

Mesure et prédiction de la réactivité des lipides au cours du chauffage d'huiles végétales à haute température

Olesea Roman

▶ **To cite this version:**

Olesea Roman. Mesure et prédiction de la réactivité des lipides au cours du chauffage d'huiles végétales à haute température. Autre. AgroParisTech, 2012. Français. NNT : 2012AGPT0004 . pastel-00806186

HAL Id: pastel-00806186
https://pastel.hal.science/pastel-00806186

Submitted on 29 Mar 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY

AgroParisTech
INSTITUT DES SCIENCES ET INDUSTRIES DU VIVANT ET DE L'ENVIRONNEMENT
PARIS INSTITUTE OF TECHNOLOGY FOR LIFE, FOOD AND ENVIRONMENTAL SCIENCES

Ecole Doctorale ABIES
Agriculture
Agriculture
Alimentation
Food
Biologie
Biology
Environnement
Environment
Santé
Health

Doctorat ParisTech
T H È S E

pour obtenir le grade de docteur délivré par

L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement

(AgroParisTech)

Spécialité : Sciences des Aliments

présentée et soutenue publiquement par

Olesea ROMAN

24 Janvier 2012

Mesure et prédiction de la réactivité des lipides au cours du chauffage d'huiles végétales à haute température

Directrice de thèse : **Marie-Noëlle MAILLARD**
Co-directeurs de la thèse : **Anne-Marie RIQUET, Bertrand BROYART**

Jury

Mme Valérie GUILLARD, Maître de Conférences, Université Montpellier II, UMR 1208 IATE	Rapporteur
Mme Claire DUFOUR, Chargée de recherche, INRA d'Avignon, UMR A 408 SQPOV	Rapporteur
Mme Dominique CHAMPION, Professeure, AgroSup Dijon, Laboratoire EMMA	Examinatrice
M. Alain HUERTAS, Directeur R&D, Lesieur	Examinateur
M. Jacques NICOLAS, Professeur Emérite, CNAM, UMR 1145 GENIAL	Examinateur
Mme Marie-Noëlle MAILLARD, Professeure, AgroParisTech, UMR 1145 GENIAL	Directrice de thèse

AgroParisTech
UMR 1145 GENIAL
1, avenue des Olympiades, F-91744 Massy Cedex

AVANT PROPOS

Ce travail de thèse a été réalisé dans l'équipe CaliPro, au sein de l'UMR Ingénierie Procédés Aliments (UMR 1145 GENIAL, AgroParisTech-INRA-CNAM). Il a été financé par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. Il a donné lieu aux publications suivantes :

Articles dans des revues à comité de lecture :

Olesea Roman, Marie-Noëlle Maillard, Cédric Plessis, Anne-Marie Riquet. Electron spin resonance spectroscopy: a promising method for studying lipid oxidation in foods. *Lipid Technology*, **2010**, 22 (4), 87-90.

Olesea Roman, Francis Courtois, Marie-Noëlle Maillard, Anne-Marie Riquet. Kinetic Study of Hydroperoxide Degradation in Edible Oils Using Electron Spin Resonance Spectroscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **2011**, 1-9.

Olesea Roman, Bertrand Heyd, Bertrand Broyart, Marie-Noëlle Maillard. Oxidative reactivity of unsaturated fatty acids from sunflower, oleic sunflower and rapeseed oils submitted to controlled heat treatements. *Article en préparation*.

Communications à des congrès avec comité de lecture :

Olesea Roman, Marie-Noëlle Maillard, Cédric Plessis, Anne-Marie Riquet. Electron Spin Resonance Spectroscopy – Promising Method to study Lipid Oxidation in Foods ? *7ème Euro Fed Lipid Congress, Graz, Austria, October 2009 (Communication par affiche).*

Olesea Roman, Roberto Castillo, Marie-Elisabeth Cuvelier, Bertrand Broyard, Marie-Noëlle Maillard. The effect of temperature and oxygen availability on lipid oxidation in sunflower bulk oil and oil-in-water emulsion. *8ème Euro Fed Lipid Congress, Munich, Austria, November 2010 (Communication par affiche).*

Olesea Roman, Bertrand Broyart, Marie-Noëlle Maillard. Kinetic Modeling of Lipid Oxidation during Heating of Food Products. *9th Euro Fed Lipid Congress. Oils, Fats and Lipids for a Healthy and Sustainable World, Rotterdam, The Netherlands, September 2011 (Communication orale présentée par O. Roman).*

Olesea Roman, Bertrand Heyd, Bertrand Broyard, Marie-Noëlle Maillard. Oxidative reactivity of unsaturated fatty acids: determination of a set of experimental conditions to provide oil samples with significantly different oxidation levels. *9ème Euro Fed Lipid Congress, Rotterdam, The Netherlands, September 2011 (Communication par affiche).*

Communications aux journées de l'école doctorale :

Olesea Roman, Marie-Noëlle Maillard, Anne-Marie Riquet. Etude des espèces radicalaires propres à l'oxydation des lipides par Résonance Paramagnétique Electronique. *Journée des doctorants de l'UMR 1145 (AgroParisTech, centre de Massy), octobre 2009.*

Olesea Roman, Anne-Marie-Riquet, Marie-Elisabeth Cuvelier, Marie-Noëlle Maillard. Suivi de l'oxydation des lipides par des méthodes chimiques et physiques. *Journées de l'Ecole Doctorale ABIES, Paris, France, avril 2010*.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, c'est avec émotion que je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce projet. En particulier :

Marie-Noëlle MAILLARD, Professeure à AgroParisTech et directrice de thèse, pour m'avoir fait bénéficier, tout au long de la thèse, de ses conseils, de ses critiques, de son savoir ainsi que de sa riche expérience. Je la remercie également pour son aide à la rédaction de la thèse et pour les discussions fructueuses que nous avons eues, qui m'ont beaucoup appris et m'ont permis de mener à bien mon travail. C'est un plaisir de travailler à ses cotés.

Anne-Marie RIQUET, chargée de recherche à l'INRA pour avoir encadré mon travail portant sur l'étude des espèces radicalaires lipidiques par Résonance Paramagnétique Electronique. Je tiens à la remercier vivement pour son investissement, son enthousiasme et ses conseils durant la thèse.

Bertrand BROYART, Professeur à AgroParisTech, pour m'avoir encadré sur toute la partie développement du modèle stoechio-cinétique, pour m'avoir initié à la modélisation, pour sa patience, sa disponibilité et son investissement scientifique dans ce travail.

Francis COURTOIS, Professeur à AgroParisTech, pour sa contribution à la modélisation des résultats obtenus au cours de l'étude des espèces radicalaires lipidiques par Résonance Paramagnétique Electronique.

Bertrand HEYD, Ingénieur de recherche à AgroParisTech, pour son aide au traitement statistique des données expérimentales, pour sa disponibilité et sa gentillesse.

Claire DUFOUR, Chargée de recherche à l'INRA d'Avignon et Valérie GUILLARD, Maître de conférences à Montpellier Supagro, pour l'honneur qu'elles me font en acceptant d'être rapporteurs de cette thèse.

Les examinateurs, Dominique CHAMPION, Professeure à AgroSupDijon, Alain HUERTAS, Directeur R&D chez Lesieur et Jacques NICOLAS, Professeur Emérite au CNAM pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail et pour avoir accepté de l'évaluer.

Les membres du comité de thèse, Catherine BONAZZI, Chargée de recherche à l'INRA de Massy, Marie-Elisabeth CUVELIER, Ingénieure de recherche à AgroParisTech, Jacques NICOLAS, Professeur Emérite au CNAM, Bertrand BROYART et Francis COURTOIS, Professeurs à AgroParisTech, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail et pour les remarques constructives qu'ils ont faites sur mon projet de thèse.

Séverine KELLER et Paola SOTO, Ingénieures d'étude à AgroParisTech, pour l'aide technique qu'elles m'ont apportée, pour leur accueil, leur sympathie et leur amitié.

Aurélie CENDRES, Maître de conférences à AgroParisTech, pour sa sympathie, ses conseils et sa bonne humeur… je suis heureuse de l'avoir rencontrée.

Pierre GIAMPAOLI, Véronique BOSC, Barbara REGA, Cédric PLESSIS, Nicolas DESCHARLES et Julien CARTAILLER pour leur accueil dans le laboratoire et leur sympathie.

Collette WONG et Soraya KHADEL, secrétaires de l'équipe, pour leur disponibilité, leur gentillesse et leur aide administrative.

Shan BAI et Nastassia URIEN, stagiaires de Master, pour avoir participé à mes travaux de thèse et pour leur investissement. J'ai pris beaucoup de plaisir à travailler avec elles.

Les doctorants Lucy ESPINOSA, Betty FLEUCHOT, Cécile COURGNEAU, Xiaoyi FANG, Sophie DETERRE, Emilie DEVIC, Souad FEHALI, Fatiha RAMLI, Jean-Baptiste BOITTE, Jérémie CERNELA, Gilles MARY et Romulo SALAZAR, qui sont tous passés ou passent par le même chemin que moi, pour avoir participé chacun à leur façon à rendre ces trois années exceptionnelles, et dont certains sont devenus de véritables amis. Je remercie tout particulièrement Jérémie CERNELA avec qui j'ai partagé le même bureau pendant deux ans, pour son soutien et pour la bonne ambiance dans le bureau.

Ma mère Tamara ROMAN, mon père Vasile ROMAN et ma sœur Irina pour avoir suivi avec attention mon parcours au fur et à mesure de ma scolarité, pour m'avoir soutenue et pour avoir toujours cru en moi. C'est grâce à eux si j'en suis là et j'espère qu'ils seront fiers de moi.

Matthieu pour son soutien moral, son encouragement continu et son réconfort.

SOMMAIRE

Liste des figures 4
Liste des tableaux 6
Liste des annexes 7
Liste des abréviations 8

INTRODUCTION GENERALE 9

I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 13

I. 1. OXYDATION DES LIPIDES : GENERALITES 13

I. 2. MECANISMES D'AUTO-OXYDATION DES LIPIDES 18
I. 2. 1. Mécanisme général 18
I. 2. 2. Etapes fondamentales de l'auto-oxydation 20
I. 2. 2. 1. Initiation 20
I. 2. 2. 2. Propagation 22
I. 2. 2. 2. 1. Propagation *via* les radicaux L• et LOO• 22
I. 2. 2. 2. 2. Propagation *via* les radicaux LO• 26
I. 2. 2. 3. Décomposition des hydroperoxydes 27
I. 2. 2. 4. Terminaison 30

I. 3. MECANISMES D'ANTI-OXYDATION DES LIPIDES PAR LES COMPOSES PHENOLIQUES 32
I. 3. 1. Définition et mécanismes d'action des molécules antioxydantes 32
I. 3. 2. Les tocophérols 35
I. 3. 3. Les acides phénoliques 39

I. 4. MESURE DE L'ETAT D'AVANCEMENT DES REACTIONS D'OXYDATION DES LIPIDES 41
I. 4. 1. Classification des méthodes de mesure 41
I. 4. 2. Suivi des espèces non radicalaires 43
I. 4. 2. 1. Dosage des acides gras 43
I. 4. 2. 2. Dosage des hydroperoxydes lipidiques 43
I. 4. 2. 3. Dosage des diènes conjugués 44
I. 4. 2. 4. Mesure de l'indice de *p*-anisidine 44
I. 4. 2. 5. Dosage des composés polaires 45
I. 4. 2. 6. Dosage des polymères 46

I. 4. 3. Suivi des espèces radicalaires issues de l'oxydation des lipides par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) 47
I. 4. 3. 1. Principe de la RPE 47
I. 4. 3. 2. Conditions de détection des radicaux lipidiques par RPE 48
I. 4. 3. 3. Détection directe des radicaux 49
I. 4. 3. 4. Spin Trapping 51
I. 4. 3. 5. Spin Scavenging 54

I. 5. PARAMETRES CINETIQUES DES REACTIONS D'OXYDATION DES LIPIDES 56
I. 5. 1. Méthodes de détermination des paramètres cinétiques 56
I. 5. 2. Influence de la température sur les paramètres cinétiques 57

I. 6. Conclusion 62

II. 2. MATERIELS ET METHODES 63

II. 1. Standards, réactifs et solvants 63

Standards 63

Réactifs 63

Solvants **63**

II. 2. Matériels **63**
II. 2. 1. Nature et composition des huiles **63**
II. 2. 2. Purification des huiles **64**
II. 2. 3. Préparation des huiles enrichies en antioxydants **65**
II. 2. 3. 1. Préparation de l'échantillon enrichi en α-tocophérol 65
II. 2. 3. 2. Préparation de l'échantillon enrichi en α-tocophérol et en acide chlorogénique 65
II. 2. 4. Préparation d'huiles oxydées **65**
II. 2. 5. Production des hydroperoxydes **66**

II. 3. Traitement thermique des huiles **66**

II. 4. Dispositif expérimental et équipements **66**

II. 5. Suivi des espèces radicalaires par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) **68**
II. 5. 1. Génération des radicaux lipidiques par photolyse **68**
II. 5. 2. Génération des radicaux lipidiques par thermolyse **69**

II. 6. Suivi des espèces non-radicalaires **70**
II. 6. 1. Dosage des acides gras par CPG-FID **70**
II. 6. 2. Dosage des diènes conjugués **71**
II. 6. 3. Détermination de l'indice de peroxyde **71**
II. 6. 4. Détermination de l'indice *p*-anisidine **72**
II. 6. 5. Mesure de la viscosité des huiles **73**

II. 7. Quantification des antioxydants **73**
II. 7. 1. Quantification des tocophérols par CLHP-BD **73**
II. 7. 1. 1. Système chromatographique 74
II. 7. 1. 2. Etablissement des gammes d'étalonnage 74
II. 7. 1. 3. Dosage des tocophérols dans l'huile 75
II. 7. 2. Quantification de l'acide chlorogénique par CLHP-BD **75**
II. 7. 2. 1. Système chromatographique 75
II. 7. 2. 2. Etablissement de la gamme d'étalonnage 76
II. 7. 2. 3. Extraction des composés phénoliques à partir de l'huile et dosage de l'acide chlorogénique 77

II. 8. Analyses statistiques **77**

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS **78**

INTRODUCTION **78**

III. 1. CONSTRUCTION DU SCHEMA REACTIONNEL **79**
III. 1. 1. Les différentes réactions considérées au sein du modèle **81**
III. 1. 2. Choix des marqueurs réactionnels **85**

III. 2. DEVELOPPEMENT DU MODELE MECANISTIQUE **86**
III. 2. 1. Définition du système étudié **86**
III. 2. 2. Hypothèses **86**
III. 2. 3. Equations de conservation **87**
III. 2. 3. 1. Cas de l'oxygène 88
III. 2. 3. 2. Cas des autres espèces 89
III. 2. 3. 3. Calcul des débits nets de production/consommation 90
III. 2. 3. 4. Valeurs des paramètres d'entrée 91
III. 2. 4. Résolution des équations de conservation **91**

III. 3. ETUDE DE LA REACTIVITE DES ACIDES GRAS EN CONDITIONS DE TEMPERATURES CONTROLEES **93**

Introduction **93**
III. 3. 1. Choix des conditions d'oxydation : disponibilité en oxygène et température ... **94**
III. 3. 2. Effet de la composition en acides gras **97**
III. 3. 3. Effet de la température **101**
III. 3. 4. Effet de la présence des antioxydants **105**
III. 3. 4. 1. Effet de l'α-tocophérol 105
III. 3. 4. 2. Effet du mélange α-tocophérol + acide chlorogénique 108
III. 3. 5. Conclusions **111**

III. 4. VALIDATION DU MODELE STOECHIO-CINETIQUE **113**
III. 4. 1. Méthode adaptée en vue de l'identification des paramètres cinétiques **113**
III. 4. 2. Etude de sensibilité **114**
III. 4. 3. Comparaison des résultats simulés et expérimentaux **117**
III. 4. 4. Questionnement sur la validité des hypothèses **121**
III. 4. 4. Conclusion **125**

III. 5. ETUDE DES POTENTIALITES DE LA RESONANCE PARAMAGNETIQUE ELECTRONIQUE POUR SUIVRE LES ESPECES RADICALAIRES IMPLIQUEES DANS L'OXYDATION DES LIPIDES **127**
III. 5. 1. Potentialités de la RPE pour mettre en évidence et suivre l'évolution des radicaux lipidiques **127**
III. 5. 1. 1. Méthode directe 127
III. 5. 1. 2. Spin trapping 129
III. 5. 2. Estimation des constantes de vitesse d'une réaction impliquant des radicaux lipidiques **133**
III. 5. 2. 1. Caractérisation des systèmes étudiés 134
III. 5. 2. 2. Dégradation des hydroperoxydes dans l'huile de colza 137
III. 5. 2. 3. Dégradation des hydroperoxydes dans l'huile de tournesol 139
III. 5. 2. 4. Dégradation des hydroperoxydes dans l'huile de colza oxydée 140
III. 5. 3. Conclusion **142**

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES **143**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES **146**

Liste des figures

Figure 0. Evolution (a.) et répartition (b.) de la consommation française en huiles végétales. Composition des principales huiles consommées par les français (c.) 10
Figure 1. Structure et nomenclature des acides gras insaturés..... 14
Figure 2. Schéma général des voies réactionnelles d'oxydation des acides gras insaturés (LH) (adapté de Berset & Cuvelier 1996) 15
Figure 3. Schéma général de l'auto-oxydation des acides gras insaturés LH proposé par Labuza en 1971. 18
Figure 4. Schéma de l'auto-oxydation des acides gras insaturés LH (d'après Kamal Eldin et al. 2003)..... 18
Figure 5. Cinétique d'auto-oxydation d'un acide gras insaturé mesurée par la consommation en oxygène, en présence d'une concentration en pro-oxydant faible (courbe 1) ou élevée (courbe 2) (d'après Belitz et al. 2009). 19
Figure 6. Mécanisme de formation des 8-, 9-, 10- et 11- monohydroperoxydes à partir de l'acide oléique (adapté de Frankel 1998). 23
Figure 7. Mécanisme de formation des 9- et 13- monohydroperoxydes à partir de l'acide linoléique (adapté de Frankel 1998). 24
Figure 8. Mécanisme de formation des 9-, 12-, 13- et 16- monohydroperoxydes à partir de l'acide α-linolénique (adapté de Frankel 1998)..... 24
Figure 9. Cyclisation des radicaux peroxyles par addition 1,3 et réactivité des produits formés (d'après Chan et al. 1980). 25
Figure 10. Cyclisation 1,5 des hydroperoxydes et formation d'endohydroperoxydes bicycliques (d'après Frankel 2005). 26
Figure 11. Formation d'un époxyde à partir d'un radical alkoxyle (d'après Schaich 2005)..... 27
Figure 12. Scission des radicaux alkoxyles (d'après Schaich 2005). 27
Figure 13. Formation des composés secondaires d'oxydation à partir des monohydroperoxydes des acides oléique, linoléique et α-linolénique (adapté de Grosch 1987 ; Frankel 1998). 29
Figure 14. Exemple de structures chimiques des dimères de peroxydes formés à partir de l'acide α-linolénique (d'après Frankel 2005). 31
Figure 15. Allongement du temps de demi-vie (t1/2) du linoléate de méthyle sous l'action d'un antioxydant (Maillard 1996) (a) t1/2 : témoin ; (b) t'1/2 : échantillon en présence d'antioxydant..... 32
Figure 16. Stabilisation du radical phénolique par mésomérie (d'après Berset 2006). 34
Figure 17. Structures chimiques des tocophérols et des tocotriénols..... 36
Figure 18. Mécanisme d'action de l'alpha-tocophérol (adapté de Tappel 1972 ; Verleyen 2001). 38
Figure 19. Structures chimiques de quelques acides phénoliques (d'après Macheix et al. 1990)..... 39
Figure 20. Evolution de l'auto-oxydation des acides gras insaturés au cours du temps (d'après Labuza & Dugan 1971). 41
Figure 21. Organisation des niveaux d'énergie pour un spin électronique S=1/2 en présence d'un champ magnétique (d'après Rieger 2007). 47
Figure 22. Exemple de spectre RPE (Thomsen et al. 1999) 48
Figure 23. Réactions de spin-trapping des composés nitroso (a.) et nitrones (b.) pour former un radical nitroxyle (adapté de Andersen et al. 2005). 51
Figure 24. Formation d'un adduit de spin PBN-L-NO• suite à l'addition d'un radical lipidique L• au spin trap α-phényl-N-tert-butylnitrone (PBN) (a). Exemple de spectre RPE correspondant à l'adduit de spin PBN-L-NO• (b) (d'après Velasco et al. 2005) 52
Figure 25. Mise en évidence d'une phase de latence correspondant au moment de l'épuisement des antioxydants endogènes de l'huile, suivie par la formation des adduits de spin (d'après Rohn & Kroh 2005). 53
Figure 26. Formation d'une espèce non-paramagnétique suite à l'interaction d'un radical libre stable (acide 5-doxyl stéarique) avec un radical lipidique L• (d'après Andersen et al. 2005)..... 54
Figure 27. Cinétique de disparition d'un radical stable en présence de deux antioxydants différents (1 et 2) (d'après Rohn& Kroh 2005). 55
Figure 28. Schéma du dispositif expérimental de chauffage des huiles..... 67
Figure 29. Evolution de la température de l'huile de silicone au cours de son chauffage, mené à 80, 100, 120 ou 150 °C. 67
Figure 30. Evolution de la température de l'huile contenue dans les piluliers au cours du chauffage, mené à 100, 120 ou 150 °C..... 68
Figure 31. Evolution de la température de l'huile contenue dans les tubes RPE pendant le chauffage mené à 100 et 110 °C. 69

Figure 32. Courbe d'étalonnage du 2,4-décadiénal à 350 nm utilisée pour la mesure de l'indice p-anisidine 72
Figure 33. Chromatogramme CLHP des étalons α et γ-tocophérols établi à 298 nm. 74
Figure 34. Courbes d'étalonnage de l'α- tocophérol et du γ- tocophérol établies par CLHP à 298 nm. 75
Figure 35. Chromatogramme CLHP de l'étalon d'acide chlorogénique à 325 nm. 76
Figure 36. Courbe d'étalonnage de l'acide chlorogénique (ACQ) établie par CLHP à 325 nm. 76
Figure 37. Schéma réactionnel d'auto-oxydation des lipides insaturés (LH) 80
Figure 38. Représentation schématique du système étudié : huile échangeant de l'oxygène avec son environnement.. 88
Figure 39. Cinétiques de suivi des diènes conjugués dans l'huile de tournesol chauffée à 80, 100, 120 et 150 °C pour différents rapports volume de l'huile/surface d'échange avec l'air (V/S). 95
Figure 40. Mise en évidence de l'effet de la disponibilité en oxygène sur l'évolution des marqueurs d'oxydation : acides gras, diènes conjugués et indice de peroxyde à 120 °C 96
Figure 41. Mise en évidence de l'effet de la composition des huiles par comparaison des pentes et des courbures calculées sur les cinétiques de suivi des diènes conjugués pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C. 97
Figure 42. Cinétiques de suivi des diènes conjugués dans les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC) pendant leur chauffage à 100 °C, 120 °C et 150 °C 98
Figure 43. Mise en évidence de l'effet de la composition des huiles par comparaison des pentes et des courbures calculées sur cinétiques de suivi des hydroperoxydes pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C. 99
Figure 44. Cinétiques de suivi des hydroperoxydes dans les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC) pendant leur chauffage à 100 °C, 120 °C et 150 °C. 99
Figure 45. Mise en évidence de l'effet de la composition des huiles par comparaison des pentes et des courbures calculées sur les cinétiques de suivi des polymères pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C. 100
Figure 46. Cinétiques de suivi des polymères dans les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC) pendant leur chauffage à 100, 120 et 150 °C. 100
Figure 47. Mise en évidence de l'effet de la température par comparaison des pentes et des courbures calculées sur les cinétiques de suivi des diènes conjugués, des hydroperoxydes, des aldéhydes et des polymères pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C. 102
Figure 48. Mise en évidence de l'effet de la température sur l'évolution des marqueurs d'oxydation : acides gras, diènes conjugués, hydroperoxydes, aldéhydes et polymères pour l'huile de tournesol chauffée à 100, 120 et 150 °C. 103
Figure 49. Corrélation entre les diènes conjugués et les hydroperoxydes : (a) pour l'huile de tournesol à 100, 120 et 150 °C ; (b) pour les huiles de tournesol, tournesol oléique et colza à 100 °C. 104
Figure 50. Cinétiques de suivi des marqueurs diènes conjugués, hydroperoxydes, aldéhydes et polymères pour l'huile de tournesol (HT) chauffée à 100, 120 et 150 °C en présence d'α- tocophérol. 105
Figure 51. Cinétiques de suivi des diènes conjugués et hydroperoxydes pour l'huile de colza (HC) chauffée à 100, 120 et 150 °C en présence d'α- tocophérol. 106
Figure 52. Cinétiques de suivi des diènes conjugués et hydroperoxydes pour l'huile de tournesol oléique (HTO) chauffée à 100, 120 et 150 °C en présence d'α- tocophérol. 106
Figure 53. Perte en tocophérol (%) dans les huiles de tournesol oléique (HTO), colza (HC) et tournesol (HT) supplémentées en α-tocophérol (700 $mg.kg^{-1}$) chauffées à 100, 120 et 150 °C. 107
Figure 54. Suivi de la perte en α-tocophérol dans le mygliol chauffé à 150 °C. 108
Figure 55. Evaluation de la perte en α-tocophérol due à sa dégradation thermique et à son action antioxydante vis-à-vis des acides gras insaturés : A. en fonction de la nature d'huile à 150 °C pendant 6 h de chauffage ; B. En fonction de la composition en acides gras mono-insaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI) par rapport aux acides gras totaux (AGT) à 150 °C pendant 6 h de chauffage. 108
Figure 56. Cinétiques de formation des diènes conjugués, hydroperoxydes et polymères pour les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC) chauffées à 120 °C en présence d'α-tocophérol (700 $mg.kg^{-1}$) et d'acide chlorogénique(500 $mg.kg^{-1}$) 109
Figure 57. Cinétiques de suivi de l'α-tocophérol dans une huile de colza chauffée à 100, 120 et 150 °C.. 110
Figure 58. Suivi de la perte en acide chlorogénique dans le mygliol chauffé à 150 °C. 110
Figure 59. Cinétique de suivi de l'acide chlorogénique dans une huile de colza chauffée à 100, 120 et 150 °C. 111
Figure 60. Couple pentes/courbures calculées sur les cinétiques de suivi des diènes conjugués, des hydroperoxydes et des polymères pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C. 112

Figure 61. Sensibilité relative à l'évolution des diènes conjugués (a.) et des hydroperoxydes (b.) suite à la variation des constantes de vitesse des réactions 8, 23 et 92 de 1%. 115
Figure 62. Modèle purement diffusif. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de tournesol chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S2) de 9,49 mm. 117
Figure 63. Modèle considérant un réacteur parfaitement agité. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de tournesol chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S2) de 9,49 mm. 122
Figure 64. Modèle considérant un réacteur parfaitement agité. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de tournesol chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S3) de 3,57 mm. 123
Figure 65. Modèle considérant un réacteur parfaitement agité. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de tournesol oléique chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S2) de 9,49 mm. 123
Figure 66. Modèle considérant un réacteur parfaitement agité. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de colza chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S2) de 9,49 mm. 124
Figure 67. Représentation schématique de la consommation d'oxygène pendant une expérience. 125
Figure 68. Spectres RPE d'une huile de colza irradiée par photolyse UV à -160°C dans une atmosphère appauvrie en oxygène (A), une atmosphère normale (B), et une atmosphère enrichie en oxygène (C). 128
Figure 69. Evolution de l'intensité du signal RPE correspondant aux des radicaux lipidiques générés dans une huile de colza irradiée par photolyse UV à différentes températures. 129
Figure 70. Formation d'un adduit de spin suite à l'interaction des radicaux lipidiques (L•) avec le piégeur α-phényl-N-tert-butylnitrone (PBN). 130
Figure 71. Spectre RPE de l'adduit PBN-L-NO• observé lors du chauffage d'une huile de colza à 100 °C. 130
Figure 72. Evolution des adduits de spin PBN-L-NO• dans une huile de colza et dans une huile de tournesol chauffées à 100 °C pendant 2000 s. 131
Figure 73. Structures chimiques de l'acide 5-doxyl stéarique (DSNO•) et du 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpipéridine-1-oxyl (TEMPO). 131
Figure 74. Stabilité thermique de l'acide 5-doxyl stéarique (DSNO•) et du 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpipéridine-1-oxyl (TEMPO) dans l'huile de silicone à 100 °C. 132
Figure 75. Evolution de l'intensité du signal RPE dans un milieu lipidique non oxydable (huile de silicone) contenant des hydroperoxydes synthétisés à partir de l'acide linoléique par voie enzymatique et de l'acide 5-doxyl stéarique (DSNO•). 132
Figure 76. Spectre RPE de l'acide 5-doxyl stéarique. 134
Figure 77. Réarrangement d'un radical centré sur l'oxygène vers un radical centré sur le carbone. 136
Figure 78. Evolution de la concentration en acide 5-doxyl stéarique dans l'huile de colza chauffée à 100 et à 110 °C. Les points correspondent aux données expérimentales (3 répétitions : a, b et c) et les courbes pleines à la simulation mathématique. 137
Figure 79. Concentrations simulées de toutes les espèces participant aux réactions décrites dans le schéma réactionnel simplifiépour l'huile de colza. 138
Figure 80. Evolution de la concentration en acide 5-doxyl stéarique dans l'huile de tournesol chauffée à 100 et à 110 °C. Les points correspondent aux données expérimentales (3 répétitions : a, b et c) et les courbes pleines à la simulation mathématique. 139
Figure 81. Concentrations simulées de tous les espèces participant aux réactions décrites dans le schéma réactionnel pour l'huile de tournesol. 140
Figure 82. Evolution de la concentration en acide 5-doxyl stéarique dans l'huile de colza oxydée à 100 et à 110 °C. Les points correspondent aux données expérimentales (3 répétitions : a, b et c) et les courbes pleines à la simulation mathématique. 141

Liste des tableaux

Tableau 1. Durée des périodes d'induction et des vitesses relatives d'oxydation pour différents acides gras : acide oléique (C 18 :1), acide linoléique (C 18 :2) et acide α-linolénique (C 18 :3) (d'après Belitz et al. 2009). 20
Tableau 2. Energie nécessaire pour arracher un atome d'hydrogène d'une chaîne aliphatique (d'après Kerr 1966). 21
Tableau 3. Energies de dissociation homolytique rencontrées dans les lipides (adapté de Bensasson et al. 1993). 21

Tableau 4. Distribution relative (%) des fonctions hydroperoxydes sur les acides gras insaturés (adapté de Frankel 1977 ; Frankel et al. 1979 ; Frankel 1998).....23
Tableau 5. Produits secondaires d'oxydation des acides gras insaturés (d'après Kim & Min 2008).....28
Tableau 6. Potentiels standards de réduction pour des processus radicalaires (adapté de Min & Boff 2002).....34
Tableau 7. Composition en tocophérols (mg/kg) des principales huiles végétales (adapté de Gunstone 2007).....35
Tableau 8. Comparaison des activités antioxydantes des tocophérols dans les huiles et les graisses (adapté de Seppanen et al. 2010).....37
Tableau 10. Exemples de l'application de l'équation Arrhenius pour décrire la dépendance des réactions d'oxydation à la température (adapté de Manzocco et al. 2010).....58
Tableau 12. Caractéristiques physico-chimiques et composition en acides gras et tocophérols des huiles de tournesol, de tournesol oléique et de colza.....64
Tableau 13. Réactions considérées dans le phénomène d'auto-oxydation des acides gras insaturés (L_AH-acide oléique, L_BH-acide linoléique ; L_CH-acide α-linolénique).....82
Tableau 14. Concentrations molaires initiales des différents constituants dans les huiles végétales étudiées.....84
Tableau 15. Attribution des marqueurs choisis aux molécules considérées dans le modèle.....85
Tableau 16. Valeurs des principaux paramètres d'entrée du modèle et données du problème utilisés à la résolution du modèle à 120 °C.....91
Tableau 17. Récapitulatif des expériences réalisées et des conditions testées dans le cas de l'oxydation des huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC).....97
Tableau 18. Différences significatives entre les pentes et les courbures calculées sur le suivi des marqueurs d'oxydation dans les huiles enrichies en α-tocophérol et acide chlorogénique comparé aux huiles enrichies seulement avec α-tocophérol.....109
Tableau 19. Sensibilité des concentrations en dienes conjugués et hydroperoxydes prédites par le modèle suite à une variation des constantes de vitesse de 1 %.....116
Tableau 20. Valeurs numériques des constantes de vitesse retenues pour le modèle.....119
Tableau 21. Réactions considérées dans le schéma réactionnel simplifié de décomposition des hydroperoxydes.....135
Tableau 22. Concentrations initiales des différents constituants dans les trois systèmes lipidiques étudiés en RPE – spin scavenging.....136
Tableau 23. Constantes de vitesse apparentes obtenues pour la décomposition des hydroperoxydes présents dans l'huile de colza à 100 et 110 °C.....138
Tableau 24. Constantes de vitesse apparentes obtenues pour la décomposition des hydroperoxydes présents dans l'huile de tournesol à 100 et 110 °C.....139

Liste des annexes

Annexe 1. Résultats des cinétiques d'oxydation enregistrées sur les huiles de colza (HC), tournesol (HT) et tournesol oléique (HTO) en présence ou non d'antioxydants (AH) : α-tocophérol (α-toc) et acide chlorogénique (ACQ) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150°C).....158
Annexe 2. Analyse statistique : Comparaison des pentes et des courbures des cinétiques d'oxydation enregistrées sur les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et de colza (HC) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150 °C). Une valeur <0,05 indique une différence significative entre les coefficients (pentes, courbures) des cinétiques.....164
Annexe 3. Analyse statistique : Comparaison des pentes et des courbures des cinétiques d'oxydation enregistrées sur les huiles de colza (HC) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150 °C). Une valeur <0,05 indique une différence significative entre les coefficients (pentes, courbures) des cinétiques.....165
Annexe 4. Analyse statistique : Comparaison des pentes et des courbures des cinétiques d'oxydation enregistrées sur les huiles de tournesol (HT) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150 °C). Une valeur <0,05 indique une différence significative entre les coefficients (pentes, courbures) des cinétiques.....166
Annexe 5. Analyse statistique : Comparaison des pentes et des courbures des cinétiques d'oxydation enregistrées sur les huiles de tournesol oléique (HTO) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150 °C). Une valeur <0,05 indique une différence significative entre les coefficients (pentes, courbures) des cinétiques.....167

Liste des abréviations

α-Toc	α-tocophérol
α-Toc$^{\bullet}$	Radical α-tocophéryl
AH	Antioxydant
AGI	Acide gras insaturé
AGMI	Acide gras mono-insaturé
AGPI	Acide gras polyinsaturé
ANSES	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANC	Apport nutritionnel conseillé
BDE	Bond dissociation energy
BHA	2 et 3 *tert*-butyl-4-hydroxyanisole
BHT	2,6 di-*tert*-butyl-4-hydroxytoluène
C 18 :1	Acide oléique
C 18 :2	Acide linoléique
C 18 :3	Acide α-linolénique
CLHP	Chromatographie liquide haute performance
CLHP-BD	Chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur UV-Visible à barette de diode
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
DHA	Acide docosahexanoïque
DSNO$^{\bullet}$	acide 5-doxyl stéarique
DPPH	1,1-diphényl-2-pycril-hydrazil
E_a	Energie d'activation
k	Constante de vitesse
K_H	Constante de Henry
LH	Acide gras insaturé
L_AH	Acide oléique
L_BH	Acide linoléique
L_CH	Acide α-linolénique
L$^{\bullet}$	Radical alkyle
LO$^{\bullet}$	Radical alkoxyle
LOO$^{\bullet}$	Radical peroxyle
LOOH	Hydroperoxyde
M	Masse moléculaire
Me	Métal
NO$^{\bullet}$	Radical nitroxyle
oméga 3	Acide gras de la série n-3
oméga 6	Acide gras de la série n-6
oméga 9	Acide gras de la série n-9
P_{O2}	Pression partielle en oxygène
PBN	α –phényl-N-*tert*-butyl-nitrone
PBN-L-NO$^{\bullet}$	Adduit de spin
POBN	α-[4-pyridyl-1-oxyde]-N-*tert*-butyl nitrone
PG	Gallate de propyle
PNNS	Programme National Nutrition Santé
R	Constante des gaz parfaits
RPE	Résonance Paramagnétique Electronique
S	Débit molaire net de production
T	Température
TBHQ	Tertio-butylhydroquinone
TEMPO	4-hydroxy-2,2,6,6-tétraméthylpipéridine-1-oxyl
TG	triglycéride
X_{O2}	Fraction molaire de l'oxygène
UV	ultraviolet

INTRODUCTION GENERALE

Aujourd'hui, les aliments doivent être sûrs, sains et bon marché. Ils doivent être perçus comme naturels et frais, avec une durée de vie la plus longue possible, tout en conservant leurs qualités sensorielles et nutritionnelles. Dans ce contexte, de nombreux industriels du secteur agro-alimentaire souhaitent développer des produits aux propriétés maîtrisées pour répondre à la demande sociale et aux préconisations en matière de santé publique.

Le Programme National Nutrition Santé (PNNS) préconise, pour les vingt prochaines années, de réduire la consommation de graisses saturées d'origine animale au profit des graisses d'origine végétale riches en acides gras mono- (acide oléique) ou polyinsaturés (acides linoléique et α-linolénique), ceux-ci étant reconnus comme importants dans la prévention de nombreuses maladies telles que les maladies cardiovasculaires, l'obésité ou certaines formes de cancer. Ces recommandations prennent non seulement en compte les apports en acides linoléique et α-linolénique, mais également le rapport entre les deux familles d'acides gras (n-6 et n-3) (Pascal 1996; Martin & Pascal 2001; Jeantet et al. 2006).

A partir du milieu des années 1970, les huiles végétales ont commencé à se substituer aux graisses animales en tant que source principale de lipides et leur consommation a progressé depuis au même rythme que l'augmentation de la population (http://www.cetiom.fr) (Figure 0a.).

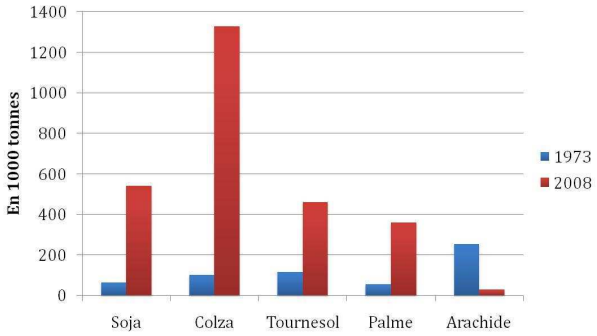
Les préconisations en matière de santé ont joué un grand rôle dans cette évolution et, une grande variété de produits destinés à la consommation humaine (margarines, produits de boulangerie, produits de confiserie, soupes et huiles de cuisine) ou à d'autres utilisations (savons, cosmétiques) est aujourd'hui fabriquée à partir d'huiles végétales.

Les huiles les plus consommées en France sont les huiles de colza, de soja et de tournesol (Figure 0b.) (http://www.cetiom.fr). L'huile de colza a connu une augmentation de sa production de 20% par an entre 1986 et 1993, associée à une progression importante de son utilisation à des fins alimentaires et non alimentaires. Depuis 1999, elle est la première huile consommée en France, et sa part de marché continue de progresser.

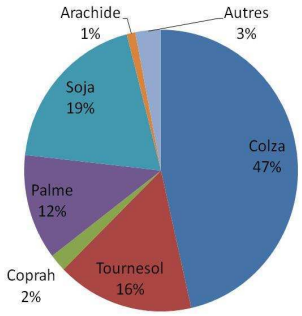
C'est avant tout la composition en acides gras qui différencie les huiles végétales (Figure 0c.) (http://www.prolea.com).

L'huile de colza est une source d'acide oléique (n-9 ou oméga 9) et d'acides gras indispensables, l'acide linoléique (n-6 ou oméga 6) et l'acide α-linolénique (n-3 ou oméga 3). L'huile de tournesol, est riche en acides gras polyinsaturés, en particulier en acide linoléique. Actuellement, deux types d'huiles de tournesol sont produites : celles issues de variétés conduisant à l'huile "classique" contenant plus de 60% d'acide linoléique, et celles issues de variétés conduisant à une huile de tournesol "oléique", composée de plus de 80% d'acide oléique et possédant une plus grande stabilité à l'oxydation et au chauffage. Polyvalentes, les huiles de tournesol sont

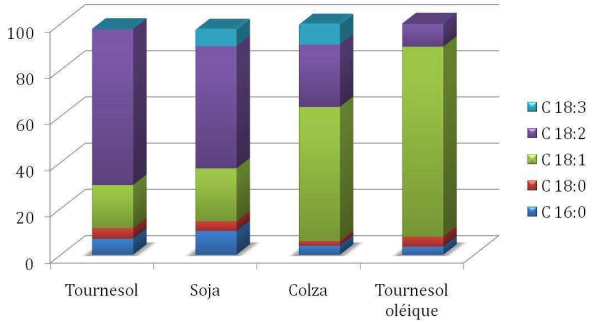
utilisées dans l'industrie alimentaire pour la fabrication des sauces et des assaisonnements, ainsi que pour la friture et de nombreuses autres préparations. La richesse en acide oléique de certaines variétés est particulièrement recherchée pour la friture en conditions industrielles. Enfin, l'huile de soja est à la fois riche en acides linoléique, oléique et α-linolénique.



a. Evolution de la consommation française en huiles végétales entre 1973 et 2008 (adapté de http://www.cetiom.fr).



b. Répartition de la consommation française en huiles végétales en 2008 (adapté de http://www.cetiom.fr).



c. Composition en acides gras des principales huiles végétales (adapté de http://www.prolea.com).

Figure 0. Evolution (a) et répartition (b) de la consommation française en huiles végétales. Composition des principales huiles consommées par les français (c).

Si les acides gras, sous forme de triglycérides, représentent la très grande majorité des constituants des huiles végétales, de nombreux composés quantitativement minoritaires possèdent également des fonctions importantes. Les huiles végétales peuvent en effet être sources d'antioxydants (tocophérols, acides phénoliques, flavonoïdes, co-enzyme Q_{10}), de phytostérols et de phospholipides, qui sont naturellement présents dans les graines oléagineuses (Garcia et al. 2003; Boskou 2006). Actuellement, les procédés industriels d'extraction et de raffinage des huiles ne permettent pas toujours d'extraire ces micro-constituants d'intérêt ou entraînent leur élimination. C'est dans ce contexte que le projet européen Optim'oils® (FP6 2006-2010), coordonné par l'ITERG et dans lequel AgroParisTech était partenaire, a proposé d'explorer une nouvelle voie de développement d'huiles "à visée

santé" qui, outre le fait d'avoir un profil en acides gras intéressant, seraient riches en ces micro-constituants (http://www.optimoils.com). Pour cela, des optimisations ou des modifications des procédés classiques d'obtention des huiles raffinées ont été réalisées (Ramli 2010).

Les nutritionnistes recommandent donc d'augmenter la part relative des acides gras polyinsaturés (AGPI) dans la ration alimentaire. Or, la présence dans les aliments de ces AGPI pose problème car ils sont particulièrement sensibles à l'oxydation, que ce soit pendant des traitements thermiques en conditions industrielles ou domestiques ou au cours de la conservation. L'oxydation des lipides est l'une des causes les plus importantes de détérioration de la qualité sensorielle et nutritionnelle des aliments. Les réactions qui interviennent dans ce phénomène sont nombreuses et complexes. Ceci s'explique par le nombre important des acides gras et triglycérides susceptibles de participer à l'oxydation, par la diversité des mécanismes d'oxydation, par la multitude de réactions de décomposition et de polymérisation qui interviennent et enfin par le nombre élevé d'agents pro-oxydants et/ou antioxydants qui modulent les vitesses de ces réactions. De nombreuses méthodes de mesure sont aujourd'hui disponibles pour suivre l'avancement des réactions d'oxydation des lipides. En revanche, même si les principaux mécanismes mis en jeu lors de l'oxydation sont relativement bien connus, il est quasiment impossible de prédire l'avancement de ces réactions en cas de changement d'un ou plusieurs facteurs (concentrations initiales en réactifs, température, présence d'inducteurs de l'oxydation, présence ou ajout d'antioxydants…). Il est donc souvent nécessaire de recommencer une nouvelle étude de stabilité oxydative pour tout nouveau couple produit/procédé. Disposer d'outils prédictifs serait une solution efficace pour gérer l'évolution et la stabilité de ces aliments dont la composition est si sensiblement affectée par ces modifications de température. Les modèles mathématiques sont utilisés dans des domaines d'application de plus en plus variés. Formalisant des phénomènes chimiques, biologiques ou physiques complexes, ils permettent d'évaluer la validité de certaines hypothèses et fournissent des éléments de compréhension ou de prédiction sur le phénomène étudié. Hors leurs vertus explicatives, ces modèles sont aussi, voire surtout, utilisés pour anticiper des événements ainsi que prédire l'évolution d'un système dans des conditions opératoires n'ayant pas été forcément testées expérimentalement.

Dans ce contexte, l'objectif principal de cette thèse est de construire un modèle mécanistique ayant pour objet de prédire l'avancement des réactions d'oxydation des acides gras insaturés en milieu continu dans des conditions expérimentales différentes (température, oxygénation, composition en acides gras et en antioxydants) ainsi que d'identifier les facteurs-clés de l'oxydation (facteurs limitants liés aux transferts ou à la réactivité).

L'ensemble de ce travail est présenté en trois chapitres. Le premier vise à établir l'état de l'art sur ce sujet. Il résume les mécanismes physico-chimiques et recense les valeurs des paramètres cinétiques des réactions associées à l'auto-oxydation des lipides, depuis l'initiation du phénomène jusqu'à la formation de composés volatils, en présence ou non d'antioxydants. Les principales méthodes utilisées pour suivre l'avancement de ces réactions d'oxydation dans les aliments sont également décrites afin d'établir leurs avantages et leurs limites.

La partie expérimentale fait l'objet du second chapitre. Outre la description du dispositif expérimental de chauffage et des méthodes "classiques" retenues pour suivre l'oxydation des lipides, une partie importante de ce chapitre est consacrée à la spectroscopie par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE). En effet, l'utilisation de cette méthode à des fins de suivi des espèces radicalaires lipidiques a été développée pour la première fois au laboratoire au cours de cette thèse.

Enfin, le troisième chapitre est consacré aux résultats de la thèse et à leur analyse. Une première partie de ce chapitre présente la construction d'un schéma réactionnel visant à détailler l'ensemble des réactions impliquées dans le phénomène d'auto-oxydation. Ensuite, un modèle mathématique permettant de décrire l'avancement des réactions d'oxydation est présenté. Un jeu d'hypothèses est proposé pour décrire la phénoménologie associée. Les résultats prédits par le modèle sont comparés aux résultats expérimentaux mesurés lors du chauffage de trois huiles végétales de grande consommation dans des conditions de température et d'oxygénation contrôlées. Une dernière partie est consacrée à la discussion et à l'identification des facteurs clés de l'oxydation.

I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1. OXYDATION DES LIPIDES : GENERALITES

Les lipides sont présents dans toutes les matières premières animales et végétales. Ils ont dans tous les aliments des fonctions nutritionnelles, sensorielles et technologiques (Gunstone 2004).
D'un point de vue nutritionnel, les lipides ont longtemps été considérés essentiellement par rapport à leur apport énergétique important. Pour prévenir les principales pathologies liées aux habitudes alimentaires (maladies cardio-vasculaires, diabète, obésité, cancers), la part recommandée des lipides dans l'apport énergétique chez l'adulte est aujourd'hui de 35 à 40 % (http://www.anses.fr). Cette fourchette permet d'une part d'assurer la couverture des besoins en acides gras polyinsaturés (AGPI) non synthétisables par l'homme – c'est-à-dire indispensables pour la croissance et les fonctions physiologiques - et d'autre part de prendre en compte la prévention de certaines pathologies. Ainsi pour l'acide linoléique C18:2, précurseur de la famille des oméga-6, l'apport nutritionnel conseillé (ANC) a été fixé à 4% de l'apport énergétique. Pour l'acide α-linolénique C18:3, précurseur de la famille des oméga-3, l'ANC a été fixé à 1% de l'apport énergétique avec un rapport acide linoléique/acide α-linolénique conseillé inférieur à 5. Pour l'acide docosahexaénoique C22:6 (DHA), un acide gras oméga 3 à longue chaine considéré comme indispensable car l'organisme humain ne peut en synthétiser en quantités suffisantes, un ANC a été fixé à 250 mg par jour pour les adultes (www.anses.fr 2011).
Les lipides sont également des vecteurs de vitamines liposolubles (A, D, E, K), de stérols (cholestérol, phytostérols) et de caroténoïdes. D'un point de vue technologique et sensoriel, les lipides participent à la structure des aliments, à leurs caractéristiques sensorielles (onctuosité, crémeux…) et à leur conservation microbiologique.

Compte tenu de l'ensemble de ces propriétés, les acides gras, et notamment les acides gras insaturés (Figure 1) sont des composants importants dans de nombreuses formulations alimentaires. Toutefois, ces acides gras insaturés sont sensibles à l'oxydation. L'oxydation des lipides est, en effet, l'une des causes principales de détérioration des aliments pendant leur stockage ou leur cuisson. Elle affecte les huiles et les graisses en l'état, les lipides constitutifs des aliments, altère les composants liposolubles tels que certaines vitamines et pigments et conduit également à des détériorations des constituants non lipidiques (Croguennec 2006).
L'oxydation des lipides pose particulièrement problème dans les aliments ou les matières premières contenant des AGPI, dans les aliments soumis à des traitements thermiques (friture) ou encore dans les aliments ayant une grande surface de contact avec l'oxygène. Elle survient sans exception dans tous les aliments contenant des lipides oxydables, aussi bien dans les produits à longue durée de conservation que dans les produits à conservation plus courte, et

doit être particulièrement prise en compte lors de la formulation des produits enrichis en acides gras polyinsaturés.

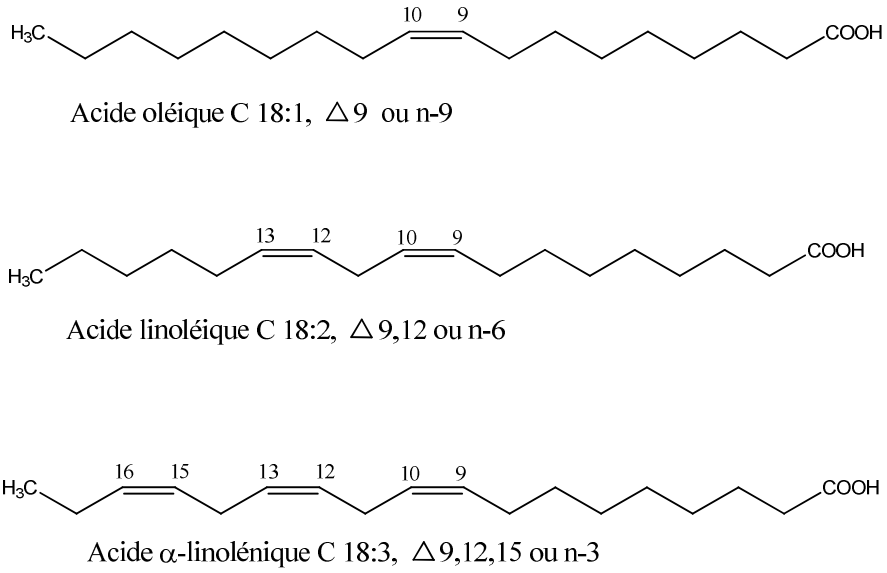


Figure 1. Structure et nomenclature des acides gras insaturés.

L'oxydation des lipides a des conséquences néfastes sur la fonctionnalité des matières premières, la qualité sensorielle et nutritionnelle des aliments, et engendre des pertes économiques. La conséquence la plus perceptible de l'oxydation des lipides est l'apparition d'une flaveur désagréable souvent qualifiée de rance, qui modifie les caractéristiques sensorielles de l'aliment, donc son appréciation par le consommateur. L'oxydation des lipides conduit également à une modification de la couleur et parfois de la texture, ainsi qu'à des pertes en nutriments et micronutriments essentiels (Choe & Min 2009). Enfin, l'oxydation des lipides peut entraîner la formation de produits d'oxydation potentiellement toxiques (oxycholestérol, malonaldéhyde, endoperoxydes, acroléine, polymères de peroxydes) (Stan 1992; Kim & Min 2008; Farhoosh & Esmaeilzadeh Kenari 2009).

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés est étudié depuis plus d'un demi-siècle (Labuza & Dugan 1971; Chan et al. 1982; Frankel 1984; Porter & Wujek 1984; Porter 1986; Hsieh et al. 1989). Les principaux mécanismes mis en jeu sont décrits dans la littérature et les cinétiques et les facteurs de variation globalement bien connus. L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant schématiquement en trois étapes : amorçage, propagation et terminaison. D'après Berset (1996), l'oxydation des acides gras insaturés peut résulter de trois voies réactionnelles, en fonction du milieu et des agents initiateurs : (i) l'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres ; (ii) l'oxydation enzymatique initiée par la lipoxygénase et (iii) la photooxydation, essentiellement sous UV et en présence de sensibilisateurs, catalysée par l'oxygène singulet (Figure 2) (Berset & Cuvelier 1996).

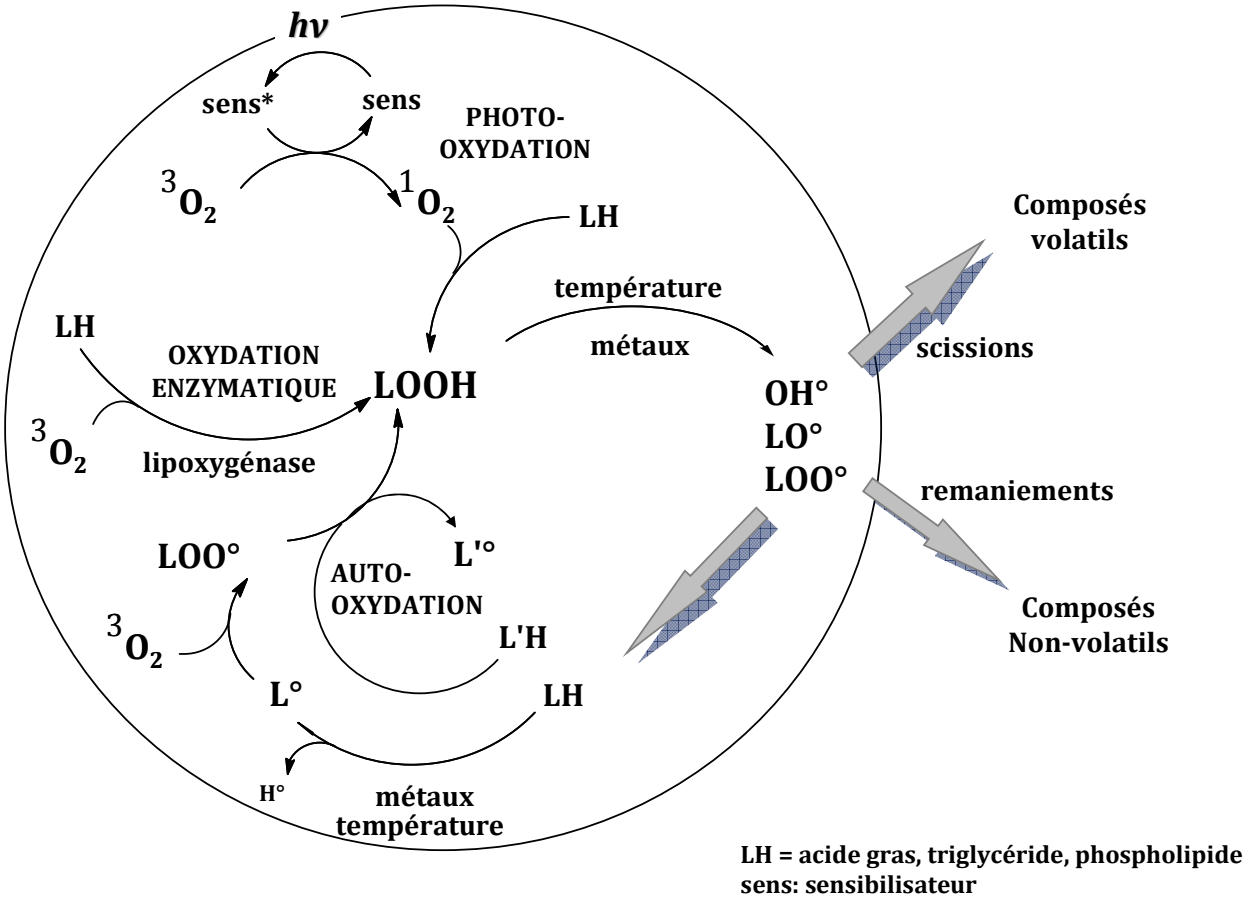


Figure 2. Schéma général des voies réactionnelles d'oxydation des acides gras insaturés (LH) (adapté de Berset & Cuvelier 1996)

Ces trois voies réactionnelles aboutissent à la formation d'une même famille de composés, les hydroperoxydes (LOOH). A température ambiante, ces produits sont incolores et inodores, mais étant instables, en particulier à hautes températures et en présence de métaux, ils se décomposent en d'autres composés dont certains, volatils, ont une note sensorielle de rancidité et des perceptions désagréables (Pokorny 2003).

Seul le phénomène d'auto-oxydation sera abordé dans le paragraphe I. 2, celui-ci étant le plus probable dans le cas de l'oxydation des lipides à haute température. Il s'agit d'un processus complexe qui aboutit à la formation de nombreux composés allant de la formation des produits primaires de type hydroperoxydes jusqu'à celle des produits terminaux (aldéhydes, composés cycliques, composés polaires et polymères).

Les facteurs qui influencent l'oxydation des lipides sont nombreux. Il s'agit d'une part de facteurs intrinsèques tels que la composition en acides gras insaturés (concentration et nombre d'insaturations), l'activité de l'eau, la présence de pro-oxydants (ions métalliques, hèmes, enzymes) ou d'antioxydants naturels (tocophérols, caroténoïdes, …), et d'autre part de facteurs environnementaux dont les principaux sont la température, la lumière et la pression partielle en oxygène (Hsieh et al. 1989).

Les acides gras libres ou estérifiés sous forme de mono- ou diglycérides vont s'oxyder à des vitesses différentes, et toujours plus rapidement que les triglycérides (Choe & Min 2006). Toutefois, c'est essentiellement le degré d'insaturation qui détermine la susceptibilité à l'oxydation des acides gras (Choe & Min 2006; Choe & Min 2009).
L'état physique (solide ou liquide) des triglycérides serait également susceptible d'influencer leur oxydation *via* des modifications locales des concentrations des substrats (acides gras insaturés) ou de l'action d'agents pro- ou anti-oxydants (Calligaris et al. 2005; Okuda et al. 2005; Calligaris et al. 2007).
Dans les triglycérides, l'oxydabilité des AGPI dépend également de leur position sur le glycérol et de la longueur de chaîne des acides gras voisins (Endo et al. 1997). Un triglycéride avec un AGI en position 1 ou 3 s'oxydera plus rapidement qu'un triglycéride avec un AGI gras insaturé en position 2.
Les systèmes émulsionnés présentent des cinétiques d'oxydation sensiblement différentes de celles rencontrées lors de l'oxydation d'une phase lipidique continue. La dispersion des lipides favorise leur oxydation *via* l'augmentation de la surface de contact entre les lipides oxydables et la phase aqueuse au sein de laquelle se solubilise et diffuse l'oxygène de l'air et dans laquelle sont dissous des agents pro-oxydants (Lethuaut et al. 2002).

Une élévation de température favorise l'oxydation des lipides. L'oxydation des lipides est d'autant plus rapide que la température est élevée : le départ des hydrogènes allyliques et la décomposition des hydroperoxydes en produits secondaires sont favorisés. Il est cependant à noter que la solubilité de l'oxygène diminue à haute température et un antagonisme existe donc entre ces deux facteurs d'influence (Croguennec 2006).

La concentration en oxygène (pression partielle en oxygène) dans l'espace environnant le produit et dans le produit lui-même influence la vitesse d'oxydation. Elle intervient également au niveau de la nature des produits secondaires formés par décomposition des hydroperoxydes. Son incidence porte donc à la fois sur la durée de conservation du produit et sur la nature des odeurs perçues quand le produit est oxydé.

Le pH intervient sur le mécanisme d'oxydation des lipides, principalement en modifiant la solubilité et l'activité des catalyseurs et des inhibiteurs de l'oxydation (Croguennec 2006).

L'activité de l'eau et l'état physique de l'eau influencent fortement la stabilité oxydative d'un aliment (Rahman et al. 2009). L'eau peut augmenter la vitesse d'oxydation en augmentant la mobilité des réactants mais peut aussi ralentir cette vitesse en diluant les catalyseurs d'oxydation, tels que les métaux, et donc en retardant la décomposition des hydroperoxydes.

Certaines molécules naturellement présentes ou ajoutées dans les aliments exercent une action inhibitrice sur le phénomène d'oxydation, soit en limitant la propagation des radicaux lipidiques, soit en contrôlant l'activité des catalyseurs d'oxydation comme les métaux, les enzymes ou les photosensibilisateurs. Ainsi, elles retardent ou ralentissent la décoloration ou l'apparition de flaveurs indésirables dues à l'oxydation des lipides (Ladikos & Lougovois 1990; Croguennec 2006). Les mécanismes d'action des molécules antioxydantes seront détaillés dans le paragraphe I. 3.

Tous ces facteurs affectent de manière importante l'oxydation d'un aliment et il n'est pas facile de différencier l'effet individuel de chacun de ces facteurs puisque des interactions existent entre eux (Choe & Min 2006; Choe & Min 2009).

La complexité des réactions mises en jeu et des facteurs susceptibles de moduler ces mécanismes font que, malgré les nombreux travaux dont elle a fait l'objet, la connaissance des mécanismes réactionnels de l'oxydation des lipides reste incomplète (Porter et al. 1995; Pokorny 2003; Gunstone 2004; Frankel 2005). Un état de l'art du mécanisme d'auto-oxydation des lipides sera réalisé dans le paragraphe suivant, avec l'objectif de développer une vision exhaustive de ce phénomène. L'accent sera porté sur certaines contradictions mises en évidence dans la littérature, qui ont un impact sur l'évolution des voies réactionnelles.

I. 2. MECANISMES D'AUTO-OXYDATION DES LIPIDES

I. 2. 1. Mécanisme général

L'auto-oxydation des lipides est connue comme étant un ensemble de réactions radicalaires en chaîne qui se déroulent en trois étapes : l'initiation, la propagation et la terminaison (Labuza & Dugan 1971; Chan et al. 1982; Frankel 1998; Kamal-Eldin 2003; Gunstone 2004; Choe & Min 2006). Le premier schéma classique du phénomène d'auto-oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) a été proposé par Labuza en 1971 (Figure 3). Même s'il montre les principales phases de l'oxydation des AGPI, il reste très incomplet et son utilisation rend impossible l'explicitation des phénomènes complexes secondaires.

Initiation $LH \longrightarrow L^{\bullet} +^{\bullet} H$

Propagation

$L^{\bullet} + O_2 \longrightarrow LOO^{\bullet}$

$LOO^{\bullet} + L'H \longrightarrow LOOH + L'^{\bullet}$

Terminaison

$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \longrightarrow produits\ stables$

$LOO^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow produits\ stables$

$L^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow produits\ stables$

Figure 3. Schéma général de l'auto-oxydation des acides gras insaturés LH proposé par Labuza en 1971.

Au fur et à mesure des années, grâce au développement des méthodes d'analyses chromatographiques et spectroscopiques, des réactions supplémentaires ont été ajoutées à ce schéma afin d'expliquer certains aspects mécanistiques du phénomène d'oxydation (Figure 4).

Initiation $LH \longrightarrow L^{\bullet} +^{\bullet} H$

$LOOH \longrightarrow LO^{\bullet} +^{\bullet} OH$

$LH + R^{\bullet} \longrightarrow L^{\bullet} + RH$, où $R^{\bullet} = LO^{\bullet}\ ou\ LOO^{\bullet}$

Propagation

$L^{\bullet} + O_2 \longrightarrow LOO^{\bullet}$

$LOO^{\bullet} + L'H \longrightarrow LOOH + L'^{\bullet}$

Terminaison

$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \longrightarrow produits\ stables$

$LOO^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow produits\ stables$

$L^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow produits\ stables$

Figure 4. Schéma de l'auto-oxydation des acides gras insaturés LH (d'après Kamal Eldin et al. 2003).

Cependant, ce nouveau schéma reste insuffisant pour expliquer les cinétiques d'oxydation observées expérimentalement car il est beaucoup trop simplifié et ne prend pas en compte la multitude de voies réactionnelles. L'orientation du schéma vers une voie réactionnelle particulière va dépendre de la composition en acides gras insaturés et de leurs concentrations, des mécanismes d'initiation et des catalyseurs ou inhibiteurs présents, de la température, de la pression partielle en oxygène, mais aussi du niveau d'instabilité des composés formés qui peuvent générer des produits secondaires.

Tenant compte de la complexité du phénomène, l'auto-oxydation des lipides est généralement étudiée dans des systèmes modèles pour lesquels on suit par exemple le changement de la composition en acides gras insaturés ou la formation des produits d'oxydation dans des conditions expérimentales définies. La consommation d'oxygène par un acide gras insaturé (AGI) jouera alors un rôle primordial dans l'avancement des réactions d'oxydation (Figure 5) et dans la compréhension des étapes élémentaires de l'auto-oxydation des lipides insaturés (Belitz et al. 2009).

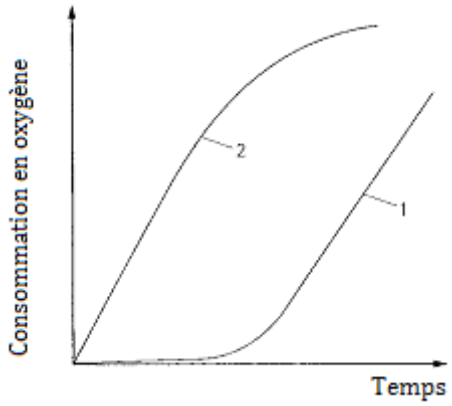


Figure 5. Cinétique d'auto-oxydation d'un acide gras insaturé mesurée par la consommation en oxygène, en présence d'une concentration en pro-oxydant faible (courbe 1) ou élevée (courbe 2) (d'après Belitz et al. 2009).

Le cas 1 de la Figure 5 met en évidence une phase de latence appelée « période d'induction » typique de l'auto-oxydation. Lorsque cette période expire, une forte augmentation de la vitesse de la réaction est enregistrée. Lorsque la concentration en pro-oxydants est importante, on n'observe en revanche pas de période d'induction (Figure 5, cas 2).

La durée de la période d'induction et la vitesse d'oxydation dépendent, entre autres, de la nature des acides gras : plus le nombre d'insaturations sur les acides gras est élevé, plus la vitesse relative d'oxydation augmente et la période d'induction diminue (Tableau 1).

D'après Frankel (1998), dans des systèmes purs sans amorceur ajouté, les vitesses relatives d'oxydation des esters méthyliques des acides gras suivent les rapports de réactivités suivants : 1 (C 18 :1)/40 (C 18 :2)/ 98 (C 18 :3) (Holman & Elmer 1947; Frankel 1998).

Tableau 1. Durée des périodes d'induction et des vitesses relatives d'oxydation pour différents acides gras : acide oléique (C 18 :1), acide linoléique (C 18 :2) et acide α-linolénique (C 18 :3) (d'après Belitz et al. 2009).

Acide gras	Période relative d'induction (h)	Vitesse relative d'oxydation
C 18 :0	-	1
C 18 :1 (Δ9)	82	100
C 18 :2 (Δ9, 12)	19	1200
C 18 :3 (Δ9, 12, 15)	1,34	2500

I. 2. 2. Etapes fondamentales de l'auto-oxydation

I. 2. 2. 1. Initiation

L'initiation du phénomène d'oxydation correspond à la formation des radicaux lipidiques libres. Le processus d'initiation mis en jeu dans les systèmes sujets à l'oxydation n'est pas toujours bien identifié et fréquemment, dans les schémas de réactions, il est représenté par le symbole ''X'' ou ''?''.

Plusieurs voies d'initiation du phénomène d'oxydation sont aujourd'hui connues. L'initiation **primaire** des radicaux libres correspond à l'initiation de la chaîne radicalaire par une action directe sur la molécule d'acide gras insaturé. Un atome d'hydrogène labile situé en α d'une double liaison de la chaîne aliphatique insaturée est arraché et un radical libre stabilisé par résonance est formé (Pokorny 2003). Cette réaction a lieu à des températures élevées qui ont une énergie suffisante pour rompre les liaisons C-H et former une variété de radicaux alkyles (Nawar 1969).

$$LH \rightarrow L^{\bullet} + H^{\bullet} \qquad (1)$$

Le départ de l'hydrogène est également facilité par la présence d'ions métalliques.

$$LH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L^{\bullet} + H^{+} + Me^{n+} \qquad (2)$$

Cette réaction est exothermique et dans le cas de l'ester méthylique de l'acide linoléique, l'énergie d'activation est de 63 $kJ.mol^{-1}$.

L'arrachement de l'atome hydrogène est assez spécifique et survient préférentiellement au niveau des hydrogènes allyliques pour lesquels l'énergie d'activation de la liaison C-H est la plus faible (Tableau 2).

Par exemple, l'élimination d'un hydrogène à partir d'un acide gras saturé nécessite une énergie d'environ 419 $kJ.mol^{-1}$ (Kerr 1966). A partir d'un acide gras insaturé, cette énergie est différente en fonction du positionnement de l'hydrogène. Les hydrogènes en position 11 (Figure 1) de

l'acide linoléique sont ceux qui sont les plus faciles à arracher en raison de la présence d'une double liaison de part et d'autre du CH_2. L'énergie nécessaire n'est que de 272 kJ.mol^{-1} (Kerr 1966).

Tableau 2. Energie nécessaire pour arracher un atome d'hydrogène d'une chaîne aliphatique (d'après Kerr 1966).

	Energie de liaison (kJ.mol^{-1})
H-CH=CH_2	431
H-CH_2-CH_2-CH_3	419
H-CH_2-CH=CH_2	356
R-HCH-CH=CH-CH_2-CH_3	322
R(CH_2=CH)-HCH-CH_2	310
R-CH=CH-HCH-CH=CH-CH_3	272
ROOH	377

Est indiqué en bleu le site préférentiel d'arrachement de l'hydrogène.

L'initiation **secondaire** des radicaux libres correspond à l'initiation de la chaîne radicalaire à partir des molécules d'hydroperoxydes initialement présentes dans le système. Les hydroperoxydes sont des composés instables qui, à haute température, se décomposent, par scission homolytique, en deux types de radicaux libres : les radicaux peroxyles (LOO•) (réaction 3) et les radicaux alkoxyles (LO•) (reaction 4). Ceux-ci peuvent à leur tour propager l'oxydation ou subir des réarrangements (rupture, cyclisation, polymérisation) (Choe & Min 2006; Choe & Min 2009).

$$LOOH \rightarrow LOO^{\bullet} + H^{\bullet} \quad (3)$$

$$LOOH \rightarrow LO^{\bullet} + HO^{\bullet} \quad (4)$$

L'énergie d'activation de la liaison O-O (157 kJ.mol^{-1}) est plus basse que celle de la liaison O-H (377- 463 kJ.mol^{1}) (Kerr 1966; Bensasson et al. 1993) (Tableaux 2 et 3).

Tableau 3. Energies de dissociation homolytique rencontrées dans les lipides (adapté de Bensasson et al. 1993).

Liaison	*Energie de liaison (kJ.mol^{-1})*
C=C	612
O-H	463
C-H	412
C-O	360
C-C	348
O-O	157

Un mécanisme bimoléculaire est également possible lorsque la concentration en hydroperoxydes est très élevée (réaction 5) (Gordon 1990).

$$2\ LOOH \rightarrow LOO^{\bullet} + LO^{\bullet} + H_2O \quad (5)$$

La scission des hydroperoxydes peut être catalysée par des métaux comme le fer et le cuivre, capables d'intervenir sous leurs différentes formes (valences 2 et 3 pour le fer et valences 1 et 2 pour le cuivre). L'énergie d'activation de ces réactions n'est alors plus que de 60 $kJ.mol^{-1}$.

$$LOOH + Me^{(n+1)+} \rightarrow LOO^{\bullet} + H^{+} Me^{n+} \quad (6a)$$

$$LOOH + Me^{n+} \rightarrow LO^{\bullet} + OH^{-} + Me^{(n+1)+} \quad (6b)$$

Si on considère la présence systématique des peroxydes dans les milieux lipidiques naturels, on pourrait en conclure que la décomposition des hydroperoxydes est la principale source d'initiation de l'oxydation des lipides.

I. 2. 2. 2. Propagation

I. 2. 2. 2. 1. Propagation *via* les radicaux L• et LOO•

Le radical alkyle (L•) produit lors de l'initiation primaire se stabilise, pour les AGPI, par réarrangement intramoléculaire en formant un diène conjugué.
L'oxygène triplet $^3O_2$, dissous dans la phase lipidique ou présent dans l'atmosphère, agit au niveau des extrémités du système 1-4 pentadiène pour former un radical peroxyle (LOO•).

$$L^{\bullet} + {}^3O_2 \rightarrow LOO^{\bullet} \quad (7)$$

La réaction directe des acides gras insaturés LH avec la molécule d'oxygène triplet est très improbable puisque l'énergie d'activation de la réaction est très forte (Gordon 1990). En revanche, la réaction d'un radical d'acide gras avec une molécule d'oxygène est très rapide lorsque la teneur en oxygène n'est pas limitante. Sa constante de vitesse est de l'ordre de $3 \cdot 10^8$ $M^{-1}.s^{-1}$ (Antunes et al. 1996; Denisov 2000; Tavadyan et al. 2007). Le radical peroxyle formé LOO• cherche à stabiliser sa structure par arrachement d'un atome d'hydrogène soit sur une autre chaîne insaturée d'acide gras (L'H) (réaction 8), soit sur une molécule d'hydroperoxyde (L'OOH) (réaction 9).

$$LOO^{\bullet} + L'H \rightarrow LOOH + L'^{\bullet} \quad (8)$$

$$LOO^{\bullet} + L'OOH \rightarrow LOOH + L'OO^{\bullet} \quad (9)$$

Selon l'AGPI considéré, le nombre d'hydroperoxydes formés varie (Frankel et al. 1977; Frankel & Bessler 1979; Frankel 1998). Par exemple, à partir de l'acide oléique, l'initiation provoque le départ d'un hydrogène en α de la double liaison, sur les carbones 8 ou 11, et génère deux radicaux allyliques. L'oxygène se fixe alors sur un des deux carbones terminaux de ces radicaux

intermédiaires pour former des 8-, 9-, 10- et 11- monohydroperoxydes oléiques (Tableau 4) (Figure 6).

