitre 10
4. Stephan C.Cunnane, *Recent Studies On The Synthesis,  $\beta$ -Oxidation, And Deficiency Of Linoleate And  $\alpha$ -Linolenate : Are Essential Fatty Acids More Aptly Named Indispensable Or Conditionally Dispensable Fatty Acids?*, **Can. J. Physiol. Pharmacol.** **74**, 1996, 629-639
5. A.KARLESKIND, **Manuel des Corps Gras**, Edition Lavoisier, Volume 1.(1992).
6. M. Saadatian, J. GOUDABLE, E. Riboli., **Oléagineux,Corps Gras, Lipides**, vol. **8** n°2, 2001, 161-166
7. B. Jacotot, **Oléagineux, Corps Gras, Lipides**, vol. **5**, n° **4**, 1997, 373-374,
8. P. M. Kris-Etherton, **Journal of Nutrition**, **129**, 1999, 2280-2284
9. J.C. et H CHEFTEL, *Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments*, Vol . **I**, Ed. Lavoisier, Paris, 1978
10. R. François, *Les industries des corps gras*, Ed. Lavoisier, Paris, 1975
11. J.Denis, *Le raffinage des corps gras*, Edition. Westhoek, Dunkerque, 1983
12. V. Ruiz-Gutiérrez, M.C. Pérez-Camino, **J.Chromatogr. A**, **885**, 2000, 321-341
13. A. Cert , W. Moreda, M.C. Pérez-Camino, **J.Chromatogr. A**, **881**, 2000, 131-148
14. H.-D. Belitz, W. Grosch, *Food Chemistry*, Edition Springer, Berlin, 1999
15. G. Lercker, M.T. Rodriguez-Estrada. **J.Chromatogr. A**, **881**, 2000, 105-129
16. F.F.N ( Fondation Francaise pour la Nutrition) , CIQUAL (Centre informatique sur la qualité des aliments). *Des aliments, 1-Tables de composition des corps gras*, Ed. Lavoisier, Paris, 1987
17. F. Mordret., **Rev.Fse. Corps Gras**, **10**, 1967, 589-591
18. A. Karleskind. **Rev.Fse. Corps Gras**, **1**, 1969, 15-24.
19. S.L. Abidi, S. Thiam, I.M. Warner, **J.Chromatogr. A**, **949**, 2000, 195-207
20. N. L. Puspitasari-Nienaber, M.G. Ferruzzi, S.J. Schwartz, **J. Amer. Oil Chem. Soc**, **Vol.79 no.7**, 2002, 633-640

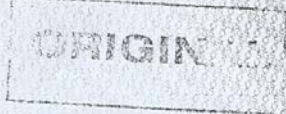
21. E. Lesellier, **J.Chromatogr. A**, **936**, 2001, 201-214
22. F. Nigon, C. Serfaty, **Sang Thrombose Vaisseaux**, **Vol.12, Numéro 8**, Octobre 2000, 483-90
23. M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, **J.Chromatogr. A**, **935**, 2001, 249-257
24. S.L. Abidi, **Journal of Chromatography A**, **935**, 2001, 173-201
25. F. Nigon, C. Serfaty, **Sang Thrombose Vaisseaux**, **Vol.12**, 2000, 483-490
26. K.M. Phillips, D.M. Ruggio, J.I. Toivo, M.A. Swank, A.H. Simpkins, **Journal of Food Composition and Analysis**, **15**, 2000, 123-142
27. Q. Jiang, S. Christen, M.K. Shigenaga, B.N. Ames, **The American Journal of Clinical Nutrition**, **Vol.74, No. 6**, December 2001, 714-722
28. F.J. Rupérez, D. Martin, E. Herrera, C. Barbas, **J.Chromatogr. A**, **935**, 2001, 45-69
29. A. Sanchez-Pérez, M.M. Delgado-Zamarreno, M. Bustamante-Rangel, J. Hernandez-Mendez, **J. Chromatogr. A**, **881**, 2000, 229-241
30. W. Moreda, M.C. Pérez-Camino, A. Cert, **J. Chromatogr. A**, **936**, 2001, 159-171
31. J. P. Wolff, **Manuel des Corps Gras**, Edition Azoulay, Paris, 1969
32. S. Hirao, R. Kikuchi, T. Hama, **Bull. Jap. Sci. Fish.**, **35(2)**, 1969, 187-198
33. H. Faure, V. Fayol, C. Galabert, P. Grolier, G. Le Moël, J.-P. Steghens, F. Nabet, **Annales de Biologie Clinique**, **Vol. 57, Numéro 3**, 1999, 273-82
34. W. Muller-Mulot, **Rev.Fse. Corps Gras**, **N°3, Mars**, 1975, 131-136
35. M.G. Ferruzi, L.C.Sander, C.L. Rock, S.J. Schwartz, **Analytical Biochemistry**, **256**, 1998, 74-81
36. J.Srour, **Rev.Fse. Corps Gras**, **N°1**, 1969, 25-36
37. G. Lercker, M.T. Rodriguez-Estrada, **J. Chromatogr. A**, **881**, 2000, 105-129
38. J. Bruneton, *Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales*, 1993, 130-131, 2eme Edition Lavoisier
39. R. Aparicio, R. Aparicio-Ruiz, **J.Chromatogr. A**, **881**, 2000, 93-104
40. P. Dimanche, *Sésame*, 1998, Les Publications du CIRAD (Centre De Coopération Internationale En Recherche Agronomique Pour Le Développement)
41. M.-H. Dabat, *Sésame*, 1999, Les Publications du CIRAD (Centre De Coopération Internationale En Recherche Agronomique Pour Le Développement)
42. S. Parkash Kochhar, *Sesame Oil: A Powerful Antioxidant*, **Lipid Technology Newsletter**, April 2000, 35-39

