



HAL
open science

Fractionnement par cristallisation extractive à froid des acides gras libres et des triglycérides de l'huile de *Nephelium Lappaceum* L. (Ramboutan) : oxygénation et enrichissement en acides gras particuliers

Gré Véronique Douniama-Lonn

► To cite this version:

Gré Véronique Douniama-Lonn. Fractionnement par cristallisation extractive à froid des acides gras libres et des triglycérides de l'huile de *Nephelium Lappaceum* L. (Ramboutan) : oxygénation et enrichissement en acides gras particuliers. Sciences agricoles. Institut National Polytechnique de Toulouse - INPT, 2018. Français. NNT : 2018INPT0129 . tel-04218613

HAL Id: tel-04218613

<https://theses.hal.science/tel-04218613v1>

Submitted on 26 Sep 2023

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.



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (Toulouse INP)

Discipline ou spécialité :

Sciences des Agroressources

Présentée et soutenue par :

Mme GRE VERONIQUE DOUNIAMA-LONN

le samedi 17 novembre 2018

Titre :

Fractionnement par cristallisation extractive à froid des acides gras libres et des triglycérides de l'huile de *Nephelium Lappaceum* L. (Ramboutan) -
Oxygénation et enrichissement en acides gras particuliers.

Ecole doctorale :

Sciences de la Matière (SDM)

Unité de recherche :

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle (L.C.A.)

Directeur(s) de Thèse :

M. ZEPHIRIN MOULOUNGUI

M. JEAN-MAURILLE OUAMBA

Rapporteurs :

M. MICHEL MVOULA-TSIERI, ENSAF BRAZZAVILLE

M. THIERRY DURAND, CNRS

Membre(s) du jury :

M. YAYA MAHMOUT, UNIVERSITE N'DJAMENA, Président

M. AUBIN NESTOR LOUMOUAMOU, ENS BRAZZAVILLE, Membre

M. JEAN-MAURILLE OUAMBA, UNIVERSITE MARIEN NGOUABI BRAZZAVILLE, Membre

Mme MARTINE URRUTIGOITY, INP TOULOUSE, Membre

M. ZEPHIRIN MOULOUNGUI, INRA TOULOUSE, Membre



Année : 2018

N° d'ordre : _____

THESE

pour l'obtention du diplôme de **Doctorat**

Domaine : *Sciences et Technologies (STE)*
Parcours : *Ecotechnologie, Valorisation du Végétal et bio-Santé (SEV)*
Spécialité : *Valorisation de Plantes Aromatiques, Alicamentaires et Médicinales (VPAM)*
Option : *Chimie et Technologie des Extraits des Végétaux Bioactifs (CTEB)*

présentée et soutenue publiquement
à la Faculté des Sciences et Techniques de Brazzaville

le 17 novembre 2018

par

DOUNIAMA-LÖNN Véronique Gré
Master ès Sciences et Techniques

TITRE

Fractionnement par cristallisation à froid extractive des Acides gras libres et des triglycérides de l'huile de *Nephelium lappaceum* L. (Ramboutan) – Oxydation et enrichissement en acides gras particuliers

DIRECTEURS DE THESE

OUAMBA Jean-Maurille
MOULOUGUI Zéphirin

Professeur Titulaire CAMES, UMNG (Congo)
Directeur INRA, Toulouse (France)

COMPOSITION DU JURY

Président :	Yaya MAHMOUT,	Professeur Titulaire CAMES, Université N'Djamena
Rapporteur externe :	Thierry DURANT,	Directeur de Recherche ENSCM, Université de Montpellier
Rapporteur interne :	Michel M'VOULA TSIERI,	Professeur Titulaire CAMES, Université Marien N'GOUABI
Examineur externe :	Martine URRUTIGOITY	Professeur, Université Toulouse
Examineur interne :	Aubin Nestor LOUMOUAMOU,	Professeur Titulaire CAMES Université Marien N'GOUABI
Directeurs de thèse :	Zéphirin MOULOUGUI,	Directeur de recherche INRA, Université Toulouse
	Jean-Maurille OUAMBA,	Professeur Titulaire CAMES, Université Marien N'GOUABI



DÉDICACE

*A Toi mon Paracletos Allos,
toute ma reconnaissante.*

*A mes parents, Léa Françoise Mathilde et Damase DOUNIAMA,
avec tout mon Amour,
pour le soutien inconditionnel.*

*A mes sœurs et mes frères,
Vey-m, Nice, Jole, Doli, Fanfan et Way,
avec toute mon affection,
pour l'assistance durant les quatre années de travail exigeant.*

A ma famille de cœur :

- Grâce Gisèle TSIMBA, Sidrine Kerthy KOUMBA-IBINGA, Jeanne TAWA MADIEDE
- Rykiel NGANGA
- Hervé AHOOUNOGO, Sath PACKA,

*Prière trouver ici l'expression de ma reconnaissance
pour le soutien, les encouragements et l'assistance dont j'ai bénéficié.*

« Cela semble toujours impossible jusqu'à ce qu'on le fasse »
Nelson Mandela

« C'est votre attitude bien plus que votre aptitude qui détermine votre altitude »
Zig Ziglar

« L'échec est un détour et non une impasse »
Zig Ziglar

LISTE DES ENSEIGNANTS-CHERCHEURS ET CHERCHEURS DE RANG A PERMANENTS ET EN MISSION A LA FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

A. ENSEIGNANTS-CHERCHEURS PERMANENTS DE RANG A

A.1. PROFESSEURS EMERITES (03)

01	GOMBE MBALAWA Charles	Cancérologue
02	MIALOUNDAMA Fidèle	Physiologie végétale
03	SILOU Thomas	Chimie organique physique, Chimie alimentaire

A.1. PROFESSEURS TITULAIRES (18)

01	ABENA Antoine Ange	Pharmacologie
02	ATTIBAYEBA	Physiologie végétale
03	BISSANGA Gabriel	Mathématiques appliquées : Théorie des perturbations
04	BOSSOTO Guy Basile Richard	Mathématiques pures : Géométrie
05	DIATEWA Martin	Biochimie
06	IBARA Jean-Rosaire	Gastro-entérologie
07	KISSITA Gabriel	Mathématiques appliquées : Statistiques
08	LOUMOUAMOU Aubin Nestor	Chimie alimentaire, Chimie des huiles essentielles, Didactique de chimie
09	MAKANY Roger Armand	Mathématiques appliquées : Statistiques
10	MAMPASSI Benjamin	Professeur, Mathématiques appliquées
11	M'PASSI MABIALA Bernard	Physique de la Matière condensée
12	MOUSSOUNDA Paul Sand	Physique Théorique
13	MVOULA TSIERI Michel	Biochimie,
14	NSONGO Timothée	Physique des Matériaux
15	NZIKOU Jean Mathurin	Génie des procédés
16	ONGOKA Pascal Robin	Chimie organique, Phytochimie
17	OUAMBA Jean-Maurille	Chimie organique physique, Chimie des huiles essentielles, Phytochimie, Ecotechnologie
18	PEKO Jean Félix,	Professeur Titulaire CAMES, Anatomie pathologique

A.2. PROFESSEURS TITULAIRES SOUS CONTRAT (09)

01	EKOUYA Alphonse	Chimie organique
02	KINKELA Thérèse	Nutrition
03	KOBAWILA Simon Charles	Microbiologie
04	MAMPOUYA David	Chimie organique physique, Catalyse, Chimie alimentaire
05	MIZERE Dominique	Mathématiques appliquées : Statistiques
06	NGANGA Dominique	Physique de l'atmosphère
07	NKOUNKOU Hilaire	Mathématiques appliquées : Analyse Numérique
08	OKASSA Eugène	Mathématiques
09	VOUIDIBIO Joseph	Génétique des populations

A.3. MAÎTRES DE CONFERENCES ET MAÎTRES DE CONFERENCES AGREGES (25)

01	AHOMBO Gabriel	Biochimie, Microbiologie et Biologie moléculaire
02	BATCHI Macaire	Mathématiques appliquées : Mécanique des fluides
03	BELO Maurice	Immunologie
04	BOUDZOU MOU Florent	Géosciences
05	BOUKA BIONA Clobite	Physique de l'atmosphère
06	DIMI Jean-Luc	Mathématiques appliquées : Théorie des processus stochastiques
07	ELENGA Raymond Gentil	Physique
08	ENZONGA YOCA Saturnin	Physique atomique
09	LENGA Arsène	Biologie et Physiologie Animale : Bio-écologie animale
10	LILONGA Désiré	Electronique, Electromagnétisme
11	LOUMETO Jean-Noël	Ecologie végétale
12	LOUMOUAMOU Aubin	Pédagogie universitaire
13	MABIALA Bernard	Mécanique
14	MALONDA MBOUNGOU Brice R.	Physique : Physique théorique, Physique de la matière condensée
15	MALOUMBI Marie Geneviève	Nutrition, Analyse instrumentale
16	MBEMBA François	Nutrition
17	MOYEN Rachel	Biochimie et Microbiologie
18	MOUKAMBA Fidèle	Mathématiques pures : Analyse
19	MOUTOU Joseph-Marie Saint-Bastia	Chimie des Matériaux Inorganiques
20	N'GOKA Victor	Chimie organique
21	NGUIMBI Etienne	Biochimie et Microbiologie
22	NSIKABAKA Samuel	Chimie organique physique
23	OBENGUI	Infectiologie
24	TCHOUMOU Martin	Chimie minérale, Chimie industrielle, Chimie de l'eau
25	YOKA Joseph	Ecologie végétale

**B. CHERCHEURS PERMANENTS DE LA DELEGATION GENERALE
A LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE (CONGO)**

B.1. DIRECTEUR DE RECHERCHES (01)

01 DIAMOUANGANA Jean Directeur de recherches, Ecologie

B.2. MAÎTRES DE RECHERCHE (02)

01 MABANZA Joseph Physiologie,
02 TATI Jean-Pierre Physicochimie de l'environnement

C. ENSEIGNANTS EN MISSION (62)

01 ADJOVI Codjo Edmond Professeur Titulaire CAMES, Génie civil,
Université Polytechnique d'Abomey (Bénin)
02 AFFATON Pascal Professeur, Géologie, Aix Marseille Université (France)
03 AGNANIET Huguette Maître de Conférences, Chimie des Substances Naturelles, Université des
Sciences et Techniques de Masuku (Gabon)
04 AGBONON Amegnona Maître de Conférences CAMES, Physiologie animale, Toxicologie,
Université de Lomé (Togo)
05 ABDOULAYE Alassane Professeur Titulaire CAMES, Chimie des Matériaux Inorganique,
Université Abdou Moumouni de Niamey (Niger)
06 BACHIR Saley Professeur Titulaire CAMES, Télédétection,
Université de Cocody (Côte d'Ivoire)
07 BAKARI ABBO Maître de Conférences CAMES, Mathématiques, Université de N'Djaména
(Tchad)
08 BARRO Dakarya Maître de Conférences CAMES, Mathématiques, Université de Ouaga 2
(Burkina Faso)
09 BASHWIRA SANVURA Augustin Professeur Titulaire CAMES, Chimie,
Université Catholique de Bukavu (RD Congo)
10 BERTRAND Yves Professeur des Universités, Génie civil,
Université Pierre et Marie Curie, Paris (France)
11 BIKANGA Raphaël Maître de Conférences CAMES, Chimie organique et Phytochimie,
Université des Sciences et Techniques de Masuku, Franceville (Gabon)
12 BILLARD Thierry Maître de Conférences, Synthèse organique, Université de Lion 1 (France)
13 BITJONG Ndombol Professeur, Mathématiques
Université de Yaoundé I (Cameroun)
14 BONOSE-CROSNIER Maître de Conférences, Chimie Analytique Instrumentale, Université Paris
de BELLAISTRE Myriam Sud (France)
15 BRUNET Christine Ingénieur Recherche et Développement,
CRIPT-Horticole, Rochefort - France
16 CHAMINADE Pierre Professeur, Chimie Analytique Instrumentale, Université Paris Sud
(France)
17 CHALARD Pierre Maître de Conférences, Chimie organique, Ecole Nationale Supérieure de
Chimie de Clermont Ferrand (France)
18 CHALCHAT Jean-Claude Maître de Conférences, Chimie organique, Université de Clermont Ferrand
II (France)
19 CODOU Mar Diop Professeur Titulaire CAMES, Chimie de l'eau, environnement
Université Cheikh Anta Diop, Dakar (Sénégal) ;
20 DE CLERCQ Patrick Professeur, Agro-Zoologie,
Université de Gand, Faculté Biosciences Engineering
Gent-Belgique
21 DIKANDE Alain Maître de Conférences, Physique théorique,
Université de Buea (Cameroun)
22 DURAND Jacques-Pierre Docteur en Géologie, Total E & P Congo,
Pointe-Noire (Congo)
23 DURAND Thierry Directeur de Recherche ENSCM, Synthèse des lipides bioactifs, Université
de Montpellier (France)
24 EPRON Daniel Professeur, Ecophysiologie,
Université de Nancy I (France)
25 FALL Meissa Professeur Titulaire CAMES, Génie civil,
Université de Thiès (Sénégal)
26 FLAMENT Jean-Marie Professionnel de Total Professeurs Associés, Géologue,
France
27 GARIN François Directeur de Recherche Emérite, Discipline,
ICPEES-UMR 7515 (France)
28 GBEASSOR Messanvi Professeur Titulaire CAMES, Physiologie animale, Toxicologie,
Pharmacologie (Togo)
29 GERBAUD Vincent Directeur de Recherche INRA, Thermodynamique moléculaire et procédés,
Université de Toulouse (France)

30	GIRESSSE Pierre	Professeur, Géologue, Université de Perpignan (France)
31	HERON Sylvie	Maître de Conférences HDR, Chimie Analytique Instrumentale, Université Paris Sud (France)
32	HILI Ouagnina	Professeur, Mathématiques appliquées, Institut National Polytechnique Houphouët Boigny (Côte d'Ivoire)
33	HINGAMP Pascal	Maître de conférences HDR, Bio-informatique, Aix Marseille Université (France)
34	HONTINFINDE Félix	Professeur Titulaire CAMES, Physique, Université d'Abomey-Calavi (Bénin)
35	HOUNHOUIGAN Joseph	Professeur, Biologie Moléculaire, Université d'Abomey-Calavi (Bénin)
36	KAPSEU César	Professeur, Génie des Procédés, Université de N'Gaoundéré (Cameroun)
37	LO Samb Gane	Professeur Titulaire CAMES, Mathématiques, Université Gaston Berger de Saint-Louis - Sénégal
38	LUBO MUSONGELA	Professeur, Radioactivité et effets ionisants, Université de Kinshasa (RDC)
39	MAHMOUT Yaya	Professeur Titulaire CAMES, Chimie des Substances Naturelles, Université de N'Djaména (Tchad)
40	MALUMBA MUKAYA Augustin	Professeur, Chimie, Université de Kinshasa (RD Congo)
41	MBAYA NTUMBULA Alexandre	Professeur, Biologie végétale, Université Pédagogique Nationale de Kinshasa (RD Congo)
42	MALOU Raymond	Professeur Titulaire CAMES, Hydrologie Université Cheikh Anta Diop, Dakar (Sénégal)
43	MKANKAM KAMGA François	Professeur, Optique et de Physique atmosphère, Université de Yaoundé I (Cameroun)
44	MONZAMBE MAPUNZU K. Paul	Professeur, Zootechnie, Université de Kinshasa (RD Congo)
45	MORGAN Pierre	Professeur, Mathématiques appliquées, Université de Poitiers (France)
46	MOULOUNGUI Zéphirin	Directeur de Recherches INRA, Lipo-Protéo-Oléochimie, INRA/INPT- ENSIACET, Toulouse (France)
47	NDJAKA Jean-Marie	Maître de Conférences, Physique des Matériaux, Université de Yaoundé I (Cameroun)
48	NIKIEMA Jean-Baptiste	Professeur Titulaire CAMES, Discipline, Université de Ouagadougou (Burkina Faso)
49	NDJONKA Dieudonné	Maître de Conférences HDR, Biochimie Parasitaire, Université de Ngaoundéré (Cameroun)
50	NOACK Yves	Directeur de Recherche, Géologue, CNRS/CEREGE, France
51	OUOBA Labia Irène Ivette	Senior Research Scientist, Biochimie et microbiologie appliquées, London Metropolitan University,
52	RIHET Pascal	Professeur, Immunogénétique Université d'Aix Marseille
53	SEDDOH Francisco Komlanvi	Professeur Titulaire CAMES, Géologue Université de Lomé (Togo)
54	SIFFERMAN Jean-Marc	Professeur, Chimie Ecole Agrotech Paris (France)
55	SOME Blaise	Professeur, Analyse numérique, Université de Ouagadougou (Burkina Faso)
56	SOME Longin	Maître de Conférences, Analyse numérique, Université de Ouagadougou (Burkina Faso)
57	SOW El Hadji	Professeur, Géologue, Université Cheikh Anta Diop, Dakar (Sénégal)
58	SUZOR-WEINER Annick,	Professeur Emérite, Physique, Université Paris-Sud
59	TCHAPLA Alain	Professeur Emérite, Chimie Analytique Instrumentale, Université Paris Sud (France)
60	THIERY Valérie	Professeur, Chimie organique, Chimie verte Université de la Rochelle (France)
61	THIBAudeau Sébastien	Professeur, Synthèses organique, Université de Poitiers (France)
62	VAN DAMME Patrick	Professeur, Ethnobotanique, Université de Gand, Faculté Biosciences Engineering, Gent - Belgique

REMERCIEMENTS

Ce manuscrit est le fruit des travaux de recherche effectués en cotutelle entre l'Université Marien Ngouabi, Brazzaville (Congo) et l'Institut National Polytechnique de Toulouse (France).

J'exprime ma profonde gratitude à mes deux codirecteurs de thèse :

- A Monsieur **Jean-Maurille OUAMBA**, Professeur Titulaire CAMES, Vice-Recteur chargé des Affaires Académiques de l'Université Marien Ngouabi et Responsable de l'Unité de Chimie du Végétal et de la Vie (UC2V), siège du Pôle d'Excellence Régional de l'Agence Universitaire de la Francophonie « *Formation et Recherche sur la Pharmacopée et la Médecine Traditionnelles Africaines* », du Programme Thématique de Recherche « *Pharmacopée et la Médecine Traditionnelle Africaines* » du CAMES et du programme de formation en Master et Doctorat « *Ecotechnologie, Valorisation du Végétal et bio-Santé* » (UC2V/PER-AUF-PMTA/PTR-PMTA-CAMES/MD-SEV).

Il m'a accepté dans son groupe de recherche.

Il a négocié et obtenu auprès de Campus France à travers le Service de Coopération et d'Action Culturelle près l'Ambassade de France au Congo, la bourse de formation à la recherche du Gouvernement français dont j'ai bénéficié et qui m'a permis de m'insérer dans le programme de mobilité internationale quatre années durant.

Je le remercie pour la confiance qu'il m'a accordée et l'accompagnement fort pendant toute la période d'exécution de ce projet.

- A Monsieur **Zéphirin MOULOUNGUI**, Directeur de Recherche INRA, Responsable de l'équipe de « *Réactivité Chimique des Agromolécules- Lipochimie* » (RCAML) au Laboratoire de Chimie Agroindustrielle (LCA) de Toulouse.

Merci pour votre patience et l'accompagnement tout au long de ce projet.

Merci pour le savoir transmis et pour la grande expérience dont j'ai bénéficié pendant les quatre années de travail.

J'exprime ma profonde reconnaissance :

- A Monsieur **Gérard VILLAREM**, Ingénieur de recherche INRA, Directeur du Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle ;
- A Monsieur **Carlos VACA GARCIA**, Professeur des Universités, Directeur-Adjoint du Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle ;

pour l'accueil chaleureux au sein du laboratoire et pour leur simplicité, leur bonne humeur et les conseils précieux qui m'ont aidée à mener ce projet à terme.

Ce projet a bénéficié des appuis financiers inestimables sans lesquels il n'aurait pas été mené à termes. J'exprime mes vifs remerciements :

- au Service de Coopération et d'Action Culturelle (SCAC) près l'Ambassade de France au Congo qui a mis à ma disposition la bourse de formation à la recherche en alternance sur quatre années ;
- aux autorités académiques de l'Institut National Polytechniques de Toulouse et de l'Université Marien Ngouabi, pour les compléments de bourse accordés pendant toute la durée de développement des travaux;

J'exprime mes remerciements sincères à tous les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail en dépit de leurs nombreuses occupations :

- Monsieur **Yaya MAHMOUT**, Professeur Titulaire CAMES de l'Université N'Djamena et Recteur de l'Université de Sarh (Tchad), pour l'honneur qu'il me fait de présider ce jury ;
- Monsieur **Thierry DURANT**, Directeur de Recherche INRA, Institut des Biomolécules Max Mousseron (France), qui a accepté de participer à ce jury en qualité de Rapporteur externe pour le compte de l'Institut National Polytechnique de Toulouse ;
- Monsieur **Michel MVOULA TSIERI**, Professeur Titulaire CAMES, Université Marien Ngouabi (Congo), qui a accepté de participer à ce jury en qualité de Rapporteur interne pour le compte de l'Université Marien Ngouabi ;
- Madame **Martine URRUTIGOITY**, Professeur ENSIACET-INP, Université de Toulouse (France), qui a accepté de participer à ce jury en qualité d'examineur externe pour le compte de l'Institut National Polytechnique de Toulouse ;
- Monsieur **Aubin Nestor LOUMOUAMOU**, Professeur Titulaire CAMES, Université Marien Ngouabi (Congo), qui a accepté de participer à ce jury en qualité d'examineur interne pour le compte de l'Université Marien Ngouabi.

Enfin je remercie tout particulièrement :

- Monsieur **Hubert MAKOMO**, Maître-Assistant CAMES, Responsable du parcours de chimie en Licences ès Sciences et Techniques de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Marien Ngouabi, pour sa compréhension et son indulgence. Il a facilité mes absences pour les mobilités internationales;
- les membres de l'Unité de Chimie du Végétal et de la Vie, et particulièrement : Madame **Célestine NKOUNKOU LOUMPANGOU épouse NGOMA**, Messieurs **Adolphe Christian NGAKEGNI LIMBILI**, **Fredy Gélase NSONDE NTANDOU**, **Cyr Jonas MORABANDZA**, **Arnaud Wilfrid ETOU OSSIBI**, **GOUOLLY TSIBA**, **Arnold Murphy ELOUMA NDINGA** et **Longin Justin Clair BONAZABA MILANDOU**, pour les encouragements et l'amitié exprimée qui ont contribué à l'aboutissement heureux de ce projet ;
- tout le personnel du Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle, et particulièrement :
 - Madame **Muriel CERNY** et Messieurs **Éric LACROUX**, **Romain VALENTIN**, **Jean-François FABRE**, pour leur implication au projet et les conseils ;
 - Monsieur **Thierry TALOU** pour les sorties organisées dans les stades de Rugby et de Basket ;
 - Monsieur **Romain ARMENGO**, pour les conversations qui sortaient quelquefois du quotidien du Laboratoire ;
 - Madame **Emmanuelle DAO** et Monsieur **Othman MERHA** pour la grande sympathie exprimée.
- tous les collègues de la promotion Faculté des Sciences et Techniques à l'Université Marien Ngouabi, pour les encouragements mutuels qui m'ont aidée à rester motivée jusqu'au bout.
- les collègues doctorants du Laboratoire de Chimie Agro-Industrielles, pour l'accueil chaleureux qui a facilité mon intégration et surtout à toi Hermine pour tes conseils.

Que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'accomplissement de cette œuvre, trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

SIGLES ET ABRÉVIATIONS

GC/DIF :	Chromatographie en phase gazeuse/Détecteur à ionisation de flamme
RMN¹H :	Résonance Magnétique Nucléaire du proton
RMN¹³C :	Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13
IR :	Infrarouge
DRX :	Diffraction des rayons X
ATG :	Analyse thermogravimétrique
DSC :	Differential scanning calorimetry
F1RS :	Fraction solide
F1RI :	Fraction liquide
F1R :	Acides gras libres
CDCl₃ :	Chloroforme deutéré
AGS :	Acides gras saturés
AGI :	Acides gras insaturés
AGT :	Acides gras de tournesol
AGMI :	Acides gras monoinsaturés
AGILR :	Acides gras Insaturés Libres de Ramboutan
MAG :	Monoacylglycérols
DAG :	Diacylglycérols
TAG :	Triacylglycérols
AG-OOH :	Acides gras hydroperoxydés
MAG-OOH :	Monoglycérides hydperoxydés
AGL :	Acides gras libres
AG :	Acides gras
HR :	Huile de <i>ramboutan</i>

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 :	Le marché oléochimique des acides C20 :0 et C22 :0	10
Figure I.2 :	Production mondiale d'huiles et de graisses végétales	11
Figure I.3 :	Exemple d'acides gras courants à longues chaînes	14
Figure I.4 :	Oxydation enzymatique des acides gras libres	18
Figure I.5 :	Différents peroxomolybdates formés par le système H_2O_2/MoO_4^{2-} en milieu acide ou basique	21
Figure I.6:	Diagramme de prédominance du système H_2O_2/MoO_4^{2-} en fonction du pH et de la concentration du H_2O_2	21
Figure I.7:	Représentation schématique de trois types de systèmes polyphasiques	22
Figure I.8 :	Réaction d'hydroxylation allylique de l'acide oléique	24
Figure II.1:	Image du fruit de <i>Nephelium lappaceum L.</i> et des amandes après décorticage du fruit	32
Figure II.2 :	Photo Broyeur de type IKA	33
Figure II.3 :	Image d'une extraction au soxhlet	33
Figure II.4 :	Technologie de gélification/ dégelification	35
Figure II.5 :	Photo réacteur de la réaction d'oxydation allylique des acides gras insaturés libres	36
Figure II.6:	Photo de l'appareil Varian de chromatographie en phase gazeux	40
Figure II.7 :	Photo du spectrophotomètre Perkin-Elmer IR-TF (infrarouge à transformateur de Fourier)	40
Figure II.8:	Photo de l'appareil DSC	43
Figure II.9 :	Photo d'un diffractomètre PANalytical X'Pert Pro θ/θ	44
Figure II.10 :	Schéma didactique des différentes étapes de cette étude	45
Figure III.1 :	Comparaison des différentes teneurs de l'huile de <i>Nephelium Lappaceum L</i>	48
Figure III.2 :	Suivi cinétique de l'hydrolyse enzymatique (6 h) de l'huile de <i>Nephelium Lappaceum L.</i>	51
Figure III.3 :	Suivi cinétique de l'hydrolyse enzymatique de l'huile de <i>Nephelium Lappaceum L.</i>	51
Figure III.4 :	Spectre infrarouge représentant un produit d'hydrolyse enzymatique constituée par un mélange d'acides gras libres (à 92,71%) et de la mono-diglycérides	53
Figure III.5 :	Spectre RMN 1H des acides gras libres de ramboutan	54
Figure III.6 :	Suivi cinétique manuel de la dégelification	57
Figure III.7 :	Première série d'essai 1	58
Figure III.8 :	Courbes de cristallisation des fractions fluide 1 et solide 1 en comparaison avec la cristallisation des acides gras « bruts pères »	61
Figure III.9 :	Courbes de fusion des fractions fluide 1 et solide 1 en comparaison avec la fusion des acides gras « bruts pères » issus de la cristallisation à froid	62
Figure III.10 :	Courbes de fusion des fractions fluide 1 et solide 1 en comparaison avec la fusion des acides gras « bruts pères » issus de la cristallisation à froid	62
Figure III.11 :	Analyse thermogravimétrie des fractions fluide1 et solide1 en comparaison aux acides gras libres « bruts pères ».	63

Figure III.12 :	Série 2 de centrifugation (Essai1)	64
Figure III.13 :	Série 3 de centrifugation essai2	66
Figure III.14 :	Illustration de la réaction d'hydro peroxydation des acides gras monoinsaturés du ramboutan : cas de l'acide eicosénoïque C20:1)	71
Figure III.15 :	Pool des acides gras trans susceptibles d'être formé au cours de la réaction	74
Figure III.16 :	spectres RMN ¹ H des acides gras libres monoinsaturés (exemple acide eicosénoïque) de ramboutan avant oxydation allylique	77
Figure III.17 :	spectres RMN ¹ H des hydroperoxydes d'acides gras insaturés <i>trans</i> ou E ; cas de l'isomère acide 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque	77
Figure III.18 :	Spectre IR des acides oléique et eicosénoïque avant oxydation allylique	78
Figure III.19 :	Spectre IR des hydroperoxydes d'acides gras insaturés <i>trans</i> ou E ; cas de l'isomère acide 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque	78
Figure III.20 :	Résultat DSC du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés <i>trans</i> et acides gras saturés	81
Figure III.21 :	SFC des acides gras libres comparé au mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés <i>trans</i> et acides gras saturés	81
Figure III.22 :	Comparaison de l'état cristallin des acides gras libres comparé au mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés <i>trans</i> et acides gras saturés	82
Figure III.23 :	Mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés <i>trans</i> et acides gras saturés	85
Figure III.24 :	spectres RMN ¹ H des hydroperoxydes d'acides gras insaturés <i>trans</i> ou E ; cas de l'isomère acide 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque	91
Figure III.25:	Spectre RMN ¹ H des mono 10-hydroxyperoxyde-9 (Z)-octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11 (z)-eicosénoate de glycérol	91
Figure III.24-1	Spectres RMN ¹ H de l'acide 10-hydroperoxy-(E) octadécénoïque et 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque	92
Figure III.25-1	Spectre RMN ¹ H des mono 10-hydroxyperoxy- 9 (Z)-octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11 (Z)-eicosénoate de glycérol	93
Figure III.25-2	Spectre RMN ¹ H des mono 10-hydroxyperoxy- 9 (Z)-octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11 (Z)-eicosénoate de glycérol	94
Figure III.26 :	Spectre IR des hydroperoxydes d'acides gras insaturés <i>trans</i> ou E ; cas de l'isomère acide 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque	98
Figure III.27 :	Spectre infrarouge les monoesters de glycérol et d'acides gras hydroxyperoxydes insaturés <i>cis</i>)	98
Figure III.26-1 :	Spectres RMN ¹ H de l'acide 10-hydroperoxy-(E) octadécénoïque et 11- hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque.	99
Figure III.26-2 :	Spectres RMN ¹ H de l'acide 10-hydroperoxy-(E) octadécénoïque et 11- hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque.	100
Figure III.27-1 :	Spectre RMN ¹ H des mono 10-hydroxyperoxy- 9 (Z)-octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11 (Z)-eicosénoate de glycérol	101
Figure III.27-2 :	Spectre RMN ¹ H des mono 10-hydroxyperoxy- 9	

	(Z)octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11	
	Z)- eicosénoate de glycérol	102
Figure III.27-3 :	Spectre de comparaison RMN ¹ H	103

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1 :	Propriétés physiques et chimiques des acides gras saturés présents dans le ramboutan	9
Tableau I.2 :	Propriétés physiques et chimiques des acides gras insaturés présents dans le ramboutan	10
Tableau I.3 :	Répartition des familles C20 et C22 dans l'huile végétales et animales	11
Tableau I.4 :	Production mondiale annuelle 2009/2010 d'huile végétale en million de tonnes (USDA, Foreign Agriculture Service)	12
Tableau I.5 :	Agents oxydants et produits correspondants	16
Tableau I.6 :	L'intensité a été mesurée par détection de la luminescence en IR à 1270 nm	22
Tableau II.1 :	Propriétés déterminées à 30 °C dans l'eau pour quelques sels d'acides gras connus	36
Tableau III.1 :	Temps de rétention des acides gras de l'huile de <i>Nephelium lappaceum</i>	49
Tableau III.2 :	Composition en acides gras de l'huile de <i>Nephelium lappaceum</i>	49
Tableau III.3 :	Répartition des acides gras avec les ration AGS / AGI (AGMI)	50
Tableau III.4 :	Profil en acides gras libres de l'huile de <i>Nephelium lappaceum</i>	52
Tableau III.5 :	Teneurs en acides gras libres des fractions fluide ¹ et solide ¹ issus de la cristallisation à froid	58
Tableau III.6 :	Valeurs obtenues des courbes de cristallisation et de fusion des fractions fluides et solides en comparaison avec les courbes des acides gras « bruts pères »	61
Tableau III.7 :	Comparaison des teneurs en acides gras libres monoinsaturés avant et après l'essai ¹	65
Tableau III.8 :	Comparaison des teneurs en acides gras après essai 2	67
Tableau III.9 :	Comparaison entre les teneurs en acides gras dans les mutants de Tournesol, l'huile de ramboutan après cristallisation à froid et l'huile de Hareng	68
Tableau III.10 :	Comparaison des différentes fractions fluide et solide après technologie de gélification et dégélification	70
Tableau III.11 :	Concentration d'acides gras saturés	75

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

1) Articles originaux en cours de soumission :

- 1.1. **G.V. Douniama-Lönn, C. Ngakegni; R. Valentin ; H. Nsamoto, M. Cerny, Z. Mouloungui, J.M. Ouamba** ; fractionability of saturated and unsaturated fatty acid concentrates of rambutan oil with a freeze-thaw cold crystallization procedure, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2019.
- 1.2. **G.V. Douniama-Lönn, H. Nsamoto, C. Ngakegni, R. Valentin, M. Cerny, Z. Mouloungui, J.M. Ouamba** ; catalytic hydroperoxidation increasing the density of oxygenated groups on monounsaturated fatty acids in an organized medium in the presence of $\text{Na}_2\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2019.
- 1.3. **G.V. Douniama-Lönn, R. Valentin, C. Ngakegni, H. Nsamoto, M. Cerny, Z. Mouloungui, J.M. Ouamba**; Condensation des hydroperoxyde de ramboutan: source de changement de conformation *trans* en *cis*

2) Proceedings

Gré Véronique Douniama-Lönn, Adolphe Christian Ngakegni-Limbili, Hermine Nsa moto, Zéphirin Mouloungui, Jean-Maurille Ouamba; Methods of enriching rambutan free fatty acids into saturated and monounsaturated fatty acid concentrates, *GPE –6th International Congress on Green Process Engineering, Toulouse (France), 3-6 June 2018.*

3) Communications scientifiques orales :

- 3.1. **Gré Véronique Douniama-Lönn, Adolphe Christian Ngakegni-Limbili, Hermine Nsa moto, Zéphirin Mouloungui, Jean-Maurille Ouamba**; Methods of enriching rambutan free fatty acids into saturated and monounsaturated fatty acid concentrates, *GPE –6th International Congress on Green Process Engineering, Toulouse (France), 3-6 June 2018.*
- 3.1. **Gré Véronique Douniama-Lönn**, Oxydation des mono insaturés issus des acides gras mono insaturés des plantes oléoprotéagineuses des zones tropicales et tempérées. Utilisation des HFAs et dérivés en biosanté ; journée Société Française pour l'Étude des Lipides (SFEL): etats des lieux des innovations technico-économiques dans le domaine des lipides, Paris (France) ; 06 juin 2017.