Tableau 4. Distribution relative (%) des fonctions hydroperoxydes sur les acides gras insaturés (adapté de Frankel 1977 ; Frankel et al. 1979 ; Frankel 1998).

	8-OOH	*9-OOH*	*10-OOH*	*11-OOH*	*12-OOH*	*13-OOH*	*14-OOH*	*16-OOH*
18 :1 (Δ9) auto-oxydation	26,4	24,2	22,8	26,6				
18 :2 (Δ9, 12) auto-oxydation	1	49	traces		traces	49	1	
18 :3 (Δ9, 12, 15) auto-oxydation		33,4			10,2	12,5		43,9

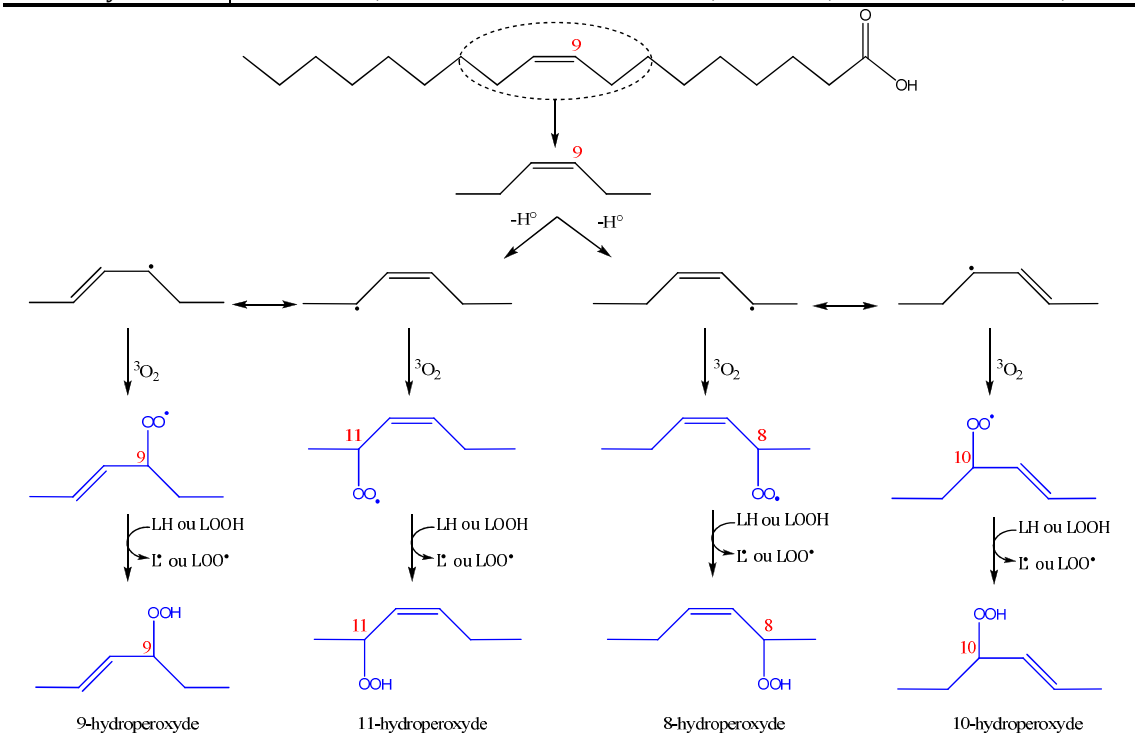


Figure 6. Mécanisme de formation des 8-, 9-, 10- et 11- monohydroperoxydes à partir de l'acide oléique (adapté de Frankel 1998).

Dans le cas de l'acide linoléique, le départ d'hydrogène se fait principalement sur le carbone 11 et génère un radical pentadiényle. La fixation de l'oxygène se fera ensuite en positions 9 et 13 (Figure 7) (Tableau 4). Dans le cas de l'acide α-linolénique, l'arrachement de l'hydrogène se fait essentiellement au niveau des carbones 11 et 14, avec une fixation d'oxygène en positions 9, 12, 13 et 16 (Figure 8) (Tableau 4).

Compte tenu des énergies nécessaires pour arracher un atome d'hydrogène d'une chaine aliphatique, le départ de l'hydrogène dans le cas des acides linoléique et α-linolénique serait également possible à partir des autres carbones situés en α d'une double liaison (carbones 8 et 14 pour l'acide linoléique et carbones 8 et 17 pour l'acide α-linolénique), mais ce mécanisme est nettement moins favorisé que ceux indiqués dans les schémas proposés.

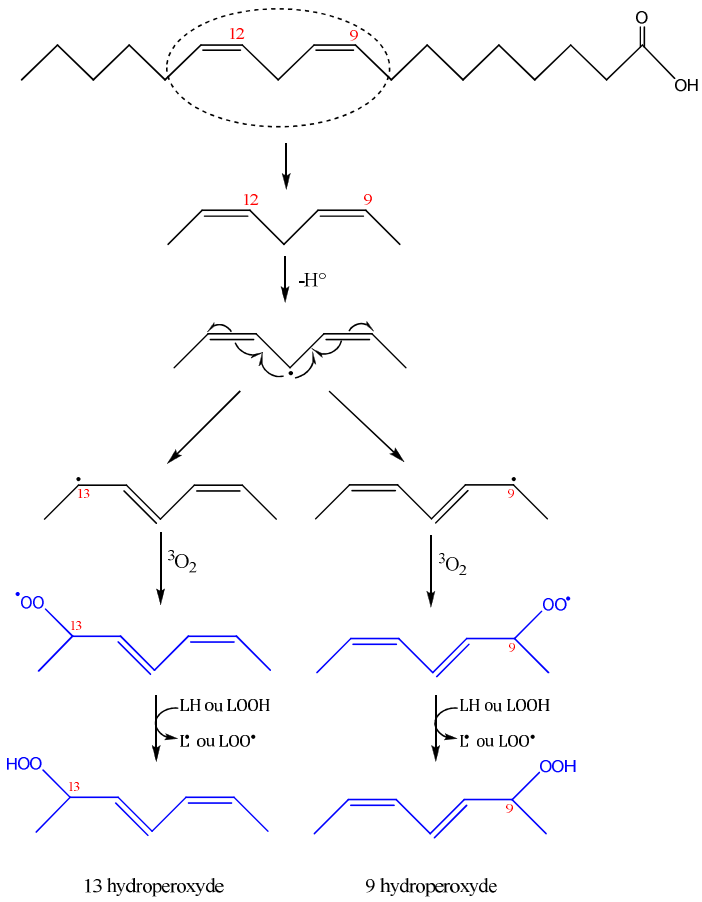


Figure 7. Mécanisme de formation des 9- et 13- monohydroperoxydes à partir de l'acide linoléique (adapté de Frankel 1998).

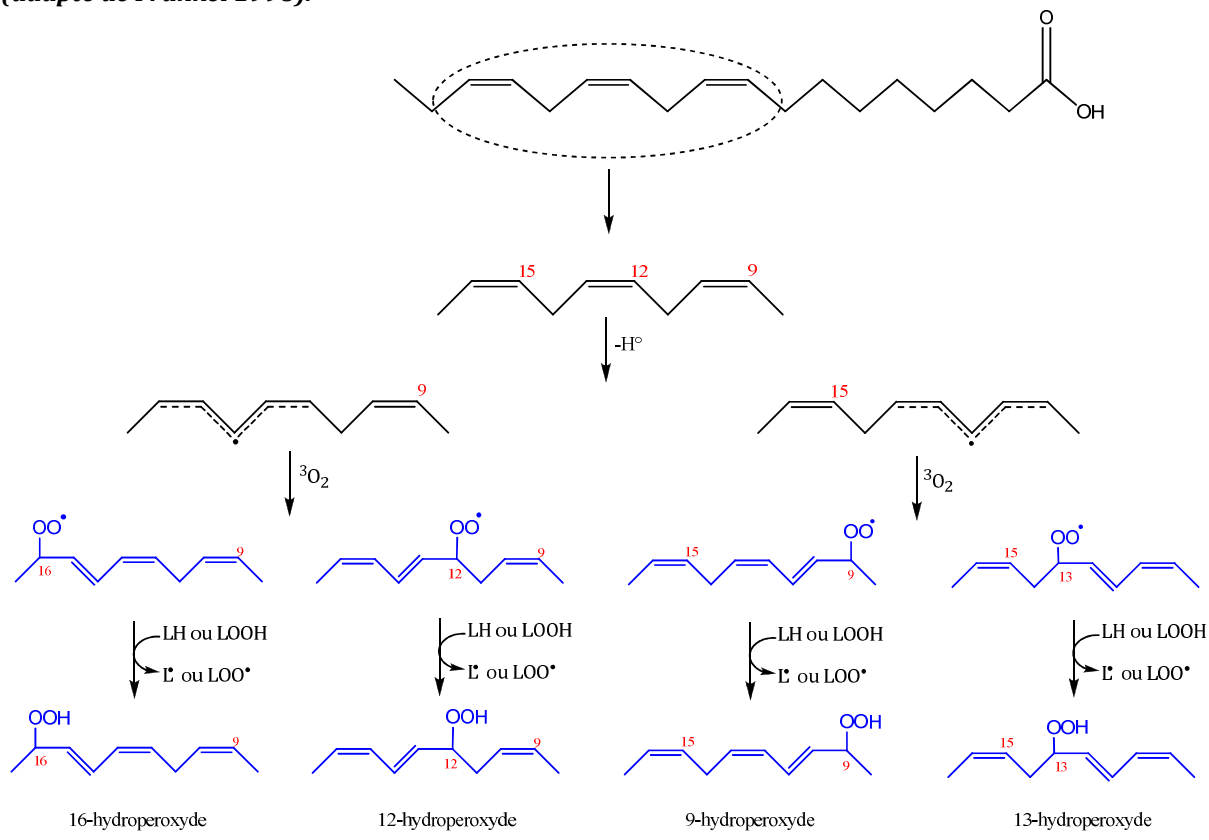


Figure 8. Mécanisme de formation des 9-, 12-, 13- et 16- monohydroperoxydes à partir de l'acide α-linolénique (adapté de Frankel 1998).

Le schéma classique du phénomène d'oxydation définit le processus de propagation comme ayant lieu exclusivement par arrachement d'hydrogène. En réalité, l'arrachement de l'atome d'hydrogène par un radical peroxyle LOO• (réaction 8) est une réaction très lente avec une constante de vitesse de l'ordre de 36-62 $M^{-1}.s^{-1}$ (Howard & Ingold 1967; Gebicki & Bielski 1981), et sélective, avec préférence pour les atomes d'hydrogène fixés sur un carbone dont l'énergie d'activation de la liaison C-H est la plus faible (Tableau 2). Par conséquent, des voies alternatives, avec des vitesses de réaction plus élevées, peuvent se produire et orienter différemment les réactions d'oxydation et donc les produits formés. Des réactions de scission, d'addition et de cyclisation entrent alors en compétition avec les réactions 8 et 9 pour permettre aux radicaux lipidiques de générer d'autres espèces radicalaires et produits d'oxydation.

L'arrachement de l'atome d'hydrogène par un LOO• est favorisé par les températures élevées. Typiquement, à température ambiante, la constante de vitesse d'arrachement de l'hydrogène par un radical peroxyle est inférieure à 1 $M^{-1}.s^{-1}$ tandis qu'à 65 °C, elle est égale à 10^3-10^4 $M^{-1}.s^{-1}$ (Ingold 1969). Lorsqu'un atome d'hydrogène n'est pas immédiatement disponible, les radicaux LOO• peuvent se réarranger et former un composé cyclique (Chan et al. 1980) (Figure 9). Ceci est possible dans le cas des acides gras à trois doubles liaisons ou plus. Cette cyclisation a lieu par l'addition 1,3 du radical peroxyle sur la double liaison voisine en position Z. L'addition de l'oxygène génère un second radical peroxyle sur la molécule, qui va ensuite arracher un hydrogène à un autre acide gras (L' H) pour former un époxyde (Figure 9).

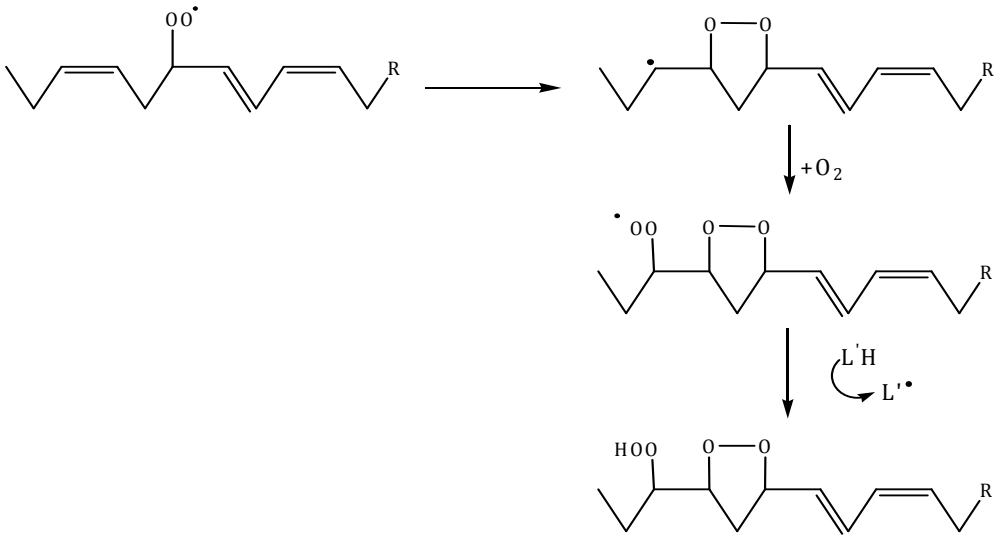


Figure 9. Cyclisation des radicaux peroxyles par addition 1,3 et réactivité des produits formés (d'après Chan et al. 1980).

Cette réaction de cyclisation est rapide (10^3 s^{-1}) et entre donc en compétition avec les réactions d'initiation, particulièrement dans le cas des acides gras possédant trois doubles liaisons ou plus (Ingold 1969; Porter et al. 1981; Porter et al. 1995).

Une cyclisation 1-5 peut également se produire pour former des endohydroperoxydes bicycliques (Figure 10) qui sont des précurseurs du produit d'oxydation secondaire typique, le malondialdéhyde (Frankel 2005).

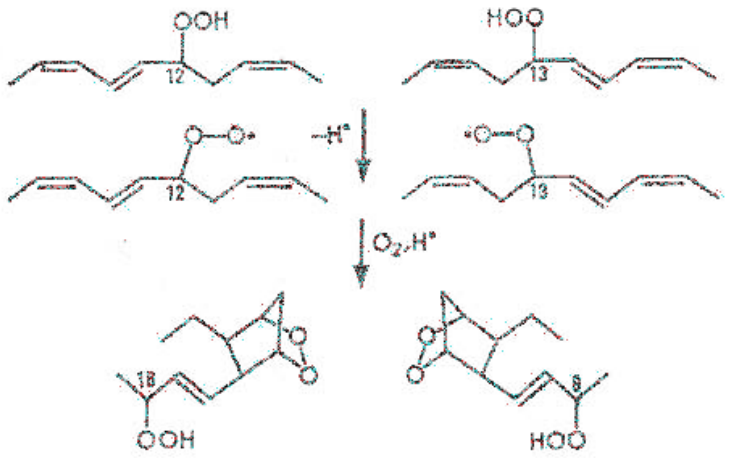


Figure 10. Cyclisation 1,5 des hydroperoxydes et formation d'endohydroperoxydes bicycliques (d'après Frankel 2005).

I. 2. 2. 2. 2. Propagation *via* les radicaux LO•

Le transfert des électrons entre les molécules se fait donc toujours par arrachement d'un atome d'hydrogène. Cependant, les LOO• ne sont pas les seuls radicaux propagateurs de l'oxydation (paragraphe I.2.2.2.1) puisque les radicaux LO• interviennent également. Les radicaux alkoxyles LO• se forment seulement par dégradation des hydroperoxydes (initiation secondaire). Ils sont beaucoup plus réactifs que les LOO• et dès que les hydroperoxydes commencent à se dégrader, les radicaux alkoxyles propagent le phénomène d'oxydation en arrachant un atome d'hydrogène à la première molécule qu'ils rencontrent (réactions 10 et 11). Ils forment alors une large gamme de constituants volatils ou non volatils. C'est une réaction très rapide (10^7 $M^{-1}.s^{-1}$) et moins sélective que les réactions 8 et 9.

$$LO^{\bullet} + L'H \rightarrow LOH + L'^{\bullet} \quad (10)$$

$$LO^{\bullet} + L'OOH \rightarrow LOH + L'OO^{\bullet} \quad (11)$$

Lorsqu'un atome d'hydrogène n'est pas immédiatement disponible, les radicaux LO• peuvent conduire à la formation d'un composé cyclique. L'addition 1,2 forme une molécule possédant une fonction époxyde et un radical époxy-allylique (Figure 11) (Schaich 2005).

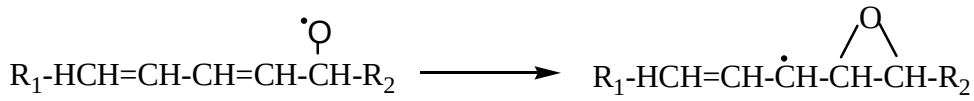


Figure 11. Formation d'un époxyde à partir d'un radical alkoxyle (d'après Schaich 2005).

La cyclisation des radicaux LO• est dominante dans des solvants aprotiques (incluant des lipides purs) (Van Sickle et al. 1967) ou fortement dispersés sur une surface (Wu et al. 1977), à température ambiante (Acott & Beckwith 1964; Dix & Marnett 1981; Bors et al. 1987) et dans le cas d'une pression partielle en oxygène faible (Van Sickle et al. 1967). La température a relativement peu d'effet sur la cyclisation parce que l'énergie d'activation nécessaire à ce réarrangement moléculaire est faible. Ces réactions ont donc lieu dans les lipides purs à température ambiante, mais une fois que la température augmente, ce sont les réactions de scission et d'arrachement d'hydrogène qui sont favorisées (Acott & Beckwith 1964; Dix & Marnett 1981).

La scission des radicaux alkoxyles consiste en la rupture de la liaison C-C en α du carbone portant la fonction alkoxyle. Elle conduit à la formation des composés carbonylés, typiquement des aldéhydes, alcanes, cétones, alcools, acides, des lactones et des radicaux lipidiques. Un schéma simplifié de la scission est proposé sur la Figure 12 (Schaich 2005).

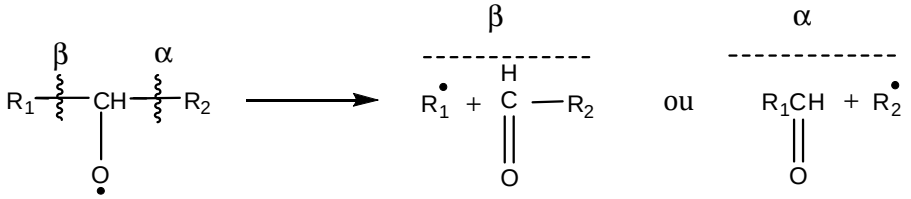


Figure 12. Scission des radicaux alkoxyles (d'après Schaich 2005).

Les schémas de scission des radicaux LO• pour les différents AGPI seront détaillés dans le paragraphe I. 2. 2. 3 « Décomposition des hydroperoxydes ». Certains des radicaux formés *via* la scission vont se réarranger pour former des produits non-radicalaires et d'autres vont propager le phénomène d'oxydation. Les fragments insaturés, en particulier ceux possédant une ou plusieurs double(s) liaison(s), sont sensibles à l'oxydation et vont également contribuer à sa propagation.

I. 2. 2. 3. Décomposition des hydroperoxydes

Les hydroperoxydes (LOOH) sont les premiers intermédiaires réactionnels suffisamment stables pour être suivis par des méthodes « classiques » d'analyse chimique. Composés sans goût ni odeur, ils sont relativement stables à température ambiante. En revanche, en présence de métaux ou aux températures élevées, ils se décomposent pour former des composés secondaires d'oxydation, produits responsables de la dégradation des qualités olfactives et gustatives des aliments (Hiatt et al. 1968; Schaich 1992; Choe & Min 2006).

Pour récapituler, les métaux peuvent entraîner la scission de la liaison O-O des hydroperoxydes et générer ainsi des radicaux. Les métaux réducteurs, tels que Fe^{2+} et Cu^{+}, forment des radicaux alkoxyles LO• et des ions hydroxydes (OH^{-}) tandis que les métaux oxydants, tels que Fe^{3+} et Cu^{2+}, donnent des radicaux peroxyles LOO• et des ions H^{+} (réactions 6a et 6b décrites précédemment). Les hydroperoxydes sont également décomposés par rupture de la liaison O-O *via* la température (réaction 4) pour former des radicaux alkoxyles LO• et hydroxyles •OH. Une fois le radical alkoxyle produit, la réaction se poursuit par rupture de la chaîne aliphatique d'un côté ou de l'autre du carbone lié au radical (Figure 12). Le fragment situé du côté du CH_3 terminal de l'hydroperoxyde possède une masse moléculaire faible et est généralement volatil. En revanche, la partie de l'hydroperoxyde qui reste liée au squelette triglycéridique peut subir d'autres réactions d'oxydation, de cyclisation ou de polymérisation (Ladikos & Lougovois 1990; Choe & Min 2006).

De nombreux composés volatils sont issus de l'oxydation des lipides. La nature des produits volatils formés dépend de la structure de l'acide gras initial, notamment de son degré d'insaturation, de la nature de l'hydroperoxyde formé, de la localisation de la rupture homolytique et des autres espèces réactives présentes lors de la décomposition (oxygène, acides gras, hydroperoxydes). De nombreuses fonctions chimiques sont représentées, parmi lesquelles on trouve des alcanes, des alcènes et des alcynes, des furanes substitués, des alcools, des cétones et des aldéhydes saturés et insaturés. La formation des composés secondaires suite à la scission des hydroperoxydes des acides oléique, linoléique et α-linolénique est rapportée dans la Figure 13 et les principaux composés formés sont résumés dans le Tableau 5 (Grosch 1987; Frankel 1998; Kim & Min 2008).

Tableau 5. Produits secondaires d'oxydation des acides gras insaturés (d'après Kim & Min 2008).

Classe	*Acide oléique*	*Acide linoléique*	*Acide α-linolénique*
Aldéhydes	Heptanal Octanal Nonanal 2-Décénal 2-Undécénal Décanal	Pentanal Hexanal Heptanal 2-Hepténal Octanal 2-Octénal 2-Nonénal 3-Nonénal 2,4-Décadiénal 4,5-Epoxy-2-décénal	Propanal Butanal 2-Buténal 2-Penténal Hexanal 2-Hexénal 2-Hepténal 2,4-heptadiénal 3,6-Nonadiénal Décatriénal
Acides carboxyliques	Acide heptanoïque Acide octanoïque Acide 8-oxooctanoïque Acide 9-oxononanoïque Acide 10-oxodécanoïque Acide 10-oxo-8-décenoïque Acide 11-oxo-9-undécenoïque	Acide heptanoïque Acide octanoïque Acide 8-oxooctanoïque Acide 9-oxononanoïque Acide 10-oxodécanoïque Acide 12-oxo-10-décanoïque Acide 9,11-dodècadiénoïque	Acide heptanoïque Acide octanoïque Acide nonanoïque Acide 9-oxononanoïque Acide 10-oxodécanoïque Acide 12-oxo-9-undécenoïque
Alcools	1-Heptanol, 1-octanol	1-Pentanol, 2-octen-1-ol	2-Pentén-1-ol
Hydrocarbures	Heptane, Octane	Pentane	Ethane, Pentane

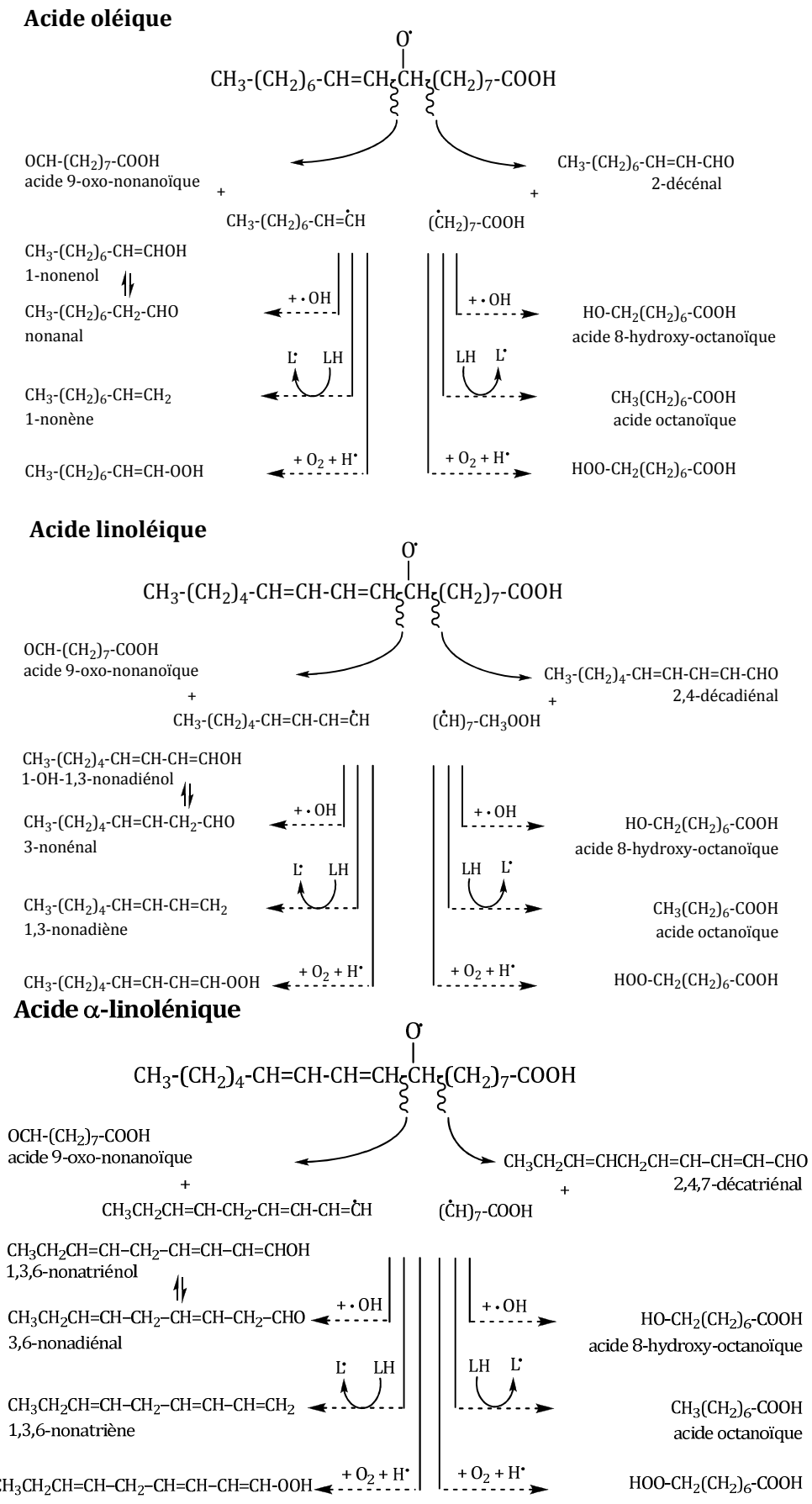


Figure 13. Formation des composés secondaires d'oxydation à partir des monohydroperoxydes des acides oléique, linoléique et α-linolénique (adapté de Grosch 1987 ; Frankel 1998).

Comme pour toutes les réactions chimiques, la température a un effet marqué sur la vitesse et les voies de décomposition des hydroperoxydes. La vitesse de décomposition des LOOH augmente considérablement à partir de 50-60 °C (Holman & Elmer 1947; Timms & Roupas 1982). D'après Chan et al. (1976), les hydroperoxydes commencent à se décomposer à 50 °C et se décomposent spontanément au-dessus de 150 °C (Chan et al. 1976). Compte tenu des différentes énergies d'activation associées à ces réactions, la distribution des hydroperoxydes n'est pas la même à 50-70 °C et à température ambiante (Simic et al. 1992). Les réactions monomoléculaires (réactions 3 et 4) sont très température dépendantes et leur vitesse augmente directement avec la température, tandis que les réactions bimoléculaires (réaction 5) y sont moins sensibles (Hiatt et al. 1968; Labuza & Dugan 1971; Chan et al. 1976).

I. 2. 2. 4. Terminaison

Le terme "Terminaison" est en général utilisé pour indiquer qu'un processus arrive à sa fin. Dans le cas de l'oxydation, la terminaison reste un concept flou car d'un point de vue pratique, le phénomène d'oxydation ne s'arrête probablement jamais. La terminaison d'un radical spécifique peut aboutir à la formation d'un produit non-radicalaire. Mais si cette réaction a lieu suite à un arrachement d'hydrogène ou encore suite à un réarrangement, un autre radical va être formé et donc la chaîne des réactions radicalaires continue. Le phénomène d'oxydation ralentit lorsque l'arrachement d'hydrogène dépasse la vitesse de formation de nouvelles chaines de réactions, mais il serait difficile d'arrêter une réaction radicalaire en chaîne. Le terme de "terminaison" se réfère alors à un radical spécifique et non pas à la réaction globale (Schaich 2005).
Généralement, la phase de terminaison correspond à la recombinaison entre les espèces radicalaires pour former des produits non radicalaires, mettant ainsi fin aux cycles réactionnels. Le nombre de recombinaisons possibles entre radicaux pourrait être illimité. Cependant, les recombinaisons ne sont pas aléatoires et des recombinaisons favorables ont été identifiées (réactions 12, 13 et 14) (Frankel 1998).

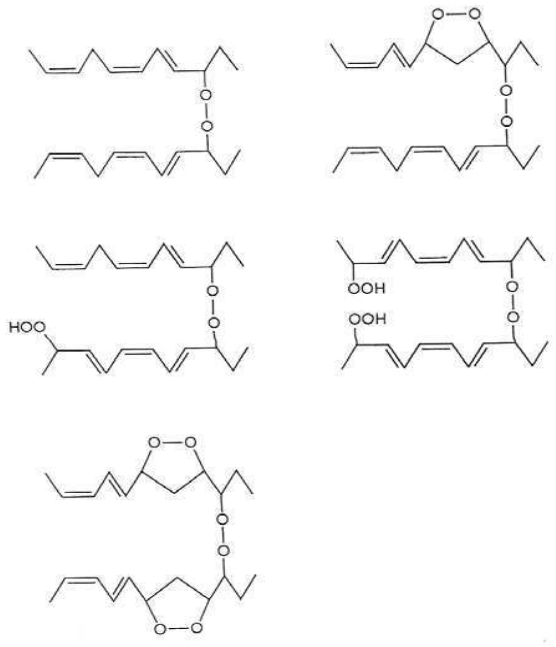
$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \rightarrow$ produits stables (12)

$LOO^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow$ produits stables (13)

$L^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow$ produits stables (14)

Des composés de plus haut poids moléculaire sont ainsi formés. Il peut s'agir des dimères ou des oligomères dont les ponts sont constitués de fonctions éthers ou peroxydes. L'énergie d'activation de ces réactions est faible, mais la limite provient de la probabilité de rencontre des radicaux entre eux. Ces réactions interviennent rapidement lorsque les huiles sont chauffées à haute température puisque les hydroperoxydes se décomposent et augmentent considérablement la concentration en radicaux libres (Frankel 1998).

La température a un effet important sur les réactions de terminaison en jouant sur la disponibilité de l'oxygène (Labuza & Dugan 1971; Pokorny 1987). A 30 °C, avec un indice de peroxyde de 18 méq.O_2.kg^{-1}, les dimères du linoléate de méthyle ont été les principaux produits d'oxydation mis en évidence (Miyashita et al. 1982; Frankel 1991), suggérant ainsi que les réactions de terminaison impliquant des radicaux peroxyles et/ou alkoxyles sont majoritaires en conditions d'oxydation douces. Aux températures élevées (150 °C), tous les dimères contenaient soit des liaisons éthers soit des liaisons C-C, ce qui suggère que les réactions de terminaison impliquant des radicaux alkyles sont devenues majoritaires (Neff et al. 1988; Frankel 1991). En ce qui concerne la formation de produits d'oxydation secondaires polymérisés, la Figure 14 mentionne un nombre limité de composés susceptibles d'être formés (Frankel 1998). La majorité des produits de décomposition des acides gras de l'huile sont des composés polaires non volatils et des dimères et polymères de triglycérides. Quant aux composés cycliques, leur quantité formée dans les huiles reste relativement faible (Choe & Min 2007). Les dimères et les polymères ont une masse moléculaire de l'ordre de 692 à 1600 g.mol^{-1}, sont formés par la combinaison de liaisons C-C, C-O-C et C-O-O-C et leur formation augmente la viscosité de l'huile (Choe & Min 2007). Lors des chauffages prolongés à haute température, comme lors d'un processus de friture, outre les dimères de peroxydes, des éthers peuvent également être formés.



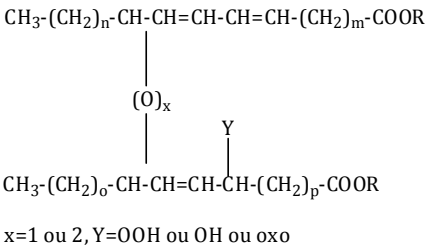


Figure 14. Exemple de structures chimiques des dimères de peroxydes formés à partir de l'acide α-linolénique (d'après Frankel 2005).

Tout radical qui se forme pendant l'oxydation des lipides peut initier une série de réactions équivalente au schéma réactionnel décrit dans le paragraphe I.2.

I. 3. MECANISMES D'ANTI-OXYDATION DES LIPIDES PAR LES COMPOSES PHENOLIQUES

I. 3. 1. Définition et mécanismes d'action des molécules antioxydantes

Un antioxydant peut être défini comme "toute substance capable de retarder ou de ralentir le rancissement, la décoloration ou l'apparition de flaveurs indésirables dues à l'oxydation" (Commission Européenne). Ainsi, un antioxydant peut augmenter la durée de vie d'un aliment et réduire les pertes en vitamines ou en acides gras essentiels. L'effet retard est directement mesurable sur la cinétique d'oxydation d'un acide gras. Le temps de demi-vie de l'acide gras est augmenté pour des concentrations croissantes en antioxydant ajouté dans le milieu (Figure 15). Cependant de fortes concentrations en antioxydants pourraient être responsables d'un effet pro-oxydant, comme cela a été démontré pour l'α-tocophérol (Cillard et al. 1980). En effet, si la concentration de la forme radicalaire de l'antioxydant produite par oxydation augmente trop, celle-ci peut se comporter en initiateur de la peroxydation lipidique.

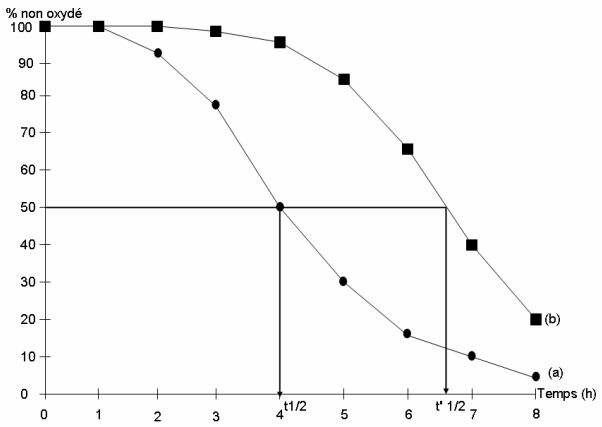


Figure 15. Allongement du temps de demi-vie (t1/2) du linoléate de méthyle sous l'action d'un antioxydant (Maillard 1996) (a) t1/2 : témoin ; (b) t'1/2 : échantillon en présence d'antioxydant.

La protection de l'aliment apportée par l'antioxydant reste de toute façon temporaire, l'antioxydant sous sa forme active disparaissant progressivement du milieu. Les antioxydants peuvent être classés en deux catégories : les antioxydants préventifs (encore appelés secondaires) et les antioxydants piégeurs de radicaux (ou briseurs de chaîne ou primaires).
Les antioxydants préventifs sont des chélateurs de métaux (acide citrique, acide tartrique, EDTA), des antioxydants enzymatiques, des désactivateurs d'oxygène singulet (caroténoïdes : lycopène, beta-carotène) ou des réducteurs d'oxygène (acide ascorbique) (Kochhar & Rossel 1990).

Les antioxydants piégeurs de radicaux (composés phénoliques notés AH) interviennent en transférant un atome d'hydrogène aux radicaux lipidiques et retardent ainsi le phénomène

d'oxydation (Brand-Williams et al. 1995; Pekkarien et al. 1999; Peyrat-Maillard et al. 2003; Berset 2006; Dangles & Dufour 2008). Ils agissent préférentiellement au niveau des radicaux peroxyles ou alkoxyles (réactions 15 et 16), à une vitesse rapide de l'ordre de 10^6 $M^{-1}.s^{-1}$ pour les radicaux peroxyles et 10^9 $M^{-1}.s^{-1}$ pour les radicaux alkoxyles (Tavadyan et al. 2007). La réaction 15 est exothermique, son énergie augmente avec l'énergie de la rupture de la liaison A-H.

$LOO^{\bullet} + AH \rightarrow LOOH + A^{\bullet}$ (15)

$LO^{\bullet} + AH \rightarrow LOH + A^{\bullet}$ (16)

La délocalisation de l'électron non apparié sur le cycle aromatique de l'antioxydant (Figure 16) et l'absence de site d'attaque de l'oxygène empêchent la propagation de nouvelles réactions radicalaires car les réactions 17, 18 et 19 ne sont pas favorisées (Berset 2006).

$A^{\bullet} + O_2 \rightarrow AOO^{\bullet}$ (17)

$AOO^{\bullet} + LH \rightarrow AOOH + L^{\bullet}$ (18)

$A^{\bullet} + LH \rightarrow AH + L^{\bullet}$ (19)

Une fois qu'il est sous forme radicalaire ($A^{\bullet}$), l'antioxydant peut freiner la phase de propagation en formant un produit d'addition chimiquement stable avec les radicaux peroxyles ou alkoxyles (réactions 20 et 21).

$LOO^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow LOOA$ (20)

$LO^{\bullet} + A^{\bullet} \rightarrow LOA$ (21)

Lorsque plusieurs antioxydants sont présents en mélange, des interactions sont susceptibles de se produire entre eux (Peyrat-Maillard et al. 2003). Trois types d'effets mélanges sont possibles : (i) un effet synergique est observé lorsque l'antioxydant le moins efficace pour stabiliser les radicaux lipidiques (A_2H) régénère l'antioxydant le plus efficace (A_1H) (réaction 22); (ii) un effet antagoniste est observé lorsque l'antioxydant le plus efficace (A_1H) régénère le moins efficace (A_2H) (réaction 23) et (iii) aucun effet mélange n'est observé, ce qui signifie que les deux antioxydants ont la même efficacité ou n'interagissent pas entre eux (Peyrat-Maillard et al. 2003).

$A_1^{\bullet} + A_2H \rightarrow A_1H + A_2^{\bullet}$ (22)

$A_2^{\bullet} + A_1H \rightarrow A_2H + A_1^{\bullet}$ (23)

Dans le cas de la réaction 23, l'antioxydant A_2H doit être moins réactif que l'antioxydant A_1H vis-à-vis des radicaux lipidiques.

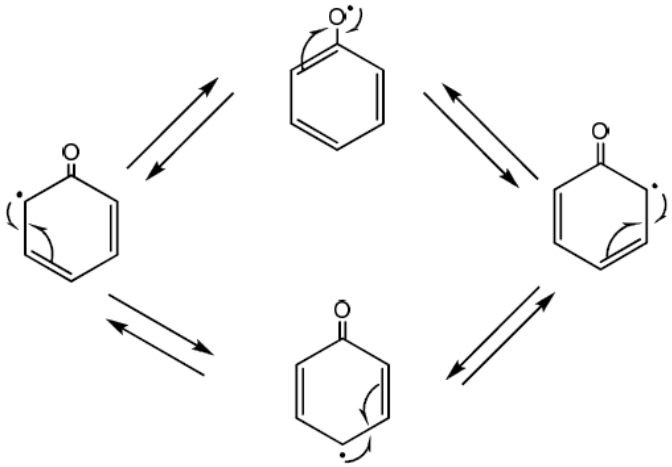


Figure 16. Stabilisation du radical phénolique par mésomérie (d'après Berset 2006).

La capacité des antioxydants primaires (AH) à inhiber le phénomène d'oxydation est liée à leur capacité à interagir plus efficacement avec les radicaux lipidiques que les acides gras présents dans le milieu. Les propriétés chimiques qui sont importantes à prendre en compte pour expliquer l'efficacité d'un antioxydant sont le potentiel de réduction, l'énergie des liaisons hydrogène, la délocalisation par résonance et la sensibilité de l'antioxydant à l'auto-oxydation (Min & Boff 2002; Dangles 2006).

Les antioxydants les plus efficaces sont ceux qui possèdent les énergies de liaisons les plus faibles au niveau du groupe donneur d'hydrogène. La facilité d'un phénol à céder un atome d'hydrogène peut être quantifiée par l'énergie de dissociation homolytique de la liaison O-H (bond dissociation energy BDE). Plus la BDE d'un phénol est faible, plus son caractère donneur d'atome hydrogène est élevé (Dangles 2006). L'énergie de la liaison O-H dans la molécule LOOH est caractérisée par une BDE égale à 377-463 $kJ.mol^{-1}$ (Kerr 1966; Bensasson et al. 1993), ce qui suggère qu'un bon antioxydant doit avoir un BDE inférieur.

La capacité à céder un atome d'hydrogène peut également être prédite par le potentiel d'oxydo-réduction. Tout composé qui a un potentiel redox plus faible que le potentiel de réduction d'un radical libre (ou d'une espèce oxydée) est capable de céder un hydrogène à ce radical tant que la réaction est possible (Tableau 6).

Tableau 6. Potentiels standards de réduction pour des processus radicalaires (adapté de Min & Boff 2002).

Couple	*E°' (mV)*
$HO^{\bullet}, H^{+}/H_2O$	2310
$RO^{\bullet}, H^{+}/ROH$	1600
$ROO^{\bullet}, H^{+}/ROOH$	1000
AGPI, H^{+}/AGPI-H	600
α-tocophéroxyle$^{\bullet}$, H^{+}/ α-tocophérol	500

Par exemple, des antioxydants comme l'α-tocophérol (E°'=500 mV), l'acide ascorbique (E°'=282 mV) ou le catéchol (E°'=530 mV) ont tous un potentiel redox inférieur au radical peroxyle LOO• (E°'=1000 mV), et vont donc facilement céder un hydrogène à ce radical pour former un hydroperoxyde (Min & Boff 2002).

Les structures chimiques qui participent au piégeage des radicaux libres sont les groupements phénoliques des dérivés phénoliques, les groupements thiols des cystéines ou les groupements amines de l'acide urique, de certains alcaloïdes ou des protéines. L'efficacité des antioxydants phénoliques est due en particulier à la stabilisation des radicaux phénoxyles par délocalisation des électrons sur le cycle aromatique (Figure 16) (Berset 2006; Croguennec 2006). L'efficacité d'un composé phénolique dépend également du nombre de fonctions OH à hydrogène labile (Cuvelier et al. 1992).

Les antioxydants peuvent soit être naturellement présents dans les huiles, par exemple la vitamine E, ou être ajoutés dans la composition, tels que le 2,6 di-*tert*-butyl-4-hydroxytoluène (BHT), les 2 et 3 *tert*-butyl-4-hydroxy anisoles (BHA), le *tertio*-butylhydroquinone (TBHQ) ou le gallate de propyle (PG). Ces antioxydants synthétiques sont perçus comme potentiellement toxiques par les consommateurs et par conséquent, les antioxydants naturels leur sont souvent préférés.

Seuls les mécanismes d'action des antioxydants naturels seront évoqués ici, ceux-ci étant susceptibles d'être naturellement présents dans les huiles végétales.

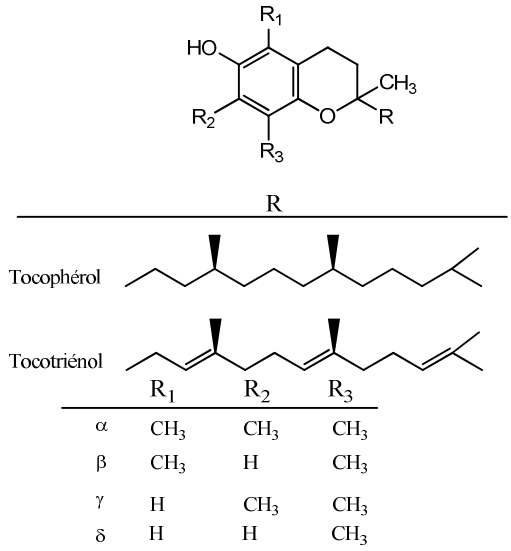
I. 3. 2. Les tocophérols

Les tocophérols sont présents dans les huiles végétales en quantité non négligeable, sous différentes formes, α et γ-tocophérols étant généralement majoritaires (Tableau 7) (Gunstone 2007).

Tableau 7. Composition en tocophérols (mg/kg) des principales huiles végétales (adapté de Gunstone 2007).

Type d'huile	*Tocophérols*					*Tocotriénols*					
	α	β	γ	δ	Total	α	β	γ	δ	Total	Total
Soja	100	-	590	260	960	-	-	-	-	0	960
Maïs	110	50	600	20	780	-	-	-	-	0	780
Colza	170	50	600	20	780	-	-	-	-	0	780
Tournesol	490	-	50	10	550	-	-	-	-	0	550
Olive	200	10	10	-	220	-	-	-	-	0	220
Palme	260	-	320	70	650	140	30	290	70	530	1180

Le terme tocophérols regroupe en réalité huit composés différents appartenant à deux familles chimiques : les tocophérols et les tocotriénols. Les tocophérols sont des 6-hydroxychromanes ou tocols substitués, porteurs d'une chaîne phytyle. Les formes α, ß, γ et δ diffèrent par le nombre et la position des groupements méthyles sur le noyau (Figure 17). Le D-α-tocophérol possède la plus grande activité biologique (vitamine E). Les tocotriénols sont porteurs de trois insaturations sur la chaîne phytyle, en positions 3', 7' et 11'. Les formes α, ß, γ et δ-tocotriénols possèdent les mêmes substituants que leurs homologues tocophérols (Figure 17).



	R_1	R_2	R_3
α	CH_3	CH_3	CH_3
β	CH_3	H	CH_3
γ	H	CH_3	CH_3
δ	H	H	CH_3

Figure 17. Structures chimiques des tocophérols et des tocotriénols.

L'activité antioxydante des tocophérols et des tocotriénols est due à leur capacité à céder un hydrogène aux radicaux lipidiques et ainsi à retarder le processus auto-catalytique de l'oxydation. La facilité des tocophérols à donner un atome d'hydrogène est classée généralement dans l'ordre qui découle des tests d'oxydation accélérée et reflète surtout leur résistance thermique : δ > γ > ß > α (Huang et al. 1995; Schmidt & Pokorny 2005; Berset 2006). Dans les milieux biologiques, où la température et la pression en oxygène sont beaucoup plus faibles, l'ordre d'efficacité est inversé (α > ß > γ > δ) et correspond à leur efficacité vitaminique E (Schmidt & Pokorny 2005; Berset 2006).

Les différences entre les systèmes lipidiques étudiés, les conditions d'oxydation testées et les méthodes utilisées pour déterminer l'activité antioxydante relative des tocophérols et des tocotriénols conduisent souvent à des résultats contradictoires (Tableau 8) (Seppanen et al. 2010).

Tableau 8. Comparaison des activités antioxydantes des tocophérols dans les huiles et les graisses (adapté de Seppanen et al. 2010).

Lipides	*Température*	*Méthode de mesure*	*Ordre de l'activité antioxydante*	*Référence*
Lard	20-60 °C 80-120 °C	- -	α-T>γ-T>β-T>δ-T δ-T>γ-T>α-T>β–T	(Seppanen et al. 2010)
Acide linoléique	- 40 °C	CPG, IP, TBARS CLHP	γ-T> α-T α-T>γ-T ≤10 $mg.kg^{-1}$ γ-T>α-T 100-1000 $mg.kg^{-1}$	(Reinton & Rogstad 1981; Makinen & Hopia 2000)
Huile de soja	- 25 °C 100 °C 55 °C	Rancimat IP CLHP IP	γ-/δ-T> α-T α-T>γ-T>δ-T, 0.001 M α-T~γ-T>δ-T, 0.002 M α-T~γ-T~δ-T, 0.004 M α-T>γ-T ≤700 ppm γ-T>α-T >700 ppm α-T>γ-T <40 ppm γ-T>α-T >200 ppm	(Dziedzic & Hudson 1984) (Jung & Min 1992) (Fuster et al. 1998; Yanishlieva et al. 2002)
Huile de tournesol	100 °C	CLHP	α-T>γ-T ≤400 ppm γ-T>α-T >400 ppm	(Yanishlieva et al. 2002)
Huile de colza	40 °C/obscurité	IP, I-pA, CLHP	α-T>γ-T <50 $mg.kg^{-1}$ γ-T>α-T >100 $mg.kg^{-1}$	(Yanishlieva et al. 2002)
Huile de poisson	20 °C 30 °C/obscurité	IP IP, p-An	δ-T> γ-/δ-T >α-T, 2 % α-T>γ-T>δ-T, 100 ppm δ-T>γ-T>α-T, 1000 ppm	(Hamilton et al. 1998; Kulas & Ackman 2001)

CPG, chromatographie en phase gazeuse ; IP, indice de peroxyde ; TBARS, dosage à l'acide 2- thiobarbiturique ; CLHP, chromatographie liquide haute performance ; I-pA, indice de p-anisidine.

Dans le cas de l'auto-oxydation, l'activité antioxydante des tocophérols repose sur le système redox tocophérol/tocopherylquinone (Figure 18). Le mécanisme d'action de l'α-tocophérol (α-Toc) est relativement bien compris. Les tocophérols cèdent au radical peroxyle l'hydrogène de leur fonction phénolique pour former un hydroperoxyde et un radical α-tocophéryl semi-quinone (réaction 24). Ce radical est stabilisé par mésomérie (Figure 18) et réagit ensuite avec un autre radical peroxyle (réaction 25) pour former une molécule inactive non-radicalaire, un α-tocophérol peroxyde (Figure 18) (Verleyen et al. 2001). La vitesse avec laquelle un isomère de tocophérol réagit avec les radicaux peroxyles est une mesure directe de leur activité antioxydante (Burton & Ingold 1981; Kamal-Eldin & Appelqvist 1996). Il a été déterminé que l'α-tocophérol pouvait également réagir avec les radicaux alkoxyles (réaction 26) (Gardner et al. 1972; Yamauchi 1997) ou subir un « auto-couplage » pour former des dimères ou des trimères qui posséderaient eux aussi des propriétés antioxydantes (Csallany et al. 1970; Yamauchi et al.

1988) (réaction 28). Lorsque l'oxygène est limitant, l'α–tocophérol pourrait réagir directement avec les radicaux alkyles (réaction 27) (Evans et al. 1992; Yamauchi et al. 1993).

$LOO^{\bullet} + \alpha\text{-Toc} \rightarrow \alpha\text{-Toc}^{\bullet} + LOOH$ (24)

$LOO^{\bullet} + \alpha\text{-Toc}^{\bullet} \rightarrow LOO\text{-}\alpha\text{-Toc}$ (25)

$LO^{\bullet} + \alpha\text{-Toc}^{\bullet} \rightarrow LO\text{-}\alpha\text{-Toc}$ (26)

$L^{\bullet} + \alpha\text{-Toc}^{\bullet} \rightarrow L\text{-}\alpha\text{-Toc}$ (27)

$\alpha\text{-Toc}^{\bullet} + \alpha\text{-Toc}^{\bullet} \rightarrow$ dimère d'α-Toc (28)

Lors de l'oxydation, il existe une compétition entre les tocophérols et les acides gras, particulièrement les acides gras les plus insaturés. Les radicaux peroxyles ($LOO^{\bullet}$) formés à partir des acides gras insaturés reçoivent un hydrogène, soit d'un α-tocophérol, soit d'un nouvel acide gras, qui passe lui même à l'état radicalaire. Cependant, le radical peroxyle $LOO^{\bullet}$, avec un potentiel de réduction de 1000 mV (Tableau 6), réagit plus rapidement avec un tocophérol ($10^{5\text{-}6}$ $M^{-1}.s^{-1}$) qu'avec un acide gras (10-60 $M^{-1}.s^{-1}$). Ceci est dû au faible potentiel de réduction des tocophérols (500 mV) comparé à celui des acides gras polyinsaturés (environ 600 mV) (Min & Boff 2002).

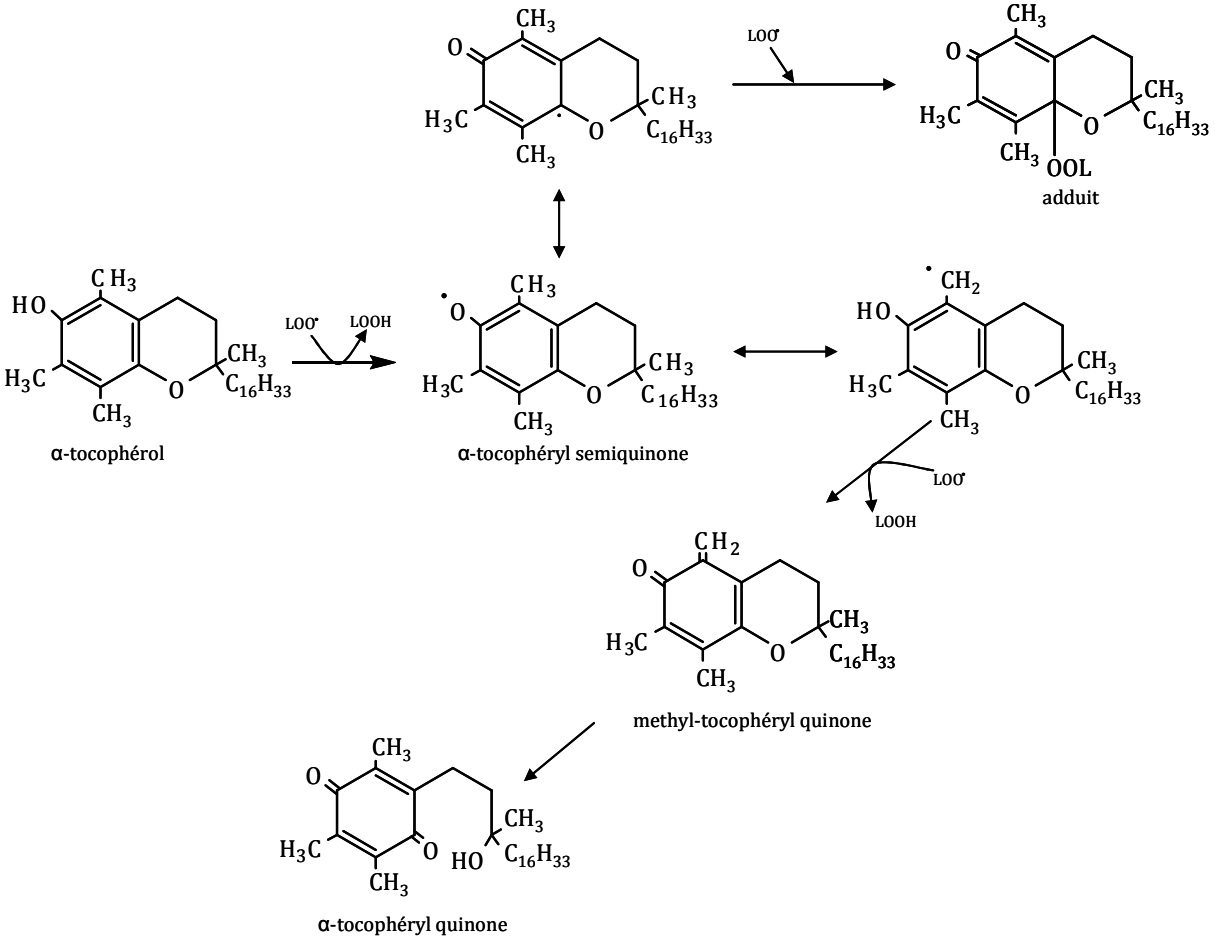
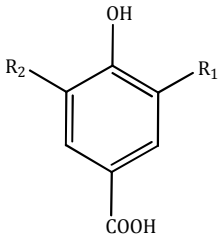


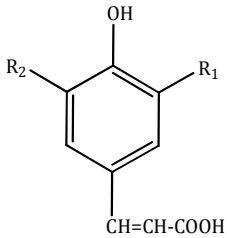
Figure 18. Mécanisme d'action de l'alpha-tocophérol (adapté de Tappel 1972 ; Verleyen 2001).

I. 3. 3. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont largement répandus dans les végétaux et diffèrent par le nombre de leurs groupements phénoliques et par la nature des substituants de leur cycle aromatique. Ils se répartissent en deux groupes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.
Les acides hydroxybenzoïques dérivent de l'acide benzoïque. Ils sont majoritairement présents sous formes d'esters ou de glycosides dans les plantes, mais leurs formes libres sont parfois retrouvées en faibles proportions. Les principaux acides hydroxybenzoïques sont l'acide *p*-hydroxybenzoique, l'acide vanillique, l'acide syringique et l'acide gallique. Ces composants possèdent tous une structure C6-C1 (Figure 19) (Macheix et al. 1990).



dérivés de l'acide benzoïque



dérivés de l'acide cinnamique

Composé	***R_1***	***R_2***	***Composé***	***R_1***	***R_2***
Acide *p*-hydroxybenzoïque	H	H	Acide *p*-coumarique	H	H
Acide vanillique	H	OCH_3	Acide férulique	H	OCH_3
Acide syringique	OCH_3	OCH_3	Acide sinapique	OCH_3	OCH_3
Acide gallique	OH	OH	Acide caféique	OH	H

Figure 19. Structures chimiques de quelques acides phénoliques (d'après Macheix et al. 1990).

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de l'acide cinnamique (Macheix et al. 1990; Dangles 2006; Macheix et al. 2006). Ils possèdent tous une double liaison sur la chaîne latérale et existe donc deux formes isomères (E et Z) dont les propriétés biologiques peuvent être différentes. Comme les acides hydroxybenzoïques, les acides hydroxycinnamiques sont rarement présents à l'état libre mais sont généralement combinés à d'autres molécules organiques formant des esters, des phénolamides ou des glucosides. Parmi ces composés, les dérivés d'acides caféique, férulique, *p*-coumarique et sinapique sont les plus fréquemment rencontrés (Balasundram et al. 2006) (Figure 19).
Il est admis que les acides phénoliques sont des antioxydants efficaces. La position et le nombre de groupements phénoliques présents sur les acides phénoliques ont une importance primordiale sur leur activité antioxydante. Des nombreuses relations entre la structure de plusieurs acides phénoliques et leur activité antioxydante ont été publiés à ce jour (Cuvelier et al. 1992; Cos et al. 1998; Goupy et al. 2002; Dufour & Loonis 2007). Les acides cinnamiques ont toujours une activité anti-radicalaire supérieure à celle de l'acide benzoïque correspondant. Les

acides caféique, sinapique, férulique et *p*-coumarique sont ainsi respectivement plus actifs que les acides protocatéchique, syringique, vanillique et *p*-hydroxybenzoïque. Par ailleurs, l'addition d'un second ou d'un troisième groupement hydroxyle sur leur cycle aromatique permet une augmentation de leur efficacité.

Plusieurs voies réactionnelles peuvent expliquer l'activité antioxydante des acides phénoliques, mais le piégeage des radicaux lipidiques est considéré comme la voie majoritaire. Les autres mécanismes mis en évidence impliquent la capacité des acides phénoliques à chélater des ions métalliques (fonction *ortho*-diphénol indispensable) et à réagir avec le dioxygène (réaction d'auto-oxydation).

Les graines oléagineuses de colza, tournesol et soja, constituent des sources riches en composés phénoliques. Cependant, en raison des méthodes d'extraction des huiles utilisées et des conditions rencontrées au cours du raffinage (températures élevées, agents acides et alcalins, équipements métalliques), une grande quantité de ces composés est éliminée. Les graines de colza contiennent principalement de l'acide sinapique (jusqu'à 79% des composés phénoliques totaux) (Cai & Arntfield 2001). Les graines de tournesol sont riches en acide chlorogénique (47% des composés phénoliques totaux), mais d'autres acides phénoliques sont également détectés (acides caféique et procatéchique en particulier) (Pedrosa et al. 2000; de Lourdes Reis Giada 2008; Ramli 2010). D'après la littérature, aucun composé phénolique n'est retrouvé dans les huiles brutes de tournesol et de soja. En revanche, quelques composés phénoliques sont retrouvés dans l'huile de colza. Les études réalisées lors du projet Optim'oils® (FP6 2006-2010), ont montré que l'optimisation des procédés classiques d'extraction et de raffinage permettait de produire des huiles plus riches en tocophérols et composés phénoliques que les huiles extraites et raffinées dans les conditions habituelles (Pelilo 2003; Ramli 2010).

I. 4. MESURE DE L'ETAT D'AVANCEMENT DES REACTIONS D'OXYDATION DES LIPIDES

I. 4. 1. Classification des méthodes de mesure

Comme indiqué précédemment, l'oxydation des lipides conduit à la formation de produits primaires (hydroperoxydes, radicaux libres, dienes conjugués) très instables et rapidement décomposés en produits secondaires (aldéhydes, alcools, cétones,…). Ainsi, lors du développement des réactions d'oxydation, vont successivement apparaître ces deux familles de composés. La Figure 20 représente de façon très schématique l'évolution de ces différentes espèces au cours de l'oxydation (Labuza & Dugan 1971).

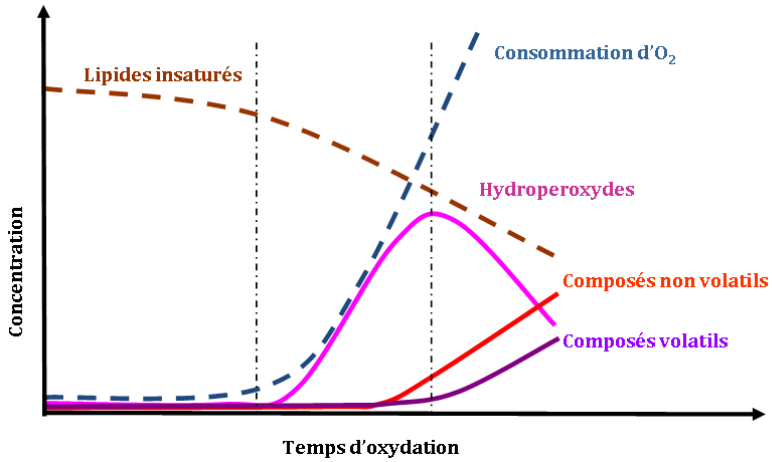


Figure 20. Evolution de l'auto-oxydation des acides gras insaturés au cours du temps (d'après Labuza & Dugan 1971).

On constate ainsi que quantifier un seul substrat ou produit de réaction ne suffit pas pour caractériser l'état de peroxydation des lipides. Par exemple, une faible teneur en composés volatils n'est pas synonyme de lipides faiblement peroxydés, les hydroperoxydes ne s'étant pas encore décomposés. De même, un dosage ponctuel des produits primaires d'oxydation (hydroperoxydes) peut conduire à une conclusion erronée puisqu'une faible concentration peut aussi bien refléter un système faiblement oxydé qu'un système très oxydé. Ainsi, quel que soit le produit dont on souhaite caractériser l'état global d'oxydation, il est nécessaire de combiner des méthodes permettant le suivi de la disparition des substrats et de l'apparition des produits primaires et secondaires d'oxydation (Berset & Cuvelier 1996; Frankel 1998).

Etudier l'avancement des réactions d'oxydation peut signifier suivre les changements intervenant dans un système lipidique pour lequel la composition initiale peut être déterminée, ou simplement évaluer l'état d'oxydation d'un échantillon de provenance inconnue. Dans le premier cas, la comparaison est possible entre l'échantillon à l'état initial (oxydation présumée nulle ou faible) et l'échantillon ayant été soumis à des conditions favorables aux réactions d'oxydation. Ces conditions sont souvent appliquées dans le but de comparer la susceptibilité

des lipides à être oxydés ou d'étudier les effets de la présence de certaines molécules chimiques (anti ou pro-oxydantes), de traitements technologiques ou de conditions de stockage des produits (température, lumière,…). Dans le second cas, l'évaluation de l'état d'oxydation de l'échantillon de composition inconnue est possible, mais l'interprétation des résultats peut s'avérer complexe ou incomplète, voire conduire à des conclusions erronées.

L'étude du phénomène d'oxydation est souvent difficile pour la simple raison que les lipides sont habituellement des systèmes de composition complexe qui donnent naissance à des produits d'oxydation très divers. Entre outre, malgré un large choix de méthodes pour suivre l'oxydation des lipides, chaque méthode a ses avantages et ses limites en fonction des produits d'oxydation formés. Les phénomènes d'oxydation lipidique rencontrés dans les aliments au cours de leur conservation sont de plus des processus souvent lents, se déroulant sur des semaines, voire des mois, ce qui est incompatible avec le contrôle qualité dans le milieu industriel. C'est pourquoi certaines méthodes s'utilisent dans des conditions d'oxydation forcée. La question se pose alors de la validation des résultats de ces tests accélérés et de leur extrapolation vers des conditions usuelles d'utilisation et de conservation des produits. Selon Frankel (2005), il n'existe pas de système d'oxydation accéléré idéal et chaque test doit être adapté au type de matière grasse considérée et rester aussi proche que possible des conditions dans lesquelles s'exerceront en réalité les réactions d'oxydation (Frankel 2005).

Les méthodes analytiques classiques, titrimétriques, colorimétriques ou spectrométriques, utilisées pour suivre l'évolution de l'état d'oxydation, sont relativement simples, assez sensibles, fiables et reproductibles, en particulier lorsqu'elles sont réalisées dans des conditions normalisées (dosage des diènes conjugués, mesures de l'indice de peroxyde ou de l'indice de *p*-anisidine, dosage des composés polaires ou des polymères). Cependant, elles donnent généralement uniquement une information globale, relative à une fonction chimique et/ou à une famille de molécules issues des réactions d'oxydation.

Les méthodes chromatographiques conduisent à l'identification et à la quantification individuelle des produits d'oxydation, ce qui permet de mieux comprendre les mécanismes des réactions et de suivre certains produits à effets indésirables. L'analyse chromatographique des échantillons de provenance inconnue permet d'avoir des informations sur la composition initiale de l'échantillon. Malgré ces avantages, l'analyse des composés spécifiques est lourde et fastidieuse et repose sur l'exactitude des estimations en raison de l'absence des standards dans la plupart des cas.

Les prochains paragraphes sont dédiés à une analyse des méthodes analytiques classiques utilisées pour caractériser l'état d'oxydation d'un échantillon. Une place importante est accordée à la méthode de spectroscopie par Résonance Paramagnétique Electronique, une méthode spécifique aux espèces radicalaires, qui a été développée pendant la thèse.

I. 4. 2. Suivi des espèces non radicalaires

I. 4. 2. 1. Dosage des acides gras

La composition en acides gras est généralement déterminée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) des esters méthyliques d'acides gras selon la méthode normalisée AFNOR ISO15304:2002.

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de séparation des composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. L'injection en CPG de l'extrait lipidique est donc précédée d'une étape de méthanolyse des triglycérides destinée à les rendre volatils sous forme d'esters méthyliques d'acides gras. Ces derniers sont alors séparés par chromatographie en phase gazeuse en fonction de la longueur de leur chaîne, de leur degré d'insaturation, et de la géométrie et de la position des doubles liaisons.

I. 4. 2. 2. Dosage des hydroperoxydes lipidiques

La mesure de l'indice de peroxyde est déterminée de façon systématique en contrôle qualité pour évaluer la qualité des huiles. Le dosage des hydroperoxydes fournit une estimation globale de l'état d'oxydation des lipides, surtout dans la phase primaire d'oxydation. D'après la méthode officielle AOCS Cd 8b-90 (1997), les hydroperoxydes réagissent en milieu acide avec l'ion iodure pour former du diode (réaction 29) qui est titré par une solution de thiosulfate de sodium (réaction 30). La quantité d'iode formée est proportionnelle à celle des peroxydes présents au départ (Wanasundara et al. 1995).

$$LOOH + 2H^+ + 2I^- \rightarrow I_2 + LOH + H_2O \quad (29)$$

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \rightarrow S_4O_6^{2-} + 2I^- \quad (30)$$

L'indice de peroxyde (IP) est alors défini comme étant la quantité d'oxygène actif contenue dans 1 g de corps gras et susceptible d'oxyder l'iodure de potassium avec libération d'iode. L'indice de peroxyde s'exprime souvent en mg d'oxygène actif par kg de matière grasse (Croguennec 2006).

L'IP permet le dosage des hydroperoxydes issus de l'oxydation de tous les acides gras insaturés, quel que soit leur nombre d'insaturation. En revanche, il ne renseigne pas sur la nature des hydroperoxydes et leur origine. L'IP atteindra un maximum durant la phase de propagation, puis diminuera lors de la phase de terminaison pendant laquelle la cinétique de décomposition des

hydroperoxydes est plus importante que celle de leur formation (Frankel 1998). La limite de cette mesure est que le taux de peroxydes formés est la résultante de la formation et de la décomposition des hydroperoxydes. Or, les vitesses de formation et de décomposition des peroxydes ne varient pas de la même façon avec la température : la vitesse de formation des peroxydes est plus élevée que celle de leur décomposition jusqu'à 60-70 °C ; en revanche, leur décomposition devient plus rapide au-delà de cette zone de température.
La méthode titrimétrique reste très simple d'utilisation dans le cas des huiles mais beaucoup plus compliquée dans le cas des milieux émulsionnés car il est alors nécessaire de réaliser une extraction quantitative, sélective et non altérante des lipides, ce qui suppose un certain nombre de précautions pour éviter tout stress oxydatif (Villière 2005).

Les peroxydes peuvent également être dosés par colorimétrie après réaction avec le thiocyanate ferreux (Inatani et al. 1983). Ils peuvent également être séparés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse ou par chromatographie liquide haute performance en phase normale ou inverse, couplée à une détection UV, à la chimiluminescence, à l'électrochimiques ou à la spectrométrie de masse (Kamal-Eldin 2003; Leenhardt et al. 2006).

I. 4. 2. 3. Dosage des dienes conjugués

Les produits primaires de l'oxydation des lipides contenant des doubles liaisons conjuguées peuvent être quantifiés par spectrométrie UV (Klein 1970; Corongiu et al. 1994). En effet, l'oxydation des acides gras polyinsaturés s'accompagne d'un déplacement des doubles liaisons qui passent de la position malonique à la position conjuguée. Les dienes conjugués absorbent à 232-234 nm et les triènes conjugués à 268 nm et peuvent donc être suivis par mesure de l'absorbance à ces longueurs d'onde. Cette méthode est rapide à condition que les lipides du produit à analyser aient été préalablement extraits et solubilisés dans un solvant organique. En revanche, elle peut être peu spécifique et conduire parfois à des interférences avec les antioxydants (Gray 1978). Farmer (1946) a montré que l'augmentation de la quantité de dienes conjugués et triènes formés était proportionnelle à la consommation d'oxygène et à la formation des hydroperoxydes (Farmer 1946).
Toute matrice contenant des acides gras polyinsaturés (dont les acides linoléique et α-linolénique) peut être analysée par cette méthode.

I. 4. 2. 4. Mesure de l'indice de *p*-anisidine

La détermination de l'indice de *p*-anisidine repose sur le principe suivant : en milieu acide acétique, la *p*-anisidine réagit avec les aldéhydes conjugués issus de l'oxydation des lipides pour

former des composés jaunes qui absorbent à 350 nm. L'indice de *p*-anisidine est défini comme 100 fois l'absorbance mesurée à 350 nm d'une solution résultant de la réaction entre 1 g de lipides et 100 ml de solvants et réactifs. Cette méthode est plus sensible dans le cas des aldéhydes insaturés que saturés car le complexe coloré formé à partir des aldéhydes insaturés absorbe plus fortement à cette longueur d'onde. Elle permet de doser les produits tels que des carbonyles, des 2-alkenals et des 2,4 diénals. Cet indice est bien corrélé avec la quantité de produits volatils totaux (Doleschall et al. 2002) et représente un indicateur fiable de rancissement oxydatif des lipides (Van der Merwe et al. 2004). Une corrélation très significative est trouvée entre l'indice de *p*-anisidine et l'indice de peroxyde (List et al. 1977). Néanmoins, cet indice est comparable seulement pour un même type d'huile, car la valeur initiale de l'indice *p*-anisidine varie selon les sources d'huile (Guillan & Cabo 2002). Par exemple, les huiles riches en AGPI ont une valeur élevée de l'indice même si elles sont fraîches (White 1995).