43. M. Namiki, Y. Fukuda, Y. Takei, K. Namiki, Y. Koizumi, *Changes in Functional Factors of Sesame Seed and Oil during Various Types of Processing. Bioactive Compounds in Foods : Effects of Processing and Storage*. Edition Tung-Ching Lee and Chi-Tung Ho, **ACS Symposium Series 816, American Chemical Society**, 2002, Chapitre 7
44. J. Bradley Moris, . Food, *Industrial, Nutraceutical, And Pharmaceutical Uses Of Sesame Genetic Resources*, In : J.Janick and A.Whipkey (eds), **Trends In New Crops And New Uses**, ASHS Press , Alexandria, VA., 2002, 153-156
45. C.K. Lyon, *Journal Of American Oil Chemists' Society*, 1972, 245-249
46. M.-H. Kang, M. Naito, N. Tsujihara, T. Osawa, **The Journal of Nutrition, Vol 128, N° 6**, 1998, 1018-1022.
47. N. Hirose, T. Inoue, K. Nishihara, M. Sugano, K. Akimoto, S. Shimizu and H. Yamada, **Journal of Lipid Research, Vol 32**, 1991, 629-638
48. J.-W. Liu, K. Koba, Y.-S. Huang, *Simultaneous Determination of Tocopherols and Sesame Lignans in Sesame Oils by HPLC and UV Detection*, 2000, **91st AOCS Annual Meeting & Expo**, San Diego, USA
49. S. Ikeda, T. Tohyama, K. Yamashita, **American Society for Nutritional Sciences**, 2001, 961-966
50. K. Yamashita, S. Ikeda, Y. Iizuka, I. Ikeda. **Lipids, Vol.37,n°4**, 2002, 351-358
51. K. Yamashita, Y. Iizuka, T. Imai, M. Namiki. **Lipids,Vol.30,n°11**, 1995, 1019-1028
52. H. LI , L. Pordesimo, J. Weiss, *Ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans*.Session 91C,Food Engineering : Food process engineering.2002 **Annual Meeting and Food Expo-Anaheim**, California
53. A. Kamal-Eldin, L.A. Appelqvist, **J.A.O.C.S., Vol. 72**, 1995, 967-969
54. H.Li. *Ultrasound and Microwave Assisted Extraction of Soyabean Oil. Master of Science Degree*. University of Tennessee, Knoxville.2002
55. G.Vilarem,V.Dumont, A.Gaset, **Oléagineux,Corps Gras, Lipides. Vol.4 n° 1**, 1997, 42-45
56. AFNOR, *Recueil de Normes Francaises des Corps Gras, Graines Oléagineuses et Produits Dérivés*, 2<sup>e</sup> édition 1981.
57. J.Chung, E.Cho. **Food Sci. Biotechnol. Vol. 10, No. 4**, 2001, 446-450
58. G. Alibert, Z. Mouloungui, R.Grison, M. Romestan, **Oléagineux,Corps Gras, Lipides. Vol. 8**, 2001, 98-102