TABLE DE MATIÈRE

INTRODUCTION GENERALE	1
Références bibliographiques	5
CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES LIPIDES DE RESERVES	7
I- Introduction	8
II- Production d'huiles végétales et compétition des oléagineux	11
III- Différentes plateformes des huiles végétales de spécialité et des huiles de commodité	12
IV- Quelques propriétés des acides gras saturés et insaturés à longues chaînes	13
V- Production et propriétés des acides gras oxygénés	14
V-1 Différentes voies d'obtention des acides gras oxygénés	16
V-2 Propriétés de quelques acides gras oxydés : cas des HFAs	16
V-3 Oxygène singulet	16
VI- Esters d'acides gras : monogycérides (MAG)	23
VII- Esters d'acides gras - acides gras hydroxylés: FAHFAS (fatty acids-hydroxy fatty acids)	24
VIII- Travaux antérieurs : technologie chimique d'hydroxylation allylique	24
IX- Production de l'huile de <i>Nephelium lappaceum</i> Linn. (Sapindaceae) ou ramboutan	25
IX-1 Marché mondial du <i>ramboutan</i>	25
IX-2 Disponibilité du <i>ramboutan</i> et fonctionnalités possibles	25
X- Références bibliographiques	27
CHAPITRE II : METHODOLOGIE ADOPTEE	31
I- Récolte et séchage de la matière première	32
II- Les modes opératoires des réactions mis en œuvre	32
II-1 Broyage des amandes sèches de ramboutan	32
II-2 Extraction de l'huile brute de ramboutan par la méthode de référence : Mise en œuvre (Soxhlet)	33
II-3 Libération des acides gras natifs de ramboutan par hydrolyse enzymatique	34
II-4 Technologie de gélification / dégelification : cristallisation à froid	34
II-5 Procédé d'oxydation allylique appliqué aux acides gras insaturés libres de ramboutan (AGILR) : système AGILR/H ₂ O ₂ /Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	35
II-6 Condensation des acides gras hydroperoxydes <i>trans</i> avec le glycidol en présence de la résine Amberlyst A26 OH	37
III- Méthodes d'analyses	39
III-1 Méthodes d'analyses physico-chimiques	39
III-2 Méthodes d'analyses physiques	42
IV- Schéma directeur des différentes étapes de cette étude	44
V- Références bibliographiques	46
CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS	47
I- Composition chimique de l'huile d'amandes de ramboutan (<i>Nephelium lappaceum</i>)	48
I-1 Détermination de la teneur en huile issue des amandes de ramboutan	48
I-2 Profil des glycérique et acide gras de l'huile de ramboutan	49
II- Hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan	50
II-1 Profil des acides gras libres de l'huile de ramboutan	50
II-2 Caractérisation chimique des acides gras libre de l'huile de <i>Nephelium lappaceum</i> L.	53

III-	Nouveau procédé de séparation par cristallisation des concentrats d'acides gras saturés/ d'acides gras monoinsaturés par de technologies physiques de gélification /dégélification des acides gras de l'huile de ramboutan	56
III-1	Technologies de gélification/dégélification	56
IV-	Densification en oxygène des concentrats d'acides gras saturés/ d'acides gras monoinsaturés par la technologie chimique d'hydro peroxydation allylique des acides gras monoinsatures de l'huile de ramboutan	71
IV-1	Technologie chimique d'hydro peroxydation allylique	71
IV-2	Préparation des hydroperoxydes d'acides gras de <i>Nephelium lappaceum</i>	71
IV-3	Préparation des acides hydro peroxydés	72
IV-4	Densification du milieu hydro peroxydé en acides gras saturés	75
IV-5	Caractérisation chimique du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés <i>trans</i> ou <i>E</i> et acides gras saturés	76
IV-6	Caractérisation physique : Étude thermique du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés <i>trans</i> ou <i>E</i> et acides gras saturés	79
V-	Condensation du mélange des acides gras hydroperoxydés <i>trans</i> insaturés et des acides gras saturés au glycidol en milieux aqueux en présence de résine échangeuse d'anions macroporeuse Amberlist A 26 OH	85
V-1	Préparation des monoesters de glycérol d'acides gras hydroperoxydes insaturés <i>cis</i> et d'acides gras saturés	85
V-2	Caractérisation chimique des mononesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydes insaturés <i>cis</i> (<i>Z</i>)	89
VI-	Références bibliographiques	104
	CONCLUSION GÉNÉRALE	107
	ANNEXES	110
	RESUMES	123

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Depuis l'antiquité jusqu'au début du 18^{ème} siècle, la notion de lipides a été longtemps limitée à celle de l'huile d'olive. Ensuite cette notion s'est élargit au fil du temps avec une distinction entre les huiles, les graisses et les cires. *Michel-Eugène Chevreul*, fondateur de la science des lipides en 1823, met en place à partir de ses travaux une classification des corps gras, encore valable de nos jours. [1].

A coté des usages alimentaires, les lipides étaient aussi utilisés pour des applications artistiques. Les premières sources d'huiles végétales utilisées par l'homme sont le sésame au Moyen-Orient depuis plus de 60 siècles, le soja mentionné en Chine il y a 48 siècles, le colza en Inde depuis 40 siècles, l'olive implanté dans la zone méditerranéenne, il y a plus de 337 siècles, l'arachide connu des incas il y a plus de 30 siècles. L'huile d'olive est resté malgré tout et depuis toutes ces années, le modèle le plus connu en termes de production végétale, à la fois comme source de mythes sacrés, de lumière et de nourriture. L'homme a donc consommé tout naturellement des lipides avec ses aliments depuis les temps anciens; ces derniers étant sous formes de plantes, de gibiers et de poissons. L'analyse chimique effectuée au cours du temps a permis une connaissance plus rationnelle des principaux composants de la nourriture, conduisant donc a une prise de conscience de l'importance des lipides. Le progrès dans la connaissance de leurs effets bénéfiques ou délétères pour la santé humaine, acquise au fil du temps, constitue désormais un ensemble assez important pour déboucher sur des recommandations de consommation [1].

La biodisponibilité des acides gras dans les tissus adipeux de la biomasse lipidique oléoprotéagineuse ou oléagineuse, biomasse lipidique animale, biomasse lipidique algale, biomasse lipidique microbienne est la clé de la production et de la consommation des triglycérides et des acides gras. Chez les oléoprotéagineux, l'identification des plantes à graines fournit les huiles et les protéines (soja, tournesol et colza). Ces deux coproduits justifient la tendance haussière enregistrée à cause des besoins croissant en alimentation et nutrition. L'alimentarité et la non alimentarité sont deux concepts du bien être de l'homme, mais la disponibilité des acides gras est inégalement répartie dans les consommations humaines et techniques, des huiles et matières grasses.

Sept principaux acides gras issus des sources majeurs d'huiles et des graisses végétales ont été répertoriés en 2005. Exprimé au tonnage et en pourcentage selon les principales sources [2], l'acide oléique est l'acide gras le plus utilisé en alimentation humaine (tableau 1) :

Tableau1 : Acides gras majeurs et sources

Acides gras	Tonnage (MT)	Pourcentage (%)	Source et tonnage (MT)
acide oléique (C18:1)	38,4	35,3	palme 10,4 colza 7,7 soja 6,4 beurre de lard, suif (blt) 6,2
acide linoléique (C18:2)	31,9	29,4	soja 15,0 tournesol 5,2 palme 2,6 canola 2,5
acide palmitique (C16:0)	21,7	20,0	palme 11,4 soja 2,8 coton 1 blt 4,2
acide stéarique (C18:0)	5,5	5,1	soja 1,1 palme 1,0 blt 2,3
acide linoléique (C18:3)	3,5	3,2	soja 1,9 canola 1,4
acide laurique (C14:0) et acide myristique (C12:0)	2,0 et 1,8	1,6	beurre 0,7 huiles lauriques 0,6 palme 0,3

Force est de constater que ce répertoire réduit à 7 principaux acides gras la disponibilité de ces biomolécules de plus en plus rechercher pour leur fonctionnalité en création de valeur ajoutée. On remarque que les acides gras à haute densité en oxygène sur la chaîne hydrocarbonée en C18 ou chaîne hydrocarbonée supérieure ne sont pas répertoriés. C'est le cas de l'huile de ricin par la biodisponibilité de l'acide ricinoléique ou acide 12 (R)-hydroxy-cis-9-octadécénoïque, C18:1 (9cis) – 12-OH à 90 %. Il en est de même pour les acides gras à chaînes carbonée supérieure à C18 (C20-C22) atomes de carbones dans l'huile de jojoba par la biodisponibilité de l'acide eicosénoïque/érucique C20:1/C22:1 (wax 95 %), dans l'huile de colza érucique C22:1 (45 %) et le crambe abyssinica C22:1 (58 %).

Cette diversité végétale s'est avérée une opportunité pour positionner dans notre programme de recherche de deux espèces végétales : le tournesol en France et le *ramboutan* au en République du Congo. Pourquoi ?

L'acquisition des connaissances génétiques par mutagenèse a permis le développement de la culture de tournesol à travers les variétés de tournesol haut oléique et très oléique avec des teneurs respectives en acide oléique de 86-87 % et de 90-92 % [3]. Ces graines oléagineuses sont considérées comme des substrats oléochimiques à part entière dans le concept de schéma intégré développé au LCA à Toulouse. En parallèle nous avons identifié et retenu la culture de *ramboutan* au

Congo Brazzaville dans le district de Boko.

C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives pour lesquelles il convient de préciser les propriétés et valider les usages. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de cette biodiversité végétale. Un grand intérêt est porté sur la gestion forestière sur la flore spontanée en Afrique Centrale et Grands Lacs. Cette région dispose en effet d'une flore naturelle très riche et diversifiée, quasiment inexplorée et inexploitée, qui est au centre de la vie des populations. La plupart des espèces, pérennes ou saisonnières, possèdent des extraits bioactifs et des biomolécules utiles pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires [4-11].

Le *ramboutan* est un arbre à fruit d'où on collecte des graines fournisseuses d'une huile constituée notamment par des acides gras monoinsaturés à chaîne moyenne, acide oléique C18:1 à 45,62 %; à chaîne longue, acide eicosénoïque C20:1 à 9,27 % et des acides gras saturés à chaînes longues, acide arachidique C20:0 à 26,43% et acide béhénique C22:0 à 2,64 %. L'identification et la caractérisation des produits d'arrivés ont été réalisées par des méthodes analytiques notamment : la GC/DIF, RMN, IR, DRX, ATG, DSC.

L'objectif général de cette étude est l'élaboration des nouveaux systèmes de shortening sans avoir à faire recours aux techniques d'hydrogénation. Deux stratégies sont donc développées pour l'exploitation de cette biodisponibilité limitée à l'huile de *ramboutan*:

- Premièrement, nous avons adopté deux approches de trituration et de raffinage des oléagineux et mis au point des technologies physiques de gélification/dégélification suivi de la centrifugation pour réaliser la cristallisation extractive des acides gras et triglycérides de l'huile de ramboutan. Des concentrats en acides gras ou en triglycérides sous forme de fraction solide et liquide sont obtenues, caractérisées, modifiées chimiquement pour créer des biomolécules et de la valeur ajoutée.
- Deuxièmement, le développement récent dans le monde académique des acides gras hydroxylés appelés HFAs pour Hydroxy-Fatty acids par les biotechnologies [12], nous a conforté dans la voie chimique pour proposer des alternatives au HFAs issus de la voie biologique. L'huile de tournesol par sa richesse en acide oléique s'est avérée un substrat adapté et expérimenté avec succès au LCA pour cette finalité. L'huile de ramboutan augmente le parallèle des substrat adaptés aux stratégies par ses acides gras en C18:1 et C20:1 pour élaborer les HFAs originaux. Dans la littérature, nous avons identifié un rôle biologique particulièrement intéressant des HFAs à haute densité en oxygène doués d'effet antidiabétiques et anti-inflammatoire [13-16]. C'est pourquoi ces travaux ont concentré un gros effort de recherche sur la densification en oxygène des concentrats d'acides gras insaturés C18:1 et C20:1 issus de l'hydrolyse enzymatique de l'huile de *ramboutan*.

Ces différentes stratégies sont présentées par les chapitres suivants :

Le **premier chapitre**, consacré aux généralités sur les lipides de réserve, place la thématique dans un contexte général. Il traite de la place des huiles végétales sur le marché mondiale et africain en particulier, la place qu'occupe *Nephelium lappaceum* Linn et enfin les propriétés des différentes familles d'acides gras et les différents procédés d'oxydation des acides gras.

Le **deuxième chapitre** aborde la partie expérimentale, c'est à dire le procédé d'extraction des lipides et les techniques d'analyses des constituants chimiques, leur localisation dans les fruits et les graines de *Nephelium lappaceum* L. sélectionnées pour son caractère saisonnier, la technologie de gélification/dégélification, le moyen d'insertion allylique de l'oxygène singulet sur la chaîne carbonée des acides gras libres monoinsaturés à longues chaînes C18:1 et C20:1, le moyen de densification en oxygène des hydroperoxydes d'acides gras par condensation au glycidol et les techniques d'analyses thermiques.

Le **troisième chapitre** présente et discute les résultats de la lipotransformation des lipides de réserve de *Nephelium lappaceum* L.. L'intérêt est porté sur :

- la séparation des acides gras monoinsaturés d'une part et des saturés d'autre part par la cristallisation à froid;
- l'étude de l'insertion allylique de l'oxygène singulet dans les acides gras libres monoinsaturés à longues chaînes C18:1 et C20:1, réalisée dans un milieu émulsionné constitué d'un système multiphase NaOH/ H₂O₂ / Na₂MoO₄; à la condensation des acides gras avec le glycidol en présence de résine échangeuse d'anions en monoesters de glycérol et d'acides gras hydroxyperoxydes insaturés *cis*;
- l'étude chimique et physique de ces produits au moyen des techniques analytiques maîtrisées : GC/DIF, RMN, IR, DRX, ATG, DSC.

A la suite des trois chapitres, nous développons une **conclusion générale** sur les résultats obtenus, et émettons des **perspectives** suscitées par le bilan des nouvelles techniques de valorisation des acides gras saturés et insaturés C20 et C22 des concentrats issus des transformations de l'huile considérée.

Enfin, une **partie annexe** au manuscrit regroupe toute production scientifique tirée de l'ensemble des travaux de la thèse de doctorat, suivie d'un résumé en deux versions (une en anglais et une autre en français).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Leray C.**, Les lipides nutrition et santé, Edition Lavoisier. 2013, 334 p.
2. **Inform**, 2005, **16**(2) : 736-736.
3. **Salas Joaquin J., Bootello Miguel A. & Garcés R.** ; Food Uses of Sunflower Oils ; Sunflower : *Chemistry, Production, Processing and Utilization* ; 2015 : 441-464.
4. **Ngakegni-Limbili AC.**, Etudes de synergie des effets chimiques et biologiques des huiles essentielles et des lipides de réserves des fruits et graines saisonniers de la sous-région d'Afrique centrale ; Thèse en cotutelle de l'Université de Toulouse et de l'Université Marien Ngouabi. 2012, 223 p.
5. **Sanogo R.**, Le rôle des plantes en médecine traditionnelle, in Développement, environnement et santé. 10^{ème} Ecole d'Eté de l'IEPF et du SIFEE du 6 au 10 juin 2006, Bamako, Mali. 2006, 18 p.
6. **Baker JT, Borris RP, Carte B, Cordell GA, Soejarto DD, Cragg GM, Gupta MP, Iwu MW, Maduud DR, Tyler VE.**, Natural product drug discovery and development: new perspectives on international collaboration. *J. Nat. Prod.* 1995, **58** : 1325-1357.
7. **Farsworth NR, Akerele O, Bingel AS, Soejarto DD, Guo Z.** Place des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'OMS.* 1986, **64**(2) : 159-175.
8. **Verpoorte R.**, Pharmacognosy in new millennium leadfinding and biotechnology. *J. Pharm. Pharmacol.* 1999, **52** : 253-262. DOI: 10.1211/0022357001773931
9. **Sofowara A.**, Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle d'Afrique. Karthala, Paris. 1996, 375p.
10. **Betti J-L, Yongo OD, Obiang Mbomio D, Midoko Iponga D, Ngoye A.** An ethnobotanical and floristical study of medicinal plants among the Baka Pygmies in the Periphery of the Ipassa-Biosphere Reserve, Gabon. *European Journal of Medicinal Plants.* 2013, **3**(2) : 174-205.
11. **Betti J-L, Yongo OD, Obiang Mbomio D, Midoko Iponga D, Ngoye A.** Ethnobotanical and floristical study of *Alstonia boonei* De Wild. (Apocynaceae) in the Makokou region, Ogooué-Ivindo province, Gabon. *International Journal of Agricultural Sciences.* 2013, **3**(3) : 459-469.
12. **Hou CT.**, Biotransformation of Unsaturated Fatty Acids to Industrial Products ; *Advances in Applied Microbiology.* 2000, **47** : 201-220.
13. **Mercier B., Prost J. & Prost M.** ; Un environnement cellulaire bien oxygéné permet de lutter contre la glycation des protéines ; *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* ; 2014, **24**(1) : 102-107.
14. **Paul S., Hou CT. & Kang SC.**, α -Glucosidase inhibitory activities of 10-Hydroxy-8(E)-octadecenoic acid: an intermédiaire of bioconversion of oleic acid to 7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid ; *New biotechnology.* 2010, **27** : 419-423.
15. **Biermann U, Bornscheuer U, Meier M, Metzger JO. & Schäfer HJ.**, Oils and fats as renewable raw materials in chemistry ; *Angewandte Chemie International Edition.* 2011, **50** : 3854-3871.

16. **Itoh T, Fairall L, Amin K, Inaba Y, Szanto A, Balint BL, Nagy L, Yamamoto K. & Schwabe J.**, Structural basis for activation of PPAR δ by oxidized fatty acids; *Nat Struct Mol Biol.* 2008, **15** : 924-31.

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES LIPIDES DE RESERVES

I-	Introduction	8
II-	Production d'huiles végétales et compétition des oléagineux	11
III-	Différentes plateformes des huiles végétales de spécialité et des huiles de commodité	12
IV-	Quelques propriétés des acides gras saturés et insaturés à longues chaînes	13
V-	Production et propriétés des acides gras oxygénés	14
V-1	Différentes voies d'obtention des acides gras oxygénés	16
V-2	Propriétés de quelques acides gras oxydés : cas des HFAs	16
V-3	Oxygène singulet	16
VI-	Esters d'acides gras : monogycérides (MAG)	23
VII-	Esters d'acides gras - acides gras hydroxylés: FAHFAS (fatty acids-hydroxy fatty acids)	24
VIII-	Travaux antérieurs : technologie chimique d'hydroxylation allylique	24
IX-	Production de l'huile de <i>Nephelium lappaceum</i> Linn. (Sapindaceae) ou ramboutan	25
IX-1	Marché mondial du ramboutan	25
IX-2	Disponibilité du ramboutan et fonctionnalités possibles	25
X-	Références bibliographiques	27

I- Introduction

La demande en matières premières pour l'élaboration de produits transformés augmente de façon considérable. Elle est liée à l'augmentation de la population mondiale et au système de consommation croissant. Les huiles et les graisses ont servi d'aliments pendant plusieurs années et se positionnent aujourd'hui comme matières premières durables pour l'alimentation, la nutrition et l'énergie. Elles sont également utilisées dans différents domaines d'applications car elles possèdent en générale d'intéressantes propriétés pour des applications industrielles importantes. Aujourd'hui, des études sont faites dans le but de répondre aux demandes spécifiques notamment alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, diététique et oléochimique [1]. Des plateformes oléochimiques à très haute spécificité et des plateformes d'intensification de processus de transformation constituent donc une offre pour le renouveau de l'industrie oléochimique par l'élaboration des bioproduits. Dans chacun de ces domaines d'applications, les lipides et les graisses peuvent respectivement être utilisés comme bases principales des produits finis (chocolat, crème fraîche, margarine) ou en tant que matrices dans lesquelles les produits cosmétiques, pharmaceutiques et autres produits chimiques sont dispersés [2].

Plusieurs domaines d'applications des huiles et graisses font intervenir l'hydrogénation. En 1909, l'hydrogénation a été brevetée pour son utilisation dans la production de shortening de l'huile de coton pour remplacer le saindoux. Elle est utilisée à deux finalités: améliorer la stabilité oxydative (par hydrogénation des doubles liaisons en liaisons saturées) et convertir les huiles ou grasses molles en plastiques ou en graisses dures (facilitant les utilisations pour lesquelles les formes moins saturées ne sont pas satisfaisantes). On note par exemple que les huiles liquides sont converties en shortenings (matière grasse solide à la température ambiante utilisée dans la fabrication de pâtisseries et autres produits alimentaires) et en graisses de margarine; les huiles sujettes à une oxydation rapide, telles que l'huile de soja, sont partiellement hydrogénées pour servir de salade et de friture [3]. En effet, les doubles liaisons ou liaisons insaturées sont converties au cours de l'hydrogénation en liaisons simples ou liaisons saturées par addition d'une molécule d'hydrogène. La relation entre l'huile et le dihydrogène est accélérée par l'utilisation d'un catalyseur solide approprié. La technique d'hydrogénation a pour conséquence de produire les acides gras *trans*, qui ont des températures de fusion considérablement plus élevées que celles des acides gras *cis*, les premiers contribuant considérablement à la fusion et aux propriétés plastiques des graisses. Dans certains produits, un taux élevé d'acides gras *trans* (55 %) est souhaité pour des raisons fonctionnelles, souvent pour obtenir des caractéristiques de fusion adéquates (substituts du beurre de cacao). Les margarines et les shortenings contiennent généralement des acides gras *trans* substantiels (12-33 %). Cependant, il y a eu et continue d'avoir un débat considérable sur l'effet des acides gras *trans* sur la santé [4].

Cette étude se positionne au niveau de l'élaboration de nouveaux systèmes de

shortenings à bas et haut point de fusion sans avoir recours aux techniques d'hydrogénation, par le développement d'une chimie de spécialité qui s'appuie sur l'huile de ramboutan. En effet, les triglycérides sont les constituants majeurs des lipides de réserve, leur intérêt est tout autant lié à la nature des acides gras qu'ils renferment. À température ordinaire, les acides gras insaturés sont liquides (huiles) et les acides gras saturés sont solides (graisses), à l'exception des acides à chaînes carbonées courtes [5]. Les acides gras constituants des lipides (triglycérides) sont classés en fonction de la longueur de la chaîne. A partir d'une certaine longueur de chaîne, ces dernières possèdent des propriétés physiques qui influencent directement leur polymorphisme. En effet, il n'existe aucun composé à longues chaînes qui ne soit pas polymorphe [6]. A l'examen de certains acides gras saturés et monoinsaturés classiques et de leur point de fusion; on constate que l'acide gras saturé acquiert un point de fusion élevé au fur et à mesure que sa longueur de chaîne augmente et que la double liaison baisse en point de fusion.

Deux acides gras non conventionnels (l'acide arachidique C20:0 et l'acide béhénique C22:0) présentant des propriétés physiques plus spécifiques que les autres acides gras (tableau I.1), sont rencontrés dans l'huile de ramboutan. Ils présentent des points de fusion plus élevés qui influencent leurs comportements physiques dans un état cristallin. En ce qui concerne les acides gras insaturés, on constate d'après leurs données physiques et chimiques (tableau I.2), que les acides gras monoinsaturés *cis* notamment l'acide oléique C18:1 et l'acide eicosénoïque C20:1 sont liquides à température de 27 °C. A l'exception de l'isomère *trans*, l'acide élaidique C18:1 *trans* ou E, qui est solide.

En effet, les acides gras contenus dans les corps gras sont connus pour avoir un très riche polymorphisme. La cristallisation des graisses a fait l'objet d'études approfondies, probablement en raison de son importance dans la vie quotidienne. Une compréhension du processus de cristallisation des graisses joue un rôle crucial dans la détermination de la qualité globale des produits. Les produits dont la cristallisation des graisses est importante comprennent les chocolats et les confiseries, les produits laitiers comme le beurre et la crème, les sarrasins de légumes et le beurre de cacahuète. La cristallisation de la graisse est également importante dans le fractionnement des graisses et des huiles lorsque les produits lipidiques ayant des propriétés physiques et de fusion variables sont fabriqués par cristallisation à l'état fondu [4].

Tableau I. 1 : Propriétés physiques et chimiques des acides gras saturés présents dans l'huile de ramboutan [7].

Acides gras	Poids moléculaire	Point de fusion (°C)	Point d'ébullition (°C/mm Hg)	Densité (g/mL à °C)	Indice de réfraction	Indice d'acide
C16:0	256,43	62,9	268,5/100	0,8487/70	1,4276/80	218
C18:0	284,49	69,6	298/100	0,9408/20	1,4297/80	197
C20:0	312,54	75,4	388/100	0,8240/100	1,4240/100	179
C22:0	340,59	79,9	306/60	0,8221/100	1,4270/100	164

Tableau I. 2 : Propriétés physiques et chimiques des acides gras insaturés présents dans l'huile de ramboutan. [7].

Acides gras	A partir de CH ₃	ω	Poids moléculaire	Point de fusion (°C)	Point d'ébullition (°C/mm Hg)	Densité (g/mL à °C)	Indices	
							Iode	Acide
C18:1(9c)	n-9	9	282,47	13,0	286/100	0,895/15	90	199
C18:1 (9t)	n-9	9	282,47	51,0	234/15	0,85/20	90	199
C20:1	n-11	11	310,52	24,5	170/0.1	0,8882/25	82	181

L'érucamide par le développement à haute densité des acides gras à très longues chaînes comme le C20 et le C22 occupent une place particulière dans les marchés de l'oléochimie (figure I.1).

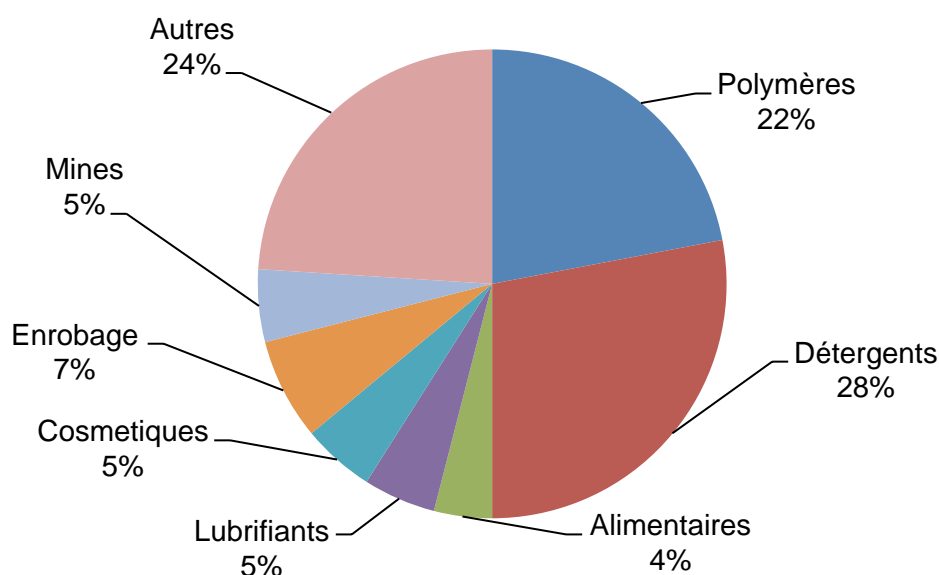


Figure I.1: Le marché oléochimique des acides C20 et C22. [8].

Les données du tableau I.3 permettent de constater que les acides gras à longues chaînes comme les familles du C20 et C22 ne sont pas très présents dans les huiles végétales les plus connues. Ils sont présents dans certaines huiles issues des plantes comme le colza, cameline, crambe Abyssinca. Le ramboutan est une spécificité par une teneur en C20:0, C20:1 et C22:0. C'est une plante à graines oléagineuses dont l'huile contient des acides gras à chaînes longues.

Tableau I.3 : Répartition des familles C20 et C22 dans les huiles végétales et animales [1].

Huile	Teneurs en poids des acides gras			
	C20:0	C20:1	C22:0	C22:1
Palme	< 0,5	-	-	-
Soja	< 0,1	< 0,4	< 0,5	-
Colza	-	7-13	-	41-49
Tournesol	< 1	< 0,5	< 1	-
Arachide	< 2	< 2	2-5	-
Olive	< 0,5	< 0,5	< 1	-
Cameline	-	13,87	-	-
Ramboutan	26,53	9,27	2,64	-
Hareng	-	17,9	-	-
Crambe	-	-	-	49,50
Jojoba	-	35	-	-

II. Production d'huiles végétales et compétition des oléagineux

La production mondiale des huiles végétales est passée de 23 millions de tonnes (MT) en 1967 à environ 107 millions de tonnes 2005 et atteint les 135 MT en 2008/2009. Cette production a été dominée par quatre oléagineux à savoir le palme, le soja, le colza et le tournesol (figure I.2) [1].

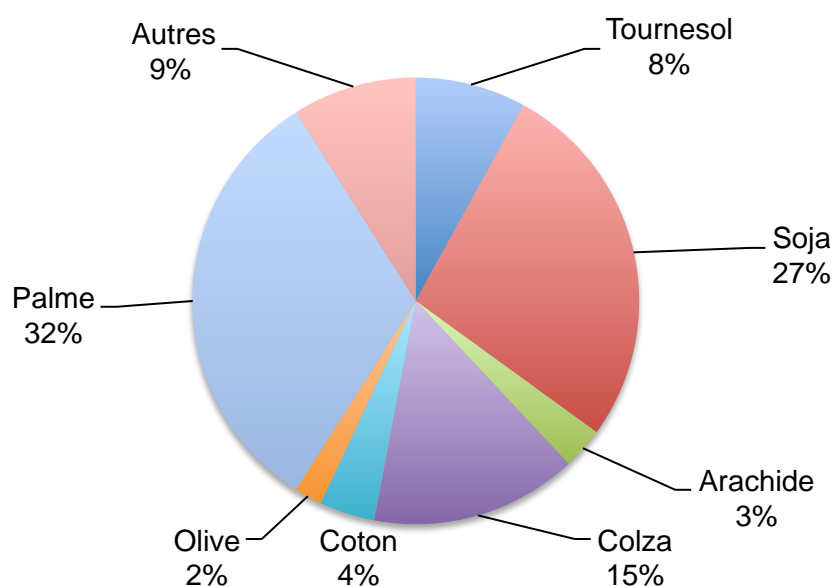


Figure I.2 : Production mondiale d'huiles et de graisses végétales

En 2009/2010, la production des principales huiles s'élève au total à environ 144 millions de tonnes et peut être classée en trois groupes. Le premier groupe représenté ci-dessous (tableau I.4) est celui des sources végétales dépassant les 10 millions de tonnes, le second est celles comprises entre 2 et 5 millions de tonnes et le dernier regroupe les sources végétales inférieures à un million de tonnes mais présentant un intérêt alimentaire certain. Plus de 2.000 plantes oléagineuses ont

été répertoriés sur la planète, 13 d'entre elles font l'objet de production à grande échelle et donc de commerce international, fournissant plus de 90 % de la production mondiale d'huile. Le premier groupe représente près deux tiers de la production mondiale [1].

Tableau I.4 : Production mondiale annuelle 2009/2010 d'huile végétale en million de tonnes (USDA, Foreign Agriculture Service)

Groupe 1		Groupe 2		Groupe 3	
Palme	45,9	Coton	4,6	Sésame	0,8
Soja	38,8	Palmiste	5,5	Lin	0,7
Colza	22,5	Arachide	4,6		
Tournesol	11,6	Olive	3,0		
		Coprah	3,6		
		Maïs	2,3		

En Afrique, le palmier, le coton, l'arachide et le maïs sont les productions essentielles des huiles végétales fournies. Les besoins africains en huile ne cessent de s'accroître du fait de l'augmentation des populations et de l'élévation du niveau de vie. Les pays de la région d'Afrique centrale regorgent de nombreux autres oléagineux rentrant généralement dans le régime alimentaire des populations, mais inexploité à l'échelle industrielle. Ce sont entre autres : l'avocat (*Persea americana*), le safou (*Dacryodes edulis*), la noix de coco (*Cocos nucifera*), le sésame (*Sesamum indicum*), le «djansang» (*Ricinodendron heudelotii*), le « mbeu » (*Canarium schweifurthii*), le karité (*Butyrospermum parkii*) [9] ; l'huile de ramboutan dont le fruit est également cultivé en Afrique représente également une nouvelle source inexploitée de lipides en Afrique centrale.

III. Différentes plateformes des huiles végétales de spécialité et des huiles de commodité

L'industrie oléochimique moderne organise les matières premières végétales fournisseuses d'huiles en plateformes oléochimiques selon la fonction chimique et le pourcentage de cette fonction dans les acides gras constituant ces huiles végétales. Les perspectives d'usages des huiles et dérivés oléochimiques donnent une classification en deux types d'huiles de qualité. De ce fait, les huiles végétales acquièrent le statut des huiles de commodité ou des huiles de spécialité. Ce processus consiste à la production par simple sélection variétale ou par génie génétique, c'est le cas des plateformes d'huiles végétales riches en acides gras monoinsaturés (notamment l'acide oléique), auxquelles est conféré le statut d'huiles techniques. Les résultats de la recherche sur la culture de tournesol par exemple montrent qu'il a été changé en aliment traditionnel, constitué de différentes variétés à l'origine des nouvelles chimies : une première variété qui est le tournesol oléique

avec 24% d'acide oléique ; une seconde, qui est le tournesol haut oléique contenant 86-87 % et enfin, récemment une troisième, qui est la variété de tournesol très haut oléique contenant 90 à 92 % d'acide oléique ; qui sont candidats pour des nouvelles chimies. Cette catégorie d'huile de spécialité a été beaucoup valorisée dans l'industrie par l'élaboration des « buildings blocks » propices à la fabrication des produits finis (lubrifiants, plastiques, détergences, polymères, polyamides). L'augmentation de la teneur en acide oléique a été d'un grand succès, du fait que l'huile de tournesol haut oléique a gardé intact les propriétés de l'huile de tournesol classique. Ce concept a donc été élargi au niveau des acides gras saturés, toujours dans le cas de l'huile de tournesol ; dans l'objectif de trouver une alternative aux graisses hydrogénées ou le palme oléine pour l'industrie alimentaire. L'intérêt de ces acides gras saturés natifs dans les graines des plantes de tournesol réside dans la possibilité de libérer des huiles de tournesol saturé hautement stables sans faire recours aux techniques d'hydrogénation [9]. Ainsi, ces huiles saturées peuvent être utilisées dans la fabrication des margarines et beurres sans acides gras *trans* [8]. Ils constituent donc des systèmes de shortening à haut point de fusion sans avoir recours à l'hydrogénation dans les applications alimentaires (margarines, chocolats, produits laitiers) ; ils peuvent également être utilisés comme des cires en industries chimique et cosmétiques. On peut par exemple citer le cas du C22:0 sous forme glycérique a été premièrement introduit sur le marché pharmaceutique comme lubrifiant en phase-solide de formulation de comprimés; et est connu pour présenter un polymorphisme complexe en fonction de nombreux paramètres [9-13].