I. 4. 2. 5. Dosage des composés polaires

Le dosage des composés polaires est un indicateur de la qualité des huiles de friture et donne des informations sur la teneur globale en composés néoformés qui ont une polarité plus élevée que celle des triglycérides. Le dosage de ces composés est à la base de la règlementation actuelle qui limite le taux de composés polaires à 25 %.

Le principe de la méthode officielle de dosage des composés polaires des huiles végétales (AOCS Official method Cd 20-91) repose sur le fractionnement des composés apolaires et polaires des huiles par chromatographie sur colonne de silice. Les composés apolaires, qui sont principalement les triglycérides non altérés, sont élués par le mélange éther de pétrole/éther éthylique (87/13, v/v). Leur taux dans l'huile est déterminé par la formule suivante :

$$Pourcentage\ de\ composés\ \ polaires = \frac{Masse\ d'huile\ \ (g) - Masse\ de\ la\ \ fraction\ \ apolaire\ \ (g)}{Masse\ d'huile\ \ (g)}$$

Cette méthode présente cependant plusieurs inconvénients : durée de l'extraction (environ 3,5 heures par échantillon d'huile), grande consommation de solvant et manque de précision et de répétabilité. Une approche intéressante pour la détermination des composés polaires à l'aide des mini-colonnes a été suggérée par Dieffenbacher et Martin en 1987. Cette méthode permet d'éviter une grande consommation de solvant, de silice et de temps (Dieffenbacher & Martin 1987; Marmesat et al. 2007).

Tan et Che Man (1999) utilisent une autre méthode par calorimétrie différentielle (DSC, Differential Scanning Calorimetry) (Tan & Che Man 1999; Ramli 2010). Le principe de cette méthode repose sur la mesure du flux de chaleur dégagé par l'échantillon d'huile au cours de son

refroidissement, et qui apparaît au moment de la cristallisation des triglycérides. Tan et Che Man ont établi une corrélation entre le taux de composés polaires et les différents paramètres du signal obtenu en DSC, lors de la cristallisation de l'huile. Cette méthode a pour avantage de ne pas consommer de solvants et d'être plus rapide que la méthode officielle (environ 1,5 heure par échantillon) mais ne permet pas une quantification exacte des composés polaires.

I. 4. 2. 6. Dosage des polymères

Les polymères sont considérés comme la classe la plus importante de produits de dégradation des lipides dans une huile de friture (Stier 2001). Ils sont analysés par des méthodes normalisées AOCS Cd 22-91 ou encore IUPAC 2.508 et incluent tous les produits formés par des réactions de combinaison de radicaux (dimères, trimères, tétramères…).

Le principe de la méthode officielle de dosage des triglycérides polymérisés dans les huiles végétales repose sur la séparation des molécules en fonction de leur taille par chromatographie liquide de perméation de gel. Le dosage de polymères est considéré comme un très bon marqueur pour évaluer l'état de dégradation d'une huile, mais il est difficilement applicable à un suivi régulier de la qualité des aliments en raison du temps important impliqué dans l'analyse.

Une corrélation a été établie entre l'augmentation de la viscosité et la formation des polymères dans l'huile (Orthoefer & List 2007). Par conséquent, la mesure de la viscosité des huiles, mesure simple et rapide, peut être utilisée comme indicateur qualitatif de la formation de polymères.

I. 4. 3. Suivi des espèces radicalaires issues de l'oxydation des lipides par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE)

I. 4. 3. 1. Principe de la RPE

Cette présentation de la spectroscopie de résonance paramagnétique électronique (RPE) ne reprendra que les grandes lignes du principe de cette technique dont le fondement repose sur les propriétés magnétiques des électrons. La RPE est une technique spectroscopique hertzienne (ondes électromagnétiques courtes) qui s'applique spécifiquement aux espèces paramagnétiques, c'est-à-dire aux ions possédant un ou plusieurs électrons non-apparié(s) (appelés aussi « électrons célibataires ») sur la couche de valence (Rieger 2007; Eaton et al. 2010; Lund et al. 2011). Les espèces paramagnétiques sont soit des radicaux libres (de type aminosyles), soit des métaux de transition, soit des molécules formées au cours des réactions d'oxydo-réduction. Ces molécules peuvent être détectées dans un champ magnétique extérieur (B_0) en suivant les transitions entre les niveaux d'énergie correspondant aux orientations de spin de l'électron non apparié. Lorsque l'on applique un champ magnétique extérieur, l'électron de spin ½ s'oriente de manière parallèle ou antiparallèle à ce dernier. A ces deux orientations correspondent deux niveaux d'énergie (E_1 et E_2) équidistants du niveau dégénéré E (absence de champ) (Figure 21).

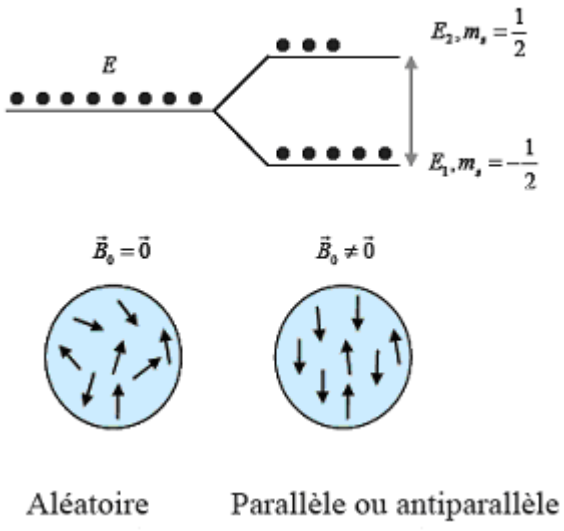


Figure 21. Organisation des niveaux d'énergie pour un spin électronique S=1/2 en présence d'un champ magnétique (d'après Rieger 2007).

Lorsque l'on fournit au système un rayonnement électromagnétique $h\nu$ tel que $\Delta E = h\nu$, il absorbe de l'énergie, ce qui engendre des transitions entre les deux niveaux d'énergie et une radiation. On observe alors un spectre caractéristique des absorptions d'énergie : c'est le phénomène de Résonance Paramagnétique Electronique. En réalité, les spectres observés correspondent aux dérivés premiers des signaux d'absorption qui sont difficiles à analyser

directement (Figure 22). Le signal obtenu ne correspond pas à un signal unique mais à un signal à plusieurs raies. Ceci est dû au fait que l'électron célibataire d'une substance paramagnétique est non seulement soumis à l'interaction du champ magnétique extérieur, mais également à celui du milieu qui l'entoure. La plus importante de ces interactions est celle qui existe entre le spin de l'électron non apparié et celui du noyau d'atome autour duquel il gravite. Pour chaque état de spin électronique (+1/2 et -1/2), le couplage d'un électron libre avec n atomes équivalents de spin I donnera (2nI +1) orientations possibles et donc autant de niveaux d'énergie et donc une raie sur le spectre d'absorption qui sera composé de 2nI+1 raies.

Un spectre de RPE est caractérisé par différents paramètres comme la largeur des raies, la distance entre les raies les plus extérieures (écart hyperfin exprimé en Gauss) ou encore l'intensité des raies.

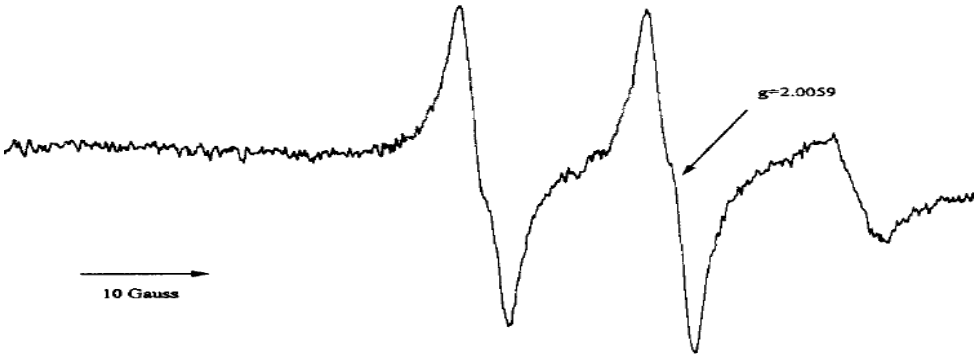


Figure 22. Exemple de spectre RPE (Thomsen et al. 1999) .

Deux approches sont possibles pour l'obtention d'un spectre : soit le champ magnétique est maintenu constant alors que la fréquence du rayonnement électromagnétique est balayée (ce qui serait identique à la spectroscopie UV-visible), soit la fréquence ν du rayonnement électromagnétique est fixée constante et le balayage s'effectue en champ magnétique (c'est le champ B_0 qui varie) (Figure 21) (Rieger 2007; Eaton et al. 2010; Lund et al. 2011).

En raison des difficultés de numérisation et de l'utilisation d'une cavité résonnante pour la détection du signal, la plupart des spectromètres RPE fonctionnent à fréquence de l'onde électromagnétique constante et champ magnétique variable (Rieger 2007; Lund et al. 2011).

I. 4. 3. 2. Conditions de détection des radicaux lipidiques par RPE

L'utilisation de la RPE pour étudier l'oxydation des lipides est relativement récente (environ 1970) et aujourd'hui, seule l'industrie de fabrication de la bière l'exploite comme méthode standard du contrôle de la qualité (Uchida & Ono 1996; Andersen & Skibsted 1998). La détection des espèces radicalaires lipidiques (nature, réactivité) est une étape clé dans l'identification des phénomènes d'oxydation primaire. Une meilleure connaissance de la nature et de la réactivité des radicaux libres de type alkyles, peroxyles ou encore alkoxyles produits au cours de

l'oxydation des AGI, et plus précisément ceux impliqués dans les étapes précoces de l'oxydation, permettront de proposer des solutions fiables pour maitriser et/ou améliorer la stabilité oxydative des aliments. L'avantage principal de la RPE est de pouvoir l'appliquer « *in situ* » sur des milieux complexes, qu'ils soient liquides ou solides, ce qui ouvre un champ d'application prometteur.

Il est admis que dans les produits solides, avec une activité de l'eau faible (par exemple le lait en poudre), ou dans les produits liquides congelés à très basse température, la réactivité des espèces radicalaires est ralentie et leur durée de vie est suffisamment longue pour permettre leur détection « *in situ* » sans ajout de composés exogènes (méthode dite « directe ») (Stapelfeldt et al. 1999). Cependant, dans la majorité des produits liquides (par exemple les huiles), le suivi direct n'est pas possible à cause de leur réactivité élevée et donc de leur durée de vie très faible. Cette difficulté peut être surmontée par l'adaptation ou le développement de méthodologies spécifiques comme le spin trapping et le spin scavenging qui font appel à des piégeurs de radicaux et seront détaillés ultérieurement. Les différentes techniques RPE utilisées pour suivre l'oxydation des lipides ainsi que leurs caractéristiques sont illustrées dans le Tableau 9 (Andersen et al. 2005).

I. 4. 3. 3. Détection directe des radicaux

La détection directe des espèces radicalaires lipidiques n'est possible qu'à très basse température. Cette méthode permet d'identifier, de quantifier et de mesurer la réactivité des radicaux alkyles et peroxyles mais ne renseigne pas sur la nature des espèces radicalaires constitutives de ces deux populations. Yanez et al. (1987) ont montré que la photolyse des hydroperoxydes lipidiques présents dans les lipides polyinsaturés non purifiés à -196 °C génèrait des radicaux lipidiques facilement observés par RPE (Yanez et al. 1987; Zhu & Sevilla 1990). Ces radicaux sont supposés être formés suite à l'abstraction des atomes d'hydrogène à partir des acides gras insaturés par les radicaux alkoxyles formés suite à la photolyse des hydroperoxydes. Yanez et al. (1987) mettent en évidence deux populations de radicaux différentes : les radicaux alkyles ($L^{\bullet}$) et les radicaux peroxyles ($LOO^{\bullet}$). Le spectre RPE des radicaux alkyles évolue vers celle des radicaux peroxyles avec la montée en température, ce qui signifie que la formation des radicaux $LOO^{\bullet}$ n'est possible qu'à partir d'une température suffisamment élevée pour permettre la migration de l'oxygène à travers l'échantillon congelé.

Tableau 9. Caractéristiques générales des techniques RPE utilisées pour suivre l'oxydation des lipides (d'après Andersen et al. 2005).

	Applications	*Milieux*	*Avantages*	*Contraintes*
Mesure directe	Identification des radicaux à basse température (-180 ° à -100 °C) Quantification des radicaux dans des systèmes à faible mobilité	Huiles et systèmes modèles Aliments solides ou déshydratés	Pas d'utilisation de piégeurs Détection des radicaux « *in situ* »	Utilisation des initiateurs de radicaux ou des rayons UV
Spin trapping	Identification et quantification des espèces radicalaires à température ambiante Méthode rapide pour déterminer la stabilité oxydative Evaluation de l'activité anti-radicalaire des antioxydants	Huiles et différents aliments (viande, lait, mayonnaise, fromage…)	Les espèces radicalaires à durée de vie très courte peuvent être étudiées	Forte dépendance des facteurs cinétiques Utilisation d'un piégeur qui peut interférer avec la chaîne d'oxydation L'identification et la quantification des radicaux nécessitent l'utilisation des méthodes additionnelles (CLHP, CLHP/MS)
Spin scavenging	Mesure de la réactivité des radicaux Evaluation de la capacité anti-radicalaire des antioxydants	Huiles et différents systèmes alimentaires	Des concentrations initiales connues en radicaux	Utilisation d'un radical stable de type nitroxyde (NO•)

I. 4. 3. 4. Spin Trapping

Le « spin trapping » consiste à stabiliser un composé radicalaire instable par un piégeur de spin (spin trap) (Li et al. 1988). La détection de cette nouvelle espèce radicalaire permet la détection indirecte de radicaux impliqués dans l'oxydation des lipides (Andersen & Skibsted 1998; Thomsen et al. 2000a; Andersen & Skibsted 2002). Une sélection appropriée du piégeur de spin est alors essentielle pour une application réussie de la méthode, de même que des propriétés spécifiques telles que la concentration, la solubilité du piégeur, le pH du système, la présence potentielle d'autres agents oxydants ou réducteurs et la stabilité de l'adduit formé (Andersen & Skibsted 2002).

Dans le cas des spin traps nitroso, les adduits de spin confèrent une bonne emprunte digitale des radicaux piégés L•, car ces derniers se fixent sur l'atome d'azote (Figure 23) (Andersen et al. 2005). Ils sont donc immédiatement adjacents au groupement nitroxyle (NO•) et peuvent ainsi facilement donner lieu à des constantes de couplage hyperfin supplémentaires caractéristiques de leur structure. En revanche, les adduits nitroso sont thermiquement et photo-chimiquement instables, ce qui explique que la plupart des spins traps utilisés font partie du groupe nitrone, plus stables mais moins spécifiques que les nitroso.

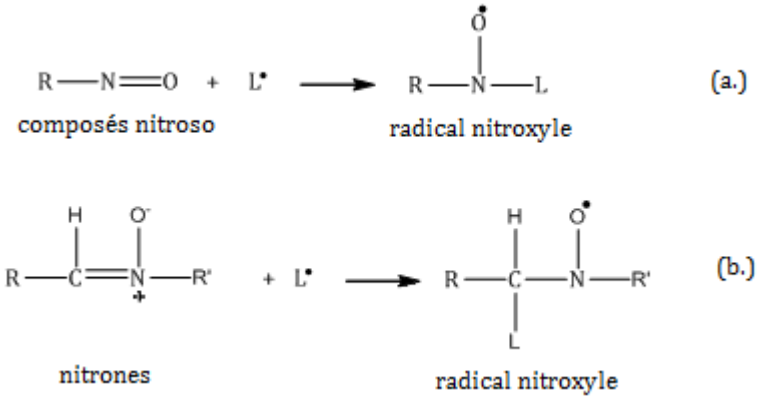
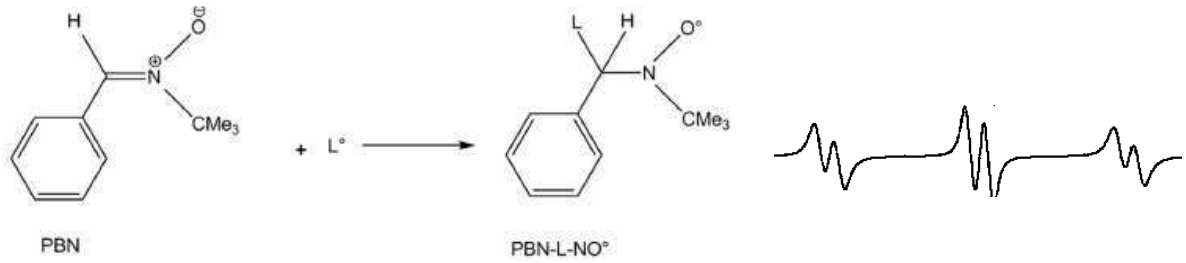


Figure 23. Réactions de spin-trapping des composés nitroso (a.) et nitrones (b.) pour former un radical nitroxyle (adapté de Andersen et al. 2005).

Parmi les nitrones, l'α-phényl-N-tert-butylnitrone (PBN) a été utilisée avec succès pour la détection de radicaux lors de l'oxydation des lipides en raison de son caractère lipophile et de sa bonne réactivité (Figure 24)(Thomsen et al. 2000a; Andersen et al. 2005; Falch et al. 2005; Velasco et al. 2005; Papadimitriou et al. 2006)



(a) (b)

Figure 24. Formation d'un adduit de spin PBN-L-NO• suite à l'addition d'un radical lipidique L• au spin trap α-phényl-N-tert-butylnitrone (PBN) (a). Exemple de spectre RPE correspondant à l'adduit de spin PBN-L-NO• (b) (d'après Velasco et al. 2005)

Il faut cependant préciser que les spectres de l'adduit de spin PBN-L-NO• varient peu selon la nature des radicaux ajoutés. En effet, comme il est indiqué dans la Figure 24a, les radicaux lipidiques piégés se fixent en α de l'atome d'azote et seul l'atome d'hydrogène peut donner une constante de couplage additionnelle à celle du NO•. Par conséquent, l'allure du signal des adduits de spin nitrone consiste en général en un triplet de doublets en fonction de la nature du radical (Figure 24b). Toutefois, grâce à leur bonne stabilité, les adduits de spin formés peuvent être séparés, identifiés et quantifiés par CLHP couplée à la spectrométrie de masse (Janzen et al. 1990; Hideo 2000; Iwahashi 2003; Koshiishi et al. 2006).

Il est très important de souligner que cette technique de piégeage est une méthode cinétique, ce qui implique que, la détection de radicaux dépendra des facteurs cinétiques. Ainsi, plusieurs pièges peuvent être identifiés dans la littérature.

Peu de cas existent où les limites de l'utilisation des spins traps sont considérées dans l'évaluation des résultats expérimentaux. Par exemple, le succès de la détection d'une espèce radicalaire repose sur un piégeage efficace ainsi que sur une stabilité suffisante de l'adduit résultant pour être détecté pendant la mesure. Un piégeage efficace signifie que la réaction entre le radical et le spin trap est suffisamment rapide pour empêcher le radical de participer à une réaction ultérieure. Par conséquent, les spectres observés reflètent une situation stationnaire qui dépend de la vitesse de formation et de décomposition de l'adduit de spin, ainsi que de la concurrence entre les réactions de piégeage et d'autres réactions radicalaires.

Un autre point à souligner porte sur l'interférence potentielle du spin trap utilisé avec la chaîne des réactions d'oxydation, ce qui peut modifier le mécanisme et la vitesse de ces réactions. Plusieurs études indiquent ainsi que le PBN semble avoir un rôle important dans la protection des systèmes lipidiques contre l'oxydation (Ondrias et al. 1994; Li et al. 2001). Barclay & Vinqvist (2000) ont cependant rapporté que le PBN n'agissait pas comme un antioxydant briseur de chaîne mais plutôt comme un retardateur du phénomène d'oxydation (Barclay & Vinqvist 2000).

Velasco et al. (2005) ont étudié l'effet du PBN dans le cas d'une huile de colza (HC), d'une huile de tournesol (HT) et d'une huile de poisson (HP). Le PBN conduit à une diminution marquée de l'indice de peroxyde. Par ailleurs, on observe une concentration résiduelle en tocophérol significativement plus élevée dans les échantillons contenant du PBN que dans les échantillons témoins, ce qui laisse présager d'une action antioxydante du PBN. Un effet variable du PBN est constaté en fonction de la nature de l'huile, avec une vitesse d'oxydation des huiles qui augmente selon l'ordre HP>HT>HC et une diminution de la stabilité oxydative des huiles telle que HP<HT<HC. Ces résultats pourraient être liés à la teneur initiale des huiles en tocophérols et donc au ratio de PBN et de tocophérols (Velasco et al. 2005).

Malgré les inconvénients évoqués, la méthode de spin trapping a été appliquée pour évaluer l'activité anti-radicalaire des antioxydants dans différents produits alimentaires comme par exemple la viande (Gatellier et al. 2000; Carlsen et al. 2001; Carlsen et al. 2003), le fromage (Kristensen & Skibsted 1999), la mayonnaise (Thomsen et al. 1999; Thomsen et al. 2000b) ou les huiles végétales (Thomsen et al. 2000a; Velasco et al. 2004).

Plus récemment, le spin trapping connaît un nouveau développement grâce à l'association des techniques RPE et de chromatographie liquide haute performance, éventuellement couplée à la spectrométrie de masse. Il est alors possible d'obtenir des informations précises sur la nature des radicaux lipidiques piégés sous forme d'adduits.

L'efficacité des antioxydants peut aussi être évaluée grâce à la méthode spin trapping en déterminant une phase de latence (« lag time ») (Figure 25) pendant laquelle les antioxydants endogènes de l'huile (par exemple les composés phénoliques) éliminent progressivement les radicaux lipidiques jusqu'à épuisement de leur capacité (Rohn & Kroh 2005; Papadimitriou et al. 2006). Après cette phase de latence, les radicaux vont interagir avec le spin trap présent dans le milieu et former des adduits de spin.

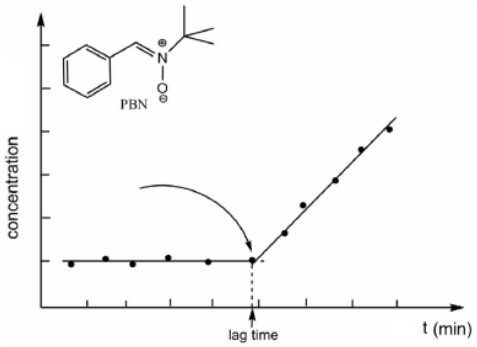


Figure 25. Mise en évidence d'une phase de latence correspondant au moment de l'épuisement des antioxydants endogènes de l'huile, suivie par la formation des adduits de spin (d'après Rohn & Kroh 2005).

Ainsi, le temps de latence représente la mesure de l'efficacité des antioxydants et peut être corrélé à la stabilité des aliments pendant le stockage.

I. 4. 3. 5. Spin Scavenging

Comme mentionné précédemment, la plupart des radicaux impliqués dans les réactions d'oxydation ont une durée de vie très courte. Cependant, certains composés radicalaires peuvent être très stables et ceci grâce à leur structure ou conformation. Il s'agit par exemple des radicaux de type 1,1-diphényl-2-pycril-hydrazil (DPPH), 2,6-di-*tert*-butyl-α-*p*-tolyoxyl (galvinoxyle) ou encore des radicaux de type nitroxyle tel que le 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpipéridine-1-oxyl (TEMPO), l'acide 5-doxyl stéarique et ou l'acide 16-doxyl stéarique (Rohn & Kroh 2005).

Le « spin scavenging » correspond à la réaction d'un de ces composés radicalaires stable avec des radicaux présents dans leur environnement (Figure 26), et permet d'étudier la réactivité des radicaux.

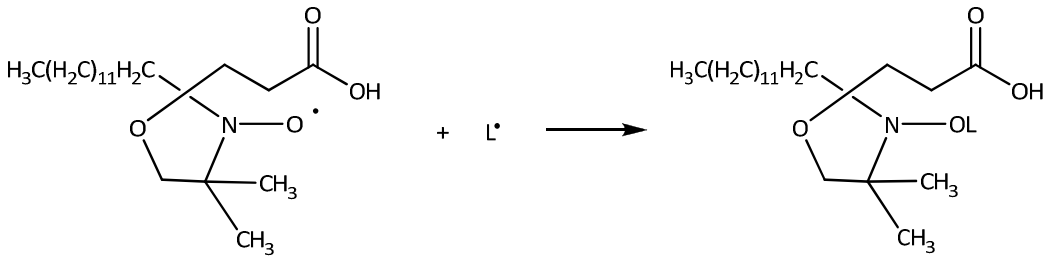


Figure 26. Formation d'une espèce non-paramagnétique suite à l'interaction d'un radical libre stable (acide 5-doxyl stéarique) avec un radical lipidique L• (d'après Andersen et al. 2005).

L'approche de cette méthode est basée sur les propriétés bien connues des radicaux synthétiques nitroxyles, qui leur permettent de réagir rapidement avec les radicaux centrés sur le carbone (10^8 à 10^9 $M^{-1}.s^{-1}$) pour former des produits diamagnétiques *via* recombinaison radical-radical (Bowry & Ingold 1992; Lardinois et al. 2009). La méthode de spin scavenging pourrait ainsi être comparée à la phase de terminaison du phénomène d'oxydation entre les radicaux lipidiques et les radicaux nitroxyles (réactions 31 et 32).

$$NO^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow NOL \quad (31)$$

$$NO^{\bullet} + LO^{\bullet} \rightarrow NOOL \quad (32)$$

La caractérisation et l'identification des produits formés sont rendues possible à l'aide de la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (CLHP-MS) (Koshiishi et al. 2006).

Cette approche a été utilisée par Wright et English (2003) pour examiner les sites de formation des radicaux protéiques dans la myoglobine et la cytochrome c peroxydase exposées au peroxyde d'hydrogène (Wright & English 2003).

Le spin scavenging utilisant le radical nitroxyle TEMPO a permis d'étudier l'effet de la température et de la lumière sur la vitesse de formation des radicaux dans le fromage

(Kristensen & Skibsted 1999). Les résultats obtenus par la méthode de spin scavenging sont en accord avec ceux obtenus par le spin trapping et ont montré que l'exposition à la lumière est un facteur plus important dans l'étape de formation des radicaux que le facteur température. Plus tard, Grattard et al. (2002) ont utilisé le spin scavenging pour suivre l'état d'oxydation d'une huile de lin encapsulée dans une matrice solide de maltodextrine (Grattard et al. 2002).

Le spin scavenging est également utilisé pour étudier l'activité des antioxydants. Deux paramètres différents peuvent alors être déterminés à partir de la cinétique de dégradation des radicaux nitroxyles (Figure 27) (Rohn & Kroh 2005): (i) le potentiel antioxydant représente la vitesse de dégradation du radical. Celle-ci est déterminée par la mesure de la quantité de radical dégradée pendant la première minute de la réaction en présence d'une concentration constante en antioxydant. Le potentiel antioxydant est alors décrit comme étant un phénomène cinétique et est exprimé en µmol de radical dégradé par minute (Rohn & Kroh 2005). (ii) la capacité antioxydante correspond à la concentration de radical consommé après un certain temps par une concentration donnée en antioxydant (Figure 27), par exemple à 15 minutes. Le résultat est exprimé dans ce cas en µmol de radical dégradé par µmol d'antioxydant.

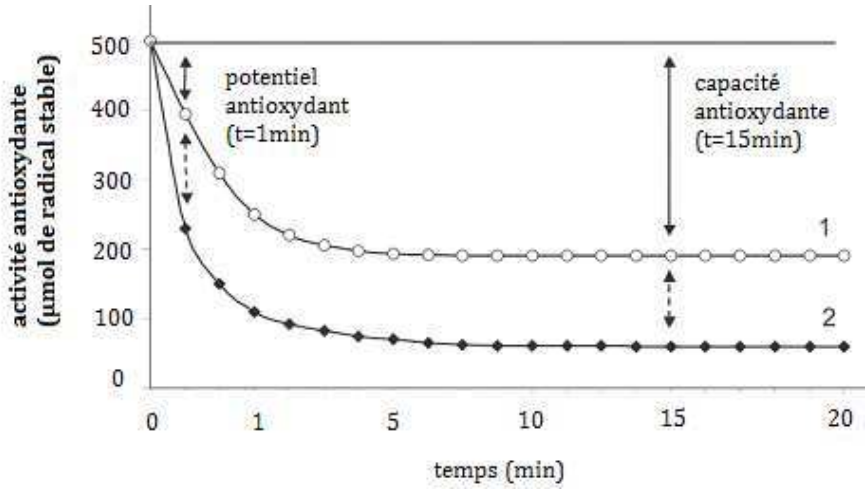


Figure 27. Cinétique de disparition d'un radical stable en présence de deux antioxydants différents (1 et 2) (d'après Rohn& Kroh 2005).
Potentiel antioxydant exprimé en µmol de radical consommé par minute.
Capacité antioxydante exprimée en µmol de radical consommé par µmol d'antioxydant.

La réactivité d'autres radicaux stables comme le DPPH et TEMPOL a été suivie pour étudier l'activité des antioxydants dans le cas de la bière (Andersen & Skibsted 1998; Andersen & Skibsted 2007; Andersen Mogens & Skibsted Leif 2007), le vin (Stagko et al. 2002; Stagko et al. 2006) et le thé (Polovka et al. 2003b).

I. 5. PARAMETRES CINETIQUES DES REACTIONS D'OXYDATION DES LIPIDES

I. 5. 1. Méthodes de détermination des paramètres cinétiques

Dans son sens le plus général, un modèle est une représentation bien définie et bien organisée d'un aspect du monde réel (phénomène physique ou chimique) auquel on s'intéresse. Les modèles mathématiques permettent d'étudier quantitativement et de hiérarchiser les différents facteurs influençant les phénomènes étudiés et d'élucider les relations ou interactions existant entre eux. Hors leurs vertus simplificatrices et explicatives, ces modèles sont aussi développés pour prédire l'évolution d'un système dans des conditions opératoires non nécessairement testées expérimentalement (Van Boekel 2008). En fonction de leur objectif, les modèles peuvent être classifiés en modèles conceptuels, mécanistiques ou empiriques (Van Boekel 2008).

L'objectif associé au développement d'un modèle mécanistique est de pouvoir suivre les cinétiques d'oxydation et de disposer de paramètres cinétiques tels que les énergies d'activation et les constantes de vitesse dans le but d'essayer de prédire la stabilité oxydative des huiles lors d'un traitement thermique, du stockage ou encore pendant la manipulation de celles-ci par le consommateur. Certains de ces paramètres sont disponibles dans la littérature, mais leurs valeurs présentent parfois une large dispersion (Mukai & Okauchi 1989; Özilgen & Özilgen 1990; Antunes et al. 1996; Tan et al. 2001; Choe & Min 2006; Tavadyan et al. 2007). La différence entre ces valeurs peut s'expliquer par la complexité de composition ou de structure des systèmes étudiés dont la composition en acides gras, ou encore par les différentes méthodes d'analyse utilisées, qui ne sont pas toujours suffisamment précises.

Comme nous l'avons évoqué dans le paragraphe I.1, l'avancement des réactions d'oxydation peut être influencé par de nombreux facteurs intrinsèques relatifs à la composition et à la structure du produit (activité de l'eau, disponibilité de l'oxygène, pH du milieu, présence d'enzymes, composition en AGPI, composition en antioxydants, …), mais aussi par des facteurs environnementaux (profil temps-température pendant la transformation de l'aliment, température de stockage, humidité, pression, niveau d'exposition à la lumière) qui surviennent généralement au cours des processus de transformation des aliments (Labuza & Schmidl 1985; Croguennec 2006). Tous ces facteurs peuvent influencer conjointement et parfois de manière imprévisible le phénomène étudié et leur couplage est souvent difficile à étudier. L'utilisation de modèles mathématiques est dans ce cas une solution idéale pour diminuer la charge expérimentale associée à ces études (test de vieillissement au cours du stockage, tests d'oxydation accélérée, étude de l'influence des paramètres de formulation).

En 1990, Özilgen et al. ont proposé un modèle qui permet de caractériser l'avancement des réactions d'oxydation des lipides dans les aliments d'origine animale. Ce modèle, adapté aux réactions d'oxydation, prend la forme de l'équation différentielle suivante :

$$\frac{dC}{dt} = kC\left[1 - \frac{C}{C_{\max}}\right] \qquad \text{Équation 1}$$

où C est la concentration totale des produits d'oxydation ; C_{max} est la valeur maximale atteinte par la concentration C en fin d'oxydation ; k est la constante de vitesse de la réaction et t est le temps.

Si $C<<C_{max}$, alors le terme $1-C/C_{max}$ de l'équation 1 est proche de 1 et l'équation devient :

$$\frac{dC}{dt} = kC \qquad \text{Équation 2}$$

Dans l'étape finale de l'oxydation, quand $C=C_{max}$, le terme $1-C/C_{max}$ tend vers zéro, décrivant un ralentissement du processus d'oxydation.

I. 5. 2. Influence de la température sur les paramètres cinétiques

La température est l'un des facteurs les plus influents sur la stabilité de nombreux produits. La loi d'Arrhenius (Equation 3) proposée en 1901, développée sur la base de réactions moléculaire réversibles, est vérifiée empiriquement pour une large gamme de phénomènes physiques et chimiques complexes se produisant dans les aliments (Labuza & Riboh 1982). Elle permet le calcul de la constante de vitesse d'une réaction selon :

$$k = k_0 \cdot e^{\frac{-E_a}{RT}} \qquad \text{Équation 3}$$

où R est la constante des gaz parfaits (8,31 $J.K^{-1}.mol^{-1}$) ; T est la température (K); Ea est l'énergie d'activation ($J.mol^{-1}$) et k_0 est un facteur pré exponentiel.

Lorsque la relation d'Arrhenius est respectée, une relation linéaire est observée entre ln(k) et l'inverse de la température (1/T). Ainsi, en mesurant la vitesse d'une réaction à trois températures différentes au minimum, une interpolation est possible pour déterminer la vitesse de la réaction à toute autre température souhaitée, mais dans ce cas, une approche statistique rigoureuse est essentielle pour évaluer l'exactitude des données interpolées. Cette approche utilisant la loi d'Arrhenius n'est valide que si les facteurs de composition et les facteurs environnants (à l'exception de la température) sont constants.

Des comportements n'obéissant pas à la loi d'Arrhenius ont été observés à des températures négatives. Ce phénomène pourrait s'expliquer par le fait qu'autour de ces températures, l'évolution du système alimentaire est influencé par des nombreux facteurs et varie en fonction de la température (Calligaris et al. 2004):

En fait, en-dessous des températures de congélation, de nombreux phénomènes dépendant de la température tels que la concentration du soluté, les changements des propriétés physico-chimiques (solubilité des réactifs, force ionique, pH, activité de l'eau, viscosité), la dénaturation des protéines et la transition de phase des composants à cristalliser (eau, sucre, lipides) peuvent avoir lieu (Parker & Ring 1995; Fennema 1996; Champion et al. 1997). Ces événements peuvent compliquer l'effet direct de la température sur la constante de vitesse d'une réaction, ce qui rend la variation de cette constante non descriptible par la loi d'Arrhenius.

Quelques exemples de l'application de l'équation Arrhenius sont reportés dans le Tableau 10 (Manzocco et al. 2010).

Tableau 10. Exemples de l'application de l'équation Arrhenius pour décrire la dépendance des réactions d'oxydation à la température (adapté de Manzocco et al. 2010).

Indice	***E_a kJ.mol^{-1}***	***Référence***
Formation des hydroperoxydes	24-240	Huile de tournesol (Calligaris et al. 2004) Huile de colza encapsulé (Orlien et al. 2006) Huile d'olive extra vierge (Calligaris et al. 2005) Huile de saumon (Huang & Sathivel 2008)
Formation des diènes conjugués	65-114	Produits à base d'amandes (Tazi et al. 2009)
Formation des composés volatils	34-194	Huile de tournesol (Calligaris et al. 2004) Huile d'olive extra vierge (Calligaris et al. 2005) Lait en poudre (Thomsen et al. 2005)
Formation des TBARS	61-100	Produits à base d'amandes (Tazi et al. 2009)

On peut observer que pour une même série de réactions, les intervalles de variation des énergies d'activation sont larges. Ces variations peuvent être attribuées à la différence de composition des systèmes étudiés et aux facteurs environnementaux (température, pH…) non contrôlées pendant ces études. En particulier, dans la plupart des études de la littérature, la température est supposée constante pendant la mesure des cinétiques d'oxydation ce qui est rarement le cas dans la pratique. La relation entre la constante de vitesse et la température est alors traduite par l'équation 1.

Cependant, il est possible de prendre en compte l'influence d'une variation de température sur les constantes de vitesse en définissant une valeur de constante dépendant du temps selon l'équation suivante :

$$k(t) = k_0 \cdot e^{\frac{-E_a}{RT(t)}}$$

Équation 4

Néanmoins, si la cinétique de variation de température n'est pas parfaitement maitrisée ou caractérisée, cela complique l'intégration des équations différentielles prédisant l'évolution des concentrations en espèces dans le système et l'identification ultérieure des paramètres E_a et k.

La mise à disposition des constantes de vitesse pour des réactions radicalaires est essentielle pour faire progresser la démarche de modélisation. Le Tableau 11 résume les ordres de grandeur des constantes cinétiques impliqués dans le phénomène d'auto-oxydation ainsi que les énergies d'activation (E_a) associées aux réactions et trouvées dans la littérature. Les méthodes d'obtention de ces données cinétiques ne sont pas toujours disponibles dans les articles ou restent floues. Notre objectif n'est pas de s'attarder sur ces méthodes, malgré leur rôle fondamental dans la validité des constantes définies, mais plutôt de recenser toutes les données disponibles dans la littérature pour disposer d'ordres de grandeur des paramètres cinétiques pour les réactions auxquelles nous nous intéressons dans le développement du modèle stoechio-cinétique.

Tableau 11. Constantes de vitesses recensées dans la littérature pour les réactions d'auto-oxydation des acides gras insaturés, en présence ou non d'antioxydants.

Réactions	Conditions	k[a]	Ea kJ.mol^{-1}	Références
		INITIATION		
LH $\rightarrow$ L$^{\bullet}$ + H$^{\bullet}$	180 °C	$1{,}0 \times 10^{-5}$		(Silvagni et al. 2010)
$Me^{(n+1)+}$ + LH $\rightarrow$ Me^{n+} + H^{+} + L$^{\bullet}$	-	1×10^{-3}	63	(Abuja et al. 1997)
LH + O_2 $\rightarrow$ L$^{\bullet}$ + HOO$^{\bullet}$	40°C	$2{,}2 \times 10^{-10}$	146-273	(Privet et al. 1962) (Min & Boff 2002)
	50°C	$1{,}6 \times 10^{-9}$		
LH + O_2 $\rightarrow$ LOOH	-	5.8×10^{-11}		(Kasaikina et al. 1999)
LOOH $\rightarrow$ LO$^{\bullet}$ + OH$^{\bullet}$	40°C	$1{,}2 \times 10^{-8}$	184	(Chan et al. 1982; Tavadyan et al. 2007; Silvagni et al. 2010)
	50°C	$3{,}3 \times 10^{-8}$		
	180 °C	$4{,}4 \times 10^{-4}$		
LOOH + Me^{n+} $\rightarrow$ LO$^{\bullet}$ + OH^{-} + $Me^{(n+1)+}$	-	$1{,}5 \times 10^{3}$	80	(Akoh et Min, 2008)
LOOH + LH $\rightarrow$ LO$^{\bullet}$ + L$^{\bullet}$ + H_2O	-	2.3×10^{-7}		(Kasaikina et al. 1999)
LOOH + LOOH $\rightarrow$ LOO$^{\bullet}$ + LO$^{\bullet}$ + H_2O	-	2.4×10^{-6}		(Kasaikina et al. 1999)
		PROPAGATION		
L$^{\bullet}$ + O_2 $\rightarrow$ LOO$^{\bullet}$	40 °C	$1{,}0 \times 10^{8}$	0-5	(Ragnarsson & Labuza 1977; Barclay et al. 1989; Salvador et al. 1995; Antunes et al. 1996; Tan et al. 2002; Tavadyan et al. 2007)
	50°C	$1{,}0 \times 10^{9}$		
	-	10^{5} - 10^{10}		
LOO$^{\bullet}$+ LH $\rightarrow$ LOOH + L$^{\bullet}$	40 °C	10	10-26	(Howard 1972; Ragnarsson & Labuza 1977; Tavadyan et al. 2003; Tavadyan et al. 2007)
	65°C	13,6		
	LOO°+L_BH (37 °C)	$1{,}2 \times 10^{3}$		(Hasegawa & Patterson 1978; Barclay et al. 1989; Iuliano et al. 1995; Tavadyan et al. 2007)
	LOO°+L_CH (37 °C)	$1{,}7 \times 10^{3}$		
	-	$9{,}0 \times 10^{-3}$		
	-	18,05		

[a] - Les valeurs des constantes de vitesse sont exprimées en $M^{-1}.s^{-1}$ pour les réactions bimoléculaires et en s^{-1} pour les réactions monomoléculaires.
LH, acide gras; L_AH, acide oléique; L_BH, acide linoléique; α-Toc, alpha-tocophérol.

Réactions	Conditions	k[a]	Ea kJ.mol^{-1}	Références
$L_AOO^{\bullet} + L_AOO^{\bullet} \rightarrow L_AO^{\bullet} + L_AOH + O_2$	40°C	$2,0 \times 10^7$	5	(Tavadyan et al. 2007)
	50°C	$2,14 \times 10^7$		
$LO^{\bullet} + LH \rightarrow LOH + L^{\bullet}$	37°C	$3,8 \times 10^6$		(Small et al. 1979; Erben-Russ et al. 1987; Salvador et al. 1995; Tan et al. 2001; Tavadyan et al. 2007; Doktorov et al. 2008)
	37°C	$8,8 \times 10^6$		
	40°C	$1,27 \times 10^7$		
	50°C	$1,49 \times 10^7$		
TERMINAISON				
$L^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow LL$	40°C	$1,0 \times 10^9$	5	(Heaton & Uri 1961; Small et al. 1979; Vernon 1996; Vernon 1998)
	50°C	$1,0 \times 10^9$		
	37 °C	$1,0 \times 10^6$		
$L^{\bullet} + LOO^{\bullet} \rightarrow LOOL$	40°C	$1,0 \times 10^8$	1	(Small et al. 1979; Denisov 2000; Tavadyan et al. 2007; Doktorov et al. 2008; Silvagni et al. 2010)
	37	$1,0 \times 10^5$		
$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \rightarrow LOOOOL$	40 °C	$1,0 \times 10^3$- $1,0 \times 10^7$	4	(Vernon 1998; Tavadyan et al. 2007)
$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \rightarrow LOOL+O_2$	-	1×10^4 - $1,0 \times 10^8$	5	(Kolakowska 2002)
INHIBITION PAR L'α-TOCOPHEROL				
α-Toc + $LOO^{\bullet} \rightarrow$ α-$Toc^{\bullet}$ + LOOH	40 °C	$1,85 \times 10^6$		(Simic 1981; Tavadyan et al. 2007)
	50 °C	$2,03 \times 10^6$		
α-Toc + $LO^{\bullet} \rightarrow$ α-$Toc^{\bullet}$ + LOH	40 °C	$1,0 \times 10^9$		(Tavadyan et al. 2007)
	50 °C	$1,0 \times 10^9$		
α-$Toc^{\bullet}$ + LH → α-Toc + $L^{\bullet}$	-	0,02 - 0,03		(Mukai & Okauchi 1989; Mukai et al. 1993; Tavadyan et al. 2007)
α-$Toc^{\bullet}$ + LOOH → α-Toc + $LOO^{\bullet}$	-	0.1–0.5	38	(Mukai & Okauchi 1989)
α-$Toc^{\bullet}$ + $LOO^{\bullet} \rightarrow$ α-Toc-OOL	-	2.5×10^6		(Kaouadji et al. 1987; Brimberg & Kamal-Eldin 2003)
2 α-$Toc^{\bullet} \rightarrow$ α-Toc-dimère	-	$3 \times 10^3 – 5 \times 10^5$		(Burton et al. 1985)

[a] - Les valeurs des constantes de vitesse sont exprimées en $M^{-1}.s^{-1}$ pour les réactions bimoléculaires et en s^{-1} pour les réactions monomoléculaires.
LH, acide gras; L_AH, acide oléique; L_BH, acide linoléique; α-Toc, alpha-tocophérol.

I. 6. Conclusion

Les acides gras insaturés sont la cible des phénomènes d'oxydation. L'oxygène moléculaire dans son état fondamental ($^3O_2$) est peu réactif et ne se fixera sur les acides gras qu'après une étape d'initiation induite par les radicaux libres, la lumière, la chaleur ou encore la présence d'enzymes ou d'ions métalliques. Une fois le phénomène d'oxydation déclenché, une chaîne de réactions se produit et donne naissance à un grand nombre de produits responsables de la perte de qualité nutritionnelle et/ou organoleptique des aliments. L'étude des mécanismes d'oxydation lipidique et des moyens de la prévenir par les antioxydants connaît depuis plusieurs années un regain d'intérêt dû aux implications de ces phénomènes dans le domaine de la nutrition et de la santé.

L'oxydation des lipides, à laquelle les huiles sont sensibles, est un phénomène radicalaire qui se produit selon des mécanismes et des voies réactionnelles complexes. Les produits d'oxydation primaires résultant de l'oxydation des acides gras insaturés sont les hydroperoxydes qui se décomposent rapidement en de nombreux produits secondaires (aldéhydes, cétones, hydrocarbures, …) et qui contribuent à propager des dommages vers d'autres molécules comme les protéines, les acides nucléiques et les autres composés lipidiques.
L'oxydation des lipides peut être évaluée de plusieurs manières, par suivi des substrats oxydables et des produits d'oxydation. Chaque méthode présente des avantages et des inconvénients. Il est donc important de choisir la (ou les) méthode(s) la(les) plus adéquate(s), selon le système que l'on étudie et l'état d'oxydation attendu. L'utilisation de plusieurs méthodes est fortement recommandée.

Grâce aux nombreuses méthodes disponibles, il est possible de constater et quantifier l'oxydation des lipides, mais il est encore impossible de prédire avec précision l'évolution des réactions. Le développement de modèles stoechio-cinétiques en tant qu'outils prédictifs est une solution qui apparaît pertinente pour réduire les essais expérimentaux pour chaque nouveau couple produit/procédé. Cependant, cela suppose de disposer des constantes de vitesse et des énergies d'activation pour les réactions considérées. Si ces données sont parfois disponibles dans la littérature, elles présentent une grande dispersion.

II. 2. MATERIELS ET METHODES

II. 1. Standards, réactifs et solvants

Standards

L'acide chlorogénique 99 % et le trans, trans 2,4-décadiénal proviennent de Acros Organics (Noisy-Le-Grand, France). L'α-tocophérol ≥ 97 % a été fourni par Fluka (Saint-Quentin-Fallavier, France), le ß-tocophérol ≥ 95 %, le γ-tocophérol ≥ 96 % et le δ- tocophérol 90 % par Merck (Fontenay-sous-Bois, France).

Réactifs

L'hydroxyde de sodium 97 %, l'iodure de potassium 99 %, l'acide chloridrique 37 % (pureté 99 %) , le thiosulfate de sodium pentahydraté 99 % proviennent de Carlo Erba (Val-de-Reuil, France). L'alumine type WN-3, la para-anisidine 99 %, l'acide 5-doxyle stéarique et le N-tert-Butyl-α-phénylnitrone 98 % sont fournis par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France). L'acide acétique glacial 99,5 % provient de Fluka Biochemika (Saint Quentin-Fallavier, France).

Solvants

L'acétonitrile 99,9 % qualité CLHP, l'acide acétique glacial 99,8 % CLHP, l'éthanol 99,8 % CLHP, l'éther de pétrole 35°-60°, le N-heptane 99,2 % CLHP, l'hexane > 98 % CLHP, l'isopropanol 99,5 % CLHP, l'isopropanol qualité analyses, le tétrahydrofurane 99,8 % CLHP et l'isooctane > 99,5 % grade spectroscopie proviennent de Carlo Erba (Val-de-Reuil, France). Le 1-décanol 99 % et l'acide 5-doxyle stéarique ont été fournis par Sigma-Aldrich (Saint-Quentin-Fallavier, France). L'eau ultra pure pour applications CLHP est obtenue par un système de filtration Millipore Elix (Saint-Quentin-en-Yvelines, France) puis est purifiée à travers un dispositif Millipore Simplicity 185, afin d'obtenir une résistivité de l'eau de 18,3 MΩ/cm.

II. 2. Matériels

II. 2. 1. Nature et composition des huiles

L'huile de tournesol, de qualité alimentaire, a été achetée chez un distributeur local sous la marque de ce distributeur (Cora, France). Les huiles de tournesol oléique et de colza ont été fournies par Lesieur (Coudekerque, France). Toutes les huiles provenaient du même lot (même date et même heure de conditionnement). Selon les analyses réalisées par Lesieur, 100 g d'huile de tournesol Cora contiennent 26 g d'acides gras mono-insaturés (AGMI) et 62 g d'acides gras polyinsaturés (AGPI). 100 g d'huile de tournesol oléique Lesieur contiennent 82 g AGMI et

environ 9 g AGPI. 100 g d'huile de colza Lesieur contiennent 64 g AGMI et 27 g AGPI. Les caractéristiques et la composition chimique des huiles sont détaillées dans le Tableau 12.

Tableau 12. Caractéristiques physico-chimiques et composition en acides gras et tocophérols des huiles de tournesol, de tournesol oléique et de colza.

		Huile de tournesol Cora	Huile de colza Lesieur	Huile de tournesol oléique Lesieur
Composition en acides gras (g/100 g d'huile)				
Myristique	C14 :0	0,07	0,04	0,03
Palmitique	C16 :0	5,92	4,46	3,59
Palmitoléique	C16 :1	0,09	0,21	0,08
Stéarique	C18 :0	4,14	1,6	3,22
Oléique	C18 :1	26,04	63,53	82,33
Linoléique	C18 :2	62,27	18,83	8,79
Linolénique	C18 :3	0,06	8,1	0,07
Arachidique	C20 :0	0,26	0,56	0,28
Gadoléique	C20 :1	0,13	1,32	0,24
Béhénique	C22 :0	0,66	0,33	0,97
Erucique	C22 :1	-	0,4	-
Lignocérique	C24 :0	0,19	0,16	0,32
	AGS	11,27	7,18	8,44
	AGMI	26,29	65,67	82,69
	AGPI	62,34	27,06	8,86
Indice de peroxyde (meq O_2/kg huile)		3,5	0,45	0,61
Polymères (g/100g huile)		0,36	0,09	0,01
Composés polaires (g/100g huile)		2,5	1,4	3,1
Teneur en tocophérols (mg/100g d'huile)				
	Alpha-tocophérol	44,24	26,05	56,04
	Alpha-tocotriénol	0,05	0,04	0,06
	Beta-tocophérol	1,75	0,16	2,35
	Gamma tocophérol	0,33	34,83	1,03
	Gamma tocotriénol	0,05	0	0,09
	Tocophérols totaux	46,52	62,06	59,75

AGS - acide gras saturé; AGMI - acide gras mono-insaturé; AGPI - acide gras polyinsaturé;

II. 2. 2. Purification des huiles

La purification a pour but d'éliminer les composés polaires présents dans les huiles, c'est-à-dire les acides gras libres, les traces de pro-oxydants comme les peroxydes et les antioxydants, ceci afin de maîtriser au mieux la composition initiale de ces huiles. La purification est effectuée d'après la méthode de Yoshida et al. (1992), adaptée par Soto au laboratoire en 2007. Elle repose sur une technique de purification d'une huile sans solvant basée sur une filtration sous pression réduite.

600 g d'alumine disposés dans 3 cristallisoirs sont séchés à l'étuve à 200 °C pendant 6h puis placés dans un dessiccateur jusqu'à refroidissement (l'alumine chaude pourrait favoriser l'oxydation de l'huile). 200 g d'alumine sont ensuite placés dans un filtre (système de type Büchner) ; ils permettront de filtrer 600 g d'huile sous vide à une pression initiale égale à 100 mbar. Progressivement au cours de la filtration, la pression est ramenée à 75 puis 10 mbar. L'opération de filtration est réitérée deux fois avec à chaque fois 200 g d'alumine activée fraîche.

L'huile purifiée doit être transparente, exempte de traces d'alumine et inodore. Une fois l'étape de purification terminée, les huiles sont placées sous flux azote pendant 15 minutes de façon à chasser l'oxygène de l'espace de tête. Elles sont ensuite conservées à 4 °C pendant une semaine au maximum, période pendant laquelle leur stabilité oxydative a été vérifiée. Les huiles purifiées sur alumine présentent la même composition en acides gras que les huiles commerciales (Tableau 12). L'absence de tocophérols résiduels est vérifiée par une analyse par chromatographie liquide haute performance couplée à une détection UV (cf § II.7.1).

II. 2. 3. Préparation des huiles enrichies en antioxydants

II. 2. 3. 1. Préparation de l'échantillon enrichi en α-tocophérol

0, 17 g d'α-tocophérol sont pesés dans une fiole jaugée de 20 mL qui est ensuite complétée avec de l'isopropanol. La solution est agitée au vortex (Heidolph TOP-MIX 94323, Fisher Bioblock Scientific, Vaulx Milieu, France) à vitesse maximale pendant 2 minutes, puis placée dans un bain à ultrasons (Bransonic 3510E-MTH, Branson Ultrasons, Annemasse, France) pendant 10 minutes. La concentration en α-tocophérol de la solution est de $14{,}9 \cdot 10^{-4}$ mol. L^{-1}. 3,35 mL de cette solution sont ajoutés à 40 g d'huile purifiée puis l'ensemble est mélangé. L'isopropanol est ensuite évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor RE 120 de Büchi, Rungis, France) sous pression réduite (90 mbar) à 40 °C. Il a été vérifié qu'au cours de cette étape d'évaporation il n'y avait pas d'oxydation des AGI de l'huile.

II. 2. 3. 2. Préparation de l'échantillon enrichi en α-tocophérol et en acide chlorogénique

0, 17 g d'alpha-tocophérol et 0,14 g d'acide chlorogénique sont pesés dans une fiole jaugée de 20 mL qui est ensuite complétée avec de l'isopropanol. La solution est agitée au vortex à vitesse maximale pendant 2 minutes, puis placée dans un bain à ultrasons pendant 10 minutes. La concentration des deux antioxydants est équimolaire et égale à $14{,}9 \cdot 10^{-4}$ mol.L^{-1}. 3,35 mL de la solution obtenue sont ajoutés à 40 g d'huile purifiée puis l'ensemble est mélangé. L'huile est agitée au vortex pendant 10 minutes à puissance maximale. L'isopropanol est ensuite évaporé sous pression réduite (90 mbar) à 40 °C à l'aide d'un évaporateur rotatif.

II. 2. 4. Préparation d'huiles oxydées

L'objectif de cette manipulation est de disposer d'un milieu lipidique contenant une concentration connue en hydroperoxydes. L'huile oxydée est préparée selon le protocole suivant : 50 g d'huile de colza purifiée sur alumine (cf § II.2.2) sont pesés dans un flacon en verre (50 mL) qui est fermé (bouchon à vis) puis placé dans une étuve à 50 °C pendant environ une semaine. Quotidiennement, des prélèvements de 2 g d'huile sont effectués et une

détermination de l'indice de peroxyde est réalisée, selon le protocole décrit dans le § II.6.3. L'oxydation de l'huile de colza purifiée est arrêtée une fois que la concentration en hydroperoxydes a atteint 11,8 mmol.L^{-1}. L'huile oxydée est ensuite aliquotée (aliquots de 1 g) dans des vials scertis qui sont stockés à –18 °C jusqu'au moment de leur utilisation. Des analyses sont effectuées chaque semaine de façon à vérifier que la concentration en hydroperoxydes n'évolue plus lors du stockage.

II. 2. 5. Production des hydroperoxydes

La production des hydroperoxydes a été réalisée en collaboration avec Aline Boussard (CNAM, UMR 1145, Equipe Calipro, AgroParisTech).

100 mL d'une solution d'acide linoléique (1 mmol.L^{-1} pH 9) sont introduits dans une cellule de 100 mL thermostatée à 30 °C, puis un extrait de lipoxygénase de soja est ajouté (300 nkat). L'ensemble est oxygéné par bullage en continu. La réaction est stoppée après 5 minutes par addition de 1 mL d'HCl (6 N). Les produits d'oxydation sont extraits par 3 fois 100 mL d'un mélange chloroforme/méthanol (2/1, v/v). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de sodium anhydre puis évaporées à sec sous vide. L'extrait sec est ensuite repris dans 10 mL du mélange chloroforme/méthanol (2/1, v/v). Cette solution est alors transférée dans un ballon rodé de 50 mL, de nouveau évaporé à sec et repris par 3 mL d'éthanol. Le spectre UV d'une solution diluée à 1/2000ème est établi entre 200 et 300 nm. La solution, répartie dans 3 tubes Eppendorf, est conservée sous azote à -20 °C.

II. 3. Traitement thermique des huiles

5 g d'huile purifiée ou enrichie en antioxydant(s) sont pesés avec précision dans un pilulier de rayon égal à 13,00 mm (volume 20 mL, diamètre externe 27 mm, hauteur 55 mm, Cloup, Champigny sur Marne, France). Les piluliers sont ensuite plongés dans un bain de silicone préalablement porté à une température donnée. Les températures de chauffage sont comprises entre 80 et 180 °C, précisément 80, 100, 120, 150 et 180 °C. Les huiles sont chauffées pendant 6 heures. A intervalles de temps réguliers (30 minutes ou 1 heure), un tube est prélevé. Un dosage de quelques composés primaires et secondaires d'oxydation est effectué sur chacun des échantillons prélevés. Chaque cinétique est répétée trois fois pour chacune des températures testées.

II. 4. Dispositif expérimental et équipements

Un dispositif expérimental est mis en place pour suivre de façon contrôlée la réactivité des huiles à haute température. Le système illustré schématiquement dans la Figure 28 est constitué d'un bain de silicone disposé sur un agitateur magnétique avec fonction chauffante (RCT classic

IKAMAG, VWR, Fontenay-sous-Bois, France). Un support grillagé plongé dans le bain de silicone sert à disposer les piluliers contenant l'huile à étudier.

La température du bain de silicone est contrôlée par un thermomètre à contact électronique muni d'une sonde PT-1000 et d'un régulateur PID (VT-5, VWR, Fontenay-sous-Bois, France).

L'homogénéisation de la température de l'huile de silicone est assurée par une agitation magnétique effectuée pendant toute la durée du chauffage. La validation du système est réalisée par le suivi de l'évolution de la température du bain de silicone et de la température de l'huile contenue dans les piluliers sur une durée supérieure à la durée des cinétiques (7 heures).

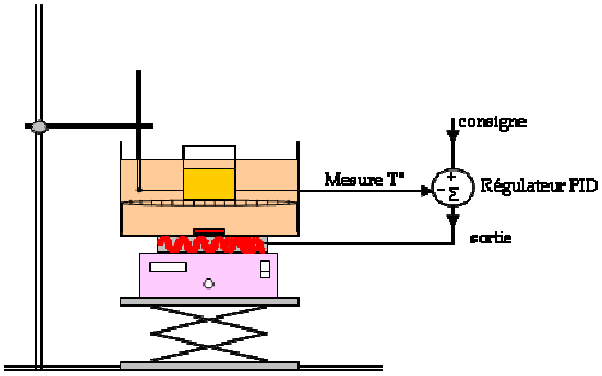


Figure 28. Schéma du dispositif expérimental de chauffage des huiles.

La température est mesurée à l'aide de thermocouples gainés type T (cuivre-nickel) qui travaillent dans une gamme de températures comprise entre –200 °C et +400 °C (précision ± 0,1 °C). Ces thermocouples sont reliés à une centrale d'acquisition des températures à 8 voies TC-08, de marque Pico Technology® (Technology Limited, Angleterre) (précision ± 0,5 °C), elle-même reliée à un ordinateur sur lequel un logiciel d'acquisition permet de visualiser et d'enregistrer les températures en temps réel. L'évolution de la température du bain de silicone pour les différentes températures étudiées montre qu'un certain temps est nécessaire pour atteindre la température de consigne (Figure 29). Cette durée est d'autant plus longue que la température de consigne est élevée. Elle est comprise entre 20 minutes pour arriver à une température de consigne égale à 80 °C et 37 minutes pour une température de consigne égale à 150 °.

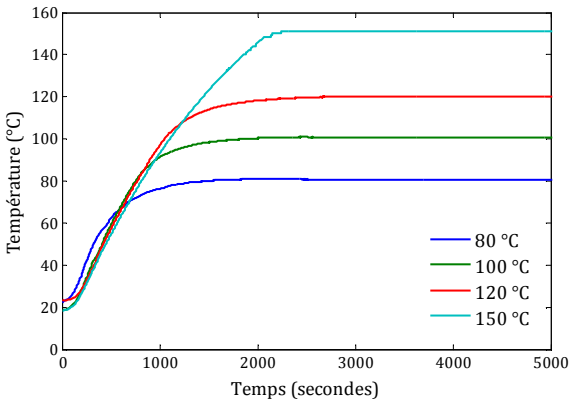


Figure 29. Evolution de la température de l'huile de silicone au cours de son chauffage, mené à 80, 100, 120 ou 150 °C.

Dès que la température du bain de silicone arrive à la température ciblée, celle-ci reste parfaitement stable tout au long du traitement puisque la variation observée n'est que de 1 °C. La température de l'huile contenue dans les piluliers est, en régime permanent, systématiquement inférieure de 5 degrés à la température cible (température régulée du bain de silicone) (Figure 30).

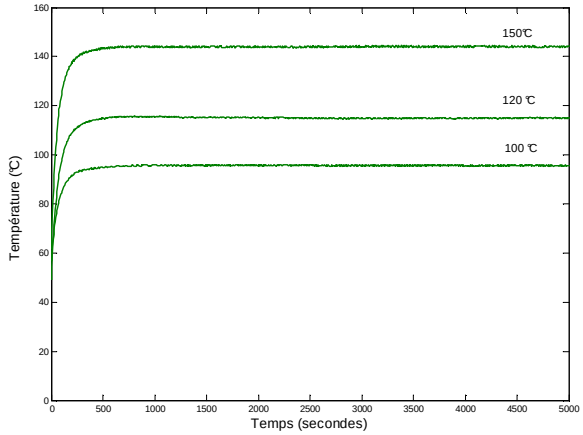


Figure 30. Evolution de la température de l'huile contenue dans les piluliers au cours du chauffage, mené à 100, 120 ou 150 °C.

Cette température est atteinte très vite (environ 7 minutes) et ne présente aucun changement significatif pendant toute la durée de l'expérience. Un deuxième système a été mis en place de la même manière pour permettre le traitement d'un plus grand nombre d'échantillons à la fois.

II. 5. Suivi des espèces radicalaires par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE)

L'étude des espèces radicalaires lipidiques a été menée en collaboration avec A-M. Riquet (INRA, UMR 1145, Equipe IMMC, AgroParisTech, centre de Massy).

II. 5. 1. Génération des radicaux lipidiques par photolyse

La génération des radicaux lipidiques par photolyse UV est réalisée à très basse température selon un protocole adapté de celui précédemment décrit par Zhu et Sevilla en 1989 (Zhu & Sevilla 1990).

0, 15 g d'huile de colza sont pesés dans un tube en quartz (0,5 mm x 178 mm, Wilmad-LabGlass, Interchim, Asnières, France). Le tube est ensuite plongé dans de l'azote liquide. Après environ 2 minutes, lorsque l'huile est complètement figée, le tube est irradié pendant 5 secondes à l'aide d'une lampe LC8-06 qui associe une lampe xénon et une lampe mercure à haute intensité UV (Hamamatsu Photonics France, Massy, France). La distribution spectrale de la lampe indique que la lampe n'émet qu'à 2% de sa capacité à 254 nm, longueur d'onde intéressante car susceptible d'amorcer les réactions radicalaires. Pour amorcer les réactions radicalaires, la procédure

d'irradiation est répétée 3 fois, avec remise de l'échantillon dans l'azote liquide entre chaque irradiation de façon à éviter la liquéfaction de l'huile.

Après irradiation, le tube RPE est introduit dans la cavité du spectromètre Bruker (Wissembourg, France) refroidie par une arrivée d'azote liquide afin de maintenir une température constante de l'échantillon. Les paramètres du spectromètre sont les suivants : champ central de 3412 G, largeur de balayage de 100 G, résolution de 1024 points, puissance des micro-ondes de 20 mW, modulation de l'amplitude de 1,0 G, modulation de la fréquence de 100 kHz ; temps de conversion de 1,28 s; constante de temps de 20,48 ms.

II. 5. 2. Génération des radicaux lipidiques par thermolyse

Les radicaux lipidiques générés par la température sont piégés soit par l'acide 5-doxyl-stéarique (DSNO•), soit par la N-tert-butyl-α-phénylnitrone (PBN) selon le protocole suivant : 10 µL de solution d'acide 5 doxyl-stéarique dans l'isopropanol (2,6 mmol.L^{-1}) ou de solution de N-tert-Butyl-α-phénylnitrone dans l'isopropanol (5,1 mmol.L^{-1}) sont ajoutés à 1 g d'échantillon d'huile et l'ensemble est agité au vortex (Heidolph TOP-MIX 94323, Fisher Bioblock Scientific, Vaulx Milieu, France) à la vitesse maximale pendant 10 secondes. 0,16 g du mélange sont pesés avec précision dans un tube RPE en verre (0,5 mm x 178 mm, VWR International) puis sont analysés 30 secondes après placement du tube dans la cavité RPE préalablement chauffée à 100 °C ou 110 °C à l'aide d'une unité de température variable (Brüker ER 411 VT). La température de l'huile contenue dans le tube RPE est enregistrée tout au long de l'expérience à l'aide de thermocouples gainés type T (cuivre-nickel, gamme de température –200 °C à 400 °C, précision de ± 0,1 °C). Le profil de température obtenu est représenté sur la Figure 31.

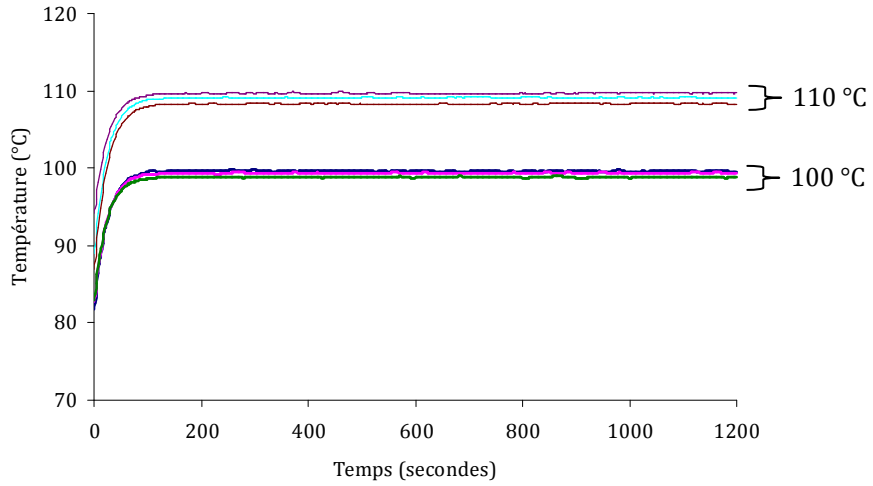


Figure 31. Evolution de la température de l'huile contenue dans les tubes RPE pendant le chauffage mené à 100 et 110 °C.

Un laps de temps de 30 secondes est nécessaire avant l'enregistrement des spectres afin d'étalonner le spectromètre Bruker RPE (Wissembourg, France). Les spectres RPE sont

enregistrés toutes les 1,28 secondes. Les paramètres suivants ont été utilisés pour toutes les mesures : champ central de 3412 G, largeur de balayage de 100 G, résolution de 1024 points, puissance des micro-ondes de 20 mW, modulation de l'amplitude de 1,0 G, modulation de la fréquence de 100 kHz, temps de conversion de 1,28 ms, constante de temps de 20,48 ms.

La formation des radicaux dans les huiles et leur piégeage par le DSNO• et le PBN se traduit par l'apparition d'un signal caractérisé par trois pics d'absorption. Les spectres sont analysés à l'aide du logiciel Winepr® et l'intensité maximale de la première raie est déterminée par la fonction peak peaking.

La stabilité des piégeurs DSNO• et PBN a été testée pendant 2000 secondes dans un substrat non oxydable (huile de silicone), de façon à s'assurer qu'il n'y avait aucune dégradation des piégeurs due à la température.

II. 6. Suivi des espèces non-radicalaires

Toutes les analyses sont réalisées trois fois. Les concentrations des espèces suivies sont exprimées en moles d'espèce formée par litre d'huile.

II. 6. 1. Dosage des acides gras par CPG-FID

La composition en acides gras des huiles est déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) selon la méthode officielle IUPAC (1992).

Les esters méthyliques des acides gras sont préparés selon le protocole suivant : une goutte d'huile (environ 10-15 mg) est pesée avec précision puis dissoute dans 1 mL d'une solution d'éther de pétrole contenant un standard interne (triglycéride homogène de l'acide heptadécanoique à 3 $mg.L^{-1}$). Le flacon est bouché hermétiquement, agité manuellement pendant 2 secondes, puis 200 µL de soude méthanolique (2 $mol.L^{-1}$) sont ajoutés. L'ensemble est agité manuellement pendant 10 secondes et placé dans un bain-marie à 50 °C pendant 20 secondes. Après une nouvelle agitation pendant 10 secondes, le flacon est débouché avec précaution et 400 µL d'acide chlorhydrique méthanolique (1 $mol.L^{-1}$) sont ajoutés. Après agitation et décantation des deux phases, 0,5 µL de la phase supérieure contenant les acides gras méthylés sont injectés en CPG-FID.

Les analyses sont réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse PR 2100 (Perichrome S.A.R.L., Saulx-les-Chartreux, France) équipé d'une colonne capillaire en silice greffée DB-WAX, 30 m x 0,32 x 0,5 µm, avec un gaz vecteur composé d'hydrogène à un débit de 1 $mL.min^{-1}$ et un détecteur à ionisation de flamme. La température du four est de 180 °C, la température de l'injecteur de 250 ° C et celle du détecteur de 250 ° C. Les résultats sont analysés avec le logiciel Winilab III® et les esters méthyliques des acides gras sont identifiés par comparaison de leur

temps de rétention avec ceux d'un mélange de référence. La quantification des acides gras est réalisée à l'aide de l'étalon interne.

II. 6. 2. Dosage des dienes conjugués

Le dosage des dienes conjugués (DC) est réalisé selon une méthode adaptée de la norme AFNOR NF T 60-223 afin de pouvoir traiter un plus grand nombre d'échantillons.

0,1 à 0,2 g d'huile sont pesés avec précision dans un tube à essai en polystyrène puis 10 mL d'isooctane sont ajoutés. L'échantillon est agité au vortex (Heidolph TOP-MIX 94323, Fisher Bioblock Scientific, Vaulx Milieu, France) pendant 20 secondes à la vitesse maximale. L'absorbance de la solution obtenue est mesurée à 234 nm à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption UV-Visible Uvikon 941 Plus de Serlabo Technologies (Entraigues-sur-la-Sorgue, France) piloté par le logiciel Kontron Instrument d'Uvikon. L'absorbance doit être comprise entre 0,2 et 0,8. Dans le cas où elle est supérieure à 0,8, une dilution au 1/6 ou au 1/10 dans l'isooctane est alors effectuée.

L'absorbance spécifique (AS) est calculée de la façon suivante :

$$Absorbance\ Spécifique = \frac{Absorbance_{234nm}}{\left(\frac{m_{g\ huile}}{\rho_{huile}} + V_{isooct.}\right)} \times 100$$

où : $Absorbance_{234nm}$ est la valeur de l'absorbance mesurée à 234 nm ; $m_{g\ huile}$ représente la masse d'huile (g) ; ρ_{huile} est la densité de l'huile et V_{isooct} correspond au volume (mL) d'isooctane ajouté dans le tube.

La concentration en dienes conjugués, exprimée en $mol.L^{-1}$ d'huile, est calculée à partir de cette valeur d'absorbance spécifique, en considérant un coefficient d'extinction molaire (ε) des dienes conjugués de 27 000 $mol^{-1}.L^{+1}.cm^{-1}$ (Corongiu et al. 1994).

$$C = \frac{AS \times 10^2 \times \rho_{huile}}{\varepsilon}$$

II. 6. 3. Détermination de l'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (IP) est mesuré selon un protocole adapté de la méthode officielle AOCS Cd 8-53 « Peroxide value acetic acid-chloroforme method », utilisant un titrateur Metrohm piloté par le logiciel Tiamo®.

0,5 à 2 g d'huile sont pesés dans un flacon en verre brun de 75 mL, puis 10 mL d'un mélange acide acétique/décan-1-ol (3/2, v/v) sont ajoutés. Le mélange est agité à l'aide d'un agitateur magnétique (IKA MAG RCT, Fisher Bioblock Scientific, Vaulx Milieu, France) pendant 30 secondes puis 1 mL d'iodure de potassium saturé est ajouté. Le mélange est de nouveau agité pendant 1 minute 30, puis 10 mL d'eau distillée sont ajoutés. La solution est mélangée sous

agitation magnétique pendant 1 minute, avant le titrage par du thiosulfate de sodium pentahydraté (0,01 mol.L^{-1}). L'indice de peroxyde est calculé selon l'expression suivante :

$$IP = \frac{(V_h - V_b) \times C_{Na_2S_2O_3}\left(mol \cdot L^{-1}\right) \times 1000}{m(g)}$$

où : V_h est le volume (mL) de thiosulfate de sodium versé dans la solution d'huile pour atteindre l'équivalence ; V_b est le volume (mL) de thiosulfate de sodium versé dans la solution témoin sans huile pour atteindre l'équivalence ; $C_{Na_2S_2O_3}$ correspond à la concentration de thiosulfate de sodium pentahydraté et m est la masse de l'échantillon (g).