59. W. Du, Y. Xu, D. Liu. **Biotechnol. Appl. Biochem**, **38**, 2003, 103–106
60. *Fats, Oils and Related Products*. FAO/WHO Food Standards. The Codex Alimentarius. vol. 8 ,2001
61. Conseil Oleicole International .COI/T.20/Doc.n°.18/Rév.1. 2001
62. E. Andre, M. Maille, **Oléagineux**, n°6, 1957, 359-366, 1957
63. H.M.A. Mohamed, I.I. Awatif, **Food Chemistry**, Vol. **62**, 269-276, 1998
64. A. Kamal-Eldin, L.A. Appelqvist, **J. Amer. Oil Chem. Soc**, Vol. **71**, 1994, 149-156
65. P. Kolodziejczyk, *Identification of Waxes in Canola Oil* - Paul Kolodziejczyk, POS Pilot Plant Corporation. 91-08, 2001
66. J.Tranchant, *Manuel pratique de la chromatographie en phase gazeuse*, 4ed. Masson, Paris, 1995
67. R.J. HAMILTON, S. HAMILTON, *Lipid Analysis A Pratical Approach*, Oxford University Press Inc., 1992, New York.
68. B. Ndir, G. Lognay, B. Wathelet, C. Cornelius, M. Marlier, P. Thonart, **Biotechnol. Agron. Soc. Enviro.**,Vol.4, 2000, 101–105
69. A.KARLESKIND, **Manuel des Corps Gras**, Edition Lavoisier, Volume 2, 1992.
70. M.Ouedraogo, J.Bezard. **Rev.Fse. Corps Gras**, **28**, 1981, 473-476
71. J.Eras, F.Montanes, J.Ferran, R.Canela. **J.Chromatogr. A**, **918**, 2001, 227-232
72. W.-S. Jeong, P.A. Lachance, **JFS: food chemistry and toxicology**.**66 (2)**, 2001, 278-281
73. Fatty acids. *The american oil chemists' society-ChampaigIllnois*. Edit. Everett H.PRYDE, 1979.
74. C.T. Peng, **J.Chromatogr. A**, **903**, 2000, 117-143
75. Capillary selection guide.T111875. Supelco ,Inc. 1991.
76. *T. Acree, H. Arn. Flavornet.Gas chromatography-olfactometry(GCO) of natural products. Cornell University, 1997*
77. M. Lechner, B. Reiter, E. Lorbeer, **J.Chromatogr. A**, **857**, 1999, 231-238
78. J.D.J. Van den Berg, K. J.Van den Berg, J.J.Boon, **J.Chromatogr. A**, **950**, 2002, 195-211
79. M. Morton, O. Arisaka, A. Miyake, B. Evans, **Environmental Toxicology and Pharmacology**, Vol.7, 1999, 221–225
80. R.Naß, C.Markstädter, V.Hauke, M.Riederer. **Phytochemical Analysis. Vol. 9, 3**, 1998, 112 – 118

81. Conseil oléicole international. COI/T.20/Doc.n°.18/Rév. 2, 2003.
82. J. Giacometti, **Analyst**, **126**, 2001, 472-475
83. F. Mordret, A. Prevot, N. Le Barbanchon, C. Barbati, **Rev.Fse. Corps Gras**, **Vol. 24**, 1977, 467-475
84. A. Grandgirard, C. Cordelet. **Analisis** , **26**, n°3, 1998, 55-60
85. M. Du, D.U. Ahn, **J Food Sci**, **Vol,67**, 2002, 1696-1700
86. P. Volin, **J.Chromatogr. A**, **935**, 2001, 125-140
87. Wiley-VHC-Ullmann's, *Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Sixth edition, (2002)
88. J.L. Multon, *Additifs & Auxiliaires de Fabrication dans les Industries Agro-Alimentaires*, Collection Sciences et Techniques Agro-Alimentaires. 2eme Edition. Paris 1992.
89. H.J. Heipieper, P.de Waard, P. van der Meer, J.A. Killian, S. Isken, J.A.M. de Bont, G. Eggink, F.A. de Wolf, **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, **Vol.57** , 2001, 541-547,
90. A. A. Jekel, H. A. M. G. Vaessen, R. C. S. Fresenius, **J.Anal.Chem . Vol.360**, 1998, 595–600
91. Y-M. CHOONG<sup>1</sup>, H-J. LIN<sup>1</sup>, C-W. CHEN, M-L. WANG, **Journal of Food and Drug Analysis**, **Vol. 7**, 1999, 279-290
92. R. A. Moreaua, B. D. Whitakerb, K. B. Hicksa, **Progress in Lipid Research**, **Vol.41**, 2002, 457–500
93. J.L. Perrin, R. Raoux. **Rev.Fse. Corps Gras**, **Vol. 35**, 1988, 329-333
94. K. M. Phillips, D. M. Ruggio , J. I. Toivo, M. A. Swank, A. H. Simpkins, **Journal Of Food Composition And Analysis**,. **Vol.15**, 2000, 123-142
95. N.Yamaga, Y.Ogura, M.Azharul Islam, H.Matsuyama, M.Yamawaki, M. Kai, K.Yamada, **Yonago Acta medica**, **Vol 45,2002**, 27–33
96. K. Yamashita, Y. Nohara, K. Katayama, M. Namiki. **The Journal of Nutrition**. **Vol. 122**, n° 12, 1992, 2440-2446
97. P. Deldime, G. Lefebvre, Y. Sadin, M. Wybauw. **Rev.Fse. Corps Gras**, **Vol. 27**, n° 6, 1980, 279-282
98. F.J. Rupérez, D. Martin, E. Herrera, C. Barbas. **J.Chromatogr. A**, **935**, 2001, 45-69
99. F. Khallouki, C. Younos, R. Soulimani, T. Oster, Z. Charrouf, B. Spiegelhalter, H. Bartsch, R.W. Owen. **European journal of cancer prevention**. **12** , 2003, 67-75
100. F. MANAN. **Islamic Academy of Sciences**, **Vol 7**, No 1, 1994