IV. Quelques propriétés des acides gras saturés et insaturés à longues chaînes

Les acides gras monoinsaturés possèdent selon leurs structures des propriétés différentes. L'un des effets bénéfiques est qu'ils réduisent le risque d'accident cardiovasculaire [14]. D'après certaines études menées en 1980, les acides gras monoinsaturés ont été considérés comme sans influence sur les marqueurs sanguins liés aux risques cardiovasculaires. Quelques études suggèrent que les acides gras monoinsaturés peuvent être associés à une amélioration des indicateurs sanguins des maladies cardiovasculaires. Ils sont donc de bons agents naturels de lutte contre le syndrome métabolique et l'obésité [1]. Ces propriétés permettent de déduire qu'une huile enrichie en acides gras insaturés est préférable pour la santé. Il existe cependant d'autres acides gras monoinsaturés moins répandus dans les huiles végétales avec des propriétés intéressantes comme l'acide eicosénoïque. Il est particulièrement reconnu dans le milieu cosmétique comme étant proche du sébum humain, il a un fort pouvoir de pénétration dans la peau et l'hydrate sans la graisser. Cette propriété a été constatée au travers de l'huile de jojoba, fréquemment utilisée dans la cosmétique. En effet, l'huile de jojoba est un mélange complexe dominé par des mono-esters de chaînes longues de 40 et 42 atomes de carbone composés d'acides gras et d'alcools gras de 20 et 22 atomes de carbone. Chaque élément hydrophobe porte une double liaison localisée

entre le neuvième et le dixième atome de carbone à partir de la terminaison de la chaîne hydrocarbonée [15]. L'acide eicosénoïque présente donc des propriétés physiques intéressantes, conférant à l'huile de jojoba une certaine stabilité thermique [16]. Les acides gras monoinsaturés à longues et moyennes chaînes constituent donc d'important système de shortening à bas point de fusion pour les industries chimiques, cosmétiques et pharmaceutiques et pour l'alimentation et nutrition.

Depuis plusieurs années, les acides gras ont été catégorisés nuisible pour la santé. Cependant, une controverse est actuellement observée sur la question. En fait cela est toujours lié à l'homogénéité des acides gras saturés. Les acides gras saturés ont très souvent été comparés au cholestérol plasmatique et donc à l'athérosclérose. Ces déductions ne sont valables qu'en cas d'excès de l'apport en acides gras saturés dans un contexte d'alimentation. Aujourd'hui aucune relation n'a été observée entre apport en acides gras saturés et les risques cardiovasculaires [17]. Une grande méta-analyse, effectuée à partir de 13 études épidémiologiques issues de différents continents (Amérique, Europe, Asie, etc) a montré que, sur plus de 5200 cas, il n'y a aucune association entre le risque de cancer (type colorectal) et la consommation d'acides gras saturés après ajustement pour l'apport énergétique total. [14]. L'acide stéarique par exemple n'a pas d'effet sur le niveau de cholestérol dans le sang [18]. Les acides gras saturés possèdent des propriétés thermiques stables.

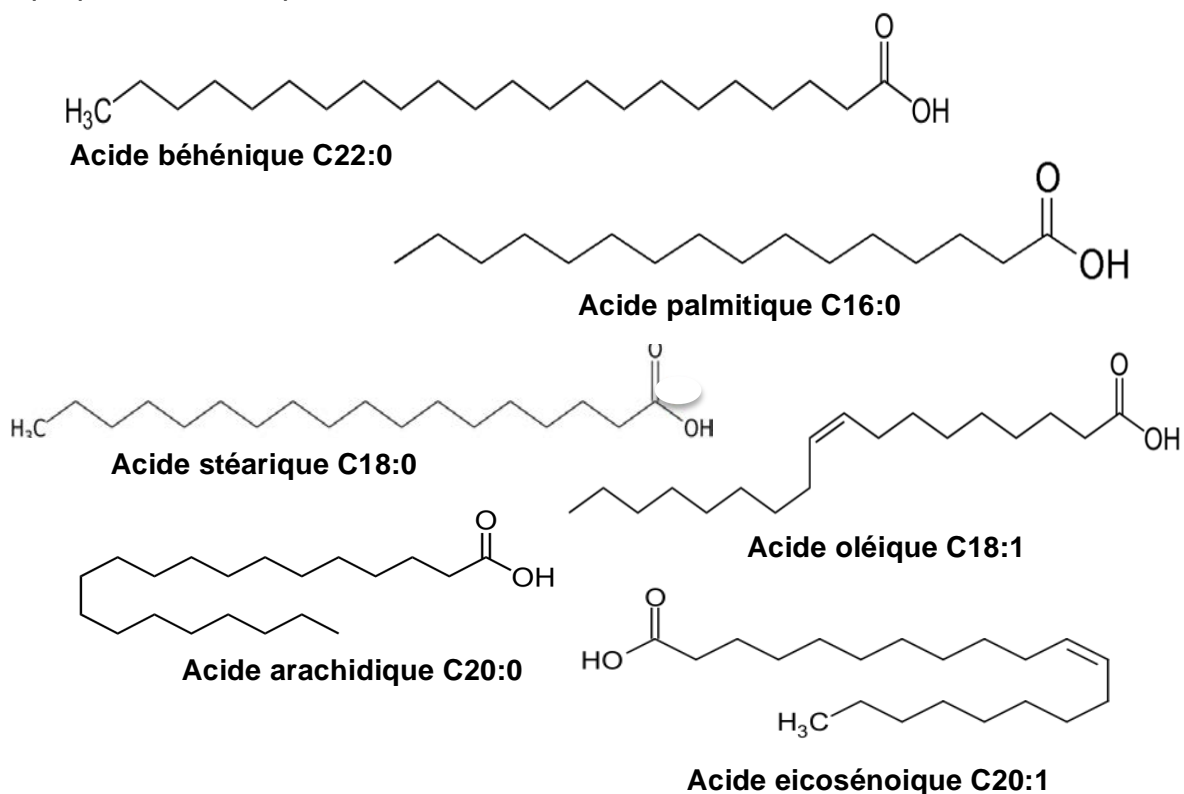


Figure I.3 : Exemple d'acides gras courants à longues chaînes

V. Production et propriétés des acides gras oxygénés

De nos jours plusieurs études ont montré l'importance d'une fonction oxygénée sur une chaîne carbonée quelconque. Les composés oxygénés sont reconnus à ce jour beaucoup plus réactifs, stables et visqueux [19]. En effet au niveau des acides gras, l'oxygène augmente les propriétés tant physiques que biologiques avec un aspect des thérapeutiques ; et peuvent être utilisés dans l'industrie chimique, alimentaire, cosmétique, pharmaceutique et en médecine. Ces fonctions oxygénées peuvent être des hydroxyle, peroxyde ou époxyde selon le type de la réaction ou mieux les résultats attendus. Des études menées ont montré l'effet que peut avoir un environnement cellulaire bien oxygéné dans l'organisme ; cas de la glycation des protéines. Cette étude a donc montré que ce milieu (environnement cellulaire bien oxygéné) agit positivement sur la glycation des protéines, ils en sont arrivés à la conclusion selon laquelle l'oxygène est l'agent qui s'oppose à la glycation des hémoglobines et permettant la réduction du taux d'hémoglobines déjà glyquées [20]. L'hémoglobine glyquée étant liée au diabète, un milieu oxygéné ou tout simplement la présence d'un taux élevé en oxygène est une alternative au traitement du diabète. L'apport en oxygène sur les corps gras d'après la littérature confère ou augmente les propriétés biologiques de ceux-ci. Ils possèdent des propriétés intéressantes soit un fort potentiel pour l'industrie chimique, alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Plusieurs études ont été effectuées dans le but de produire des acides gras oxygénés. Ces produits synthétisés par voie chimique ou biologique présente également un grand nombre de propriétés dont les plus constatés sont les propriétés biologiques. En effet, ces derniers présentent des activités comme l'inhibition vers l' α -glucosidase (enzyme responsable de la dégradation des hydrates de carbones des plus petites particules de sucre comme le glucose) [20, 21] ; des activités antibiotique, antifongique, anti-inflammatoire et anticancéreuse [22-24] ; et comparé aux acides gras non oxydés ils sont beaucoup plus réactifs, stables et visqueux [23]. Les acides gras oxygénés sont les acides gras les moins répandus dans la nature. L'acide ricinoléique portant une fonction hydroxylée sur sa chaîne carbonée est l'acide gras le plus connu de ce genre. Il est contenu à 90% dans l'huile de ricin, encore appelé huile de Castor issue des graines du *Ricinus communis* [4]. Cette huile présente différentes propriétés en générale reliée à l'action de l'acide ricinoléique en raison de sa forte teneur dans sa composition en acide gras. Ils sont reconnus pour avoir de fortes propriétés thérapeutiques dont on peut citer un fort effet laxatif. L'acide ricinoléique est utilisé dans différents domaines comme principe actif, additifs alimentaires, soin personnel mais aussi comme émulsifiants, lubrifiants, dispersant et enfin comme précurseur des saveurs et des parfums. [25-27].

V-1. Différentes voies d'obtention des acides gras oxygénés

V-1-1. Par la voie des agents oxydants

Il s'agit de l'insertion d'une fonction hydroxyle, peroxyde ou époxyde à partir d'un agent oxydant. Il existe plusieurs agents oxydants mais la particularité est que le produit formé n'est pas le même avec chaque agent oxydant. Les agents les plus répandus sont présentés dans le tableau I.5, ci-dessous.

V-1-2. La bioconversion

L'oxydation des acides gras peut aussi s'effectuer par bioconversion à partir de souches bactériennes. Cette méthode d'oxydation peut s'appliquer aussi bien sur les composés portant une fonction allylique ou non.

Tableau I.5 : Agents oxydants et produits correspondants [28].

Agents oxydants	Produits
$\text{MnO}_4^{2-} / \text{H}_2\text{O}$	Diol
OsO_4 (couteux)	Diol
$\text{OsO}_4 / \text{tert-BuOOH}$	Diol (72 %)
KMnO_4	Diol (67 %)
Peroxyde	Époxyde
Acide peroxybenzoïque	Époxyde (69-75 %)
$\text{CF}_3\text{CO}_3\text{H}$	Époxyde (73%)
Oxygène singulet	Peroxyde

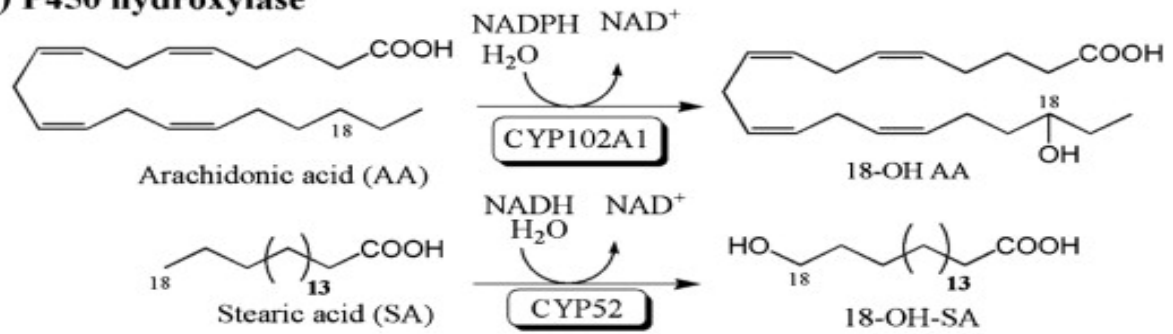
Les travaux de la littérature ont décrit un protocole d'oxydation : les souches bactériennes sont cultivées en milieu aérobie à 28 °C dans un erlenmeyer contenant un milieu standard constitué par du glucose, du K_2HPO_4 , du $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, d'extrait de levure, du $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, du $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ et de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Le milieu est mis sous agitation et à pH neutre pendant 24h ; l'acide (palmitique) est ensuite rajouté. La durée totale de la réaction étant de 72 h. Le produit de la réaction a été le DHD (dihydroxy hexadecenoïque). Il s'agit donc d'un diol [29].

V-1-3. L'oxydation enzymatique

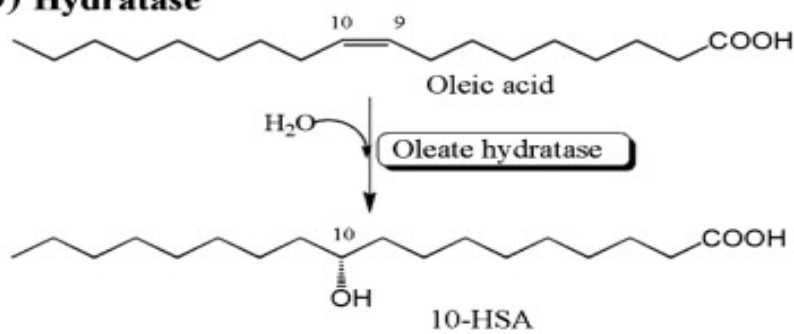
Ce type d'oxydation s'effectue également sur les acides gras insaturés ou non, avec une action plus spécifique au niveau de la chaîne carbonée. La lipoxygénase est une enzyme souvent utilisée dans les réactions d'oxydation enzymatique. On décrit le protocole suivant : la lipoxygénase est tout d'abord couplée aux manganèse, le couple est ensuite mélangé sous agitation avec de l'acide linoléique à 23°C dans une solution tampon (soit A contenant 0,1M de phosphate de potassium à pH 7,4). Les incubations sous oxygène O_2 sont conduites à 23°C dans un récipient de

réaction connecté à une conduite de vide élevée et une alimentation de l'argon. Le tampon A et le Mn-LO sont ajoutés au récipient de réaction aéré à 0°C en 5 cycles de vide et de purge d'argon avant l'introduction de l'O₂ et le substrat [30]. La figure I.3 ci-dessous présente quelques types d'oxydation enzymatique ainsi que les conditions de la réaction.

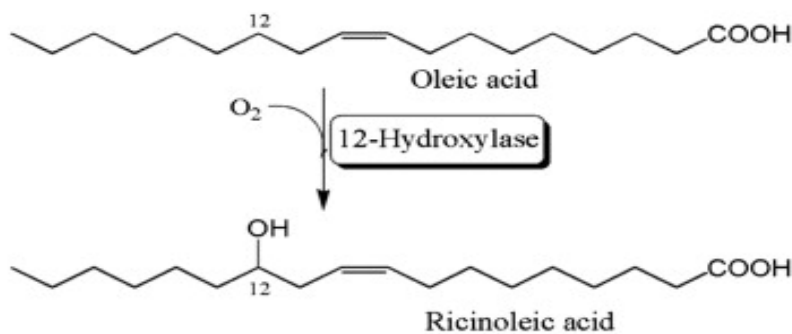
(a) P450 hydroxylase



(b) Hydratase



(c) 12-Hydroxylase



(d) Lipoxygenase

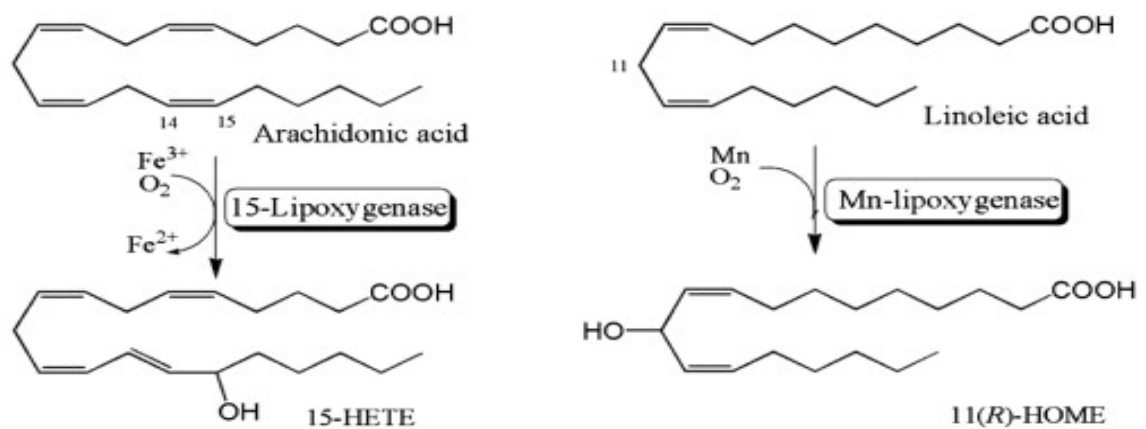


Figure I.4 : Oxydation enzymatique des acides gras libres [21], [30].

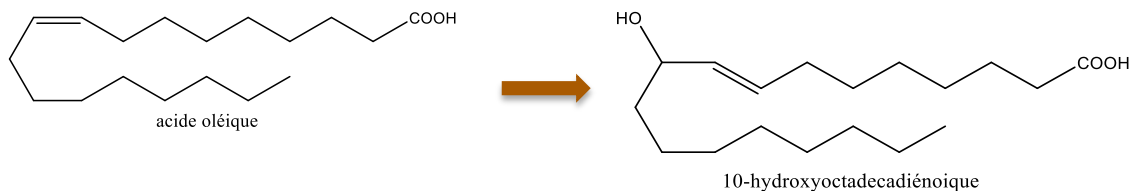
V-1-4. L'oxydation chimique catalytique pour la préparation des hydroperoxydes

Il s'agit dans ce cas d'une oxydation effectuée à partir d'un système catalytique dont le peroxyde d'hydrogène est couplé à un catalyseur. Le système a été développé sur ce cas de figure avec un acide gras à 3 carbones : l'acide tiglique. Dans un premier temps, la réaction s'est déroulée dans un bain thermostaté à 25 °C. La solution immergée dans le bain contenant du potassium tiglinate et le molybdate de potassium K_2MoO_4 est dissous dans de l'eau H_2O . Le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 à 50 % est additionné lentement pendant 3 h. On obtient 98 % d'hydroperoxyde.

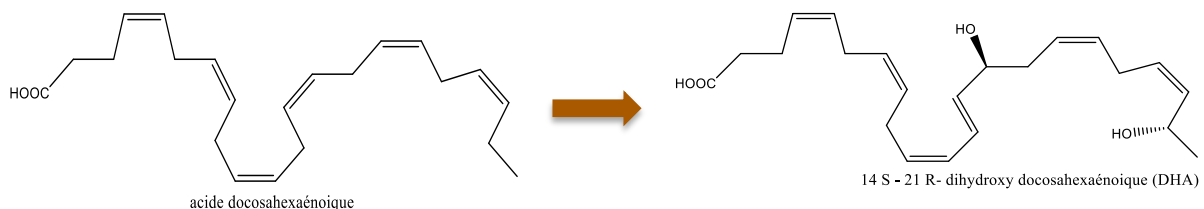
Dans un second temps la réaction se déroule à 20 °C. l'acide tiglique en présence d'une solution aqueuse D_2O contenant du molybdate de sodium Na_2MoO_4 et de l'hydroxyde de sodium $NaOH$ ont été mélangés. On additionne ensuite au mélange du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 à 50 %. On obtient dans ce cas 80 % d'époxyde et 9% de diol [31].

V-2. Propriétés de quelques acides gras oxydés : cas des HFAs

V-2-1. L' α -glucosidase est une enzyme responsable de la dégradation des hydrates de carbones de plus petites particules de sucres comme le glucose. L'acide 10-hydroxyoctadécadiénoïque obtenu après oxydation de l'acide oléique par voie enzymatique présente une activité inhibitrice vers l' α -glucosidase [22].

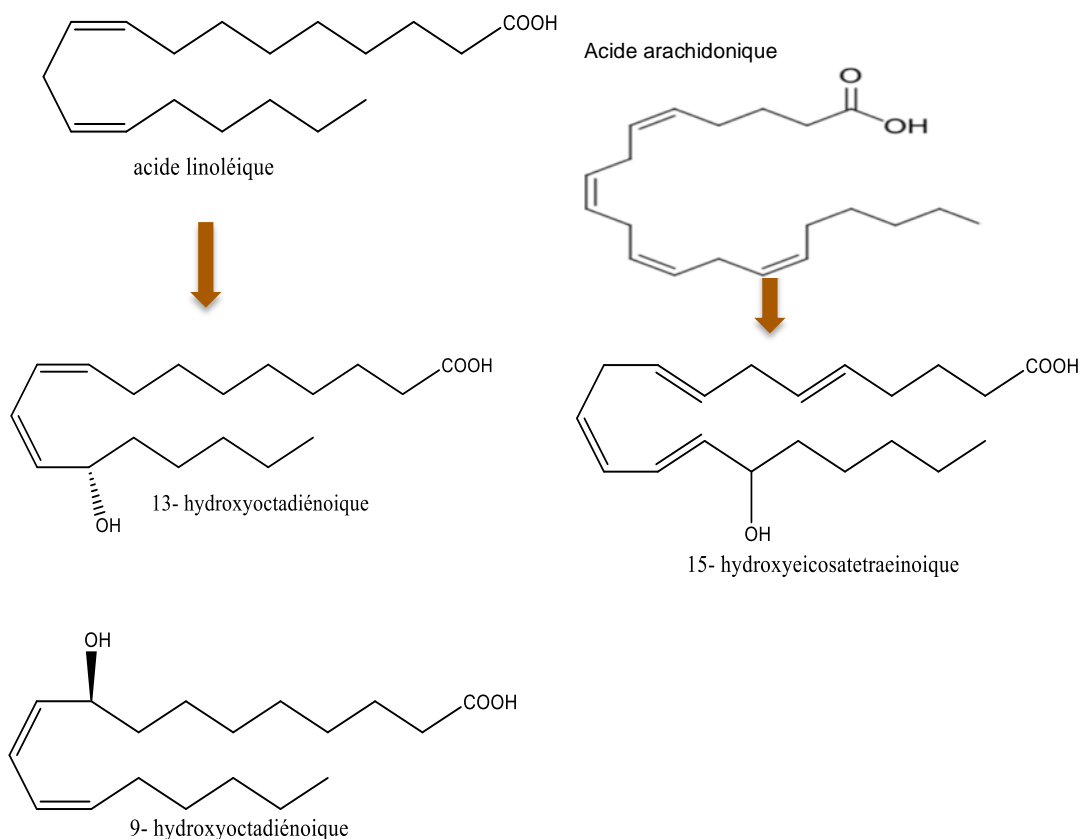


V-2-2. L'acide 14S-21R- dihydroxy docosahexaénoïque (DHA) issu de l'acide docosahexaénoïque par oxydation enzymatique, est utilisé pour traiter les plaies des diabétiques [22].



V-2-3. Enfin, l'acide 15-hydroxyeicosatétraénoïque ainsi que l'acide 9 et 13 d'hydroxyoctadiénoïque issus respectivement de l'acide arachidonique et

l'acide linoléique par voie enzymatique présente des propriétés antifongique et des activités anti-inflammatoire et anticancéreuse [21].



V-3. Oxygène singulet

L'oxygène est naturellement un bon agent oxydant, mais le peroxyde d'hydrogène possède des propriétés oxydantes plus puissantes que celles de l'oxygène moléculaire, tout en préservant quelques avantages qui sont les suivants : il ne génère que l'eau comme co-produit en dehors de l'oxygène singulet qui est l'agent oxydant; il est peu couteux et disponible [32]. L'oxygène singulet (général par le peroxyde) présente une meilleure réactivité et aussi sélectivité par rapport à l'oxygène à l'état fondamental. En général, il peut être produit avec un rendement élevé à partir de plusieurs réactions chimiques ; mais celles-ci ne sont pas très utilisées. Les raisons pour lesquelles elles ne le sont pas sont par exemple que pour certains réactifs inorganiques (comme ClO^- et BrO^-), il se forme des produits secondaires au cours de la réaction ou des sources organiques telles que les ozonides phosphite ou endoperoxydes aromatiques polycycliques qui requiert une préparation préliminaire. Une source de chimie catalytique a été récemment développée, dans laquelle l'oxygène singulet est généré quantitativement par une méthode plus simple; il s'agit de la dismutation du peroxyde d'hydrogène l'ion molybdate [33, 34].

Tableau I.6 : Détermination de l'intensité de l'oxygène singulet généré par détection de la luminescence en IR à 1270 nm [33].

Solvants	Paramètres				
	Catalyseurs	Température (°C)	Intensité (mV)	Temps (min)	Pourcentage (%)
Eau	Na ₂ MoO ₄	25	78	21	100
Éthanol	Na ₂ MoO ₄	40	80	186	45
	Li ₂ MoO ₄	40	502	25	92
Méthanol	Na ₂ MoO ₄	25	470	40	71
	Li ₂ MoO ₄	25	441	40	81
	K ₂ MoO ₄	25	27	42	36
Éthylène glycol	Na ₂ MoO ₄	25	410	20	70

Les travaux menés dans ce cas, ont également apporté plus d'informations sur la qualité du milieu de production efficace de l'oxygène singulet. La figure I.6 présente trois types de systèmes polyphasiques. Le premier (Type I) présente un système fait de gouttelettes d'huile dispersées dans l'eau ; le second (Type II) inverse au premier, fait de gouttelettes d'eau dispersées dans l'huile ; et le troisième (Type III) présente un système bicontinue contenant une quantité égale d'eau et d'huile. Ce dernier type correspond ainsi à un niveau élevé de co-solubilisation des espèces hydrophobes et hydrophyles. En effet, dans les systèmes polyphasiques l'oxygène singulet est perdu dans la phase aqueuse lors de sa production, et n'atteint pas son maximum de réactivité. En supprimant l'excès aqueux, le système polyphasique se comporte comme un système monophasique. Dans ces conditions, l'oxygène singulet atteint sa cible (selon son affinité), soit une fonction oléfine plus facilement [36].

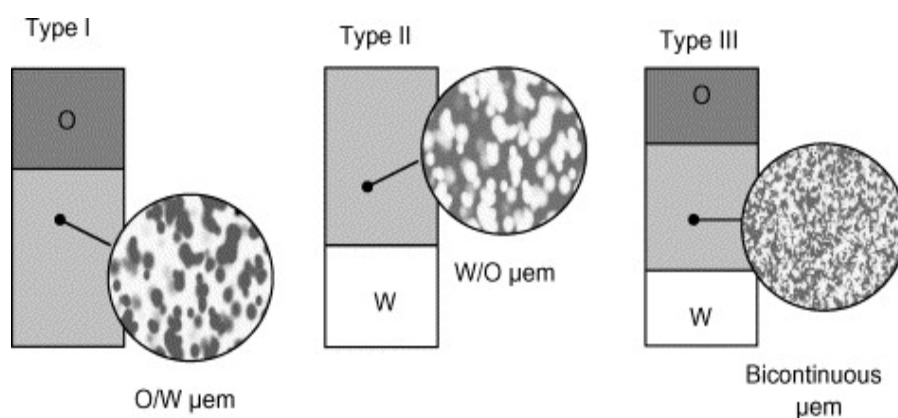


Figure I.7: représentation schématique de trois types de systèmes polyphasiques [36].

VI. Esters d'acides gras : monoglycérides (MAG)

Ce sont des composés lipidiques naturellement considérés comme tensioactifs non ioniques. Leur production est estimée à des points de fusion élevés, intéressantes pour l'industrie chimique. Dans le cas de l'acide stéarique par exemple, on note que sa température de fusion est de 73,1 °C tandis que le mono stéarate de glycérol atteint 81,5 °C. La littérature a montré également que la température de fusion augmente avec de la longueur de la chaîne carbonée [37]. Le groupement OH étant considéré comme le groupement fonctionnel le plus important d'un agent émulsifiant [38]. Les monoglycérides sont polymorphiques et se présentent généralement sur la forme la plus stable [2]. La forme β qui est la plus stable, est la seule retrouvée au niveau des monoglycérides insaturées [39]. La notion de polymorphisme indique la possibilité qu'une substance puisse cristalliser sous différentes formes pouvant être plus ou moins stables [2]. En effet, il existe différentes formes cristallines notamment la forme α' qui est la moins stable de toute ; la forme α plus stable que α' , qui est hexagonale ; la forme β' plus stable que α , orthorhombique et plus parfait que α' ; et enfin la forme β d'une géométrie triclinique [40].

Toutes ces propriétés font des monoglycérides, des composés de nature polyfonctionnelle. Ils sont d'excellents agents émulsifiants et sont très utilisés dans l'industrie alimentaire, cosmétique, pharmaceutiques, du plastique, du fibre et du textile. Pure à 90 %, ils sont utilisés entre 60 et 72 % dans le secteur alimentaire pour leurs propriétés émulsifiante, stabilisante, lubrifiante, épaississante, cristalline pour être utilisée comme margarine, crèmes glacées, desserts surgelés, etc. L'industrie cosmétique présente un intérêt pour les monoglycérides d'acides gras saturés présentant une stabilité à l'oxydation de l'air, inerte en présence des substances actives, une action émulsifiante, émoulliente et pénétrante sur la peau, etc. Dans l'industrie pharmaceutique, les monoglycérides sont utilisés pour leurs propriétés émulsifiante, transdermique, thérapeutiques, solubilisant pour la fabrication des anti-inflammatoires, anticancéreux, antivirus, etc. [37-41].

Ils sont également de bons tensioactifs ou agents émulsifiants en favorisant et stabilisant les émulsions [42]. Les monoglycérides sont par volume les lipides les plus communément utilisés dans les produits alimentaires. Leur propriété amphiphilique est la raison pour laquelle ils constituent de bons émulsifiants dans la fabrication des margarines et d'autres émulsions eau/huile (w/o) [43, 44].

Il existe néanmoins, un intérêt particulier dans l'usage des monoglycérides pures. Ces derniers favorisent des émulsions beaucoup plus stables et donc plus facile à conserver. Ce qui entraîne une ouverture plus large de différents secteurs comme les médicaments pour leur propriété antivirale, les pesticides pour leur capacité à renforcer l'activité biologique, le cosmétique pour les propriétés de pénétration transdermique avec quasiment pas d'effet thermique [39].

VII. Esters d'acides gras - acides gras hydroxylés : FAHFAS (fatty acids-hydroxy fatty acids)

Les FAHFAs sont une classe de lipides endogènes, des esters d'acides gras et d'acides gras hydroxylés. Ce type de composés a été découvert très récemment [45], dans les tissus adipeux des mammifères, le plasma sanguin etc. Ils existent sous forme de multiple combinaisons, d'acides gras et d'acides gras hydroxylés. On observe au niveau des acides gras l'acide oléique (AO, C18:1 n9), l'acide palmitique (PA, C16:0) et l'acide palmitoléique (PA, C16:1 n7) qui sont les plus répandus sous cette forme ; puis au niveau des acides gras hydroxylés, l'acide hydroxy stéarique (HSA) ou l'acide hydroxy palmitique (HPA) [46].

Les FAHFAs comme la majorité des composés oxygénés possèdent des propriétés et activités intéressantes. La littérature indique qu'ils augmentent la tolérance au glucose (3,4) et qu'ils possèdent des effets anti-inflammatoires (en particulier le 5 et 9 PAHPA), peuvent également avoir un effet antidiabétique (médiateurs endocriniens de la sensibilité à l'insuline) [45, 46]. En termes de constitution, les FAHFAs sont similaires au concentrat d'acides gras saturés, c'est à dire que les composés ne sont pas sous forme d'esters mais la composition générale est comparable : acides gras saturés, acides gras insaturés et quatre atomes d'oxygène fixés sur l'une des chaînes carbonées.

VIII. Travaux antérieurs : technologie chimique d'hydroxylation allylique sur l'acide oléique

Au Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle, l'huile de tournesol à forte teneur en acide oléique (teneur en oléique : 88 ou 92 %) est le substrat par excellence retenu pour l'étude et la mise au point de procédé d'oxydation allylique par insertion de l'oxygène singulet en alpha de la double liaison insaturée. Notamment, la double liaison de configuration *cis* de l'acide oléique s'est avérée propice à l'insertion du groupe hydroxy en deux positions de part et d'autre de la liaison éthylénique *cis* isomérisée en *trans* ou *E*. Deux isomères monoinsaturés hydroxy *trans* sont obtenus à partir de l'isomère *cis* substrat [47, 48].

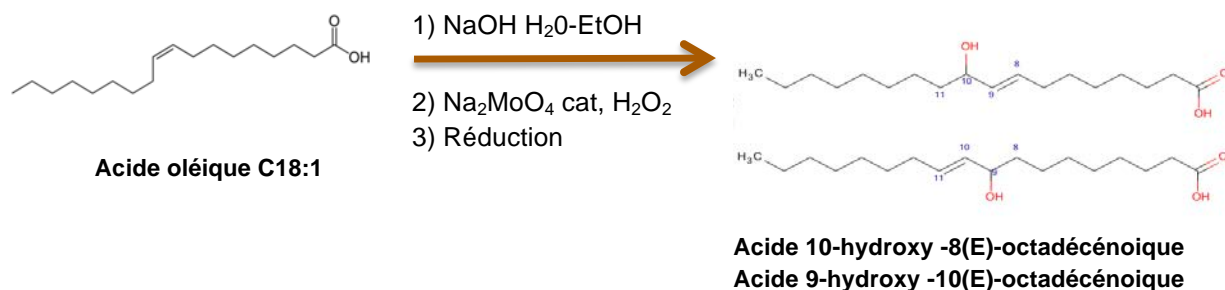


Figure I.8 : Réaction d'hydroxylation allylique de l'acide oléique [47-48].

Selon cette figure I.7, trois réactions chimiques sont mises en œuvre. La première convient pour neutraliser l'acide oléique à l'aide d'une solution de soude dans un milieu binaire Eau-EtOH. Un milieu organisé est élaboré. L'homogénéisation du milieu est facilitée par ajout de l'éthanol en premier, puis ensuite la solution de soude. La deuxième réaction est l'oxydation allylique en présence de l'eau oxygénée à 50% dans l'eau du carboxylate de sodium lipophile catalysée par le molybdate de sodium. Pour faciliter la solubilisation du molybdate, celui-ci doit être ajouté à la solution de soude. Le pH est ensuite ajusté à 11 avec une solution concentrée de soude. Les semi-produits de cette deuxième réaction sont des sels carboxylates lipophiles insaturés hydroperoxydes qu'il convient de réduire dans la troisième étape en présence du bisulfite de sodium. Cette troisième réaction s'effectue au cours de l'étape post-réactionnelle consacrée au traitement du brut réactionnel. La neutralisation avec l'acide chlorhydrique concentré des semi-produits conduit à l'obtention des acides gras insaturés hydroxylés [47-48].