II. 6. 4. Détermination de l'indice *p*-anisidine

L'indice *p*-anisidine est mesuré selon un protocole adapté de la méthode officielle AOCS Cd 18-90 « *p*-anisidine value ».

0,1 g d'huile sont pesés avec précision dans un tube en verre de 10 mL. 5 mL d'isooctane sont ensuite ajoutés. La solution est agitée au vortex (Heidolph TOP-MIX 94323, Fisher Bioblock Scientific, Vaulx Milieu, France) à la vitesse maximale pendant 10 secondes puis est placée dans un bain à ultrasons (3510E-MTH, Branson Ultrasons, Annemasse, France) pendant 30 secondes.

Par ailleurs, 0,25 g de *p*-anisidine sont pesés dans une fiole de 100 mL qui est ensuite complétée avec de l'acide acétique glacial. Le mélange est agité au vortex à la vitesse maximale pendant 10 secondes puis est placé dans un bain à ultrasons pendant 30 secondes.

1 mL de cette solution de *p*-anisidine est alors ajouté aux 5 mL de la solution d'huile. Après 10 minutes de réaction à l'abri de la lumière, l'absorbance de la solution d'huile contenant la *p*-anisidine est mesurée à 350 nm, en utilisant un mélange constitué d'isooctane (5 mL) et de *p*-anisidine (1 mL) comme solution de référence.

L'indice de *p*-anisidine (IpA) est ici exprimé en mol de 2,4-décadiénal par L d'huile. Pour cela, une gamme d'étalonnage du 2,4-décadiénal dans l'huile est réalisée afin de déterminer son coefficient d'extinction molaire (ε) (Figure 32).

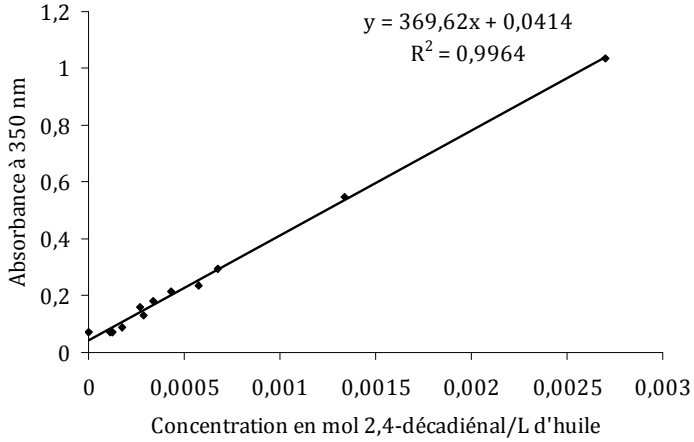


Figure 32. Courbe d'étalonnage du 2,4-décadiénal à 350 nm utilisée pour la mesure de l'indice p-anisidine

La concentration en aldéhydes de l'huile ($C_{aldéhydes}$) est exprimée en mol.L^{-1} d'huile, en équivalent 2,4-décadiénal. Elle est calculée à partir de l'absorbance à 350 nm de la solution d'huile, après réaction avec la *p*-anisidine, en considérant un coefficient d'extinction molaire (ε) de 369,62 mol^{-1}.L^{+1}.cm^{-1} selon la relation : $C_{aldéhydes}=A/\varepsilon l$

II. 6. 5. Mesure de la viscosité des huiles

La mesure de la viscosité est réalisée à l'aide d'un rhéomètre à cône plan, piloté par un logiciel Start Rheoplus2® Software d'Anton Paar. Une force de cisaillement est appliquée à environ 2,5 mL d'huile placés entre deux surfaces solides, sphériques et coaxiales, l'une fixe et l'autre rotative. La vitesse de cisaillement de la partie mobile du système est fixée à 50 s^{-1} et la température de travail à 10 °C, à l'aide d'un cryostat (Julabo, AWC-100, F25-HE) relié à la partie fixe du rhéomètre. Un programme permet de calculer directement la valeur de la viscosité dynamique (μ) du fluide newtonien à partir de la contrainte appliquée (τ) et la vitesse de cisaillement (D), selon la relation μ = τ / D. Une moyenne de 300 mesures de la viscosité (exprimée en Pa.s) réalisées pendant 30 secondes est calculée.

La viscosité est ensuite traduite en concentration en polymères lipidiques, exprimée en pourcent, selon la corrélation établie par Jean-Denis et al. (2001) (Jean-Denis et al. 2001):

$$\%\text{polymères} = 0{,}8785(\text{variation de la viscosité}^{45°C}) + 0{,}3977$$

Afin de pouvoir utiliser cette relation, la viscosité de nos échantillons mesurée à 10 °C, a été ramenée à une viscosité à 45 °C en utilisant la relation de type Arrhenius ci-après :

$$\eta(T) = A \cdot e^{\frac{E_a}{RT}}$$

Où η(T) représente la viscosité des huiles étudiées à la température T, A est une constante, E_a, est l'énergie d'activation, R est la constante de gaz parfaits (8,31 J.mol^{-1}.K^{-1}) et T est la température exprimée en degrés Kelvin. L'énergie d'activation a été établie en mesurant la viscosité de chacune des huiles à trois températures (10, 20 et 45 °C) et en exprimant le rapport des viscosités obtenues. La concentration en polymères de nos échantillons, obtenue en %, est ensuite ramenée à une concentration en dimères de triglycérides exprimée en mol.L^{-1}, en considérant une masse molaire de triglycérides de 1600 g.mol^{-1}.

II. 7. Quantification des antioxydants

II. 7. 1. Quantification des tocophérols par CLHP-BD

Les tocophérols sont analysés par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur UV-Visible à barrette de diodes (CLHP-BD), selon la méthode officielle NF ISO 9936 (octobre 2006).

II. 7. 1. 1. Système chromatographique

Le système chromatographique est constitué d'une pompe Waters 2695 couplée à un détecteur UV-Visible à barrette de diodes Waters 1996. Le système est piloté à l'aide du logiciel Empower2® software de Waters, et l'acquisition est réalisée par ce même logiciel. La phase stationnaire est une colonne de Silice 100 Diol (Lichrosphere, diamètre interne 4 mm × 250 mm, taille des particules 5 µm), thermostatée à 25 °C, et équipée d'une pré-colonne (13 mm) de caractéristiques similaires. La phase mobile est un mélange de n-heptane/tétrahydrofurane (96,15/3,85, v/v) élué en mode isocratique à un débit de 1 $mL.min^{-1}$.

II. 7. 1. 2. Etablissement des gammes d'étalonnage

Une gamme étalon est établie pour l'α et le γ-tocophérols, susceptibles d'être présents dans les huiles végétales de notre étude, à partir de deux solutions mères différentes, selon le protocole suivant : une masse de 5 mg de chaque tocophérol est pesée avec précision dans une fiole jaugée de 50 mL, qui est ensuite complétée par de l'hexane et agitée au vortex (Heidolph TOP-MIX 94323, Fisher Bioblock Scientific, Vaulx Milieu, France) à la vitesse maximale pendant 20 secondes. Cette solution est alors diluée au quart avec de l'hexane dans une fiole jaugée de 10 mL. Elle est ensuite agitée au vortex à la vitesse maximale pendant 20 secondes, puis placée dans un bain à ultrasons pendant 30 secondes. La solution est filtrée sur un filtre CLHP en nylon de 0,22 µm (AIT France, Houilles, France) avant d'être injectée en CLHP-BD afin d'établir une gamme d'étalonnage comprise entre 0,25 et 2,50 µg de composé injecté sur la colonne.
Les chromatogrammes des étalons de tocophérols sont reportés dans la Figure 33 et les courbes d'étalonnage de l'α- et du γ-tocophérols dans la Figure 34.

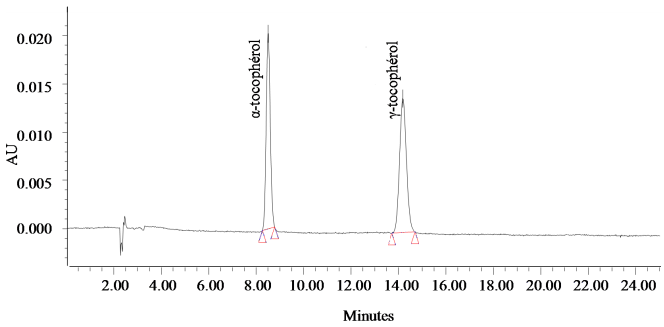
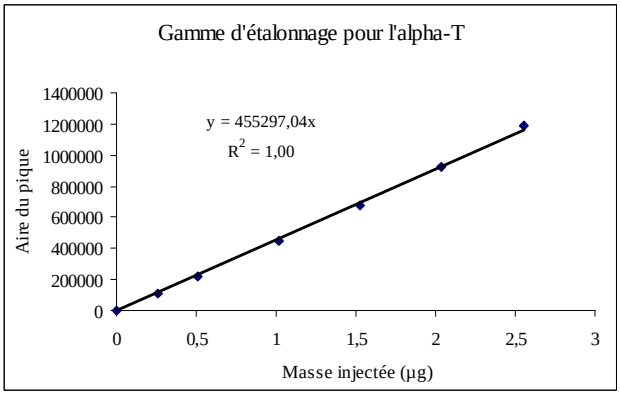


Figure 33. Chromatogramme CLHP des étalons α et γ-tocophérols établi à 298 nm.



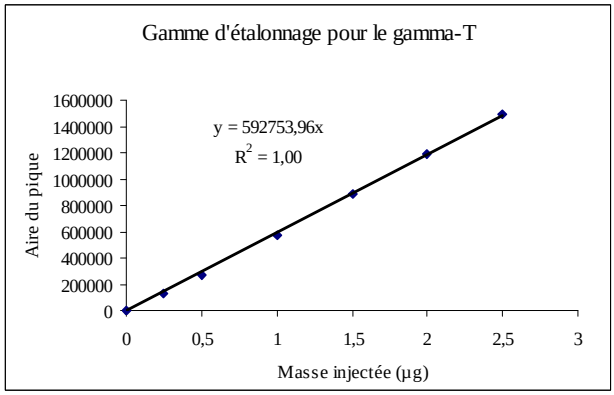


Figure 34. Courbes d'étalonnage de l'α- tocophérol et du γ- tocophérol établies par CLHP à 298 nm.

II. 7. 1. 3. Dosage des tocophérols dans l'huile

1 g d'huile est pesé avec précision dans une fiole jaugée de 10 mL puis la fiole est complétée par de l'hexane. La solution est agitée au vortex à la vitesse maximale pendant 10 secondes puis est placée dans un bain à ultrasons pendant 30 secondes. La solution est filtrée sur un filtre CLHP en nylon de 0,22 µm (AIT France, Houilles, France) puis 20 µL sont injectés en CLHP-BD.
La concentration en α- et γ-tocophérols des huiles est calculée à partir des gammes d'étalonnage établies précédemment.

II. 7. 2. Quantification de l'acide chlorogénique par CLHP-BD

L'acide chlorogénique est analysé par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur UV-Visible à barette de diodes (CLHP-BD), après extraction de l'antioxydant à partir de l'huile par extraction en phase solide (SPE).

II. 7. 2. 1. Système chromatographique

Le système chromatographique est constitué d'une pompe Waters 2695 couplée à un détecteur UV-Visible à barrettes de diodes (CLHP-BD) Waters 1996. Le système est piloté à l'aide du logiciel Empower2® software de Waters et l'acquisition est réalisée par ce même logiciel. La phase stationnaire est une colonne en phase inverse (Synergi 4 µm POLAR-RP 80 A, 150 ×3 mm). La phase mobile est constituée d'un mélange d'eau acidifiée par de l'acide acétique (pH 2,6) et d'acétonitrile, éluée à un débit 1 mL.min-1. Le gradient utilisé est le suivant : 0 min, 4 % acétonitrile / 96 % eau pH 2,6 ; 5 min, 4 % acétonitrile / 96 % eau pH 2,6 ; 6 min, 20 % acétonitrile / 80 % eau pH 2,6 ; 10 min, 20 % acétonitrile / 80 % eau pH 2,6 ; 15 min, 4 % acétonitrile / 96 % eau pH 2,6 ; 20 min, 4 % acétonitrile - 96 % eau pH 2,6.
Cette méthode utilisant un gradient d'élution, mise au point dans l'UMR par C. Billaud et L. Louarme, a été utilisée car elle permet d'analyser simultanément des composés phénoliques et

des acides organiques, ce qui était indispensable pour une étude menée à la même période dans l'équipe sur le même équipement chromatographique.

II. 7. 2. 2. Etablissement de la gamme d'étalonnage

Une gamme étalon est établie pour l'acide chlorogénique à partir d'une solution mère selon le protocole suivant : une masse de 5 mg d'acide chlorogénique est pesée avec précision dans une fiole jaugée de 50 mL, qui est ensuite complétée par un mélange composé d'eau acidifiée par de l'acide acétique à pH 2,6 et d'acétonitrile (96/4, v/v). La solution est agitée au vortex à la vitesse maximale pendant 30 secondes. Cette solution est alors diluée au quart avec la même phase mobile (acétonitrile/eau, 96/4, v/v) dans une fiole jaugée de 10 mL. Elle est ensuite agitée au vortex à la vitesse maximale pendant 20 secondes, puis placée dans un bain à ultrasons pendant 30 secondes. La solution est filtrée sur un filtre CLHP en nylon de 0,22 µm (AIT France, Houilles, France) avant d'être injectée en CLHP-BD afin d'établir une gamme d'étalonnage comprise entre 0,25 et 2,50 µg de composé injecté sur la colonne.

Les chromatogrammes sont extraits à 325 nm pour doser l'acide chlorogénique (Figure 35).

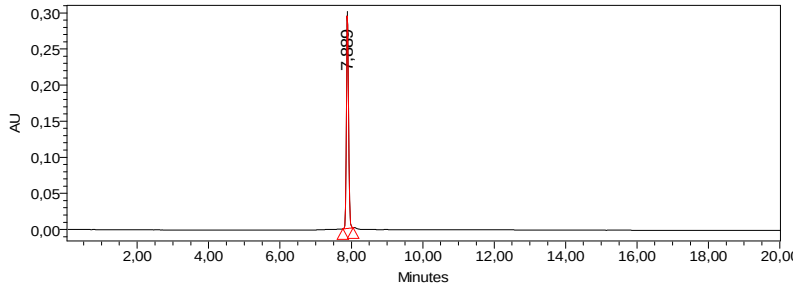


Figure 35. Chromatogramme CLHP de l'étalon d'acide chlorogénique à 325 nm.

La courbe d'étalonnage de l'acide chlorogénique est présentée sur la Figure 36, avec un coefficient directeur moyen de la droite d'étalonnage égal à 2 542 089 et un coefficient de corrélation égal à 1.

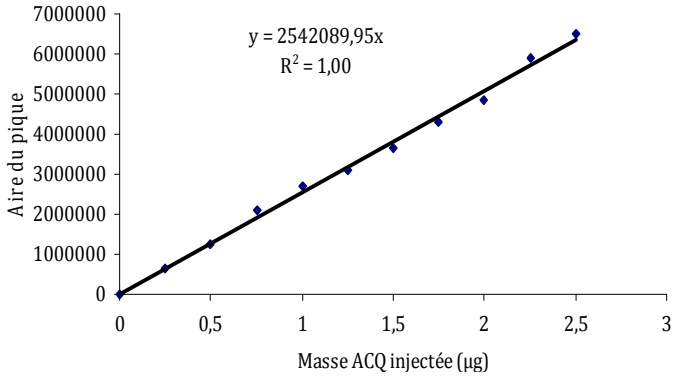


Figure 36. Courbe d'étalonnage de l'acide chlorogénique (ACQ) établie par CLHP à 325 nm.

II. 7. 2. 3. Extraction des composés phénoliques à partir de l'huile et dosage de l'acide chlorogénique

Dans le cas du dosage de l'acide chlorogénique contenu dans une huile, il est nécessaire de passer par une phase d'extraction. Cette étape est réalisée l'aide d'une colonne SPE (Solid Phase Extraction) « Sorbent Oasis® HLB » (taille des particules 60 µm, type 12 cc). La colonne est tout d'abord conditionnée sous pression atmosphérique par 20 mL d'un mélange isopropanol/acétonitrile (70/30, v/v) puis 20 mL d'éther de pétrole.

2g d'huile sont solubilisés dans 6 mL d'éther de pétrole puis sont déposés sur la colonne. La colonne est alors éluée par 40 mL d'éther de pétrole puis par 20 mL d'un mélange isopropanol/acétonitrile (70/30, v/v). La phase isopropanol/acétonitrile contenant les composés phénoliques est récupérée et les solvants sont évaporés sous flux d'azote jusqu'à l'obtention d'un résidu sec. Le résidu est ensuite repris dans 30 mL de phase mobile, eau pH 2,6/acétonitrile (96/4, v/v), et la solution est agitée au vortex à la vitesse maximale pendant 30 secondes (Pelilo 2003; Ramli 2010). La solution est ensuite filtrée sur un filtre CLHP en nylon de 0,22 µm (AIT France, Houilles, France) puis 20 µL sont injectés en CLHP-BD.

La concentration en acide chlorogénique des huiles est déterminée à l'aide des gammes d'étalonnage établies précédemment.

II. 8. Analyses statistiques

L'analyse statistique des données expérimentales comprend deux parties : une partie descriptive et une partie comparative.

La partie descriptive consiste en une approche cinétique globale, utilisant un modèle de représentation quadratique. Il s'agit d'une régression linéaire multiple d'ordre 2, $C_{espèce} = a_0 + a_1 t + a_2 t^2$, qui nous donnera accès aux valeurs des paramètres a_0, a_1, et a_2 correspondant à l'ordonnée à l'origine (a_0), à la pente de la droite (a_1) et au rayon de courbure (a_2).

Chaque cinétique est représentée dans un plan décrit par les paramètres cinétiques (pentes et courbures) afin de visualiser le changement d'allure de la courbe en fonction des conditions expérimentales et d'interpréter les ressemblances et les différences entre les échantillons.

La partie comparative consiste à comparer les pentes et les rayons de courbure par un test de Student, qui permet de déterminer si les différences sont significatives au seuil choisi ($p<0,05$). L'analyse statistique est réalisée à l'aide du logiciel Octave (http://www.gnu.org/octave/).

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

INTRODUCTION

Les modèles mathématiques concernant l'auto-oxydation des lipides sont majoritairement des modèles permettant la simple prédiction des résultats mesurés expérimentalement. Ils ne permettent que très rarement d'expliciter physico-chimiquement les mécanismes élémentaires de transferts et de réactivité mis en œuvre. L'objectif principal de cette thèse est de développer un modèle mécanistique intégrant un modèle de transfert de l'oxygène afin de reproduire les résultats expérimentaux (ou leur tendance), de prédire l'état d'avancement des réactions d'auto-oxydation, et d'identifier les facteurs-clés de l'oxydation.

Ce chapitre, présentant les résultats obtenus en vue de répondre à cet objectif, est divisé en 5 parties.

La première partie détaille la méthode retenue pour construire le schéma réactionnel: - identification des réactions impliquées dans le phénomène d'auto-oxydation, - construction du schéma réactionnel, - choix des marqueurs réactionnels permettant de suivre l'avancement des réactions.

La deuxième partie aborde le développement du modèle mathématique permettant de décrire l'avancement des réactions. Un jeu d'hypothèses lui est associé et sera utilisé pour décrire la phénoménologie associée au transfert de l'oxygène et à la réactivité des lipides.

La troisième partie concerne l'étude expérimentale sur la réactivité des acides gras en vue d'obtenir un jeu de données fiables et répétables sur le champ de réactivité étudié, dans des conditions sélectionnées et contrôlées.

Les profils mesurés expérimentalement sont comparés aux résultats de simulation dans une quatrième partie. Une étude de sensibilité vise à identifier, dans la liste des paramètres inconnus (ou mal connus) du modèle, ceux influençant significativement les variables (concentration d'une espèce ou d'une famille d'espèces) mesurées expérimentalement. Elle permettra donc d'orienter l'étape ultérieure d'identification des paramètres inconnus du modèle puisqu'un paramètre n'ayant que peu d'influence sur la réponse du modèle ne peut pas être choisi pour réduire les écarts entre les valeurs prédites et mesurées.

Enfin, la cinquième partie de ce chapitre est consacrée à l'étude des potentialités de la spectroscopie par Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) pour suivre les espèces radicalaires impliquées dans l'auto-oxydation des lipides et envisager ainsi d'accéder à des paramètres cinétiques des réactions radicalaires, peu ou non disponibles dans la littérature.

III. 1. CONSTRUCTION DU SCHEMA REACTIONNEL

Pour construire un modèle satisfaisant, il faut disposer d'un schéma réactionnel correct et adapté aux objectifs de l'étude. L'établissement du schéma réactionnel s'appuie sur les connaissances apportées par une étude bibliographique (cf § I.1, § I.2 et § I.3) et celles issues des études antérieures réalisées dans l'équipe. Cette tâche, qui peut paraître triviale *a priori*, s'avère particulièrement délicate dans la mesure où les principales voies réactionnelles de l'oxydation des lipides sont complexes (cf § I.2). Elles présentent en outre un fort niveau d'interaction.

Cette étude préalable nous permet de représenter le schéma réactionnel général de l'auto-oxydation des lipides (Figure 37). Il est valable pour les acides gras insaturés, libres ou estérifiés au sein des triglycérides, et détaille les principales réactions associées aux phases d'initiation, de propagation et de terminaison du phénomène.

Ce mode de représentation couvre l'ensemble des réactions d'auto-oxydation dans lesquelles on distingue des réactions en série et en parallèle, parmi lesquelles des réactions très rapides (sur des espèces radicalaires) et des réactions très lentes (sur des espèces stables dont les acides gras). Nous avons choisi de faire figurer explicitement les espèces radicalaires (pourtant très instables) car on ne peut pas passer outre la prédiction de leur concentration du fait de l'embranchement réactionnel menant à des produits stables de type dimères et polymères par réaction entre deux radicaux.

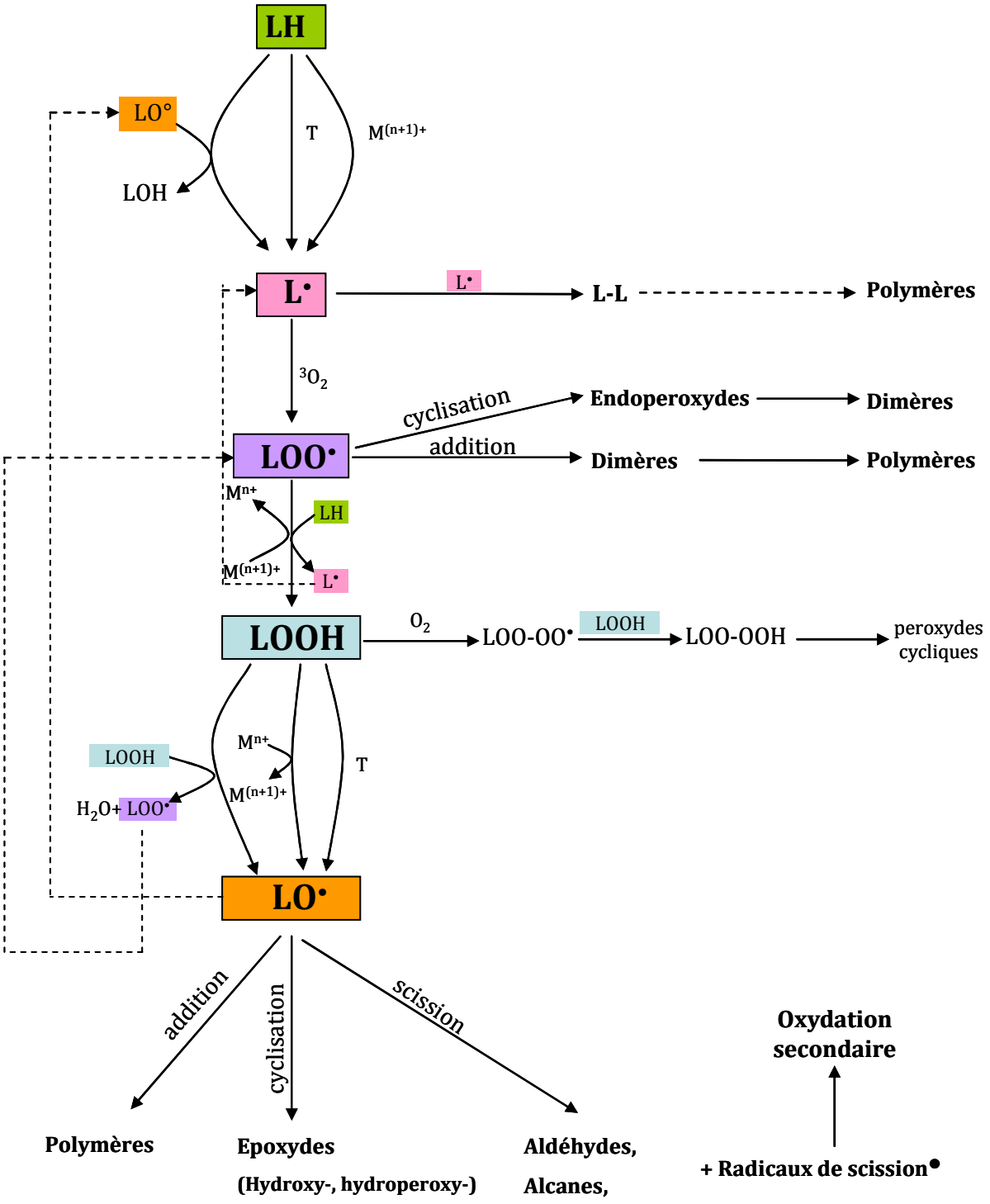


Figure 37. Schéma réactionnel d'auto-oxydation des lipides insaturés (LH).
(Les flèches en pointillés désignent des voies de recyclage des radicaux).

III. 1. 1. Les différentes réactions considérées au sein du modèle

En s'appuyant sur le schéma réactionnel général d'auto-oxydation d'un acide gras insaturé présenté dans la Figure 37, le Tableau 13 explicite la réactivité de trois acides gras insaturés majoritaires des huiles végétales (acide oléique L_AH, acide linoléique L_BH et acide α-linolénique L_CH) et de leurs radicaux associés.

Toutes les espèces participant aux réactions énumérées sont sélectionnées en prenant en compte les espèces thermodynamiquement susceptibles de se former. Nous prenons en compte l'ensemble des réactions élémentaires présentées dans la Figure 37, à l'exception de celles associées à la formation des composés secondaires d'oxydation (formation des aldéhydes, cétones, acides carboxyliques et alcools). En effet, tous les composés secondaires sont répartis entre six familles d'espèces (dénommées groupes de volatils 1a, 2a, 1b, 2b, 1c et 2c comme détaillé dans les réactions 97 à 102 du Tableau 13). Chaque groupe de volatils est issu de l'oxydation secondaire des radicaux alkoxyles formés à partir des trois acides gras insaturés considérés.
Les réactions de cyclisation (endoperoxydes, époxydes) sont négligées, sachant que ces composés cycliques ne se forment qu'à très haute température, au delà de 180 °C (Choe & Min 2007).

Parallèlement aux réactions d'oxydation considérées pour chaque acide gras, le Tableau 13 présente les intervalles de variation des constantes de vitesses associées à ces réactions, déterminés à partir des données de la littérature.
Afin de réduire la complexité du système, nous faisons l'hypothèse que la constante de vitesse d'une réaction dépend du groupe fonctionnel considéré, mais ne dépend pas de la structure de la molécule à laquelle il est attaché. Par conséquent, nous considérons des groupes de réactions ayant la même constante de vitesse : réactions 1 à 3, réactions 4 à 6, réactions 7 à 9.
Nous faisons également l'hypothèse que les constantes de vitesse des réactions impliquant les acides gras insaturés (L_AH, L_BH et L_CH) suivent les rapports de réactivités suivants : 1 (L_AH) / 40 (L_BH) / 100 (L_CH) (Frankel 1998).

Ce schéma est volontairement relativement exhaustif (102 réactions). En revanche, l'influence des antioxydants sur la réactivité des lipides n'est pas prise en compte dans un premier temps puisque l'on travaille sur des huiles préalablement purifiées.

Tableau 13. Réactions considérées dans le phénomène d'auto-oxydation des acides gras insaturés (L_AH-acide oléique, L_BH-acide linoléique ; L_CH-acide α-linolénique).

Nr.	*Réaction*	*Constantes de vitesse*	*Réactions formules brutes*
		INITIATION	
1	$L_AH \rightarrow L_A\bullet + H\bullet$	10^{-8} -10^{-5} $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{34}O_2 \rightarrow C_{18}H_{33}O_2\bullet + H\bullet$
2	$L_BH \rightarrow L_B\bullet + H\bullet$		$C_{18}H_{32}O_2 \rightarrow C_{18}H_{31}O_2\bullet + H\bullet$
3	$L_CH \rightarrow L_C\bullet + H\bullet$		$C_{18}H_{30}O_2 \rightarrow C_{18}H_{29}O_2\bullet + H\bullet$
4	$L_AH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_A\bullet + H^+ + Me^{n+}$	10^{-3} $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{34}O_2 + Me^{(n+1)+} \rightarrow C_{18}H_{33}O_2\bullet + H^+ + Me^{n+}$
5	$L_BH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_B\bullet + H^+ + Me^{n+}$		$C_{18}H_{32}O_2 + Me^{(n+1)+} \rightarrow C_{18}H_{31}O_2\bullet + H^+ + Me^{n+}$
6	$L_CH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_C\bullet + H^+ + Me^{n+}$		$C_{18}H_{30}O_2 + Me^{(n+1)+} \rightarrow C_{18}H_{29}O_2\bullet + H^+ + Me^{n+}$
7	$L_AOOH \rightarrow L_AO\bullet + \bullet OH$	10^{-3} -10^{-4} s^{-1}	$C_{18}H_{34}O_4 \rightarrow C_{18}H_{33}O_3\bullet + \bullet OH$
8	$L_BOOH \rightarrow L_BO\bullet + \bullet OH$		$C_{18}H_{32}O_4 \rightarrow C_{18}H_{31}O_3\bullet + \bullet OH$
9	$L_COOH \rightarrow L_CO\bullet + \bullet OH$		$C_{18}H_{30}O_4 \rightarrow C_{18}H_{29}O_3\bullet + \bullet OH$
10	$L_AOOH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_AOO\bullet + H^+ + Me^{n+}$	10^{2} $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{34}O_4 + Me^{(n+1)+} \rightarrow C_{18}H_{33}O_4\bullet + H+ + Me\ n+$
11	$L_BOOH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_BOO\bullet + H^+ + Me^{n+}$		$C_{18}H_{32}O_4 + Me^{(n+1)+} \rightarrow C_{18}H_{31}O_4\bullet + H+ + Me\ n+$
12	$L_COOH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_COO\bullet + H^+ + Me^{n+}$		$C_{18}H_{30}O_4 + Me^{(n+1)+} \rightarrow C_{18}H_{29}O_4\ \bullet + H+ + Me\ n+$
13	$L_AOOH + Me^{n+} \rightarrow L_AO\bullet + OH^- + Me^{(n+1)+}$	10^{3} $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{34}O_4 + Me^{n+} \rightarrow C_{18}H_{33}O_3\bullet + OH^- + Me^{(n+1)+}$
14	$L_BOOH + Me^{n+} \rightarrow L_BO\bullet + OH^- + Me^{(n+1)+}$		$C_{18}H_{32}O_4 + Me^{n+} \rightarrow C_{18}H_{31}O_3\bullet + OH^- + Me^{(n+1)+}$
15	$L_COOH + Me^{n+} \rightarrow L_CO\bullet + OH^- + Me^{(n+1)+}$		$C_{18}H_{30}O_4 + Me^{n+} \rightarrow C_{18}H_{29}O_3\bullet + OH^- + Me^{(n+1)+}$
		PROPAGATION	
16	$L_A\bullet + {}^3O_2 \rightarrow L_AOO\bullet$	10^{7} -10^{9} $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_2\bullet + {}^3O_2 \rightarrow C_{18}H_{33}O_4\bullet$
17	$L_B\bullet + {}^3O_2 \rightarrow L_BOO\bullet$		$C_{18}H_{31}O_2\bullet + {}^3O_2 \rightarrow C_{18}H_{31}O_4\bullet$
18	$L_C\bullet + {}^3O_2 \rightarrow L_COO\bullet$		$C_{18}H_{29}O_2\bullet + {}^3O_2 \rightarrow C_{18}H_{29}O_4\bullet$
19	$L_AOO\bullet + L_AH \rightarrow L_AOOH + L_A\bullet$	10^{-3} – 10^{2} $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_4\bullet + C_{18}H_{34}O_2 \rightarrow C_{18}H_{34}O_4 + C_{18}H_{31}O_2\bullet$
20	$L_AOO\bullet + L_BH \rightarrow L_AOOH + L_B\bullet$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet + C_{18}H_{32}O_2 \rightarrow C_{18}H_{34}O_4 + C_{18}H_{31}O_2\bullet$
21	$L_AOO\bullet + L_CH \rightarrow L_AOOH + L_C\bullet$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet + C_{18}H_{30}O_2 \rightarrow C_{18}H_{34}O_4 + C_{18}H_{29}O_2\bullet$
22	$L_BOO\bullet + L_AH \rightarrow L_BOOH + L_A\bullet$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet + C_{18}H_{34}O_2 \rightarrow C_{18}H_{32}O_4 + C_{18}H_{33}O_2\bullet$
23	$L_BOO\bullet + L_BH \rightarrow L_BOOH + L_B\bullet$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet + C_{18}H_{32}O_2 \rightarrow C_{18}H_{32}O_4 + C_{18}H_{31}O_2\bullet$
24	$L_BOO\bullet + L_CH \rightarrow L_BOOH + L_C\bullet$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet + C_{18}H_{30}O_2 \rightarrow C_{18}H_{32}O_4 + C_{18}H_{29}O_2\bullet$
25	$L_COO\bullet + L_AH \rightarrow L_COOH + L_A\bullet$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet + C_{18}H_{34}O_2 \rightarrow C_{18}H_{30}O_4 + C_{18}H_{33}O_2\bullet$
26	$L_COO\bullet + L_BH \rightarrow L_COOH + L_B\bullet$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet + C_{18}H_{32}O_2 \rightarrow C_{18}H_{30}O_4 + C_{18}H_{31}O_2\bullet$
27	$L_COO\bullet + L_CH \rightarrow L_COOH + L_C\bullet$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet + C_{18}H_{30}O_2 \rightarrow C_{18}H_{30}O_4 + C_{18}H_{29}O_2\bullet$
28	$L_AOO\bullet + L_BOOH \rightarrow L_AOOH + L_BOO\bullet$	10^{-3} $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_4\bullet + C_{18}H_{32}O_4 \rightarrow C_{18}H_{34}O_4 + C_{18}H_{31}O_4\bullet$
29	$L_AOO\bullet + L_COOH \rightarrow L_AOOH + L_COO\bullet$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet + C_{18}H_{30}O_4 \rightarrow C_{18}H_{34}O_4 + C_{18}H_{29}O_4\bullet$
30	$L_BOO\bullet + L_AOOH \rightarrow L_BOOH + L_AOO\bullet$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet + C_{18}H_{34}O_4 \rightarrow C_{18}H_{32}O_4 + C_{18}H_{33}O_4\bullet$
31	$L_BOO\bullet + L_COOH \rightarrow L_BOOH + L_COO\bullet$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet + C_{18}H_{30}O_4 \rightarrow C_{18}H_{32}O_4 + C_{18}H_{29}O_4\bullet$
32	$L_COO\bullet + L_AOOH \rightarrow L_COOH + L_AOO\bullet$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet + C_{18}H_{34}O_4 \rightarrow C_{18}H_{30}O_4 + C_{18}H_{33}O_4\bullet$
33	$L_COO\bullet + L_BOOH \rightarrow L_COOH + L_BOO\bullet$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet + C_{18}H_{32}O_4 \rightarrow C_{18}H_{30}O_4 + C_{18}H_{31}O_4\bullet$
34	$L_AO\bullet + L_AH \rightarrow L_AOH + L_A\bullet$	10^{6} - 10^{7} $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_3\bullet + C_{18}H_{34}O_2 \rightarrow C_{18}H_{33}O_3H + C_{18}H_{33}O_2\bullet$
35	$L_AO\bullet + L_BH \rightarrow L_AOH + L_B\bullet$		$C_{18}H_{33}O_3\bullet + C_{18}H_{32}O_2 \rightarrow C_{18}H_{33}O_3H + C_{18}H_{31}O_2\bullet$
36	$L_AO\bullet + L_CH \rightarrow L_AOH + L_C\bullet$		$C_{18}H_{33}O_3\bullet + C_{18}H_{30}O_2 \rightarrow C_{18}H_{33}O_3H + C_{18}H_{29}O_2\bullet$
37	$L_BO\bullet + L_AH \rightarrow L_BOH + L_A\bullet$		$C_{18}H_{31}O_3\bullet + C_{18}H_{34}O_2 \rightarrow C_{18}H_{31}O_3H + C_{18}H_{33}O_2\bullet$
38	$L_BO\bullet + L_BH \rightarrow L_BOH + L_B\bullet$		$C_{18}H_{31}O_3\bullet + C_{18}H_{32}O_2 \rightarrow C_{18}H_{31}O_3H + C_{18}H_{31}O_2\bullet$
39	$L_BO\bullet + L_CH \rightarrow L_BOH + L_C\bullet$		$C_{18}H_{31}O_3\bullet + C_{18}H_{30}O_2 \rightarrow C_{18}H_{31}O_3H + C_{18}H_{29}O_2\bullet$
40	$L_CO\bullet + L_AH \rightarrow L_COH + L_A\bullet$		$C_{18}H_{29}O_3\bullet + C_{18}H_{34}O_2 \rightarrow C_{18}H_{29}O_3H + C_{18}H_{33}O_2\bullet$
41	$L_CO\bullet + L_BH \rightarrow L_COH + L_B\bullet$		$C_{18}H_{29}O_3\bullet + C_{18}H_{32}O_2 \rightarrow C_{18}H_{29}O_3H + C_{18}H_{31}O_2\bullet$
42	$L_CO\bullet + L_CH \rightarrow L_COH + L_C\bullet$		$C_{18}H_{29}O_3\bullet + C_{18}H_{30}O_2 \rightarrow C_{18}H_{29}O_3H + C_{18}H_{29}O_2\bullet$

43	$L_AO\bullet+L_AOOH\rightarrow L_AOH+L_AOO\bullet$	10^6 $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_3\bullet+C_{18}H_{34}O_4\rightarrow C_{18}H_{33}O_3H+C_{18}H_{33}O_4\bullet$
44	$L_AO\bullet+L_BOOH\rightarrow L_AOH+L_BOO\bullet$		$C_{18}H_{33}O_3\bullet+C_{18}H_{32}O_4\rightarrow C_{18}H_{33}O_3H+C_{18}H_{31}O_4\bullet$
45	$L_AO\bullet+L_COOH\rightarrow L_AOH+L_COO\bullet$		$C_{18}H_{33}O_3\bullet+C_{18}H_{30}O_4\rightarrow C_{18}H_{33}O_3H+C_{18}H_{29}O_4\bullet$
46	$L_BO\bullet+L_AOOH\rightarrow L_BOH+L_AOO\bullet$		$C_{18}H_{31}O_3\bullet+C_{18}H_{34}O_4\rightarrow C_{18}H_{31}O_3H+C_{18}H_{33}O_4\bullet$
47	$L_BO\bullet+L_BOOH\rightarrow L_BOH+L_BOO\bullet$		$C_{18}H_{31}O_3\bullet+C_{18}H_{32}O_4\rightarrow C_{18}H_{31}O_3H+C_{18}H_{31}O_4\bullet$
48	$L_BO\bullet+L_COOH\rightarrow L_BOH+L_COO\bullet$		$C_{18}H_{31}O_3\bullet+C_{18}H_{30}O_4\rightarrow C_{18}H_{31}O_3H+C_{18}H_{29}O_4\bullet$
49	$L_CO\bullet+L_AOOH\rightarrow L_COH+L_AOO\bullet$		$C_{18}H_{29}O_3\bullet+C_{18}H_{34}O_4\rightarrow C_{18}H_{29}O_3H+C_{18}H_{33}O_4\bullet$
50	$L_CO\bullet+L_BOOH\rightarrow L_COH+L_BOO\bullet$		$C_{18}H_{29}O_3\bullet+C_{18}H_{32}O_4\rightarrow C_{18}H_{29}O_3H+C_{18}H_{31}O_4\bullet$
51	$L_CO\bullet+L_COOH\rightarrow L_COH+L_COO\bullet$		$C_{18}H_{29}O_3\bullet+C_{18}H_{30}O_4\rightarrow C_{18}H_{29}O_3H+C_{18}H_{29}O_4\bullet$
	TERMINAISON		
52	$L_A\bullet+L_A\bullet\rightarrow L_AL_A$	$10^6 - 10^9$ $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_2\bullet+C_{18}H_{33}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{66}O_4$
53	$L_A\bullet+L_B\bullet\rightarrow L_AL_B$		$C_{18}H_{33}O_2\bullet+C_{18}H_{31}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{64}O_4$
54	$L_A\bullet+L_C\bullet\rightarrow L_AL_C$		$C_{18}H_{33}O_2\bullet+C_{18}H_{29}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_4$
55	$L_B\bullet+L_A\bullet\rightarrow L_BL_A$		$C_{18}H_{31}O_2\bullet+C_{18}H_{33}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{64}O_4$
56	$L_B\bullet+L_B\bullet\rightarrow L_BL_B$		$C_{18}H_{31}O_2\bullet+C_{18}H_{31}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_4$
57	$L_B\bullet+L_C\bullet\rightarrow L_BL_C$		$C_{18}H_{31}O_2\bullet+C_{18}H_{29}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{60}O_4$
58	$L_C\bullet+L_A\bullet\rightarrow L_CL_A$		$C_{18}H_{29}O_2\bullet+C_{18}H_{33}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_4$
59	$L_C\bullet+L_B\bullet\rightarrow L_CL_B$		$C_{18}H_{29}O_2\bullet+C_{18}H_{31}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{60}O_4$
60	$L_C\bullet+L_C\bullet\rightarrow L_CL_C$		$C_{18}H_{29}O_2\bullet+C_{18}H_{29}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{58}O_4$
61	$L_AO\bullet+L_A\bullet\rightarrow L_AOL_A$	$10^5 - 10^8$ $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_3\bullet+C_{18}H_{33}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{66}O_5$
62	$L_AO\bullet+L_B\bullet\rightarrow L_AOL_B$		$C_{18}H_{33}O_3\bullet+C_{18}H_{31}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{64}O_5$
63	$L_AO\bullet+L_C\bullet\rightarrow L_AOL_C$		$C_{18}H_{33}O_3\bullet+C_{18}H_{29}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_5$
64	$L_BO\bullet+L_A\bullet\rightarrow L_BOL_A$		$C_{18}H_{31}O_3\bullet+C_{18}H_{33}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{64}O_5$
65	$L_BO\bullet+L_B\bullet\rightarrow L_BOL_B$		$C_{18}H_{31}O_3\bullet+C_{18}H_{31}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_5$
66	$L_BO\bullet+L_C\bullet\rightarrow L_BOL_C$		$C_{18}H_{31}O_3\bullet+C_{18}H_{29}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{60}O_5$
67	$L_CO\bullet+L_A\bullet\rightarrow L_COL_A$		$C_{18}H_{29}O_3\bullet+C_{18}H_{33}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_5$
68	$L_CO\bullet+L_B\bullet\rightarrow L_COL_B$		$C_{18}H_{29}O_3\bullet+C_{18}H_{31}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{60}O_5$
69	$L_CO\bullet+L_C\bullet\rightarrow L_COL_C$		$C_{18}H_{29}O_3\bullet+C_{18}H_{29}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{58}O_5$
70	$L_AOO\bullet+L_A\bullet\rightarrow L_AOOL_A$	$10^4 - 10^7$ $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_4\bullet+C_{18}H_{33}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{66}O_6$
71	$L_AOO\bullet+L_B\bullet\rightarrow L_AOOL_B$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet+C_{18}H_{31}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{64}O_6$
72	$L_AOO\bullet+L_C\bullet\rightarrow L_AOOL_C$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet+C_{18}H_{29}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_6$
73	$L_BOO\bullet+L_A\bullet\rightarrow L_BOOL_A$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet+C_{18}H_{33}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{64}O_6$
74	$L_BOO\bullet+L_B\bullet\rightarrow L_BOOL_B$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet+C_{18}H_{31}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_6$
75	$L_BOO\bullet+L_C\bullet\rightarrow L_BOOL_C$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet+C_{18}H_{29}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{60}O_6$
76	$L_COO\bullet+L_A\bullet\rightarrow L_COOL_A$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet+C_{18}H_{33}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_6$
77	$L_COO\bullet+L_B\bullet\rightarrow L_COOL_B$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet+C_{18}H_{31}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{60}O_6$
78	$L_COO\bullet+L_C\bullet\rightarrow L_COOL_C$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet+C_{18}H_{29}O_2\bullet\rightarrow C_{36}H_{58}O_6$
79	$L_AOO\bullet+L_AOO\bullet\rightarrow L_AOOL_A+O_2$	$10^3 - 10^7$ $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_4\bullet+C_{18}H_{33}O_4\bullet\rightarrow C_{36}H_{66}O_6+O_2$
80	$L_AOO\bullet+L_BOO\bullet\rightarrow L_AOOL_B+O_2$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet+C_{18}H_{31}O_4\bullet\rightarrow C_{36}H_{64}O_6+O_2$
81	$L_AOO\bullet+L_COO\bullet\rightarrow L_AOOL_C+O_2$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet+C_{18}H_{29}O_4\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_6+O_2$
82	$L_BOO\bullet+L_AOO\bullet\rightarrow L_BOOL_A+O_2$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet+C_{18}H_{33}O_4\bullet\rightarrow C_{36}H_{64}O_6+O_2$
83	$L_BOO\bullet+L_BOO\bullet\rightarrow L_BOOL_B+O_2$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet+C_{18}H_{31}O_4\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_6+O_2$
84	$L_BOO\bullet+L_COO\bullet\rightarrow L_BOOL_C+O_2$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet+C_{18}H_{29}O_4\bullet\rightarrow C_{36}H_{60}O_6+O_2$
85	$L_COO\bullet+L_AOO\bullet\rightarrow L_COOL_A+O_2$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet+C_{18}H_{33}O_4\bullet\rightarrow C_{36}H_{62}O_6+O_2$
86	$L_COO\bullet+L_BOO\bullet\rightarrow L_COOL_B+O_2$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet+C_{18}H_{31}O_4\bullet\rightarrow C_{36}H_{60}O_6+O_2$
87	$L_COO\bullet+L_COO\bullet\rightarrow L_COOL_C+O_2$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet+C_{18}H_{29}O_4\bullet\rightarrow C_{36}H_{58}O_6+O_2$
88	$L_AOO\bullet+L_AOO\bullet\rightarrow L_AO\bullet+L_AOH+O_2$	$10^3 - 10^7$ $M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_4\bullet+C_{18}H_{33}O_4\bullet\rightarrow C_{18}H_{33}O_2\bullet+C_{18}H_{33}O_3H+O_2$
89	$L_AOO\bullet+L_BOO\bullet\rightarrow L_AO\bullet+L_BOH+O_2$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet+C_{18}H_{31}O_4\bullet\rightarrow C_{18}H_{33}O_2\bullet+C_{18}H_{31}O_3H+O_2$
90	$L_AOO\bullet+L_COO\bullet\rightarrow L_AO\bullet+L_COH+O_2$		$C_{18}H_{33}O_4\bullet+C_{18}H_{29}O_4\bullet\rightarrow C_{18}H_{33}O_2\bullet+C_{18}H_{29}O_3H+O_2$
91	$L_BOO\bullet+L_AOO\bullet\rightarrow L_BO\bullet+L_AOH+O_2$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet+C_{18}H_{33}O_4\bullet\rightarrow C_{18}H_{31}O_2\bullet+C_{18}H_{33}O_3H+O_2$

92	$L_BOO\bullet + L_BOO\bullet \rightarrow L_BO\bullet + L_BOH + O_2$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet + C_{18}H_{31}O_4\bullet \rightarrow C_{18}H_{31}O_2\bullet + C_{18}H_{31}O_3H + O_2$
93	$L_BOO\bullet + L_COO\bullet \rightarrow L_BO\bullet + L_COH + O_2$		$C_{18}H_{31}O_4\bullet + C_{18}H_{29}O_4\bullet \rightarrow C_{18}H_{31}O_2 + C_{18}H_{29}O_3H + O_2$
94	$L_COO\bullet + L_AOO\bullet \rightarrow L_CO\bullet + L_AOH + O_2$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet + C_{18}H_{33}O_4\bullet \rightarrow C_{18}H_{29}O_2\bullet + C_{18}H_{33}O_3H + O_2$
95	$L_COO\bullet + L_BOO\bullet \rightarrow L_CO\bullet + L_BOH + O_2$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet + C_{18}H_{31}O_4\bullet \rightarrow C_{18}H_{29}O_2\bullet + C_{18}H_{31}O_3H + O_2$
96	$L_COO\bullet + L_COO\bullet \rightarrow L_CO\bullet + L_COH + O_2$		$C_{18}H_{29}O_4\bullet + C_{18}H_{29}O_4\bullet \rightarrow C_{18}H_{29}O_2\bullet + C_{18}H_{29}O_3H + O_2$
97	$L_AO\bullet + \bullet OH \rightarrow$ groupe volatils 1a	$10^4\ M^{-1}.s^{-1}$	$C_{18}H_{33}O_2\bullet + \bullet OH \rightarrow$ groupe volatils 1a
98	$L_AO\bullet + \bullet H \rightarrow$ groupe volatils 2a		$C_{18}H_{33}O_2\bullet + \bullet H \rightarrow$ groupe volatils 2a
99	$L_BO\bullet + \bullet OH \rightarrow$ groupe volatils 1b		$C_{18}H_{31}O_2\bullet + \bullet OH \rightarrow$ groupe volatils 1b
100	$L_BO\bullet + \bullet H \rightarrow$ groupe volatils 2b		$C_{18}H_{31}O_2\bullet + \bullet H \rightarrow$ groupe volatils 2b
101	$L_CO\bullet + \bullet OH \rightarrow$ groupe volatils 1c		$C_{18}H_{29}O_2\bullet + \bullet OH \rightarrow$ groupe volatils 1c
102	$L_CO\bullet + \bullet H \rightarrow$ groupe volatils 2c		$C_{18}H_{29}O_2\bullet + \bullet H \rightarrow$ groupe volatils 2c

Constantes de vitesse issues de la littérature (cf Tableau 11).

Les concentrations initiales des différents constituants considérés sont des données nécessaires à la modélisation. Elles sont propres à chacun des milieux lipidiques étudiés (huile de tournesol, huile de tournesol oléique ou huile de colza) et sont fournies dans le Tableau 14.

Tableau 14. Concentrations molaires initiales des différents constituants dans les huiles végétales étudiées.

Constituants	***Nature de l'huile***		
	Huile de tournesol	Huile de tournesol oléique	Huile de colza
Acides gras insaturés ($mol.L^{-1}$)			
oléique (L_AH)	0,84	2,6	1,97
linoléique (L_BH)	2,04	0,2	0,61
α-linolénique (L_AH)	0,02	0,02	0,2
α-tocophérol ($mol.L^{-1}$)	n/d	n/d	n/d
Acide chlorogénique ($mol.L^{-1}$)	n/d	n/d	n/d
Dienes conjugués ($mol.L^{-1}$)	$9{,}02\times10^{-3}$	$3{,}78\times10^{-3}$	$9{,}80\times10^{-3}$
Hydroperoxydes ($mol.L^{-1}$)	$0{,}37\times10^{-4}$	$1{,}79\times10^{-4}$	$1{,}75\times10^{-4}$
Polymères ($mol.L^{-1}$)	$2{,}47\times10^{-3}$	$2{,}46\times10^{-3}$	$2{,}46\times10^{-3}$
Aldéhydes (équiv. 2,4-décadiénal $mol.L^{-1}$)	$1{,}57\times10^{-4}$	-	-

n/d : non détecté.
Concentrations molaires en acides gras à partir des informations fournies par Lesieur (cf § II.2.1).
Dosages de l'α-tocophérol, acide chlorogénique, dienes conjugués, hydroperoxydes, polymères et aldéhydes réalisées à AgroParisTech (cf § II.6).

La première étape dans la démarche de modélisation consiste à créer la matrice stœchiométrique associée au schéma réactionnel considéré. Celle-ci permet de préciser les proportions dans lesquelles les différents constituants réagissent entre eux et se forment. La matrice stœchiométrique comporte une colonne par espèce et une ligne par réaction.

Par exemple on associe aux réactions 2, 8, 17, 23 et 56:

$1\ L_BH \rightarrow 1\ L_B\bullet + 1\ H\bullet$ (réaction 2)
$1\ L_BOOH \rightarrow 1\ L_BO\bullet + 1\ \bullet OH$ (réaction 8)
$1\ L_B\bullet + 1\ ^3O_2 \rightarrow 1\ L_BOO\bullet$ (réaction 17)
$1\ L_BOO\bullet + 1\ L_BH \rightarrow 1 L_BOOH + 1 L_B\bullet$ (réaction 23)
$1\ L_B\bullet + 1\ L_B\bullet \rightarrow 1\ L_BL_B$ (réaction 56)

On construit la matrice stoechiométrique suivante:

	LBH	LBOOH	LB•	O_2	LBO•	LBOO•	H•	•OH	LBLB
2	-1	0	1	0	0	0	1	0	0
8	0	-1	0	0	1	0	0	1	0
17	0	0	-1	-1	0	1	0	0	0
23	-1	1	1	0	0	-1	0	0	0
56	0	0	-2	0	0	0	0	0	1

On retrouve ainsi les coefficients stoechiométriques des différentes espèces. Une valeur négative indique que l'espèce est un réactif de la réaction considérée, une valeur nulle qu'elle ne participe pas à la réaction et une valeur positive qu'elle est un produit de réaction.

Cette démarche est généralisée à l'ensemble des 102 réactions fournies dans le Tableau 13.

III. 1. 2. Choix des marqueurs réactionnels

L'avancement des réactions d'oxydation est suivi à l'aide de méthodes analytiques classiques. Les marqueurs réactionnels sont choisis car ils constituent des composés (ou familles de composés) substrats ou produits des réactions, mais aussi et surtout car une mesure précise et quantitative est disponible, souvent normalisée. Au total, six marqueurs sont retenus, répartis dans quatre familles. Il s'agit (i) des acides gras constitutifs des triglycérides, substrats des réactions d'oxydation, (ii) des dienes conjugués et des hydroperoxydes, composés primaires d'oxydation (iii) des aldéhydes et des polymères, produits secondaires d'oxydation. Enfin, lorsque les réactions d'oxydation sont mesurées en présence d'antioxydants (α-tocophérol ± acide chlorogénique), ces molécules sont également quantifiées.

Le choix des marqueurs réactionnels est complexe car, la plupart du temps, il est difficile d'attribuer la mesure réalisée à une seule espèce dans le schéma réactionnel, sachant que dans certains cas, c'est une fonction qui est dosée (ex : dienes conjugués), et dans d'autres cas, c'est une famille de composés (ex : hydroperoxydes, polymères…).

Ainsi, chaque marqueur mesuré sera attribué à une molécule ou à une famille de molécules (Tableau 15).

Tableau 15. Attribution des marqueurs choisis aux molécules considérées dans le modèle.

Marqueurs	***Molécule***
Acides gras	L_AH ; L_BH ; L_CH
Dienes conjugués	L_B•; L_C•; L_BO•; L_CO•; L_BOO• ; L_COO• ; L_BOOH ; L_COOH ; L_BOH ; L_COH ; L_AL_B ; L_AL_C ; L_BL_B ; L_BL_C ; L_CL_C ; L_AOL_B ; L_AOL_C ; L_BOL_B ; L_BOL_C ; L_COL_C ; L_AOOL_B ; L_AOOL_C ; L_BOOL_B ; L_BOOL_C ; L_COOL_C ; groupe volatils 2b
Hydroperoxydes	L_AOOH ; L_BOOH ; L_COOH
Aldéhydes insaturés	groupe volatils 2b
Dimères et polymères	L_AL_A ; L_AL_B ; L_AL_C ; L_BL_B ; L_BL_C ; L_CL_C ; L_AOL_A ; L_AOL_B ; L_AOL_C ; L_BOL_B ; L_BOL_C ; L_COL_C ; L_AOOL_A ; L_AOOL_B ; L_AOOL_C ; L_BOOL_B ; L_BOOL_C ; L_COOL_C ;

L_AH : acide oléique ; L_BH : acide linoléique ; L_CH : acide α-linolénique

III. 2. DEVELOPPEMENT DU MODELE MECANISTIQUE

La partie modélisation est réalisée en collaboration avec le Pr. Bertrand Broyart (UMR 1145, AgroParisTech) et est effectuée à l'aide du logiciel de calcul numérique Matlab®.

III. 2. 1. Définition du système étudié

Le système étudié est assimilable à une quantité précise d'huile végétale purifiée, de composition initiale fixée, échangeant de l'oxygène avec son environnement sur une certaine surface et soumise pendant un temps donné à un traitement thermique supposé isotherme. Etant donnés nos objectifs de départ et la problématique posée dans cette thèse, notre choix s'est porté sur un modèle de type mécanistique qui nous permettra de prédire l'avancement des réactions d'oxydation et d'étudier l'influence sur ce phénomène :
- des facteurs de composition du système (nature et proportion d'acides gras, présence de catalyseurs ou d'inhibiteurs de l'oxydation) - et des conditions environnementales du système (température, surface d'échange du système avec l'air environnant, niveau d'agitation).

Le développement de ce modèle inclut plusieurs étapes :
- La première étape consiste à préciser la nature des variables d'entrée du phénomène étudié (température, concentrations initiales en réactifs, surface d'échange avec l'oxygène, volume d'huile…) et de décider des phénomènes dont l'influence peut être considérée comme négligeable.
- La deuxième étape consiste à traduire le phénomène d'oxydation englobant l'ensemble des réactions chimiques élémentaires détaillées dans le paragraphe III. 1 en un système d'équations aux dérivés partiels. Ces équations permettront de calculer le débit molaire de production ou de consommation de chacune des espèces du système. Chaque espèce peut figurer, en effet, dans plusieurs réactions en tant que réactif et/ou produit. Les valeurs initiales des constantes cinétiques nécessaires pour la résolution de ces équations sont issues de la littérature.
- Une fois le système d'équations résolu, les concentrations calculées sont confrontées, dans une troisième étape, aux concentrations mesurées expérimentalement afin de valider les hypothèses émises lors du développement du modèle et d'identifier les valeurs des paramètres inconnus du modèle. Une étude de sensibilité est réalisée. Elle permettra d'identifier les paramètres cinétiques qui influencent le plus les valeurs calculées par le modèle et associées à une mesure expérimentale.

III. 2. 2. Hypothèses

Afin de simplifier la traduction mathématique des phénomènes étudiés, nous proposons les hypothèses suivantes :

- Le système est supposé isotherme. On néglige l'influence de la phase de montée en température, de la température ambiante (environ 20 °C) jusqu'à la température de la consigne (100, 120 ou 150 °C), sur l'avancement des réactions étudiées par rapport à la durée du traitement thermique. La durée de cette phase (environ 7 minutes) est en effet très courte par rapport à la durée du traitement en conditions isothermes.
- La diffusion de l'oxygène dans le système est supposée obéir à la loi de Fick, avec un coefficient de diffusion de l'oxygène supposé constant pour une température donnée.
- On néglige la diffusion des espèces chimiques dans le système à l'exception de l'oxygène.
- On suppose la solubilisation de l'oxygène à l'interface huile/atmosphère obéissant à la loi de Henry, avec un coefficient de Henry supposé constant.
- On suppose l'existence d'une couche limite relative aux transferts de matière externes (diffusion d'oxygène en phase gazeuse au voisinage immédiat de la surface d'huile) limitant les échanges d'oxygène entre le système et son environnement.
- On suppose l'huile immobile pendant le traitement thermique (la couche d'huile est à température constante dans le temps et supposée uniforme dans l'espace)
- On suppose le volume et la masse d'huile constants pendant le traitement thermique. La volatilisation des produits secondaires d'oxydation est supposée ne pas modifier de manière significative la masse du mélange. Par conséquent, on ne prend pas en compte le phénomène de volatilisation des composés d'oxydation secondaire dans les équations de conservation de ces composés.
- Toutes les réactions apparaissant dans le schéma réactionnel (Figure 37) sont supposées élémentaires, ce qui revient à considérer les ordres partiels des réactions par rapport aux réactifs égaux aux coefficients stœchiométriques des réactifs.
- On suppose la réactivité des acides gras fixés sur des triglycérides équivalente à celle des acides gras libres. On fait apparaître explicitement dans le bilan matière une pseudo-concentration en acides oléique, linoléique et α-linolénique.
- On suppose la concentration en métaux égale à zéro dans le système.

III. 2. 3. Equations de conservation

Le modèle développé consiste en une série d'équations différentielles permettant de prédire, en fonction du temps de chauffage, l'évolution des concentrations des espèces chimiques (réactifs et produits) dans le système représenté dans la Figure 38. Ce système consiste en un cylindre d'huile végétale supposée immobile et siège des réactions d'oxydation selon le schéma précisé dans la Figure 37. Le système est également susceptible d'échanger de l'oxygène avec son environnement (air du laboratoire).

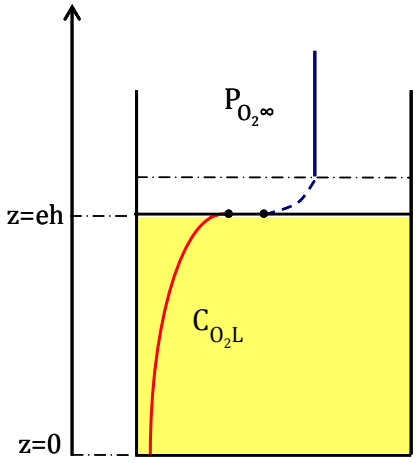


Figure 38. Représentation schématique du système étudié : huile échangeant de l'oxygène avec son environnement..

Les équations de conservation de matière sont écrites pour chacun des constituants du système. On distingue une espèce mobile (l'oxygène) et toutes les autres espèces immobiles.

III. 2. 3. 1. Cas de l'oxygène

En ce qui concerne l'oxygène, la concentration locale en oxygène dans la phase liquide obéit à l'équation :

$$\frac{\partial C_{O_{2L}}}{\partial t} = D_{O_2} \frac{\partial^2 C_{O_2}}{\partial z^2} + 1000 \times S_{O_2} M_{O_2} \text{, pour } 0<z<z_{eh} ; \forall t \qquad \text{Équation 5}$$

où $C_{O_{2L}}$ représente la concentration locale en oxygène en phase liquide (kg.m^{-3}); D_{O_2}, le coefficient de diffusion de l'oxygène (m^2.s^{-1}); S_{O_2}, le débit molaire net de production d'oxygène prenant en compte la contribution respective de chaque réaction impliquant l'oxygène (mol.L^{-1}.s^{-1}); M_{O_2}, la masse molaire de l'oxygène (kg.mol^{-1}) et t, le temps (s).

L'équation 5 fait apparaître un débit molaire net de production d'oxygène en mol.L^{-1}.s^{-1}, ceci afin de pouvoir utiliser directement les ordres de grandeurs des constantes cinétiques issues de la littérature (exprimés en s^{-1} pour les réactions monomoléculaires et en mol.L^{-1}.s^{-1} pour les réactions bimoléculaires). On convertit ensuite ce débit molaire net en débit massique net en le multipliant par un facteur 1000 (L.m^{-3}) et par la masse molaire du constituant.

A cette équation de conservation s'ajoutent deux conditions aux limites en z=0 et z=eh (Figure 38) soit :

$$\frac{\partial C_{O_{2L}}}{\partial t} = 0, \quad pour\ z = 0; \ \forall t \qquad \text{Équation 6}$$

$$-D_{O_2} \frac{\partial C_{O_{2L}}}{\partial z} = k_m (C_{O_{2LG}} - C_{O_{2\infty}}) \ \ en\ \ z = eh \qquad \text{Équation 7}$$

où k_m désigne le coefficient de transfert de matière externe (m.s^{-1}); $C_{O_{2LG}}$ et $C_{O_{2\infty}}$ représentent respectivement la concentration massique en oxygène au voisinage immédiat de la surface d'huile et dans l'atmosphère du laboratoire (en kg.m^{-3}).

En supposant le mélange gazeux assimilable à un gaz parfait, on relie la concentration en phase gazeuse aux concentrations en phase liquide selon :

$$C_{O_{2LG}} = \frac{P_{O_2} M_{O_2}}{RT} \qquad \text{Équation 8}$$

d'où

$$-D_{O_2} \frac{\partial C_{O_{2L}}}{\partial z} = \frac{k_m M_{O_2}}{R} \left(\frac{P_{O_2 G}}{T} - \frac{P_{O_{2\infty}}}{T_\infty} \right) \qquad \text{Équation 9}$$

où $P_{O_{2G}}$ et $P_{O_{2\infty}}$ sont les pressions partielles en oxygène à l'interface et dans l'atmosphère (Pa); M_{O_2}, la masse molaire de l'oxygène (kg.mol^{-1}) ; R, la constante des gaz parfaits (R=8,31 J.mol^{-1}.K^{-1}) ; T, la température du système (K) et T_∞, la température de l'air du laboratoire (K). La pression partielle en oxygène au voisinage immédiat de la surface est caractérisée par la relation :

$$P_{O_2} = K_{H\,O_2}\ x_{O_{2L}} \qquad \text{Équation 10}$$

où x_{O_2L} représente la fraction molaire de l'oxygène dans la phase liquide (mol O_2) et $K_{H\,O_2}$ la constante de Henry (Pa) de l'oxygène dans la phase lipidique considérée.

Pour relier la franction molaire à la concentration en oxygène dissous, on utilise l'équation 11:

$$x_{O_{2L}} = \frac{n_{O_{2L}}}{n_{TG} + n_{O_{2L}}} \approx \frac{C_{O_{2L}} V_h}{M_{O_2} n_{TG}} \qquad \text{Équation 11}$$

où V_h correspond au volume d'huile supposé constant (m^3) et n_{TG} désigne le nombre de moles de triglycérides que l'on suppose en large excès par rapport à toutes les autres espèces et évoluant par conséquent peu pendant les réactions d'oxydation.

III. 2. 3. 2. Cas des autres espèces

Dans le cas de toutes les espèces autres que l'oxygène, leur concentration C_{iL} (en kg.m^{-3}) évolue selon :

$$\frac{\partial C_{iL}}{\partial t} = 1000 \times S_i M_i \qquad \text{Équation 12}$$

où C_{iL} représente la concentration locale en espèce considérée (kg.m^{-3}); S_i, le débit molaire net de production de l'espèce (i), qui est supérieur ou inférieur à zéro si l'espèce est globalement

produite ou consommée dans le système; M_i, la masse molaire de l'espèce (i) ($kg.mol^{-1}$) et t, le temps (s).

Deux conditions aux limites sont associées à cette équation de conservation des espèces en z=0 et z=eh, soit :

$$\left(\frac{\partial C_{i_L}}{\partial z}\right)_{z=0} = 0 \qquad \text{Équation 13}$$

$$\left(\frac{\partial C_{i_L}}{\partial z}\right)_{z=eh} = 0 \qquad \text{Équation 14}$$

III. 2. 3. 3. Calcul des débits nets de production/consommation

On relie maintenant le débit net molaire des produits et des réactifs aux vitesses de chacune des réactions considérées dans le schéma. En désignant les réactions par l'indice (j) et les espèces considérés par l'indice (i), on montre que :

$$S_i = \sum_j r_{ij} \qquad \text{Équation 15}$$

où r_{ij} représente le débit molaire net de production de l'espèce (i) par la réaction (j).

Or,

$$r_{ij} = k_j \, \nu_{ij} \prod_k C_{k_L}^{\alpha_{k_j}} \qquad \text{Équation 16}$$

où a_{kj} est égal à la valeur absolue du coefficient stœchiométrique $|\nu_{kj}|$ de l'espèce k si celle-ci est un réactif dans l'équation (j) ($\nu_{kj}<0$), et est égale à zéro pour toutes les autres espèces ($\nu_{kj}\geq 0$); ν_{ij} représente le coefficient stœchiométrique de l'espèce dans la réaction (j)(<0 pour les réactifs et >0 pour les produits).

Dans l'équation 16, $\prod_k C_{k_L}^{a_{k_j}}$ représente le produit des concentrations des réactifs de l'équation pondérées par la valeur absolue des coefficients stœchiométriques de ces réactifs. Soit finalement :

$$\left(\frac{\partial (C_{i_L})}{\partial t}\right)_{z_{it}} = 1000 \times M_i \left[\sum_j k_j \, \nu_{ij} \prod_k C_{k_L}^{|\alpha_{k_j}|}\right] \qquad \text{Équation 17}$$

Mathématiquement, le problème se résume à un jeu d'équations (avec les conditions limites associées) pour chaque espèce réactive du système.

III. 2. 3. 4. Valeurs des paramètres d'entrée

Le Tableau 16 présente l'ensemble des valeurs des paramètres d'entrée choisis pour la simulation.

Tableau 16. Valeurs des principaux paramètres d'entrée du modèle et données du problème utilisés à la résolution du modèle à 120 °C.

Symbole	*Intitulé*	*Unités*	*Valeur*	*Référence*
D_{O_2}	Coefficient de diffusion de l'oxygène	$m^2.s^{-1}$	1×10^{-9}	(Pénicaud 2009)
k	Constante de vitesse	$mol.L^{-1}.s^{-1}$ ou s^{-1}	Tableau 13	cf Tableau 13
k_m	Coefficient de transfert de matière	$m.s^{-1}$	3.57×10^{-3}	(Incropera et al. 2005)
k_H	Constante d'Henry	Pa	2.8×10^{7}	Cuvelier 2011 (communication personnelle)
		Constantes physiques		
M_{O_2}	Masse moléculaire de l'oxygène	$kg.mol^{-1}$	32×10^{-3}	
R	Constante des gaz parfaits	$J.mol^{-1}.K^{-1}$.	8,314	
		Données du problème		
m_h	Masse d'huile	kg	5×10^{-3}	
P_{O_2}	Pression partielle de l'O_2 dans l'environnement	Pa	21000	
R_h	Rayon du disque d'huile	m	$1,3\times10^{-2}$	
T	Température	K	393,15	
ρ_h	Masse volumique de l'huile	$kg.m^{-3}$	920	

III. 2. 4. Résolution des équations de conservation

Le système d'équations détaillées dans les équations 5, 6, 7, 12, 13, 14 et 17 est résolu à l'aide du logiciel de calcul numérique Matlab®.

On cherche à calculer une valeur approchée de l'évolution, en fonction du temps, des concentrations des espèces réactives dans le système pour des valeurs discrètes le long de l'axe z (Figure 38). Deux valeurs consécutives z_i et z_{ih} sont séparées par un écart Δz_i.

Après ce maillage du système suivant l'axe O_z, les dérivés d'espace apparaissant dans les membres de droite des équations et sont approximées au $2^{ème}$ ordre en Δz_i grâce à des développements en série Taylor des solutions du système d'équations différentielles.

Si le nombre de points de maillage est égal à n_p, on a transformé notre système de n_c (nombre de constituants dans le mélange) équations aux dérivés partielles en un système de $n_p \times n_c$ équations différentielles ordinaires.

Les fonctions inconnues de ce système sont désormais les concentrations en espèces réactives dans le système aux différents points de maillage du système. Ce système est alors résolu par

utilisation de la fonction préprogrammée ode15s de Matlab® particulièrement adaptée pour les systèmes d'équations différentielles ordinaires raides (certaines variables du système, comme les espèces radicalaires, variant plus rapidement en fonction du temps que d'autres espèces plus stables).

Afin de prendre en compte les différences importantes d'ordre de grandeur entre espèces majoritaires relativement stables (acides gras) et espèces en très faible quantité car fortement instables (espèces radicalaires), les valeurs de tolérances sur l'erreur absolue du solveur ode15s s'appliquant à chaque élément du vecteur de solutions ont été abaissées pour des espèces instables et présentes à l'état de traces.

Afin de gérer les difficultés de résolution de l'équation de conservation de l'oxygène (terme relatif au transfert dans le membre de droite numériquement très faible par rapport au terme de réactivité car l'oxygène est consommé très rapidement par des réactions de type radicalaires), un maillage adapté a été finalement choisi avec une taille de maille diminuant exponentiellement lorsque l'on se rapproche de la surface d'échange entre l'huile et l'oxygène. La stabilité et la précision de la solution calculée avec ce maillage adaptatif ont été vérifiées.

III. 3. ETUDE DE LA REACTIVITE DES ACIDES GRAS EN CONDITIONS DE TEMPERATURES CONTROLEES

Introduction

L'oxydation des lipides met en jeu un ensemble de réactions auto-catalytiques qui donnent naissance à un grand nombre de composés néoformés. Ces composés induisent une modification des caractéristiques physico-chimiques du corps gras concerné. L'intensité des modifications produites dépend de plusieurs facteurs tels que la nature des corps gras, la disponibilité de l'oxygène (notamment dépendante de la surface de l'huile en contact avec l'air) ou la température (intensité, durée, cycles de traitement thermique) (Grandgirard 1992; Achir et al. 2006). L'évaluation précise de l'oxydation d'un produit dans des conditions définies nécessite de suivre à la fois la formation des composés primaires et des composés secondaires de la réaction (cf § I.4).

Si de très nombreuses études relatives à l'oxydation des huiles végétales sont disponibles dans la littérature, un certaine nombre d'entre elles ne sont pas directement exploitables par rapport à notre problématique de prédiction des phénomènes oxydatifs. En effet, les conditions d'oxydation dans lesquelles les échantillons sont placés sont souvent décrites mais rarement contrôlées. Par ailleurs, les données cinétiques restent assez peu nombreuses et relèvent souvent de méthodes analytiques diverses et non systématiquement normalisées.