# **Annexe**



We report as follows:

PLACE AND DATE OF INTERVENTION

At Kandla Port Area, from 20/10/2001 to 21/10/2001.

SAMPLING

Representative samples were drawn from suitable number of bags selected at random from the above consignment. The samples thus drawn were mixed thoroughly to make a composite sample and divided into five parts, each part put into jute bags and sealed with our seal No. SGS GAN- 07. These sealed samples were distributed as under:-

- Two sealed samples were handed over to the representative of Shipper
- One sealed sample was analysed by us
- Remaining samples were retained by us for record.

The record samples will be retained by us for a period of three months until and unless definite instructions to the contrary are received in the meantime.

ANALYSIS

Samples drawn during inspection were tested in our in-house laboratory and average results obtained are as under:-

<u>Parameters</u>	<u>Results</u>	<u>Requirement</u>	<u>Method of Analysis</u>
Foreign Matter	00.65%	01.00 % Max	
Purity(100-F/Matter)	99.35%	99.00 % Min	
Dark Coloured Seeds	00.76%	01.00 % Max	
Whitish Seeds	99.24%	99.00 % Min	
Free Fatty Acids	00.92%	02.00 % Max	AOCS Ca 5a-40
Oil Content	50.10%	50.00 % Min	IS: 3579-1966 reaffirmed 1990

Foreign Matter include impurities as defined in IS 3579 – 1966 reaffirmed 1990  
Dark Colour Seeds include the seeds which are dark brown or black in colour determined in admixture free sample.  
Whitish seeds are defined as 100-dark colour seed.

Based on the examination of the sample, we are of the opinion that the sample material is Natural Whitish Sesame Seeds.

## Résumé

En raison de ses propriétés aromatiques et diététiques intéressantes, la graine de sésame est largement utilisée dans nos préparations culinaires: en pâtisserie, boulangerie, confiserie mais aussi en médecine traditionnelle.

Nous nous sommes intéressés à l'étude de la composition chimique de l'huile de cette graine largement consommée en Algérie et importée d'Inde.

L'extraction de l'huile a été réalisée par différentes méthodes (par pression, sous agitation, sous ultrasons, au Soxhlet et utilisant différents solvants purs et binaires); elle a été suivie d'une caractérisation par les indices chimiques.

La partie saponifiable des résidus d'extraction a été séparée par chromatographie gazeuse sur une colonne polaire puis a fait l'objet d'une étude de la variation de la composition centésimale en acides gras et du rapport insaturés/saturés.

Dans le but d'étudier les constituants mineurs de l'huile, le résidu obtenu par extraction au Soxhlet à l'hexane ainsi que sa partie insaponifiable ont été fractionnés par chromatographie sur colonne. Le gel de silice a été utilisé comme support pour l'extraction des cires et le gel d'alumine pour le fractionnement de l'insaponifiable.

La dernière partie du travail a été consacrée à l'analyse par chromatographie gazeuse de l'huile et de ses constituants mineurs après silylation. Les cires ainsi que la fraction des hydrocarbures ont pu être analysées directement sans dérivation. L'identification et la confirmation de chaque constituant ont été réalisées par GC/MS après séparation sur une colonne HP-5-MS et comparaison des spectres de masse à ceux de produits de référence en utilisant des bases de spectres.