IX. Production de l'huile de *Nephelium lappaceum* Linn. (sapindaceae)

IX-1. Marché mondial du ramboutan

La Thaïlande est devenue le premier producteur et exportateur de ramboutan sur le marché mondial. Le bureau de l'économie agricole en Thaïlande a signalé que la production totale de fruits de ramboutan de 2014 à 2015 était d'environ 318 000 tonnes par an. Par conséquent, les rejets moyens annuels de graines de ramboutan sont estimés à 1900 tonnes. L'augmentation de la charge de ramboutan pour l'industrie signifie que les déchets de graines de ramboutan augmentent également, sachant que ce dernier constitue en moyenne 4 à 9% du poids total de la graine. Les graines de ramboutan représentent aujourd'hui une nouvelle source de lipide de plus en plus exploitée. Originaire de Malaisie et d'Indonésie, il est cultivé dans d'autres pays comme l'Inde. [10-12].

IX-2. Disponibilité du ramboutan et fonctionnalités possibles

Le ramboutan, fruit saisonnier à graines oléoprotéagineuses, est peu disponible en République du Congo. Il n'apparaît que 2 à 3 mois sur le marché congolais dans la période allant de mi-septembre à mi-décembre. La graine est cueillie du haut d'un arbre d'environ 20 m de haut. La graine sèche de ramboutan représente seulement entre 4 et 9% du poids total du fruit de ramboutan. Sa teneur en huile est d'environ 36 %. Les données de la littérature renseignent que l'huile de *ramboutan* est composée de fraction lipidiques, notamment laurique (C16), oléique (C18) et enfin érucique (C20 et C22) [49]. La présence dans l'huile conventionnelle de ramboutan des acides gras saturés à longues chaînes C20 et C22 suscite un intérêt scientifique. En effet, les modifications de certaines huiles (tournesol, colza, etc.) créent des variétés adaptées aux contraintes d'applications industrielles dans des

domaines divers (peintures, solvants, lubrifiants...). Dans l'industrie chimique, l'huile de colza haut érucique fait partie des bases oléochimiques aux propriétés uniques. La fonctionnalité de l'huile de ramboutan peut également être assimilée à celle de la cire de jojoba. Cette dernière est considérée comme une cire d'importance économique. La cire de jojoba comme l'huile de ramboutan est composée de l'acide eicosénoïque C20:1 à 35 % contre 9,7 % dans l'huile de ramboutan. Elle est la source la plus abondante du C20:1. Les applications de cette cire sont extrêmement variées. Elle est très souvent utilisée en mélange avec d'autres pour apporter de la dureté sans augmenter le point de fusion. Elle sert à la formulation de nombreux produits pharmaceutiques et cosmétiques comme les lotions et les baumes notamment applicables sur les lèvres [13].

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Leray C.**, Les lipides nutrition et santé ; Edition Lavoisier ; 2013, 334p.
2. **Ngakegni-Limbili AC.**, Etudes de synergie des effets chimiques et biologiques des huiles essentielles et des lipides de réserves des fruits et graines saisonniers de la sous-région d'Afrique centrale ; These Université de Toulouse/Université Marien Ngouabi. 2012, 223p.
3. **Warner K.**, Chemistry of Frying Oils; *Food lipids*; 2002, p241.
4. **Akoh C & Min D.**, Food lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, quatrième édition; New York. Basel. **2017 : p1047.**
5. **Merrien A, Morice J, Pouzet A, Morin O, Sultana C.**, Graines oléagineuses des climats tempérés et leurs huiles. In : Karleskind A, ed. Manuel des Corps Gras, Paris : Tec & Doc. 1992, 116-164.
6. **Valentin R, Ngakegni-Limbili AC, Mouloungui Z & Ouamba JM.**, Thermal properties of monoglycerides from *Nephelium lappaceum* L. oil, as a natural source of saturated and monounsaturated fatty acids. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2013, **52**: 14089-14098.
7. **Bockish Michael.**, In : Fats and Oils Handbook: Composition, Structure, Physical Data, and Chemical Réactions IG Fats and soûls, Their Derivatives, and Their Associates ; AOCS Press; 1998, p53-120.
8. **Edward C. Leonard**; Industrial Crops As Sources of C20 and C22 Fatty Chemicals ; Humko Chemical Division, Witco Corporation, Memphis, TN 38101 Oleochemicals from Existing and New Vegetable Oils ; First European Symposium On industrial Crops & Products, Maastricht, by L. Staal Unichema International. November 1991.
9. **Brubach JB, Jannin V, Mahler B, Bourgaux C, Lessieur P, Roy P & Ollivon M.**, Structural and thermal characterization of glyceryl behenate by X-ray diffraction coupled to differential calorimetry and infrared spectroscopy; *International Journal of Pharmaceutics*. 2007, **336** : 248-256.
10. **Jannin V, Bérard., N'Diaye A, Andrès C & Pourcelot Y.**, Comparative study of lubricant performances of Compritol 888 ATO either used by blending or by not melt coating ; *International Journal of Pharmaceutics*. 2003, **262** : 39-45.
11. **N'Diaye A, Jannin V, Bérard., Andrès C & Pourcelot Y.**, Comparative study of lubricant performances of Compritol 888 ATO : effect of polyethylene glycol behenate on lubricant capacity ; *International Journal of Pharmaceutics*. 2003, **254** : 263-269.
12. **Barthélémy P, Laforêt JP, Farah N & Joachim J.**, Compritol 888 ATO : an innovative hot-melt coating agent for prolonged-release drug formulations ; *European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 1999, **47** : 87-90.
13. **Faham A, Prinderre P, Farah N, Eichler KD, Kalantzis G & Joachim J.**, Hot-melt coating technology. I : Influence of Compritol 888 ATO and granule size on theophylline release. *Journal Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2000, **26**(2) : 167-176.
14. **Tengku-Rozaina TM & Birch EJ.**, Enrichment of omega-3 fatty acids of refined Hoki ; *Oil Journal American Oil Chemical Society*. 2013, **90** : 1111-1119.
15. **Mouloungui Z, Alfos C & Rossignol-Castera A.**, Utilisation des Lipides Non Polaires dans les rouges à lèvres : État de l'art et perspectives ; *Ocl*, 13 n° 5 Septembre-Octobre 2006 : **326-327.**

16. **Wismak J.**, In: Jojoba Oil. The chemistry and technology of jojoba oil; AOCS. 1987, **Chap 1**: 1-71.
17. **Lecerf J-M.**, Acides gras, huiles et risque cardiovasculaire : une saga ; *Phytothérapie*. 2010, **8** : 77.
18. **Salas Joaquin J, Bootello Miguel A & Garcés R.**, Food Uses of Sunflower Oils; Sunflower: *Chemistry, Production, Processing and Utilization*. 2015 : 441-464.
19. **Hou CT.**, Biotransformation of Unsaturated Fatty Acids to Industrial Products; *Advances in Applied Microbiology*. 2000, **47** : 201-220.
20. **Mercier B, Prost J & Prost M.**, Un environnement cellulaire bien oxygéné permet de lutter contre la glycation des proteines ; *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 2014, **24**(1) : 102-107.
21. **Paul S., Hou CT & Kang SC.**, α -Glucosidase inhibitory activities of 10-Hydroxy-8(E)-octadecenoic acid: an intermediaire of bioconversion of oleic acid to 7,10-dihydroxy-8(E)-octadecenoic acid ; *New biotechnology*. 2010, **27** : 419-423.
22. **Biermann U, Bornscheuer U, Meier M, Metzger JO & Schäfer HJ.**, Oils and fats as renewable raw materials in chemistry ; *Angewandte Chemie International Edition*. 2011, **50** : 3854-3871.
23. **Itoh T, Fairall L, Amin K, Inaba Y, Szanto A, Balint BL, Nagy L, Yamamoto K & Schwabe J.**, Structural basis for activation of PPAR δ by oxidized fatty acids; *Nat Struct Mol Biol*. 2008, **15**: 924-31.
24. **Moreno JJ.**, New aspects of the role of hydroeicosatetraenoic acids in cell growth and cancer development ; *Biochemical Pharmacology*. 2009, **77**:1-10.
25. **Shureiqi I, Jiang W, Zuo X, Wu Y, Stimmel JB, Leesnitzer LM, Morris JS, Fan H, Fischer SM & Lippman SM.**, The 15-lipoxygenase-1 product 13-S-hydroxyoctadecadienoic acid down-regulates PPAR- δ to induce apoptosis in colorectal cancer celles; *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 2003, **100**: 9968-9973.
26. **Tunaru S, Althoff TF, Nüsing RM, Diener M & Offermanns S.**, Castor oil induces laxation and uterus contractino via ricinoleic aci activating prostaglandin EP3 receptors; *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 2012, **109**(23) : 9179-9184.
27. **Kim K-R et Oh D-K.**, Production of hydroxy fatty acids by microbial fatty acid-hydroxylation enzymes ; *Biotechnology Advances*. 2013, **31**(8): 1473-1485.
28. **Carey FA & Sundberg RJ.**, Chimie organique avancée, DeBoeck Université, 1996, Tome 1: 1-787.
29. **Bae JH, Suh MJ, Kim BS, Hou CT, Lee IJ, Kim IH & Kim HR.**, Optimal production of 7,10-dihydroxy-8(E)-hexadecenoic acid from palmitoleic acid by *Pseudomonas aeruginosa* PR3 ; *New Biotechnology*. 2010, **27**(4) : 352-357.
30. **Hamberg M, Su C & Oliw E.**, Manganese Lipoxygenase: discovery of a bis-allylic hydroperoxyde as product and intermediate in a lipoxygenase reaction ; *Journal of biological chemistry*. 1997, **273** : 13080-13088.
31. **Nardello V, Bouttemy S & Aubry J-M.**, Olefin oxidation by the system H₂O₂/MoO₄²⁻: competition between epoxidation and peroxidation ; *Journal of Molecular Catalysis A : Chemical*. 1997, **117** : 430-447.
32. **Godard A.**, Nouveaux procédés verts d'oxydation de l'acide oléique ; Thèse de doctorat de l'université Toulouse ; Institut national polytechnique Toulouse. 2012 : 1-277.

33. **Nardello V, Bogaert S, Alsters P & Aubry JM.**, Oxygen generation $\text{H}_2\text{O}_2/\text{MoO}_4^{2-}$: peroxidation of hydrophobic substrates in pure organic solvents ; *Tetrahedron Letters*. 2002, **43** : 8731-8734.
34. **Nardello V, Caron L, Aubry JM, Bouttemy S, Wirth T, Chanu R & Adam W.**, Reactivity, chemoselectivity, and diastereoselectivity of the oxyfunctionalization of chiral allylic alcohols and derivatives in microemulsions: comparison of chemical oxidation by the hydrogen peroxide/sodium molybdate system with the photooxygenation; *Journal of the American Chemical Society (JACS)*. 2004, **126** : 10692-10700.
35. **Aubry JM, Adam W, Alsters P, Borde C, Queste S, Marko J & Nardello V.**, Dark singlet oxygenation of organics substrates in single-phase and multiphase microemulsion systems; *Tetrahedron*. 2006, **62** : 10753-10761.
36. **Caron L, Nardello V, Alsters P & Aubry J-M.**, Convenient singlet oxygenation in multiphase microemulsion systems, *Journal of Molecular Catalysis A : Chemical*. 2006, **251** : 194-199.
37. **Mouloungui Z, Rakotondrazafy V, Peyrou G, & Eychenne V.**, Pure alpha-monoglycerides for industrial applications, *Agro-Food-Industry Hi Tech*. 1998, **10-14**.
38. **Verstringe S, Danthine S, Blecker C, Depypere F & Dewettinck K.**, Influence of monopalmitin on the isothermal crystallization mechanism of palm oil; *Food Research International*. 2013, **51**(1) : 344-353.
39. **Trados T.**, Considérations sur les aspects actuels des émulsions dispersées ; *Informations chimie*. 1988, **293** : 159-165.
40. **Rincon-Cordona JA, Martini S, Candal RJ & Herrera LM.**, Polymorphic behavior during isothermal crystallization of high stearic high oleic sunflower oil stearins, *Food Research International*. 2013, **51**(1): 86-97.
41. **Rakotondrazafy V.**, Valorisation chimique du glycérol : synthèse d' α -Monooléate de glycérol en milieux aqueux, catalysée par les résines échangeuses d'anions ; Thèse Université de Toulouse. 1994 : 1-985.
42. **Stauffer F.**, La préparation d'émulsions doubles par un système microfluidique ; Thèse de doctorat, Université de Lorraine (Faculté de Pharmacie). 2014 : 1-107.
43. **Vereecken J, Meeussen W, Lesaffer A & Dewettinck K.**, Comparing the crystallization and polymorphic behaviour saturated and unsaturated monoglycerides; *Food Research International*. 2009, **42**(10) : 1415-1425.
44. **Ganem-Quintanar A, Quintanar-Guerrero D & Buri P.**, Monoolein: A review of the pharmaceutical applications; *Drug development and Industrial Pharmacy*. 2000, **26** (8), 809 – 820.
45. **Yore M, Syed I, Pedro M, Vieira M, Zhang T, Herman Mark A, Homan A Edwin, Patel Rajesh T, Lee J, Chen S, Peroni Odille D, Dhaneshwar Abha S, Hammarsted A, Smith U, McGraw Timothy E, Saghatelian A & Kahn Barbara B.**, Discovery of class of Endogenous Mammalian Lipids with Antidiabetic and Anti-inflammatory effects; *Cell*; 2014, **159** : 318-332.
46. **Balas L, Bertrand-Michel J, Viars F, Faugere F, Lefort C, Caspar – Bauguil S, Languin D & Durand T.**, Regiocontrolled syntheses of FAHFAs and LC-MS/MS differentiation of regioisomers. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2016, **14** : 9012-9020.
47. **Becker R.**; Projet Cameline Oil ; Laboratoire de chimie agroindustrielle. Octobre-décembre 2013, 1-10.
48. **Scweitzer C & Schmidt R.**, Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen; *Chemical Reviews*. **2003**, **103**: 1685-1757.

49. **Lecomte J.**; Les cires végétales : sources et applications, *OCL* ; 2009, 16 : 262-266.

CHAPITRE II : MÉTHODOLOGIE ADOPTÉE

I-	Récolte et séchage de la matière première	32
II-	Les modes opératoires des réactions mis en œuvre	32
II-1	Broyage des amandes sèches de ramboutan	32
II-2	Extraction de l'huile brute de ramboutan par la méthode de référence : Mise en œuvre (Soxhlet)	33
II-3	Libération des acides gras natifs de ramboutan par hydrolyse enzymatique	34
II-4	Technologie de gélification / dégelification : cristallisation à froid	34
II-5	Procédé d'oxydation allylique appliqué aux acides gras insaturés libres de ramboutan (AGILR) : système AGILR/H ₂ O ₂ /Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	35
II-6	Condensation des acides gras hydroperoxydes <i>trans</i> avec le glycidol en présence de la résine Amberlyst A26 OH	37
III-	Méthodes d'analyses	39
III-1	Méthodes d'analyses physico-chimiques	39
III-2	Méthodes d'analyses physiques	42
IV-	Schéma directeur des différentes étapes de cette étude	44
V-	Références bibliographiques	46

I- Récolte et séchage de la matière première

Les fruits de ramboutan (*Nephelium lappaceum* L.) ont été récoltés en mars 2015 (période de fin de fructification) dans le district de Boko au sud de la République du Congo (figure II.1a); latitude 4°47'12"S, longitude 14°37'44"E, altitude 595 m. La récolte du ramboutan se fait par cueillette.



(a)



(b)

Figure II.1 : Images du fruit de *Nephelium lappaceum* L. et des amandes après décorticage du fruit.

(a) : Fruits de ramboutan ; (b) : Amandes sèches de ramboutan

Les fruits sont décortiqués manuellement. On obtient des amandes. Elles sont récupérées puis séchées (figure II.1b) à l'étuve pendant 7 jours à la température de 50 °C au laboratoire de l'Unité de Chimie de la Vie et du Végétal à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Marien Ngouabi.

II- Modes opératoires mises en œuvre

II-1. Broyage des amandes sèches de ramboutan

Les graines sèches de ramboutan obtenues après décorticage et séchage du fruit sont broyées à l'aide d'un broyeur de type IKA (figure II.2), taille du filtre 2 mm pour obtenir une poudre fine et homogène.



Figure II.2 : Photo Broyeur de type IKA

II-2. Extraction de l'huile brute de ramboutan par la méthode de référence : Mise en œuvre (Soxhlet)

La méthode d'extraction utilisée pour l'extraction de l'huile de ramboutan est la méthode normalisée du Soxhlet NF EN ISO 659 (1998). L'huile a été extraite avec un rendement de 36 %.

L'huile a été extraite à partir de la méthode de Soxhlet (figure II.3), le protocole d'extraction étant la méthode normalisée du Soxhlet décrite par AFNOR NF EN ISO 659 (1998). Pour 500 g de broyat de graines on utilise 1,5 L de cyclohexane. L'extraction des lipides se déroule à chaud 40 °C sur une durée de 6 h.



Figure II.3 : Image d'une extraction au soxhlet

II-3. Libération des acides gras natifs de ramboutan par hydrolyse enzymatique

Dans cette étude, le protocole opératoire de l'hydrolyse enzymatique de l'huile a été étudié et établi au Laboratoire de Chimie Agroindustriel depuis 2004 sur les huiles végétales de colza (brevet Mouloungui et Melching) [1], tournesol [2]. L'hydrolyse de l'huile brute de ramboutan est effectuée dans un réacteur batch de 1L (bécher double enveloppe), thermostaté à 37 °C et équipé d'un homogénéisateur (model L4RT, Silverson Machines LTD. Chelsam, England). La lipase de *Candida rugosa* soit 1 % (0,62 g) de la masse des triglycérides a été dissous dans 1 L d'eau distillée. Le mélange lipase/eau (1 L) est ensuite ajouté dans le réacteur. Le réacteur est maintenu à 37 °C (température optimale de la lipase), et le mélange est agité à 8000 tr.min⁻¹ pendant 1h30. Ce mode d'agitation est propice à l'activation des actes chimiques réactionnels grâce au cisaillement du milieu et à la production des particules de taille réduite et homogène. L'enzyme de nature hydrosoluble agit à l'interface eau / huile. La lipase utilisée ici est issue de la levure *Candida rugosa* présente une bonne activité catalytique [2]. Un fournisseur d'enzymes (Creatives enzyme), présente quelques informations sur la lipase *Candida rugosa*, notamment son activité catalytique qui est supérieur ou égale à 2U. Cette activité correspond à la quantité d'enzyme qui libère 1 µmol d'acide oléique par minute à pH 8,0 et à 40 °C [3]. Le mélange obtenu après hydrolyse est ensuite centrifugé à 10000 g (centrifugeuse sigma, type 6K16), on obtient deux phases (organique et aqueuse). Une phase organique est récupérée et analysée par chromatographie en phase gazeuse. La lipase *Candida rugosa*, hydrosoluble est active à l'interface eau / huile et est réutilisable en la récupérant à partir de la phase aqueuse.

II-4. Technologie de gélification / dégelification : cristallisation à froid

II-4-1. Procédé physique : Gélification/ Dégelification

Un bain de glace additionné de 100 g de chlorure de sodium (NaCl), est porté à la température de -10 °C. On y place le milieu réactionnel brute issu de l'hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan. A température ambiante, le bain de glace fond et ralentit la gélification du milieu réactionnel. Il est porté en isotherme à - 20 °C pour permettre la gélification du milieu réactionnel. Il est maintenu à cette température pendant 2 h. Il se produit la gélification du milieu réactionnel. Il est ensuite abandonné à température ambiante 25 °C jusqu'au dégel. Un suivi cinétique du dégel en fonction du temps a été effectué avant centrifugation. Les températures des technologies ont été fixées en fonction de la température d'activité maximale de la lipase et des températures de fusion de chaque famille d'acides gras. L'opération est répétée (deux fois) avec comme substrat de départ les acides gras libres d'une part et l'huile brute d'autre part.

II-4-2. Procédé mécanique : Centrifugation

Après dégelification à 25 °C, le système hétérogène est centrifugé à une vitesse de 10.000 g, rotor 12500 ; à une température de 40 °C pendant 20 min, à l'aide d'une centrifugeuse sigma, type 6K16 (Figure II.4). On réalise la séparation triphasique nette de deux phases organiques distinctes, liquide et solide, et d'une phase aqueuse contenant l'eau, le glycérol et la lipase.

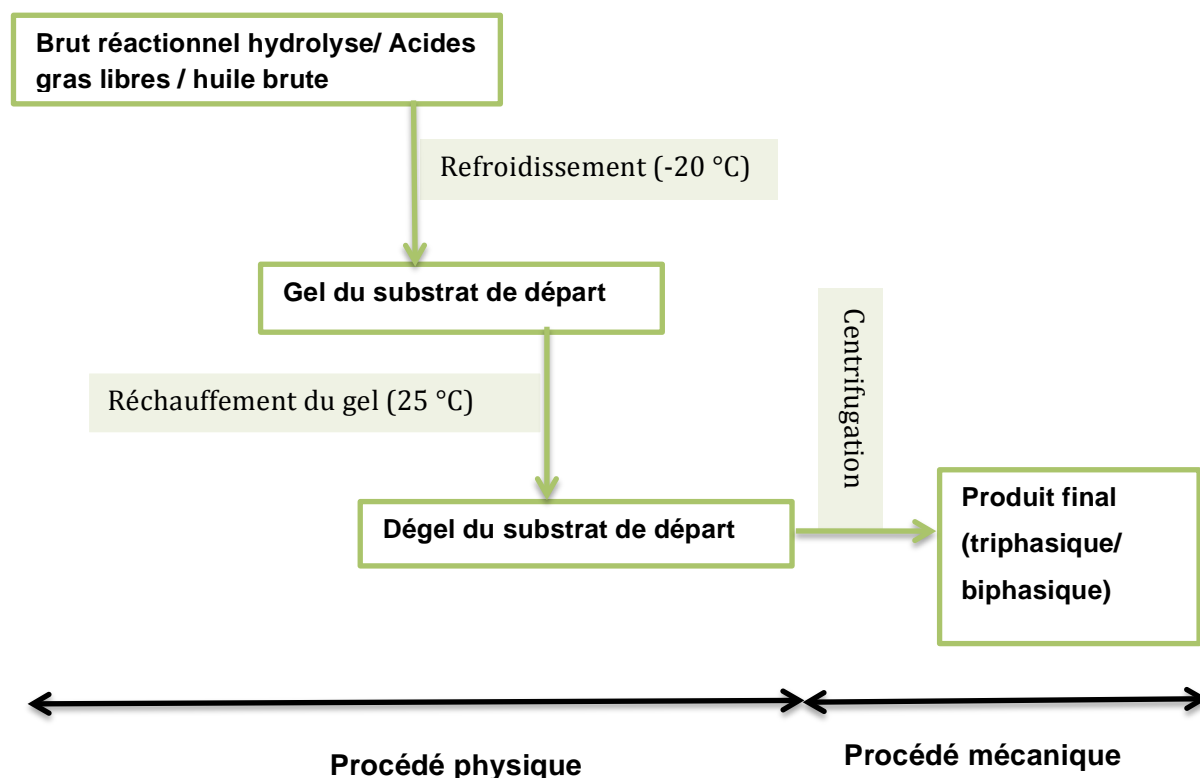


Figure II.4 : Schéma directeur de la technologie de gélification/dégélification

II-5. Procédé d'oxydation allylique appliqué aux acides gras insaturés libres de ramboutan (AGIRL) : système AGILR/ H₂O₂ / Na₂MoO₄, 2H₂O.

Le procédé d'oxydation appliqué a été mis au point au Laboratoire de Chimie Agroindustrielle et breveté par Mouloungui et Nsa Moto, sur les acides gras insaturés libres de l'huile de tournesol haut oléique (THO) (88,68 % monoinsaturés (C18:1) et 4,41 % (C18:2 & C18:3) et de l'huile de cameline (27,97 % monoinsaturés (C18:1 et C20:1) et 53,93 % polyinsaturés (C18:2 et C18:3). Ce protocole est breveté depuis 2017 et fait l'objet des développements industriels très importants dans l'objectif de produire des acides gras hydroxylés apparentés aux acides gras du ricin [5].

II-5-1. Préparation in situ des sels carboxylates alcalins lipophiles par neutralisation des acides gras libres

Les acides gras libres de ramboutan (22,08 mmol soit 20 g) issus de l'hydrolyse enzymatique sont mélangés à une solution d'hydroxyde de sodium à 0,05 N (12,50 mmol, 50 mL, pH=12). Le mélange hétérogène est mis sous agitation à 300 rpm puis chauffée 50 °C dans un bécher en verre de 100 mL jusqu'à un léger éclaircissement du milieu initialement trouble. Cette première étape consiste à la neutralisation des acides gras libres de ramboutan pour former leurs sels respectifs. Ce sont des sels carboxylates lipophiles d'acides gras en C16:0, C18:0, C18:1, C20:0, C20:1, C22:0. Les valeurs des CMC de quelques uns de ces sels sont rapportées dans le tableau II.1. Utilisés dans ces concentrations, les sels d'acides gras formés permettent d'abaisser la tension interfaciale huile/eau et agissent comme catalyseurs du système réactionnel. La présence des acides gras à longues chaînes notamment le C20 et le C22 permet de structurer les interfaces du milieu réactionnel. Cette propriété est liée à la taille de la chaîne hydrocarbonée et à la saturation de ces chaînes hydrocarbonées. Nous avons associé la réactivité des concentrats d'acides gras avec la disponibilité de ces tensioactifs anioniques générés in situ. Leur présence est un avantage par rapport à l'émulsification du milieu réactionnel de l'oxydation allylique dans la deuxième étape du procédé. Les sels carboxylates alcalins sont ensuite soumis à la réaction d'oxydation allylique.

Tableau II.1 : Propriétés déterminées à 30 °C dans l'eau pour quelques sels d'acides gras connus [6].

Nom	M (g/mol)	CMC (mg/ L)	CMC (mmol/L)
Palmitate de sodium	278	0,584	2,1
Stéarate de sodium	306	0,552	1,8
Oléate de sodium	304	0,655	2,15

CMC : Concentration Micellaire Critique.

II-5-2. Oxydation allylique des acides gras insaturés libres

Après neutralisation par la soude sous forme aqueuse à 0,05 N et pH=12, l'oléate de sodium et l'éicosénoate de sodium sont obtenus avec le mélange acide gras libre (saturés et polyinsaturés) de ramboutan après saponification. 20 g (22,08 mmol) de sels carboxylates de sodium d'acides gras brut sont mélangés à 50 mL d'éthanol à 99 % et 1,18 g (4,88 mmol) de molybdate de sodium dihydraté $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans un réacteur (tricol) de 500 mL équipé d'un réfrigérant. Placé sous forte agitation mécanique (500 rpm), ensuite il est porté à 65 °C. A cette température de 65 °C, on ajoute à ce mélange 50 mL (0,146 mmol) de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) aqueux à 50 % à l'aide d'un pousse seringue électrique sur une période de 4 h à un débit de 0,17 mL/min. Des cristaux de soude (NaOH) sont

ajoutés simultanément au peroxyde d'hydrogène pour maintenir le pH entre 10 et 12.

Après addition complète de tous les réactifs sur les 4 h, le milieu est maintenu sous agitation et à chaud (65 °C) pendant 2 h supplémentaires afin de favoriser l'action totale de l'oxygène singulet.



Figure II.5 : Photo réacteur de la réaction d'oxydation allylique des acides gras insaturés libres

II-6. Condensation des acides gras hydroperoxydes *trans* avec le glycidol en présence de la résine Amberlyst A26 OH⁻

Le procédé catalytique de condensation des acides gras avec le glycidol a été mis au point sur les modèles acide oléique, de colza, de tournesol, puis a ensuite été appliqué premièrement sur le modèle acide oléique du tournesol haut oléique et sur le modèle huile de ramboutan au LCA [7]. Dans cette étude, nous essayons de l'extrapoler et de l'adapter sur un substrat particulier représenté par un mélange acide 10-hydroperoxy *trans* 9 octadécénoïque, acide 12-hydroperoxy *trans* 11 eicosénoïque et acides gras saturés, issus de l'oxydation des acides gras libres insaturés de l'huile de ramboutan.

II-6-1. Conditionnement de la résine

La résine Amberlyst A26 sous forme OH⁻ est mise en présence d'eau déminéralisée, volume V, pendant environ 40 min jusqu'à pH neutre de la solution aqueuse

contenant la résine. On observe un gonflement de la résine. Par la suite, elle est rincée avec de l'éthanol pur à 99% (2V) et du diéthyl éther (2V) pour éliminer l'éthanol résiduel. La résine est séchée sous vide pendant 10 min.

Amberlyst A26 hydroxyde est une résine de forme macroréticulaire fortement basique avec la fonctionnalité d'ammonium quaternaire capacité catalytique est de 0,8 meq/ mL par volume de lit mouillé ; taille des pore 0,30 mL/g volume poreux, et 400 °A de la taille moyenne de pores [8].

II-6-2. Déroulement de la réaction de condensation du mélange d'acides gras insaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés avec le glycidol

Dans un réacteur de 100 mL, équipé d'un réfrigérant, on introduit 2 g de résine Amberlyst A26 OH⁻ et 4,52 g (16 mmol) du mélange d'acides gras insaturés *trans* et d'acides gras saturés. Le milieu est chauffé progressivement jusqu'à 70 °C, sous agitation (500 rpm), pendant 15 min. A 70 °C, une solution aqueuse constituée de 3,2 g de glycidol dans 10 mL d'eau (soit 4,3 mmol/ mL) est ajoutée au mélange. La réaction est maintenue à 70 °C et sous agitation à 500 rpm pendant 4 heures. En fin de réaction, le produit final est filtré sur Büchner pour la récupération de la résine Amberlyst A26 OH⁻. Le filtrat est ensuite lavé au diéthyl éther (100 mL* 3) pour récupérer le produit de réaction puis séché au MgSO₄ anhydre. Le solvant organique est éliminé par évaporation sous vide à l'évaporateur rotatif. Un brut réactionnel est isolé.

Ce mélange d'acides gras est mis à réagir avec le glycidol en présence de la résine Amberlyst A26-OH. La résine Amberlyst A26-OH est un polymère polytiramique fonctionnalisé par les fonctions ammonium quaternaires de type I porteurs de la fonction hydroxyle. Sa capacité catalytique est de 2,4 meqOH/g de résine sèche solide. Elle est ajoutée au système réactionnel et engendre un milieu hétérogène solide/liquide. La phase solide est représentée par la résine échangeuse d'anion. La phase liquide est constitué par des acides gras solubilisés dans la phase glycidol eau : 3:1 (V/V). Cette phase liquide est transparente et visqueuse en raison de la présence du glycidol. Le glycidol exerce le double rôle de solvant des acides gras et de réactif de condensation de ces acides gras pour transformer leur fonction carboxylique en groupes carboxyesters de glycérol.

Le choix du glycidol est doublement encouragé pour réaliser de façon qualitative, l'insertion de chacun en position 1 du glycérol. Ainsi les composés attendus sont des monoesters de glycérol et d'acides gras appelés 1-monoglycérides. La réaction ou les réactions de condensation se déroule dans un milieu organisé obtenu par émulsification d'acides gras hydroperoxydés dans le milieu polaire hydrophile. Cette émulsification est d'autant plus marquée par la présence dans eau-glycidol des monoglycérides en formation au fur et à mesure que le degré d'avancement de la réaction ou des réaction de condensation évolue vers la formation des monoglycérides purs.

III- Les méthodes d'analyses

III-1. Méthodes d'analyses physico-chimiques

III-1-1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

III-1-1-1. Profil glycérique

L'huile de ramboutan est analysée par chromatographie en phase gazeuse. 10 mg d'huile sont solubilisés dans 10 mL de cyclohexane. Dans un insert, on introduit ensuite 160 μL du mélange et 40 μL de MSHFBA (*N*-Méthyl-*N*-triméthylsilylheptafluorobutyramide), agent silylant. Les échantillons obtenus sont analysés et quantifiés à l'aide d'un chromatographe couplé à un détecteur à ionisation de flamme (FID) chauffé à 365 °C. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium ($P=15\text{psi}$ en tête de colonne). La colonne est une CP Sil 8CB low bleed MS de Varian de longueur 15 m et de diamètre interne 0,32 mm, épaisseur de film 0,25 μm . La quantité de produit injecté en colonne est 1 μL , suivant le gradient de température ci- après : 55 °C pendant 0,5 min, puis 200 °C/min jusqu'à 340 °C pendant 40 min. Le four est chauffé à 55 °C pendant 0,5 min, 45 °C/min jusqu'à 80 °C, 10 °C/min jusqu'à 360 °C et 360 °C pendant 16 min. Le temps d'analyse total est de 50 minutes. Les résultats de cette analyse indiquent les différentes teneurs en glycérides notamment les tri- di- monoglycérides et les acides gras à partir de leurs standards respectifs.

III-1-1-2. Profil en acides gras

Différents substrats notamment les acides gras de l'huile de ramboutan, acides gras des milieux d'hydrolyse enzymatique, acides gras des produits formés à savoir les acides gras saturés, insaturés des concentrats , acides gras des concentrats oxygénés sont analysés par chromatographie en phase gazeuse. 20 mg du substrat à analyser ainsi que les concentrats d'acides gras dont l'un enrichis en acides gras saturées (AGS) et en acides gras insaturés (AGI) sont solubilisés dans 1 mL de TBME (tet - buthyl méthyl éther) à des concentrations de 1 à 10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Puis dans un insert, on introduit ensuite 100 μL de la solution préparée précédemment avec 50 μL de TMSH (triméthylsulphonium hydroxyde). La solution est agitée à l'aide d'un vortex avant injection. Au cours de ces processus de prétraitement des substrats, les acides gras libres sont convertis en esters méthyliques correspondants. Le TMSH est utilisé comme agent de méthylation. Les échantillons sont analysés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse au moyen d'un chromatographe Varian 3900 couplé à un détecteur à ionisation de flamme (FID). La phase mobile est de l'hélium (Air Liquide, France) à un débit en tête de colonne capillaire de 1,2 mL par minute. La température du four est maintenue à 100 °C pendant 5 minutes puis est portée progressivement jusqu'à 180 °C à une vitesse de 5 °C. min^{-1} pendant 10 min, et finalement portée à 250 °C à une vitesse de 10 °C. min^{-1} pendant 5 minutes. Le temps d'analyse total est de 50 minutes. Les températures du détecteur et de l'injecteur sont fixées à 250 °C.



Figure II.6 : Photo de l'appareil Varian de chromatographie en phase gazeux

III-1-2. Caractérisation par résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire RMN^1H sont réalisés avec un appareil Bruker Fourier 300. Les analyses RMN^1H sont effectuées respectivement à 300 MHz. Le solvant utilisé est le chloroforme deutéré (CDCl_3). Les déplacements chimiques (δ) sont donnés en partie par million (ppm) référencés au chloroforme résiduel (^1H : 7,26 ppm).