L'objectif du travail expérimental mené dans le cadre de la thèse et présenté dans ce paragraphe, est donc d'acquérir un jeu de données sur l'oxydation des lipides obtenu dans des conditions sélectionnées puis contrôlées, sur des huiles végétales de grande consommation. Pour cela, deux phases sont mises en place : une première phase visant à définir des conditions d'oxydation conduisant à des différences marquées entre échantillons d'huiles, ce qui permettra à terme d'envisager une complexification du système par ajout d'antioxydants et de mettre ainsi en évidence leur efficacité, puis une seconde phase correspondant à l'acquisition de données cinétiques sur les huiles sélectionnées.

Plusieurs marqueurs d'oxydation (ou familles de marqueurs) sont suivis afin de caractériser l'avancement des réactions d'oxydation. Il s'agit des acides gras constitutifs des triglycérides (par CPG-FID), des diènes conjugués (par spectrophotométrie UV), des hydroperoxydes (*via* l'indice de peroxyde), des aldéhydes (*via* l'indice de *p*-anisidine) et des polymères (*via* une mesure de viscosité). Les antioxydants, lorsqu'ils sont présents dans les huiles étudiées, sont également suivis par CLHP- BD.

Les résultats des cinétiques sont ensuite soumis à une analyse statistique de façon à mettre en évidence des différences significatives entre les niveaux d'oxydation obtenus (cf § II.8).

III. 3. 1. Choix des conditions d'oxydation : disponibilité en oxygène et température

La mise en place des conditions expérimentales est réalisée sur l'huile de tournesol, connue pour sa capacité à s'oxyder du fait de sa richesse en acides gras polyinsaturés (62% d'acide linoléique).

L'oxygène est le principal agent oxydant, quel que soit le mécanisme d'initiation de l'oxydation, et donc l'étape de fixation de l'oxygène sur une chaîne aliphatique insaturée est une des réactions clés de l'oxydation des lipides. Le premier objectif est donc de déterminer des conditions de disponibilité en oxygène qui soient favorables à une dégradation significative de l'huile au cours du temps.

Trois rapports volume/surface (V/S), avec un ordre croissant de la disponibilité en oxygène sont ainsi testés : 17,30 mm (V/S1), 9,49 mm (V/S2) et 3,57 mm (V/S3). Le choix de travailler sans agitation est fait de façon à nous rapprocher de la réalité des produits gélifiés ou solides sur lesquels nous souhaitons à terme appliquer le modèle stoechio-cinétique. Toutes les cinétiques sont réalisées dans des conditions de traitements thermiques contrôlés (cf § II.4) à des températures allant de 80 à 180 °C. Ces bornes ont été choisies de façon à couvrir une gamme de températures allant de la température susceptible d'être rencontrée dans le produit à cœur (pendant la cuisson au four ou à la poêle) jusqu'à la température d'une huile de friture.

Le suivi de l'évolution des dienes conjugués, illustrée pour chaque rapport V/S aux différentes températures testées, montre une augmentation de ce marqueur au cours du temps (Figure 39). Comme attendu, la formation des composés d'oxydation possédant une structure diénique conjuguée est accélérée lorsque la disponibilité en oxygène augmente (de V/S1 à V/S3), et ce de façon d'autant plus marquée que la température est élevée. En effet, pour un même rapport V/S, on observe en fin de cinétique (après 6 heures de chauffage) une concentration en dienes conjugués deux à trois fois plus élevée à 150 °C qu'à 80 °C.

L'influence de la surface d'échange de l'huile avec l'air et du rapport volume d'huile/surface d'échange avait déjà été mise en évidence au préalable par Kanavouras et al. (2005) sur une huile d'olive extra vierge chauffée à 38 °C. Contrairement à nos conditions expérimentales, ils ont maintenue constante la surface de l'huile en contact avec l'air et fait varier la masse d'huile. Les niveaux d'oxydation, suivis par l'évolution des dienes conjugués, hydroperoxydes, composition en acides gras et composés polaires, sont significativement plus bas dans le cas des rapports surface/masse d'huile inférieurs (Kanavouras et al. 2005). Ceci est cohérent dans la

mesure où un rapport surface/masse d'huile bas se traduit par une couche d'huile plus importante et donc une diffusion de l'oxygène plus lente.

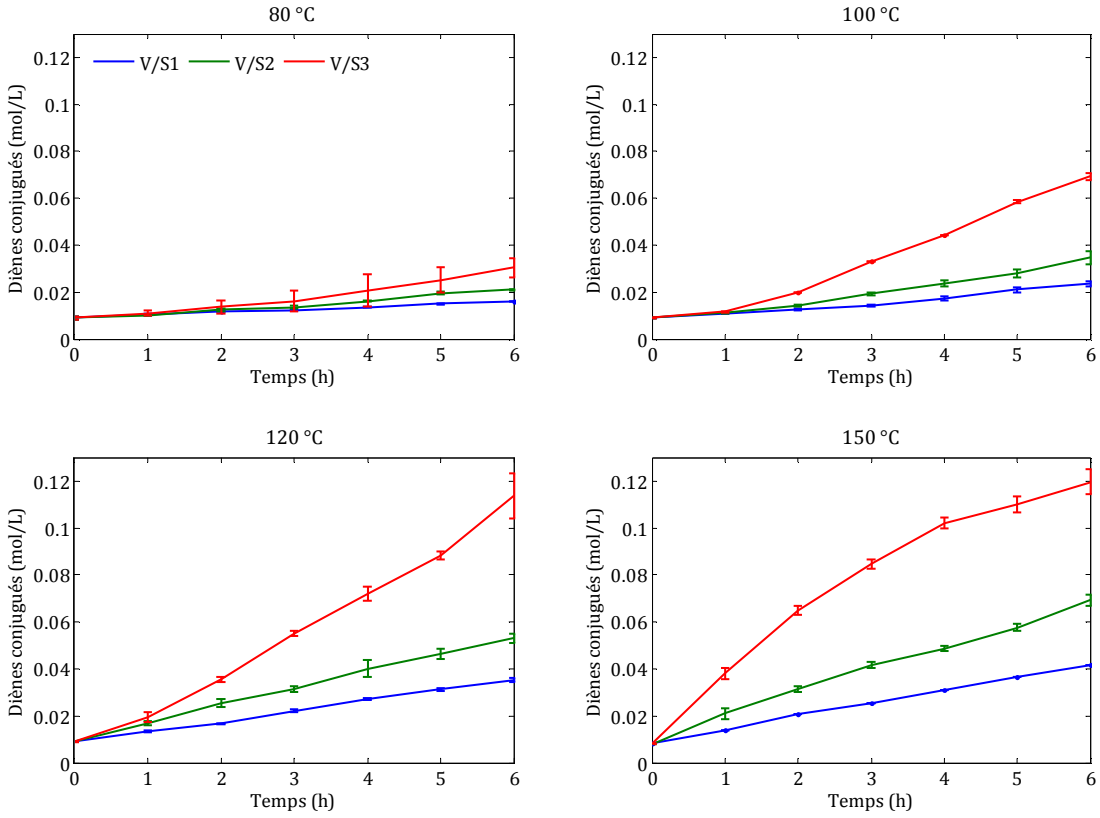


Figure 39. Cinétiques de suivi des diènes conjugués dans l'huile de tournesol chauffée à 80, 100, 120 et 150 °C pour différents rapports volume de l'huile/surface d'échange avec l'air (V/S).

Dans notre étude, l'influence de la surface d'échange de l'huile avec l'air s'explique logiquement par une diffusion plus importante de l'oxygène dans la couche d'huile lorsque le rapport V/S diminue, ce qui favorise ainsi les réactions d'oxydation des lipides. Cette influence est particulièrement marquée pour les rapports V/S2 et V/S3, et se traduit non seulement par l'augmentation des diènes conjugués comme montré précédemment, mais également par une augmentation marquée de la concentration en hydroperoxydes et une perte en acides gras insaturés, en particulier en acide linoléique (Figure 40).

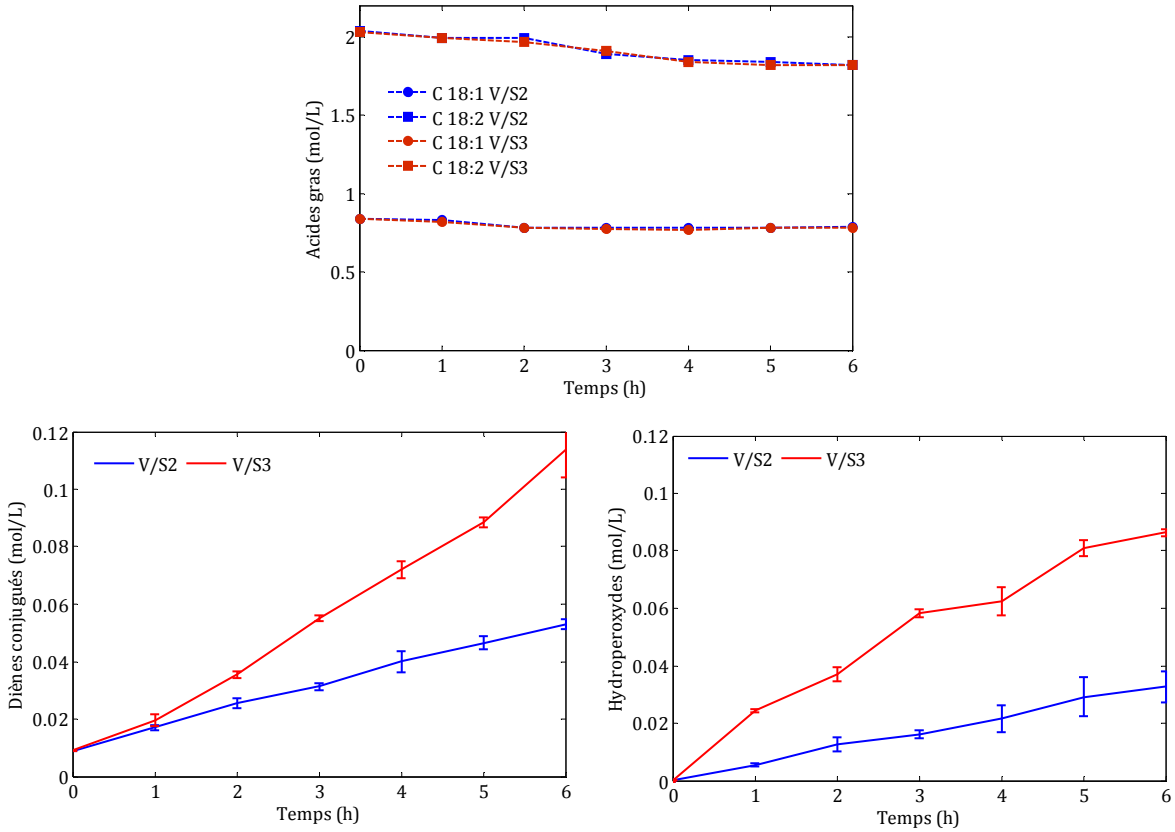


Figure 40. Mise en évidence de l'effet de la disponibilité en oxygène sur l'évolution des marqueurs d'oxydation : acides gras, dièns conjugués et indice de peroxyde à 120 °C

Compte tenu des résultats expérimentaux obtenus dans cette première étude visant à fixer les conditions expérimentales, nous pouvons considérer que la gamme de température proposée (80–180 °C) et que les rapports volume/surface V/S2 et V/S3 sont adaptés pour mettre en évidence des niveaux d'oxydation différents de l'huile de tournesol. Pour la suite de l'étude, nous travaillerons donc dans cette gamme de températures, en multipliant en particulier les analyses à 100, 120 et 150 °C, et nous retiendrons le rapport V/S2 au lieu du rapport V/S3, simplement parce que la verrerie utilisée pour accéder à cette valeur de V/S nous permet de multiplier le nombre d'expériences en parallèle dans le dispositif expérimental dont nous disposons.

Le plan d'expérimentation retenu est donc le suivant : les cinétiques d'oxydation des lipides ont été établies pour trois huiles végétales, l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC), dans les conditions décrites dans le Tableau 17 ci-dessous. Les marqueurs d'oxydation suivis se réfèrent pour la plupart à des familles de molécules, que ce soit des composés initiaux ou des produits d'oxydation.

Tableau 17. Récapitulatif des expériences réalisées et des conditions testées dans le cas de l'oxydation des huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC).

Echantillons	m (g)	Température (°C)	Temps (h)	Marqueurs
Huile de tournesol (HT) Huile de tournesol oléique (HTO) Huile de colza (HC) HT, HTO ou HC +/- antioxydants (α-tocophérol et acide chlorogénique)	5	100 120 150 (80, 180)	0 1 2 3 4 5 6	Acides gras Diènes conjugués Hydroperoxydes (*via* indice de peroxyde) Aldéhydes (*via* indice de *p*-anisidine) Polymères (*via* mesure de viscosité)

Chacune des expériences a été répétée trois fois, ce qui a permis d'acquérir un grand nombre de données expérimentales (Annexe 1), facilitant à la fois une étude statistique sur les paramètres influençant les réactions d'oxydation, et leur exploitation pour la phase de modélisation.

L'effet de chacun des paramètres susceptible d'influencer l'oxydation est mis en évidence d'une part par comparaison directe des différentes cinétiques d'oxydation enregistrées, et d'autre part par comparaison dans un plan des paramètres cinétiques (pentes et courbures calculées pour chaque cinétique) comme indiqué dans le paragraphe II.8.

III. 3. 2. Effet de la composition en acides gras

La comparaison des pentes et courbures des différentes cinétiques de formation des diènes conjugués met clairement en évidence un effet de la composition en acides gras (Figure 41), pour chaque température, avec une différence significative ($p<0,05$) sur ces deux paramètres pour les huiles de tournesol, tournesol oléique et colza.

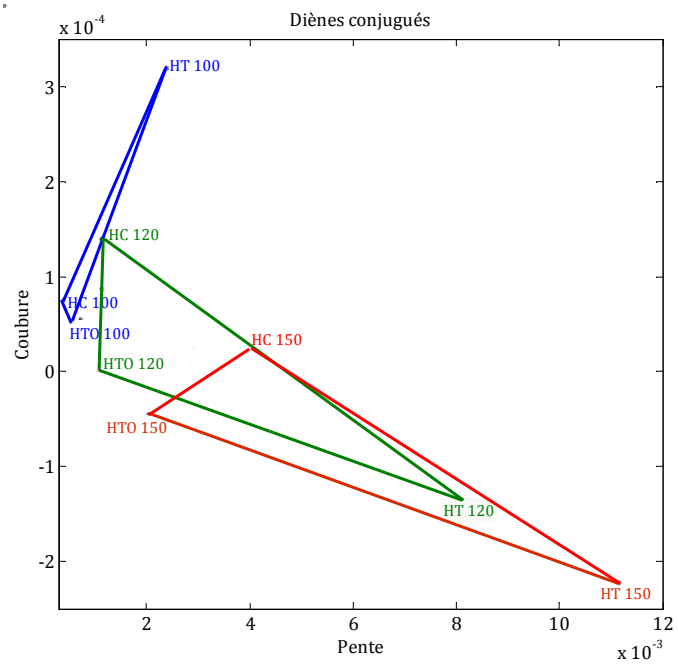


Figure 41. Mise en évidence de l'effet de la composition des huiles par comparaison des pentes et des courbures calculées sur les cinétiques de suivi des diènes conjugués pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C.

Quel que soit le temps considéré au cours de la cinétique d'oxydation, on constate que l'huile de tournesol est systématiquement plus oxydée que l'huile de colza, elle-même plus oxydée que l'huile de tournesol oléique (Figure 42). Ceci se justifie par un rapport AGPI/AGMI plus élevé pour l'huile de tournesol (Tableau 12) et par une oxydabilité plus importante des AGPI par rapport aux AGMI (acide α-linolénique > acide linoléique > acide oléique). L'influence de la composition en acides gras sur la stabilité d'une huile à l'oxydation a déjà été mise en évidence au préalable dans plusieurs études (Parker et al. 2003; Martin-Polvillo et al. 2004).

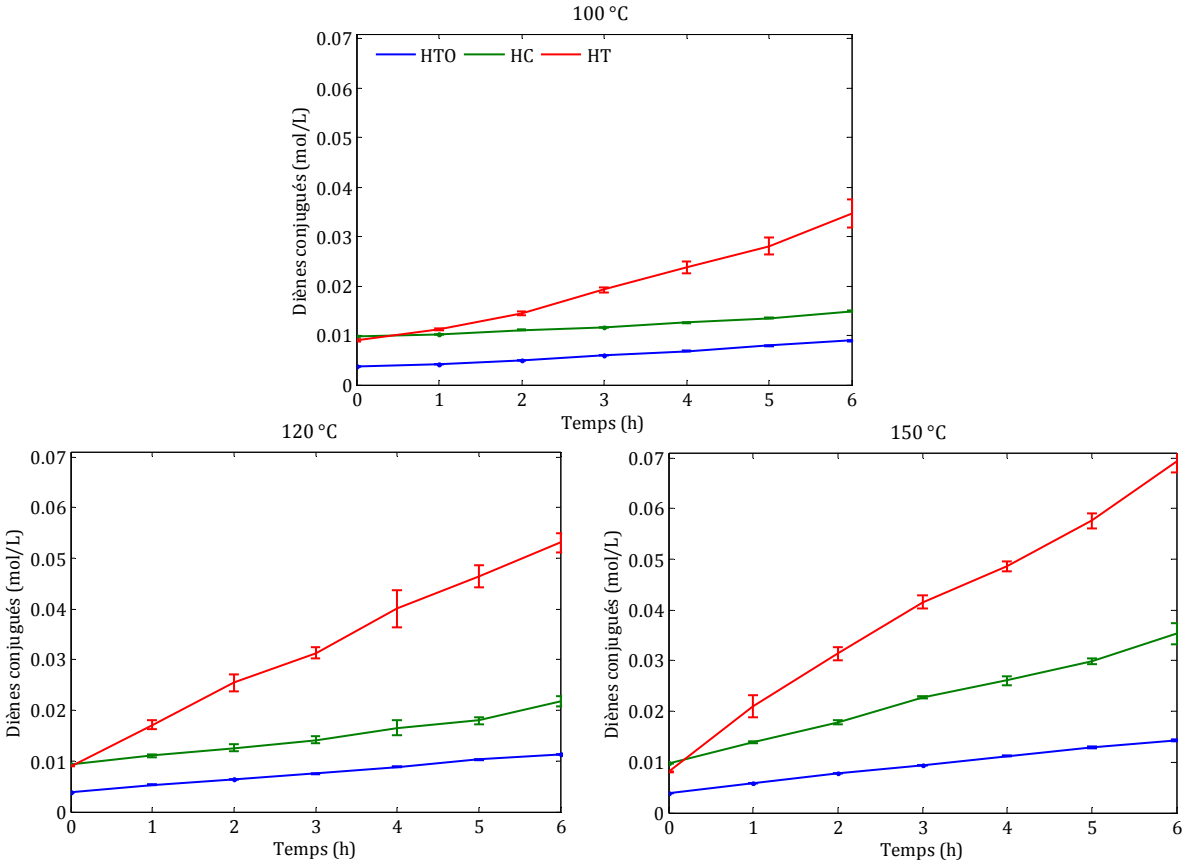


Figure 42. Cinétiques de suivi des diènes conjugués dans les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC) pendant leur chauffage à 100 °C, 120 °C et 150 °C .

Cet effet est confirmé lorsque les marqueurs d'oxydation suivis sont les hydroperoxydes (Figures 43 et 44). On constate que les cinétiques mesurées à 150 °C sont caractérisées par des valeurs de courbures négatives (Figure 43), ce qui met en évidence l'atteinte d'un plateau montrant que la production des hydroperoxydes s'équilibre alors avec leur dégradation.

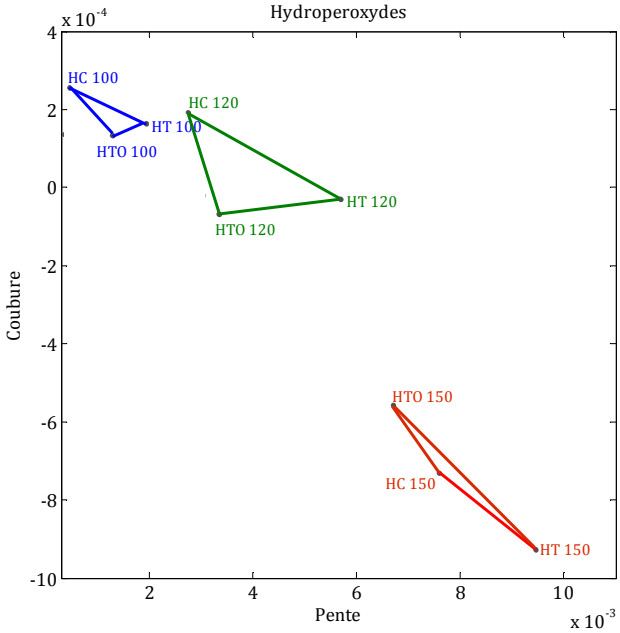


Figure 43. Mise en évidence de l'effet de la composition des huiles par comparaison des pentes et des courbures calculées sur cinétiques de suivi des hydroperoxydes pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C.

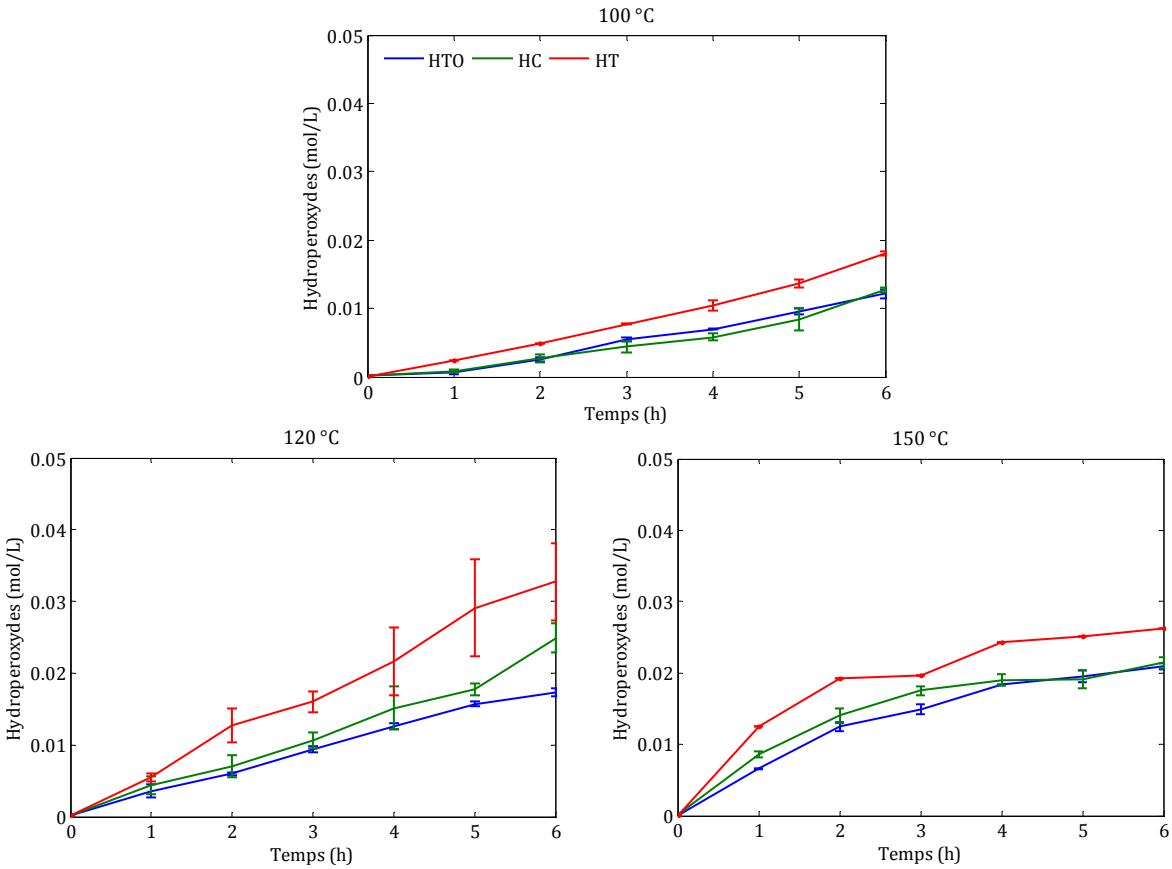


Figure 44. Cinétiques de suivi des hydroperoxydes dans les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC) pendant leur chauffage à 100 °C, 120 °C et 150 °C.

L'évolution de la concentration en polymères, calculée à partir des mesures de viscosité selon une corrélation établie par Jean-Denis et al. (2001), est en revanche moins influencée par la composition en acides gras des huiles (Figures 45 et 46), même si l'analyse statistique laisse

apparaître des différences significatives entre la plupart des échantillons (Annexe 2). Nos conditions expérimentales ne montrent qu'une faible augmentation de la viscosité (Figure 46) et traduit donc probablement que les réactions de terminaison conduisent davantage ici à des dimères qu'à des polymères.

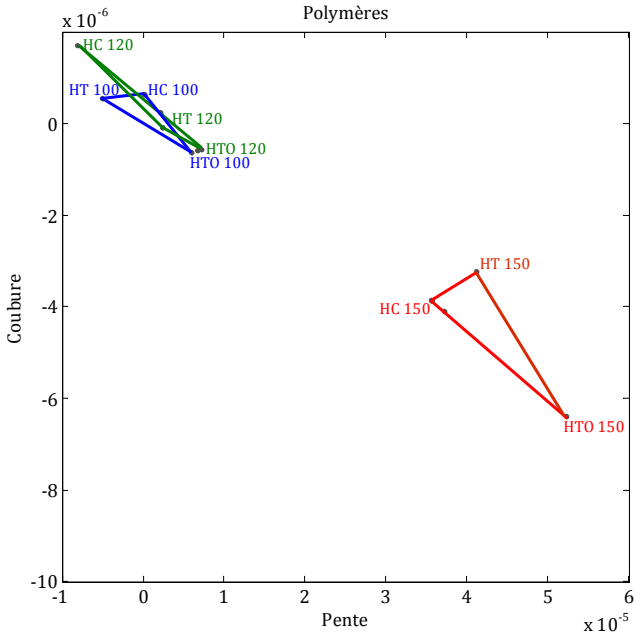


Figure 45. Mise en évidence de l'effet de la composition des huiles par comparaison des pentes et des courbures calculées sur les cinétiques de suivi des polymères pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C.

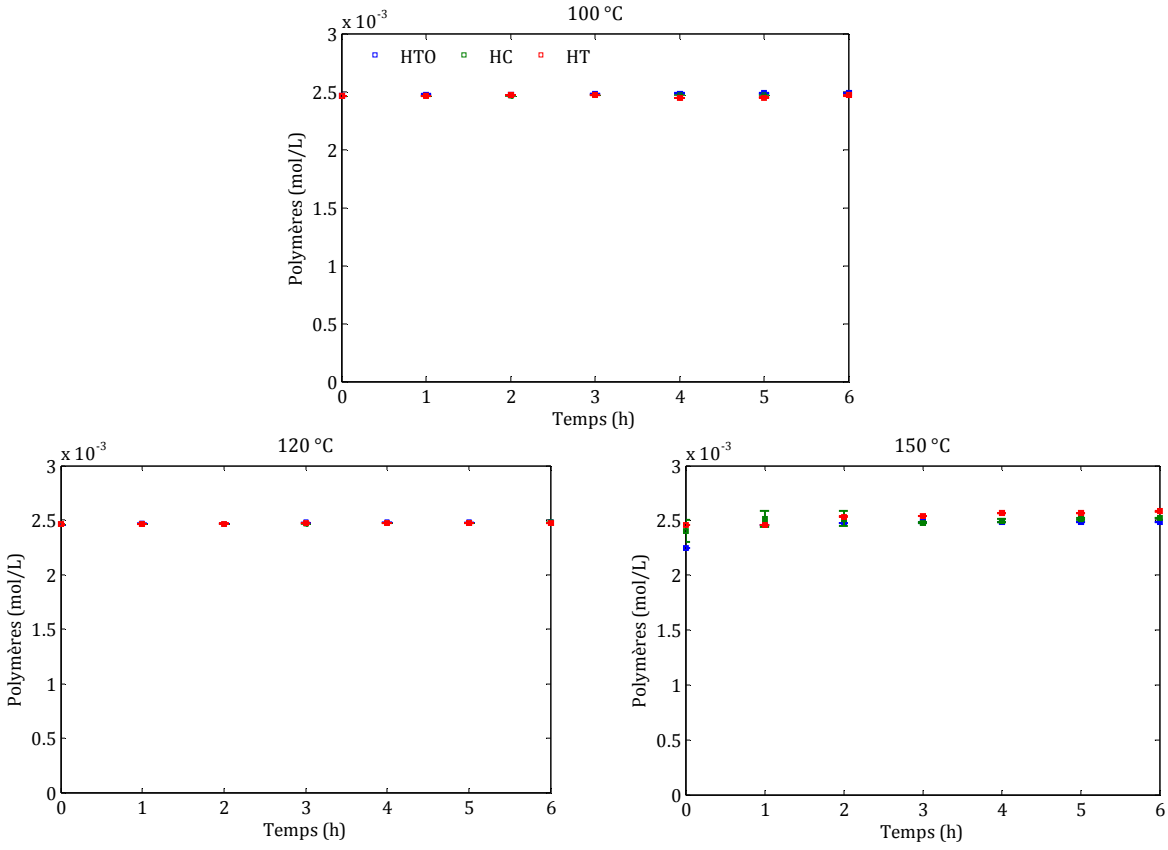


Figure 46. Cinétiques de suivi des polymères dans les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC) pendant leur chauffage à 100, 120 et 150 °C.

En conclusion, l'effet de la composition en acides gras des huiles sur l'avancement des réactions d'oxydation est confirmé. Les différences entre les huiles sont plus ou moins accentuées selon le marqueur réactionnel suivi. On note une évolution nette des marqueurs primaires d'oxydation (dienes conjugués et hydroperoxydes), alors que les marqueurs secondaires évoluent peu (polymères *via* viscosité). Les réactions de polymérisation semblent être négligeables dans les conditions expérimentales étudiées ou se traduisent très probablement dans notre cas par la formation de dimères qui n'ont qu'un impact négligeable sur la mesure de viscosité.
Ces résultats soulignent l'intérêt des marqueurs primaires de l'oxydation. La mesure des dienes conjugués n'est sans doute pas la plus adaptée pour les huiles riches en acide oléique puisque ces acides gras ne vont pas conduire à des structures diéniques. C'est pour cela par exemple que la différence entre huile de tournesol et huile de tournesol oléique apparaît plus marquée quand on suit les dienes conjugués que quand on suit les hydroperoxydes. Néanmoins, la différence entre les deux huiles existe toujours et est statistiquement significative.

III. 3. 3. Effet de la température

L'effet de la température est significatif sur l'évolution de l'ensemble des marqueurs d'oxydation suivis (Figure 47 et 48, Annexe 2). Il est particulièrement marqué pour les dienes conjugués, les hydroperoxydes et les aldéhydes. En revanche, il apparaît moins important pour les polymères.
La perte faible en acides gras insaturés, néanmoins plus importante pour l'acide linoléique (12 % à 150 °C) que pour l'acide oléique (8 % à 150 °C) (Figure 48), est cohérente avec les données de la littérature (Holman & Elmer 1947; Gray 1978; Frankel 1998; Choe & Min 2006). Il a été d'ailleurs souvent montré que la mesure des acides gras n'était pas très pertinente pour suivre de façon fine l'oxydation des lipides. Dans notre cas cependant, il est important de prendre cette mesure en considération dans l'établissement du modèle stoechio-cinétique car elle évolue de façon significative.

L'évolution des dienes conjugués et des hydroperoxydes montre une évolution nette au cours du temps, d'autant plus importante que la température de chauffage augmente (Figure 48). Une augmentation continue des dienes conjugués est cohérente dans la mesure où l'oxydation des acides gras se traduit par la formation d'une fonction diénique conjuguée conservée tout au long de la chaine d'oxydation. Dans le cas des hydroperoxydes, l'évolution observée correspond à une résultante entre les hydroperoxydes formés et les hydroperoxydes dégradés par des réactions ultérieures. La dégradation étant plus importante que la production à 150 °C, on observe la formation d'un plateau qui se traduit également par une valeur de courbure négative comme évoquée précédemment (Figure 47).

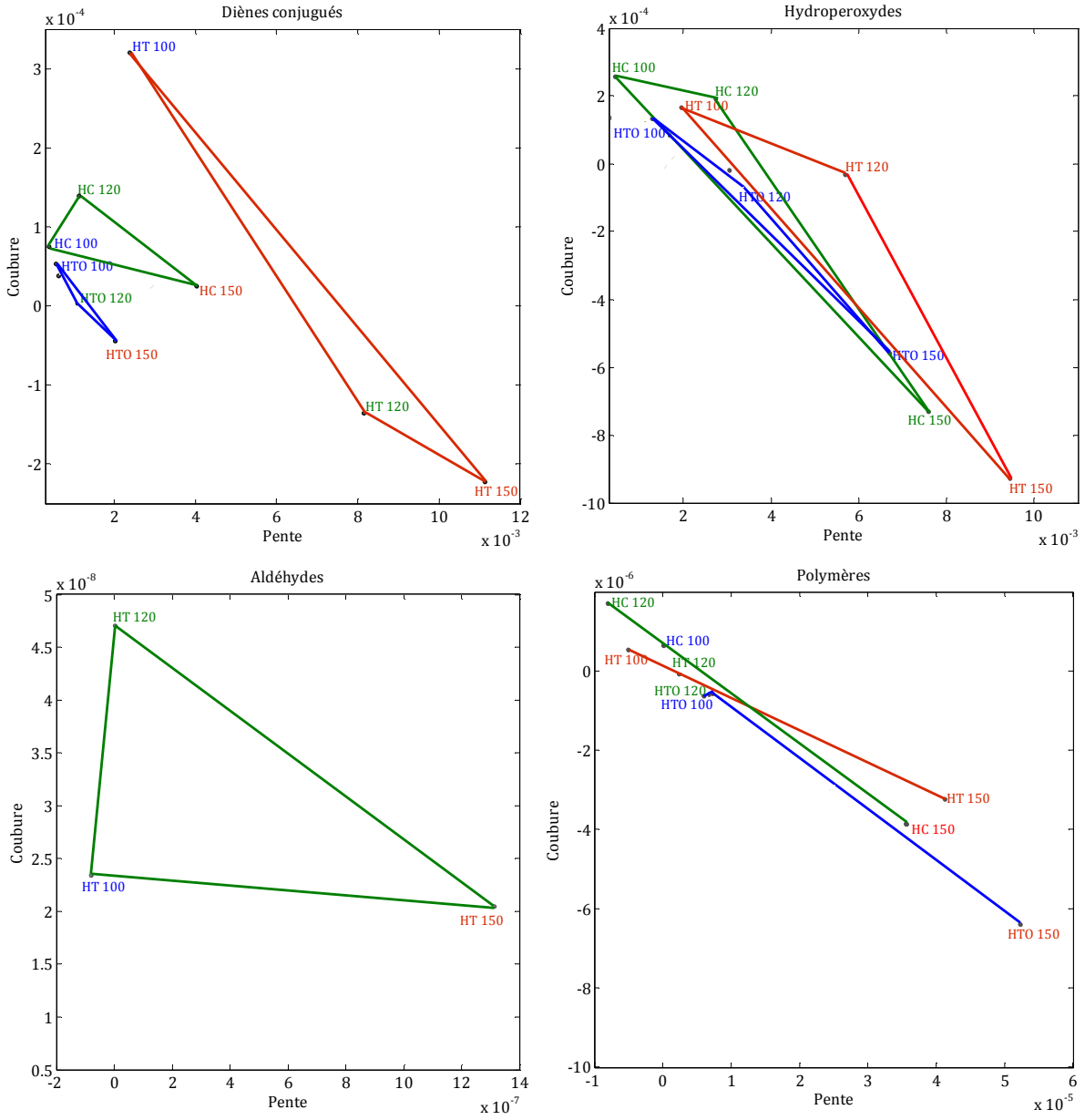


Figure 47. Mise en évidence de l'effet de la température par comparaison des pentes et des courbures calculées sur les cinétiques de suivi des diènes conjugués, des hydroperoxydes, des aldéhydes et des polymères pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C.

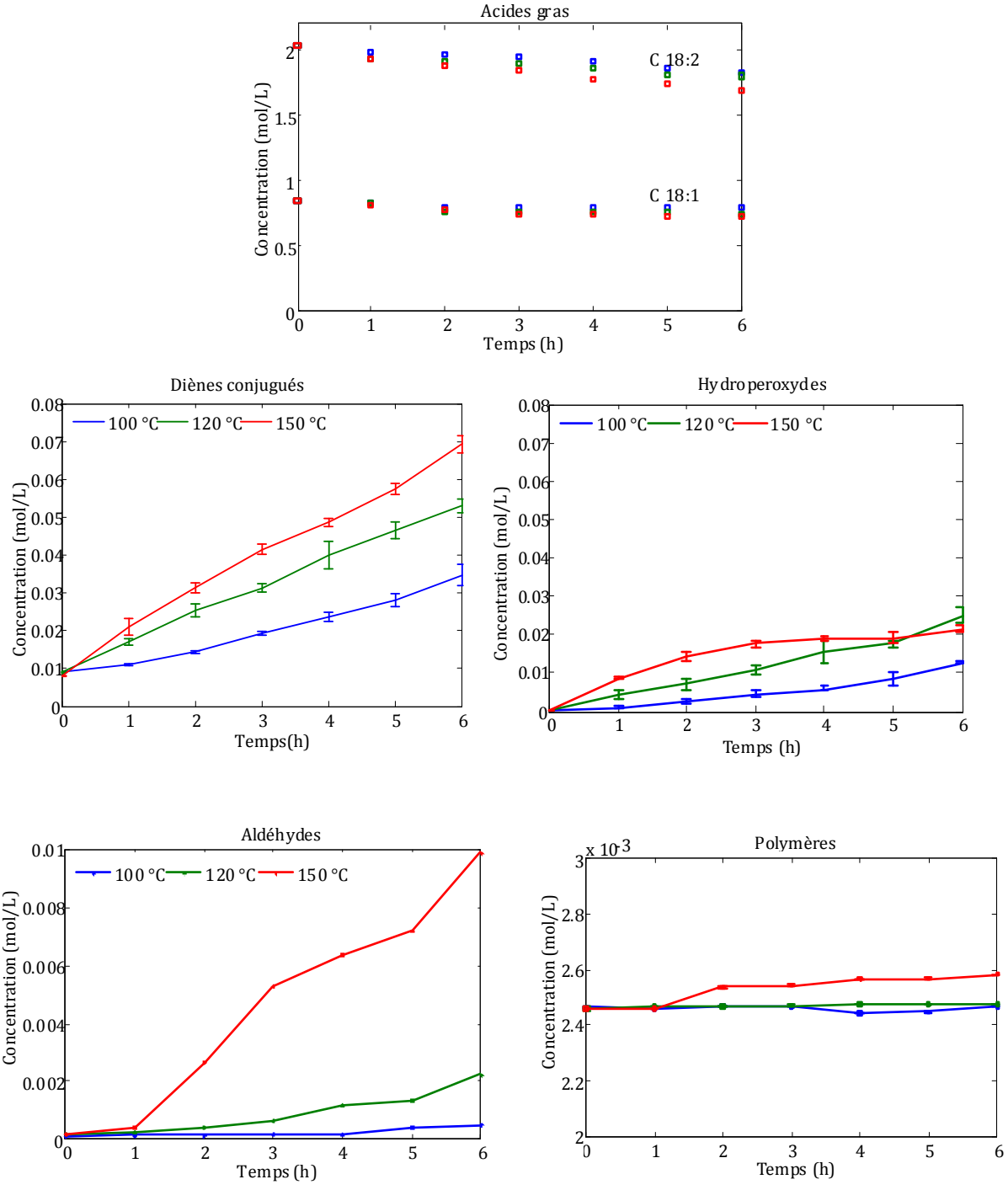


Figure 48. Mise en évidence de l'effet de la température sur l'évolution des marqueurs d'oxydation : acides gras, dièenes conjugués, hydroperoxydes, aldéhydes et polymères pour l'huile de tournesol chauffée à 100, 120 et 150 °C.

Une corrélation linéaire entre les dienes conjugués et les hydroperoxydes est mise en évidence à 100 et 120 °C (Figure 49 a). Elle reste valable pour les trois huiles étudiées (Figure 49 b). Bien que le marqueur dienes conjugués sous-estime l'état d'oxydation des huiles riches en acide oléique, ce résultat suggère que ce marqueur reste tout de même intéressant pour suivre l'évolution de l'état d'oxydation des huiles et souligne encore l'importance des AGPI par rapport aux AGMI dans les réactions d'oxydation.

Une telle corrélation avait été mise en évidence au préalable sur les huiles de tournesol et de tournesol oléique à 40 °C (Marmesat et al. 2009).

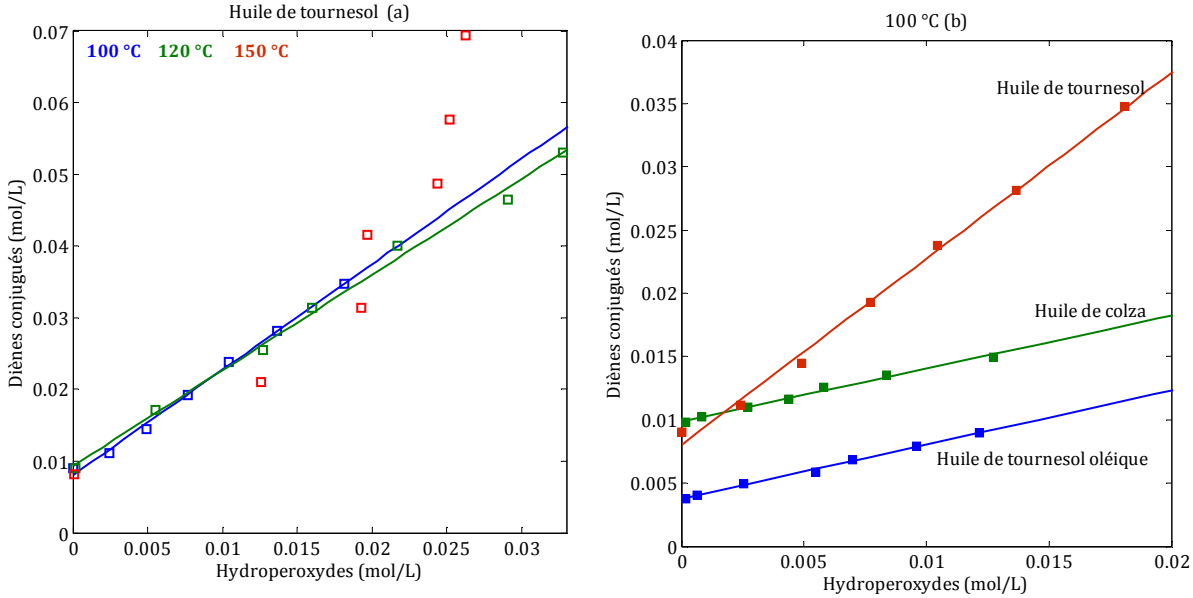


Figure 49. Corrélation entre les dienes conjugués et les hydroperoxydes : (a) pour l'huile de tournesol à 100, 120 et 150 °C ; (b) pour les huiles de tournesol, tournesol oléique et colza à 100 °C.

Les marqueurs secondaires, aldéhydes et polymères, évoluent de façon différente avec la température (Figures 47 et 48). La concentration des aldéhydes, exprimée en équivalent 2,4-décadiénal, montre une phase de latence, suivie d'une forte production d'aldéhydes, avec une concentration en fin de cinétique environ quatre fois plus importante à 150 °C comparée à 120 °C, et vingt fois plus importante à 150 °C qu'à 100 °C. Ceci traduit bien la formation importante d'aldéhydes insaturés à partir de l'acide linoléique majoritaire dans l'huile de tournesol. Les polymères montrent une évolution peu marquée avec la température. Néanmoins, une différence significative entre les températures existe bien (Annexe 4).

L'effet de la température discuté sur l'huile de tournesol reste valable sur les huiles de tournesol oléique et de colza et est statistiquement significatif ($p<0,05$, Annexes 3 à 5).

III. 3. 4. Effet de la présence des antioxydants

III. 3. 4. 1. Effet de l'α-tocophérol

L'effet de la présence d'α-tocophérol sur l'avancement des réactions d'oxydation est évalué selon les mêmes marqueurs que précédemment. Ainsi on constate qu'ajouté, à une concentration du même ordre de grandeur que celle habituellement trouvée dans l'huile de tournesol (environ 700 $mg.kg^{-1}$ soit 15×10^{-4} $mol.L^{-1}$), l'alpha-tocophérol retarde significativement la formation des dienes conjugués et des hydroperoxydes par rapport aux huiles non enrichies (Figure 50, Annexes 3 à 5). En fin de cinétique, la concentration en dienes conjugués et hydroperoxydes est entre 1,5 et 2,5 moins importante pour les huiles enrichies en α-tocophérol.

Le chauffage de l'huile de tournesol à 120 °C, avec ou sans α-tocophérol, provoque la formation d'une concentration équivalente en aldéhydes en fin de cinétique. Il est à noter cependant que la présence de l'antioxydant induit un temps de latence pendant lequel la formation des aldéhydes reste faible (Figure 50).

L'ajout de l'α-tocophérol a peu d'effet sur la formation des polymères, avec une différence significative observée seulement à 120 °C pour l'huile de tournesol (Figure 50, Annexe 4).

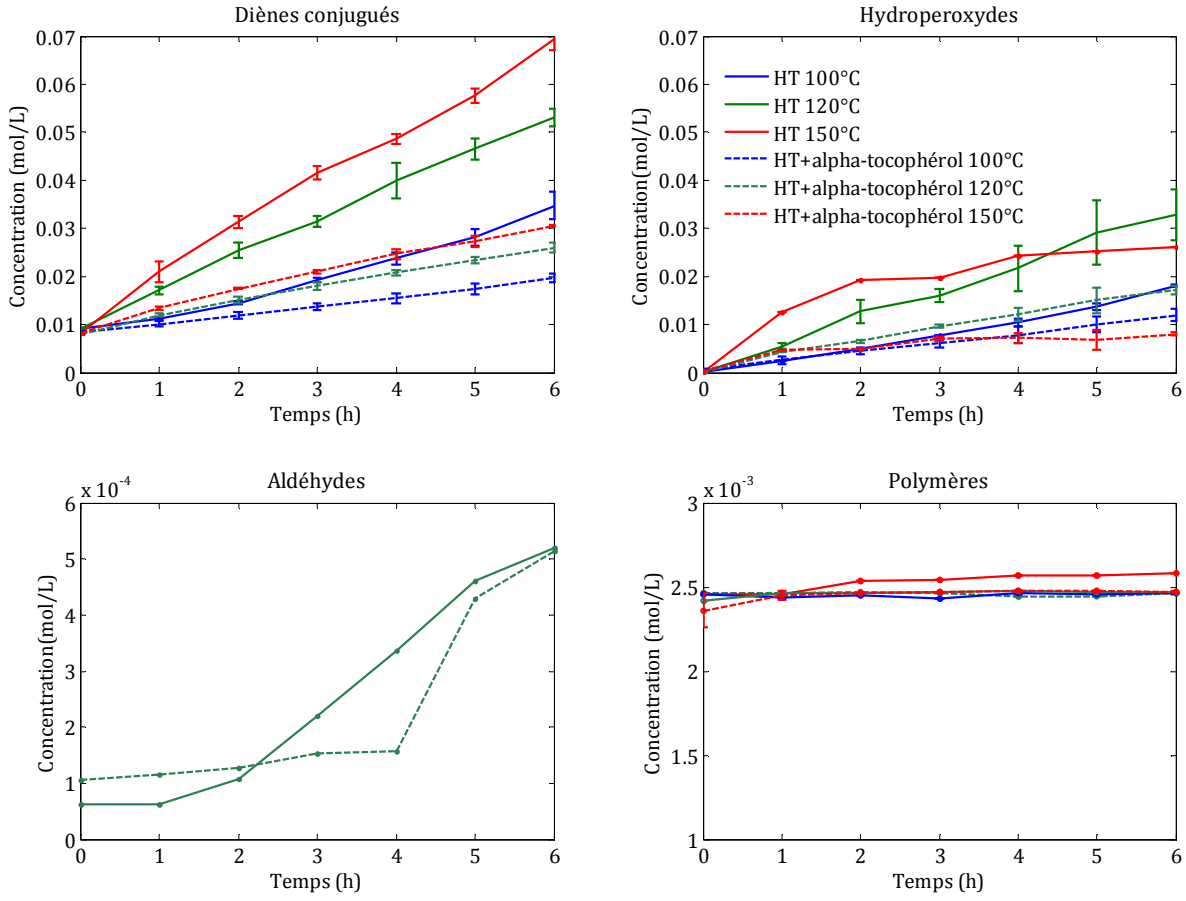


Figure 50. Cinétiques de suivi des marqueurs dienes conjugués, hydroperoxydes, aldéhydes et polymères pour l'huile de tournesol (HT) chauffée à 100, 120 et 150 °C en présence d'α- tocophérol.

Des résultats équivalents sont observés avec les huiles de colza (Figure 51) et de tournesol oléique (Figure 52, Annexe 1). L'ensemble des observations mises en évidence pour l'huile de tournesol dans le cas des marqueurs diènes conjugués et hydroperoxydes sont confirmées pour l'huile de colza (Figure 52, Annexe 1). Là encore, l'analyse statistique montre une différence significative des pentes ($p<0,05$) entre les huiles enrichies en α-tocophérol comparé aux huiles témoins pour les marqueurs primaires d'oxydation. En revanche, aucun effet significatif n'est noté entre les échantillons dans le cas des polymères (Annexes 3, 5).

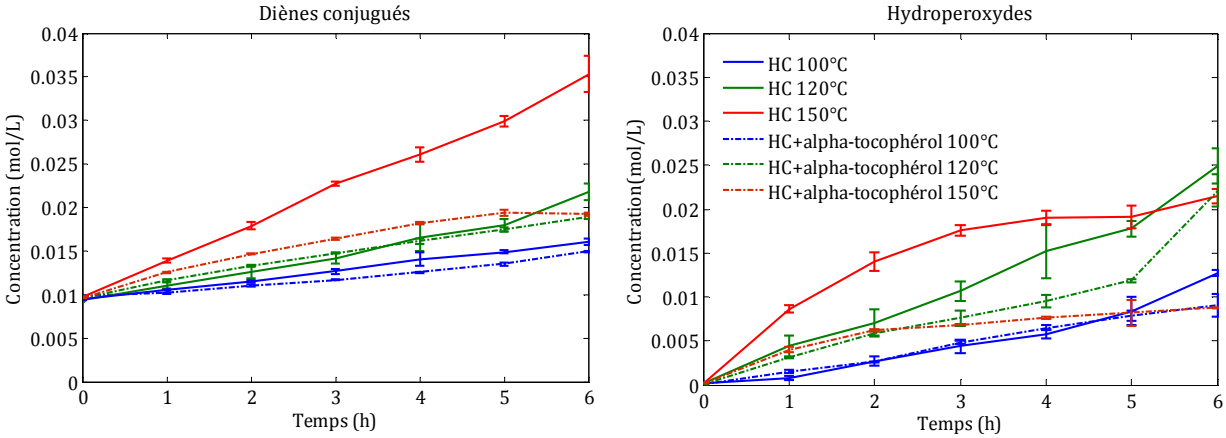


Figure 51. Cinétiques de suivi des diènes conjugués et hydroperoxydes pour l'huile de colza (HC) chauffée à 100, 120 et 150 °C en présence d'α- tocophérol.

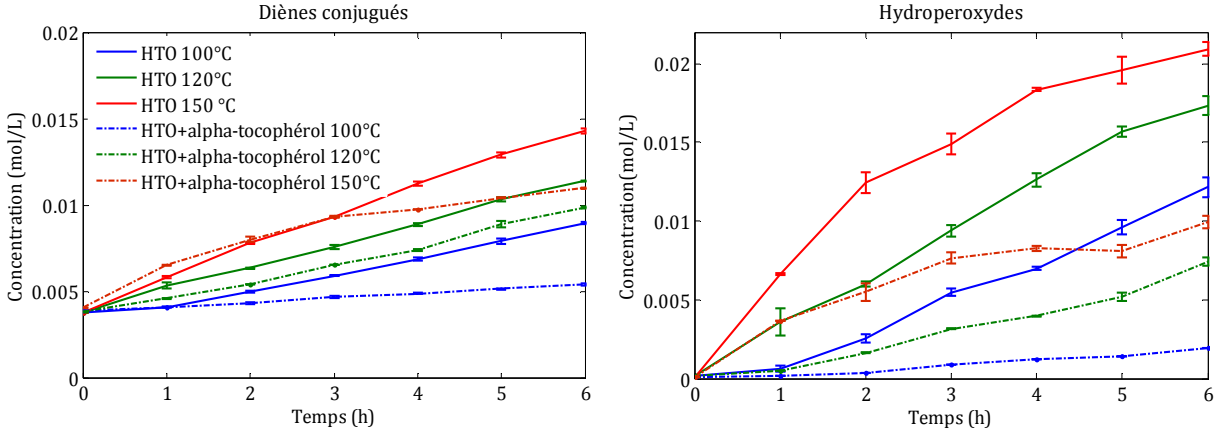


Figure 52. Cinétiques de suivi des diènes conjugués et hydroperoxydes pour l'huile de tournesol oléique (HTO) chauffée à 100, 120 et 150 °C en présence d'α- tocophérol.

Le suivi de l'α-tocophérol au cours de l'oxydation des huiles (Figure 53) montre une perte faible de cet antioxydant à 100 °C (inférieure à 10 %), puis logiquement d'autant plus importante que la température augmente (10 à 30 à 120 °C, 50 à 100 à 150 °C selon la nature de l'huile).

Nous constatons que la disparition de l'α-tocophérol est d'autant plus rapide que la teneur en AGMI est élevée : huile de tournesol oléique > huile de colza > huile de tournesol.

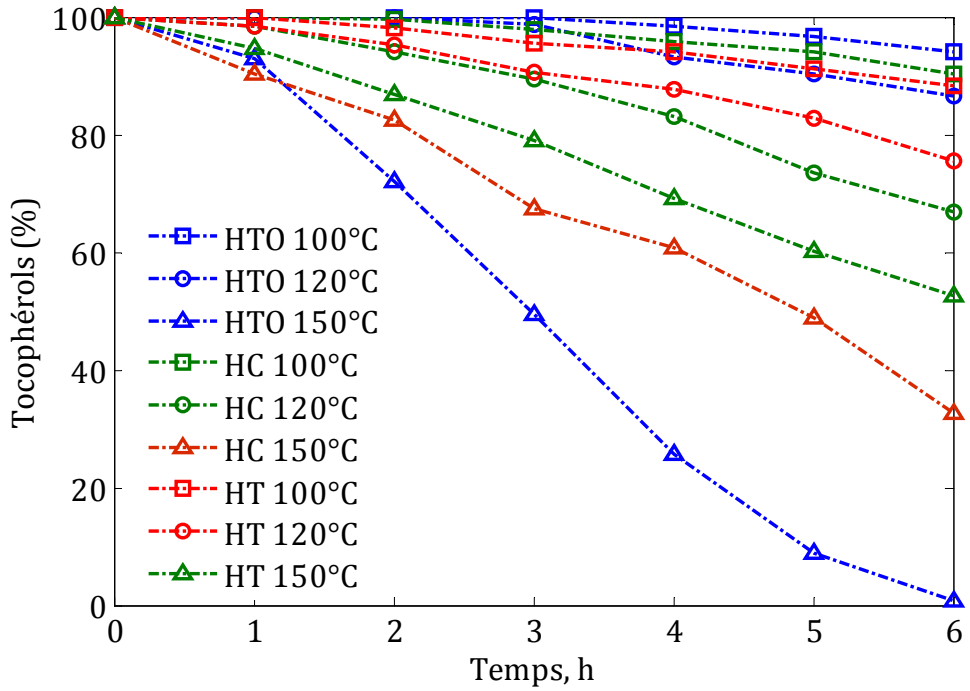


Figure 53. Perte en tocophérol (%) dans les huiles de tournesol oléique (HTO), colza (HC) et tournesol (HT) supplémentées en α-tocophérol (700 mg.kg^{-1}) chauffées à 100, 120 et 150 °C.

Un tel phénomène a déjà été mis en évidence par Yoshida et al (1991 a, b), qui ont montré que la perte en α-tocophérol était plus importante dans l'huile d'olive (riche en acide oléique) que dans l'huile de soja (riche en acides linoléique et α-linolénique) (Yoshida et al. 1991a; Yoshida et al. 1991b).

De même, Barrera-Arellano et al. (2002) ont observé l'absence d'α-tocophérol dans les huiles de tournesol oléique et olives après 10 heures de chauffage à 180 °C, alors que des quantités résiduelles importantes étaient présentes dans les huiles de tournesol (33 % de l'α-tocophérol initial), de colza (32 % de l'α-tocophérol initial) et de soja (47 % de l'α-tocophérol initial) (Barrera-Arellano et al. 2002).

Verleyen et al. (2002) ont montré que l'α-tocophérol se dégradait plus rapidement dans les huiles moins insaturées (olive, tournesol oléique, maïs par rapport à soja et lin). Ils ont également mis en évidence une relation linéaire entre l'indice d'iode, représentatif du taux d'insaturation d'une huile, et la teneur en α-tocophérol résiduel (Verleyen et al. 2002).

Si l'on considère dans notre étude, la perte en α-tocophérol due exclusivement au traitement thermique, comme nous l'avons mesuré dans le mygliol à 150 °C (33 %)(Figure 54), on constate qu'elle peut expliquer une partie importante de la disparition de l'α-tocophérol dans l'huile de tournesol, qui est de 47,5 % au total.

Ainsi, seule une petite moitié de l'α-tocophérol exercerait une activité antiradicalaire dans ce milieu, riche en acide linoléique. En revanche, dans les deux autres huiles étudiées, l'α-tocophérol pourrait exercer une action protectrice plus importante.

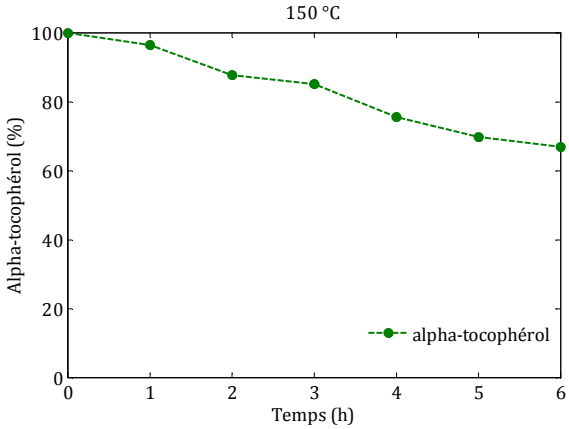


Figure 54. Suivi de la perte en α-tocophérol dans le mygliol chauffé à 150 °C.

D'après les résultats dont nous disposons, il semblerait qu'il existe une relation exponentielle croissante entre la perte en α-tocophérol hors dégradation thermique (Figure 55 A) et le pourcentage en AGMI des huiles par rapport aux acides gras totaux et une relation exponentielle décroissante avec les AGPI (Figure 55 B).

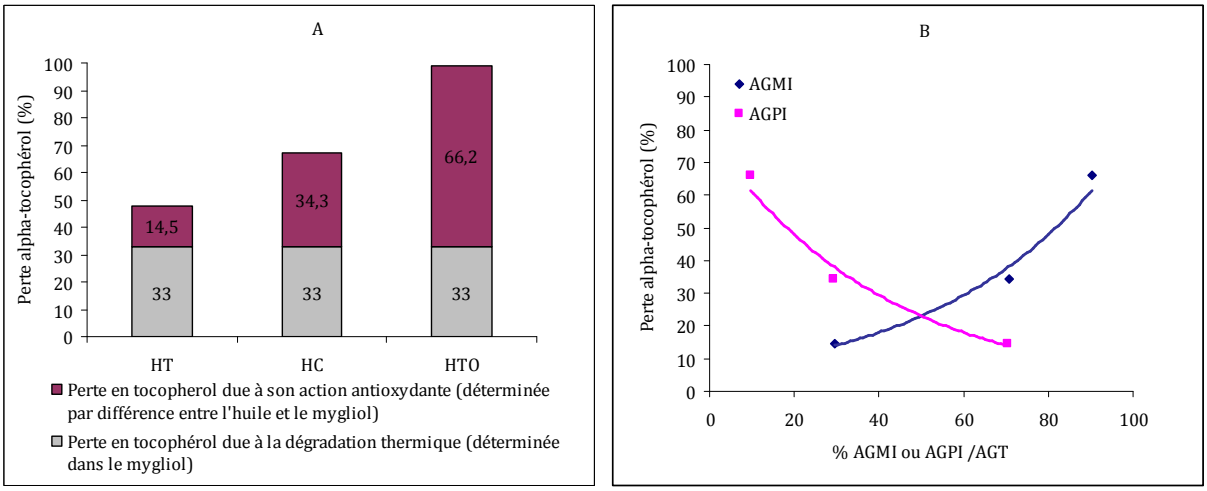


Figure 55. Evaluation de la perte en α-tocophérol due à sa dégradation thermique et à son action antioxydante vis-à-vis des acides gras insaturés : A. en fonction de la nature d'huile à 150 °C pendant 6 h de chauffage ; B. En fonction de la composition en acides gras mono-insaturés (AGMI) et polyinsaturés (AGPI) par rapport aux acides gras totaux (AGT) à 150 °C pendant 6 h de chauffage.

A notre connaissance, aucune explication n'est proposée dans la littérature pour expliquer ce phénomène. Il serait intéressant d'étudier l'impact réel des produits d'oxydation de l'α-tocophérol, capables également d'exercer une action antioxydante (Verleyen et al. 2002), et de considérer les vitesses de réaction de ces molécules avec les différents acides gras constitutifs des huiles.

III. 3. 4. 2. Effet du mélange α-tocophérol + acide chlorogénique

L'ajout d'acide chlorogénique en concentration équimolaire à celle de l'α-tocophérol (15×10^{-4} $mol.L^{-1}$) ne permet pas d'améliorer de façon importante la protection antioxydante des huiles

(Figure 56), même si l'analyse statistique montre, dans la plupart des cas, des différences significatives au niveau des pentes et des courbures des différentes cinétiques suivies (Tableau 18, Annexes 3 à 5).

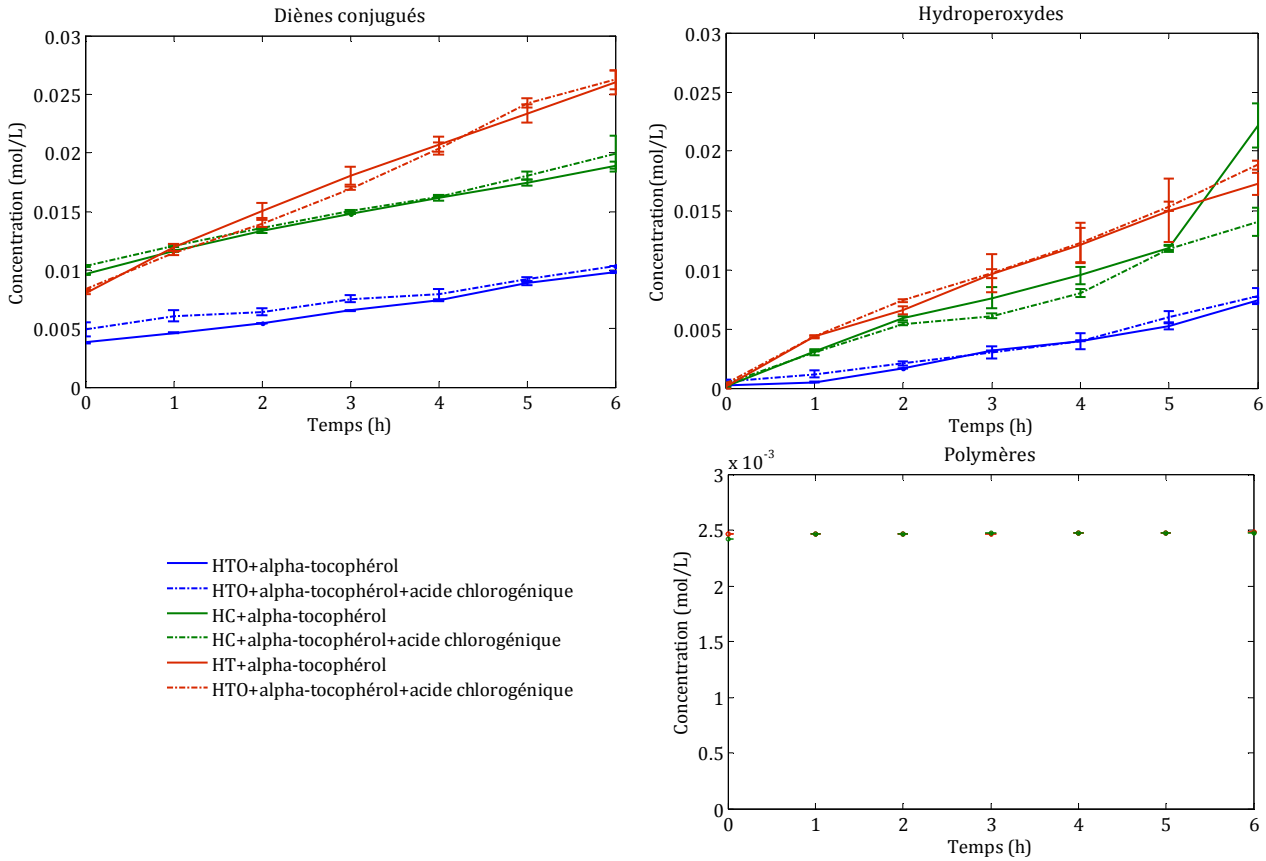


Figure 56. Cinétiques de formation des dienes conjugués, hydroperoxydes et polymères pour les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et colza (HC) chauffées à 120 °C en présence d'α-tocophérol (700 mg.kg^{-1}) et d'acide chlorogénique(500 mg.kg^{-1}) .

Tableau 18. Différences significatives entre les pentes et les courbures calculées sur le suivi des marqueurs d'oxydation dans les huiles enrichies en α-tocophérol et acide chlorogénique comparé aux huiles enrichies seulement avec α-tocophérol.

Marqueur d'oxydation	α-tocophérol+acide chlorogénique
Huile de tournesol	
Dienes conjugués	p+ à 100, 120 °C ; c+ à 100, 120 °C
Hydroperoxydes	p+ à 100, 150 °C ; c+ à 100, 120 et 150 °C
Polymères	p- à 100, 120 et 150 °C; c- à 100, 120 et 150 °C
Huile de tournesol oléique	
Dienes conjugués	p+ à 100°C ; c- à 100, 120 et 150 °C
Hydroperoxydes	p+ à 100, 120 °C ; c+ 100, 120 °C
Polymères	-
Huile de colza	
Dienes conjugués	p+ à 100, 120°C ; c+ à 100, 120 et 150 °C
Hydroperoxydes	p+ à 100, 120 °C ; c+ à 100, 120 °C
Polymères	p- à 100, 120 et 150 °C; c- à 100, 120 et 150 °C

p+, c+, pente et courbure significativement différente au seuil de p<0,05
p-, c-, pente et courbure non significativement différente

On constate en revanche que la présence d'acide chlorogénique dans l'huile ralentit la perte en α-tocophérol dans le milieu (Figure 57). Et ce quelle que soit l'huile considérée (Annexe 1). Par exemple, après 6 heures de chauffage à 150 °C, seulement 47,5 % de l'α-tocophérol présent initialement dans l'huile de colza sont dégradés lorsque l'acide chlorogénique est présent, contre 68 % en son absence.

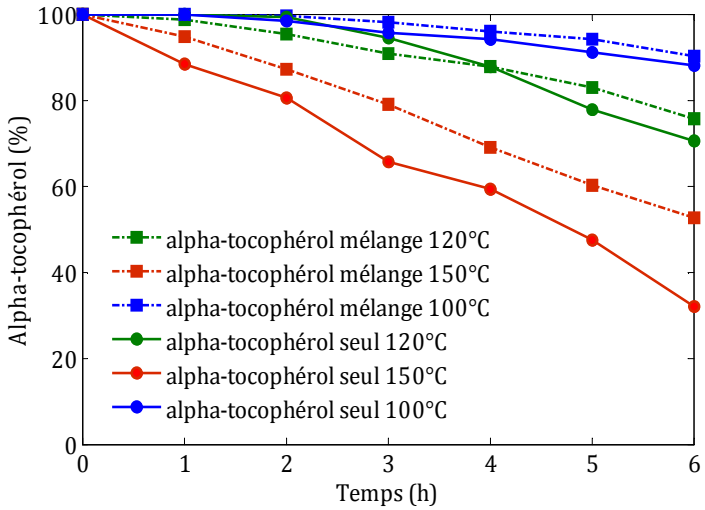


Figure 57. Cinétiques de suivi de l'α-tocophérol dans une huile de colza chauffée à 100, 120 et 150 °C.

L'hypothèse d'une régénération de l'α-tocophérol par l'acide chlorogénique peut être envisagée, même si elle ne se traduit pas cette fois par une modification importante de la stabilité oxydative des huiles comme cela avait été montré pour les couples α-tocophérol/acide caféique ou α-tocophérol/acide rosmarinique dans un test en milieu modèle (Peyrat-Maillard et al. 2003), consistant en une oxydation de l'acide linoléique en milieu dispersé, initialisé par du 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH).

D'après une étude de stabilité de l'acide chlorogénique menée dans le mygliol à 150 °C, on constate que 61 % de l'acide chlorogénique sont perdus au bout de 6 heures de chauffage par le simple effet de la température (Figure 58).

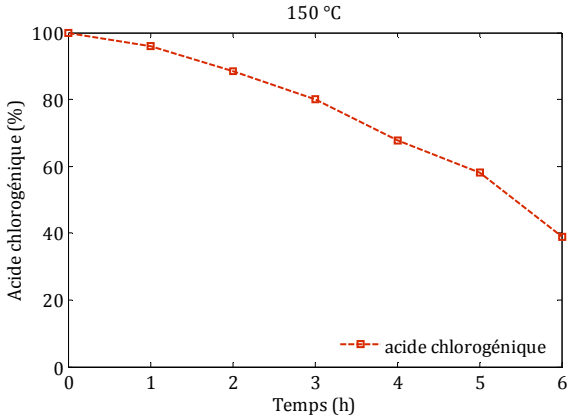


Figure 58. Suivi de la perte en acide chlorogénique dans le mygliol chauffé à 150 °C.

Dans l'huile de colza par exemple, enrichie en α-tocophérol et en acide chlorogénique, on constate 83 % de perte (Figure 59). Ainsi, 22 % de l'acide chlorogénique initial présent aurait une action de régénération de l'α-tocophérol.

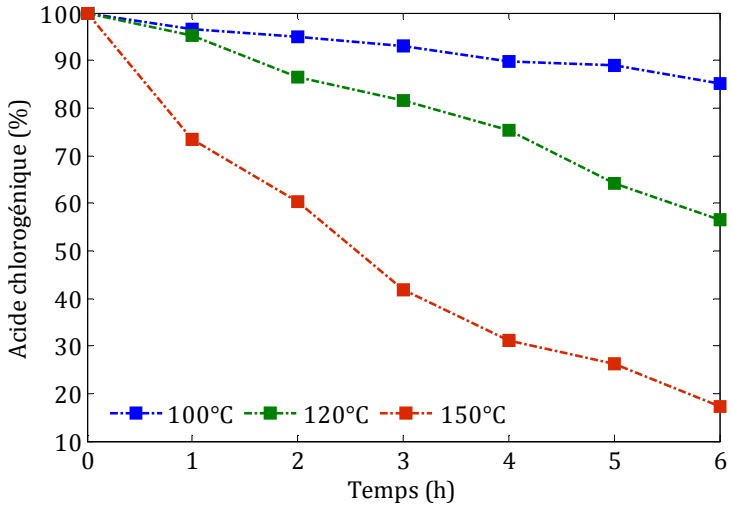


Figure 59. Cinétique de suivi de l'acide chlorogénique dans une huile de colza chauffée à 100, 120 et 150 °C.

Si l'on traduit cette différence en nombres de moles d'acide chlorogénique dans l'huile en fin de chauffage, on constate qu'elle correspond au nombre de moles supplémentaires d'α-tocophérol présents dans l'huile enrichie avec les deux antioxydants par rapport à celle ne contenant que de l'α-tocophérol. Et cette tendance est valable pour les trois huiles étudiées.

III. 3. 5. Conclusions

Un jeu de données sur l'oxydation des huiles végétales de composition variée en conditions de températures contrôlées a été acquis dans cette étude et sera exploité pour l'étape de validation du modèle stoechio-cinétique. Il peut être résumé en considérant le couple pente/courbure pour les différentes huiles, oxydées dans différentes conditions (Figure 60). Les résultats montrent que l'avancement des réactions d'oxydation est affecté par des paramètres physiques et chimiques multiples.

L'effet de la surface d'huile en contact avec l'air, et donc des conditions d'oxygénation, est net sur les cinétiques d'oxydation, et d'autant plus marqué que la température est élevée.

L'effet de la composition en acides gras est important et d'autant plus que la température est élevée.

La présence de l'α-tocophérol en concentration habituellement rencontrée dans les huiles végétales permet de ralentir significativement la formation des composés primaires d'oxydation (diènes conjugués et hydroperoxydes), tandis que la présence supplémentaire de l'acide chlorogénique ne renforce que très peu la protection antioxydante déjà apportée par l'α-tocophérol. En revanche, la présence d'acide chlorogénique permettrait de limiter les pertes en α-tocophérol au cours du traitement thermique.

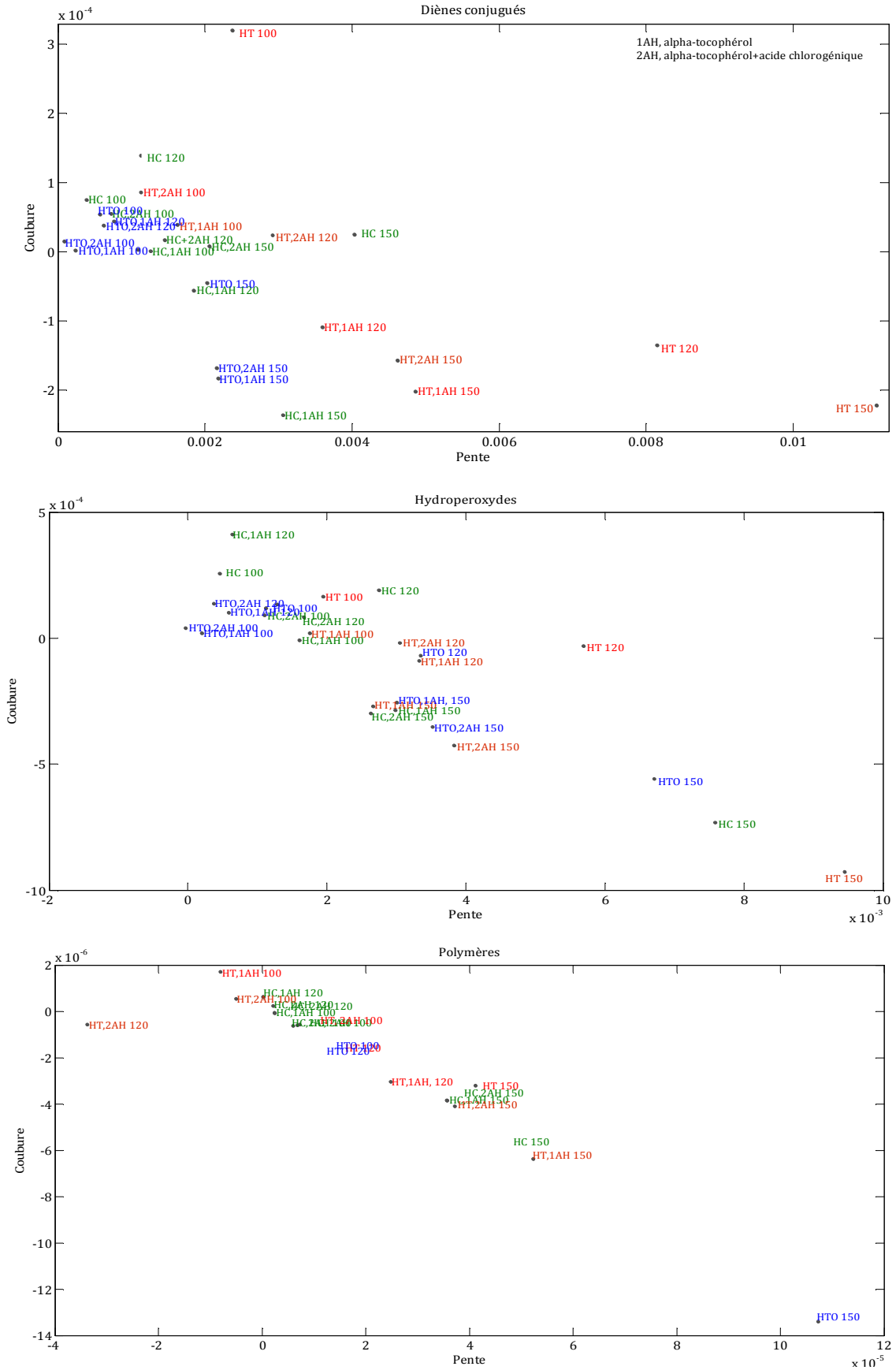


Figure 60. Couple pentes/courbures calculées sur les cinétiques de suivi des diènes conjugués, des hydroperoxydes et des polymères pour l'huile de tournesol (HT), l'huile de tournesol oléique (HTO) et l'huile de colza (HC) chauffées à 100, 120 et 150 °C.

III. 4. VALIDATION DU MODELE STOECHIO-CINETIQUE

III. 4. 1. Méthode adaptée en vue de l'identification des paramètres cinétiques

La complexité du modèle stoechio-cinétique décrit dans les paragraphes III.1 et III.2 est le reflet de la complexité du phénomène d'auto-oxydation lui-même. Cette complexité se traduit essentiellement par un nombre élevé d'équations traduisant le schéma réactionnel, et un nombre important de paramètres cinétiques qui interviennent dans le calcul des vitesses de réactions. Le modèle nécessite la connaissance *a priori* d'un grand nombre de paramètres cinétiques auxquels il faut attribuer une valeur numérique avant de pouvoir leur donner une valeur adaptée aux conditions de nos essais par identification paramétrique.

Ayant déjà constaté le manque de précision et la variabilité des données issues de la littérature, nous nous confrontons à une limitation sur la qualité des valeurs disponibles. Les constantes de vitesse de certaines réactions n'ont pas été déterminées ou alors ont été déterminées dans des conditions différentes de celles de nos essais. Un autre problème se pose donc dans le choix des valeurs initiales (choisies *a priori* avant l'identification) pour les paramètres cinétiques du modèle.

L'identification des paramètres cinétiques par minimisation de la somme des carrés des écarts entre les valeurs mesurées et les valeurs prédites est délicate dans notre cas puisque l'on a beaucoup de paramètres inconnus (102 réactions), peu de mesures disponibles (6 marqueurs, Tableau 15) et une base de données sur les ordres de grandeur des constantes de vitesse partiellement imprécise.

Notre méthodologie de travail est donc la suivante :

1). On fixe des valeurs initiales pour les paramètres cinétiques plutôt dans la gamme basse des valeurs trouvées dans la littérature, le choix résultant des données expérimentales obtenues sur la réactivité des acides gras (cf § III. 3).

2). On fait l'hypothèse que la constante de vitesse d'un groupe fonctionnel est indépendante de la structure de la molécule à laquelle il est attaché. On considère ainsi des groupes de réactions avec une même réactivité (Tableau 13).

3). Les constantes de vitesse sont calculées pour les températures élevées, en utilisant les valeurs d'énergies d'activation disponibles dans la littérature (cf § I.5).

Dans l'état d'avancement des présents travaux et compte tenu des raisons évoquées précédemment (beaucoup de paramètres inconnus et peu de mesures disponibles), une identification paramétrique classique (par minimisation de la somme des carrées des écarts) est inenvisageable.

La confrontation du modèle aux données expérimentales est réalisée par une méthode de type essai-erreur, de façon à s'approcher au plus près des données mesurées. Une étude de sensibilité

est également effectuée pour évaluer les paramètres cinétiques influençant le plus significativement les réponses calculées par le modèle et mesurées expérimentalement.

III. 4. 2. Etude de sensibilité

L'étude de sensibilité des variables de sortie aux constantes de vitesse est réalisée d'après la méthode décrite par Pénicaud et al. (2010) (Hoang et al. 2004; Pénicaud et al. 2010). Elle consiste à faire varier, l'une après l'autre, chaque constante de vitesse autour d'une valeur choisie *a priori*, et d'examiner son influence sur les profils des concentrations des produits et des réactifs calculés par le modèle et correspondant à des mesures expérimentales.

Pour évaluer la sensibilité absolue j_{G,P_i} aux constantes cinétiques, on calcule l'écart absolu du changement j^{abs}_{G,P_i} de la variable calculée par le modèle G suite à une variation des constantes cinétiques ΔP_i que l'on divise ensuite par ΔP_i, soit:

$$j^{abs}_{G,P_i} = \frac{\partial G}{\partial P_i} \cong \frac{G_{P_i+\Delta P_i} - G_{P_i-\Delta P_i}}{2\Delta P_i}$$

Équation 18

où ΔP_i représente une faible variation sur le paramètre P_i (de 1% par exemple) par rapport à sa valeur nominale P_i.

Cette sensibilité absolue s'exprime en unités de variable G (ici une concentration en $kg.m^{-3}$) par unité de P (ici une constante de vitesse en $mol.L^{-1}$ ou s^{-1}). Néanmoins, pour comparer l'influence relative des différentes constantes cinétiques sur la réponse prédite, et notamment ici dans le cas où les ordres de grandeur des constantes de vitesse et des concentrations des espèces sont très différents, l'utilisation d'un autre critère est nécessaire. Il s'agit de la sensibilité relative qui représente l'écart relatif de la variable calculé par le modèle suite au changement relatif d'une constante cinétique. La sensibilité relative est alors calculée:

$$j^{rel}_{G,P_i} = \frac{\partial G/G}{\partial P_i/P_i} \cong \frac{G_{P_i+\Delta P_i} - G_{P_i-\Delta P_i}}{2\Delta P_i}\frac{P_i}{G}$$

Équation 19

Elle permet de calculer une variation relative de G (en % de la variable G) consécutive à une variation relative de P_i (en % de P_i).

L'analyse de sensibilité réalisée pour les variables calculées correspondant aux mesures de diènes conjugués et d'hydroperoxydes montre que les cinétiques de formation des diènes conjugués et des hydroperoxydes sont très nettement influencées par les valeurs des constantes de vitesse de certaines réactions. La Figure 61 présente quelques exemples de cinétiques de variation des coefficients de sensibilité relatifs à l'évolution de la concentration en diènes conjugués et en hydroperoxydes dans le cas du changement de 1% des constantes de vitesse des

réactions 8, 23 et 92 (pour les numéros des réactions se référer soit au Tableau 13 soit au Tableau 20).

Par exemple, la variation de la constante de vitesse de la réaction 23 montre une sensibilité relative associée à la concentration en dienes conjugués d'environ 0,06% (Figure 61 a) et d'environ 0,44 pour les hydroperoxydes (Figure 61 b). Cela signifie qu'une variation de 1% de la valeur de constante de vitesse induit une variation de 0,06 % de la concentration des dienes conjugués et de 0,44 % de la concentration en hydroperoxydes.

La variation des constantes de vitesse des réactions 8 et 92 induit une variation importante de la concentration en hydroperoxydes en diminuant leur concentration formée de 1,21 % et 0,37 % respectivement.

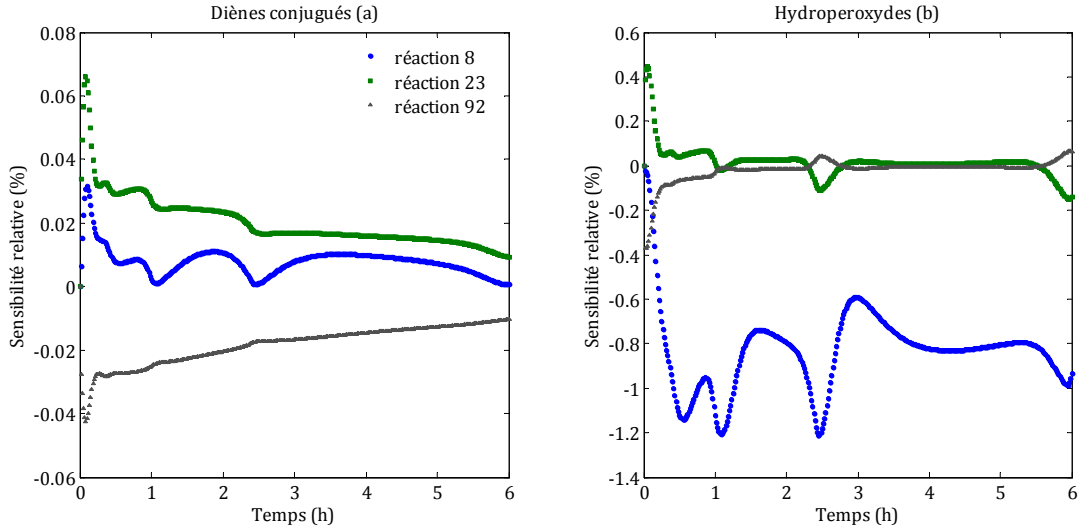


Figure 61. Sensibilité relative à l'évolution des dienes conjugués (a.) et des hydroperoxydes (b.) suite à la variation des constantes de vitesse des réactions 8, 23 et 92 de 1%.

On note une évolution variable de la sensibilité relative très marquée en début de cinétique et plus stable en fin de cinétique. Comme nos marqueurs sont des familles de composés, la sensibilité de la somme des concentrations des composés de ces familles (dienes conjugués et hydroperoxydes) à une constante de vitesse est plutôt faible. En effet, quand on fait varier la constante de vitesse d'une réaction (en maintenant constantes les autres), on fait varier surtout les concentrations des espèces impliquées dans cette réaction (on modifie également un peu les concentrations d'autres espèces produites ou consommées dans des réactions impliquant les espèces de la réaction pour laquelle on a fait varier la constante de vitesse, mais dans une bien moindre mesure).

Le Tableau 19 détaille la sensibilité relative des principales réactions dont les paramètres cinétiques influencent significativement la réponse du modèle (cf Tableaux 13 ou 20).

On observe par ailleurs que ce sont presque toujours les mêmes constantes de vitesse qui influencent à la fois les concentrations en dienes et en hydroperoxydes, avec une sensibilité de la concentration en hydroperoxydes plus importante que celle des dienes conjugués. Ce résultat

semble logique dans la mesure où les diènes conjugués constituent une famille plus large de composés (26 composés) que celle des hydroperoxydes (3 composés) (cf Tableau 15). On note également que beaucoup de réactions dans notre schéma n'influencent pas significativement les réponses mesurées par le modèle, ce qui met en exergue le nombre réduit de marqueurs mesurés dans notre étude.

Tableau 19. Sensibilité des concentrations en diènes conjugués et hydroperoxydes prédites par le modèle suite à une variation des constantes de vitesse de 1 %.

Diènes conjugués		**Hydroperoxydes**	
Réaction	Sensibilité relative	Réaction	Sensibilité relative
2	0,50211	8	1,21141
23	0,06587	7	0,70081
92	0,04239	23	0,44672
8	0,03146	92	0,37211
38	0,00786	19	0,13688
16	0,00770	22	0,05384
56	0,00770	88	0,05359
17	0,00764	38	0,05044
37	0,00722	37	0,04850
99	0,00616	2	0,04823
20	0,00575	20	0,03629
1	0,00515	99	0,03445
47	0,00510	34	0,03070
53	0,00441	47	0,02631
55	0,00441	97	0,02601
7	0,00353	35	0,02558
91	0,00347	89	0,02032
22	0,00316	91	0,02032
74	0,00243	74	0,01057
Autres réactions : sensibilité relative très faible << 0,01			

Ce sont principalement les réactions impliquant les espèces radicalaires lipidiques dont les constantes de vitesse influencent significativement les concentrations en hydroperoxydes et en diènes prédites. Une meilleure connaissance de la nature et de la réactivité des radicaux libres de type alkyles (L•), peroxyles (LOO•) ou encore alkoxyles (LO•) générés au cours de l'oxydation des acides gras insaturés permettrait de comprendre mieux les mécanismes impliquées dans les réactions d'oxydation et de disposer de mesures supplémentaires. La décomposition homolytique des hydroperoxydes (réaction 8), apparaît comme une des réactions particulièrement importantes dans le calcul de l'avancement de l'oxydation. Une variation de 1% de cette constante cinétique induit une variation de 0,03 % de la concentration en diènes conjugués et de 1,21 % de celle en hydroperoxydes. L'estimation de la constante de vitesse de cette réaction fera l'objet du chapitre III. 5.

On constate également que, compte tenu du faible nombre de marqueurs retenus dans notre étude, des pas entiers de réactivité sont délicats à étudier (réactions dont les constantes cinétiques ont une sensibilité très faible sur les concentrations des marqueurs).

III. 4. 3. Comparaison des résultats simulés et expérimentaux

Une fois l'étude de sensibilité réalisée, une procédure d'ajustement par essai erreur des constantes de vitesse est entamée afin de rapprocher les valeurs prédites des valeurs mesurées. Les cinétiques d'évolution des concentrations des marqueurs d'oxydation prédites sont alors comparées aux valeurs déterminées expérimentalement. La Figure 62 est le résultat de nombreux essais d'ajustement dans le cas du chauffage du traitement thermique d'une huile de tournesol à 120 °C pendant 6 heures.

On constate que :

- un bon accord existe entre les valeurs simulées et les valeurs expérimentales pour les acides gras et les dienes conjugués ;

- le modèle sous-estime de manière importante la quantité formée en hydroperoxydes et en aldéhydes;

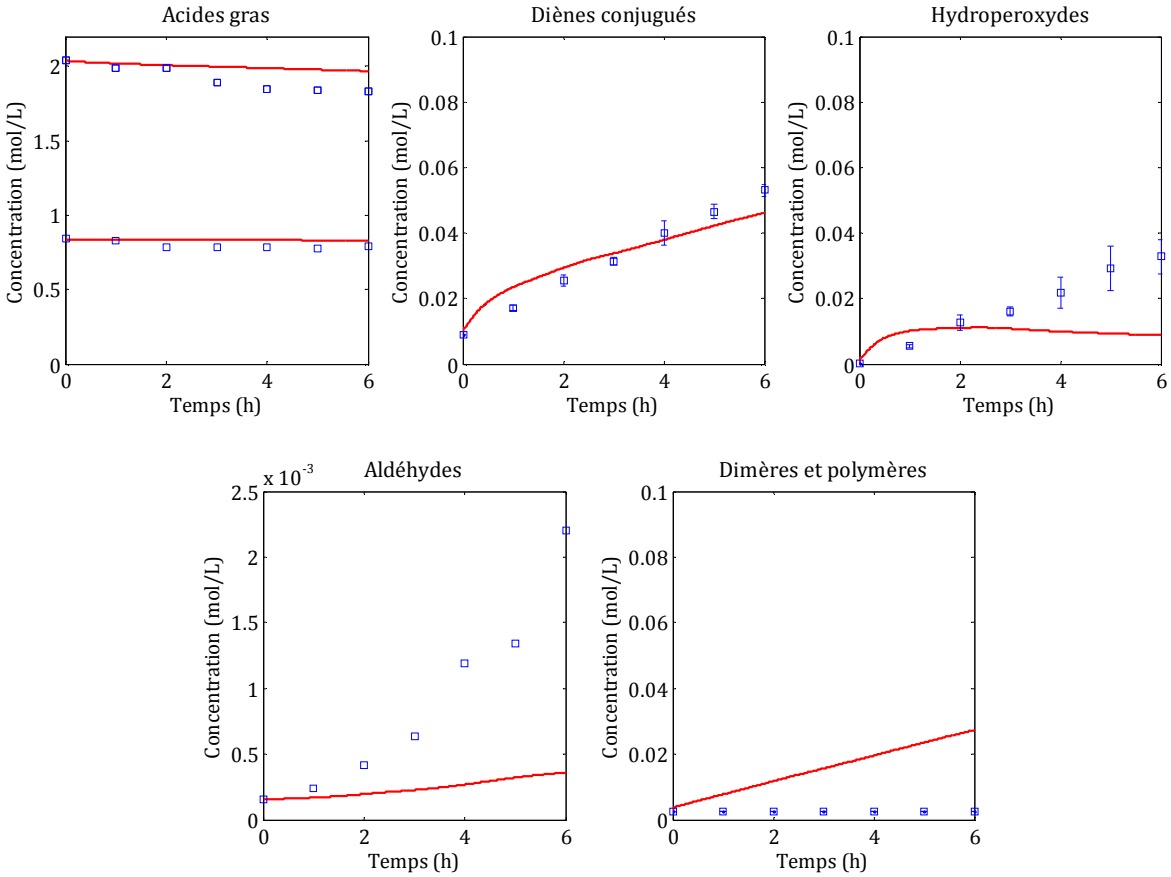


Figure 62. Modèle purement diffusif. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de tournesol chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S2) de 9,49 mm.

- le modèle surestime la concentration en dimères et polymères par rapport aux valeurs expérimentales. Ceci peut être imputé à la méthode d'analyse utilisée. En effet, la mesure de viscosité traduit une teneur en polymères selon la corrélation établie par Jean Denis et al. (2001), mais n'est probablement pas affectée par la présence de dimères. Si dans nos conditions

expérimentales, les réactions de terminaison se traduisent par la formation de dimères, la mesure de viscosité s'avère donc non pertinente et une mesure de dimères par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur à diffusion de lumière (CLHP-DDL) serait nécessaire pour conclure sur l'adéquation entre les valeurs simulées par le modèle et les valeurs de concentrations des produits formés.

- les résultats de simulation montrent une concentration très faible en oxygène (4×10^{-4} mol.L^{-1}) au voisinage de l'interface sur environ 3 mm, limitant l'avancement global des réactions d'oxydation.

Cette procédure d'ajustement n'est pas menée à son terme car on s'aperçoit que, même en atteignant les limites des intervalles fixés à partir de la littérature pour les constantes de vitesse (Tableau 13), on sous-estime de manière importante les concentrations en hydroperoxydes. La validation du modèle n'est donc pas encore possible.

De forts couplages entre les paramètres cinétiques et les paramètres physiques liés à la solubilité de l'oxygène et à sa diffusion dans la couche d'huile sont mis en évidence. Quelles que soient les valeurs des paramètres cinétiques testées (dans l'intervalle de variation jugé acceptable pour ces paramètres), c'est la faible quantité en oxygène solubilisée dans notre système (concentration d'environ 4×10^{-4} mol.L^{-1} sur les 3 premiers mm d'huile sous l'interface air/huile) qui limite l'avancement global des réactions d'oxydation. Cela souligne le rôle clé joué par la réaction $L^{\bullet}+O_2 \rightarrow LOO^{\bullet}$, au cœur schéma réactionnel d'oxydation et permettant de former des radicaux peroxyles $LOO^{\bullet}$, précurseurs de nombreux produits primaires et secondaires d'oxydation.

Les résultats des essais de simulation présentés dans la Figure 62 suggèrent que, dans nos conditions expérimentales, la concentration en oxygène est très probablement plus importante que celle calculée par le modèle, ce qui nous amène à remettre en question la phénoménologie des transferts décrite dans notre modèle. Nous considérons par conséquent le jeu de constantes de vitesse nous ayant permis d'obtenir les résultats de simulation illustrés dans la Figure 62 comme acceptable (cf valeurs retenues dans le Tableau 20) et nous allons remettre en question certaines de nos hypothèses.

Tableau 20. Valeurs numériques des constantes de vitesse retenues pour le modèle.

Nr. réaction	*Réaction*	*Constantes de vitesse*
1	$L_AH \rightarrow L_A\bullet + H\bullet$	$2.5\times10^{-8}\ s^{-1}$
2	$L_BH \rightarrow L_B\bullet + H\bullet$	$1\times10^{-6}\ s^{-1}$
3	$L_CH \rightarrow L_C\bullet + H\bullet$	$2.5\times10^{-6}\ s^{-1}$
4	$L_AH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_A\bullet + H^+ + Me^{n+}$	$1\times10^{-3}\ M^{-1}.s^{-1}$
5	$L_BH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_B\bullet + H^+ + Me^{n+}$	$1\times10^{-3}\ M^{-1}.s^{-1}$
6	$L_CH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_C\bullet + H^+ + Me^{n+}$	$1\times10^{-3}\ M^{-1}.s^{-1}$
7	$L_AOOH \rightarrow L_AO\bullet + \bullet OH$	$1\times10^{-4}\ s^{-1}$
8	$L_BOOH \rightarrow L_BO\bullet + \bullet OH$	$1\times10^{-4}\ s^{-1}$
9	$L_COOH \rightarrow L_CO\bullet + \bullet OH$	$1\times10^{-4}\ s^{-1}$
10	$L_AOOH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_AOO\bullet + H^+ + Me^{n+}$	$1\times10^{2}\ M^{-1}.s^{-1}$
11	$L_BOOH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_BOO\bullet + H^+ + Me^{n+}$	$1\times10^{2}\ M^{-1}.s^{-1}$
12	$L_COOH + Me^{(n+1)+} \rightarrow L_COO\bullet + H^+ + Me^{n+}$	$1\times10^{2}\ M^{-1}.s^{-1}$
13	$L_AOOH + Me^{n+} \rightarrow L_AO\bullet + OH^- + Me^{(n+1)+}$	$1\times10^{3}\ M^{-1}.s^{-1}$
14	$L_BOOH + Me^{n+} \rightarrow L_BO\bullet + OH^- + Me^{(n+1)+}$	$1\times10^{3}\ M^{-1}.s^{-1}$
15	$L_COOH + Me^{n+} \rightarrow L_CO\bullet + OH^- + Me^{(n+1)+}$	$1\times10^{3}\ M^{-1}.s^{-1}$
16	$L_A\bullet + {}^3O_2 \rightarrow L_AOO\bullet$	$1\times10^{8}\ M^{-1}.s^{-1}$
17	$L_B\bullet + {}^3O_2 \rightarrow L_BOO\bullet$	$1\times10^{8}\ M^{-1}.s^{-1}$
18	$L_C\bullet + {}^3O_2 \rightarrow L_COO\bullet$	$1\times10^{8}\ M^{-1}.s^{-1}$
19	$L_AOO\bullet + L_AH \rightarrow L_AOOH + L_A\bullet$	$1\times10^{1}\ M^{-1}.s^{-1}$
20	$L_AOO\bullet + L_BH \rightarrow L_AOOH + L_B\bullet$	$4\times10^{1}\ M^{-1}.s^{-1}$
21	$L_AOO\bullet + L_CH \rightarrow L_AOOH + L_C\bullet$	$1\times10^{2}\ M^{-1}.s^{-1}$
22	$L_BOO\bullet + L_AH \rightarrow L_BOOH + L_A\bullet$	$1\times10^{1}\ M^{-1}.s^{-1}$
23	$L_BOO\bullet + L_BH \rightarrow L_BOOH + L_B\bullet$	$4\times10^{1}\ M^{-1}.s^{-1}$
24	$L_BOO\bullet + L_CH \rightarrow L_BOOH + L_C\bullet$	$1\times10^{2}\ M^{-1}.s^{-1}$
25	$L_COO\bullet + L_AH \rightarrow L_COOH + L_A\bullet$	$1\times10^{1}\ M^{-1}.s^{-1}$
26	$L_COO\bullet + L_BH \rightarrow L_COOH + L_B\bullet$	$4\times10^{1}\ M^{-1}.s^{-1}$
27	$L_COO\bullet + L_CH \rightarrow L_COOH + L_C\bullet$	$1\times10^{2}\ M^{-1}.s^{-1}$
28	$L_AOO\bullet + L_BOOH \rightarrow L_AOOH + L_BOO\bullet$	$1\times10^{-3}\ M^{-1}.s^{-1}$
29	$L_AOO\bullet + L_COOH \rightarrow L_AOOH + L_COO\bullet$	$1\times10^{-3}\ M^{-1}.s^{-1}$
30	$L_BOO\bullet + L_AOOH \rightarrow L_BOOH + L_AOO\bullet$	$1\times10^{-3}\ M^{-1}.s^{-1}$
31	$L_BOO\bullet + L_COOH \rightarrow L_BOOH + L_COO\bullet$	$1\times10^{-3}\ M^{-1}.s^{-1}$
32	$L_COO\bullet + L_AOOH \rightarrow L_COOH + L_AOO\bullet$	$1\times10^{-3}\ M^{-1}.s^{-1}$
33	$L_COO\bullet + L_BOOH \rightarrow L_COOH + L_BOO\bullet$	$1\times10^{-3}\ M^{-1}.s^{-1}$
34	$L_AO\bullet + L_AH \rightarrow L_AOH + L_A\bullet$	$3\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
35	$L_AO\bullet + L_BH \rightarrow L_AOH + L_B\bullet$	$8\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
36	$L_AO\bullet + L_CH \rightarrow L_AOH + L_C\bullet$	$1\times10^{7}\ M^{-1}.s^{-1}$
37	$L_BO\bullet + L_AH \rightarrow L_BOH + L_A\bullet$	$3\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
38	$L_BO\bullet + L_BH \rightarrow L_BOH + L_B\bullet$	$8\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
39	$L_BO\bullet + L_CH \rightarrow L_BOH + L_C\bullet$	$1\times10^{7}\ M^{-1}.s^{-1}$
40	$L_CO\bullet + L_AH \rightarrow L_COH + L_A\bullet$	$3\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
41	$L_CO\bullet + L_BH \rightarrow L_COH + L_B\bullet$	$8\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
42	$L_CO\bullet + L_CH \rightarrow L_COH + L_C\bullet$	$1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
43	$L_AO\bullet + L_AOOH \rightarrow L_AOH + L_AOO\bullet$	$1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
44	$L_AO\bullet + L_BOOH \rightarrow L_AOH + L_BOO\bullet$	$1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
45	$L_AO\bullet + L_COOH \rightarrow L_AOH + L_COO\bullet$	$1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
46	$L_BO\bullet + L_AOOH \rightarrow L_BOH + L_AOO\bullet$	$1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
47	$L_BO\bullet + L_BOOH \rightarrow L_BOH + L_BOO\bullet$	$1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
48	$L_BO\bullet + L_COOH \rightarrow L_BOH + L_COO\bullet$	$1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
49	$L_CO\bullet + L_AOOH \rightarrow L_COH + L_AOO\bullet$	$1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
50	$L_CO\bullet + L_BOOH \rightarrow L_COH + L_BOO\bullet$	$1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$

51	$L_CO\bullet + L_COOH \rightarrow L_COH + L_COO\bullet$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
52	$L_A\bullet + L_A\bullet \rightarrow L_AL_A$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
53	$L_A\bullet + L_B\bullet \rightarrow L_AL_B$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
54	$L_A\bullet + L_C\bullet \rightarrow L_AL_C$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
55	$L_B\bullet + L_A\bullet \rightarrow L_BL_A$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
56	$L_B\bullet + L_B\bullet \rightarrow L_BL_B$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
57	$L_B\bullet + L_C\bullet \rightarrow L_BL_C$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
58	$L_C\bullet + L_A\bullet \rightarrow L_CL_A$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
59	$L_C\bullet + L_B\bullet \rightarrow L_CL_B$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
60	$L_C\bullet + L_C\bullet \rightarrow L_CL_C$	$1\times10^6\ M^{-1}.s^{-1}$
61	$L_AO\bullet + L_A\bullet \rightarrow L_AOL_A$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
62	$L_AO\bullet + L_B\bullet \rightarrow L_AOL_B$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
63	$L_AO\bullet + L_C\bullet \rightarrow L_AOL_C$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
64	$L_BO\bullet + L_A\bullet \rightarrow L_BOL_A$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
65	$L_BO\bullet + L_B\bullet \rightarrow L_BOL_B$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
66	$L_BO\bullet + L_C\bullet \rightarrow L_BOL_C$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
67	$L_CO\bullet + L_A\bullet \rightarrow L_COL_A$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
68	$L_CO\bullet + L_B\bullet \rightarrow L_COL_B$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
69	$L_CO\bullet + L_C\bullet \rightarrow L_COL_C$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
70	$L_AOO\bullet + L_A\bullet \rightarrow L_AOOL_A$	$1\times10^4\ M^{-1}.s^{-1}$
71	$L_AOO\bullet + L_B\bullet \rightarrow L_AOOL_B$	$1\times10^4\ M^{-1}.s^{-1}$
72	$L_AOO\bullet + L_C\bullet \rightarrow L_AOOL_C$	$1\times10^4\ M^{-1}.s^{-1}$
73	$L_BOO\bullet + L_A\bullet \rightarrow L_BOOL_A$	$1\times10^4\ M^{-1}.s^{-1}$
74	$L_BOO\bullet + L_B\bullet \rightarrow L_BOOL_B$	$1\times10^4\ M^{-1}.s^{-1}$
75	$L_BOO\bullet + L_C\bullet \rightarrow L_BOOL_C$	$1\times10^4\ M^{-1}.s^{-1}$
76	$L_COO\bullet + L_A\bullet \rightarrow L_COOL_A$	$1\times10^4\ M^{-1}.s^{-1}$
77	$L_COO\bullet + L_B\bullet \rightarrow L_COOL_B$	$1\times10^4\ M^{-1}.s^{-1}$
78	$L_COO\bullet + L_C\bullet \rightarrow L_COOL_C$	$1\times10^4\ M^{-1}.s^{-1}$
79	$L_AOO\bullet + L_AOO\bullet \rightarrow L_AOOL_A + O_2$	$1\times10^3\ M^{-1}.s^{-1}$
80	$L_AOO\bullet + L_BOO\bullet \rightarrow L_AOOL_B + O_2$	$1\times10^3\ M^{-1}.s^{-1}$
81	$L_AOO\bullet + L_COO\bullet \rightarrow L_AOOL_C + O_2$	$1\times10^3\ M^{-1}.s^{-1}$
82	$L_BOO\bullet + L_AOO\bullet \rightarrow L_BOOL_A + O_2$	$1\times10^3\ M^{-1}.s^{-1}$
83	$L_BOO\bullet + L_BOO\bullet \rightarrow L_BOOL_B + O_2$	$1\times10^3\ M^{-1}.s^{-1}$
84	$L_BOO\bullet + L_COO\bullet \rightarrow L_BOOL_C + O_2$	$1\times10^3\ M^{-1}.s^{-1}$
85	$L_COO\bullet + L_AOO\bullet \rightarrow L_COOL_A + O_2$	$1\times10^3\ M^{-1}.s^{-1}$
86	$L_COO\bullet + L_BOO\bullet \rightarrow L_COOL_B + O_2$	$1\times10^3\ M^{-1}.s^{-1}$
87	$L_COO\bullet + L_COO\bullet \rightarrow L_COOL_C + O_2$	$1\times10^3\ M^{-1}.s^{-1}$
88	$L_AOO\bullet + L_AOO\bullet \rightarrow L_AO\bullet + L_AOH + O_2$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
89	$L_AOO\bullet + L_BOO\bullet \rightarrow L_AO\bullet + L_BOH + O_2$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
90	$L_AOO\bullet + L_COO\bullet \rightarrow L_AO\bullet + L_COH + O_2$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
91	$L_BOO\bullet + L_AOO\bullet \rightarrow L_BO\bullet + L_AOH + O_2$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
92	$L_BOO\bullet + L_BOO\bullet \rightarrow L_BO\bullet + L_BOH + O_2$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
93	$L_BOO\bullet + L_COO\bullet \rightarrow L_BO\bullet + L_COH + O_2$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
94	$L_COO\bullet + L_AOO\bullet \rightarrow L_CO\bullet + L_AOH + O_2$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
95	$L_COO\bullet + L_BOO\bullet \rightarrow L_CO\bullet + L_BOH + O_2$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
96	$L_COO\bullet + L_COO\bullet \rightarrow L_CO\bullet + L_COH + O_2$	$1\times10^5\ M^{-1}.s^{-1}$
97	$L_AO\bullet + \bullet OH \rightarrow$ groupe volatils 1a	$5\times10^7\ M^{-1}.s^{-1}$
98	$L_AO\bullet + \bullet H \rightarrow$ groupe volatils 2a	$5\times10^7\ M^{-1}.s^{-1}$
99	$L_BO\bullet + \bullet OH \rightarrow$ groupe volatils 1b	$5\times10^7\ M^{-1}.s^{-1}$
100	$L_BO\bullet + \bullet H \rightarrow$ 2,4 décadiénal	$5\times10^7\ M^{-1}.s^{-1}$
101	$L_CO\bullet + \bullet OH \rightarrow$ groupe volatils 1c	$5\times10^7\ M^{-1}.s^{-1}$
102	$L_CO\bullet + \bullet H \rightarrow$ groupe volatils 2c	$5\times10^7\ M^{-1}.s^{-1}$

III. 4. 4. Questionnement sur la validité des hypothèses

Dans nos conditions expérimentales, la couche d'huile est relativement faible (~1 cm), ce qui nous a permis dans un premier temps de considérer favorablement l'hypothèse d'une couche d'huile immobile et donc de supposer valide un modèle purement diffusif en ce qui concerne l'oxygène.

En supposant acceptable l'ordre de grandeur des constantes cinétiques, les profils simulés pour les hydroperoxydes et l'oxygène mettent en évidence une concentration trop faible en oxygène pour reproduire correctement l'avancement des réactions. En effet, le modèle calcule une concentration en oxygène très faible (4×10^{-4} mol.L^{-1}) sur les 3 premiers mm d'huile sous l'interface air/huile et une concentration quasi nulle pour les couches plus éloignées de la surface.

L'hypothèse d'un modèle purement diffusif a pu être remise en question grâce à la mise en évidence de mouvements de convection à l'aide du colorant Rouge Soudan. Ces mouvements sont observés quelles que soient les conditions expérimentales testées et quel que soit le temps d'expérience considéré. Malheureusement, cette mise en évidence est purement qualitative et ne nous permet pas, en l'état actuel des choses, de quantifier la quantité d'oxygène transportée par ces mouvements de convection depuis la surface vers le centre du système.

Le système réactionnel étudié pourrait, dans une première approximation, être associé à un réacteur parfaitement agité avec une concentration en oxygène uniforme dans tout le volume réactionnel.

Cela revient à considérer la concentration en oxygène ainsi que la concentration en toute autre espèce réactive comme uniforme dans l'espace. Le modèle discret décrit par les équations 5, 6, 7, 12, 13, 14 et 17 (cf § III.2.3) est remplacé par un modèle compartimental à un compartiment qui obéit aux équations 20 et 21 :

$$\frac{dC_{O_{2L}}}{dt} = 1000 \times S_{O_2} M_{O_2} - k_m \frac{S}{V}(C_{O_2G} - Co_{2\infty}) \qquad \text{Équation 20}$$

$$\frac{dC_{iL}}{dt} = 1000 \times S_i M_i \qquad \text{Équation 21}$$

où S_{O_2} est le débit molaire net de production de d'oxygène prenant en compte la contribution respective de chaque réaction impliquant l'oxygène (mol.L^{-1}.s^{-1}) ; M_{O_2}, la masse moléculaire de l'oxygène (kg.mol^{-1}) ; k_m, le coefficient de transfert de matière externe (m.s^{-1}); S, la surface d'échange de l'huile avec l'air atmosphérique ; V, le volume d'huile (m^3) ; $C_{O_{2G}}$, la concentration en oxygène dans l'air au voisinage immédiat de la surface d'huile (kg.m^{-3}); $C_{O_{2\infty}}$, la concentration

en oxygène dans l'atmosphère ($kg.m^{-3}$) ; C_{iL} désigne la concentration de l'espèce (i) en phase liquide supposée uniforme dans le volume d'huile ($kg.m^{-3}$) ; S_i, le débit molaire net de production de l'espèce (i) prenant en compte la contribution respective de chaque réaction impliquant cette espèce ($mol.L^{-1}.s^{-1}$) ; M_i, la masse moléculaire de l'espèce (i) ($kg.mol^{-1}$) .

Une fois cette nouvelle hypothèse émise, on cherche alors à trouver une concentration en oxygène qui prédirait plus précisément le niveau d'oxydation observé expérimentalement. La confrontation des résultats simulés aux valeurs expérimentales montre qu'une concentration constante égale à 2×10^{-8} $mol.L^{-1}$ d'oxygène serait suffisante pour atteindre le niveau d'oxydation mesuré expérimentalement (niveau d'oxydation considéré par prise en compte des marqueurs d'oxydation formés, hors dimères et polymères puisque la mesure de viscosité est ici considérée comme non pertinente) (Figure 63).

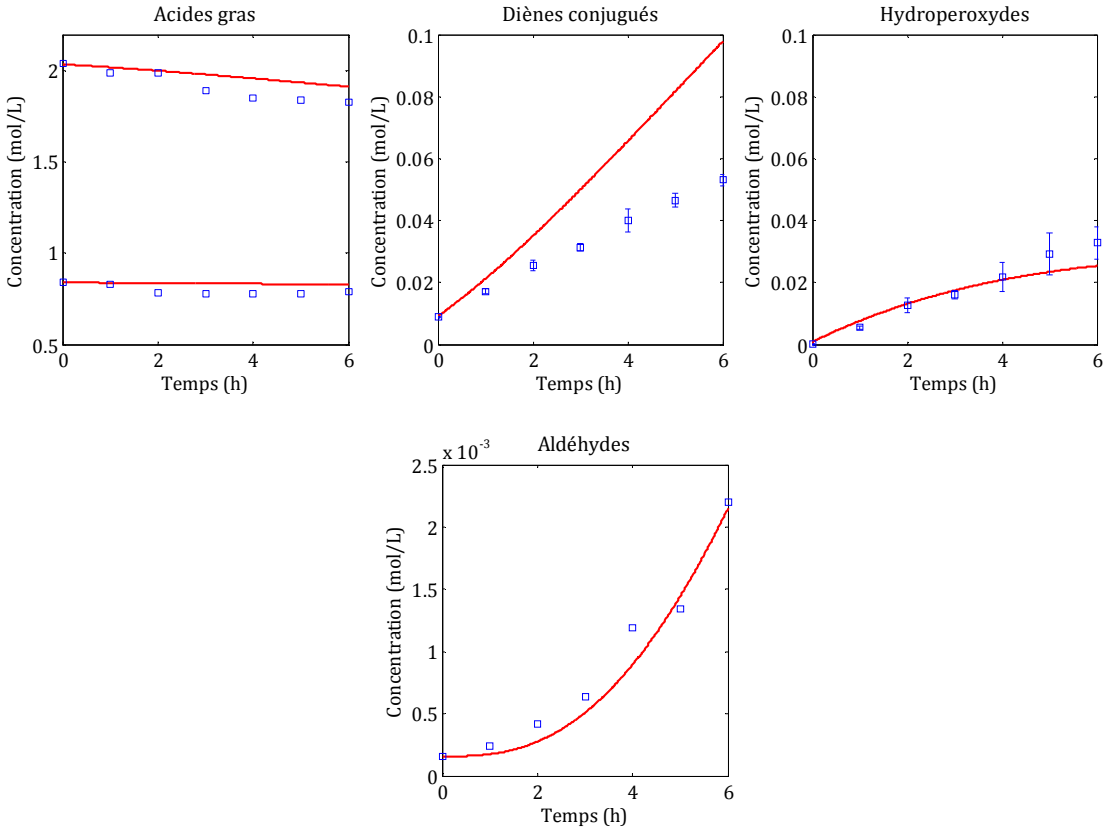


Figure 63. Modèle considérant un réacteur parfaitement agité. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de tournesol chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S2) de 9,49 mm.

Ce nouvel essai de simulation montre un meilleur accord pour les acides gras, hydroperoxydes et les aldéhydes. La concentration en dienes est surestimée par le modèle mais celle-ci reste proportionnelle à la perte des acides gras concernés qui est plus importante dans le cas du modèle considérant un réacteur parfaitement agité que dans le cas du modèle purement diffusif.

Nous avons ensuite confronté les résultats simulés aux résultats expérimentaux dans le cas d'une surface de l'huile en contact avec l'air supérieure (V/S3) (Figure 64) (cf § III.3). Cet essai de confrontation montre des résultats encourageants. Le modèle prédit des concentrations proches des mesures expérimentales pour une concentration égale à 5×10^{-8} mol.L^{-1} d'oxygène.

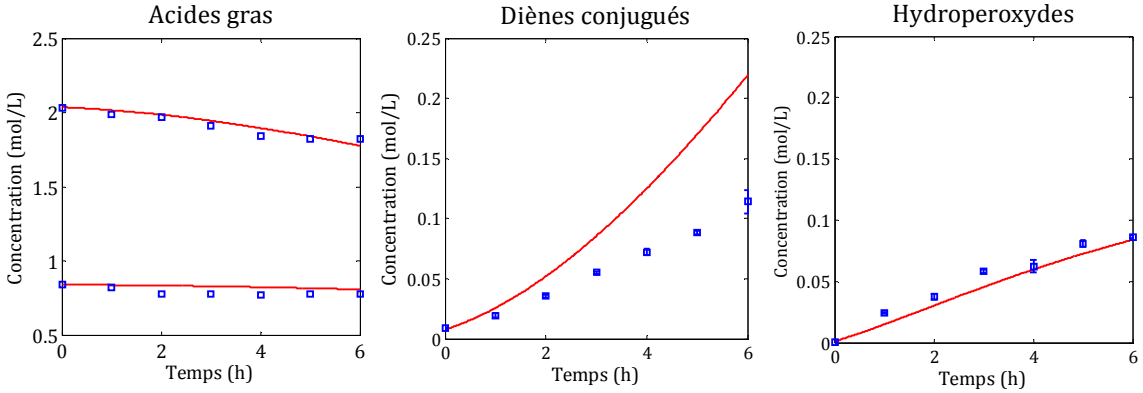


Figure 64. Modèle considérant un réacteur parfaitement agité. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de tournesol chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S3) de 3,57 mm.

La concentration résiduelle en oxygène simulée dans le cas du rapport V/S3 (5×10^{-8} mol.L^{-1}) est plus élevée comparé à V/S2 (2×10^{-8} mol.L^{-1}), ce qui est physiquement acceptable puisque la surface d'échange avec l'air est plus élevée dans le cas du rapport V/S3 que dans le cas du rapport V/S2.

Nous avons ensuite confronté les résultats simulés aux résultats expérimentaux dans le cas de l'huile de l'huile de tournesol oléique (Figure 65) et de l'huile de colza (Figure 66) pour un traitement thermique à 120 °C pendant 6h (cf § III.3).

La confrontation entre les résultats simulés et les résultats expérimentaux obtenus dans le cas de l'huile de tournesol oléique montre un bon accord pour les marqueurs d'oxydation diènes conjugués et hydroperoxydes.

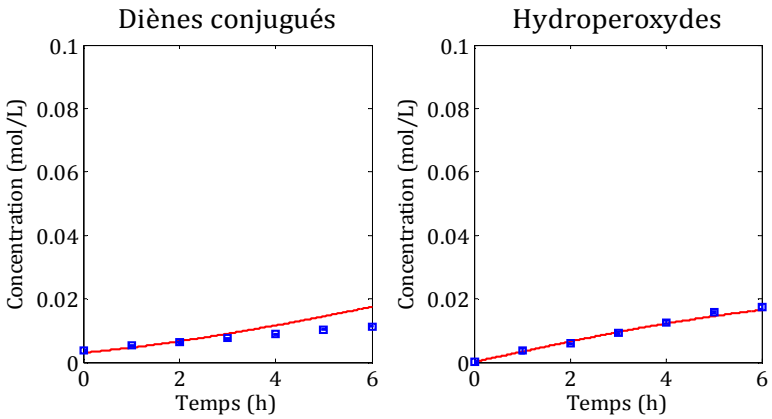


Figure 65. Modèle considérant un réacteur parfaitement agité. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de tournesol oléique chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S2) de 9,49 mm.

Dans le cas de l'huile de colza, le modèle prédit bien la concentration en hydroperoxydes qui est très proche des valeurs mesurées expérimentalement. Cependant, le modèle surestime, comme dans le cas de l'huile de tournesol (cf Figure 63), la concentration en dienes conjugués.

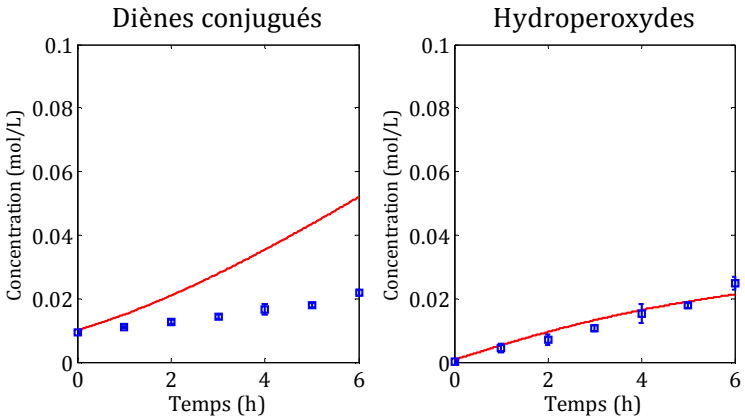


Figure 66. Modèle considérant un réacteur parfaitement agité. Comparaison des valeurs expérimentales (en bleu) et simulées (en rouge) pour une huile de colza chauffée à 120°C pendant 6 heures pour le rapport volume de l'huile/ surface d'échange avec l'air (V/S2) de 9,49 mm.

Une conclusion définitive sur la prise en compte de ce phénomène ne peut être menée sans une mesure expérimentale de la concentration de l'oxygène dissous dans le milieu pendant le temps d'expérience. Malgré de nombreuses améliorations au cours du siècle dernier, la quantification de l'oxygène reste encore un verrou important pour approfondir les connaissances sur le transfert de l'oxygène et plus généralement sur l'oxydation des aliments. Les mesures effectués actuellement sont principalement celles des pressions partielles en oxygène dans le milieu, il est alors nécessaire de connaître le coefficient de solubilité de Henry pour pouvoir convertir cette pression partielle mesurable (mais à faible température) en concentration d'oxygène. Or, les coefficients de solubilité sont des données mal connues si l'on considère ce qu'on peut trouver dans la littérature (Pénicaud 2009). Seul le coefficient de l'eau est bien connu, et il est généralement admis que la solubilité de l'oxygène est 3 à 4 fois plus élevée dans l'huile que dans l'eau à température ambiante.

Dans le cas du modèle considérant un réacteur parfaitement agité, nous avons considéré la concentration en oxygène constante ($C_{O2résiduelle}$) mais elle peut varier très certainement pendant l'expérience. Qualitativement, l'évolution de la concentration en oxygène pendant une cinétique pourrait être représentée sur le graphe de la Figure 67.

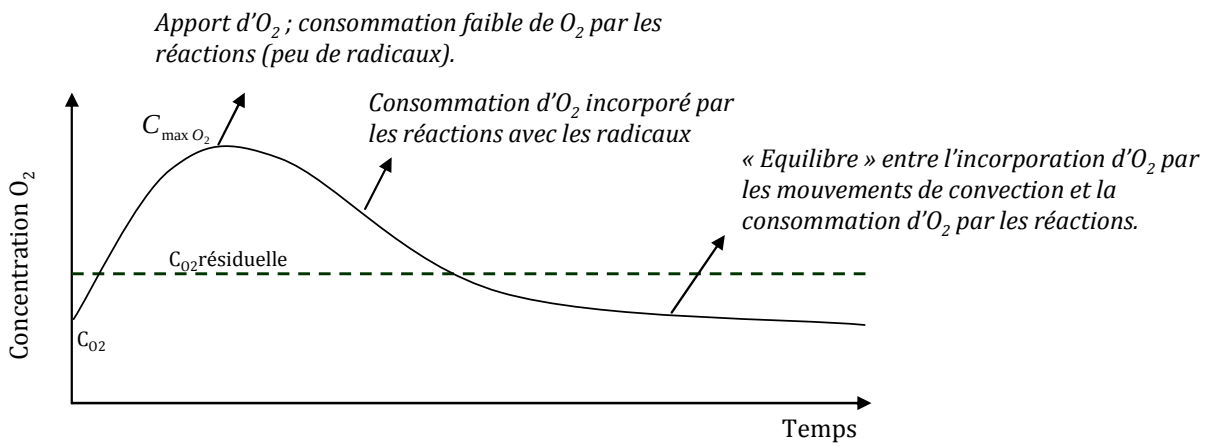


Figure 67. Représentation schématique de la consommation d'oxygène pendant une expérience.

La concentration en oxygène au temps initial (C_{O2}) devrait augmenter grâce aux mouvements de convection pour atteindre une concentration maximale (C_{maxO2}). Cette concentration maximale serait observée pendant les étapes précoces de l'oxydation où la quantité de radicaux lipidiques serait négligeable. Une fois le phénomène d'auto-oxydation amorcé, la consommation de l'oxygène par les réactions deviendrait plus forte. Une phase ultime pourrait être observée, correspondant à un équilibre entre la quantité d'oxygène incorporée par les mouvements de convection et celle consommée par les réactions d'oxydation (concentration en O_2 dissous constante).

III. 4. 4. Conclusion

La modélisation est un processus itératif: proposition d'un modèle, confrontation aux données expérimentales, critique du modèle, ajustement du modèle, re-confrontation du modèle aux données expérimentales après ajustement, jusqu'à un modèle avec des résultats acceptables. Ce chapitre fait la synthèse de nombreux essais de validation du modèle stoechio-cinétique par confrontation avec les valeurs obtenues expérimentalement. Un modèle à 102 réactions compétitives (nombre important lié au fait que l'on considère trois acides gras insaturés) décrivant la dégradation thermique des acides gras est retenu. Les données cinétiques ainsi que les paramètres physiques concernant la diffusion et la solubilisation de l'oxygène sont issues de la littérature.

Le mécanisme de transfert de l'oxygène est décrit de deux manières différentes : dans un premier cas, on fait l'hypothèse d'un modèle purement diffusif, et dans un deuxième cas, l'hypothèse d'un réacteur parfaitement agité avec une concentration résiduelle en oxygène supposée constante pendant l'expérience.

Le modèle purement diffusif sous-estime la formation des hydroperoxydes et des aldéhydes. Dans ce cas, nous avons attribué les écarts importants entre les expériences et la modélisation à une description incorrecte de la phénoménologie de transfert de l'oxygène.

Dans le cas du système assimilé à un réacteur parfaitement agité, on observe des résultats encourageants pour deux rapports volume de l'huile/surface d'échange avec l'air différents. Malgré la grande dispersion et l'incertitude sur les valeurs des paramètres cinétiques des réactions qui sont disponibles dans la littérature, nous obtenons une concordance relativement bonne des résultats. Cependant, la validation complète implique la détermination précise de la concentration en oxygène dissous dans l'huile et de son évolution en fonction du temps d'expérimentation, même si de telles mesures s'avèrent difficiles à haute température.

Le suivi des marqueurs supplémentaires pourraient également enrichir les paramètres inconnus du modèle et rendre l'étape de validation plus fiable. L'étude de sensibilité a notamment permis de montrer que les réactions impliquant des espèces radicalaires lipidiques ont un grand impact sur la réponse du modèle. Ainsi, disposer de moyens pour suivre ces espèces radicalaires et avoir la possibilité de déterminer les paramètres cinétiques associés à ces réactions serait une avancée importante pour aboutir à la prédiction de l'oxydation des lipides. La spectroscopie de Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) constitue un outil susceptible de contribuer à cette avancée. C'est la raison pour laquelle quelques unes de ses potentialités ont été abordées dans le cadre de la thèse et font l'objet du paragraphe III.5.

III. 5. ETUDE DES POTENTIALITES DE LA RESONANCE PARAMAGNETIQUE ELECTRONIQUE POUR SUIVRE LES ESPECES RADICALAIRES IMPLIQUEES DANS L'OXYDATION DES LIPIDES

L'objectif de ce travail est d'explorer les potentialités de la Résonance Paramagnétique Electronique (RPE) pour suivre les radicaux générés lors des étapes d'initiation et de propagation (alkyles, peroxyles…) des réactions d'oxydation et étudier leur réactivité. Dans ce contexte, l'adaptation ou le développement de méthodes spécifiques faisant appel à la RPE ont été mis en place au laboratoire : (i) une méthode de détection « directe » des radicaux générés à très basse température (cf § I. 4. 3. 3.); (ii) le spin trapping, qui consiste à stabiliser un composé radicalaire instable par un piégeur de spin (cf § I.4.3.4.) et (iii) le spin scavenging, qui correspond à la réaction des radicaux stables de type nitroxyle ($NO^{\bullet}$) avec les radicaux présents dans leur environnement (cf § I. 4. 3. 5.).

III. 5. 1. Potentialités de la RPE pour mettre en évidence et suivre l'évolution des radicaux lipidiques

III. 5. 1. 1. Méthode directe

Lorsque l'on envisage de suivre les radicaux lipidiques en RPE, il est important de noter que la concentration minimale de molécules paramagnétiques détectable par cette technique, dans des conditions optimales, est d'environ 10^{-9} $mol.L^{-1}$ (Andersen & Skibsted 2002). A température ambiante, les radicaux lipidiques ont une durée de vie trop courte pour atteindre de telles concentrations et ils ne sont donc pas détectés en RPE (Chiba & Kaneda 1984). Pour ces raisons, la détection des radicaux lipidiques dans une huile n'est possible qu'à très basse température (inférieure à -100 °C), lorsque les réactions moléculaires sont si lentes que les radicaux ont une durée de vie suffisamment longue pour s'accumuler et être suivis directement.

Afin de générer des radicaux lipidiques à une telle température, une étape de photolyse UV à l'aide d'une lampe LC8-06, qui associe une lampe xénon et une lampe mercure, a été menée selon la méthode décrite par Zhu et Sevilla en 1990 (cf § II.5.1). Trois conditions de disponibilité en oxygène ont été étudiées : une atmosphère appauvrie en oxygène (assurée par un barbotage d'argon pendant 15 minutes), une atmosphère normale et une atmosphère enrichie en oxygène (assurée par un barbotage d'oxygène pendant 15 minutes).

Nous constatons que la photolyse UV à -160 °C d'une huile de colza permet la production et la détection directe des radicaux lipidiques dans les trois conditions testées (Figure 68). Ces radicaux seraient produits par élimination des atomes d'hydrogène à partir des acides gras insaturés ou des hydroperoxydes présents dans l'huile, puis détectés directement par RPE. En absence d'oxygène (Figure 68–A), le spectre RPE correspond majoritairement aux radicaux

alkyles représenté par une raie unique très large et mal résolue qui s'étend sur environ 200 Gauss (3300-3500 G). En atmosphère normale (Figure 68–B), on distingue la présence majoritaire des radicaux peroxyles et sans doute des traces de radicaux alkyles, tandis que la présence excessive d'oxygène (Figure 68–C) favorise la formation des radicaux peroxyles. Ceci est montré par l'intensité globale du signal qui est beaucoup plus importante ($3{,}7\times10^{6}$) dans le cas de l'atmosphère enrichie en oxygène que dans le cas de l'atmosphère normale (2×10^{6}).

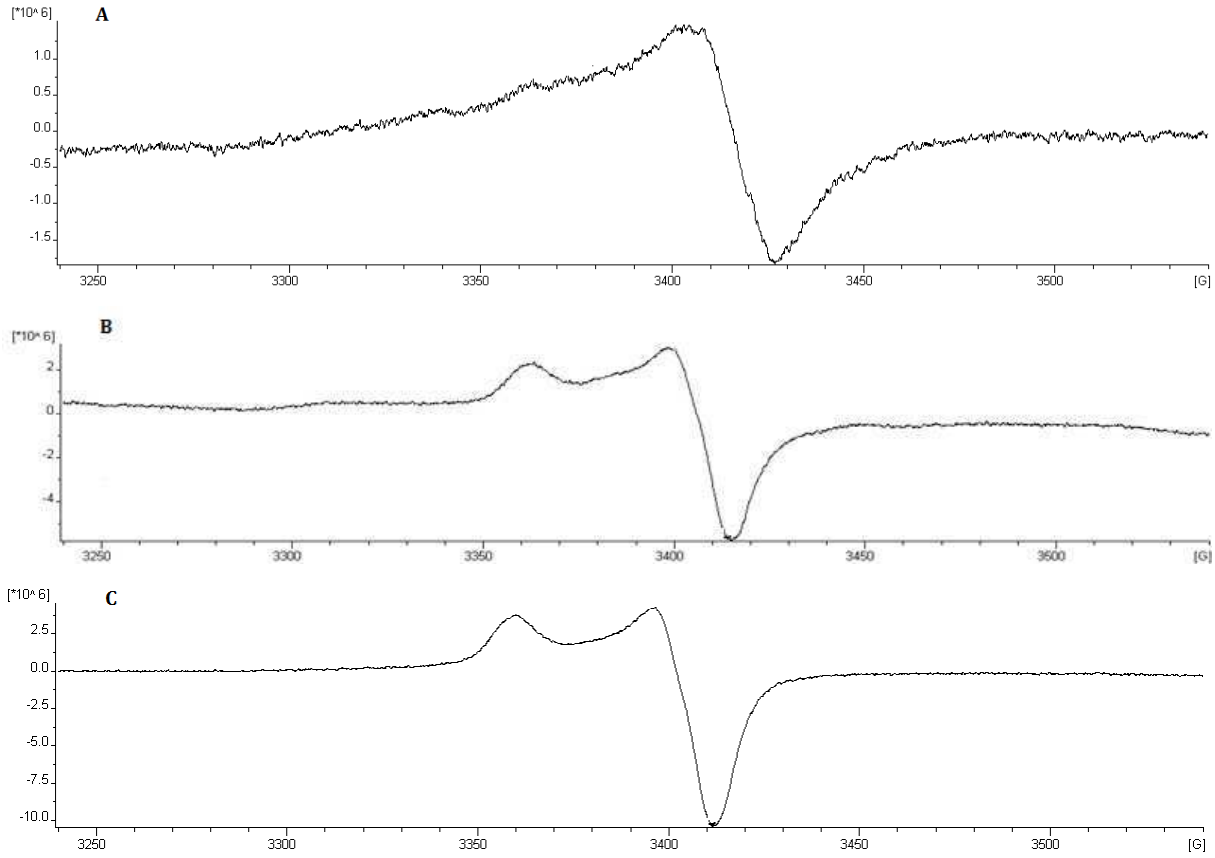


Figure 68. Spectres RPE d'une huile de colza irradiée par photolyse UV à -160°C dans une atmosphère appauvrie en oxygène (A), une atmosphère normale (B), et une atmosphère enrichie en oxygène (C).

Lorsque la stabilité des radicaux LOO• est suivie en présence d'air (atmosphère normale) entre -160 °C et 0 °C, nous observons que l'intensité du signal RPE décroît progressivement jusqu'à n'être plus mesurable à une température supérieure à – 40 °C (Figure 69). L'élévation de la température entraîne en effet une augmentation de la mobilité des radicaux peroxyles, qui deviennent alors plus réactifs et susceptibles d'arracher des atomes d'hydrogène aux acides gras insaturés, générant ainsi de nouveaux radicaux. Par ailleurs, cette mobilité est suffisante pour permettre leur recombinaison, qui se traduit ici par la formation d'espèces non paramagnétiques.

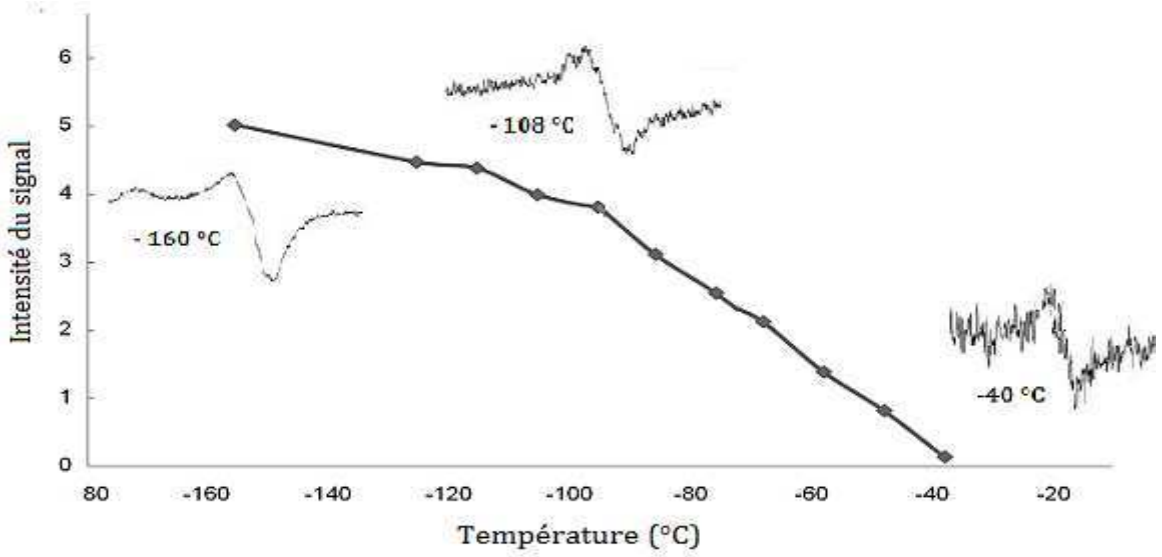


Figure 69. Evolution de l'intensité du signal RPE correspondant aux des radicaux lipidiques générés dans une huile de colza irradiée par photolyse UV à différentes températures.

Cette approche directe par RPE permet donc de mettre en évidence, d'identifier et éventuellement de mesurer la réactivité des radicaux alkyles et peroxyles issus des acides gras insaturés. Cependant, elle ne renseigne pas de façon précise sur la nature des espèces radicalaires constitutives de ces deux populations (acide gras à l'origine des radicaux par exemple). De plus, les conditions opératoires qu'il est nécessaire de mettre en œuvre pour générer des radicaux (-160 °C et photolyse UV) sont très éloignées des conditions rencontrées au cours du chauffage des huiles et donc probablement peu représentatives du comportement des huiles à haute température. Pour nous rapprocher de ces températures élevées, nous avons ainsi fait le choix de mettre en place la technique de spin trapping, qui peut nous permettre de suivre des espèces radicalaires générées à plus haute température.

III. 5. 1. 2. Spin trapping

La technique de « spin trapping », encore appelée « piégeage de spin », consiste à additionner au système étudié une molécule diamagnétique qui va servir de piège en réagissant de façon très rapide avec un radical libre instable pour donner un adduit de spin beaucoup plus stable, détectable en RPE. Lors de la mise en place de cette méthode, nous avons choisi de travailler avec le piégeur de spin α-phényl-N-*tert*-butylnitrone (PBN) en raison de son caractère lipophile et de sa thermostabilité (Janzen et al. 1992). Comme l'indique la Figure 70, les radicaux piégés (L•) se fixent sur le carbone situé en α de la fonction nitroxyde pour donner naissance à un adduit de spin PBN-L-NO• détectable par RPE.

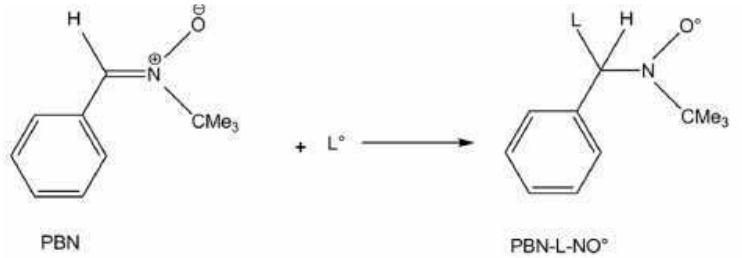


Figure 70. Formation d'un adduit de spin suite à l'interaction des radicaux lipidiques (L•) avec le piégeur α-phényl-N-tert-butylnitrone (PBN).

Le spectre de l'adduit PBN-L-NO• est caractérisé par un triplet de doublets (Figure 71), avec des constantes de couplage de l'électron avec l'azote (A_N) de 14,955 G et avec l'hydrogène (A_H) de 2,491 G (Andersen & Skibsted 1998).

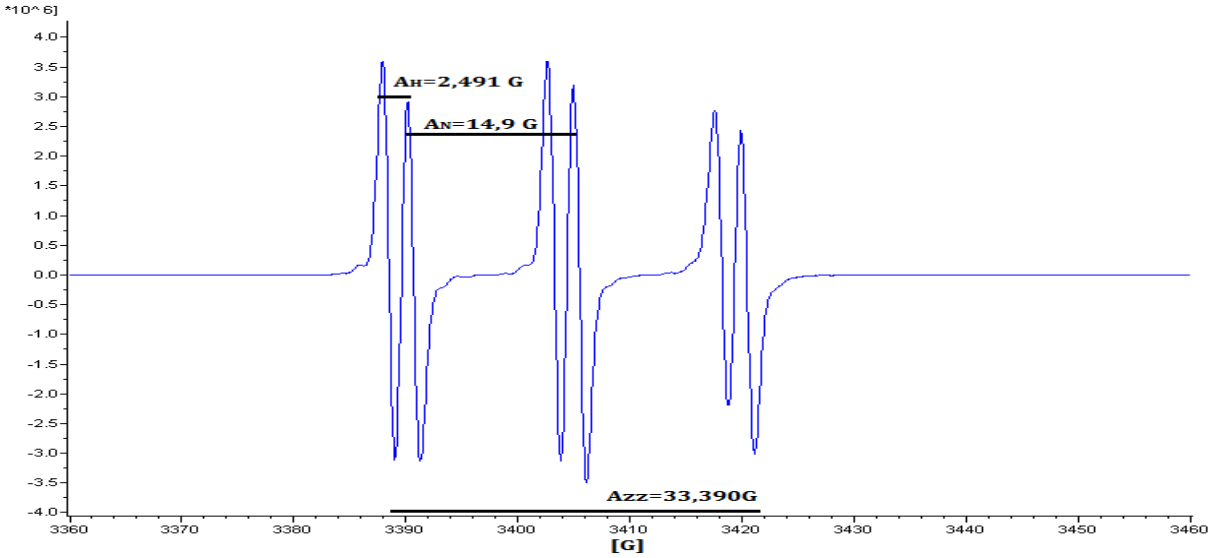


Figure 71. Spectre RPE de l'adduit PBN-L-NO• observé lors du chauffage d'une huile de colza à 100 °C.

Lorsque cette méthode est appliquée pour suivre la formation des radicaux libres dans deux huiles végétales (huile de colza et huile de tournesol) au cours de leur chauffage à 100 °C, on constate l'apparition d'un signal RPE qui évolue dans le temps (Figure 72), ce qui traduit vraisemblablement plusieurs phénomènes.

L'augmentation du signal peut correspondre à une phase d'accumulation des adduits dans le milieu, consécutive à la réaction du piégeur PBN avec les radicaux lipidiques issus de l'auto-oxydation. La vitesse d'accumulation des adduits formés semble substrat-dépendante, si l'on compare les résultats obtenus pour les deux huiles. En revanche, la quantité maximale de radicaux qui est générée semble sensiblement équivalente. L'huile de tournesol, très riche en acide linoléique (62 %), conduirait à une formation plus rapide des adduits de spin que l'huile de colza, contenant majoritairement de l'acide oléique.

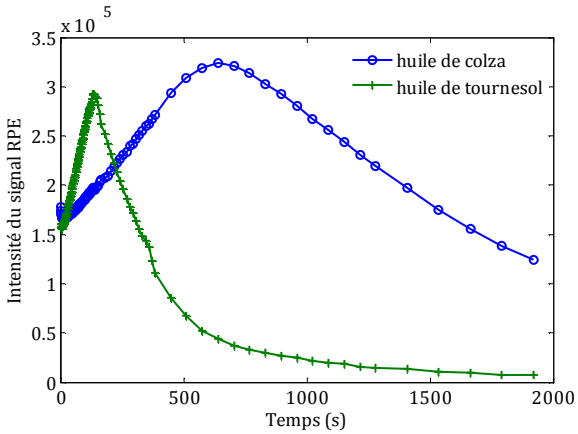
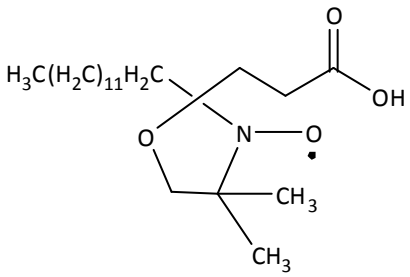


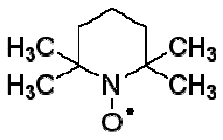
Figure 72. Evolution des adduits de spin PBN-L-NO• dans une huile de colza et dans une huile de tournesol chauffées à 100 °C pendant 2000 s.

Dès lors que la quantité d'adduits formés atteint son maximum, on observe une diminution progressive du signal. Cette diminution laisse penser à une instabilité des radicaux nitroxyles dans les conditions opératoires utilisées. Deux hypothèses sont alors proposées : (i) le radical nitroxyle est instable à 100 °C ou (ii) l'adduit PBN-L-NO• formé réagit à son tour avec les radicaux lipidiques présents dans le milieu pour former un produit non-radicalaire silencieux en RPE.

Afin de vérifier ces hypothèses, le comportement de l'adduit de spin PBN-L-NO• a été mimé par deux types de nitroxyles disponibles commercialement : l'acide 5 doxyl stéarique (DSNO•), possédant une structure plutôt linéaire pouvant mimer un acide gras, et le 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpipéridine-1-oxyl (TEMPO) ayant une structure plutôt sphérique (Figure 73). La concentration de chacune de ces deux molécules contenant la fonction NO• a été choisie de façon à ce que l'intensité de son signal RPE soit du même ordre de grandeur que celui généré par le PBN-L-NO• à 100 °C et 110 °C. Ainsi, la concentration est de $2{,}3\times10^{-5}$ mol.L^{-1} pour le DSNO• et de $5{,}8\times10^{-4}$ mol.L^{-1} pour le TEMPO.



DSNO•



TEMPO

Figure 73. Structures chimiques de l'acide 5-doxyl stéarique (DSNO•) et du 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpipéridine-1-oxyl (TEMPO).

La stabilité thermique du DSNO• et du TEMPO a été étudiée dans un milieu ne contenant pas de composés oxydables : l'huile de silicone. L'évolution du signal RPE de ces deux molécules dans ce milieu est illustrée dans la Figure 74 pour une température de 100 °C. Nous constatons ainsi

que quelle que soit la structure portant le groupe NO•, celui-ci est stable au cours du temps, ce qui permet d'infirmer l'hypothèse (i).

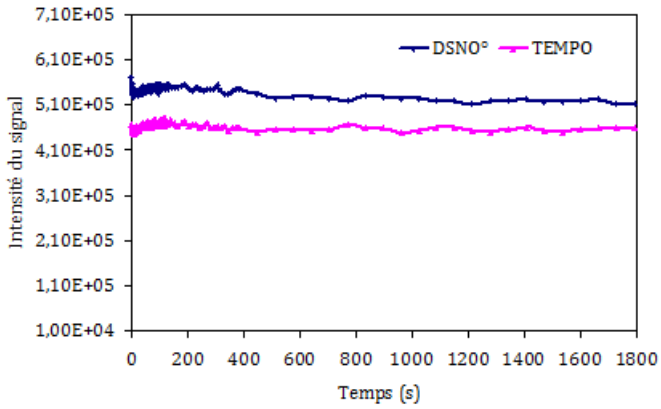


Figure 74. Stabilité thermique de l'acide 5-doxyl stéarique (DSNO•) et du 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpipéridine-1-oxyl (TEMPO) dans l'huile de silicone à 100 °C.