Cette méthode présente un certain avantage : elle est non destructive, rapide mais surtout génère des spectres riches en informations structurales. Au cours de cette étude, la lecture des spectres RMN se fera principalement sur deux zones clés. Dans le cas de RMN du proton, la première est la zone située entre 5 et 6 ppm, dans laquelle apparaît la fonction allylique des chaînes carbonées selon sa conformation (*cis* ou *trans*). La deuxième zone se situe entre 2 et 4,2 ppm dans laquelle apparaissent les fonctions esters RCOOR , hydroxyle OH ou hydroperoxyde OOH .

III-1-3. Caractérisation par analyse spectrophotométrie infrarouge (IR)

Les spectres infrarouges des composés liquides ou solides sont obtenus à partir d'un spectrophotomètre Perkin-Elmer IR-TF (Infrarouge à transformée de Fourier) 65 spectrometer, voir figure II.6. Les nombres d'ondes (ν) sont exprimés en cm^{-1} . La gamme spectrale du nombre d'onde est comprise entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} . Les échantillons (fluides) sont placés entre deux disques transparents d'un sel très pur, le bromure de potassium (KBr), puis analysés au spectrophotomètre. Une goutte d'huile est déposée sur l'une des faces de l'une des pastilles. Les acides gras sont alors répandus sur toute la surface de la pastille sont contact suivi d'un mouvement de frottement circulaire des deux pastilles. Lorsque la quantité d'huile déposée sur la

pastille est en excès, elle provoque une sensation de viscosité entre les pastilles et révèle après analyse des pics non résolus en forme de patates.



Figure II.7 : Photo du spectrophotomètre Perkin-Elmer IR-TF (Infrarouge à transformé de Fourier)

La caractérisation par infrarouge des acides gras libres (et dérivés par la suite) est effectuée dans cette étude pour permettre de suivre les modifications chimiques de la chaîne carbonée des acides gras notamment autour de la fonction allylique et les modifications chimiques des groupes fonctionnels carboxyliques ou carboxyesters des terminaisons des chaînes carbonées.

La lecture des spectres infrarouge se fait par zone des fréquences d'absorption : de $3000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$, cette zone permet d'explorer les bandes de vibration des liaisons zone des liaisons O-O-H insérées sur la chaîne aliphatique, des liaisons OH dans les acides carboxyliques et les OH des mono ou diglycérides. La seconde zone se situe entre les fréquences $1750-1650 \text{ cm}^{-1}$, elle permet de suivre la conversion des esters complexes des triglycérides de l'huile de ramboutan au cours de l'hydrolyse enzymatique catalysée par la lipase de *C. rugosa*. La disparition partielle ou totale de la fréquence à 1750 cm^{-1} pour l'apparition des fréquences à 1710 cm^{-1} confirme la présence de la liaison -C(=O)-OH du groupe carboxylique libre des acides gras ou des acides gras hydroperoxydes. La troisième zone d'observation concerne les fréquences entre 1000 cm^{-1} et 600 cm^{-1} . On observe les fréquences entre $715 - 960 \text{ cm}^{-1}$ attribuées aux doubles liaisons de configuration *cis* ou *trans* aux doubles liaisons de configuration *cis* des acides gras monoinsaturés et des acides gras polyinsaturés.

III-2. Méthodes d'analyses physiques

III-2-1. Caractérisation par calorimétrie différentielle à balayage

(*Differential Scanning Calorimetry* ou **DSC**)

Un appareil DSC1Star System Droid (DK1Star DSC) (Figure II.8) a été utilisé avec un système de refroidissement interne. L'azote gazeux de purge a un débit de 20 ml/min (avec une température de fusion de $T_f = 156,6 \text{ }^\circ\text{C}$ et une chaleur de formation de $\Delta H_f = 28,45 \text{ J/g}$) et de l'eau distillée ($T_f = 0 \text{ }^\circ\text{C}$, $\Delta H_f = 334,0 \text{ J/g}$) ont été utilisés pour l'étalonnage. Les données ont été analysées en utilisant Pyris software (Pékin - Elmer). Des échantillons de 4-10 mg sont pesés dans des petits supports en aluminium à 0,1 mg, les couvercles sont scellés hermétiquement en place avec des joints toriques. Un vase d'aluminium hermétiquement vide a été la référence. Les rampes de température dans le calorimètre sont conditionnés de la façon suivante : chauffage de + 25 °C à 60 °C, à une vitesse de 10 °C/min et maintenu pendant 5min, refroidi à -80 °C à une vitesse de 10 °C/min et maintenu 5 min. L'échantillon a ensuite été chauffé à 60 °C à 10 °C/min. Deux cycles ont été effectués. Le logiciel Star v.11.0 a été utilisé pour analyser et tracer les données thermiques.

III-2-1-1. Cristallisation et fusion :

Les caractéristiques de chaque échantillon en balaye DSC (*Differential Scanning Calorimetry*) sont décrites par différentes températures: la température de début (T_0) et la température de fin (T_f) (points où le bord d'attaque extrapolé de l'endotherme / exotherme croise la ligne de base), et les différentes températures maximales de transition (température du flux thermique maximal différent) entre T_0 et T_f .

III-2-1-2. Teneur en matière grasse solide (SFC, Solid Fat Content) :

La quantité de solides dans les graisses en fonction de la température est calculée en utilisant des expériences DSC et le logiciel STAR associé. Puisque la teneur en graisse solide dépend de la température, ces valeurs peuvent être présentées en fonction de la température. Les zones partielles des thermogrammes sont calculées et corrélées avec les pourcentages de solides considérant qu'à -80 °C, les échantillons sont 100% fondus.



Figure II.8 : Photo de l'appareil DSC

III-2-2. Caractérisation par analyse thermogravimétrique (ATG)

Les propriétés thermiques des échantillons (20 mg environ) sont déterminées avec un analyseur thermogravimétrique SDT Q600 (TA instrument) sous atmosphère d'azote avec un débit de 100 mL/min dans une gamme de température de 35 °C à 1000 °C avec une rampe de 10 °C/ min. La perte de poids est enregistrée en continu en fonction de l'augmentation de la température.

III-2-3. Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)

L'acquisition des diagrammes de diffraction a été réalisée sur un diffractomètre PANalytical X'Pert Pro θ / θ avec une anode en Cu comme source de RX (longueur d'onde caractéristique de 1.5418 Å) et un détecteur linéaire de type X'Celerator (figure5). L'appareil a été utilisé en configuration Bragg-Brentano avec des fentes de Soller avant de 0,04 radians et des fentes de divergence variables couplées à un masque afin de garantir une longueur d'échantillon irradiée constante de 10 mm. Les données ont été enregistrées sur une gamme angulaire allant de 2 à 70° (2theta) avec un pas angulaire de 0,016° et un temps/pas de 750 secondes. Les poudres à analyser sont en petite quantité et sous forme pâteuse, elles sont préparées sur des portes échantillons en Si désorienté nous affranchissant de tout bruit de fond.



Figure II.9 : Photo d'un diffractomètre PANalytical X'Pert Pro θ / θ

IV- Schéma directeur des différentes étapes de cette étude

En somme l'ensemble des différentes étapes de la méthodologie adaptée au cours de cette étude sur le ramboutan est résumé sur la figure II.10. Les résultats de chaque étape seront présentés dans le chapitre III.

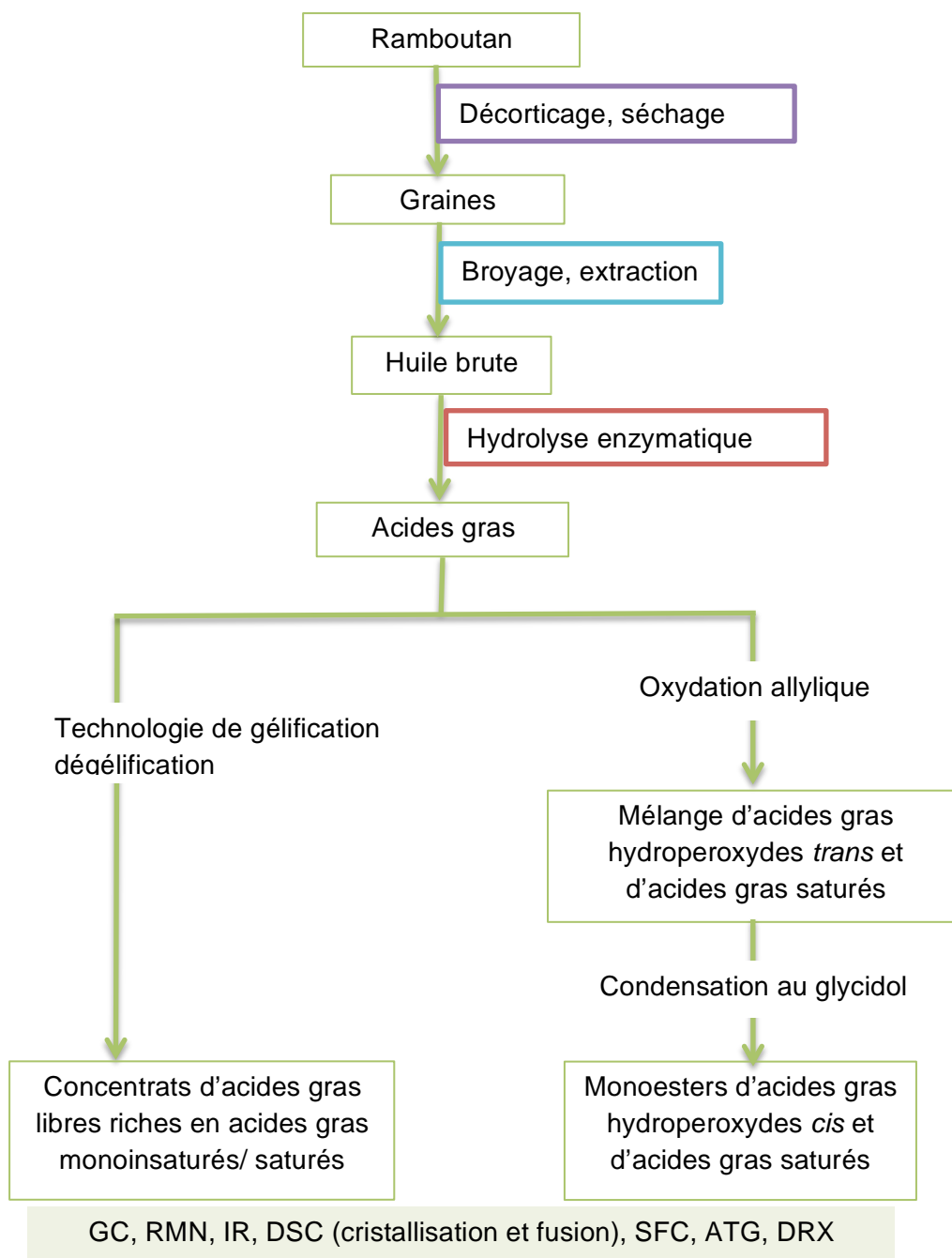


Figure II.10 : Schéma directeur des différentes étapes de cette étude
GC : Chromatographie en phase gazeuse ;
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire
DSC : Calorimétrie différentielle à balayage (*Differential Scanning Calorimetry*)
SFC : Teneur en matières grasses (Solid Fat Content)
ATG : Analyse Thermogravimétrique
DRX : Diffraction des Rayons X

V- Références bibliographiques

1. **Mouloungui Z & Mechling E.**, Process for preparation of fatty acids by in situ hydrolysis of the lipids contained in seeds of a plant. FR. Patent. 2004, **2** : 843-970.
2. **Valentin R, Ngakegni-Limbili AC, Mouloungui Z & Ouamba JM.**, Thermal properties of monoglycerides from Néphélium Lappaceum L. oil, as a natural source of saturated and monounsaturated fatty acids. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2013, **52** : 14089-14098.
3. **Hou C.**, Characterization of new yeast lipases, *Journal of American Oil chemists' Society*. 1997, **74**(11) : 1391-1394.
4. **Créatives enzymes** ; Native candida rugosa lipase *Cat. No. NATE-0399*.
5. **Mouloungui Z. & Nsa Moto H.** ; Procédé d'oxydation d'un acide gras insaturé et système réactionnel pour la mise en œuvre d'un tel procédé FR 3 051790-A1. 2017, 1-79.
6. **Bailly C, Leymarie J, Lehner A, Rousseau S, Côme D & Corbineau F.**, Catalase activity and expression in developing sunflower seeds as related to drying, *Journal of Experimental Botany*. 2004, **55** : 396, 475-483.
7. **Godard A, Pascale de Caro, Verdenne E, Mouloungui Z & Thiebaud S.**, From crops to products for crops : preserving the ecosystem through the use of bio-based molecules, *Oléagineux, Corps gras Lipides*. 2016, **23**(5) : 1-12.
8. **Mouloungui Z, Rakotondrazafy V, Valentin R, & Zebib B.**, Synthesis of Glycerol 1-Monooleate by Condensation of Oleic Acid with Glycidol Catalyzed by Anion-Exchange Resin in Aqueous Organic Polymorphic System; *Ind. Eng. Chem. Res*. 2009, **48** : 6949-6956.

CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

I-	Composition chimique de l'huile d'amandes de ramboutan (<i>Nephelium lappaceum</i>)	48
I-1	Détermination de la teneur en huile issue des amandes de ramboutan	48
I-2	Profil des glycérique et acide gras de l'huile de ramboutan	49
II-	Hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan	50
II-1	Profil des acides gras libres de l'huile de ramboutan	50
II-2	Caractérisation chimique des acides gras libre de l'huile de <i>Nephelium lappaceum</i> L.	53
III-	Nouveau procédé de séparation par cristallisation des concentrats d'acides gras saturés/ d'acides gras monoinsaturés par de technologies physiques de gélification /dégélification des acides gras de l'huile de ramboutan	56
III-1	Technologies de gélification/dégélification	56
IV-	Densification en oxygène des concentrats d'acides gras saturés/ d'acides gras monoinsaturés par la technologie chimique d'hydro peroxydation allylique des acides gras monoinsatures de l'huile de ramboutan	71
IV-1	Technologie chimique d'hydro peroxydation allylique	71
IV-2	Préparation des hydroperoxydes d'acides gras de <i>Nephelium lappaceum</i>	71
IV-3	Préparation des acides hydro peroxydés	72
IV-4	Densification du milieu hydro peroxydé en acides gras saturés	75
IV-5	Caractérisation chimique du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés <i>trans</i> ou <i>E</i> et acides gras saturés	76
IV-6	Caractérisation physique : Étude thermique du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés <i>trans</i> ou <i>E</i> et acides gras saturés	79
V-	Condensation du mélange des acides gras hydroperoxydés <i>trans</i> insaturés et des acides gras saturés au glycidol en milieux aqueux en présence de résine échangeuse d'anions macroporeuse Amberlist A 26 OH	85
V-1	Préparation des monoesters de glycérol d'acides gras hydroperoxydes insaturés <i>cis</i> et d'acides gras saturés	85
V-2	Caractérisation chimique des mononesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydes insaturés <i>cis</i> (<i>Z</i>)	89
VI-	Références bibliographiques	104

I- Composition chimique de l'huile d'amandes du *Nephelium lappaceum* Linn (*ramboutan*)

I-1. Détermination de la teneur en huile issue des amandes de *Nephelium lappaceum*

La quantité totale de lipides extraits via la méthode de soxhlet, contenue dans les échantillons d'amandes de *ramboutan* est de 36 % du poids des amandes. La teneur en huile du ramboutan récoltée au Congo en Mars 2015 dans le district de Boko au sud du pays, est dans le même ordre de grandeur que celles obtenues par *Ngakegni 2012*, au Congo également dans la même localité ou district Boko (36,8 %), *Augustin et Chua, 1998* en Malaisie (comprise entre 37,1 %-38,9 %), *Solis-Fuentes et al., 2010* au Mexique (33,4 %), *Winayanuwattikun et al., 2008* (comprise entre 39 % - 41 %) et *Lourith et al., 2016* en Thaïlande (30,12 %) [1, 2, 3, 4, 5]. Les différences (figure III.1) peuvent s'expliquer par la diversité variétale et localisation géographique de celles-ci. Les méthodes d'extraction et de caractérisation utilisées impactent également sur les résultats obtenus à partir de la diversité de formes d'amandes (longues, ovales et rondes) de chaque variété agricole.

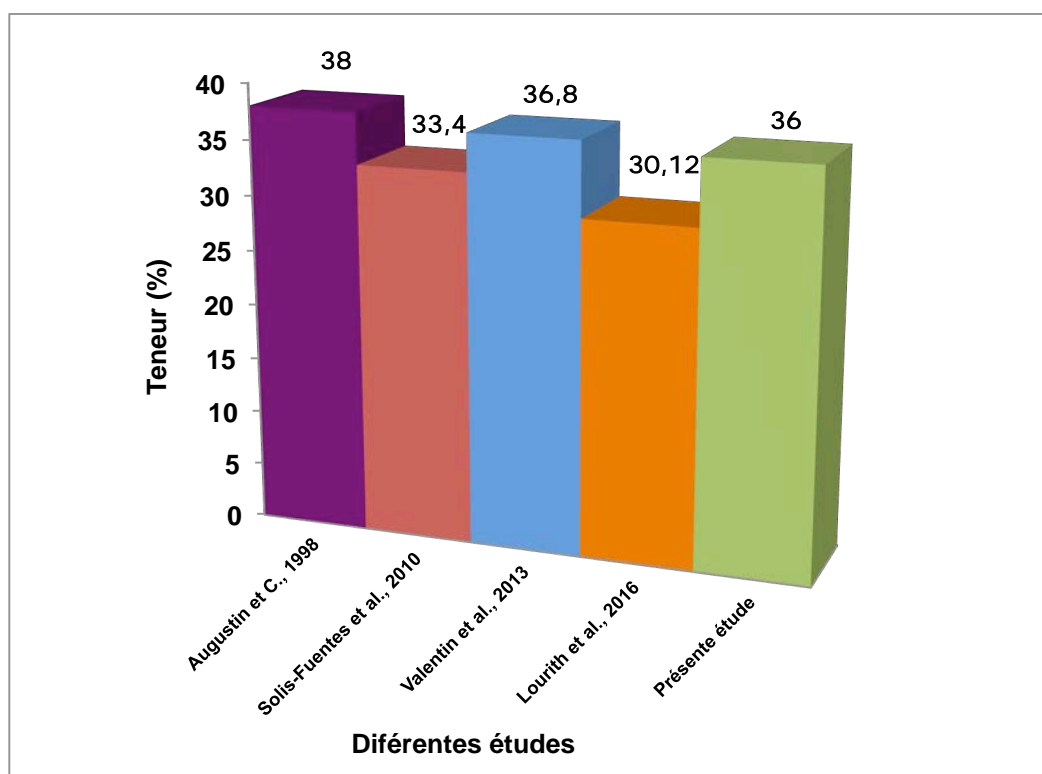


Figure III.1 : Comparaison des différentes teneurs de l'huile de ramboutan

I-2. Profil glycérique et profil acide gras de l'huile de *Nephelium lappaceum*

Les chromatographes obtenus permettent de constater que l'huile brute de ramboutan est constituée 87,88 % de triglycérides, 4,79 % de diglycérides, 0,17 % de monoglycérides et 7,13 % d'acides gras. Ils sont identifiés par rapport aux standards commerciaux, aux temps de rétention respectifs de tri-di-monooléine, stéarique, palmitique, arachidique, eicosénoïque.

La répartition des acides gras majoritaires présents dans le milieu selon leur ordre d'élution à leurs temps de rétention (Tr) et représentés dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Temps de rétention des acides gras de l'huile de *Nephelium lappaceum*

Acides gras	Temps de rétention (min)
Acide palmitique (C16:0)	5,572
Acide stéarique (C18:0)	7,271
Acide oléique (C18:1)	7,893
Acide linoléique (C18:2)	8,910
Acide arachidique (C20:0)	10,212
Acide eicosénoïque (C20:1)	11,152
Acide béhénique (C22:0)	15,092

L'huile brute issue des amandes sèches de ramboutan est donc majoritairement composée d'acides gras saturés à 39,49 % et monoinsaturés à 54,89 %. Le tableau III.2 ci-dessous, présente la composition en acides gras de l'huile de ramboutan dans la présente étude en comparaison avec celles des huiles de ramboutan issus d'autres études et régions du monde.

Tableau III.2 : Composition en acides gras de l'huile de *Nephelium lappaceum*

Acides gras	Augustin & Chua 1988 (Malaisie)	S. Fuentes et al. 2010 (Mexique)	Manaf et al. 2013 (Malaisie) [6].	R. Valentin et al. 2013 (Congo)	N. Lourith et al. 2016 (Thaïlande)	Présente étude
Acide palmitique (C16:0)	4,61	6,1	4,60	4,2	5,84	4,84
Acide stéarique (C18:0)	6,53	-	7,88	7,2	4,54	5,48
Acide oléique (C18:1)	39,08	40,3	43,09	36,6	31,08	45,62
Acide linoléique (C18:2)	1,39	-	3,22	1,8	2,40	2,70
Acide arachidique (C20:0)	36,46	34,5	31,53	38,1	28,65	26,53
Acide eicosénoïque (C20:1)	-	6,3	-	6,8	-	9,27
Acide béhénique (C22:0)	2,60	2,9	2,10	3,8	3,04	2,64

On constate une disparité de la composition en acides gras des différentes huiles de ramboutan représentées ci-dessus. Les teneurs en deux acides gras monoinsaturés (tableau III.3) : acide oléique C18:1 et acide eicosénoïque C20:1 sont plus élevées dans le cas présent que dans les huiles de ramboutan analysées dans la littérature. La composition en acides gras saturés, insaturés et monoinsaturés de l'huile de ramboutan se présente donc comme suit:

Tableau III. 3 : Répartition des acides gras de l'huile de ramboutan avec les ratios AGS/AGI (AGMI)

	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C20:1	C22:0
Acides gras saturés (%)							
Acide palmitique						-	
Acide stéarique	4,84	-	-	-	-	-	-
Acide arachidique	-	5,48	-	-	-	-	-
					26,53	-	-
Acide béhénique					(67,2%)	-	
							2,64
							(6,7 %)
Total AGS: 39,49							
Acides gras insaturés (%)							
Acide oléique	-	-	45,62	-	-	-	-
Acide linoléique	-	-	-	2,70	-	-	-
Acide eicosénoïque	-	-	-	-	-	9,27	-
						(16%)	
Total AGI : 57,59							
Ratio AGS/AGI = 0,69 soit AGI/AGS = 1,46							

L'acide arachidique représente 67 % des AGS et l'acide béhénique 6,7 % soit environ 74 % des AGS tandis que l'acide eicosénoïque représente 16 % des AGMI. Ces structures à C20 et C22 notamment les AGS (C20:0 et C22:0) ayant de haute température de fusion à cause de la longueur de leur chaîne carbonée saturée vont influencer les propriétés de fusion et de cristallisation des ensembles organiques engendrés au détriment des AGMI soit le C20:1 dont la température de fusion n'influence pas le mélange acides gras.

II- Hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan

II-1. Profil des acides gras libres de l'huile de ramboutan

Après 6 h, la réaction d'hydrolyse produit les acides gras libres, par analyse CPG/FID, on détermine leur teneur à une valeur de 71,53 %. Un suivi cinétique de la réaction effectué à partir de différents prélèvements dont le premier après 30 min puis ensuite toutes les 15 min, montre que l'hydrolyse est complète au bout de 2 h (figure III.2).

Les intermédiaires de réaction sont présents aux concentrations suivantes : 10,25 % de diglycérides et 3 % de monoglycérides ; le reste à 100 % est représenté par les triglycérides n'ayant pas réagi soit 15,22 % de triglycérides. Les résultats sont rapportés dans le tableau III.4. Le suivi cinétique de l'essai est visualisé sur la figure III.3.

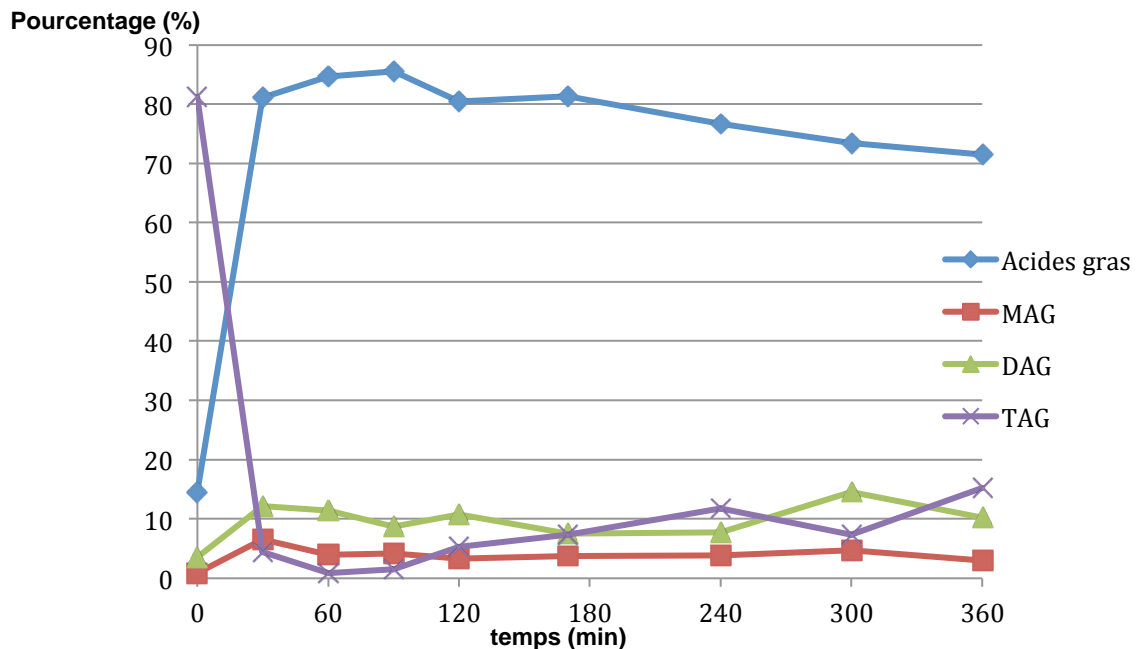


Figure III.2 : Suivi cinétique de l'hydrolyse enzymatique (6 h) de l'huile de ramboutan (*Nephelium Lappaceum L.*)

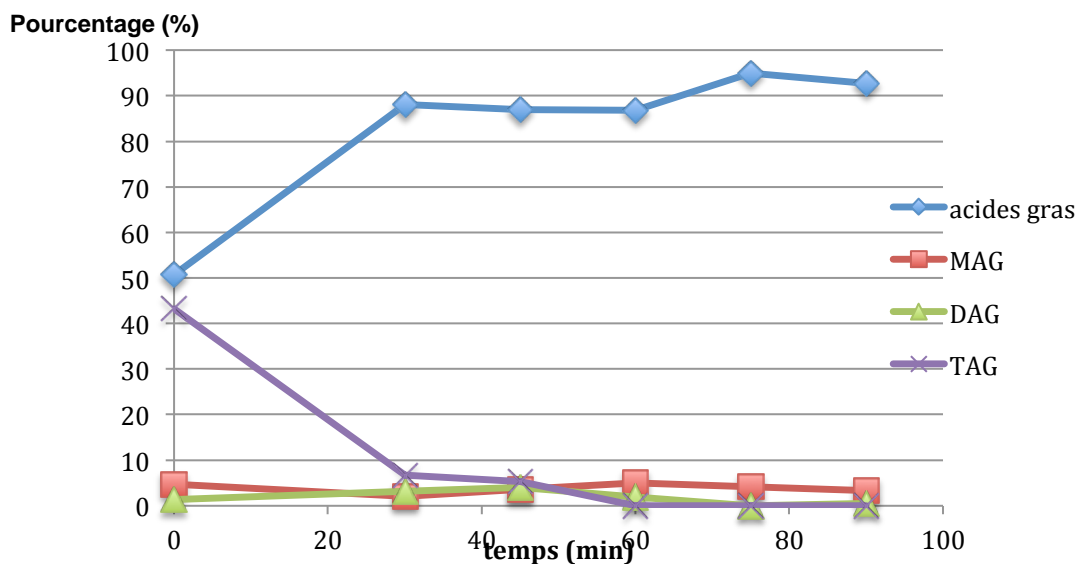


Figure III.3 : Suivi cinétique de l'hydrolyse enzymatique (1h30) de l'huile de ramboutan (*Nephelium Lappaceum L.*).

MAG : Monoglycérides
DAG : Diglycérides
TAG : Triglycérides

Tableau III.4 : Profil en acides gras libres de l'huile de ramboutan

Noms	Huile de ramboutan (<i>Nephelium lappaceum</i> L.)	Acides gras libres de concentrats isolés avec une teneur de 92,71 %
Acide palmitique C16:0	4,84 ± 0,42	4,72 ± 0,19
Acide stéarique C18:1	5,48 ± 0,34	5,69 ± 0,23
Acide oléique C18:1	45,62 ± 0,95	47,54 ± 0,57
Acide linoléique C18:2	2,70 ± 0,51	2,71 ± 0,13
Acide arachidique C20:0	26,53 ± 0,36	26,21 ± 0,19
Acide eicosénoïque C20:1	9,27 ± 0,94	8,06 ± 0,08
Acide béhénique C22:0	2,64 ± 0,03	2,48 ± 0,19
AGS	39,49	39,10
AGMI	54,89	55,60
AGS/ AGMI	0,719	0,703
AGMI/ AGS	1,390	1,422

La réaction d'hydrolyse s'est déroulée dans les mêmes conditions en présence de la lipase *C. rugosa* sous agitation pendant 1h30. Ce second suivi cinétique montre une teneur en acides gras libres de 92,71 % au bout de 90 min soit 1h 30 (figure III.3). Dans ce deuxième cas de figure, les intermédiaires de réaction sont présents aux concentrations suivantes : les triglycérides sont totalement convertis en acides gras 92,71 %, diglycérides 6,52 % et monoglycérides 2,77 %. Ces deux essais montrent bien que l'acte chimique principe est la rupture des liaisons esters de la forme complexe dans les triglycérides partiels : diglycérides et monoglycérides. L'accumulation de ces deux esters semble convenir pour catalyser la phase finale de la rupture des liaisons esters complexes vers la formation quantitative des acides gras. Ceci est en accord avec les observations de la littérature [7] concernant l'hydrolyse des huiles d'olive et de suif avec la lipase de *Candida rugosa*. Les molécules présentes à de faibles concentrations, peuvent agir en tant que tensioactifs et comptabilisants de réactifs non miscibles en réaction. La composition relative en acides gras après hydrolyse présente les teneurs des acides gras libres exprimées en pourcentage est reportée dans le tableau III.4. Le profil en acides gras présente deux grandes familles d'acides gras monoinsaturés et d'acides gras saturés à longues chaînes : l'acide oléique et l'acide eicosénoïque d'une part et l'acide arachidique et l'acide béhénique d'autre part. Le produit d'hydrolyse est riche en acides gras saturés à longues chaînes (acide arachidique C20:0 26,21 % et acide béhénique C22:0 2,48 %) ; ainsi que et un acide gras monoinsaturé à longue chaîne (acide eicosénoïque C20:1 8,06 %). La sommation des teneurs de ces trois acides gras constitue une huile d'acides gras à longue chaîne C20 de près de 38 %. Cette teneur classe l'huile de ramboutan parmi les huiles à longue chaîne en C20-C22. Cette huile est un bon candidat pour le marché oléochimique, pour la formulation dans les domaines cosmétiques, alimentaires, lubrifiants, détergents, enrobages et mines [8]. Le profil en acides gras avant hydrolyse est comparé à celui après hydrolyse dans le tableau III.4. Comparativement aux huiles contenant un ratio acides gras monoinsaturés/acides gras saturés élevé (exemple 1,5 pour

l'huile d'arachide, 1,5 pour l'huile de foie de morue, 1,45 pour l'huile de sardine et 1,8 pour l'huile d'olive) [9], l'huile de ramboutan présente un ratio AGI/AGS = 1,458 \approx 1,46 ; ce qui permet de la classer parmi les huiles candidates pour le marché de l'oléochimie.

II-2. Caractérisation chimique des acides gras libres de l'huile de ramboutan

II-2-1. Caractérisation chimique des acides gras libres de l'huile de ramboutan par spectrométrie infrarouge

Le spectre infrarouge (figure III.4) obtenu présente donc dans la première zone des bandes d'absorption indiquant la présence à $\mu(\text{OH}) \sim 3399 \text{ cm}^{-1}$ la présence de fonction hydroxyle présente sur les esters (mono et diglycérides), dans la deuxième zone $\mu(\text{COOH}) \sim 1710,73 \text{ cm}^{-1}$ la fonction acide, mais aussi des bandes à $\mu(\text{RCOOR}) \sim$ à $1735,40 \text{ cm}^{-1}$ et $1730,02 \text{ cm}^{-1}$ la présence de fonctions esters (mono et diglycérides), enfin dans la troisième zone à $\mu(\text{C}=\text{C}) \sim 716,72 \text{ cm}^{-1}$ la présence de fonction allylique de conformation *cis*. Ce spectre infrarouge est caractéristique d'une réaction d'hydrolyse partielle de l'huile de ramboutan.

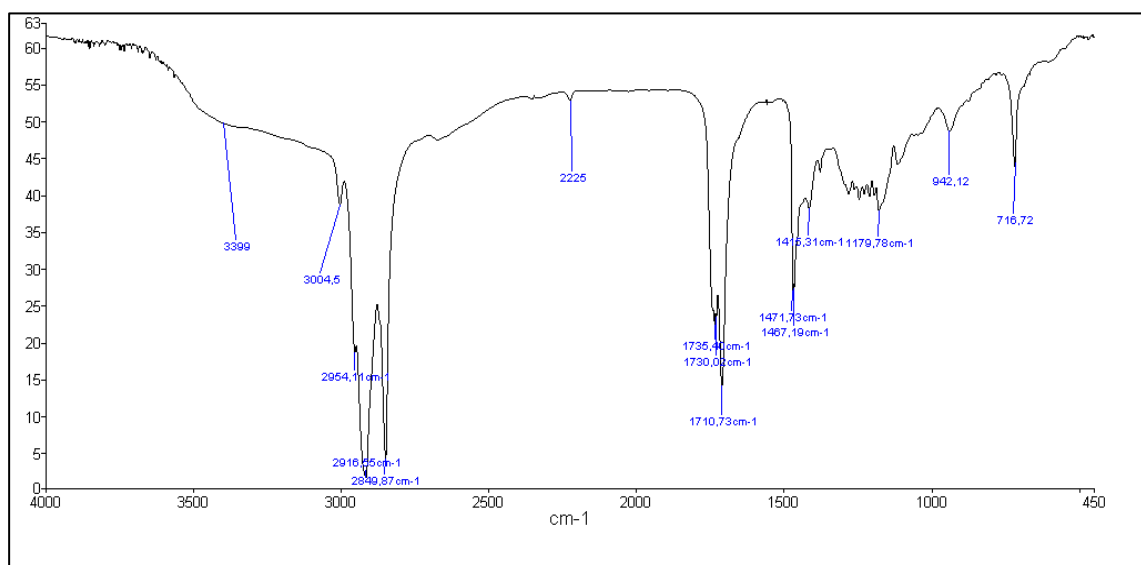


Figure III.4 : Spectre infrarouge représentant un produit d'hydrolyse enzymatique constitué par un mélange d'acides gras libres (à 92,71%) et de la mono-diglycérides

Elle est caractérisée par la présence des acides gras $\mu(\text{COOH}) \sim 1710,73 \text{ cm}^{-1}$ et des esters partielles, mono et diglycérides à $\mu(\text{RCOOR}) \sim$ à $1735,40 \text{ cm}^{-1}$ et $1730,02 \text{ cm}^{-1}$.