Afin de vérifier la seconde hypothèse, nous avons synthétisé des hydroperoxydes à partir d'acide linoléique sous l'action de la lipoxygénase de soja, selon le protocole décrit dans le § II.2.5. Les hydroperoxydes (3×10^{-2} mol.L^{-1}) sont incorporés en même temps que l'acide 5-doxyl stéarique (DSNO•) ($2{,}3\times10^{-5}$ mol.L^{-1}) dans l'huile de silicone et l'échantillon est soumis à un traitement thermique à 100 °C pendant 500 secondes (Figure 75).

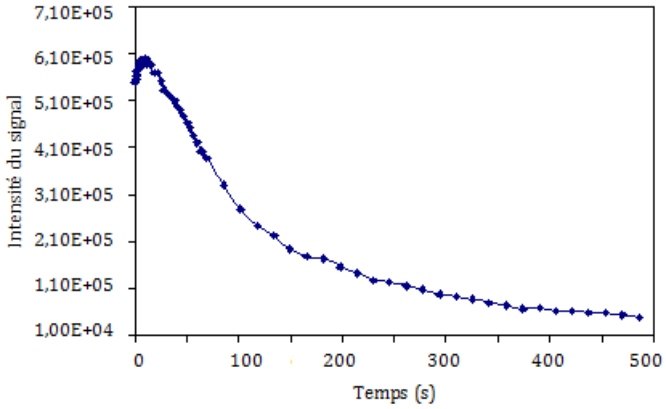


Figure 75. Evolution de l'intensité du signal RPE dans un milieu lipidique non oxydable (huile de silicone) contenant des hydroperoxydes synthétisés à partir de l'acide linoléique par voie enzymatique et de l'acide 5-doxyl stéarique (DSNO•).

La Figure 75 montre une dégradation progressive de l'acide 5-doxyl stéarique, similaire à celle observée dans la Figure 72. Ce résultat suggère une interaction entre l'acide 5-doxyl stéarique et les radicaux alkoxyles issus de la décomposition des hydroperoxydes pour former une espèce non radicalaire silencieuse en RPE. Ce résultat conforte donc l'hypothèse (ii) selon laquelle l'adduit de spin réagirait avec les radicaux lipidiques présents dans le milieu réactionnel. Pour comprendre précisément les mécanismes mis en jeu, il faudrait identifier la nature du radical

piégé par l'acide 5-doxyl stéarique. Cette étude nécessiterait la mise en place de méthodologies complémentaires (association de la RPE avec la chromatographie liquide haute performance et la spectrométrie de masse par exemple).

A partir de ces derniers résultats, il nous a semblé intéressant de développer une méthodologie permettant de suivre les réactions entre un tel radical stable de type nitroxyle et les radicaux lipidiques, ceci dans le but de déterminer des paramètres cinétiques, indispensables au développement du modèle stoechio-cinétique.

III. 5. 2. Estimation des constantes de vitesse d'une réaction impliquant des radicaux lipidiques

Afin d'accéder aux paramètres cinétiques de ces réactions radicalaires, nous allons utiliser la méthode spin scavenging. Le spin scavenging correspond à la réaction d'un composé radicalaire stable, par exemple de type nitroxyle NO•, avec les radicaux présents dans leur environnement pour former des produits diamagnétiques *via* recombinaison radical-radical (Beckwith et al. 1992; Bowry & Ingold 1992; Lardinois et al. 2009). La méthode de spin scavenging a jusqu'à présent été principalement utilisée pour l'étude de l'activité anti-radicalaire des antioxydants (Stagko et al. 2002; Polovka et al. 2003a; Rohn & Kroh 2005; Stagko et al. 2006).

Dans notre étude, nous allons tester les potentialités de cette méthode en cherchant à identifier la constante de vitesse de la réaction d'initiation secondaire impliquant les hydroperoxydes et faisant intervenir des espèces radicalaires : $LOOH \rightarrow LO^{\bullet} + {}^{\bullet}OH$.

Cette réaction est choisie pour plusieurs raisons : (i) elle constitue la principale source d'initiation de l'auto-oxydation des lipides, (ii) l'étude de sensibilité réalisée dans le § III.4. montre que la décomposition des hydroperoxydes est une réaction clé pour le développement du modèle mathématique et (iii) les paramètres cinétiques pour cette réaction ne sont pas disponibles dans la littérature. Quelques constantes cinétiques relatives à cette réaction sont disponibles pour une température de 40-50 °C et 180 °C, cependant ces températures sont trop éloignées pour refléter les traitements thermiques des produits alimentaires que nous considérons. Par ailleurs, comme nous l'avons observé dans le chapitre III.3, la réaction de décomposition des hydroperoxydes est très fortement influencée par la température et par conséquent, l'extrapolation des valeurs disponibles dans la littérature à de plus hautes températures risque d'être peu fiable.

III. 5. 2. 1. Caractérisation des systèmes étudiés

Trois systèmes lipidiques ont été utilisés pour cette étude : une huile de tournesol et une huile de colza, purifiées de façon à éliminer en particulier les composés antioxydants, et une huile de colza purifiée puis soumise à une oxydation forcée. Deux températures, 100 et 110 °C, ont été choisies pour étudier la décomposition des hydroperoxydes présents dans ces trois huiles. Les températures choisies sont proches afin d'éviter le changement éventuel des voies réactionnelles de décomposition dans le cas des températures trop éloignées. Le radical stable, l'acide 5-doxyl stéarique ou DSNO•, a été ajouté à un volume constant d'huile. Il joue le rôle de piégeur des radicaux issus de l'initiation secondaire.

Les changements dans la concentration en DSNO• sont enregistrés tout au long du traitement thermique par le suivi de l'intensité de la première raie du spectre RPE (Figure 76). Le spectre est caractérisé par trois pics d'absorption fins, équidistants, et d'amplitudes très peu différentes. La différence entre l'intensité des raies (I_3<I_1~I_2) est liée à la viscosité du milieu. Si l'intensité de la première raie a été préférée à la mesure de la surface du spectre, c'est simplement parce que le bruit de fond peut interférer de façon importante avec la mesure de surface lorsque la concentration en DSNO• devient très faible.

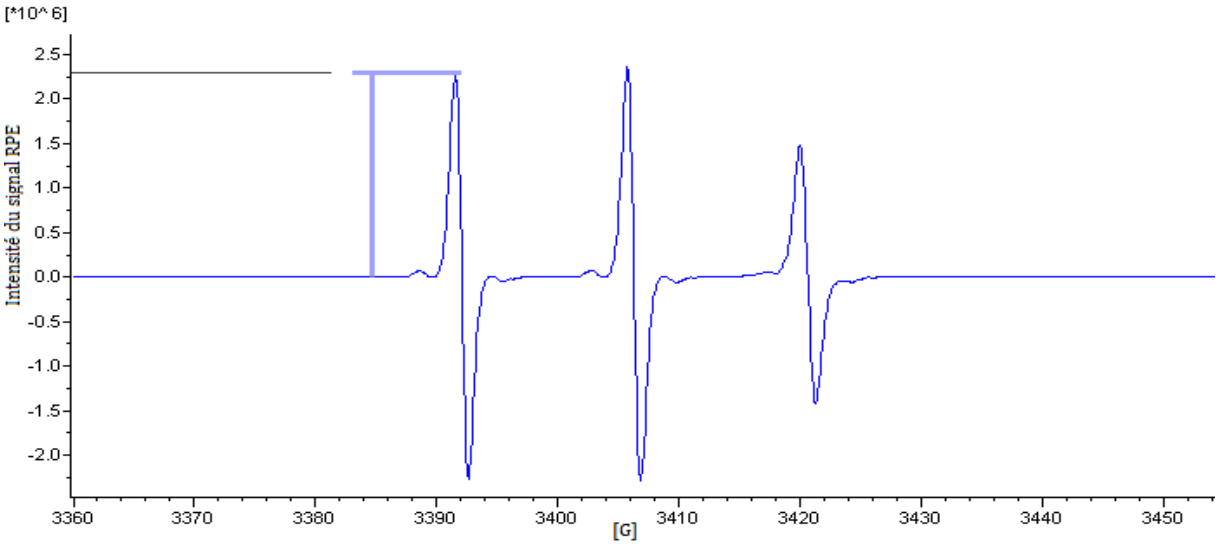


Figure 76. Spectre RPE de l'acide 5-doxyl stéarique.

Un jeu de réactions élémentaires simplifié est considéré dans cette étude (schéma réactionnel du Tableau 21) car, comme indiqué précédemment, notre objectif est simplement d'estimer les potentialités du spin scavenging en RPE pour déterminer des constantes cinétiques. Il prend en compte :

- la scission homolytique de la liaison oxygène-oxygène du groupement hydroperoxyde, avec formation de radicaux alkoxyles et hydroxyles (réaction I) ;

- la réaction entre les radicaux alkoxyles formés dans la réaction I et le radical stable DSNO• (réaction II) ;

- la réaction entre les radicaux alkoxyles et les acides gras insaturés LH présents dans les huiles, avec formation des radicaux alkyles L• (réaction III) ;
- les réactions de terminaison entre les radicaux alkyles (réaction IV) et entre les radicaux alkyles et alkoxyles (réaction V).

Tableau 21. Réactions considérées dans le schéma réactionnel simplifié de décomposition des hydroperoxydes.

Numéro réaction	*Réaction*	*Constante cinétique*
I	LOOH →LO• + •OH	k_I= ?
II	LO• + DSNO• → DSNOOL	k_{II}= ?
III	LO• + LH → LOH + L•	$k_{III}= 1\times10^{7}\ M^{-1}.s^{-1}$
IV	L• + L• → LL	$k_{IV}= 1\times10^{6}\ M^{-1}.s^{-1}$
V	L• + LO• → LOL	$k_V= 1\times10^{5}\ M^{-1}.s^{-1}$

Les réactions présentées dans le Tableau 21 sont strictement les mêmes pour les deux systèmes lipidiques étudiés, le tournesol et le colza. Parmi ces réactions, nous faisons le choix d'identifier les constantes de vitesse des réactions I et II. Les constantes de vitesse sont donc imposées pour les réactions III, IV et V (valeurs issues de la littérature).

Par ailleurs, afin de simplifier la traduction du système, les hypothèses suivantes sont posées:
- Le traitement thermique est supposé isotherme. On néglige ainsi l'influence de la phase de montée en température sur l'avancement de la réaction étudiée par rapport à la durée du traitement thermique. La durée de cette montée en température est en effet courte (environ 2 minutes) par rapport à la durée totale du traitement thermique (30 minutes).
- La concentration en oxygène est supposée très faible en raison des précautions expérimentales qui ont été prises : étape de purification de l'huile menée sous vide, stockage de l'échantillon sous azote, cinétiques réalisées dans des tubes RPE fermés. Ces précautions permettent d'écarter la réaction $L^{\bullet}+O_2\rightarrow LOO^{\bullet}$ du schéma réactionnel.
- Toutes les réactions qui apparaissent dans le schéma réactionnel (Tableau 21) sont supposées élémentaires, ce qui revient à considérer les ordres partiels des réactions par rapport aux réactifs égaux aux coefficients stœchiométriques des réactifs.
- On considère un pool d'hydroperoxydes avec une réactivité équivalente, quel que soit l'acide gras à l'origine de la formation de chaque hydroperoxyde.
- Dans la réaction III, on considère la réactivité des acides gras polyinsaturés avec une concentration initiale égale à la somme des concentrations en acides linoléique et α-linolénique, la réactivité de ces deux acides gras étant nettement supérieure à celle de l'acide oléique comme indiqué à plusieurs reprises.
- A l'état initial, la concentration en radicaux est supposée nulle.
- D'après la réaction I, les radicaux LO• et •OH se forment en concentrations équivalentes. On considère que seule la réaction LO•+DSNO•→DSNOOL aura lieu compte tenu de la spécificité du

DSNO• pour les radicaux centrés sur un atome de carbone (Koshiishi et al. 2006; Takajo et al. 2010) et du réarrangement structural d'un radical centré sur l'oxygène vers un radical centré sur le carbone (Figure 77) (Wilcox & Marnett 1993; Qian et al. 2002; Yu et al. 2008).

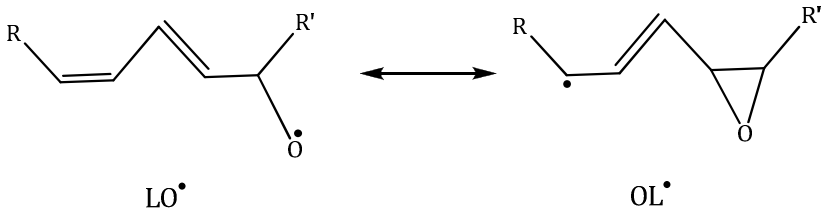


Figure 77. Réarrangement d'un radical centré sur l'oxygène vers un radical centré sur le carbone.

Les concentrations initiales des différents constituants des milieux étudiés sont des paramètres nécessaires à la modélisation des données. Ces concentrations sont propres à chaque système lipidique étudié et sont répertoriées dans le Tableau 22.

Tableau 22. Concentrations initiales des différents constituants dans les trois systèmes lipidiques étudiés en RPE – spin scavenging.

	Huile de tournesol	*Huile de colza*	*Huile de colza oxydée*
Acides gras insaturés (mol.L^{-1})			
C18 :2 [L_BH] + C18 :3 [L_CH]	2,06	0,81	0,81
Hydroperoxydes (mol.L^{-1})			
	$9{,}00\cdot10^{-5}$	$4{,}00\cdot10^{-5}$	$1{,}18\cdot10^{-2}$
Acide 5-doxyl-stéarique (mol.L^{-1})			
	$2{,}30\times10^{-5}$	$2{,}30\times10^{-5}$	$2{,}30\times10^{-5}$
Radicaux L•, LO•			
	0	0	0

Le modèle développé consiste en une série d'équations différentielles permettant de prédire, en fonction du temps de chauffage, l'évolution des concentrations des espèces chimiques (réactifs et produits). Les solutions numériques de ces équations sont calculées par une fonction pré-programmée ode 15 solver dans MATLAB 7.8.0.347.

$$\frac{dLOOH}{dt} = -r_I \qquad \text{Équation 22}$$

$$\frac{dLO^{\bullet}}{dt} = r_I - r_{II} - r_{III} - r_{IV} \qquad \text{Équation 23}$$

$$\frac{dLH}{dt} = -r_{III} \qquad \text{Équation 24}$$

$$\frac{dL^{\bullet}}{dt} = r_{III} - 2 \cdot r_{IV} - r_V \qquad \text{Équation 25}$$

$$\frac{dDSNO^{\bullet}}{dt} = -r_{II} \qquad \text{Équation 26}$$

où les vitesses de réactions sont égales à :

$$r_I = k_I [LOOH]$$ Équation 27

$$r_{II} = k_{II} [DSNO^\bullet] \cdot [LO^\bullet]$$ Équation 28

$$r_{III} = 10^7 \cdot [LH] \cdot [LO^\bullet]$$ Équation 29

$$r_{IV} = 10^6 \cdot [L^\bullet] \cdot [L^\bullet]$$ Équation 30

$$r_V = 10^5 \cdot [L^\bullet] \cdot [LO^\bullet]$$ Équation 31

Les constantes de vitesse relatives ont été déterminées pour chacun des deux systèmes lipidiques non oxydés, l'huile de tournesol et l'huile de colza. Elles ont ensuite été appliquées au troisième système, l'huile de colza ayant subi une oxydation forcée.

III. 5. 2. 2. Dégradation des hydroperoxydes dans l'huile de colza

Dans l'huile de colza n'ayant pas subi d'oxydation forcée, l'acide 5-doxyl stéarique n'est plus détectable au bout de 1500 secondes (~25 minutes) à 100 °C et de 750 secondes (~12 minutes) à 110 °C (Figure 78).

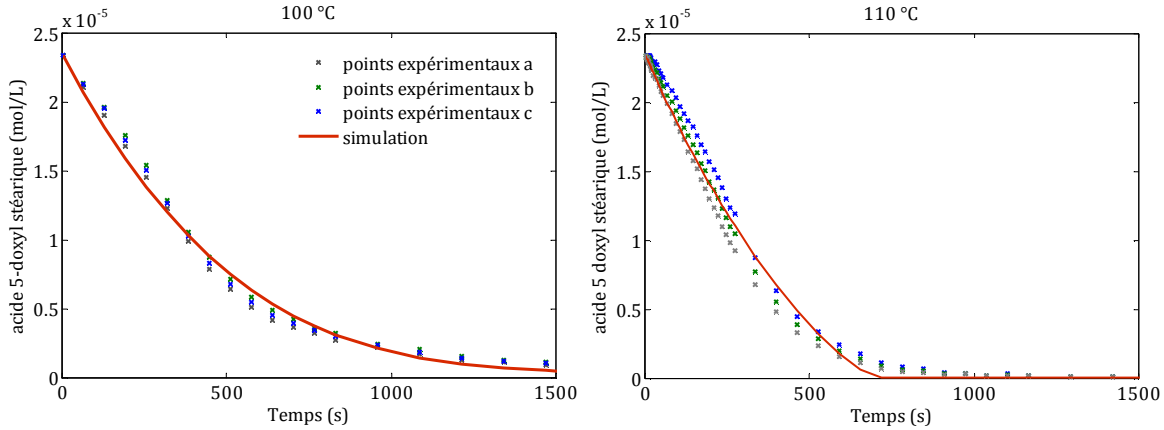


Figure 78. Evolution de la concentration en acide 5-doxyl stéarique dans l'huile de colza chauffée à 100 et à 110 °C. Les points correspondent aux données expérimentales (3 répétitions : a, b et c) et les courbes pleines à la simulation mathématique.

Les valeurs obtenues après modélisation sont en accord avec les valeurs obtenues expérimentalement. Les constantes de vitesse déterminées par modélisation sont résumées dans le Tableau 23. On remarque que dans les conditions expérimentales étudiées, l'effet de la température est peu marqué dans le cas de la réaction I.

Tableau 23. Constantes de vitesse apparentes obtenues pour la décomposition des hydroperoxydes présents dans l'huile de colza à 100 et 110 °C.

	Température (°C)	
	100	110
$LOOH \rightarrow LO^{\bullet} + {}^{\bullet}OH$	$k_I = 1{,}3\times10^{-3}\ s^{-1}$	$k_I = 1{,}4\times10^{-3}\ s^{-1}$
$LO^{\bullet} + DSNO^{\bullet} \rightarrow DSNOOL$	$k_{II} = 2{,}8\times10^{12}\ M^{-1}.s^{-1}$	$k_{II} = 2{,}5\times10^{13}\ M^{-1}.s^{-1}$

Les valeurs trouvées sont supérieures aux valeurs trouvées par Silvagni et al. (2010) à 180 °C ($4{,}4\times10^{-3}\ s^{-1}$) et celles indiquées par Tavadyan et al. (2007) – $3{,}7\times10^{-4}\ s^{-1}$ recalculées pour nos conditions expérimentales à l'aide de l'énergie d'activation (184 $kJ.mol^{-1}$).

A partir du modèle construit, les concentrations de tous les réactifs et produits peuvent être simulées (Figure 79).

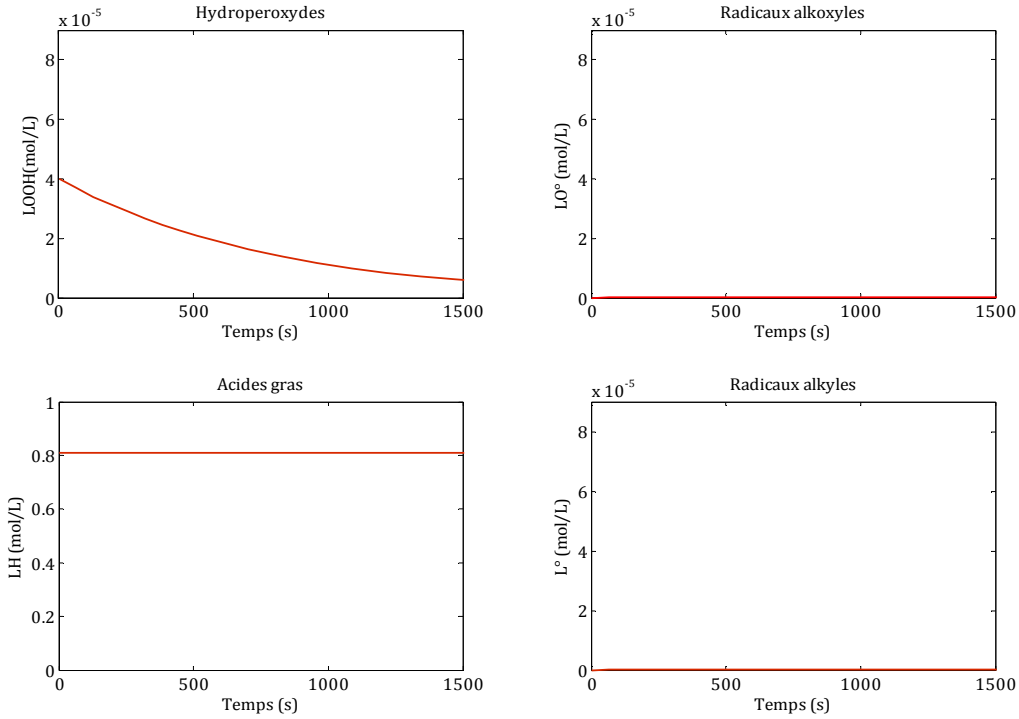


Figure 79. Concentrations simulées de toutes les espèces participant aux réactions décrites dans le schéma réactionnel simplifiépour l'huile de colza.

On constate que la totalité des hydroperoxydes serait dégradée au bout de 1500 secondes. Une dégradation non-significative est observée dans le cas des acides gras insaturés, ce qui est en accord avec les résultats obtenus dans le § III.3.5. Les concentrations en radicaux $L^{\bullet}$ et $LO^{\bullet}$ sont quant à elles quasiment nulles. Ceci est cohérent dans la mesure où les radicaux lipidiques sont très instables à une température aussi élevée.

Des différences plus significatives auraient pu être mises en évidence si la gamme de température choisie avait été plus large que 10 °C.

III. 5. 2. 3. Dégradation des hydroperoxydes dans l'huile de tournesol

Dans l'huile de tournesol, l'acide 5-doxyl stéarique n'est plus détectable au bout de 1000 secondes à 100 °C, et seulement de 600 secondes à 110 °C (Figure 80). Une consommation plus rapide est donc observée par rapport au système huile de colza étudié précédemment, résultat qui pourrait être en lien avec la concentration initiale en hydroperoxydes plus élevée dans l'huile de tournesol étudiée (cf Tableau 22).

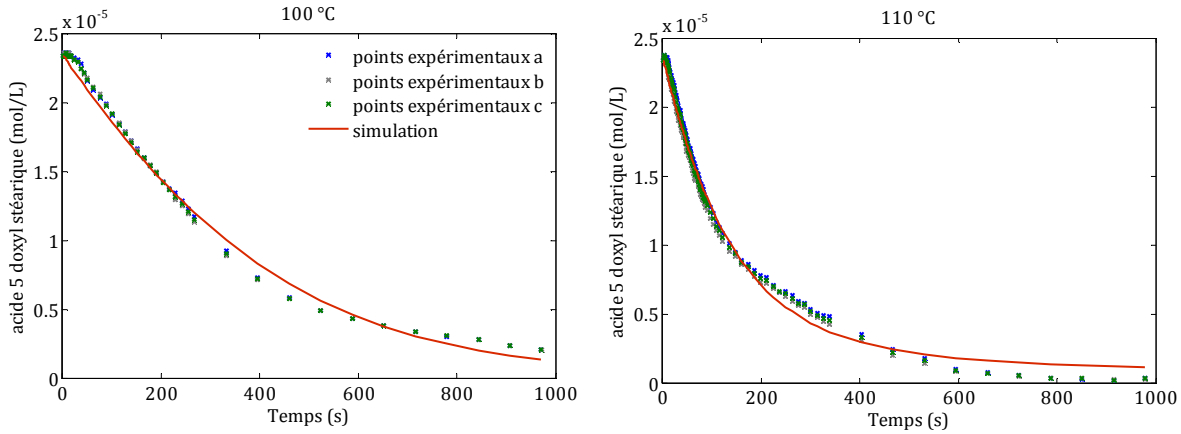


Figure 80. Evolution de la concentration en acide 5-doxyl stéarique dans l'huile de tournesol chauffée à 100 et à 110 °C. Les points correspondent aux données expérimentales (3 répétitions : a, b et c) et les courbes pleines à la simulation mathématique.

Les valeurs obtenues après modélisation sont en accord avec les valeurs obtenues expérimentalement. Un écart entre les valeurs simulées et les valeurs expérimentales est cependant à noter en fin de cinétique. Les valeurs des constantes de vitesse obtenues sont du même ordre de grandeur que celle déterminées pour l'huile de colza (Tableau 24). La valeur de la constante k_I augmente logiquement avec la température. En revanche, il est surprenant de constater que l'effet de la température n'est pas respecté dans le cas de la constante k_{II}, sa valeur étant plus importantes à 100 °C qu'à 110 °C. Il serait donc nécessaire de compléter cette étude en établissant les cinétiques sur une gamme de températures plus large.

Tableau 24. Constantes de vitesse apparentes obtenues pour la décomposition des hydroperoxydes présents dans l'huile de tournesol à 100 et 110 °C.

	Température (°C)	
	100	110
$LOOH \rightarrow LO^{\bullet} + {}^{\bullet}OH$	$k_I = 0{,}8\times10^{-3}\ s^{-1}$	$k_I = 3{,}1\times10^{-3}\ s^{-1}$
$LO^{\bullet} + DSNO^{\bullet} \rightarrow DSNOOL$	$k_{II} = 2{,}2\times10^{12}\ M^{-1}.s^{-1}$	$k_{II} = 0{,}9\times10^{12}\ M^{-1}.s^{-1}$

La simulation des concentrations en réactifs (Figure 81) montre que les concentrations en L• et LO• sont quasiment nulles, comme dans le cas de l'huile de colza. Par ailleurs, environ la moitié des hydroperoxydes initialement présents dans les huiles est décomposée en fin de cinétique, temps au bout duquel la totalité de l'acide 5-doxyl stéarique est consommé.

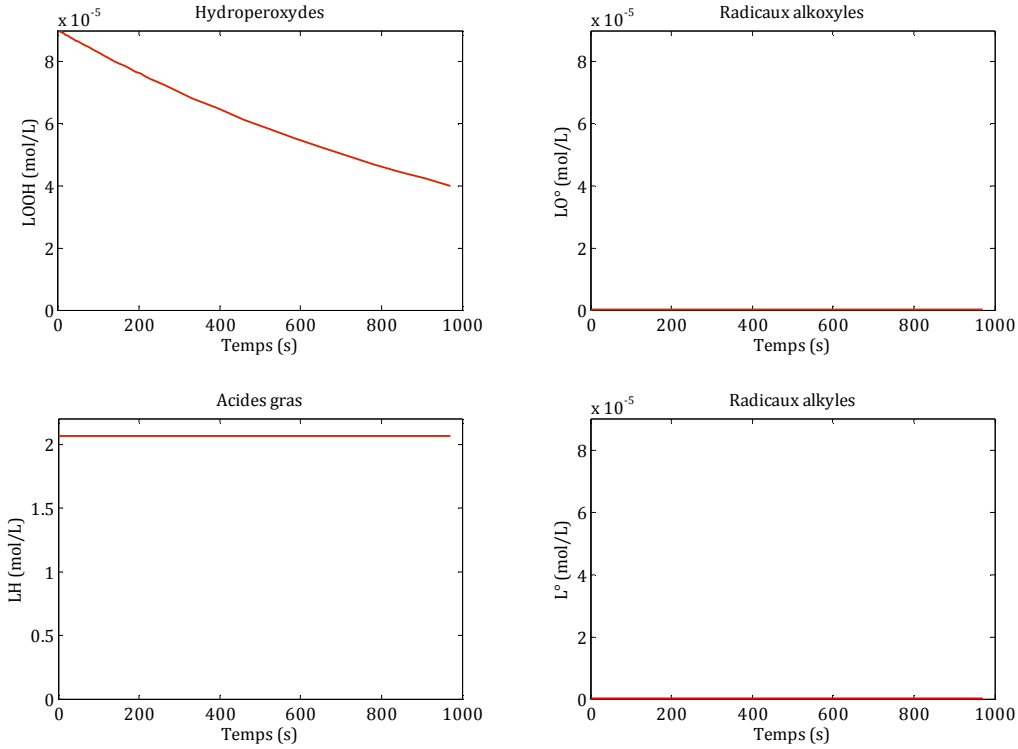


Figure 81. Concentrations simulées de tous les espèces participant aux réactions décrites dans le schéma réactionnel pour l'huile de tournesol.

Ces résultats mettent en évidence la concentration probablement limitante en acide 5-doxyl stéarique. Celle-ci ne suffit pas pour piéger tous les radicaux issus de la décomposition des hydroperoxydes. En effet, la concentration initiale en hydroperoxydes (9.0×10^{-5} mol.L^{-1}) est environ trois fois supérieure à celle du piégeur (2.3×10^{-5} mol.L^{-1}). Ceci pourrait expliquer la différence observée entre les valeurs simulées et les valeurs expérimentales en fin de cinétique.

III. 5. 2. 4. Dégradation des hydroperoxydes dans l'huile de colza oxydée

L'objectif de ce troisième système est de vérifier que le modèle développé pour un système lipidique à faible concentration en hydroperoxydes est valable dans le cas d'un milieu à forte concentration en hydroperoxydes. Pour cela, une huile de colza purifiée puis oxydée de façon forcée selon le protocole décrit dans le § II.2.4. a été sélectionnée (teneur en hydroperoxydes de $1{,}18\times10^{-2}$ mol.L^{-1}).

On constate que lorsque l'on applique les constantes de vitesse déterminées pour les systèmes lipidiques à faible concentration en hydroperoxydes (cf § III.5.2.2 et § III.5.2.3), les valeurs calculées par le modèle ne simulent pas correctement les valeurs mesurées expérimentalement (Figure 82). Les valeurs expérimentales mettent en effet en évidence une disparition très rapide de l'acide 5-doxyl stéarique (20 secondes), ce qui implique des vitesses de réaction beaucoup

plus élevées que celles observées dans les systèmes lipidiques à faible concentration en hydroperoxydes.

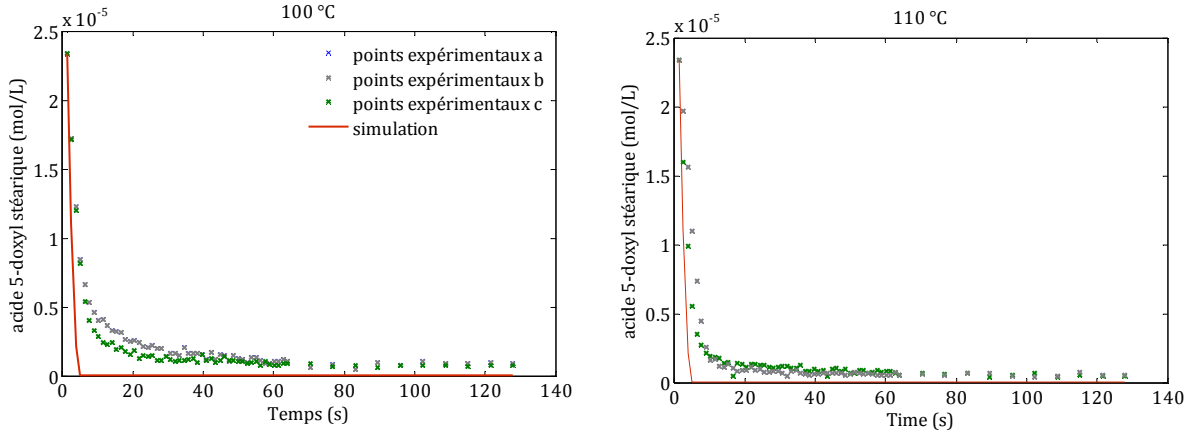


Figure 82. Evolution de la concentration en acide 5-doxyl stéarique dans l'huile de colza oxydée à 100 et à 110 °C. Les points correspondent aux données expérimentales (3 répétitions : a, b et c) et les courbes pleines à la simulation mathématique.

Dans un système à forte concentration en hydroperoxydes, la quantité de radicaux alkoxyles est importante. Or ces radicaux alkoxyles peuvent subir une scission de part et d'autre du carbone radicalaire pour former d'autres radicaux libres à chaîne plus courte. Ceux-ci pourraient alors entrer en compétition avec les LO• pour réagir avec le DSNO•, d'où sa vitesse de consommation très rapide. Ce phénomène de compétition est envisageable si l'on s'en réfère aux travaux de Yu et al. (2008) menés avec un autre adduit de spin, le α-[4-pyridyl-1-oxyde]-N-*tert*-butyl nitrone (POBN). Ils ont montré à l'aide de couplages CLHP/RPE/MS, que des radicaux issus de la beta-scission des radicaux alkoxyles pouvaient réagir avec le POBN (Yu et al. 2008).

Si l'on essaye de complexifier notre système en ajoutant les réactions de beta scission au schéma réactionnel proposé initialement, on constate que le nouveau modèle mathématique développé identifie des constantes cinétiques de l'ordre de 10^{-3} s^{-1} pour la décomposition des hydroperoxydes (k_I) et 10^{12} $mol.L^{-1}.s^{-1}$ pour k_{II}. Cependant, étant donné la concentration en acide 5-doxyl stéarique limitante dans notre système, nous ne sommes pas allés plus loin dans l'interprétation des phénomènes qui ont lieu dans un milieu à forte concentration en hydroperoxydes. La concentration en DSNO• de l'ordre de 10^{-5} $mol.L^{-1}$ ne suffit pas pour piéger tous les radicaux issus de la décomposition des hydroperoxydes avec une concentration initiale mille fois plus élevée que celle du piégeur. Une étude complémentaire mettant en œuvre une concentration plus élevée en radical DSNO• serait indispensable pour suivre la cinétique réactionnelle sur un temps plus long, en étant dans des conditions qui permettent de piéger les radicaux au fur et à mesure de leur formation.

III. 5. 3. Conclusion

La résonance paramagnétique électronique, méthode de mesure physique spécifique aux molécules paramagnétiques, apparaît donc comme un outil intéressant qui, par l'adaptation ou le développement des méthodologies spécifiques, permet d'obtenir des informations sur la nature et la réactivité des intermédiaires clés des réactions d'oxydation que sont les radicaux lipidiques générés dans les étapes précoces de l'oxydation des lipides. Deux des méthodologies développées semblent plus prometteuses : la méthode directe et le spin scavenging.

Un suivi direct des radicaux lipidiques nous a permis de détecter et d'identifier des familles de radicaux issus de la photo-oxydation des lipides à très basse température. Cette approche serait intéressante dans un but cognitif, pour mieux comprendre le mécanisme de formation des radicaux ainsi que d'étudier leur durée de vie. En revanche, elle n'est pas directement applicable aux problématiques d'oxydation à haute température.

La méthode de spin trapping peut être intéressante si un choix approprié de spin trap est possible, permettant d'accéder à une spécificité de piégeage des radicaux. Elle doit dans ce cas être couplée à l'utilisation de la chromatographie liquide haute performance munie d'un détecteur UV-Visible à barettes de diodes ou d'un spectromètre de masse de façon à envisager l'identification et la quantification des radicaux piégés.

Enfin, le spin scavenging a permis d'estimer des constantes cinétiques pour la réaction de décomposition des hydroperoxydes à haute température. Si les conditions de son utilisation restent à améliorer, elle apparaît comme un moyen d'accéder aux paramètres cinétiques de réactions impliquant des molécules radicalaires, pour lesquelles très peu de données existent dans la littérature pour des températures élevées.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'oxydation des lipides conduit à la détérioration de la qualité sensorielle et nutritionnelle des aliments. De ce fait, de nombreuses études se sont intéressées à l'étude des mécanismes mis en jeu lors de l'oxydation et à la stabilité oxydative des aliments contenant des lipides. En revanche, il est aujourd'hui quasiment impossible de prédire l'avancement de ces réactions et souvent nécessaire de recommencer une nouvelle étude de stabilité oxydative pour tout nouveau couple produit alimentaire / procédé de transformation. Dans ce contexte, l'objectif de la thèse était de construire un modèle mécanistique couplé à un modèle de transfert de l'oxygène dans le but de prédire l'avancement des réactions d'oxydation dans un milieu lipidique continu et dans des conditions expérimentales définies et contrôlées (température, oxygénation, composition en acides gras, composition en antioxydants).

La construction d'un schéma réactionnel a permis de détailler les réactions mises en jeu lors de l'oxydation des acides gras insaturés, d'après un mécanisme qui est déjà relativement bien connu.

La réactivité des acides gras présents dans trois huiles végétales d'usage courant a été étudiée entre 80 et 180 °C, en suivant différents marqueurs d'oxydation primaires (diènes conjugués, hydroperoxydes) et secondaires (aldéhydes, polymères). Cette étude a montré que l'avancement des réactions d'oxydation dépend de la composition des huiles en acides gras, de la température et des conditions d'oxygénation. Ainsi l'huile de tournesol s'oxyde plus rapidement que l'huile de colza et que l'huile de tournesol oléique. Un rapport volume d'huile/surface de 9,49 mm est nécessaire pour mettre en évidence une oxydation importante des acides gras insaturés sur une durée de 6 heures.

En présence d'α-tocophérol, l'avancement des réactions d'oxydation est significativement ralenti, ce qui traduit bien l'effet antioxydant de ce composé. En revanche, la présence supplémentaire d'acide chlorogénique ne modifie pas de manière importante la stabilité oxydative des huiles. Elle permet cependant de réduire les pertes en α-tocophérol au cours du traitement thermique, probablement par des effets de régénération de l'α-tocophérol par l'acide chlorogénique.

Nous avons montré que l'α-tocophérol était consommé plus rapidement dans les huiles mono-insaturées (tournesol oléique et colza) que dans les huiles polyinsaturées (huile de tournesol), ce qui confirme des résultats publiés dans la littérature. Les phénomènes à l'origine de ce constat mériteraient d'être explicités, notamment en distinguant la part d'α-tocophérol perdue par dégradation thermique et celle perdue par action antioxydante, et ce en fonction de l'évolution de la température. Des systèmes simplifiés mettant en jeu des triglycérides

homogènes puis plus ou moins insaturées, pourraient être développés, et les constantes de vitesse des différentes réactions impliquant l'α-tocophérol ainsi déterminées. Par ailleurs, les systèmes pourraient être complexifiés par ajout d'acide chlorogénique de façon à mettre en évidence les interactions potentielles entre ces molécules.

Le développement du modèle stoechio-cinétique a été réalisé et la description des mécanismes physiques responsables de l'oxygénation du milieu ont été décrits de deux manières. Nous avons constaté que le modèle décrivant le transfert de l'oxygène selon un phénomène purement diffusif sous-estimait la formation des marqueurs d'oxydation et ne permettait donc pas sa validation. Le système assimilant le système à un réacteur parfaitement agité reproduit les tendances expérimentales. La validation complète du modèle nécessitera le dosage de la concentration en oxygène dissous dans l'huile à haute température.

Même si le modèle stoechio-cinétique n'est pas encore entièrement validé, ce travail a toutefois permis de recenser un jeu de constantes de vitesse acceptable à partir des données issues de la littérature et d'identifier, *via* l'étude de sensibilité, les réactions dont la connaissance précise des constantes de vitesse est requise. En outre, les questions soulevées lors de la tentative de couplage entre modèle de transfert diffusif d'oxygène d'une part, et modèle de réactivité des acides gras d'autre part, ont permis d'orienter les futurs travaux à réaliser.

La détermination précise et locale de la concentration en oxygène dissous dans l'huile constituerait une information supplémentaire en vue d'élucider le mécanisme physique de transport de l'oxygène au sein du milieu lipidique (gradients de concentrations éventuels) et de disposer d'une mesure prioritaire puisque cette espèce intervient à différents niveaux du schéma réactionnel, et en particulier dans certaines réactions « sensibles », ce qui en fait un réactif potentiellement limitant dans l'avancement globale des réactions d'oxydation.
Une fois cette limitation sur l'oxygène dissous levée, il serait possible, dans une première approche, d'envisager la validation du modèle sur un milieu agité. Même si ces conditions ne décriraient pas intégralement la complexité du phénomène étudié, cela permettrait de tenir compte de l'impact de la teneur en oxygène dissous dans le milieu tout en décrivant de manière plus réaliste le phénomène de transfert d'oxygène, et également d'affiner le jeu de constantes de vitesse dont on dispose.
La validation du modèle pourrait également être envisagée sur un milieu lipidique simplifié. Pour cela il serait envisageable de travailler avec des acides gras ou des triglycérides homogènes dans le but de réduire le nombre de réaction à considérer dans le schéma réactionnel et la combinaison possible entre les réactions. Dans le cas d'un modèle avec moins de réactions et plus de mesures, il serait également envisageable d'identifier les constantes de vitesse par

identification paramétrique (minimisation de la somme des carrés des écarts entre mesures et prédictions).

Il a été montré que la qualité de prédiction du modèle reposait beaucoup sur la justesse des paramètres cinétiques. Ceci a confirmé le besoin de disposer des données fiables quant aux constantes de vitesse des réactions d'oxydation considérées dans le schéma réactionnel et nous a amené à **étudier les potentialités de la spectroscopie de Résonance Paramagnétique Electronique** pour suivre les radicaux lipidiques, intermédiaires clés des réactions d'oxydation. Cette technique nous a permis d'estimer la constante de vitesse de la réaction de décomposition des hydroperoxydes avec une valeur déterminée qui se trouve dans les bornes fixées à partir de la littérature. La même démarche serait intéressante à appliquer dans le but de déterminer des constantes cinétiques apparentes pour d'autres réactions d'oxydation. L'utilisation de cette technique semble être intéressante dans un but cognitif également, notamment avec la méthode de spin trapping et de couplage de la RPE avec des techniques chromatographiques et spectrométriques de façon à identifier et quantifier les radicaux lipidiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ACHIR, N., KARA, W., CHIPEAUX, C., TREZZANI, I. & CUVELIER, M. E. Effect of energy transfer conditions on the chemical degradation of frying oil. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2006, **108**(12), p. 999-1006.

ACOTT, B. & BECKWITH, A. Reactions of alkoxy radicals. IV. Intramolecular hydrogen-atom transfer in the presence of cupric ion: A novel directive effect. *J Australian Journal of Chemistry.* 1964, **17**(12), p. 1342-1353.

ANDERSEN, M. L. & SKIBSTED, L. H. Electron Spin Resonance Spin Trapping Identification of Radicals Formed during Aerobic Forced Aging of Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 1998, **46**(4), p. 1272-1275.

ANDERSEN, M. L. & SKIBSTED, L. H. Detection of early events in lipid oxidation by electron spin resonance spectroscopy. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2002, **104**(1), p. 65-68.

ANDERSEN, M. L. & SKIBSTED, L. H. Lipid Oxidation, Antioxidants, and Spin Trapping. In *Antioxidant Measurement and Applications.* 2007. American Chemical Society pp. 106-117.

ANDERSEN, M. L., VELASCO, J. & SKIBSTED L.H Analysis of Lipid Oxidation by ESR Spectroscopy. In *Analysis of Lipid Oxidation.* Ed A. K.-E. J. Pokorny, 2005. AOCS Press pp. 127-151.

ANDERSEN MOGENS, L. & SKIBSTED LEIF, H. Lipid Oxidation, Antioxidants, and Spin Trapping. In *Antioxidant Measurement and Applications.* 2007. American Chemical Society pp. 106-117.

ANTUNES, F., SALVADOR, A., MARINHO, H. S., ALVES, R. & PINTO, R. E. Lipid peroxidation in mitochondrial inner membranes. I. An integrative kinetic model. *Free Radical Biology and Medicine.* 1996, **21**(7), p. 917-943.

BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K. & SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* 2006, **99**(1), p. 191-203.

BARCLAY, L. R. C. & VINQVIST, M. R. Do spin traps also act as classical chain-breaking antioxidants? a quantitative kinetic study of phenyl tert-butylnitrone (PBN) in solution and in liposomes. *Free Radical Biology and Medicine.* 2000, **28**(7), p. 1079-1090.

BARRERA-ARELLANO, D., RUIZ-MÉNDEZ, V., VELASCO, J., MÁRQUEZ-RUIZ, G. & DOBARGANES, C. Loss of tocopherols and formation of degradation compounds at frying temperatures in oils differing in degree of unsaturation and natural antioxidant content. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2002, **82**(14), p. 1696-1702.

BECKWITH, A. L. J., BOWRY, V. W. & INGOLD, K. U. Kinetics of nitroxide radical trapping. 1. Solvent effects. *Journal of the American Chemical Society.* 1992, **114**(13), p. 4983-4992.

BELITZ, H.-D., GROSCH, W. & SCHIEBERLE, P. Lipids. In *Food Chemistry.* Ed Springer, 2009. Berlin Heidelberg: pp. 158-245.

BENSASSON, R. V., LAND, E. J. & TRUSCOTT T.G. *Excited States and Free Radicals in Biology and Medicine. Contributions from Flash Photolysis and Pulse Radiolysis*. 1993. Oxford University Press p. 442.

BERSET, C. Antioxydants phénoliques. Structure, propriétés, sources végétales. In *Les polyphénols en agroalimentaire.* Ed T. a. Doc., 2006. Lavoisier pp. 265-294.

BERSET, C. & CUVELIER, M. E. Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxydant. In *Sciences des aliments.* Ed Lavoisier, 1996. Paris, FRANCE: pp. 219-245.

BORS, W., ERBEN-RUSS, M. & SARAN, M. Fatty acid peroxyl radicals: Their generation and reactivities. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics.* 1987, **18**(1-3), p. 37-49.

BOSKOU, D. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science Technology.* 2006, **17**(9), p. 505-512.

BOWRY, V. W. & INGOLD, K. U. Kinetics of nitroxide radical trapping. 2. Structural effects. *Journal of the American Chemical Society.* 1992, **114**(13), p. 4992-4996.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E. & BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology.* 1995, **28**(1), p. 25-30.

BURTON, G. W. & INGOLD, K. U. Autoxidation of biological molecules. 1. Antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro. *Journal of the American Chemical Society.* 1981, **103**(21), p. 6472-6477.

CAI, R. & ARNTFIELD, S. A rapid high-performance liquid chromatographic method for the determination of sinapine and sinapic acid in canola seed and meal. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 2001, **78**(9), p. 903-910.

CALLIGARIS, S., MANZOCCO, L., CONTE, L. S. & NICOLI, M. C. Application of a Modified Arrhenius Equation for the Evaluation of Oxidation Rate of Sunflower Oil at Subzero Temperatures. *Journal of Food Science.* 2004, **69**(8), p. E361-E366.

CALLIGARIS, S., MANZOCCO, L. & NICOLI, M. C. Modelling the temperature dependence of oxidation rate in water-in-oil emulsions stored at sub-zero temperatures. *Food Chemistry.* 2007, **101**(3), p. 1019-1024.

CALLIGARIS, S., SOVRANO, S., MANZOCCO, L. & NICOLI, M. C. Influence of Crystallization on the Oxidative Stability of Extra Virgin Olive Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2005, **54**(2), p. 529-535.

CARLSEN, C., ANDERSEN, M. & SKIBSTED, L. Oxidative stability of processed pork. Assay based on ESR-detection of radicals. *European Food Research and Technology.* 2001, **213**(3), p. 170-173.

CARLSEN, C., RASMUSSEN, K., KJELDSEN, K., WESTERGAARD, P. & SKIBSTED, L. Pro- and antioxidative activity of protein fractions from pork (longissimus dorsi). *European Food Research and Technology.* 2003, **217**(3), p. 195-200.

CHAMPION, D., BLOND, G. & SIMATOS, D. Reaction rates at subzero-temperatures in frozen sucrose solutions: a diffusion-controlled reaction. *CryoLetters.* 1997, **18**(4), p. 10.

CHAN, H., PRESCOTT, F. & SWOBODA, P. Thermal decomposition of individual positional isomers of methyl linoleate hydroperoxide: Evidence of carbon-oxygen bond scission. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1976, **53**(9), p. 572-576.

CHAN, H. W. S., COXON, D. T., PEERS, K. E. & PRICE, K. R. Oxidative reactions of unsaturated lipids. *Food Chemistry.* 1982, **9**(1-2), p. 21-34.

CHAN, H. W. S., MATTHEW, J. A. & COXON, D. T. A hydroperoxy-epidioxide from the autoxidation of a hydroperoxide of methyl linolenate. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications.* 1980, (5), p. 235-236.

CHIBA, T. & KANEDA, T. *ESR spectra of peroxy radicals derived from unsaturated esters*. 1984. Tokyo, JAPON: Agricultural Chemical Society of Japan

CHOE, E. & MIN, D. B. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2006, **5**(4), p. 169-186.

CHOE, E. & MIN, D. B. Chemistry of Deep-Fat Frying Oils. *Journal of Food Science.* 2007, **72**(5), p. 77-86.

CHOE, E. & MIN, D. B. Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2009, **8**(4), p. 345-358.

CILLARD, J., CILLARD, P., CORMIER, M. & GIRRE, L. Alpha-Tocopherol prooxidant effect in aqueous media: Increased autoxidation rate of linoleic acid. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1980, **57**(8), p. 252-255.

CORONGIU, F. P., BANNI, S. & LESTER, P. Detection of conjugated dienes by second derivative ultraviolet spectrophotometry. In *Methods in Enzymology.* 1994. Academic Press pp. 303-310.

COS, P., YING, L., CALOMME, M., HU, J. P., CIMANGA, K., VAN POEL, B., PIETERS, L., VLIETINCK, A. J. & BERGHE, D. V. Structure-Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. *Journal of Natural Products.* 1998, **61**(1), p. 71-76.

CROGUENNEC, T. Oxydation des lipides. In *Science des aliments.* Ed Tec&Doc, 2006. Jeantet R., Croguenec T., Schuck P. et Brulé G. pp. 95-120.

CSALLANY, A., CHIU, M. & DRAPER, H. Oxidation products of alpha-tocopherol formed in autoxidizing methyl linoleate. *Lipids.* 1970, **5**(1), p. 63-70.

CUVELIER, M. E., RICHARD, H. & BERSET, C. Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols : structure-activity relationship. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry.* 1992, **56**(2), p. 324-325.

DANGLES, O. Propriétés chimiques des polyphénols. In *Polyphénols en agroalimentaire.* Ed Tec&Doc, 2006. Paris: Lavoisier pp. 29-54.

DANGLES, O. & DUFOUR, C. Flavonoid-protein binding processes and their potential impact on human health. In *Recent Advances in Polyphenol Research.* 2008. Wiley-Blackwell p. 416.

DE LOURDES REIS GIADA, M. Antioxidant capacity of the striped sunflower seed (Helianthus annuus L.) aqueous extract. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2008, **110**(3), p. 284-290.

DENISOV, E. Free radical addition: factors determining the activation energy. *Russian Chemical Reviews.* 2000, **69**(2), p. 153-164.

DIEFFENBACHER, A. & MARTIN, E. Determination of emulsifiers in foods: separation of polar and nonpolar lipids by chromatography on silica-gel microcolumns. *Rev. Fr. Corps Gras.* 1987, **34**, p. 323-328

DIX, T. A. & MARNETT, L. J. Free radical epoxidation of 7,8-dihydroxy-7,8-dihydrobenzo-alpha-pyrene by hematin and polyunsaturated fatty acid hydroperoxides. *Journal of the American Chemical Society.* 1981, **103**(22), p. 6744-6746.

DOLESCHALL, F., KEMÉNY, Z., RECSEG, K. & KŐVÁRI, K. A new analytical method to monitor lipid peroxidation during bleaching. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2002, **104**(1), p. 14-18.

DUFOUR, C. & LOONIS, M. Flavonoids and their oxidation products protect efficiently albumin-bound linoleic acid in a model of plasma oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2007, **1770**(6), p. 958-965.

DZIEDZIC, S. Z. & HUDSON, B. J. F. Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry.* 1984, **14**(1), p. 45-51.

EATON, G., EATON, S., BARR, D. P. & WEBER, T. *Quantitative EPR*. Ed SpringerWienNewYork, 2010. New York: p. 185.

ENDO, Y., HOSHIZAKI, S. & FUJIMOTO, K. Oxidation of synthetic triacylglycerols containing eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids: Effect of oxidation system and triacylglycerol structure. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1997, **74**(9), p. 1041-1045.

EVANS, C., SCAIANO, J. C. & INGOLD, K. U. Absolute kinetics of hydrogen abstraction from .alpha.-tocopherol by several reactive species including an alkyl radical. *Journal of the American Chemical Society.* 1992, **114**(12), p. 4589-4593.

FALCH, E., VELASCO, J., AURSAND, M. & ANDERSEN, M. Detection of radical development by ESR spectroscopy techniques for assessment of oxidative susceptibility of fish oils. *European Food Research and Technology.* 2005, **221**(5), p. 667-674.

FARHOOSH, R. & ESMAEILZADEH KENARI, R. Anti-Rancidity Effects of Sesame and Rice Bran Oils on Canola Oil During Deep Frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 2009, **86**(6), p. 539-544.

FARMER, E. H. Peroxidation in relation to olefinic structure. *Transactions of the Faraday Society.* 1946, **42**, p. 228-236.

FENNEMA, O. Freezing preservation. In *Physical principles of food preservation.* Ed FennemaO, 1996. New York: Marcel Dekker Inc pp. 173-215.

FRANKEL, E. Lipid oxidation: Mechanisms, products and biological significance. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1984, **61**(12), p. 1908-1917.

FRANKEL, E. N. Review. Recent advances in lipid oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 1991, **54**(4), p. 495-511.

FRANKEL, E. N. *Lipid Oxidation. First edition*. Ed E.N.Frankel, 1998. Dundee (UK): The Oily Press p. 303.

FRANKEL, E. N. *Lipid Oxidation, Second edition*. 2005. Bridgwater, England: The Oily Press p. 486.

FRANKEL, E. N. & BESSLER, T. Analysis of autoxidized fats by gas chromatography-mass spectrometry: V. Photosensitized oxidation. *Lipids.* 1979, **14**(12), p. 961-967.

FRANKEL, E. N., NEFF, W. E., ROHWEDDER, W. K., KHAMBAY, B. P. S., GARWOOD, R. F. & WEEDON, B. C. L. Analysis of autoxidized fats by gas chromatography-mass spectrometry: I. Methyl oleate. *Lipids.* 1977, **12**(11), p. 901-907.

FUSTER, M., LAMPI, A.-M., HOPIA, A. & KAMAL-ELDIN, A. Effects of alpha- and gamma-tocopherols on the autooxidation of purified sunflower triacylglycerols. *Lipids.* 1998, **33**(7), p. 715-722.

GARCIA, A., BRENES, M., GARCIA, P., ROMERO, C. & GARRIDO, A. Phenolic content of commercial olive oils. *European Food Research and Technology.* 2003, **216**(6), p. 520-525.

GARDNER, H., ESKINS, K., GRAMS, G. & INGLETT, G. Radical addition of linoleic hydroperoxides to Î±-tocopherol or the analogous hydroxychroman. *Lipids.* 1972, **7**(5), p. 324-334.

GATELLIER, P., MERCIER, Y., ROCK, E. & RENERRE, M. Influence of Dietary Fat and Vitamin E Supplementation on Free Radical Production and on Lipid and Protein Oxidation in Turkey Muscle Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2000, **48**(5), p. 1427-1433.

GEBICKI, J. M. & BIELSKI, B. H. J. Comparison of the capacities of the perhydroxyl and the superoxide radicals to initiate chain oxidation of linoleic acid. *Journal of the American Chemical Society.* 1981, **103**(23), p. 7020-7022.

GORDON, M. H. The mechanism of antioxidant action in vitro. In *Food Antioxidants.* Ed B. J. F. Hudson, 1990. London: Elsevier Applied Science pp. 1-8.

GOUPY, P., DUFOUR, C., LOONIS, M. & DANGLES, O. Quantitative Kinetic Analysis of Hydrogen Transfer Reactions from Dietary Polyphenols to the DPPH Radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2002, **51**(3), p. 615-622.

GRANDGIRARD, A. *Transformations des lipides au cours des traitements thermiques. Effets nutritionnels et toxicologiques*. 1992. Paris, FRANCE: Ecole nationale supérieure de biologie appliquée à la nutrition et à l'alimentation p. 319.

GRATTARD, N., SALAÜN, F., CHAMPION, D., ROUDAUT, G. & LEMESTE, M. Influence of Physical State and Molecular Mobility of Freeze-Dried Maltodextrin Matrices on the Oxidation Rate of Encapsulated Lipids. *Journal of Food Science.* 2002, **67**(8), p. 3002-3010.

GRAY, J. Measurement of lipid oxidation: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1978, **55**(6), p. 539-546.

GROSCH, W. Reactions of hydroperoxides - Products of low molecular weight. In *Autoxidation of unsaturated lipids. Chan H.W.S.* Ed F. S. Technology, 1987. pp. 95-139.

GUILLAN, M. A. D. & CABO, N. Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry.* 2002, **77**(4), p. 503-510.

GUNSTONE, F. *The Chemistry of Oils and Fats: Sources, Composition, Properties and Uses*. Ed Blackwell Publishing, 2004. Oxford (UK): Wiley-Blackwell p. 304.

GUNSTONE, F. *Oils and fats in the food industry. Food Industry Briefing Series*. Ed Wiley-Blackwell, 2007. Blackwell Publishing pp. 71-87.

HAMILTON, R., KALU, C., MCNEILL, G., PADLEY, F. & PIERCE, J. Effects of tocopherols, ascorbyl palmitate, and lecithin on autoxidation of fish oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1998, **75**(7), p. 813-822.

HIATT, R. R., IRWIN, K. C. & GOULD, C. W. Homolytic decompositions of hydroperoxides. IV. Metal-catalyzed decompositions. *The Journal of Organic Chemistry.* 1968, **33**(4), p. 1430-1435.

HIDEO, I. High-performance liquid chromatographic determination of linoleic acid peroxide-derived radicals using electrochemical detection. *Journal of Chromatography A.* 2000, **904**(2), p. 197-202.

HOANG, M. L., VERBOVEN, P., BAELMANS, M. & NICOLAÄ±Ì^, B. M. Sensitivity of temperature and weight loss in the bulk of chicory roots with respect to process and product parameters. *Journal of Food Engineering.* 2004, **62**(3), p. 233-243.

HOLMAN, R. & ELMER, O. The rates of oxidation of unsaturated fatty acids and esters. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1947, **24**(4), p. 127-129.

HOWARD, J. A. & INGOLD, K. U. Absolute rate constants for hydrocarbon autoxidation. VI. Alkyl aromatic and olefinic hydrocarbons. *Canadian Journal of Chemistry.* 1967, **45**(8), p. 793-802.

HSIEH, R. J., KINSELLA, J. E. & JOHN, E. K. Oxidation of Polyunsaturated Fatty Acids: Mechanisms, Products, and Inhibition with Emphasis on Fish. In *Advances in Food and Nutrition Research.* 1989. Academic Press pp. 233-341.

HUANG, J. & SATHIVEL, S. Thermal and rheological properties and the effects of temperature on the viscosity and oxidation rate of unpurified salmon oil. *Journal of Food Engineering.* 2008, **89**(2), p. 105-111.

HUANG, S.-W., FRANKEL, E. N. & GERMAN, J. B. Effects of Individual Tocopherols and Tocopherol Mixtures on the Oxidative Stability of Corn Oil Triglycerides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 1995, **43**(9), p. 2345-2350.

INATANI, R., NAKATANI, N. & FUWA, H. Antioxidative effect of the constituents of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) and their derivatives. *Agricultural and biological chemistry.* 1983, **47**(3), p. 521-528.

INCROPERA, F., DEWITT, D., BERGMAN, T. & LAVINE, A. *Fundamentals of heat and mass transfer. Sixth edition*. 2005. United Stated of America: JohnWiley & Sons p. 997.

INGOLD, K. U. Peroxy radicals. *Accounts of Chemical Research.* 1969, **2**(1), p. 1-9.

IWAHASHI, H. Identification of the Several New Radicals Formed in the Reaction Mixture of Oxidized Linoleic Acid with Ferrous Ions using HPLC-ESR and HPLC-ESR-MS. *Free Radical Research.* 2003, **37**(9), p. 939-945.

JANZEN, E. G., KOTAKE, Y. & RANDALL D, H. Stabilities of hydroxyl radical spin adducts of PBN-type spin traps. *Free Radical Biology and Medicine.* 1992, **12**(2), p. 169-173.

JANZEN, E. G., TOWNER, R. A., KRYGSMAN, P. H., HAIRE, D. L. & POYER, J. L. Structure Identification of Free Radicals by Esr And Gc/Ms of Pbn Spin Adducts From the In Vitro and in vivo Rat Liver Metabolism Of Halothane. *Free Radical Research.* 1990, **9**(3-6), p. 343-351.

JEAN-DENIS, J. B., BERSET, C. & CUVELIER, M. E. Etude de la détérioration d'une huile de friture et de sa protection par les composés phénoliques du romarin. *Mémoire de stage.* 2001, p. 19.

JEANTET, R., CROGUENNEC, T., SCHUCK, P. & GÉRARD, B. *Science des aliments. Tome 2. Technologie des produits alimentaires*. Ed Tec&Doc, 2006. p. 456.

JUNG, M. Y. & MIN, D. B. Effects of oxidized alpha-, gamma- and delta-tocopherols on the oxidative stability of purified soybean oil. *Food Chemistry.* 1992, **45**(3), p. 183-187.

KAMAL-ELDIN, A. *Lipid Oxidation Pathways*. Ed A. Press, 2003. Champaign, Illinois: p. 315.

KAMAL-ELDIN, A. & APPELQVIST, L. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* 1996, **31**(7), p. 671-701.

KANAVOURAS, A., CERT, A. & HERNANDEZ, R., J. Oxidation of olive oil under still air. *Food Science and Technology International.* 2005, **11**(3), p. 183-189

KERR, J. A. Bond Dissociation Energies by Kinetic Methods. *Chemical Reviews.* 1966, **66**(5), p. 465-500.

KIM, H. J. & MIN, D. B. Tocopherol stability and prooxidant mechanisms of oxidized tocopherols in lipids. In *Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology.* Ed C. Press, 2008. pp. 435-447.

KLEIN, R., A., The detection of oxidation in liposome preparations. *Biochemistry and Biophysic Acta.* 1970, **210**, p. 486-489.

KOCHHAR, S., P., & ROSSEL, J., B., Detection, estimation ans evaluation of antioxidants in foods systems. In *Food Antioxidants.* Ed B. J. F. Hudson, 1990. London: Elsevier Applied Science pp. 19-65.

KOSHIISHI, I., TSUCHIDA, K., TAKAJO, T. & KOMATSU, M. Radical scavenger can scavenge lipid allyl radicals complexed with lipoxygenase at lower oxygen content. *Biochem. Journal.* 2006, **395**(2), p. 303-309.

KRISTENSEN, D. & SKIBSTED, L. H. Comparison of Three Methods Based on Electron Spin Resonance Spectrometry for Evaluation of Oxidative Stability of Processed Cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 1999, **47**(8), p. 3099-3104.

KULAS, E. & ACKMAN, R. G. Different Tocopherols and the Relationship between Two Methods for Determination of Primary Oxidation Products in Fish Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2001, **49**(4), p. 1724-1729.

LABUZA, T. P. & DUGAN, L. R. Kinetics of lipid oxidation in foods. *C R C Critical Reviews in Food Technology.* 1971, **2**(3), p. 355-405.

LABUZA, T. P. & RIBOH, D. Theory and application of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in foods. *Food Technology.* 1982, **10**, p. 66-74.

LABUZA, T. P. & SCHMIDL, M. K. Accelerated shelf life testing. *Food Technology.* 1985, **39**(134), p. 57-62.

LADIKOS, D. & LOUGOVOIS, V. Lipid oxidation in muscle foods: A review. *Food Chemistry.* 1990, **35**(4), p. 295-314.

LARDINOIS, O. M., MALTBY, D. A., MEDZIHRADSZKY, K. F., DE MONTELLANO, P. R. O., TOMER, K. B., MASON, R. P. & DETERDING, L. J. Spin Scavenging Analysis of Myoglobin Protein-Centered Radicals Using Stable Nitroxide Radicals: Characterization of Oxoammonium Cation-Induced Modifications. *Chemical Research in Toxicology.* 2009, **22**(6), p. 1034-1049.

LEENHARDT, F., LYAN, B., ROCK, E., BOUSSARD, A., POTUS, J., CHANLIAUD, E. & REMESY, C. Wheat Lipoxygenase Activity Induces Greater Loss of Carotenoids than Vitamin E during Breadmaking. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2006, **54**(5), p. 1710-1715.

LETHUAUT, L., METRO, F. & GENOT, C. Effect of droplet size on lipid oxidation rates of oil-in-water emulsions stabilized by protein. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 2002, **79**(5), p. 425-430.

LI, A., CUMMINGS, K. & ROETLING, P. A spin-trapping database implemented on a IBM PC/AT. *Journal of Magnetic Resonance.* 1988, **79**, p. 140-142.

LI, L., SHOU, Y., BOROWITZ, J. L. & ISOM, G. E. Reactive Oxygen Species Mediate Pyridostigmine-Induced Neuronal Apoptosis: Involvement of Muscarinic and NMDA Receptors. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2001, **177**(1), p. 17-25.

LIST, G., EVANS, C., WARNER, K., BEAL, R., KWOLEK, W., BLACK, L. & MOULTON, K. Quality of oil from damaged soybeans. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1977, **54**(1), p. 8-14.

LUND, A., SHIOTANI, M., SHIMADA, S., LUND, A., SHIOTANI, M. & SHIMADA, S. Principles of ESR. Principles and Applications of ESR Spectroscopy. 2011. Springer Netherlands pp. 3-28.

MACHEIX, J. J., FLEURIET, A. & BILLOT, J. The main phenolics of fruits. In *Fruit Phenolics.* Ed B. Raton, 1990. CRC Press pp. 1-103.

MACHEIX, J. J., FLEURIET, A. & SARNI-MANCHADO, P. Composés phénoliques dans la plante - Structure, biosynthèse, répartition et rôles. In *Les polyphénols en agroalimentaire.* Ed Tec&Doc, 2006. Paris: Lavoisier pp. 1-29.

MAILLARD, M.-N. *Contribution à l'amélioration de la stabilité organoleptique de la bière : suivi du comportement de quelques antioxydants endogènes de l'orge et du malt*. 148 p. Thèse Science des Aliments. ENSIA, Massy: 1996.

MAKINEN, E., M., & HOPIA, A., I., Effects of alpha-tocopherol and ascorbyl palmitate on the isomerization and decomposition of methyl linoleate hydroperoxides. *Lipids.* 2000, **31**(11), p. 1215-1223.

MARMESAT, S, VELASCO, J, MARQUEZ, R., G, DOBARGANES & M, C. *A rapid method for determination of polar compounds in used frying fats and oils*. 2007. Sevilla, ESPAGNE: Consejo Superior de Investigaciones. Instituto de la Grasa p. 6.

MARMESAT, S., MORALES, A., VELASCO, J., RUIZ, M. M., V. & DOBARGANES, M., C. *Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation*. 2009. Sevilla, ESPAGNE: Consejo Superior de Investigaciones, Instituto de la Grasa p. 6.

MARTIN-POLVILLO, M., MARQUEZ-RUIZ, G. & DOBARGANES, M. Oxidative stability of sunflower oils differing in unsaturation degree during long-term storage at room temperature. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 2004, **81**(6), p. 577-583.

MARTIN, A. & PASCAL, G. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Ed Tec&Doc, 2001. Paris, France: p. 605.

MIN, D. B. & BOFF, J. M. Chemistry and Reaction of Singlet Oxygen in Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2002, **1**(2), p. 58-72.

MIYASHITA, K., FUJIMOTO, K. & KANEDA, T. Formation of Dimers during the Initial Stage of Autoxidation in Methyl Linoleate. *Agricultural and biological chemistry.* 1982, **46**(3), p. 751-755.

MUKAI, K. & OKAUCHI, Y. Kinetic study of the reaction between tocopheroxyl radical and unsaturated fatty acid esters in benzene. *Lipids.* 1989, **24**(11), p. 936-939.

NAWAR, W. W. Thermal degradation of lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 1969, **17**(1), p. 18-21.

NEFF, W., FRANKEL, E. & FUJIMOTO, K. Autoxidative dimerization of methyl linolenate and its monohydroperoxides, hydroperoxy epidioxides and dihydroperoxides. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1988, **65**(4), p. 616-623.

OKUDA, S., MCCLEMENTS, D. J. & DECKER, E. A. Impact of Lipid Physical State on the Oxidation of Methyl Linolenate in Oil-in-Water Emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2005, **53**(24), p. 9624-9628.

ONDRIAS, K, MISIK, V, STASKO, A, GERGEL, D, HROMADOVA & M *Comparison of antioxidant properties of nifedipine and illuminated nifedipine with nitroso spin traps in low density lipoproteins and phosphatidylcholine liposomes*. 1994. Amsterdam, PAYS-BAS: Elsevier

ORLIEN, V., RISBO, J., RANTANEN, H. & SKIBSTED, L. H. Temperature-dependence of rate of oxidation of rapeseed oil encapsulated in a glassy food matrix. *Food Chemistry.* 2006, **94**(1), p. 37-46.

ORTHOEFER, F. T. & LIST, G. R. Evaluation of used frying oil. In *Deep Frying. Chemistry, nutrition and practical applications.* Ed Erickson, 2007. AOCS Press pp. 329-342.

ÖZILGEN, S. & ÖZILGEN, M. Kinetic Model of Lipid Oxidation in Foods. *Journal of Food Science.* 1990, **55**(2), p. 498-498.

PAPADIMITRIOU, V., SOTIROUDIS, T. G., XENAKIS, A., SOFIKITI, N., STAVYIANNOUDAKI, V. & CHANIOTAKIS, N. A. Oxidative stability and radical scavenging activity of extra virgin olive oils: An electron paramagnetic resonance spectroscopy study. *Analytica Chimica Acta.* 2006, **573-574**, p. 453-458.

PARKER, R. & RING, S., G., A theoretical analysis of diffusion-controlled reactions in frozen solution. *Cryo-Letters.* 1995, **16**, p. 197-208.

PARKER, T. D., ADAMS, D. A., ZHOU, K., HARRIS, M. & YU, L. Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Cold-pressed Edible Seed Oils. *Journal of Food Science.* 2003, **68**(4), p. 1240-1243.

PASCAL, G. Les apports quotidiens recommandés en lipides et en acides gras : Lipides et santé. Ed Libbey-Eurotext, 1996. Montrouge, FRANCE:

PEDROSA, M. M., MUZQUIZ, M., GARCIA-VALLEJO, C., BURBANO, C., CUADRADO, C., AYET, G. & ROBREDO, L. Determination of caffeic and chlorogenic acids and their derivatives in different sunflower seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2000, **80**(4), p. 459-464.

PEKKARIEN, S. S., HEINONEN, I. M. & HOPIA, A. I. Flavonoids quercetin, myricetin, kaempferol and (+)-catechin as antioxidants in methyl linoleate. *J. Sci. Food Agric.* 1999, **79**(4), p. 499-506.

PELILO, M. *Estratti vegetali: caratterizzacione e quantificazione della frazione fenolica e polifenolica, valutazione del potere antioxidante e possibili aplicacion tecnologiche*. 230 p. Thèse en collaboration avec l'université de Bologne.: 2003.

PÉNICAUD, C. *Etude et modélisation du couplage entre le transfert d'oxygène et les réactions d'oxydation dans les aliments au cours de leur conservation*. 258 p. Thèse - sciences des procédés- science des aliments. UMR IATE Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes. Université Montpellier 2, Montpellier: 2009.

PÉNICAUD, C., BROYART, B., PEYRON, S., GONTARD, N. & GUILLARD, V. Mechanistic model to couple oxygen transfer with ascorbic acid oxidation kinetics in model solid food. *Journal of Food Engineering.* 2010, **104**(1), p. 96-104.

PEYRAT-MAILLARD, M., CUVELIER, M. & BERSET, C. Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: Synergistic and antagonistic effects. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 2003, **80**(10), p. 1007-1012.

POKORNY, J. Major Factors affecting the autoxidation of lipids. In *Autoxidation of Unsaturated Lipids.* Ed A. Press, 1987. London: Food Sci. Tech. pp. 141-206.

POKORNY, J. Problème de stabilité des produits alimentaires liés à la présence des lipides. In *Lipides et corps gras alimentaires.* Ed Tec&Doc, 2003. Paris: Lavoisier pp. 147-187.

POLOVKA, M., BREZOVA, V. & STAGKO, A. Antioxidant properties of tea investigated by EPR spectroscopy. *Biophysical Chemistry.* 2003a, **106**(1), p. 39-56.

POLOVKA, M., BREZOVA, V. & STASKO, A. Antioxidant properties of tea investigated by EPR spectroscopy. *Biophysical Chemistry.* 2003b, **106**(1), p. 39-56.

PORTER, N., CALDWELL, S. & MILLS, K. Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids. *Lipids.* 1995, **30**(4), p. 277-290.

PORTER, N. A. Mechanisms for the autoxidation of polyunsaturated lipids. *Accounts of Chemical Research.* 1986, **19**(9), p. 262-268.

PORTER, N. A., LEHMAN, L. S., WEBER, B. A. & SMITH, K. J. Unified mechanism for polyunsaturated fatty acid autoxidation. Competition of peroxy radical hydrogen atom abstraction, beta-scission, and cyclization. *Journal of the American Chemical Society.* 1981, **103**(21), p. 6447-6455.

PORTER, N. A. & WUJEK, D. G. Autoxidation of polyunsaturated fatty acids, an expanded mechanistic study. *Journal of the American Chemical Society.* 1984, **106**(9), p. 2626-2629.

QIAN, S. Y., TOMER, K. B., YUE, G.-H., GUO, Q., KADIISKA, M. B. & MASON, R. P. Characterization of the initial carbon-centered pentadienyl radical and subsequent radicals in lipid peroxidation: identification via on-line high performance liquid chromatography/electron spin resonance and mass spectrometry. *Free Radical Biology and Medicine.* 2002, **33**(7), p. 998-1009.

RAHMAN, M. S., AL-BELUSHI, R. M., GUIZANI, N., AL-SAIDI, G. S. & SOUSSI, B. Fat oxidation in freeze-dried grouper during storage at different temperatures and moisture contents. *Food Chemistry.* 2009, **114**(4), p. 1257-1264.