II-2-2. Caractérisation chimique des acides gras libres de l'huile de ramboutan par résonance magnétique nucléaire

Le spectre RMN¹H des acides gras libres de ramboutan (figure III.5) montre à 5,3 ppm un ensemble de pic (triplet) indiquant la présence d'un proton en alpha d'une insaturation carbone-carbone de conformation *cis*. On observe également un massif de pics situé entre 4,0 et 4,5 ppm, indiquant la présence d'un proton en alpha d'une liaison ester.

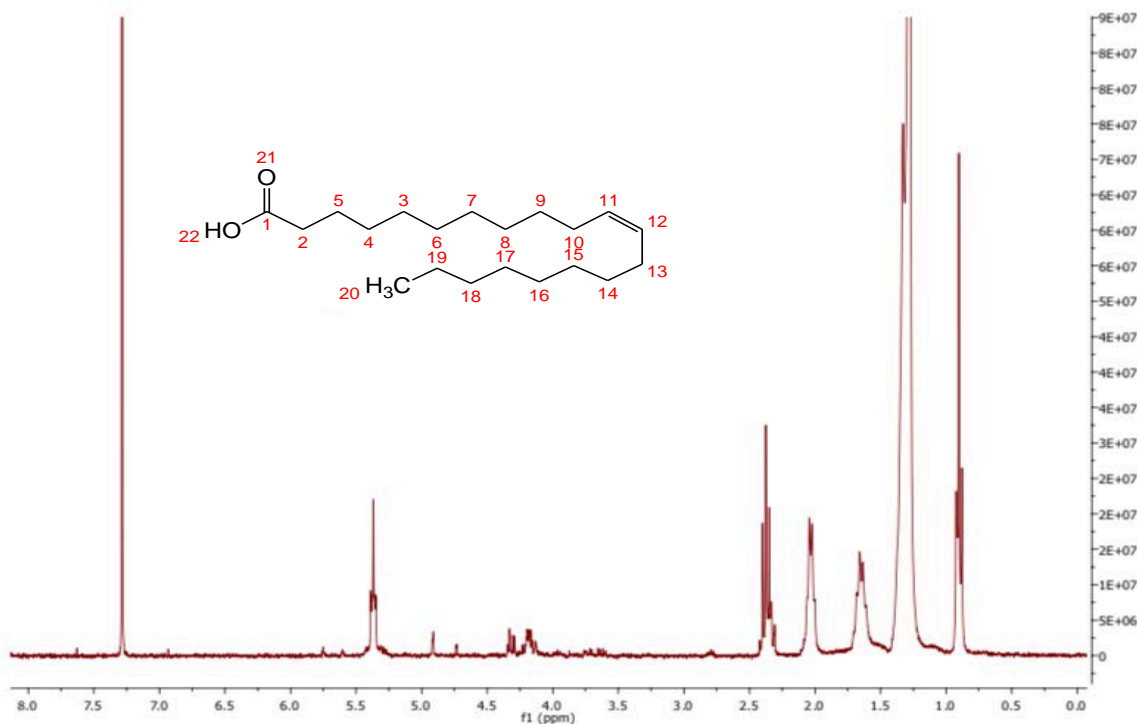


Figure III.5 : Spectre RMN¹H des acides gras libres de ramboutan

Deux essais comparatifs de la réaction d'hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan réalisée à un temps court de 1h30 et un temps long de 6h fournissent des enseignements pertinents pour ce procédé. On constate que sur 1 h 30, la rupture des liaisons esters complexes des triglycérides est quasi-totale. On obtient des acides gras avec une forte teneur de 97,12 %. Par contre après 6h, la rupture des liaisons esters complexes de l'huile est partielle. Elle s'effectue en parallèle ou consécutive à la formation de liaisons esters simples. Il se forme des monoglycérides et des diglycérides. La présence de ces coproduits signifie que la lipase de *Candida rugosa* exerce sa double fonction lyolitique hydrolase et estérase. Elle montre une bonne activité catalytique aux différentes interfaces évolutives. Nous pouvons ainsi envisager d'étudier son recyclage pour pouvoir optimiser la réaction d'hydrolyse en un temps court de 1h30. L'activité de la lipase (>2 U/mg) favorise alors la réaction dans le sens inverse. La lipase *Candida rugosa* ne présente aucune typo sélectivité dans le milieu réactionnel ; c'est à dire qu'elle

n'a aucune préférence dans la rupture des liaisons esters des acides gras ni saturés ou insaturés, ni à courtes, moyennes ou longues chaînes. En effet, on observe après hydrolyse la libération des acides gras libres jusqu'à 92 % environ, ce qui représente la quasi-totalité des acides gras présents dans l'huile de ramboutan. Celle-ci contient quatre familles d'acides gras (deux en C18:0 et C18:1 et deux en C20:0 et C20:1), elle présente dans ce cas d'huile à la fois les C18 et C20. L'activité de la lipase *C. rugosa* présente par contre une région sélective au cours de l'hydrolyse en réagissant préférentiellement sur les liaisons esters. C'est un avantage pour la lipase *C. rugosa*.

Cette première étape montre que les amandes de fruit de ramboutan de la famille des *Sapindaceae* cultivée dans la région de Boko, dont les fruits ont été cueillis en décembre 2015, ont une teneur en huile de 36 %. Elle présente des teneurs élevées en acides gras monoinsaturés de 54,89 % et en acides gras saturés de 39,49 %. Quatre familles principales d'acides gras sont liées au squelette glycérol des triglycérides. Deux sont en C18:0 et C18:1 et deux autres sont en C20:0 et C20:1. Ces derniers impactent particulièrement sur le comportement physique de l'huile en terme de cristallinité. La biodisponibilité de ces deux familles d'acides gras dans l'huile de ramboutan ouvrent des perspectives intéressantes en terme de recherche sur leur disponibilité optimale en réacteur à l'échelle du laboratoire pour les académiques présents et industriels (du futur) de l'oléochimie du ramboutan.

III- Nouveau procédé de séparation par cristallisation des concentrats d'acides gras saturés/monoinsaturés par de technologies physique de gélification/ dégélification des acides gras de l'huile de ramboutan

III-1. Technologies de gélification/ dégélification

Notre hypothèse de travail sur l'étude de la séparation de ces familles d'acides gras par ces deux technologies repose sur les données physiques de ces candidats fournies par la littérature. Les températures de fusion de la famille des acides gras saturés C20:0 ($T_f=75,4$ °C) et C22:0 ($T_f = 79,9$ °C) révèlent des composés à haut point de fusion tandis que les acides gras monoinsaturés C18:1 ($T_f = 13$ °C) et C20:1 ($T_f =24,5$ °C) sont des composés liquides à température ambiante [10].

Ces données ont donc permis de mettre en place une technique de séparation des acides gras libres de ramboutan, par cristallisation à froid. Après hydrolyse, les acides gras libres ont été directement soumis à une cristallisation à froid, au moyen d'un procédé de gélification/ dégélification.

- Une première série d'essais de l'application des technologies de gélification/dégélification est réalisée sur le milieu réactionnel brut issu de l'hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan. On réalise deux essais à partir des quantités de 62 g et de 80 g d'huile de ramboutan. Le déroulement de chaque essai est comparable à savoir les rendements massiques obtenus dans les mêmes proportions et la composition en acides gras de chaque fraction révèle les mêmes teneurs.
- Une deuxième série d'essais de l'application des technologies gélification/ dégélification est réalisée à partir des acides gras libres isolés après traitement post-réaction.
- Une troisième série d'essais d'application des technologies de gélification/ dégélification est conçue à partir de l'huile entière de ramboutan.

III-1-1. Gélification/dégélification du type 1 sans traitement post-réaction du produit d'hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan

Première série d'essais

Essai 1 :

L'allure de la courbe de réchauffement (Figure III.6) indique que le mélange d'acides gras libres obtenus après hydrolyse enzymatique fond à une vitesse variant entre 0,6 et 1 °C / min pendant environ les 30 premières minutes ; puis à une vitesse de 0,1 °C/ min les 30 dernières minutes. La déglification se déroule de façon plus significative les 30 premières minutes.

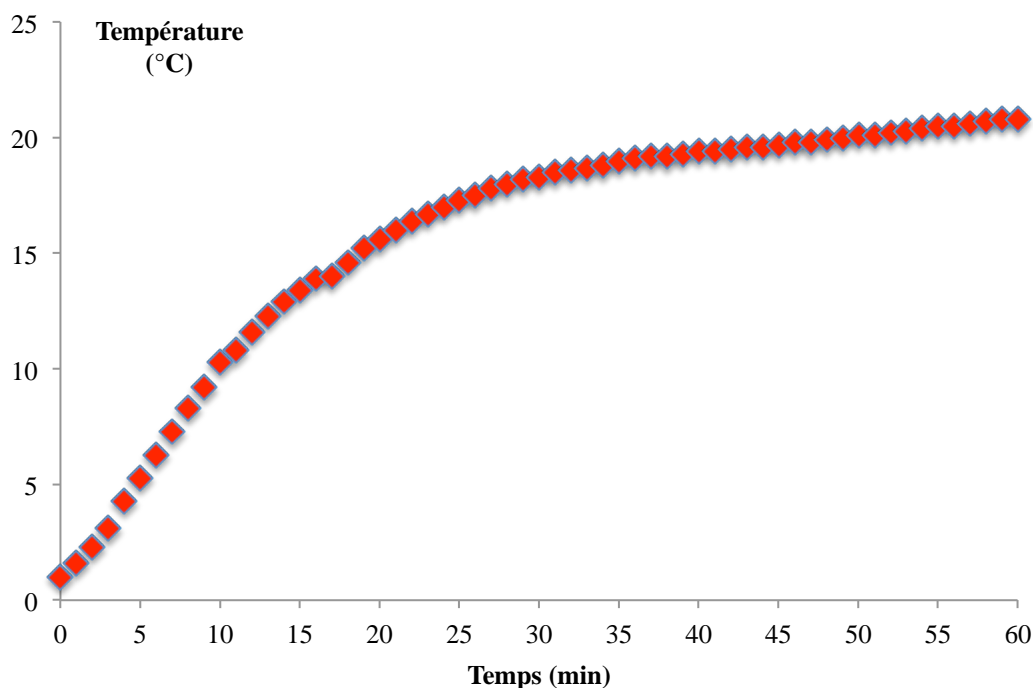


Figure III.6 : Suivi cinétique manuel de la dégelification

On réalise après centrifugation, la séparation triphasique nette entre deux phases organiques distinctes liquide et solide et une phase aqueuse contenant l'eau, le glycérol et la lipase. Les technologies cumulées favorisent donc la séparation physique de trois fractions. On observe donc après centrifugation l'apparition d'une fraction fluide liquide et d'une fraction solide. Chaque fraction est obtenue à des proportions massiques de 15 % et 85 % respectivement (Figure III.7).

De façon générale, on observe dans la fraction solide 1 par rapport à la fraction liquide 1 (tableau III.5), une légère augmentation de la teneur en acides gras saturés acide palmitique, acide stéarique, acide arachidique, et acide béhénique. Ces deux derniers acides gras saturés à longue chaîne C20:0 et C22:0 y sont plus concentrés. A eux seuls, ils représentent respectivement 66,2 % et 6,0 % des acides gras saturés. Ils sont spécifiques par leurs longueurs de chaînes hydrocarbonées et par leurs points de fusion plus élevés. A l'opposé, la fraction fluide 1 est caractérisée par une forte concentration en acides gras monoinsaturés (acide oléique C18:1 58,72 % et acide eicosénoïque C20:1 9,49 %). Ces deux acides gras monoinsaturés représentent à eux seuls 68,21% pour lesquels la part de l'acide eicosénoïque est de près de 14 %. Ce dernier est de la famille des acides gras à chaînes longues hydrocarbonées en C22. Son point de fusion est de 24,5 °C. Il est liquide à température ambiante. Dans l'industrie par exemple des biolubrifiants ou des biocarburants ces deux acides gras monoinsaturés sont recherchés pour leur caractère fluide, modificateur de viscosité et d'indice d'iode.

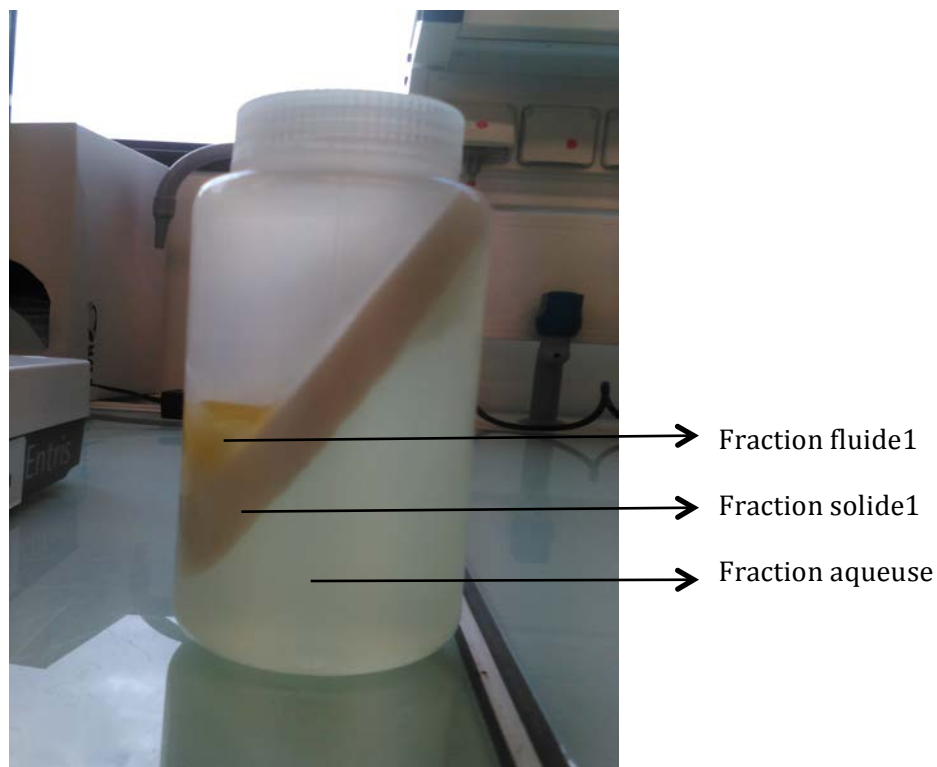


Figure III.7: Première série d'essai 1

Tableau III.5 : Teneurs (%) en acides gras libres des fractions fluides 1 et solides 1 issus de la cristallisation à froid

Acides gras	Acides gras libres obtenus après hydrolyse dans le milieu réactionnel brut	Concentrats d'acides gras obtenus après gel et dégel	
		Fraction solide 1	Fraction fluide 1
Acide palmitique (C16:0)	4,72 ± 0,19	4,84 ± 0,33	4,74 ± 0,43
Acide stéarique (C18:0)	5,69 ± 0,23	5,58 ± 0,19	4,24 ± 0,48
Acide oléique (C18:1)	47,54 ± 0,57	48,57 ± 0,06	58,72 ± 0,47
Acide linoléique (C18:2)	2,71 ± 0,13	2,64 ± 0,17	3,10 ± 0,23
Acide arachidique (C20:0)	26,21 ± 0,19	25,48 ± 0,36	15,66 ± 0,3
Acide eicosénoïque (C20:1)	8,06 ± 0,08	8,07 ± 0,03	9,49 ± 0,3
Acide béhénique (C22:0)	2,48 ± 0,19	2,34 ± 0,65	1,38 ± 0,59
AGS	39,10	38,24	26,02
AGMI	55,60	56,64	68,21
AGS/ AGMI	0,703	0,675	0,381
AGMI/ AGS	1,422	1,481	2,621

III- 1-2. Caractérisation physique des concentrats d'acides gras

Les deux fractions (fluide1 et solide1) issus des technologies de gélification / dégélification ont été séparés après centrifugation. Chacune des fractions a ensuite été soumise à une étude thermique par DSC. Les acides gras libres isolés en mélange obtenus sont analysés.

Les fractions fluides 1 et solides 1 sont donc caractérisées par DSC (*Differential Scanning Calorimetry*) (tableau III.6). Les rampes de température suivantes sont appliquées dans le calorimètre : chauffage de + 25 °C à 60 °C, à une vitesse de 10 °C/ min et maintenu pendant 5min, refroidi à -80 °C à une vitesse de 10 °C/ min et maintenu 5 min. L'échantillon a ensuite été chauffé à 60 °C à 10 °C/ min. Les courbes de fusion présentent des fonctionnalités complexes qui ne sont pas faciles à interpréter à cause de la multiplicité des événements thermiques des pics non séparables.

III-1-2-1. Caractérisation physique des concentrats d'acides gras par cristallisation

Les acides gras libres de ramboutan sont affichés en deux régions exothermiques (figure III.8). La région de la plus haute température correspond à la cristallisation des acides gras saturés et la plus faible région correspond à la cristallisation des acides gras insaturés. Les fractions fluide1 et solide1 ainsi que les acides gras libres obtenus après hydrolyse présentent toutes des courbes avec la même allure. Tel que nous l'avons vu en CPG, la fraction fluide1 (courbe bleue) contient encore les acides gras saturés à une certaine teneur et inversement pour la fraction solide1. On procède ainsi à la cristallisation extractive de la famille d'acides gras saturés par rapport à celle des acides gras monoinsaturés.

La fraction solide 1 (courbe rouge) présente un premier pic représentant la famille des acides gras à plus haut point de cristallisation à 17,51 °C avec comme température de début $T_0 = 27,23$ °C et comme température de fin $T_f = 1,46$ °C ; et un second pic représentant la famille des acides gras à plus bas point de cristallisation encore présente dans le milieu après cristallisation à froid à -18,68 °C avec comme température de début de cristallisation $T_0 = -17,30$ °C et comme température de fin de cristallisation $T_f = -21,19$ °C. La fraction fluide1 (courbe bleue) présente aussi un premier pic représentant la famille des acides gras à plus haut point de fusion avec comme température de début de cristallisation $T_0 = 19,28$ °C et comme température de fin de cristallisation $T_f = 10,81$ °C ; et un second pic représentant la famille des acides gras à plus bas point de fusion à -18,26 °C avec comme température de début $T_0 = -17,24$ °C et comme température de fin $T_f = -21,66$ °C.

III-1-2-2. Caractérisation physique des concentrats d'acides gras par fusion

Cette figure montre le profil des courbes de fusion des fractions fluide et solide issues des conditions de températures de gélification/ dégelification (figure III.9). Les phases de transition correspondent aux différentes familles d'acides gras présentes dans chaque fraction. Comme avec la cristallisation on observe deux masses de pics représentant pour le premier la famille des acides gras insaturés et pour le second la famille d'acides gras saturés. La fraction solide1 (courbe rouge) présente un premier pic représentant la famille des acides gras à bas point de fusion encore présente dans le milieu après cristallisation à froid à 3,12 °C avec comme température de début de fusion $T_0 = -3,77$ °C et comme température de fin de fusion $T_f = 5,33$ °C ; et un second pic représentant la famille d'acides gras à haut point de fusion à 17,69 °C avec comme température de début de fusion $T_0 = 7,10$ °C et comme température de fin de fusion $T_f = 51,19$ °C. La fraction fluide1 (courbe bleue) présente un premier pic représentant la famille des acides gras insaturés (C18:1 et C20:1) à 2,97 °C avec comme température de début de fusion $T_0 = -4,54$ °C et comme température de fin $T_f = 5,63$ °C ; et un second pic représentant la famille d'acides gras à haut point de fusion encore présente dans le milieu après cristallisation à froid avec comme température de début $T_0 = 6,36$ °C et comme température de fin $T_f = 23,39$ °C.

III-1-2-3. Caractérisation physique des concentrats d'acides gras par teneur en matière grasse solide (SFC : Solid Fat Content)

La figure III.10 montre la teneur en matière grasse solide en fonction de la température pour les fractions fluide 1 et solide 1 issues de la séparation par cristallisation à froid des acides gras libres de ramboutan. On observe que la teneur en graisse solide est de 38,24 %, dans la fraction solide et de 25,98 % dans la fraction fluide.

III-1-2. Caractérisation physique des concentrats d'acides gras par analyse thermogravimétrique (ATG)

La comparaison des résultats d'analyse thermogravimétrique (ATG) des acides gras libres de ramboutan (F1R), la fraction solide1 et la fraction fluide1 montre que la dégradation thermique de la fraction fluide se fait plus vite que celle des fractions solide ou de la dégradation des acides gras « bruts pères » (figure III.11). La fusion est plus rapide à cause de sa faible teneur en graisses solides et de la contamination intrinsèque par les acides gras fluides en C18:1 et C20:1.

Tableau III.6 : Valeurs obtenues des courbes de cristallisation et de fusion des fractions fluides et solides en comparaison avec les courbes des acides gras « bruts pères »

Familles Acides gras		Fusion (°C)		Cristallisation (°C)		Températures Pics (°C)	
		T ₀	T _f	T ₀	T _f	fusion	cristallisation
Acides gras libres bruts	Saturés (C22:0, C20:0, C18:0 et C16:0)	15,73	36,35	25,60	-0,76	18,49	15,86
	Monoinsaturés (C20:1 et C18:1)	-3,47	4,17	-17,56	-22,57	3,87	-19,48
Fraction solide1	Saturés (C22:0, C20:0, C18:0 et C16:0)	7,10	51,19	27,23	1,46	17,69	17,51
	Monoinsaturés (C20:1 et C18:1)	-3,77	5,33	-17,30	-21,19	3,12	-18,68
Fraction fluide1	Saturés (C22:0, C20:0, C18:0 et C16:0)	6,32	3,39	19,28	10,81	8,99	14,72
	Monoinsaturés (C20:1 et C18:1)	-4,54	5,63	-17,24	-21,66	2,97	14,72

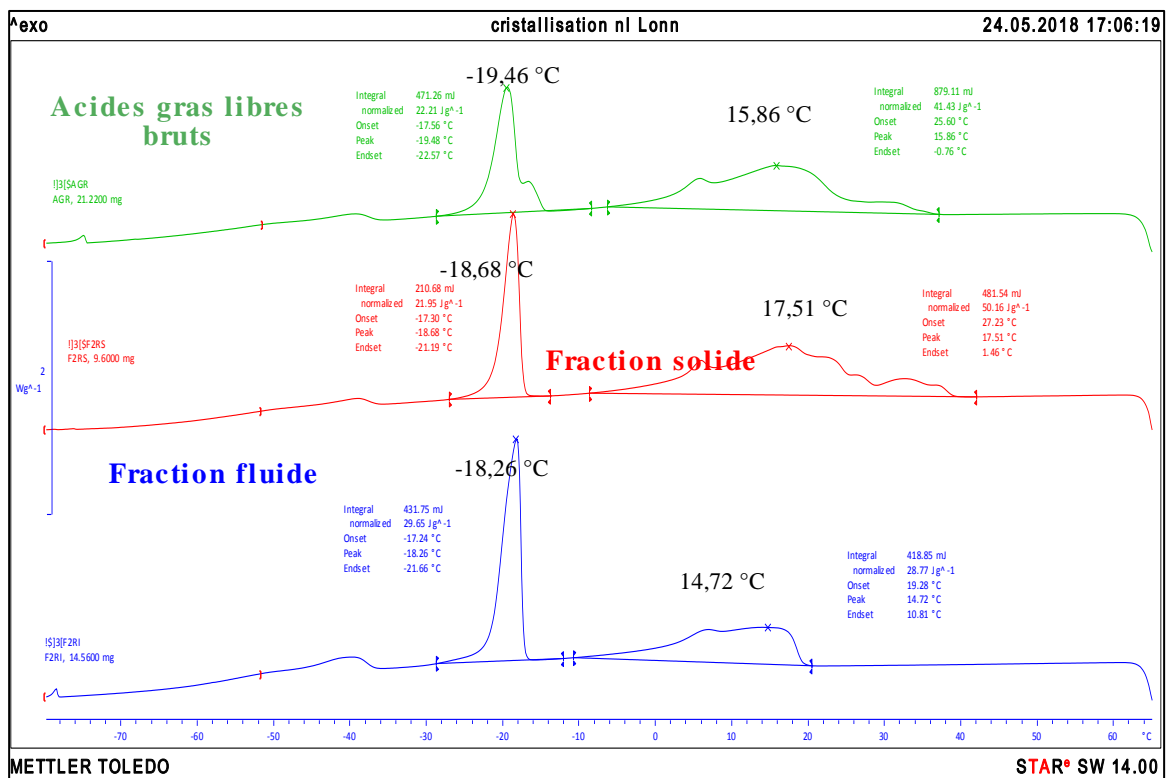


Figure III.8 : Courbes de cristallisation des fractions fluide 1 et solide 1 en comparaison avec la cristallisation des acides gras « bruts pères »

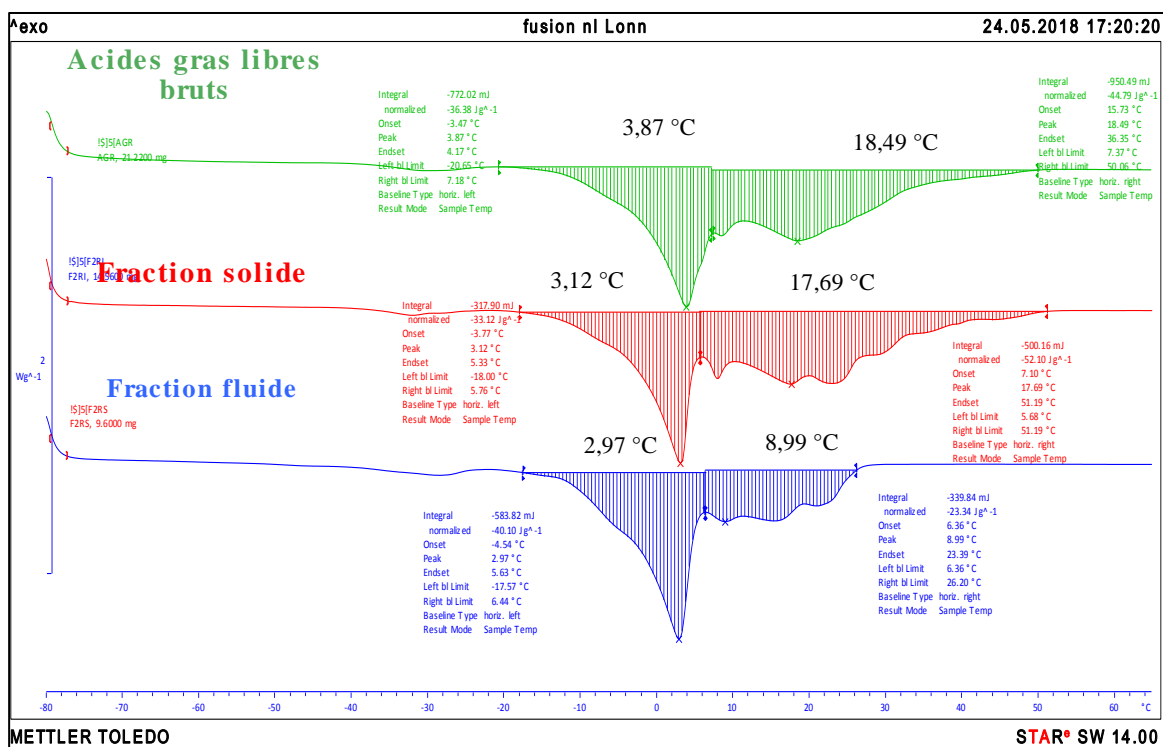


Figure III.9 : Courbes de fusion des fractions fluide 1 et solide 1 en comparaison avec la fusion des acides gras « bruts pères » issus de la cristallisation à froid.

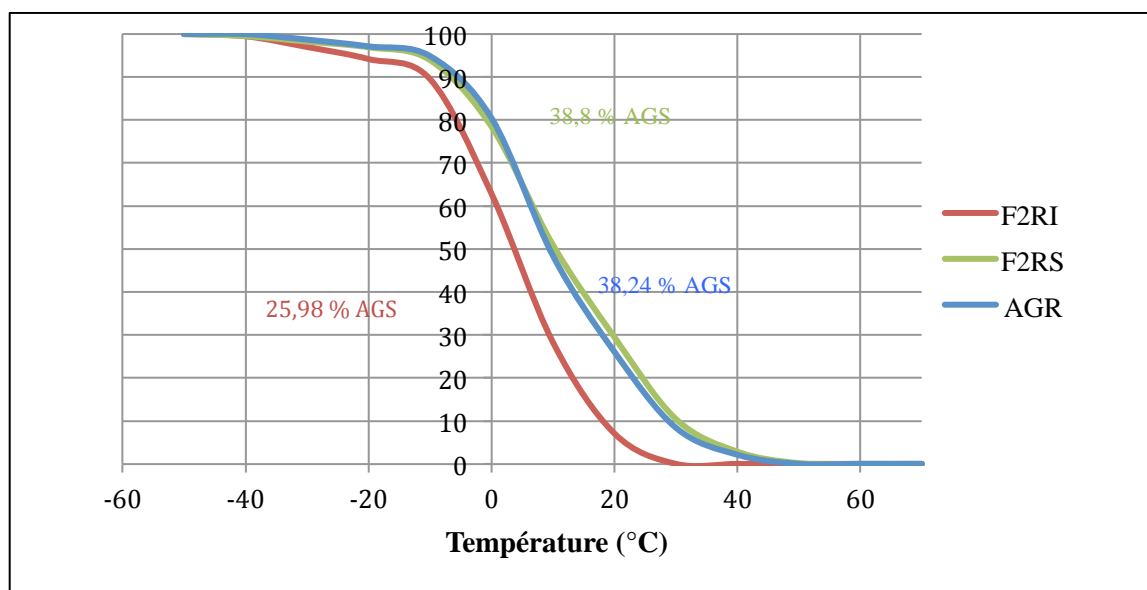


Figure III.10 : Comparaison de la teneur en acides gras saturés dans les acides gras libres après hydrolyse et des fractions fluide1 et solide1 issus de la cristallisation à froid.

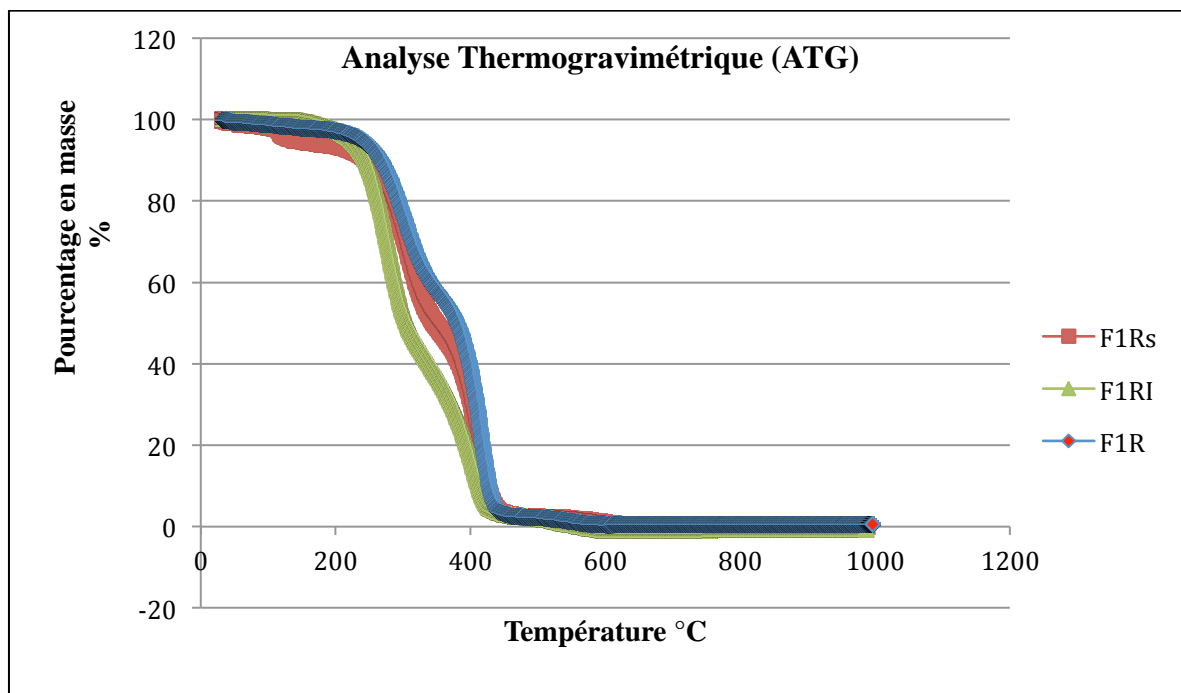


Figure III.11 : Analyse thermogravimétrie des fractions fluide 1 et solide 1 en comparaison aux acides gras libres « bruts pères ».
 F1R : acides gras libres de ramboutan ;
 F1RS: Fraction densifiée en acides gras libres saturés ;
 F1RI: fraction densifiée en acides gras libres monoinsaturés

La caractérisation physique des fractions fluide1 et solide1 en comparaison aux concentrats des acides gras « bruts pères », montre qu'il est bien possible de séparer les deux familles d'acides gras présents dans le brut réactionnel de l'hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan. En effet, on constate que les courbes de cristallisation dans chaque fraction, montrent une séparation claire et nette entre la famille des acides gras saturés et celles des acides gras insaturés à l'intérieur desquels on visualise des acides gras à longues chaînes saturées en C20 et C22 ; alors qu'au cours de la fusion, il y a un épaulement des deux familles. On constate aussi que la cristallisation de la fraction fluide1 montre une diminution considérable en acides gras saturés en comparaison avec la courbe de cristallisation de l'hydrolyse. La SFC et l'ATG confirment ces résultats en indiquant une teneur en acides gras saturés plus faible dans la fraction fluide1 que dans la fraction solide 1.

Les résultats de cette étude thermique nous ont conduit à poursuivre notre étude sur la cristallisation extractive dans le but d'améliorer la teneur en acides gras saturés ou insaturés dans l'une ou l'autre des deux fractions respectives; par la même technologie mais dans des conditions différentes.

III-1-3. Gélification/ dégélification des acides gras libres affinés en mélange : après traitement post-réaction et récupération de la lipase *C. rugosa* et du glycérol dans la phase aqueuse

Deuxième Série 2 :

Essai 1

Les technologies de gélification/dégélification sont appliquées aux acides gras libres affinés aux températures observées pendant la caractérisation physique des fractions fluide₁ et solide₁, à laquelle nous avons pu observer une bonne séparation de chaque famille; soit la gélification en isotherme à -10 °C et la dégélification à environ 10 °C. L'étape de dégélification est combinée au procédé mécanique donc, la centrifugation. L'intensification des deux opérations est effectuée à 10 °C, afin de respecter la température de cette dernière. On observe au cours de ce second essai, aucune séparation des deux familles après centrifugation, le mélange reste figé.

La dégélification a donc été poursuivie à température ambiante suivie d'une étape de centrifugation à 40°C. On réalise cette fois, la séparation biphasique nette de deux phases organiques distinctes fluide et solide. On constate que la fraction fluide₂ représente les trois quarts du mélange (Figure II.12). On obtient cette fois ci des répartitions massiques de 55% pour la fraction fluide₂ et 45% pour la fraction solide₂. Chaque fraction est ensuite analysée par CPG (tableau III.7).

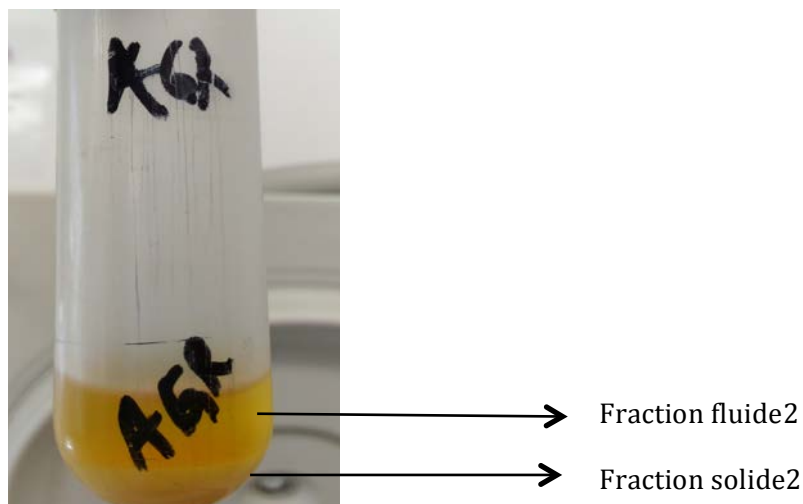


Figure III.12 : Série 2 de centrifugation (Essai1).

Tableau III.7 : Comparaison des teneurs (%) en acides gras libres monoinsaturés avant et après l'essai1 de la série 2.

Acides gras	Acides gras libres « affinés »	Concentrats d'acides gras Isolés après gel et dégel	
		Fraction Solide 2	Fraction fluide 2
Acide palmitique (C16:0)	4,72 ± 0,19	5,12± 0.33	4,85± 0.43
Acide stéarique (C18:0)	5,69 ± 0,23	6,27± 0.19	4,92± 0.48
Acide oléique (C18:1)	47,54 ± 0,57	43,06± 0.06	51,99±0.47
Acide linoléique (C18:2)	2,71 ± 0,13	2,20± 0.17	2,75± 0.23
Acide arachidique (C20:0)	26,21 ± 0,19	29,97± 0.36	21,03± 0.3
Acide eicosénoïque (C20:1)	8,06 ± 0,08	7,40± 0.03	8,79± 0.3
Acide béhénique (C22:0)	2,48 ± 0,19	3,77± 0.65	3,15± 0.59
AGS	39,10	45,13	33,95
AGMI	55,60	50,46	60,78
AGS/ AGMI	0,703	0,894	0,558
AGMI/ AGS	1,422	1,118	1,790

On constate premièrement une augmentation des teneurs en acides gras saturés dans la fraction solide2, soit un total de 45,13 % d'acides gras saturés (ratio AGS / AGI: 0,86) et une augmentation des teneurs en acides gras monoinsaturés (AGMI) en particulier, dans la fraction fluide2, soit un total de 63,53 % d'acides gras insaturés (ratio AGS / AGMI : 0,56). Deuxièmement, comparé à l'essai1 de la technologie gélification/ dégélification on constate que la fraction solide2 est enrichie en acides gras saturés contrairement à l'essai de la première série. Les teneurs passent en particulier pour le C20:0 de 26, 21 % après hydrolyse à 29,97 % après gélification/ dégélification et pour le C22:0 2,48 après hydrolyse à 3,77 % après gélification/ dégélification. En fait, tous les acides gras saturés augmentent en teneur dans la fraction solide2. On constate troisièmement que les teneurs en acides gras saturés/monoinsaturés (insaturés) sont de en 63,53 % des acides gras insaturés dans la fraction fluide 2 et de 45,13 % des acides gras saturés dans la fraction solide 2, ce qui correspond à leurs répartitions massiques respectives. La cristallisation extractive est efficace vis à vis de l'extraction des acides gras saturés à longues chaines à partir des mélanges d'acides gras « affinés ». De plus, ce procédé est propice à engendrer des fractions fluides enrichis en acides gras monoinsaturés (mélange C18:1 et C20:1) qui s'appauvrissent progressivement en acides gras saturés. La fraction solide obtenue délivre un point de fusion élevé par l'amélioration de la teneur en acides gras saturés notamment l'acide arachidique au bout de 50 %.

Essai 2 :

L'huile de *ramboutan* (soit un mélanges de triglycérides) est également soumise aux technologies de gélification/dégélification. L'essai est effectué dans les mêmes

conditions que celle de l'essai 1 de la série 2. On observe également une très bonne séparation biphasique nette de deux phases organiques distinctes fluide et solide (Figure III.13). Les répartitions massiques sont de 81,98 % et 18,02 % respectivement pour la fraction fluide 3 et solide 3. Chaque fraction est analysée par CPG (tableau III.6). Dans la fraction solide 3 les teneurs en C20:0 et C22:0 passent respectivement de 26,53 % et 2,64 % dans l'huile brute de ramboutan à 35,51 % et 4,23 % après cristallisation extractive à froid tandis que les teneurs en C18:1 et C20:1 passent respectivement de 45,62 % et 9,27 % à 39,09 % et 6,69 %.

Cette troisième série d'essai révèle que l'application des technologies physiques de gélification/dégélification suivies de la centrifugation est applicable avec succès sur l'huile de ramboutan. A l'inverse de ces résultats, la cristallisation extractive semble plus efficace sur l'extraction des triglycérides dont le poids des acides gras saturés pèse sur le squelette du glycérol. Ce qui semble favoriser la concentration élevée des acides gras saturés notamment l'acide arachidique qui atteint 35,51 % dans la fraction solide 3. Le ratio AGS/AGM I= 1,088 (tableau III.8) montre un équilibre parfait entre les trois familles d'acides gras saturés et des acides insaturés. Ce résultat montre le basculement de la charge triglycérides vers les triglycérides à haut point de fusion. La teneur en acides gras saturés et en acides gras monoinsaturés et les ratios AGS/AGMI ou AGMI/ AGS sont des réponses technologiques et leur exploitabilité en application industrielle.

Elles sont responsables des caractéristiques physiques de ses nouvelles solide ou liquide qui traduisent l'efficacité du procédé de la cristallisation extractive.



Figure III.13: Série 3 de centrifugation essai2

Tableau III.8 : Comparaison des teneurs en acides gras après essai 2.

Acides gras	Profil d'acides gras de l'huile de ramboutan	Concentrats en acides gras affinés après cristallisation extractive à froid	
		Fraction solide 3	Fraction fluide 3
Acide palmitique (C16:0)	4,84	4,09	4,46
Acide stéarique (C18:0)	5,48	5,98	5,94
Acide oléique (C18:1)	45,62	39,09	43,43
Acide linoléique (C18:2)	2,70	2,03	2,23
Acide arachidique (C20:0)	26,53	35,51	29,61
Acide eicosénoïque (C20:1)	9,27	6,69	7,81
Acide béhénique (C22:0)	2,64	4,23	3,81
AGS	39,49	49,81	43,82
AGMI	54,89	45,78	51,24
AGS/ AGMI	0,719	1,088	0,855
AGMI/ AGS	1,389	0,919	1,169

Les études rapportées dans la littérature sur la mutagenèse de l'huile de tournesol classique en différents types d'huiles tournesol (riche en acide oléique, stéarique ou palmitique) montrent des teneurs en acides gras conventionnels et non conventionnels dans chacune d'elles. Un changement dans les caractéristiques physiques de l'huile et une augmentation de la teneur en graisses solides a été observé dans la composition des mutants à haute teneur en acide stéarique. Une augmentation de la teneur en acides gras à très longue chaîne (C20:0 et C22:0) qui représentent 3 % des acides gras totaux (dans les mutants), contrastant avec des quantités de 1 % dans les lignées normales ou élevées provoque un changement encore plus remarquable des caractéristiques physiques [10]. La littérature nous renseigne également que le mono-, di-, tribehénate de glycérol, composant du Compritol 888 ATO, est le premier à être introduit sur le marché pharmaceutique comme lubrifiant à phase solide pour la formulation de comprimés. L'enregistrement DSC observé sur un chauffage lent d'un échantillon de compritol stabilisé montre un endotherme de fusion net à environ 70 °C. Ce pic aigu est précédé d'un large endotherme s'étendant d'environ 35 à environ 60 °C. [11].

Le tableau III.9 présente la comparaison entre les teneurs en acides gras des triglycérides constituant de ces types d'huiles de tournesol avant et après mutation et celles de l'huile de ramboutan après cristallisation à froid, ainsi que celle de l'huile de hareng.

Tableau III. 9 : Comparaison des teneurs en acides gras dans les mutants de tournesol [12], l'huile de ramboutan après cristallisation à froid et l'huile de Hareng.

HUILES	Acides gras	Teneurs en acides gras des triglycérides (%)										AGS/AGMI
		16:0	16:1	16:2	18:0	18:1 n-9	18:1 n-7	18:2	20:0	20:1	22:0	
HUILE DE TOURNESOL	Classique	6,3	0,1	-	4,6	26,7	-	61,1	0,3	-	0,9	0,138
	Oléique moyen	4,9	-	-	3,8	57,9	-	32,3	0,3	-	0,8	0,109
	Haut oléique	3,8	-	-	4,1	82,1	-	8,7	0,4	-	0,9	0,101
	Haut stéarique	7,4	-	-	27,1	16,1	-	46,3	1,5	-	1,6	0,602
HUILE DE RAMBOUTAN	Fraction fluide 2	4,46	-	-	5,94	43,43	1,04	2,23	29,61	7,81	3,91	0,805
	Fraction solide 2	4,09	-	-	5,98	39,21	0,87	2,03	35,51	6,69	4,23	1,020
HUILE DE HARENG	Huile vierge	13,3	-	-	1,1	14,7	-	1,1	-	17,9	-	2,044

L'huile de tournesol haut stéarique étant très stable à haute température est considérée comme un bon candidat pour la cuisine et les fritures ; comme une source alternative aux graisses animales et hydrogénées et à certains beurres comme le cacao, le palme... Le beurre de cacao contient une teneur en acides gras saturés entre 57-58 %, mais est essentiellement riche en C16:0 (24-29 %), C18:0 (32-37 %) et C20:0 (1-2 %). La littérature nous a montré que les acides gras saturés ont des points de fusion élevés croissants en fonction de la longueur des chaînes carbonées de ces derniers ; soit 62,9 °C pour le C16:0, 69,6 °C pour le C18:0, 75,4 °C pour le C20:0 et enfin 79,9 °C pour le C22:0 [10]. Ces températures permettent de déduire qu'en termes de stabilité, les acides gras saturés à plus longues chaînes favoriseraient une plus grande stabilité à une huile végétale. Les teneurs en C20:0 (35,51 % et 29,97 %) et C22:0 (4,21 % et 3,77 %) respectivement dans les fractions solide3 et 2 présents dans des concentrats d'huile de ramboutan sont d'excellents candidats sous forme de fractions solides qui représente comme un aussi bons candidats aussi bien que l'huile de tournesol haut stéarique et le beurre de cacao pour l'industrie alimentaire et chimique.

En conclusion à cette première approche, l'hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan en présence de la lipase de *Candida rugosa* atteint son maximum après

1h30 de réaction. On observe que cette lipase est fonctionnelle aux différentes interfaces du ou des systèmes réactionnels évolutifs. Elle fonctionne à 37-40 °C comme une lipolyse permettant les réactions de coupure totale de liaisons esters d'acides gras complexes à courtes, moyennes et longues chaînes de triglycérides de l'huile de ramboutan et de formation de liaisons esters simples de glycérides partiels correspondants sans chute de son activité catalytique. Son activité catalytique est maintenue et son recyclage est envisageable. Sa mise en œuvre permet une économie d'énergie et une efficacité de procédés. Les technologies de gélification/dégélification appliquées aux fractions d'acides gras en bulk permettent de séparer la fraction aqueuse dans laquelle la lipase se concentre. Elles sont aussi exploitables dans le sens de la récupération et du recyclage de la lipase d'une part et de l'isolement des concentrés de glycérol, coproduit d'intérêt par lui-même et pour l'efficacité du procédé intégré d'obtention des concentrats d'acides gras fluide et solide.

Les deux grandes familles d'acides gras peuvent en réalité être séparés jusqu'à épuisement de façon progressive dans la fraction solide de l'huile de ramboutan par la cristallisation extractive à froid au moyen de la gélification/dégélification. La caractérisation physique par la DSC est un excellent moyen d'optimisation de cette technologie suivie de la centrifugation. La fraction fluide représente le concentrat riche en acides gras monoinsaturés avec par exemple 68,21 % pour la fraction fluide 1 (acides gras libres) et 51,24 % pour la fraction fluide3 ; et la fraction solide le concentrat riche en acides gras saturés avec 45,13 % pour la fraction solide 2 (acides gras libres) et 49,79 % pour la fraction solide 3 (triglycérides).

La particularité de l'huile de ramboutan et donc des fractions fluides (acides gras libres et triglycérides) est la présence de l'acide eicosénoïque, qui est enrichie jusqu'à 9,49 % dans la fraction fluide 1. En effet, l'acide eicosénoïque est le plus souvent rencontré dans les huiles de poissons notamment le hareng à une teneur de 17,9 % ainsi que dans la cire de Jojoba jusqu'à 35 %, qui a déjà fait ses preuves dans l'industrie chimique notamment la cosmétique. [1, 13-15].

Les différents concentrats obtenus au cours de cette première partie représentent de nouveaux systèmes de shortening à bas et haut point de fusion (tableau III.9). Selon Sonntag, les acides gras à chaîne courte et moyenne (C6-C14) ont de bonnes propriétés de fusion alors que les acides gras à longue chaîne (C20-C22) peuvent fournir un pouvoir de renforcement dans la margarine [16].

Les fractions fluides enrichies en acides gras monoinsaturés (C18:1 et C20:1) qui sont des composés à bas point de fusion présentent un nouveau système de shortening à bas point de fusion ; et les fractions solides enrichies en acides gras saturés (C20:0 et C22:0) qui présentent naturellement un autre nouveau système de shortening mais cette fois, à haut point de fusion. On note par exemple que les propriétés physiques et le comportement de l'huile ou de ces dérivés aussi bien que les apports bénéfiques sont fixés par la composition en acides gras. Cette catégorie d'huile de spécialité (comme le tournesol oléique à 57,9 %) a été beaucoup valorisée dans l'industrie par l'élaboration des « buildings blocks » propices à la

fabrication des produits finis (lubrifiants, plastiques, détergences, polymères, polyamides).

Les shortenings à haut point de fusion de systèmes peuvent servir comme intermédiaires chimiques pour donner par estérification partielle ou totale des triglycérides structurés aptes à la formulation alimentaire et pharmaceutiques. Ils sont également adaptés pour la fabrication des huiles de fritures, du chocolat, etc. [12] ; sans avoir à faire recours à l'hydrogénation.

Une autre particularité du ramboutan est sa composition en acides gras saturés à très longues chaînes. En effet en raison de leur point de fusion élevé, les concentrats en acides gras de fractions solides et des triglycérides de fraction solide sont prédisposés à proposer des fractions à l'identique voire au meilleur beurre de cacao. En effet, le beurre de cacao contient entre 57-68 % d'acides gras saturés totaux, essentiellement composés d'acide palmitique (C16:0) entre 24-29 % et d'acide stéarique (C18:0) entre 32-37 %, avec des températures de fusion de 62,69 °C et 69,6 °C, respectivement; tandis que les concentrats d'acides gras de l'huile de ramboutan, dans les fractions solides 2 (29,97 %) et 3 (35,51 %) essentiellement composés d'acide arachidique (C20:0) et béhénique (C22:0) aux températures de fusion de 75,4 °C et 79,9 °C respectivement. Chacun de ces nouveaux systèmes issus de l'hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan suivie des technologies de gélification/ dégélification et centrifugation n'a pas été soumis à la fabrication des produits chimiques. En terme de bilans tant en procédés chimiques que en technologies physique, mécanique, l'approche suivie est une approche intégrée. Elle cumule les avantages de l'élaboration des nouveaux produits à la fois multifonctionnels , biofonctionnels, bioactifs, techno fonctionnels pour des applications dans les domaines alimentaires et nutritionnels, de chimie de spécialités, chimie de commodités, chimie de haute valeur ajoutée. L'économie d'énergie est couplée avec la performance du procédé caractérisée par l'économie d'atomes, assortie de haut rendement et de recyclage de catalyseur enzymatique, de la récupération du coproduit (glycérol) et du co-réactif (eau), sans laisser d'empreinte carbone.

Tableau III.10 : Comparaison des différentes fractions fluides et solides après technologie de gélification et dégélification.

Substrats	Teneurs en acides gras libres (%)							
	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C20:1	C22:0	
Huile de ramboutan (HR)	4,84	5,48	45,62	2,70	26,53	9,27	2,64	
Acides gras libres (AGL)	4,72	5,69	47,54	2,71	26,21	8,06	2,48	
Essai 1(AGL) (1 ^{ère} série)	FS1 (AGL)	4,84	5,58	48,57	2,64	25,48	8,07	2,34
	FF1 (AGL)	4,74	4,24	58,72	3,10	15,66	9,49	1,38
Essai 1(AGL) (2 ^{ème} série)	FS2 (AGL)	5,12	6,27	43,06	2,20	29,97	7,40	3,77
	FF2 (AGL)	4,85	4,92	51,99	2,75	21,03	8,79	3,15
Essai 2 (2 ^{ème} série)	FS3 (TAG)	4,09	5,98	39,09	2,03	35,51	6,69	4,23
	FF3 (TAG)	4,46	5,94	43,43	2,23	29,61	7,81	3,81

AGL : Acides gras libres ; TAG : Triglycérides ; FS : Fraction solide ; FF : Fraction liquide

IV- Densification en oxygène des concentrats d'acides gras saturés/ d'acides gras monoinsaturés par de technologies chimiques d'hydroxylation allylique des acides gras monoinsaturés de l'huile de ramboutan

IV-1. Technologie chimique d'hydro peroxydation allylique

La méthode d'hydroxylation est ensuite adaptée à notre cas d'étude, aux acides gras libres monoinsaturés issus de l'huile de ramboutan et en particulier ceux à longues chaînes notamment au C20:1 et C18:1.

IV-2. Préparation des hydroperoxydes d'acides gras de ramboutan

Le mélange des sels d'acides gras (oléate de sodium et eicosénoate de sodium) et éthanol à 99 %, placés à chaud et sous agitation en présence du catalyseur jusqu'à homogénéisation totale, permet former une microémulsion dans le milieu réactionnel. Chauffée jusqu'à 65 °C, on rajoute 50 mL sur une période de 4 h (0,17 mL/min), l'ajout des cristaux de soude (3 g soit 0,07 mol) sont rajoutés simultanément sur la même période pour maintenir le pH entre 10 et 12, ce qui favorise le maintien du milieu alcalin. Ce dernier en présence d' 1O_2 prend une coloration rougeâtre.

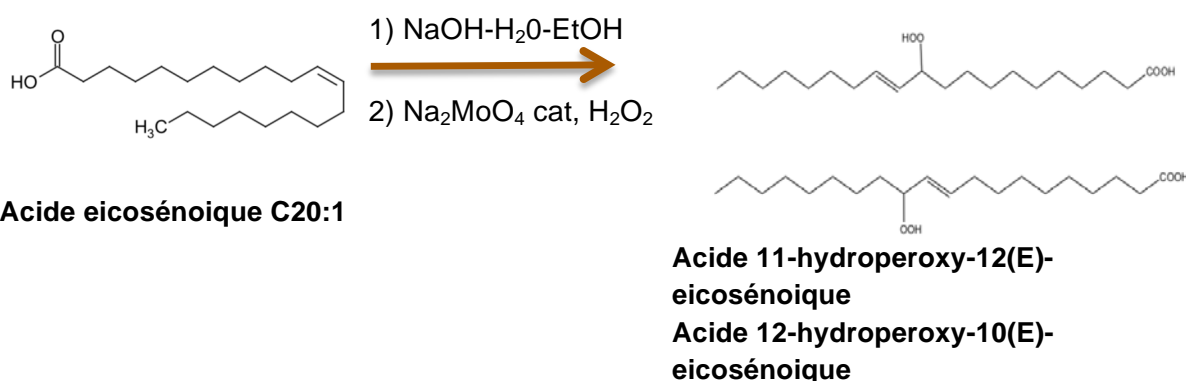


Figure III.14 : Illustration de la réaction d'hydro peroxydation des acides gras monoinsaturés du ramboutan (cas de l'acide eicosénoïque C20:1)

1) Influence du pH dans le milieu

L'oxygène singulet n'est produit efficacement et quantitativement dans l'intervalle de pH compris entre 9 et 12. Le système H₂O₂/ MoO₄²⁻ pourrait agir soit comme un agent époxydant, soit comme un agent peroxydant via la génération de 1O_2 dans des conditions de concentration et de température similaires mais à valeur de pH variée. En fait, il a été prouvé que l'oxygène singulet est généré quantitativement en milieu alcalin. Une étude récente a montré que le précurseur principal de cette

espèce est le triperoxomolybdate instable $\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$. Il est instable et évolue en $^1\text{O}_2$. [20-22]. C'est en étudiant l'influence de la valeur du pH sur l'oxydation, la double réactivité du système du couple $\text{H}_2\text{O}_2/\text{MoO}_4^{2-}$ a été montré. En milieu alcalin, la formation du composé intermédiaire $\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$ permet d'obtenir l'hydroperoxyde via la génération d'oxygène singulet alors qu'en milieu acide, la formation du $\text{MoO}(\text{O}_2)_3^{2-}$ conduit à l'époxyde [17].

En l'absence de soude, le milieu réactionnel est macroscopique et hétérogène alors qu'en présence de soude, le milieu présente les caractéristiques d'une émulsion fine. Cette émulsion bénéficie également de la stabilité apportée par les propriétés tensioactives des sels d'acides gras (R-COO^- , Na^+) et des propriétés co-tensioactives de l'éthanol.

2) Influence du débit lors de l'ajout du peroxyde d'hydrogène

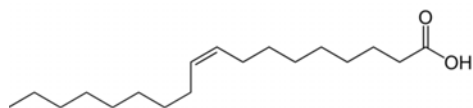
Dans les premiers essais de la manipulation le peroxyde d'hydrogène a été rajouté à un débit de 0,083 mL/min, selon les conditions opératoires empruntées du modèle de tournesol. L'analyse du produit de réaction obtenu à partir de ce débit montre une formation très faible des hydroperoxydes d'acides gras. Nous avons donc choisi d'augmenter le débit de la réaction à 0,17 mL/min. On constate une formation plus intense du produit de réaction.

IV-3. Préparation des acides hydro peroxydés

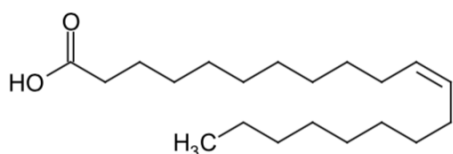
La catalyse chimique, elle a lieu sur les fonctions allylique des acides gras insaturés présents dans le milieu réactionnel notamment les acides oléique (C18:1) et eicosénoïque (C20:1). L'affinité de l'oxygène singulet aux acides gras, favorise premièrement l'attaque spécifique des sites nucléophiles soit en position 9 ou 10 de la double liaison pour le cas de l'acide oléique, soit en position 11 ou 12 de l'acide eicosénoïque, par l'insertion de l'oxygène singulet sur la chaîne carbonée des acides gras insaturés. On constate une disparition presque totale du C18:1 et C20:1 après oxydation avec des teneurs allant de 47,54 % et 8,06 % avant oxydation à 0,99 % respectivement dans les deux cas; une conversion totale du C18:2 est observée dans le milieu réactionnel. Chaque acide gras insaturé est un substrat de ramboutan génère deux isomères *trans* dû aux deux possibilités du positionnement de la fonction hydroperoxyde au moment de l'insertion de l'oxygène singulet. Les résultats des analyses des produits de réaction indiquent également une stéréosélectivité et stéréospécificité des sites d'attaque de l'oxygène singulet (figure III.15). Un pool de deux isomères d'acides gras hydroperoxydés *trans* à partir des deux acides gras monoinsaturés C18:1 *cis* et C20:1 *cis* sont attendus. Ces isomères sont extrapolés à 4 à partir de l'acide linoléique porteur de deux doubles liaisons *cis*. D'un point de vue opérationnel la viscosité du système est augmentée. En RMN¹H nous avons la quasi totalité des acides gras insaturés de départ qui sont hydroperoxydés. On constate une variation du déplacement chimique de la fonction allylique et l'apparition des fonctions hydroperoxydes entre le spectre des acides gras libres et le

mélange d'isomères des acides gras insaturés hydroperoxydés. Le produit final présente un complexe d'acides gras hydroperoxydés ce qui rend la composition du produit final beaucoup plus diversifiée et complexe à analyser.

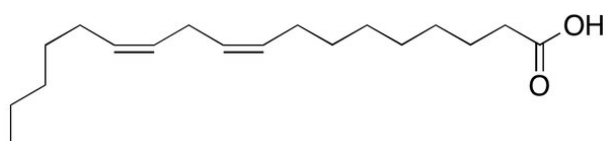
SUBSTRATS DE RAMBOUTAN



Acide oléique C18:1



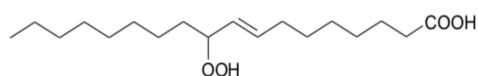
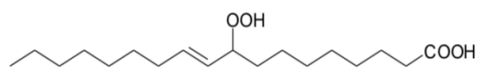
Acide eicosénoïque C20:1



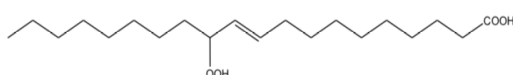
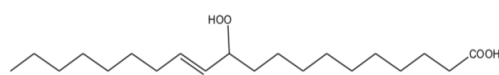
Acide linoléique C18:2



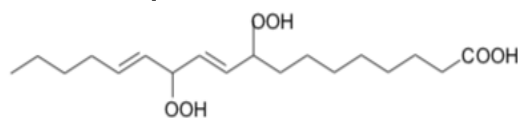
POOL D'ACIDES GRAS TRANS ATTENDUS



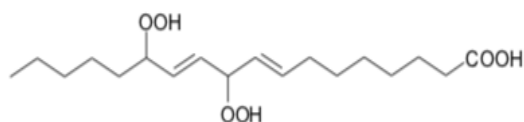
**Acide 9-hydroperoxy -10(E)-
octadécénoïque
Acide 10-hydroperoxy -8(E)-
octadécénoïque**



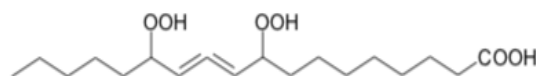
**Acide 11-hydroperoxy-12(E)-
eicosénoïque
Acide 12-hydroperoxy-10(E)-
eicosénoïque**



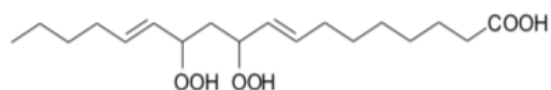
**Acide 9, 12-dihydroperoxy 10,13 (E)-
octadécénoïque**



**Acide 10, 13-dihydroperoxy 8, 11 (E)-
octadécénoïque**



**Acide 9, 13-dihydroperoxy 10, 11 (E)-
octadécénoïque**



**Acide 10, 12-dihydroperoxy 10, 13(E)-
octadécénoïque**

Figure III.15 : Pool des acides gras *trans* susceptibles d'être formés au cours de la réaction.

IV-4. Densification du milieu hydro peroxydé en acides gras saturés

La catalyse enzymatique est une réaction qui se déroule par défaut de la catalyse chimique au cours de la réaction d'oxydation. En effet, une seconde hydrolyse a lieu dans le milieu réactionnel. On observe une forte augmentation de la teneur en acides gras saturés. Une analyse en chromatographie gazeuse (GC-FID) est réalisée pour voir la teneur des acides gras libres non oxydés présents après oxydation. D'après le profil acide gras, les teneurs de chaque acide gras présent dans le milieu, on constate que les acides gras insaturés sont consommés au cours de la réaction d'oxydation et une augmentation de la teneur en acides gras saturés (tableau III.11).

Tableau III.11 : Concentration d'acides gras saturés

Acides gras	Acides gras libres obtenus après hydrolyse	Acides gras saturés après oxydation	Acides gras insaturés après oxydation
Acide palmitique (C16:0)	4,72 ± 0,19	7,83	-
Acide stéarique (C18:0)	5,69 ± 0,23	10,94	-
Acide oléique (C18:1)	47,54 ± 0,57	-	0,99
Acide linoléique (C18:2)	2,71 ± 0,13	-	0
Acide arachidique (C20:0)	26,21 ± 0,19	56,46	-
Acide eicosénoïque (C20:1)	8,06 ± 0,08	-	0,99
Acide béhénique (C22:0)	2,48 ± 0,19	5,07	-
AGS	39,10	80,30	-
AGMI	55,60	-	1,98
AGS/ AGMI	0,703	-	-
AGMI/ AGS	1,422	-	-

La teneur de chaque acide gras saturé présent dans le milieu réactionnel après hydrolyse a augmenté. On note des variations plus faibles pour certains, mais très importantes pour d'autres. On voit notamment la teneur de l'acide palmitique (C16:0) passée de 4,72 % à 7,83 % ; celui de l'acide stéarique (C18:0) de 5,69 à 10,94 %, l'acide arachidique (C20:0) de 26,21 à 56,46 % et acide béhénique (C22:0) de 2,48 et 5,07 %, avec un ratio acides gras saturés (AGS)/ acides gras totaux (AGT) de 0,82/1.

IV-5. Caractérisation chimique du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* ou *E* et acides gras saturés

IV-5-1. Caractérisation chimique du mélange acide gras monoinsaturé hydroperoxydé *trans* et acides gras saturés par résonance magnétique nucléaire (RMN¹H)

Les acides gras libres de ramboutan avant oxydation (figure III.16) présentent à 5,3 ppm un ensemble de pic (triplet) indiquant la présence d'une insaturation et le massif de pics soit situé à environ 4,2 ppm, indiquant la présence d'une fonction hydroxyle (doublet). Le spectre RMN¹H (figure III.17) présente l'analyse du produit d'oxydation (hydroperoxydes d'acides gras mélangés aux acides gras saturés). Après oxydation, les composés hydro peroxydés (figure III.17) présentent deux massifs, soit la présence des protons éthyléniques sous forme de doublet triplet à 5,60 ppm et de doublet-doublet à 5,48- 5,34 ppm. Ces derniers donnent des valeurs de constants de couplage de l'ordre de 16 Hz. On déduit que la configuration des doubles liaisons dans les isomères des acides gras hydroperoxydes monoinsaturés est *trans* (E). À 4,1 ppm le spectre indique la présence d'un proton en alpha d'une fonction oxygénée (hydro peroxyde).

La comparaison de ces spectres permet de constater que les protons éthyléniques présents sous forme de doublet, sur les chaînes d'acides gras insaturés changent de conformation après oxydation, passant de *cis* (5,5 ppm) à *trans* (5,60 et 5,34, 5,48 ppm); et que les hydrogènes en alpha de la double liaison n'émettent pas le même signal à la résonance. On constate également l'insertion d'une fonction hydroperoxyde sur la chaîne aliphatique des acides gras insaturés.

IV-5-2. Caractérisation physico-chimique du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés par spectrométrie infrarouge

Le spectre IR (figure III.18) , présente des bandes indiquant la présence d'un proton en alpha d'une liaison éthylénique de *cis* ou *Z* à σ (C=C) $\sim 716,72 \text{ cm}^{-1}$, la présence d'un proton sur une fonction acide à σ (COOH) $\sim 1710,73 \text{ cm}^{-1}$ (fonction acide) et celle d'un proton sur une fonction ester à σ (COOR) $\sim 1735,40 \text{ cm}^{-1}$ et $1730,00 \text{ cm}^{-1}$; le spectre IR (figure III.19) indique la présence d'un proton en alpha d'une liaison éthylénique de configuration *trans* ou *E* cette fois-ci à σ (C=C) $\sim 963,8 \text{ cm}^{-1}$ - $933,33 \text{ cm}^{-1}$.

La présence d'une fonction acide à σ (COOH) $\sim 1709,18 \text{ cm}^{-1}$ et d'une fonction hydroperoxyde à σ (O-H) $\sim 3428,6 \text{ cm}^{-1}$.

On note une absence totale de fonctions esters après oxydation. Les esters à l'état de traces sont réduits dans la dernière étape d'oxydation allylique en présence du bisulfite de sodium.

La caractérisation physico-chimique du mélange acides gras monoinsaturés

hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés par RMN et IR ont permis de déterminer la structure chimique des composés attendus après oxydation, par l'insertion des fonctions OH ou OOH sur la chaîne allylique des acides gras monoinsaturés (C18:1 et 20:1) en particulier.