RAMLI, F. *Valorisation des antioxydants du colza, du soja et du tournesol dans le but de protéger les acides gras polyinsaturés des huiles correspondantes au cours de la conservation et de la friture profonde*. 344 p. Thèse des sciences alimentaires. AgroParisTech, UMR 1145 GENIAL. Massy: 2010.

REINTON, R. & ROGSTAD, A. Antioxidant Activity of Tocopherols and Ascorbic Acid. *Journal of Food Science.* 1981, **46**(3), p. 970-971.

RIEGER, P. H. *Electron spin resonance:analysis and interpretation*. 2007. Cambrige, UK: The Royal Society of Chemistry p. 539.

ROHN, S. & KROH, L. W. Electron spin resonance – A spectroscopic method for determining the antioxidative activity. *Molecular Nutrition & Food Research.* 2005, **49**(10), p. 898-907.

SCHAICH, K. Metals and lipid oxidation. Contemporary issues. *Lipids.* 1992, **27**(3), p. 209-218.

SCHAICH, K. M. Lipid Oxidation: Theoretical Aspects. In *Bailey's Industrial Oil and Fat Products.* 2005. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. pp. 269-355.

SCHMIDT, S. & POKORNY, J. Potential application of oilseeds as sources of antioxidants for food lipids : A review. *Czech journal of food sciences.* 2005, **23**(3), p. 10.

SEPPANEN, C., SONG, Q. & SAARI CSALLANY, A. The Antioxidant Functions of Tocopherol and Tocotrienol Homologues in Oils, Fats, and Food Systems. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 2010, **87**(5), p. 469-481.

SIMIC, M. G., SLOBODAN, J. V. & ETSUO, N. Mechanisms of Lipid Oxidative Processes and Their Inhibition. In *Lipid Oxidation in Food.* 1992. American Chemical Society pp. 14-32.

STAGKO, A., LIPTIKOVA, M., MAIK, F. & MIAIK, V. Free radical scavenging activities of white and red wines: An EPR spin trapping study. *Applied Magnetic Resonance.* 2002, **22**(1), p. 101-113.

STAGKO, A., POLOVKA, M., BREZOVA, V., BISKUPIA , S. & MALAIK, F. Tokay wines as scavengers of free radicals (an EPR study). *Food Chemistry.* 2006, **96**(2), p. 185-196.

STAN, K. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. *Free Radical Biology and Medicine.* 1992, **12**(1), p. 63-81.

STAPELFELDT, H, NIELSEN, K, N., JENSEN, S, K., SKIBSTED & L, H. *Free radical formation in freeze-dried raw milk in relation to its alpha-tocopherol level*. 1999. Cambridge, Royaume-Uni: Cambridge University Press

STIER, R., F., The measurement of frying oil quality and authenticity. In *Frying. Improving quality.* Ed J. B. Rossel, 2001. Boca Raton: Woodhead Publishing Ltd pp. 165-190.

TAKAJO, T., TSUCHIDA, K., YOKOTA, A. & KOSHIISHI, I. Trapping of fatty acid allyl radicals generated in lipoxygenase reactions in biological fluids by nitroxyl radical. *Biomedical Chromatography.* 2010, **24**(7), p. 794-797.

TAN, C., CHE MAN, Y., SELAMAT, J. & YUSOFF, M. Application of arrhenius kinetics to evaluate oxidative stability in vegetable oils by isothermal differential scanning calorimetry. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 2001, **78**(11), p. 1133-1138.

TAN, C. P. & CHE MAN, Y. B. Differential scanning calorimetric analysis for monitoring the oxidation of heated oils. *Food Chemistry.* 1999, **67**(2), p. 177-184.

TAVADYAN, L., KHACHOYAN, A., MARTOYAN, G. & KAMAL-ELDIN, A. Numerical revelation of the kinetic significance of individual steps in the reaction mechanism of methyl linoleate peroxidation inhibited by alpha-tocopherol. *Chemistry and Physics of Lipids.* 2007, **147**(1), p. 30-45.

TAZI, S., PLANTEVIN, F., FALCO, C. D., PUIGSERVER, A. & AJANDOUZ, E. H. Effects of light, temperature and water activity on the kinetics of lipoxidation in almond-based products. *Food Chemistry.* 2009, **115**(3), p. 958-964.

THOMSEN, M., KRISTENSEN, D. & SKIBSTED, L. Electron spin resonance spectroscopy for determination of the oxidative stability of food lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 2000a, **77**(7), p. 725-730.

THOMSEN, M. K., JACOBSEN, C. & SKIBSTED, L. H. Mechanism of initiation of oxidation in mayonnaise enriched with fish oil as studied by electron spin resonance spectroscopy. *European Food Research and Technology.* 2000b, **211**(6), p. 381-386.

THOMSEN, M. K., LAURIDSEN, L., SKIBSTED, L. H. & RISBO, J. Two Types of Radicals in Whole Milk Powder. Effect of Lactose Crystallization, Lipid Oxidation, and Browning Reactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2005, **53**(5), p. 1805-1811.

THOMSEN, M. K., VEDSTESEN, H. & SKIBSTED, L. H. Quantification of radical formation in oil-in-water food emulsion by Electron Spin Resonance Spectroscopy. *Journal of Food Lipids.* 1999, **6**(2), p. 149-158.

TIMMS, R. E. & ROUPAS, P. The application of chemiluminescence to the study of the oxidation of oils and fats. *Food Science and Technology.* 1982, **15**(6), p. 372-377.

UCHIDA, M. & ONO, M. Improvement for oxidative flavor stability of beer: role of OH-radical in beer oxidation. *American Society of Brewing Chemists.* 1996, **54**(4), p. 198-204.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Kinetic Modeling of Food Quality: A Critical Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 2008, **7**(1), p. 144-158.

VAN DER MERWE, G. H., DU PLESSIS, L. M. & TAYLOR, J. R. Changes in chemical quality indices during long-term storage of palm-olein oil under heated storage and transport-type conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2004, **84**(1), p. 52-58.

VAN SICKLE, D. E., MAYO, F. R., ARLUCK, R. M. & SYZ, M. G. Oxidations of Acyclic Alkenes. *Journal of the American Chemical Society.* 1967, **89**(4), p. 967-977.

VELASCO, J., ANDERSEN, M. L. & SKIBSTED, L. H. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the Rancimat method and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry.* 2004, **85**(4), p. 623-632.

VELASCO, J., ANDERSEN, M. L. & SKIBSTED, L. H. Electron Spin Resonance Spin Trapping for Analysis of Lipid Oxidation in Oils: Inhibiting Effect of the Spin Trap alpha-Phenyl-N-tert-butylnitrone on Lipid Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2005, **53**(5), p. 1328-1336.

VERLEYEN, T., KAMAL-ELDIN, A., DOBARGANES, C., VERHE, R., DEWETTINCK, K. & HUYGHEBAERT, A. Modeling of alpha-tocopherol loss and oxidation products formed during thermoxidation in triolein and tripalmitin mixtures. *Lipids.* 2001, **36**(7), p. 719-726.

VERLEYEN, T., KAMAL-ELDIN, A., MOZURAITYTE, R., VERHÉ, R., DEWETTINCK, K., HUYGHEBAERT, A. & DE GREYT, W. Oxidation at elevated temperatures: competition between α-tocopherol and unsaturated triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2002, **104**(4), p. 228-233.

VILLIÈRE, A. *Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides dans des émulsions stabilisées par des protéines*. 203 p. Thèse sciences agroalimentaires. Faculté des sciences et des techniques, Nantes. Université de Nantes, Nantes: 2005.

WANASUNDARA, U. N., SHAHIDI, F. & JABLONSKI, C. R. Comparison of standard and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils. *Food Chemistry.* 1995, **52**(3), p. 249-253.

WILCOX, A. L. & MARNETT, L. J. Polyunsaturated fatty acid alkoxyl radicals exist as carbon-centered epoxyallylic radicals: A key step in hydroperoxide-amplified lipid peroxidation. *Chemical Research in Toxicology.* 1993, **6**(4), p. 413-416.

WRIGHT, P. J. & ENGLISH, A. M. Scavenging with TEMPO to Identify Peptide- and Protein-Based Radicals by Mass Spectrometry: Advantages of Spin Scavenging over Spin Trapping. *Journal of the American Chemical Society.* 2003, **125**(28), p. 8655-8665.

WU, G.-S., STEIN, R. & MEAD, J. Autoxidation of fatty acid monolayers adsorbed on silica gel: II. Rates and products. *Lipids.* 1977, **12**(11), p. 971-978.

WWW.ANSES.FR Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Rapport d'expertise collective. 2011, (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.), p. n° 2006-SA-0359, ANC A.

YAMAUCHI, R. Vitamin E: Mechanism of Its Antioxidant Activity. *Food Science and Technology International.* 1997, **3**(4), p. 301-309.

YAMAUCHI, R., KATO, K. & UENO, Y. Formation of trimers of alpha-tocopherol and its model compound, 2,2,5,7,8-pentamethylchroman-6-ol, in autoxidizing methyl linoleate. *Lipids.* 1988, **23**(8), p. 779-783.

YAMAUCHI, R., MIYAKE, N., KATO, K. & UENO, Y. Reaction of alpha-tocopherol with alkyl and alkylperoxyl radicals of methyl linoleate. *Lipids.* 1993, **28**(3), p. 201-206.

YANEZ, J., SEVILLA, C. L., BECKER, D. & SEVILLA, M. D. Low-temperature autoxidation in unsaturated lipids: an electron spin resonance study. *The Journal of Physical Chemistry.* 1987, **91**(2), p. 487-491.

YANISHLIEVA, N. V., KAMAL-ELDIN, A., MARINOVA, E. M. & TONEVA, A. G. Kinetics of antioxidant action of α- and γ-toco-pherols in sunflower and soybean triacylglycerols. *European Journal of Lipid Science and Technology.* 2002, **104**(5), p. 262-270.

YOSHIDA, H., HIROOKA, N. & KAJIMOTO, G. Microwave Heating Effects on Relative Stabilities of Tocopherols in Oils. *Journal of Food Science.* 1991a, **56**(4), p. 1042-1046.

YOSHIDA, H., TATSUMI, M. & KAJIMOTO, G. Relationship between oxidative stability of vitamin E and production of fatty acids in oils during microwave heating. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 1991b, **68**(8), p. 566-570.

YU, Q., SHAN, Z., NI, K. & QIAN, S. Y. LC/ESR/MS study of spin trapped carbon-centred radicals formed from in vitro lipoxygenase-catalysed peroxidation of γ-linolenic acid. *Free Radical Research.* 2008, **42**(5), p. 442-455.

ZHU, J. & SEVILLA, M. D. Kinetic analysis of free-radical reactions in the low-temperature autoxidation of triglycerides. *The Journal of Physical Chemistry.* 1990, **94**(4), p. 1447-1452.

Sites consultés pendant la thèse :

http://www.anses.fr

http://www.cetiom.fr

http://www.optimoils.com

http://www.gnu.org/octave/

http://www.prolea.com

Annexe 1. Résultats des cinétiques d'oxydation enregistrées sur les huiles de colza (HC), tournesol (HT) et tournesol oléique (HTO) en présence ou non d'antioxydants (AH) : α-tocophérol (α-toc) et acide chlorogénique (ACQ) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150°C).

					Marqueurs					
Huile		**Température**	**Répétition**	**Temps (h)**	**DC**	**LOOH**	**α-Toc**	**ACQ**	**2,4-décadiénal**	**Polymères**
HC	sans AH	100	a	0	9,78E-03	1,01E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	100	a	1	1,03E-02	9,02E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	100	a	2	1,09E-02	2,82E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	100	a	3	1,16E-02	4,81E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	a	4	1,26E-02	5,27E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	a	5	1,34E-02	8,73E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	a	6	1,50E-02	1,23E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	b	0	9,83E-03	3,04E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	100	b	1	1,01E-02	9,84E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	100	b	2	1,12E-02	3,15E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	100	b	3	1,16E-02	3,52E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	b	4	1,25E-02	5,79E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	b	5	1,37E-02	9,78E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	b	6	1,50E-02	1,31E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	c	0	9,78E-03	1,20E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	100	c	1	1,02E-02	5,61E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	100	c	2	1,10E-02	2,11E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	100	c	3	1,17E-02	4,83E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	c	4	1,26E-02	6,33E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	c	5	1,34E-02	6,61E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	100	c	6	1,49E-02	1,28E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	120	a	0	9,42E-03	1,01E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	a	1	1,14E-02	4,84E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	a	2	1,34E-02	8,60E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	a	3	1,35E-02	1,12E-02	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	a	4	1,82E-02	1,78E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	120	a	5	1,81E-02	1,84E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	120	a	6	2,10E-02	2,52E-02	-	-	-	2,48E-03
HC	sans AH	120	b	0	9,38E-03	3,04E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	b	1	1,11E-02	5,32E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	b	2	1,25E-02	5,52E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	b	3	1,44E-02	9,38E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	b	4	1,61E-02	1,57E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	120	b	5	1,72E-02	1,68E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	120	b	6	2,16E-02	2,67E-02	-	-	-	2,49E-03
HC	sans AH	120	c	0	9,42E-03	1,20E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	c	1	1,07E-02	3,00E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	c	2	1,20E-02	7,05E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	c	3	1,47E-02	1,14E-02	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	120	c	4	1,53E-02	1,19E-02	-	-	-	2,48E-03
HC	sans AH	120	c	5	1,87E-02	1,80E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	120	c	6	2,28E-02	2,28E-02	-	-	-	2,49E-03
HC	sans AH	150	a	0	9,68E-03	1,01E-04	-	-	-	2,29E-03
HC	sans AH	150	a	1	1,41E-02	9,12E-03	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	150	a	2	1,80E-02	1,37E-02	-	-	-	2,59E-03
HC	sans AH	150	a	3	2,25E-02	1,78E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	150	a	4	2,59E-02	1,96E-02	-	-	-	2,48E-03
HC	sans AH	150	a	5	3,01E-02	1,76E-02	-	-	-	2,51E-03
HC	sans AH	150	a	6	3,62E-02	2,20E-02	-	-	-	2,52E-03
HC	sans AH	150	b	0	9,74E-03	3,04E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	150	b	1	1,37E-02	8,29E-03	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	150	b	2	1,74E-02	1,32E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	150	b	3	2,27E-02	1,81E-02	-	-	-	2,48E-03
HC	sans AH	150	b	4	2,71E-02	1,82E-02	-	-	-	2,50E-03
HC	sans AH	150	b	5	2,92E-02	1,98E-02	-	-	-	2,52E-03
HC	sans AH	150	b	6	3,69E-02	2,05E-02	-	-	-	2,52E-03
HC	sans AH	150	c	0	9,68E-03	1,20E-04	-	-	-	2,46E-03
HC	sans AH	150	c	1	1,40E-02	8,47E-03	-	-	-	2,59E-03
HC	sans AH	150	c	2	1,83E-02	1,53E-02	-	-	-	2,47E-03
HC	sans AH	150	c	3	2,30E-02	1,69E-02	-	-	-	2,48E-03
HC	sans AH	150	c	4	2,54E-02	1,93E-02	-	-	-	2,51E-03
HC	sans AH	150	c	5	3,04E-02	1,99E-02	-	-	-	2,52E-03
HC	sans AH	150	c	6	3,30E-02	2,18E-02	-	-	-	2,52E-03
HC	α-Toc	100	a	0	9,50E-03	2,02E-04	1,45E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	100	a	1	1,06E-02	1,36E-03	1,47E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	100	a	2	1,13E-02	2,65E-03	1,45E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	100	a	3	1,24E-02	4,80E-03	1,39E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	a	4	1,37E-02	6,30E-03	1,45E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	a	5	1,49E-02	8,57E-03	1,36E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	a	6	1,65E-02	9,62E-03	1,28E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	b	0	9,39E-03	7,36E-05	1,50E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	100	b	1	1,06E-02	1,69E-03	1,49E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	100	b	2	1,15E-02	2,66E-03	1,46E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	100	b	3	1,30E-02	4,99E-03	1,45E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	b	4	1,49E-02	6,84E-03	1,48E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	b	5	1,51E-02	7,51E-03	1,46E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	b	6	1,58E-02	1,00E-02	1,25E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	c	0	9,57E-03	4,60E-05	1,46E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	100	c	1	1,06E-02	1,52E-03	1,46E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	100	c	2	1,16E-02	2,56E-03	1,39E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	100	c	3	1,27E-02	4,67E-03	1,38E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	c	4	1,37E-02	6,35E-03	1,35E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	c	5	1,48E-02	7,54E-03	1,32E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	100	c	6	1,59E-02	7,59E-03	1,22E-03	-	-	2,47E-03

a,b,c: 3 répétitions; DC: dienes conjugués; LOOH: hydoperoxydes.

Huile		Température	Répétition	Temps (h)	Marqueurs					
					DC	LOOH	α-Toc	ACQ	2,4-décadiénal	Polymères
HC	α-Toc	120	a	0	9,56E-03	2,02E-04	1,44E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	a	1	1,17E-02	3,23E-03	1,47E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	a	2	1,33E-02	6,05E-03	1,39E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	a	3	1,48E-02	7,97E-03	1,29E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	a	4	1,63E-02	1,02E-02	1,26E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	120	a	5	1,74E-02	1,21E-02	1,07E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	120	a	6	1,86E-02	2,40E-02	9,82E-04	-	-	2,48E-03
HC	α-Toc	120	b	0	9,63E-03	7,36E-05	1,34E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	b	1	1,15E-02	3,08E-03	1,32E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	b	2	1,32E-02	5,83E-03	1,25E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	b	3	1,47E-02	8,28E-03	1,22E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	b	4	1,64E-02	8,73E-03	1,20E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	120	b	5	1,72E-02	1,17E-02	1,06E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	120	b	6	1,90E-02	2,03E-02	1,04E-03	-	-	2,49E-03
HC	α-Toc	120	c	0	9,66E-03	4,60E-05	1,47E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	c	1	1,17E-02	3,09E-03	1,43E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	c	2	1,34E-02	5,69E-03	1,36E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	c	3	1,48E-02	6,61E-03	1,29E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	120	c	4	1,58E-02	9,60E-03	1,25E-03	-	-	2,48E-03
HC	α-Toc	120	c	5	1,77E-02	1,19E-02	1,10E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	120	c	6	1,92E-02	2,21E-02	9,85E-04	-	-	2,49E-03
HC	α-Toc	150	a	0	9,68E-03	2,02E-04	1,36E-03	-	-	2,29E-03
HC	α-Toc	150	a	1	1,24E-02	3,73E-03	1,29E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	150	a	2	1,47E-02	6,28E-03	1,38E-03	-	-	2,59E-03
HC	α-Toc	150	a	3	1,65E-02	6,82E-03	1,20E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	150	a	4	1,83E-02	7,57E-03	1,08E-03	-	-	2,48E-03
HC	α-Toc	150	a	5	1,90E-02	9,63E-03	8,76E-04	-	-	2,51E-03
HC	α-Toc	150	a	6	1,90E-02	8,74E-03	9,60E-04	-	-	2,52E-03
HC	α-Toc	150	b	0	9,63E-03	2,48E-04	1,44E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	150	b	1	1,26E-02	4,31E-03	1,44E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	150	b	2	1,47E-02	6,05E-03	1,26E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	150	b	3	1,63E-02	6,89E-03	1,02E-03	-	-	2,48E-03
HC	α-Toc	150	b	4	1,81E-02	7,79E-03	9,68E-04	-	-	2,50E-03
HC	α-Toc	150	b	5	1,98E-02	6,72E-03	9,89E-04	-	-	2,52E-03
HC	α-Toc	150	b	6	1,94E-02	8,78E-03	8,33E-04	-	-	2,52E-03
HC	α-Toc	150	c	0	9,66E-03	2,25E-04	1,40E-03	-	-	2,46E-03
HC	α-Toc	150	c	1	1,25E-02	4,02E-03	1,36E-03	-	-	2,59E-03
HC	α-Toc	150	c	2	1,47E-02	6,17E-03	1,32E-03	-	-	2,47E-03
HC	α-Toc	150	c	3	1,64E-02	6,85E-03	1,11E-03	-	-	2,48E-03
HC	α-Toc	150	c	4	1,82E-02	7,68E-03	1,02E-03	-	-	2,51E-03
HC	α-Toc	150	c	5	1,94E-02	8,17E-03	9,32E-04	-	-	2,52E-03
HC	α-Toc	150	c	6	1,92E-02	8,76E-03	8,96E-04	-	-	2,52E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	a	0	1,03E-02	5,38E-04	1,48E-03	1,15E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	a	1	1,10E-02	9,38E-04	1,48E-03	1,13E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	a	2	1,23E-02	2,93E-03	1,44E-03	1,12E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	a	3	1,31E-02	4,82E-03	1,40E-03	1,13E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	a	4	1,40E-02	6,42E-03	1,37E-03	1,08E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	a	5	1,50E-02	8,41E-03	1,32E-03	1,06E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	a	6	1,64E-02	1,01E-02	1,29E-03	9,91E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	b	0	1,05E-02	1,02E-03	1,52E-03	1,26E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	b	1	1,10E-02	1,02E-03	1,53E-03	1,20E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	b	2	1,20E-02	2,99E-03	1,51E-03	1,18E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	b	3	1,34E-02	4,83E-03	1,48E-03	1,15E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	b	4	1,52E-02	6,12E-03	1,43E-03	1,11E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	b	5	1,57E-02	9,30E-03	1,41E-03	1,08E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	b	6	1,71E-02	9,92E-03	1,35E-03	1,03E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	c	0	1,02E-02	1,08E-03	1,57E-03	1,14E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	c	1	1,11E-02	8,56E-04	1,56E-03	1,10E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	c	2	1,18E-02	2,88E-03	1,54E-03	1,08E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	c	3	1,18E-02	4,80E-03	1,49E-03	1,03E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	c	4	1,38E-02	6,73E-03	1,51E-03	1,00E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	c	5	1,49E-02	7,53E-03	1,44E-03	1,01E-03	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	100	c	6	1,64E-02	1,03E-02	1,39E-03	9,97E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	a	0	1,03E-02	2,58E-04	1,52E-03	1,11E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	a	1	1,20E-02	3,04E-03	1,50E-03	1,07E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	a	2	1,36E-02	5,42E-03	1,46E-03	9,96E-04	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	a	3	1,51E-02	6,09E-03	1,38E-03	9,54E-04	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	a	4	1,63E-02	8,02E-03	1,30E-03	8,84E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	a	5	1,85E-02	1,17E-02	1,21E-03	7,07E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	a	6	1,95E-02	1,40E-02	1,15E-03	6,70E-04	-	2,48E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	b	0	1,02E-02	2,58E-04	1,56E-03	1,20E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	b	1	1,22E-02	2,79E-03	1,52E-03	1,16E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	b	2	1,35E-02	5,56E-03	1,43E-03	1,07E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	b	3	1,51E-02	6,32E-03	1,35E-03	1,01E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	b	4	1,64E-02	8,34E-03	1,27E-03	9,67E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	b	5	1,79E-02	1,20E-02	1,20E-03	8,07E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	b	6	2,17E-02	1,28E-02	9,77E-04	6,30E-04	-	2,49E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	c	0	1,04E-02	5,15E-04	1,56E-03	1,12E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	c	1	1,20E-02	3,28E-03	1,56E-03	1,04E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	c	2	1,36E-02	5,28E-03	1,54E-03	9,07E-04	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	c	3	1,50E-02	5,85E-03	1,49E-03	8,39E-04	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	c	4	1,62E-02	7,70E-03	1,51E-03	7,39E-04	-	2,48E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	c	5	1,77E-02	1,15E-02	1,44E-03	6,90E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	120	c	6	1,86E-02	1,52E-02	1,39E-03	6,38E-04	-	2,49E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	a	0	1,04E-02	2,58E-04	1,53E-03	1,10E-03	-	2,29E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	a	1	1,28E-02	3,92E-03	1,47E-03	7,92E-04	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	a	2	1,46E-02	5,49E-03	1,34E-03	6,19E-04	-	2,59E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	a	3	1,62E-02	5,94E-03	1,21E-03	4,67E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	a	4	1,95E-02	6,15E-03	1,09E-03	3,41E-04	-	2,48E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	a	5	2,15E-02	5,94E-03	9,11E-04	2,81E-04	-	2,51E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	a	6	2,37E-02	6,44E-03	7,94E-04	1,97E-04	-	2,52E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	b	0	1,05E-02	2,94E-04	1,55E-03	1,06E-03	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	b	1	1,30E-02	3,76E-03	1,40E-03	8,45E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	b	2	1,46E-02	4,94E-03	1,32E-03	7,40E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	b	3	1,58E-02	6,32E-03	1,20E-03	4,98E-04	-	2,48E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	b	4	1,80E-02	5,89E-03	1,03E-03	3,54E-04	-	2,50E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	b	5	2,14E-02	5,78E-03	9,11E-04	2,98E-04	-	2,52E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	b	6	2,30E-02	6,74E-03	7,83E-04	1,85E-04	-	2,52E-03

a,b,c: 3 répétitions; DC: dièns conjugués; LOOH: hydoperoxydes.

					Marqueurs					
Huile		**Température**	**Répétition**	**Temps (h)**	**DC**	**LOOH**	**α-Toc**	**ACQ**	**2,4-décadiénal**	**Polymères**
HC	α-Toc+ACQ	150	c	0	9,83E-03	7,36E-05	1,49E-03	9,13E-04	-	2,46E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	c	1	1,32E-02	3,97E-03	1,45E-03	6,17E-04	-	2,59E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	c	2	1,47E-02	5,45E-03	1,32E-03	4,89E-04	-	2,47E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	c	3	1,65E-02	5,85E-03	1,20E-03	3,16E-04	-	2,48E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	c	4	1,96E-02	6,21E-03	1,04E-03	2,60E-04	-	2,51E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	c	5	2,06E-02	5,89E-03	9,32E-04	2,28E-04	-	2,52E-03
HC	α-Toc+ACQ	150	c	6	2,25E-02	6,15E-03	8,25E-04	1,46E-04	-	2,52E-03
HT	0 AOH	100	a	0	8,90E-03	4,60E-05	-	-	1,06E-04	2,47E-03
HT	0 AOH	100	a	1	1,14E-02	2,38E-03	-	-	1,16E-04	2,46E-03
HT	0 AOH	100	a	2	1,41E-02	4,89E-03	-	-	1,26E-04	2,47E-03
HT	0 AOH	100	a	3	1,88E-02	7,61E-03	-	-	1,52E-04	2,47E-03
HT	0 AOH	100	a	4	2,24E-02	9,66E-03	-	-	1,57E-04	2,44E-03
HT	0 AOH	100	a	5	2,61E-02	1,30E-02	-	-	4,30E-04	2,45E-03
HT	0 AOH	100	a	6	3,17E-02	1,78E-02	-	-	5,15E-04	2,46E-03
HT	0 AOH	100	b	0	9,02E-03	2,76E-05	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	100	b	1	1,10E-02	2,45E-03	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	100	b	2	1,45E-02	4,93E-03	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	100	b	3	1,93E-02	7,81E-03	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	100	b	4	2,46E-02	1,12E-02	-	-	-	2,44E-03
HT	0 AOH	100	b	5	2,91E-02	1,43E-02	-	-	-	2,45E-03
HT	0 AOH	100	b	6	3,74E-02	1,84E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	100	c	0	9,14E-03	3,68E-05	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	100	c	1	1,10E-02	2,42E-03	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	100	c	2	1,47E-02	4,91E-03	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	100	c	3	1,98E-02	7,71E-03	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	100	c	4	2,44E-02	1,04E-02	-	-	-	2,44E-03
HT	0 AOH	100	c	5	2,91E-02	1,37E-02	-	-	-	2,45E-03
HT	0 AOH	100	c	6	3,50E-02	1,81E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	a	0	9,05E-03	1,47E-04	-	-	1,57E-04	2,45E-03
HT	0 AOH	120	a	1	1,62E-02	5,96E-03	-	-	2,37E-04	2,47E-03
HT	0 AOH	120	a	2	2,74E-02	1,53E-02	-	-	4,16E-04	2,47E-03
HT	0 AOH	120	a	3	3,27E-02	1,77E-02	-	-	6,31E-04	2,47E-03
HT	0 AOH	120	a	4	4,43E-02	2,61E-02	-	-	1,19E-03	2,47E-03
HT	0 AOH	120	a	5	4,87E-02	3,67E-02	-	-	1,34E-03	2,47E-03
HT	0 AOH	120	a	6	5,19E-02	3,89E-02	-	-	2,22E-03	2,47E-03
HT	0 AOH	120	b	0	9,00E-03	1,47E-04	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	120	b	1	1,79E-02	4,91E-03	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	b	2	2,43E-02	1,07E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	b	3	3,08E-02	1,52E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	b	4	3,80E-02	1,67E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	b	5	4,64E-02	2,38E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	b	6	5,52E-02	2,89E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	c	0	9,06E-03	1,47E-04	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	120	c	1	1,71E-02	5,67E-03	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	c	2	2,47E-02	1,21E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	c	3	3,06E-02	1,53E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	c	4	3,79E-02	2,22E-02	-	-	-	2,48E-03
HT	0 AOH	120	c	5	4,44E-02	2,69E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	120	c	6	5,21E-02	3,05E-02	-	-	-	2,47E-03
HT	0 AOH	150	a	0	7,97E-03	1,01E-04	-	-	1,57E-04	2,46E-03
HT	0 AOH	150	a	1	1,86E-02	1,25E-02	-	-	4,21E-04	2,46E-03
HT	0 AOH	150	a	2	3,00E-02	1,93E-02	-	-	2,66E-03	2,54E-03
HT	0 AOH	150	a	3	4,03E-02	1,97E-02	-	-	5,28E-03	2,54E-03
HT	0 AOH	150	a	4	4,78E-02	2,43E-02	-	-	6,35E-03	2,57E-03
HT	0 AOH	150	a	5	5,64E-02	2,52E-02	-	-	7,17E-03	2,57E-03
HT	0 AOH	150	a	6	6,68E-02	2,62E-02	-	-	9,87E-03	2,58E-03
HT	0 AOH	150	b	0	8,11E-03	1,01E-04	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	150	b	1	2,16E-02	1,25E-02	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	150	b	2	3,22E-02	1,93E-02	-	-	-	2,53E-03
HT	0 AOH	150	b	3	4,29E-02	1,97E-02	-	-	-	2,54E-03
HT	0 AOH	150	b	4	4,98E-02	2,43E-02	-	-	-	2,57E-03
HT	0 AOH	150	b	5	5,92E-02	2,52E-02	-	-	-	2,57E-03
HT	0 AOH	150	b	6	7,12E-02	2,62E-02	-	-	-	2,58E-03
HT	0 AOH	150	c	0	8,26E-03	1,01E-04	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	150	c	1	2,28E-02	1,25E-02	-	-	-	2,46E-03
HT	0 AOH	150	c	2	3,20E-02	1,93E-02	-	-	-	2,53E-03
HT	0 AOH	150	c	3	4,14E-02	1,97E-02	-	-	-	2,54E-03
HT	0 AOH	150	c	4	4,83E-02	2,43E-02	-	-	-	2,57E-03
HT	0 AOH	150	c	5	5,72E-02	2,52E-02	-	-	-	2,57E-03
HT	0 AOH	150	c	6	7,02E-02	2,62E-02	-	-	-	2,58E-03
HT	α-Toc	100	a	0	8,48E-03	4,88E-04	1,42E-03	-	-	2,45E-03
HT	α-Toc	100	a	1	1,04E-02	1,74E-03	1,36E-03	-	-	2,44E-03
HT	α-Toc	100	a	2	1,22E-02	3,82E-03	1,37E-03	-	-	2,45E-03
HT	α-Toc	100	a	3	1,42E-02	5,24E-03	1,34E-03	-	-	2,43E-03
HT	α-Toc	100	a	4	1,63E-02	6,24E-03	1,31E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	a	5	1,86E-02	8,29E-03	1,32E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	a	6	2,07E-02	1,08E-02	1,23E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	b	0	8,57E-03	7,77E-04	1,36E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	b	1	1,04E-02	2,76E-03	1,35E-03	-	-	2,44E-03
HT	α-Toc	100	b	2	1,25E-02	4,23E-03	1,33E-03	-	-	2,45E-03
HT	α-Toc	100	b	3	1,40E-02	6,11E-03	1,31E-03	-	-	2,43E-03
HT	α-Toc	100	b	4	1,57E-02	7,65E-03	1,26E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	b	5	1,72E-02	1,02E-02	1,21E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	b	6	1,95E-02	1,18E-02	1,18E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	c	0	7,96E-03	5,64E-04	1,26E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	c	1	9,45E-03	3,11E-03	1,33E-03	-	-	2,44E-03
HT	α-Toc	100	c	2	1,12E-02	5,13E-03	1,31E-03	-	-	2,45E-03
HT	α-Toc	100	c	3	1,29E-02	7,11E-03	1,30E-03	-	-	2,43E-03
HT	α-Toc	100	c	4	1,43E-02	9,58E-03	1,29E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	c	5	1,63E-02	1,15E-02	1,26E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	100	c	6	1,88E-02	1,34E-02	1,23E-03	-	-	2,46E-03
HT	α-Toc	120	a	0	7,97E-03	9,20E-05	1,38E-03	-	6,27E-05	2,42E-03
HT	α-Toc	120	a	1	1,16E-02	4,46E-03	1,34E-03	-	6,27E-05	2,47E-03
HT	α-Toc	120	a	2	1,44E-02	6,27E-03	1,27E-03	-	1,07E-04	2,47E-03
HT	α-Toc	120	a	3	1,71E-02	9,84E-03	1,21E-03	-	2,19E-04	2,47E-03
HT	α-Toc	120	a	4	2,00E-02	1,30E-02	1,13E-03	-	3,36E-04	2,47E-03
HT	α-Toc	120	a	5	2,25E-02	1,66E-02	1,02E-03	-	4,61E-04	2,47E-03
HT	α-Toc	120	a	6	2,50E-02	1,77E-02	9,22E-04	-	5,19E-04	2,47E-03

a,b,c: 3 répétitions; DC: dièns conjugués; LOOH: hydoperoxydes.

Huile		Température	Répétition	Temps (h)	Marqueurs					
					DC	LOOH	α-Toc	ACQ	2,4-décadiénal	Polymères
HT	α-Toc	120	b	0	8,01E-03	4,60E-05	1,45E-03	-	-	2,42E-03
HT	α-Toc	120	b	1	1,22E-02	4,40E-03	1,43E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	b	2	1,57E-02	6,43E-03	1,37E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	b	3	1,85E-02	9,88E-03	1,31E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	b	4	2,12E-02	1,28E-02	1,18E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	b	5	2,40E-02	1,65E-02	1,01E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	b	6	2,71E-02	1,78E-02	9,71E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	c	0	8,17E-03	3,59E-04	1,43E-03	-	-	2,42E-03
HT	α-Toc	120	c	1	1,19E-02	4,20E-03	1,43E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	c	2	1,52E-02	6,95E-03	1,36E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	c	3	1,83E-02	9,20E-03	1,29E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	c	4	2,11E-02	1,04E-02	1,22E-03	-	-	2,48E-03
HT	α-Toc	120	c	5	2,37E-02	1,19E-02	1,10E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	120	c	6	2,59E-02	1,61E-02	9,51E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	a	0	8,09E-03	4,05E-04	1,33E-03	-	-	2,24E-03
HT	α-Toc	150	a	1	1,35E-02	4,55E-03	1,20E-03	-	-	2,42E-03
HT	α-Toc	150	a	2	1,74E-02	5,06E-03	1,11E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	a	3	2,13E-02	7,41E-03	9,13E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	a	4	2,53E-02	8,18E-03	7,54E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	a	5	2,77E-02	8,80E-03	6,19E-04	-	-	2,48E-03
HT	α-Toc	150	a	6	3,05E-02	8,34E-03	4,98E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	b	0	8,09E-03	4,05E-04	1,33E-03	-	-	2,42E-03
HT	α-Toc	150	b	1	1,29E-02	4,72E-03	1,20E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	b	2	1,75E-02	4,92E-03	1,02E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	b	3	2,11E-02	6,67E-03	8,95E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	b	4	2,35E-02	6,14E-03	7,98E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	b	5	2,61E-02	4,74E-03	6,49E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	b	6	3,08E-02	7,64E-03	3,95E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	c	0	8,30E-03	4,05E-04	1,28E-03	-	-	2,42E-03
HT	α-Toc	150	c	1	1,37E-02	4,64E-03	1,16E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	c	2	1,75E-02	4,99E-03	1,12E-03	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	c	3	2,06E-02	7,04E-03	8,39E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	c	4	2,51E-02	7,16E-03	8,37E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	c	5	2,81E-02	6,77E-03	6,49E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc	150	c	6	3,02E-02	7,99E-03	3,95E-04	-	-	2,47E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	a	0	8,23E-03	4,60E-04	1,47E-03	6,72E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	a	1	9,36E-03	1,09E-03	1,44E-03	9,72E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	a	2	1,08E-02	2,42E-03	1,44E-03	9,81E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	a	3	1,25E-02	4,62E-03	1,45E-03	8,94E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	a	4	1,46E-02	6,24E-03	1,44E-03	1,07E-03	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	a	5	1,70E-02	9,04E-03	1,43E-03	1,17E-03	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	a	6	1,77E-02	1,22E-02	1,33E-03	6,46E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	b	0	8,78E-03	3,96E-04	1,47E-03	8,92E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	b	1	9,75E-03	1,46E-03	1,53E-03	8,92E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	b	2	1,10E-02	3,79E-03	1,45E-03	6,65E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	b	3	1,19E-02	4,22E-03	1,43E-03	6,22E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	b	4	1,40E-02	7,00E-03	1,35E-03	7,45E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	b	5	1,67E-02	8,43E-03	1,38E-03	9,71E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	b	6	1,82E-02	9,92E-03	1,36E-03	7,20E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	c	0	8,13E-03	3,86E-04	1,47E-03	1,18E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	c	1	9,39E-03	1,95E-03	1,49E-03	1,18E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	c	2	1,06E-02	2,63E-03	1,49E-03	1,69E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	c	3	1,19E-02	4,93E-03	1,41E-03	2,92E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	c	4	1,44E-02	7,69E-03	1,43E-03	5,14E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	c	5	1,60E-02	9,51E-03	1,39E-03	4,94E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	100	c	6	1,77E-02	1,15E-02	1,34E-03	5,84E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	a	0	8,36E-03	4,60E-04	1,55E-03	7,65E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	a	1	1,13E-02	4,31E-03	1,52E-03	7,65E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	a	2	1,41E-02	7,37E-03	1,50E-03	6,27E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	a	3	1,71E-02	7,99E-03	1,37E-03	5,95E-04	-	2,47E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	a	4	1,98E-02	1,05E-02	1,32E-03	6,37E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	a	5	2,43E-02	1,51E-02	1,18E-03	6,60E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	a	6	2,67E-02	1,89E-02	1,14E-03	6,70E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	b	0	8,27E-03	3,96E-04	1,54E-03	6,77E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	b	1	1,14E-02	4,47E-03	1,55E-03	6,63E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	b	2	1,41E-02	7,54E-03	1,50E-03	6,86E-04	-	2,47E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	b	3	1,69E-02	1,12E-02	1,38E-03	5,59E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	b	4	2,06E-02	1,38E-02	1,31E-03	7,15E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	b	5	2,39E-02	1,51E-02	1,22E-03	5,91E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	b	6	2,67E-02	1,92E-02	1,08E-03	5,45E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	c	0	8,33E-03	3,86E-04	1,60E-03	8,63E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	c	1	1,16E-02	4,28E-03	1,56E-03	8,68E-04	-	4,19E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	c	2	1,36E-02	7,27E-03	1,53E-03	8,51E-04	-	2,47E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	c	3	1,69E-02	9,95E-03	1,43E-03	7,39E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	c	4	2,07E-02	1,24E-02	1,32E-03	7,39E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	c	5	2,46E-02	1,58E-02	1,21E-03	6,58E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	120	c	6	2,53E-02	1,84E-02	1,13E-03	5,33E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	a	0	8,36E-03	4,60E-04	1,50E-03	7,66E-04	-	2,27E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	a	1	1,28E-02	4,97E-03	1,50E-03	7,07E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	a	2	1,67E-02	7,88E-03	1,37E-03	6,23E-04	-	2,45E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	a	3	2,00E-02	7,86E-03	1,22E-03	4,02E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	a	4	2,46E-02	8,73E-03	1,07E-03	3,84E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	a	5	2,71E-02	9,27E-03	9,55E-04	3,03E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	a	6	3,00E-02	8,48E-03	8,41E-04	1,50E-04	-	2,49E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	b	0	8,27E-03	3,96E-04	1,50E-03	7,36E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	b	1	1,35E-02	4,61E-03	1,48E-03	6,99E-04	-	2,45E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	b	2	1,72E-02	6,38E-03	1,34E-03	6,22E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	b	3	2,12E-02	7,38E-03	1,20E-03	4,40E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	b	4	2,38E-02	9,01E-03	1,09E-03	3,91E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	b	5	2,69E-02	9,51E-03	9,48E-04	2,88E-04	-	2,49E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	b	6	3,09E-02	9,97E-03	7,94E-04	1,75E-04	-	2,49E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	c	0	8,33E-03	3,86E-04	1,50E-03	7,47E-04	-	2,46E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	c	1	1,32E-02	5,66E-03	1,50E-03	6,47E-04	-	2,45E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	c	2	1,72E-02	7,66E-03	1,35E-03	4,92E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	c	3	2,10E-02	9,45E-03	1,25E-03	4,93E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	c	4	2,51E-02	9,54E-03	1,08E-03	3,42E-04	-	2,48E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	c	5	2,90E-02	9,23E-03	9,30E-04	2,91E-04	-	2,49E-03
HT	α-Toc+ACQ	150	c	6	3,07E-02	8,15E-03	8,31E-04	1,89E-04	-	2,49E-03

a,b,c: 3 répétitions; DC: dièns conjugués; LOOH: hydoperoxydes.

Huile		Température	Répétition	Temps (h)	Marqueurs					
					DC	LOOH	α-Toc	ACQ	2,4-décadiénal	Polymères
HTO	0 AOH	100	a	0	3,78E-03	2,30E-04	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	100	a	1	4,08E-03	4,05E-04	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	100	a	2	5,00E-03	2,81E-03	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	100	a	3	5,87E-03	5,23E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	100	a	4	6,96E-03	6,89E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	100	a	5	7,77E-03	9,17E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	100	a	6	8,87E-03	1,15E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	100	b	0	3,78E-03	1,29E-04	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	100	b	1	4,08E-03	8,28E-04	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	100	b	2	4,91E-03	2,26E-03	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	100	b	3	5,91E-03	5,73E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	100	b	4	6,76E-03	7,09E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	100	b	5	8,04E-03	1,00E-02	-	-	-	2,49E-03
HTO	0 AOH	100	b	6	8,98E-03	1,28E-02	-	-	-	2,49E-03
HTO	0 AOH	100	c	0	3,78E-03	1,79E-04	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	100	c	1	4,08E-03	6,16E-04	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	100	c	2	4,96E-03	2,53E-03	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	100	c	3	5,89E-03	5,48E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	100	c	4	6,86E-03	6,99E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	100	c	5	7,90E-03	9,61E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	100	c	6	8,92E-03	1,22E-02	-	-	-	2,49E-03
HTO	0 AOH	120	a	0	3,78E-03	2,30E-04	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	120	a	1	5,15E-03	4,48E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	a	2	6,35E-03	5,84E-03	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	120	a	3	7,42E-03	9,03E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	a	4	8,75E-03	1,22E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	a	5	1,02E-02	1,60E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	a	6	1,14E-02	1,79E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	b	0	3,78E-03	1,29E-04	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	120	b	1	5,50E-03	2,76E-03	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	120	b	2	6,32E-03	6,15E-03	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	120	b	3	7,68E-03	9,76E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	b	4	8,97E-03	1,31E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	b	5	1,04E-02	1,53E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	b	6	1,14E-02	1,68E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	c	0	3,78E-03	1,79E-04	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	120	c	1	5,33E-03	3,62E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	c	2	6,34E-03	6,00E-03	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	120	c	3	7,55E-03	9,40E-03	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	c	4	8,86E-03	1,26E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	c	5	1,03E-02	1,57E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	120	c	6	1,14E-02	1,74E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	a	0	3,78E-03	1,29E-04	-	-	-	2,25E-03
HTO	0 AOH	150	a	1	5,73E-03	6,56E-03	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	150	a	2	7,71E-03	1,18E-02	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	150	a	3	9,28E-03	1,42E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	a	4	1,13E-02	1,83E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	a	5	1,28E-02	1,87E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	a	6	1,41E-02	2,14E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	b	0	3,78E-03	1,29E-04	-	-	-	2,25E-03
HTO	0 AOH	150	b	1	5,89E-03	6,70E-03	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	150	b	2	7,83E-03	1,31E-02	-	-	-	2,47E-03
HTO	0 AOH	150	b	3	9,29E-03	1,56E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	b	4	1,11E-02	1,84E-02	-	-	-	2,49E-03
HTO	0 AOH	150	b	5	1,31E-02	2,04E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	b	6	1,44E-02	2,05E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	c	0	3,78E-03	1,29E-04	-	-	-	2,25E-03
HTO	0 AOH	150	c	1	5,81E-03	6,63E-03	-	-	-	2,46E-03
HTO	0 AOH	150	c	2	7,77E-03	1,25E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	c	3	9,28E-03	1,49E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	c	4	1,12E-02	1,84E-02	-	-	-	2,49E-03
HTO	0 AOH	150	c	5	1,29E-02	1,96E-02	-	-	-	2,48E-03
HTO	0 AOH	150	c	6	1,43E-02	2,09E-02	-	-	-	2,49E-03
HTO	α-Toc	100	a	0	3,89E-03	9,20E-05	1,36E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	a	1	4,07E-03	1,47E-04	1,40E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	a	2	4,34E-03	3,40E-04	1,40E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	a	3	4,64E-03	9,20E-04	1,41E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	a	4	4,84E-03	1,24E-03	1,36E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	a	5	5,16E-03	1,44E-03	1,32E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	a	6	5,44E-03	1,93E-03	1,29E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	b	0	3,90E-03	9,20E-05	1,42E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	b	1	4,12E-03	1,47E-04	1,40E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	b	2	4,26E-03	3,40E-04	1,42E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	b	3	4,73E-03	9,20E-04	1,39E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	b	4	4,90E-03	1,24E-03	1,38E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	b	5	5,08E-03	1,44E-03	1,37E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	b	6	5,33E-03	1,93E-03	1,33E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	c	0	3,89E-03	9,20E-05	1,39E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	c	1	4,09E-03	1,47E-04	1,40E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	c	2	4,31E-03	3,40E-04	1,41E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	c	3	4,68E-03	9,20E-04	1,40E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	c	4	4,87E-03	1,24E-03	1,37E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	c	5	5,12E-03	1,44E-03	1,35E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	100	c	6	5,38E-03	1,93E-03	1,31E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	a	0	3,84E-03	2,30E-04	1,42E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	a	1	4,58E-03	4,88E-04	1,41E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	a	2	5,42E-03	1,67E-03	1,39E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	a	3	6,54E-03	3,18E-03	1,37E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	a	4	7,45E-03	4,03E-03	1,29E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	a	5	9,07E-03	5,44E-03	1,32E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	a	6	9,92E-03	7,69E-03	1,19E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	b	0	3,76E-03	1,29E-04	1,43E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	b	1	4,63E-03	5,15E-04	1,47E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	b	2	5,42E-03	1,64E-03	1,47E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	b	3	6,51E-03	3,11E-03	1,45E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	b	4	7,33E-03	3,90E-03	1,37E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	b	5	8,69E-03	4,92E-03	1,26E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	b	6	9,76E-03	7,16E-03	1,28E-03	-	-	-

a,b,c: 3 répétitions; DC: diènes conjugués; LOOH: hydoperoxydes.

Huile		Température	Répétition	Temps (h)	Marqueurs					
					DC	LOOH	α-Toc	ACQ	2,4-décadiénal	Polymères
HTO	α-Toc	120	c	0	3,80E-03	1,79E-04	1,43E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	c	1	4,60E-03	5,01E-04	1,44E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	c	2	5,42E-03	1,65E-03	1,43E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	c	3	6,52E-03	3,15E-03	1,41E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	c	4	7,39E-03	3,97E-03	1,33E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	c	5	8,89E-03	5,18E-03	1,29E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	120	c	6	9,84E-03	7,42E-03	1,23E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	150	a	0	4,09E-03	1,29E-04	1,34E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	150	a	1	6,54E-03	3,69E-03	1,29E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	150	a	2	8,13E-03	4,92E-03	9,95E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	a	3	9,26E-03	7,30E-03	7,36E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	a	4	9,74E-03	8,09E-03	3,58E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	a	5	1,05E-02	8,49E-03	1,66E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	a	6	1,10E-02	9,56E-03	1,09E-05	-	-	-
HTO	α-Toc	150	b	0	4,01E-03	1,29E-04	1,37E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	150	b	1	6,50E-03	3,69E-03	1,23E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	150	b	2	7,85E-03	6,05E-03	9,59E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	b	3	9,38E-03	8,02E-03	6,04E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	b	4	9,73E-03	8,44E-03	3,35E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	b	5	1,04E-02	7,67E-03	7,60E-05	-	-	-
HTO	α-Toc	150	b	6	1,09E-02	1,03E-02	9,60E-06	-	-	-
HTO	α-Toc	150	c	0	4,05E-03	1,29E-04	1,35E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	150	c	1	6,52E-03	3,69E-03	1,26E-03	-	-	-
HTO	α-Toc	150	c	2	7,99E-03	5,49E-03	9,77E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	c	3	9,32E-03	7,66E-03	6,70E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	c	4	9,73E-03	8,26E-03	3,46E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	c	5	1,04E-02	8,08E-03	1,21E-04	-	-	-
HTO	α-Toc	150	c	6	1,10E-02	9,95E-03	9,77E-06	-	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	a	0	4,34E-03	5,89E-04	1,48E-03	9,63E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	a	1	4,36E-03	4,32E-04	1,48E-03	1,10E-03	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	a	2	4,73E-03	4,88E-04	1,44E-03	8,55E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	a	3	4,77E-03	5,89E-04	1,40E-03	9,54E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	a	4	5,06E-03	1,09E-03	1,37E-03	9,26E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	a	5	5,08E-03	1,27E-03	1,32E-03	9,74E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	a	6	5,74E-03	1,75E-03	1,29E-03	8,77E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	b	0	4,45E-03	5,89E-04	1,52E-03	6,14E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	b	1	5,20E-03	3,59E-04	1,53E-03	3,93E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	b	2	4,83E-03	3,96E-04	1,51E-03	6,34E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	b	3	4,90E-03	9,29E-04	1,48E-03	5,58E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	b	4	4,98E-03	1,17E-03	1,43E-03	5,95E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	b	5	5,14E-03	1,16E-03	1,41E-03	0,00E+00	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	b	6	5,34E-03	1,58E-03	1,35E-03	6,10E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	c	0	4,37E-03	5,89E-04	1,57E-03	1,03E-03	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	c	1	4,52E-03	5,89E-04	1,56E-03	8,88E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	c	2	4,82E-03	9,11E-04	1,54E-03	7,74E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	c	3	4,88E-03	8,46E-04	1,49E-03	8,02E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	c	4	4,86E-03	8,74E-04	1,51E-03	7,43E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	c	5	5,34E-03	2,08E-03	1,44E-03	7,40E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	100	c	6	5,69E-03	1,81E-03	1,39E-03	7,45E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	a	0	4,26E-03	7,08E-04	1,52E-03	7,97E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	a	1	6,65E-03	1,48E-03	1,50E-03	8,93E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	a	2	6,13E-03	1,94E-03	1,46E-03	9,25E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	a	3	7,45E-03	2,57E-03	1,38E-03	9,62E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	a	4	8,30E-03	3,19E-03	1,30E-03	8,51E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	a	5	9,43E-03	6,27E-03	1,21E-03	9,67E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	a	6	1,03E-02	7,04E-03	1,15E-03	5,72E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	b	0	5,47E-03	4,05E-04	1,56E-03	7,46E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	b	1	5,79E-03	8,56E-04	1,52E-03	2,91E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	b	2	6,69E-03	2,24E-03	1,43E-03	4,88E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	b	3	7,26E-03	2,87E-03	1,35E-03	6,92E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	b	4	8,05E-03	4,52E-03	1,27E-03	6,30E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	b	5	9,09E-03	5,47E-03	1,20E-03	2,59E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	b	6	1,03E-02	8,39E-03	9,77E-04	7,17E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	c	0	5,03E-03	4,97E-04	1,56E-03	8,48E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	c	1	5,78E-03	1,15E-03	1,56E-03	5,91E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	c	2	6,40E-03	2,05E-03	1,54E-03	6,21E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	c	3	7,87E-03	3,61E-03	1,49E-03	6,54E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	c	4	7,43E-03	4,08E-03	1,51E-03	5,45E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	c	5	9,00E-03	6,30E-03	1,44E-03	5,24E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	120	c	6	1,03E-02	7,88E-03	1,39E-03	6,81E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	a	0	4,36E-03	5,24E-04	1,53E-03	5,94E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	a	1	6,64E-03	3,62E-03	1,47E-03	6,10E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	a	2	8,17E-03	6,39E-03	1,34E-03	6,00E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	a	3	9,22E-03	9,04E-03	1,21E-03	5,36E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	a	4	1,02E-02	7,58E-03	1,09E-03	4,33E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	a	5	1,08E-02	8,09E-03	9,11E-04	3,14E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	a	6	1,21E-02	9,61E-03	7,94E-04	2,25E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	b	0	4,36E-03	3,04E-04	1,55E-03	8,56E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	b	1	6,96E-03	3,18E-03	1,40E-03	6,27E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	b	2	8,39E-03	5,92E-03	1,32E-03	6,51E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	b	3	9,88E-03	7,18E-03	1,20E-03	4,96E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	b	4	1,10E-02	8,42E-03	1,03E-03	4,18E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	b	5	1,11E-02	8,56E-03	9,11E-04	2,72E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	b	6	1,17E-02	9,08E-03	7,83E-04	2,72E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	c	0	4,36E-03	1,38E-04	1,49E-03	8,56E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	c	1	6,91E-03	4,37E-03	1,45E-03	7,88E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	c	2	8,45E-03	6,01E-03	1,32E-03	5,28E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	c	3	9,40E-03	7,99E-03	1,20E-03	5,97E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	c	4	1,05E-02	1,01E-02	1,04E-03	3,71E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	c	5	1,05E-02	1,02E-02	9,32E-04	3,62E-04	-	-
HTO	α-Toc+ACQ	150	c	6	1,15E-02	8,55E-03	8,25E-04	2,36E-04	-	-

a,b,c: 3 répétitions; DC: dièns conjugués; LOOH: hydoperoxydes.

Annexe 2. Analyse statistique : Comparaison des pentes et des courbures des cinétiques d'oxydation enregistrées sur les huiles de tournesol (HT), tournesol oléique (HTO) et de colza (HC) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150 °C).
Une valeur <0,05 indique une différence significative entre les coefficients (pentes, courbures) des cinétiques.

Diènes conjugués

Comaraison des pentes

			HC			HT			HTO		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.49	0.00
Huile de colza	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**100**	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.24
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.00	0.49	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.00	0.24	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

Comparaison des courbures

			HC			HT			HTO		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.04	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.04	1.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**150**	0.14	0.01	1.00	0.00	0.03	0.00	0.40	0.47	0.04
Huile de tournesol	sans AH	**100**	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	0.00	0.03	0.00	1.00	0.37	0.01	0.04	0.17
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.37	1.00	0.00	0.00	0.01
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	0.00	0.01	0.40	0.00	0.01	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.00	0.00	0.47	0.00	0.04	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.04	0.00	0.17	0.01	0.00	0.00	1.00

Hydroperoxydes

Comaraison des pentes

			HC			HT			HTO		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.13	0.00
Huile de colza	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.01
Huile de tournesol	sans AH	**100**	0.00	0.05	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	0.00	0.03	0.00	1.00	0.00	0.00	0.01	0.22
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.00	0.13	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.01	0.00	0.22	0.00	0.00	0.00	1.00

Comparaison des courbures

			HC			HT			HTO		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.33	0.00	0.01	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.33	1.00	0.00	0.67	0.12	0.00	0.36	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**100**	0.01	0.67	0.00	1.00	0.14	0.00	0.20	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.04	0.12	0.00	0.14	1.00	0.00	0.21	0.77	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	0.00	0.36	0.00	0.20	0.21	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.77	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

Polymères

Comaraison des pentes

			HC			HT			HTO		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.01	1.00	0.01	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**150**	0.01	0.01	1.00	0.00	0.02	0.66	0.03	0.03	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**100**	0.00	0.03	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	0.00	0.02	0.00	1.00	0.00	0.20	0.48	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.66	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	0.00	0.00	0.03	0.00	0.20	0.00	1.00	0.74	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.00	0.00	0.03	0.00	0.48	0.00	0.74	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

Comparaison des courbures

			HC			HT			HTO		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.06	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.03	0.81	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**150**	0.06	0.03	1.00	0.03	0.11	0.76	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**100**	0.09	0.81	0.03	1.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	0.00	0.11	0.00	1.00	0.00	0.60	0.80	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.76	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	0.00	0.00	0.10	0.01	0.60	0.00	1.00	0.87	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.01	0.00	0.11	0.01	0.80	0.00	0.87	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

Annexe 3. Analyse statistique : Comparaison des pentes et des courbures des cinétiques d'oxydation enregistrées sur l'huile de colza (HC) en présence ou non d'antioxydants : α-tocophérol (AH1) et acide chlorogénique (AH2) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150 °C).

Comparaison des pentes

Diènes conjugués

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.85	0.00	0.00	0.07	0.16	0.00
Huile de colza	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1	**100**	0.00	0.85	0.00	1.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00
Huile de colza	AH1	**120**	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.01	0.12
Huile de colza	AH1	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**100**	0.00	0.07	0.00	0.01	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**120**	0.00	0.16	0.00	0.02	0.01	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.00	0.00	1.00

Hydroperoxydes

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.00	0.70	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.01	0.00	0.56	0.00	0.01	0.77
Huile de colza	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1	**100**	0.00	0.01	0.00	1.00	0.04	0.00	0.01	0.77	0.00
Huile de colza	AH1	**120**	0.70	0.00	0.00	0.04	1.00	0.00	0.32	0.04	0.00
Huile de colza	AH1	**150**	0.00	0.56	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.10
Huile de colza	AH1+AH2	**100**	0.00	0.00	0.00	0.01	0.32	0.00	1.00	0.01	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**120**	0.00	0.01	0.00	0.77	0.04	0.00	0.01	1.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**150**	0.00	0.77	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	1.00

Polymères

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01
Huile de colza	sans AH	**120**	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01
Huile de colza	sans AH	**150**	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00
Huile de colza	AH1	**100**	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01
Huile de colza	AH1	**120**	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01
Huile de colza	AH1	**150**	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00
Huile de colza	AH1+AH2	**100**	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01
Huile de colza	AH1+AH2	**120**	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01
Huile de colza	AH1+AH2	**150**	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00	0.01	0.01	1.00

Alpha-tocophérol

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de colza	sans AH	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de colza	sans AH	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de colza	AH1	**100**	-	-	-	1.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1	**120**	-	-	-	0.09	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1	**150**	-	-	-	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**100**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	1.00	0.09	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**120**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.09	1.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**150**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

Comparaison des courbures

Diènes conjugués

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.04	0.14	0.00	0.00	0.00	0.24	0.01	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.04	1.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**150**	0.14	0.01	1.00	0.53	0.02	0.00	0.43	0.85	0.67
Huile de colza	AH1	**100**	0.00	0.00	0.53	1.00	0.00	0.00	0.02	0.55	0.83
Huile de colza	AH1	**120**	0.00	0.00	0.02	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**100**	0.24	0.02	0.43	0.02	0.00	0.00	1.00	0.17	0.08
Huile de colza	AH1+AH2	**120**	0.01	0.00	0.85	0.55	0.00	0.00	0.17	1.00	0.75
Huile de colza	AH1+AH2	**150**	0.00	0.00	0.67	0.83	0.00	0.00	0.08	0.75	1.00

Hydroperoxydes

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.33	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	sans AH	**120**	0.33	1.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.12	0.12	0.00
Huile de colza	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1	**100**	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
Huile de colza	AH1	**120**	0.05	0.02	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.74
Huile de colza	AH1+AH2	**100**	0.00	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.84	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**120**	0.00	0.12	0.00	0.01	0.00	0.00	0.84	1.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.74	0.00	0.00	1.00

Polymères

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.06	1.00	0.00	0.06	1.00	0.00	0.06
Huile de colza	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.03	0.00	1.00	0.03	0.00	1.00	0.03
Huile de colza	sans AH	**150**	0.06	0.03	1.00	0.06	0.03	1.00	0.06	0.03	1.00
Huile de colza	AH1	**100**	1.00	0.00	0.06	1.00	0.00	0.06	1.00	0.00	0.06
Huile de colza	AH1	**120**	0.00	1.00	0.03	0.00	1.00	0.03	0.00	1.00	0.03
Huile de colza	AH1	**150**	0.06	0.03	1.00	0.06	0.03	1.00	0.06	0.03	1.00
Huile de colza	AH1+AH2	**100**	1.00	0.00	0.06	1.00	0.00	0.06	1.00	0.00	0.06
Huile de colza	AH1+AH2	**120**	0.00	1.00	0.03	0.00	1.00	0.03	0.00	1.00	0.03
Huile de colza	AH1+AH2	**150**	0.06	0.03	1.00	0.06	0.03	1.00	0.06	0.03	1.00

Alpha-tocophérol

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de colza	sans AH	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de colza	sans AH	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de colza	sans AH	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de colza	AH1	**100**	-	-	-	1.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1	**120**	-	-	-	0.19	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1	**150**	-	-	-	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**100**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	1.00	0.19	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**120**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.19	1.00	0.00
Huile de colza	AH1+AH2	**150**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

Annexe 4. Analyse statistique : Comparaison des pentes et des courbures des cinétiques d'oxydation enregistrées sur l'huile de tournesol (HT) en présence ou non d'antioxydants : α-tocophérol (AH1) et acide chlorogénique (AH2) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150 °C).
Une valeur <0,05 indique une différence significative entre les coefficients (pentes, courbures) des cinétiques.

Comparaison des pentes

Dienes conjugués

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**100**	0.03	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**120**	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.21
Huile de tournesol	AH1+AH2	**100**	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**120**	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.21	0.00	0.00	1.00

Hydroperoxydes

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.44	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.03
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**100**	0.44	0.00	0.00	1.00	0.00	0.01	0.02	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**120**	0.00	0.01	0.00	0.00	1.00	0.07	0.00	0.40	0.11
Huile de tournesol	AH1	**150**	0.01	0.00	0.00	0.01	0.07	1.00	0.00	0.24	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**100**	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**120**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.24	0.00	1.00	0.01
Huile de tournesol	AH1+AH2	**150**	0.00	0.03	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.01	1.00

Polymères

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.35	0.00	0.00	0.00	0.75	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.65	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.24	0.00	0.40	0.66
Huile de tournesol	AH1	**100**	0.35	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.77	0.00
Huile de tournesol	AH1	**120**	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.51	0.16
Huile de tournesol	AH1	**150**	0.00	0.00	0.24	0.00	0.00	1.00	0.00	0.33	0.22
Huile de tournesol	AH1+AH2	**100**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.68	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**120**	0.75	0.65	0.40	0.77	0.51	0.33	0.68	1.00	0.43
Huile de tournesol	AH1+AH2	**150**	0.00	0.00	0.66	0.00	0.16	0.22	0.00	0.43	1.00

Alpha-tocophérol

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol	sans AH	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol	sans AH	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol	sans AH	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol	AH1	**100**	-	-	-	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**120**	-	-	-	0.03	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**150**	-	-	-	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**100**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	1.00	0.21	0.03
Huile de tournesol	AH1+AH2	**120**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.21	1.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**150**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	1.00

Comparaison des courbures

Dienes conjugués

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.37	0.02	0.71	0.34	0.00	0.02	0.75
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.37	1.00	0.00	0.13	0.78	0.00	0.00	0.37
Huile de tournesol	AH1	**100**	0.00	0.02	0.00	1.00	0.00	0.00	0.13	0.65	0.00
Huile de tournesol	AH1	**120**	0.00	0.71	0.13	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.12
Huile de tournesol	AH1	**150**	0.00	0.34	0.78	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.14
Huile de tournesol	AH1+AH2	**100**	0.00	0.00	0.00	0.13	0.00	0.00	1.00	0.02	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**120**	0.00	0.02	0.00	0.65	0.00	0.00	0.02	1.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**150**	0.00	0.75	0.37	0.00	0.12	0.14	0.00	0.00	1.00

Hydroperoxydes

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol	sans AH	**100**	1.00	0.14	0.00	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.14	1.00	0.00	0.71	0.66	0.08	0.26	0.93	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**100**	0.00	0.71	0.00	1.00	0.05	0.00	0.03	0.44	0.00
Huile de tournesol	AH1	**120**	0.00	0.66	0.00	0.05	1.00	0.00	0.00	0.19	0.00
Huile de tournesol	AH1	**150**	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**100**	0.09	0.26	0.00	0.03	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**120**	0.00	0.93	0.00	0.44	0.19	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00

Polymères

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.42	0.94	0.00
Huile de tournesol	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.02
Huile de tournesol	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.76	0.04	0.00	0.85	0.55
Huile de tournesol	AH1	**100**	0.03	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.87	0.00
Huile de tournesol	AH1	**120**	0.00	0.00	0.76	0.00	1.00	0.03	0.00	0.86	0.46
Huile de tournesol	AH1	**150**	0.00	0.00	0.04	0.00	0.03	1.00	0.00	0.68	0.25
Huile de tournesol	AH1+AH2	**100**	0.42	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.95	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**120**	0.94	1.00	0.85	0.87	0.86	0.68	0.95	1.00	0.80
Huile de tournesol	AH1+AH2	**150**	0.00	0.02	0.55	0.00	0.46	0.25	0.00	0.80	1.00

Alpha-tocophérol

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol	sans AH	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol	sans AH	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol	sans AH	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol	AH1	**100**	-	-	-	1.00	0.64	0.63	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**120**	-	-	-	0.64	1.00	0.99	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1	**150**	-	-	-	0.63	0.99	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol	AH1+AH2	**100**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	1.00	0.74	0.48
Huile de tournesol	AH1+AH2	**120**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.74	1.00	0.72
Huile de tournesol	AH1+AH2	**150**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.48	0.72	1.00

Annexe 5. Analyse statistique : Comparaison des pentes et des courbures des cinétiques d'oxydation enregistrées sur l'huile de tournesol oléique (HTO) en présence ou non d'antioxydants : α-tocophérol (AH1) et acide chlorogénique (AH2) aux différentes températures de chauffage (100, 120 et 150 °C). Une valeur <0,05 indique une différence significative entre les coefficients (pentes, courbures) des cinétiques.

Comparaison des pentes

Dienes conjugués

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.57	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.11
Huile de tournesol oléique	AH1	**100**	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**120**	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.18	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**150**	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.87
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**100**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**120**	0.57	0.00	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**150**	0.00	0.00	0.11	0.00	0.00	0.87	0.00	0.00	1.00

Hydroperoxydes

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.08	0.00	0.00	0.42
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**100**	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**120**	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.09	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**150**	0.00	0.08	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.03
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**100**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**120**	0.00	0.00	0.00	0.12	0.09	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**150**	0.00	0.42	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	1.00

Polymères

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	1.00	0.74	0.00	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.74	1.00	0.00	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Alpha-tocophérol

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1	**100**	-	-	-	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**120**	-	-	-	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**150**	-	-	-	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**100**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	1.00	0.62	0.76
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**120**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.62	1.00	0.27
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**150**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.76	0.27	1.00

Comparaison des courbures

Dienes conjugués

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.00	0.17	0.00	0.00	0.33	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.86	0.00	0.00	0.14	0.02	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**100**	0.00	0.86	0.00	1.00	0.00	0.00	0.10	0.02	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**120**	0.17	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.72	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.34
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**100**	0.00	0.14	0.00	0.10	0.00	0.00	1.00	0.15	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**120**	0.33	0.02	0.00	0.02	0.72	0.00	0.15	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.34	0.00	0.00	1.00

Hydroperoxydes

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	1.00	0.00	0.00	0.00	0.16	0.00	0.00	0.90	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**100**	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**120**	0.16	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.09	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.01
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**100**	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**120**	0.90	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	1.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**150**	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	1.00

Polymères

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	1.00	0.87	0.00	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	0.87	1.00	0.00	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	0.00	0.00	1.00	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Alpha-tocophérol

			sans AH			AH1			AH1+AH2		
		Température	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**	**100**	**120**	**150**
Huile de tournesol oléique	sans AH	**100**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	sans AH	**120**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	sans AH	**150**	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huile de tournesol oléique	AH1	**100**	-	-	-	1.00	0.64	0.63	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**120**	-	-	-	0.64	1.00	0.99	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1	**150**	-	-	-	0.63	0.99	1.00	0.00	0.00	0.00
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**100**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	1.00	0.74	0.48
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**120**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.74	1.00	0.72
Huile de tournesol oléique	AH1+AH2	**150**	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.48	0.72	1.00

Mesure et prédiction de la réactivité des lipides au cours du chauffage d'huiles végétales à haute température

RESUME - Si les lipides contribuent à la valeur nutritionnelle et sensorielle de nombreux aliments, ils sont particulièrement sensibles aux réactions d'oxydation. Les principaux mécanismes mis en jeu lors de l'oxydation des acides gras insaturés sont relativement bien connus. En revanche, il est aujourd'hui quasiment impossible de prédire l'avancement des réactions et souvent nécessaire de recommencer une nouvelle étude de stabilité oxydative pour tout nouveau couple produit alimentaire / procédé de transformation. L'objectif de la thèse est donc de construire un modèle mécanistique couplé à un modèle de transfert de l'oxygène dans le but de prédire l'avancement des réactions d'oxydation dans un milieu lipidique continu et dans des conditions expérimentales définies et contrôlées (température, oxygénation, composition en acides gras, composition en antioxydants).
Pour cela, un schéma réactionnel visant à détailler l'ensemble des réactions impliquées dans le phénomène d'auto-oxydation des lipides a été proposé puis un modèle stoechio-cinétique a été construit à partir des valeurs des paramètres cinétiques issues de la littérature. La réactivité des acides gras insaturés présents dans trois huiles végétales d'usage courant (colza, tournesol, tournesol oléique), purifiées de leurs antioxydants naturels, a été étudiée entre 80 et 180°C, en suivant différents marqueurs d'oxydation (diènes conjugués, hydroperoxydes, aldéhydes, polymères). Comme attendu, les cinétiques d'oxydation se sont avérées dépendantes de la composition des huiles en acides gras, de la température et des conditions d'oxygénation. L'ajout d'antioxydant(s) a confirmé l'effet protecteur de l'α-tocophérol, qui n'a pas été amélioré par un enrichissement en acide chlorogénique, acide phénolique naturellement présent dans les graines de tournesol. Les résultats obtenus ont été utilisés pour valider le modèle développé, dont les prédictions permettent de reproduire les tendances expérimentales. Deux limitations ont été mises en évidence au cours de cette phase de validation dont la première concerne la description fiable et précise du mécanisme d'oxygénation du milieu, qu'il sera nécessaire de mesurer dans une huile à haute température pour valider le modèle d'oxydation. Par ailleurs, compte tenu du nombre important de réactions prises en compte, il sera indispensable de disposer d'un jeu de données expérimentales plus important, pouvant inclure des intermédiaires radicalaires. Pour cela, les potentialités de la résonance paramagnétique électronique ont été étudiées au cours de ce travail, à la fois pour suivre les radicaux lipidiques et pour accéder à des paramètres cinétiques pour des réactions radicalaires, peu disponibles dans la littérature.

MOTS-CLES – oxydation, lipides, acides gras insaturés, huile végétale, colza, tournesol, tournesol oléique, cinétique réactionnelle, modélisation, résonance paramagnétique électronique.

Measurement and prediction of lipid reactivity during heating of edible oils at high temperatures

ABSTRACT – If lipids contribute to nutritional and sensorial properties of many foodstuf, they are particularly sensitive to oxidation reactions. The main mechanisms involved in the oxidation of unsaturated fatty acids are already well-known. However, it is almost impossible to predict the progress of oxidative reactions and often necessary to develop new studies of oxidative stability for each new food product / processing.
The aim of this study is to develop a mechanistic model coupled to oxygen transfer in order to predict the evolution of oxidation reactions in a bulk lipid system and in defined and controlled experimental conditions (temperature, oxygenation, fatty acids' composition, antioxidants' composition).
Thus, a reaction scheme detailing all the reactions involved in the oxidation phenomenon was proposed and a stoichio-kinetic model was built on the basis of conservation equations and kinetic parameters available in literature. The reactivity of unsaturated fatty acids contained in three usual edible oils (rapeseed, sunflower, high oleic sunflower), previously stripped of their natural antioxidants, was studied between 80 and 180 °C, following several oxidation markers (conjugated dienes, hydroperoxides, aldehydes, polymers). As expected, oxidation kinetics depended on fatty acids' composition of oils, on temperature and on oxygen availability. The addition of antioxidant(s) confirmed the protective effect of α-tocopherol, which was not improved by the enrichment in chlorogenic acid, a phenolic acid naturally occurring in sunflower seeds. The experimental data were used to validate the model which predictions reproduce experimental tendencies. Two limitations were identified during model validation. The first is the accurate description of the oxygenation mechanism of the medium which need to be measured in oil at high temperatures. Moreover, given the large number of reactions taken into account, it is essential to have a set of more important experimental data which include radical intermediates. For this, the potential of electron spin resonance spectroscopy was evaluated in this in order to follow lipid radical species and access to kinetic parameters of radical reactions, few available in literature.

KEYWORDS – oxidation, lipids, unsaturated fatty acids, edible oil, rapeseed, sunflower, oleic sunflower, oxidation kinetic, modelling, electron spin resonance.