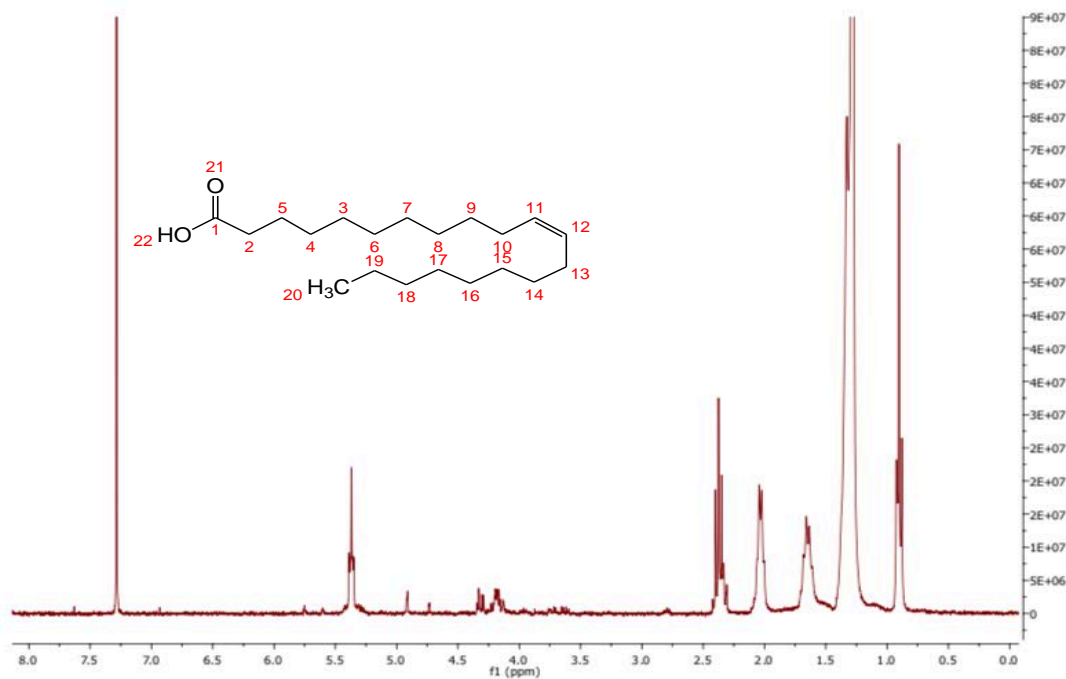


Figure III.16 : Spectres RMN¹H des acides gras libres monoinsaturés (exemple acide eicosénoïque) de *ramboutan* avant oxydation allylique

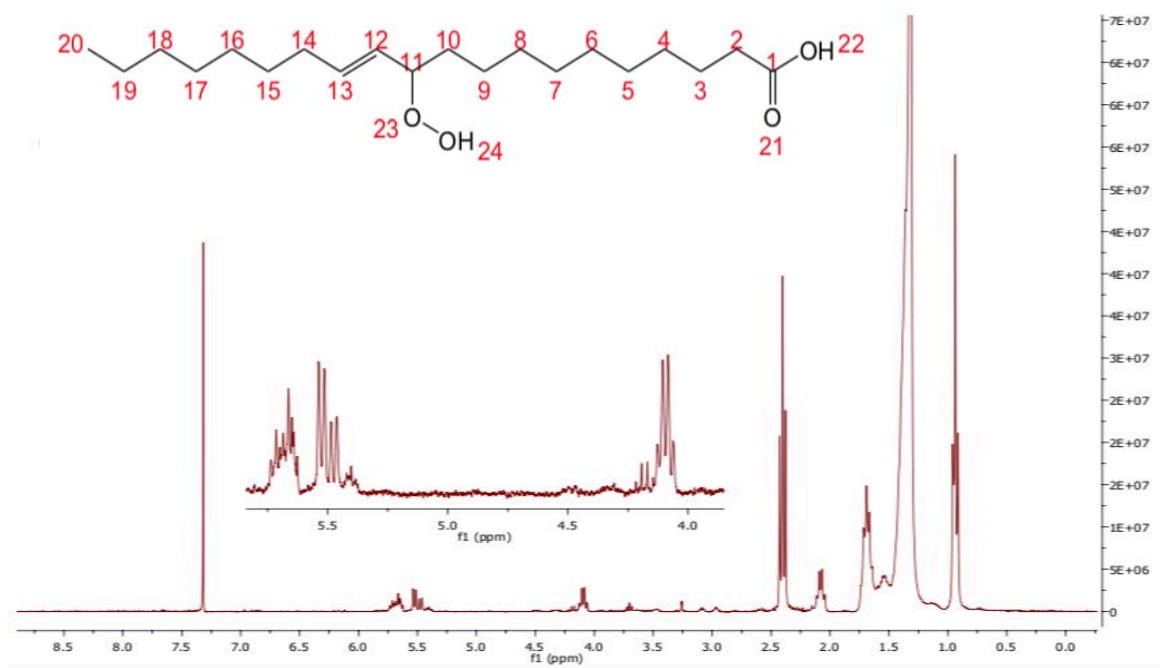


Figure III.17 : Spectres RMN¹H des hydroperoxydes d'acides gras insaturés *trans* ou E ; cas de l'isomère acide 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque

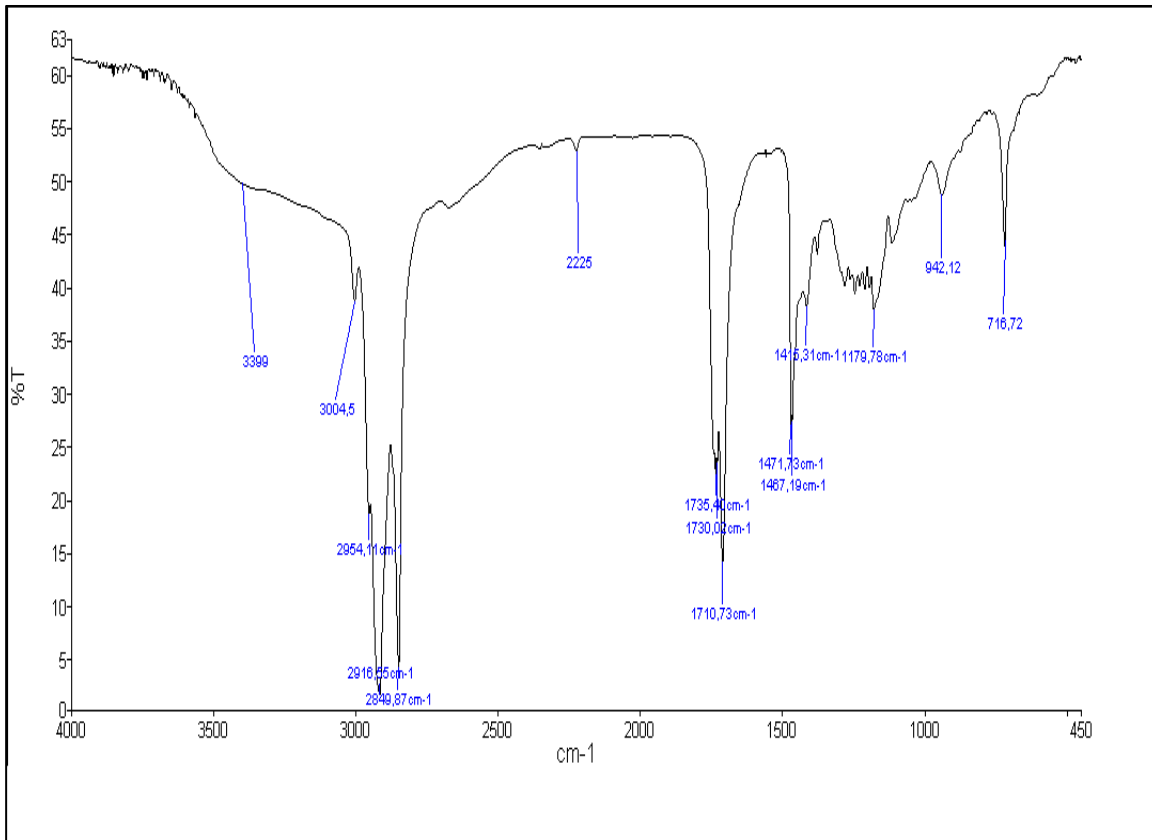


Figure III.18 : Spectre IR des acides oléique et eicosénoïque avant oxydation allylique

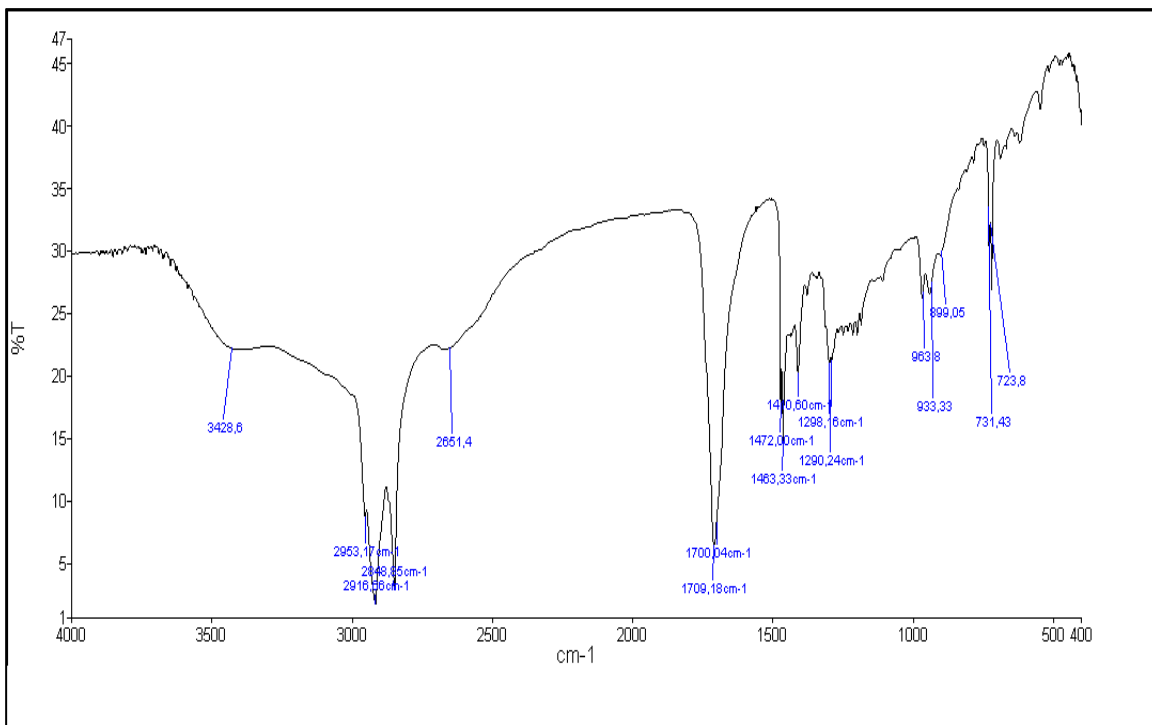


Figure III.19: Spectre IR des hydroperoxydes d'acides gras insaturés *trans* ou E ; cas de l'isomère acide 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque

En effet, on observe sur le spectre RMN du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés (figure III.17) à 4,2 ppm la résonnance d'un proton indiquant la présence d'une fonction hydroxyle en alpha. Le mécanisme de l'oxydation des acides gras prévoit que l'insertion de l'oxygène singulet se fasse en alpha de la double liaison, ce qui provoque un changement de configuration de la double liaison. En effet, la figure III.17 montre que le proton en alpha de la double liaison des acides gras insaturés raisonne à 5,34 et 5,7 ppm tandis qu'avant oxydation (figure III.16) ce même proton raisonne à 5,5 ppm. Les résultats obtenus montre par le billet de la RMN.

Ces résultats sont confirmés par la caractérisation du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés (figure III.19) par IR de la fonction hydroperoxyde par l'apparition d'une bande σ (O-O-H) $\sim 3428,6 \text{ cm}^{-1}$, ainsi que d'une insaturation en conformation *trans* par la présence des bandes σ (C=C) $\sim 963,8 \text{ cm}^{-1}$ - $933,33 \text{ cm}^{-1}$, tandis qu'avant oxydation (figure III.18), la bande des protons éthyléniques est présente à σ (C=C) $\sim 716,72 \text{ cm}^{-1}$. Il en résulte que l'insaturation des acides gras insaturés au cours de la réaction d'oxydation migre d'une configuration *cis* à *trans*.

IV-6. Caractérisation physique : étude thermique du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* ou E et acides gras saturés

La cristallisation et la fusion du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés issus de l'oxydation allylique sont déterminées par DSC (figure III.20 et 21 ; tableau III.12), avec les rampes de température suivantes dans le calorimètre: chauffage de + 25 °C à 60 °C, à une vitesse de 10 °C/min et maintenu pendant 5 min, refroidi à -80 °C à une vitesse de 10 °C/min et maintenu 5 min. L'échantillon a ensuite été chauffé à 60 °C à 10 °C/min.

IV-6-1. Caractérisation physique : étude thermique par cristallisation

Ce mélange d'acides gras s'affiche en une seule région exothermique qui correspond à la cristallisation du produit d'oxydation contenant un mélange d'acides gras saturés à longues chaînes et d'acides d'hydroperoxydes monoinsaturés (figure III.20). Les résultats de la cristallisation ne révèlent pas la présence d'un mélange de différentes familles d'acides gras et de leurs dérivés dans le milieu, tels que nous l'avons vu en chromatographie gazeuse. On note la présence d'un pic à 53,13 °C, avec une limite de gauche 0,30 °C et une limite de droite à 57,72 °C.

On constate que la cristallisation acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés issus de l'oxydation allylique s'étend sur un large palier soit 77,42 °C de température.

IV-6-2. Caractérisation physique : étude thermique par fusion

Ce cocktail d'acides gras est affiché en une seule région endothermique qui correspond à la fusion du produit d'oxydation contenant un mélange d'acides gras saturés à longues chaînes et d'hydroperoxydes des acides gras monoinsaturés notamment les isomères Acide 11-hydroperoxy eicos-12(E)-énoïque et Acide 12-hydroperoxy éicos-10(E)-énoïque (Figure III.20). Comme avec la cristallisation, les résultats de la fusion ne révèlent pas la présence d'un mélange de plusieurs familles d'acides gras et de leurs dérivés dans le milieu, tels que nous l'avons vu en chromatographie gazeuse. On note la présence d'un pic à 62,37 °C, avec une limite de gauche 20,73 °C et une limite de droite à 67,71 °C avec un écart d'environ 40 °C. On constate aussi que la fusion du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés issus de l'oxydation allylique s'étend sur un large palier soit 41,64 °C de température.

IV-6-3. Caractérisation physique : étude thermique par la détermination de la teneur en graisses solides (SFC Solid fat Content)

La figure III.21 montre le profil de la quantité de solides présents dans le mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés issus de l'oxydation allylique. On note la présence d'une forte teneur en acides gras saturés comparé à la courbe représentative des acides gras libres, 87,5 % et 38,8 % respectivement.

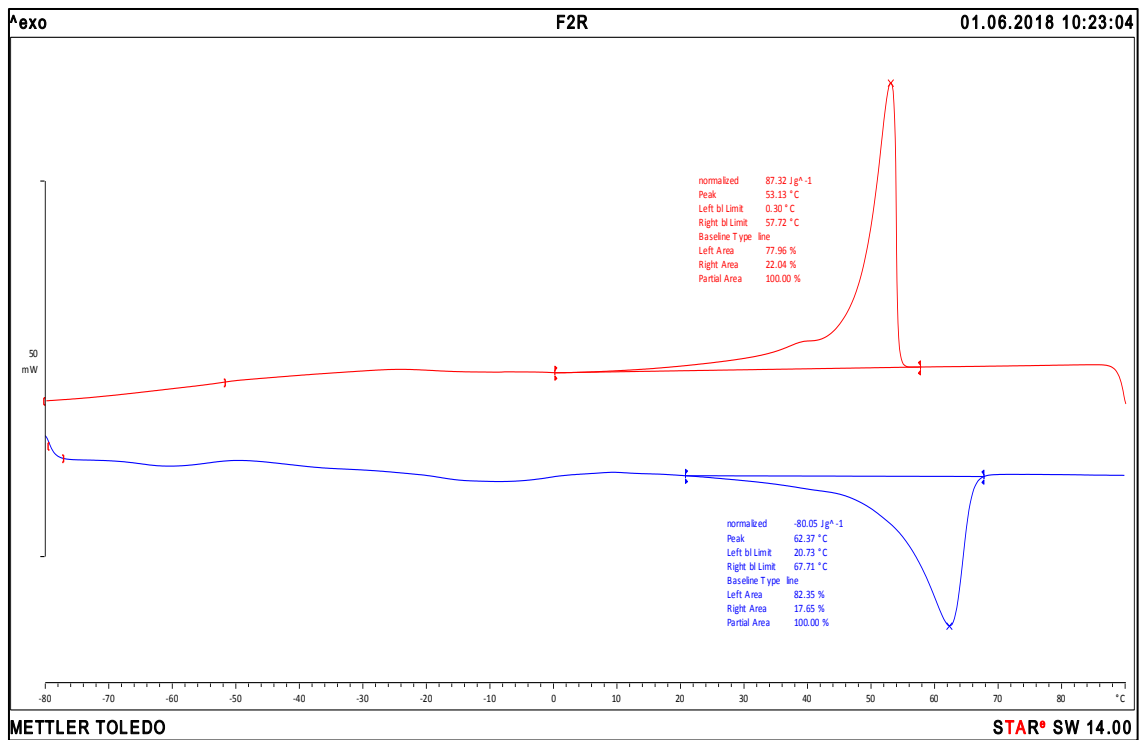


Figure III.20 : Résultat DSC du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés

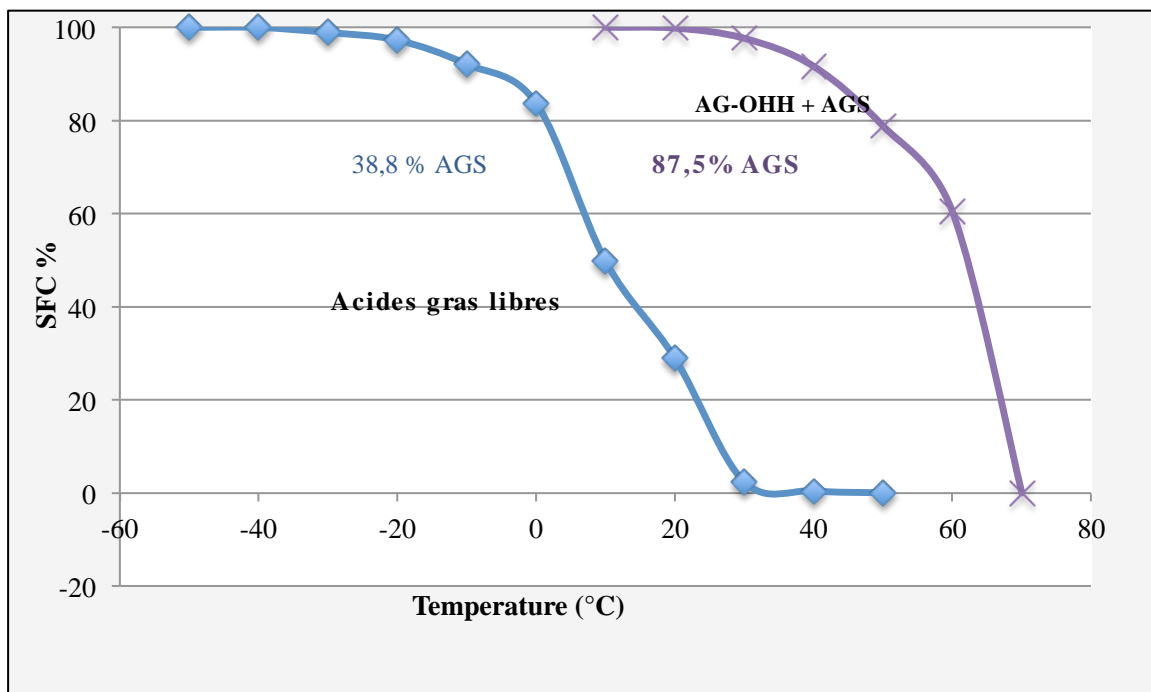


Figure III.21 : SFC des acides gras libres comparé au mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés

IV-6-4. Caractérisation physique : étude thermique par diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction X sur poudre, contrairement à la DRX sur monocristal, permet de remonter à l'architecture moléculaire du matériau étudié, du fait d'une perte d'information très importante (monodimensionnelle au lieu de tri, et seulement quelques dizaines de pics de diffraction au lieu de plusieurs milliers). Essentiellement, la DRX poudre permet donc de faire de l'identification de phases, le diffractogramme constituant une signature d'une phase donnée (figure III.22). Il est possible d'analyser des mélanges de phases, par contre le mélange des acides *trans* 9 et 10-hydroperoxy octadécénoïque, *trans* 11 et 12-hydroperoxy eicosénoïque et des acides gras saturés issus de l'oxydation allylique est un composé non référencé ; et dans le cas de composés non référencés, il est impossible d'identifier les composés synthésés. Cette analyse présentera donc une comparaison qualitative, portant essentiellement sur le degré de cristallinité des composés analysés et sur une comparaison des diffractogrammes entre eux c'est à dire : les signatures sont-elles identiques ? et donc est-ce qu'il s'agit de la même phase cristalline ou non ?

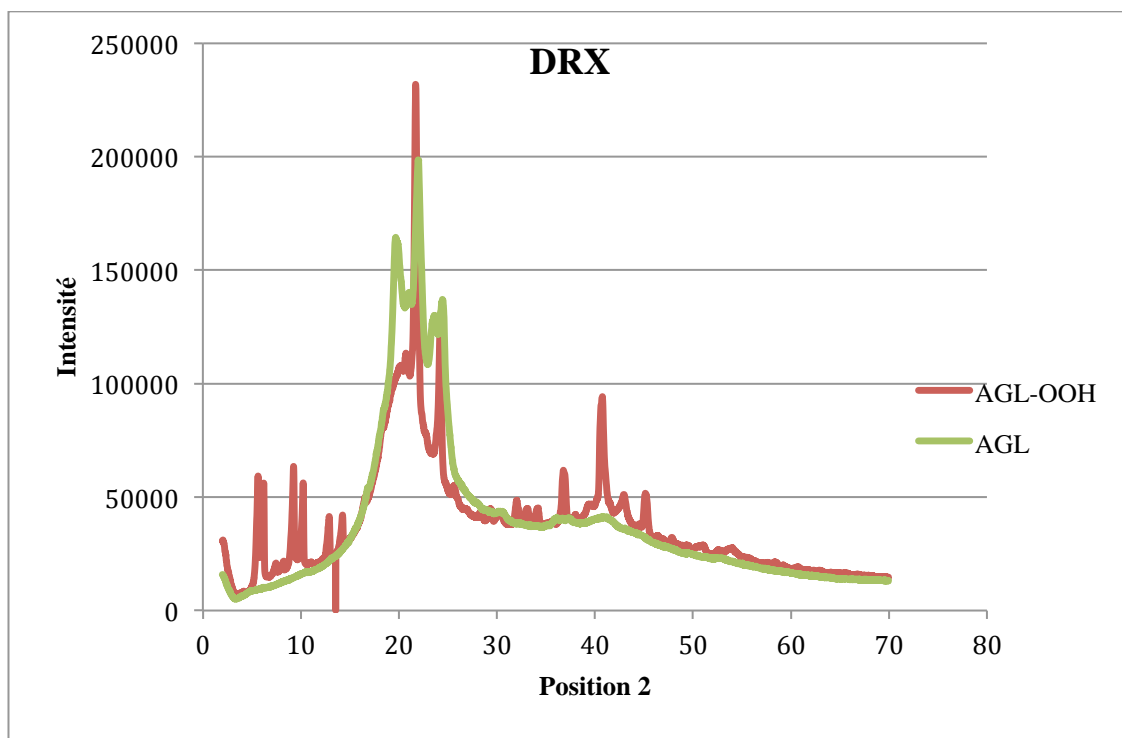


Figure III.22 : Comparaison de l'état cristallin des acides gras libres comparé au mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés

AGL : Acides gras libres ;

AG-OOH : Hydroperoxyde d'acides gras

La figure III.22, présente donc les résultats de la DRX du produit de réaction comparé à ceux des acides gras libres obtenus après hydrolyse. On constate que les deux diffractogrammes n'ont pas la même signature et donc n'appartiennent pas à la même phase cristalline. Le diffractogramme du produit d'oxydation présente plusieurs pics bien définis par rapport aux acides gras libres. Il présente donc par déduction un état cristallin.

La deuxième partie du chapitre III, nous a présenté la production d'un concentrat d'acides gras libres issus de l'huile de ramboutan, densifiée en oxygène par des fonctions hydroperoxydes avec de très forte teneur en acides gras saturés notamment le C20:0, au moyen de l'oxydation catalytique. Les résultats obtenus en RMN et IR permettent de visualiser la présence d'hydroperoxyde d'acides gras insaturés, donc la densification en oxygène. Un profil acide gras est effectué pour évaluer la quantité en acides gras libres restant après oxydation. Il a montré une augmentation considérable de la teneur en acides gras saturés

L'étude thermique du mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés issus de l'oxydation allylique a montré le comportement thermique de ce dernier. La figure III.20 présente un seul pic au refroidissement (cristallisation) à 53,13 °C avec une limite de gauche 0,30 °C et une limite de droite à 57,72 °C ; et au chauffage (fusion) à 62,37 °C, avec une limite gauche 20,73 °C et une limite de droite à 67,71 °C. Les résultats de SFC indiquent une teneur en graisses solides de 87,5 % dans le produit de réaction qui fond à 70 °C. L'état cristallin ou polymorphe de notre produit de réaction correspond à son aspect physique qui est semi-solide (Figure III.23).

D'après les résultats obtenus, le produit d'oxydation contient des acides gras saturés à longues chaînes, notamment le C20:0 et le C22:0 ainsi que les acides gras insaturés de conformations *trans* qui influencent considérablement le comportement viscoélastique du milieu.

Le mélange des acides gras saturés et des acides gras insaturés hydroperoxydes *trans* se présente comme un oléogel, son comportement est semblable à celui de l'acide 12-Hydroxy-stéarique [24, 25]. Les oléogels sont des molécules ayant les caractéristiques communes à partir d'un réseau tridimensionnel supramoléculaire. Ils sont capables de piéger et retenir l'huile pendant le refroidissement. La structure finale d'oléogel dépend non seulement de la structure chimique et de la concentration de l'oléogélateur, mais aussi des paramètres du procédé, tels que les vitesses de refroidissement et l'application de cisaillement. Il constitue un cocktail de composés à haut point de fusion formant un nouveau système de shortening avec des acides gras non conventionnels (acides gras saturés à longues chaînes et hydroperoxyde *trans* d'acides gras) à haut point de fusion et de cristallisation.

Il peut également être comparé aux esters d'acides gras et d'acides gras hydroxylés (FAHFAs : Fatty acids and hydroxy Fatty acids), localisés dans le tissu adipeux et plasma des mammifères ; ainsi que des aliments humains. Les FAHFAs portent la même signature que notre produit de réaction (acides gras saturés + acides gras hydroxylés) : la présence de quatre atomes d'oxygène. Il existe plusieurs

combinaisons formées d'acides gras (acide oléique, palmitique, palmitoléique) et d'acides gras hydroxylés (acide hydroxy stéarique et hydroxy palmitique). Les résultats de ces derniers ont montré que les FAHFA notamment l'acide palmitique – acide hydroxystéarique (PAHSAs), peuvent être obtenus par synthèse chimique et possèdent plusieurs isomères dont l'action de chacun varie selon l'isomère. Les données de cette étude indiquent par exemple que le 9-PAHSAs à un fort effet anti-inflammatoire. D'après Balas et al., 2016, les HFAs d'acides gras insaturés peuvent être mieux estérifiés que leurs analogues saturés et ils peuvent jouer un rôle biologique beaucoup plus important que ceux des simples acides gras saturés [26, 27].

La cristallisation des graisses et des lipides entraîne des applications industrielles d'importance, notamment le traitement des produits finis constitués de cristaux de matières grasses, comme le chocolat, la margarine la crème à fouetter, etc. Il y a donc une nécessité croissante de développement de technologies permettant l'obtention de graisses de haute et de basse température de fusion, pour diverses utilisations. Comme dans la première partie du travail, le mélange du produit d'oxydation présente à nouveau un système de shortening à très haut point de fusion. Les produits de marché montrent que l'on peut avoir des shortnings de margarine et d'huile de salade avec des teneurs allant de 1 à 60, de 16 à 70 et de 8 à 17 % des acides gras *trans* respectivement.

Dans notre cas, des produits d'oxydation, des oléogels, un mélange d'acides gras hydro peroxydés *trans* et d'acides gras saturés à longues chaînes, sans pour autant faire recours aux techniques d'hydrogénation. Le mélange du produit d'oxydation et les acides gras saturés peut également être assimilés au gel des cires d'huiles utilisées pour différents produits tels que les cosmétiques, l'alimentaire et les médicaments [28].

Ce mélange d'acides gras non conventionnels (acides gras hydroperoxydes et *trans*) et des acides gras saturés à longues chaînes sont donc de bons candidats pour l'industrie chimique. Nous devons entreprendre des travaux de fractionnement pour séparer les deux nouvelles familles de composés à hauts points de fusion, étudier leur toxicité et leur valorisation.

Comparés aux résultats obtenus au cours des travaux antérieurs, la particularité de l'huile de ramboutan et donc de ces acides gras libres est la présence des deux familles d'acides gras à longues chaînes (C20 et C22). Elles confèrent au produit de réaction une texture différente que celle obtenue dans le cas de l'acide oléique. Aussi ces résultats permettent de mettre en évidence l'oxydation d'un acide gras à longues chaînes (C20:1) en parallèle avec celle de l'acide oléique.



Figure III.23 :Mélange acides gras monoinsaturés hydroperoxydés *trans* et acides gras saturés

V- Condensation du mélange des acides gras hydroperoxydés *trans* insaturés et des acides gras saturés au glycidol en milieu aqueux en présence de résine échangeuse d'anions macroporeuse Amberlist A 26 OH

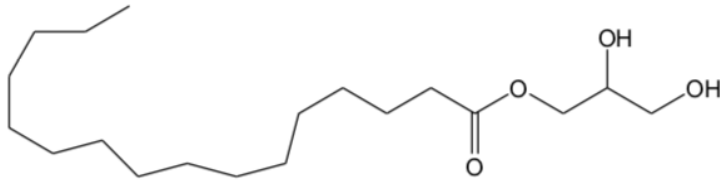
V-1. Préparation des monoesters de glycérol d'acides gras hydroperoxydes insaturés *cis* et d'acides gras saturés

Rappelons que cette approche de synthèse deux cascade implique les acides gras hydroperoxydés insaturés *trans* et d'acides gras saturés comme les substrats de la réaction de condensation dans le glycidol. Ces acides gras sont les produits d'hydro peroxydation allylique.

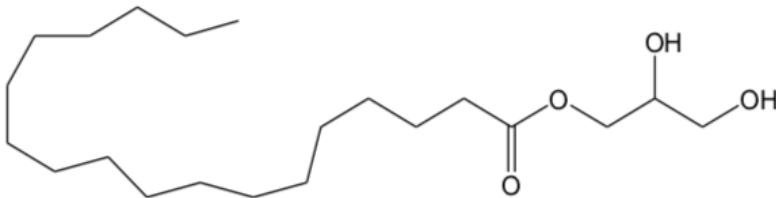
Les produits de réaction attendus correspondent à ceux de la réaction ou des réactions de condensation. Ils sont constitués par un mélange de trois familles de monoglycérides pures. Selon les ratio AGS/ AGMI les produits seraient constitués, d'une part des monoesters de glycérol et d'acides saturés et d'autre part des monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydés monoinsaturés de conformation *cis* ou *Z*.

V-1.1. Monoesters de glycérol et d'acides saturés

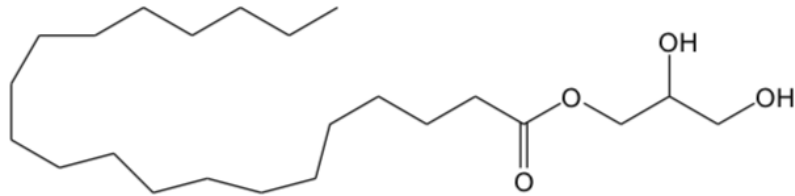
- Monopalmitate de glycérol : MG C16:0



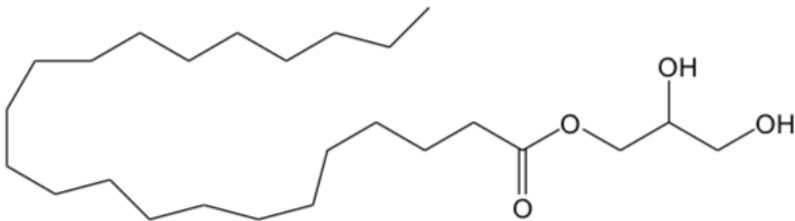
- Monostéarate de glycérol MG C18:0



- Monoarachidate de glycérol MG C20:0

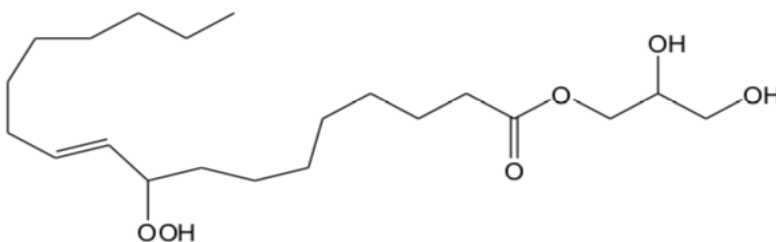


- Monobéhénique de glycérol MG C22:0



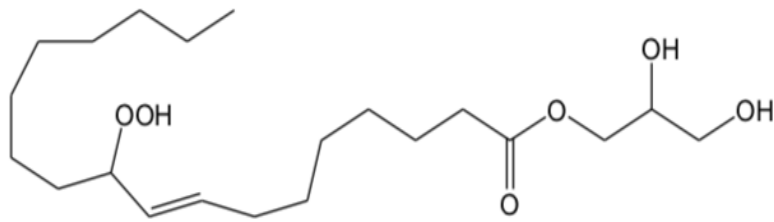
V-1.2. Monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydés monoinsaturés de conformation *cis* ou *Z* :

- Mono-9-hydroperoxyde-10 (E)-octadécénoate de glycérol MG C18:1 E(10) 9 – OOH

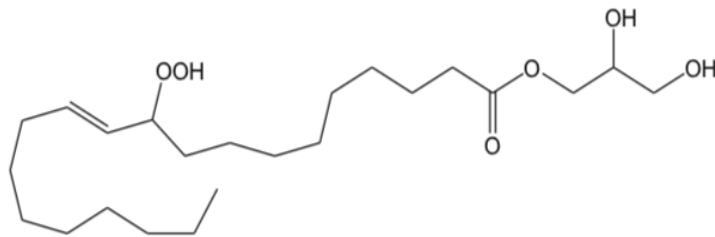


- Mono-10 hydroperoxyde- 8 (E)-octadécénoate de glycérol

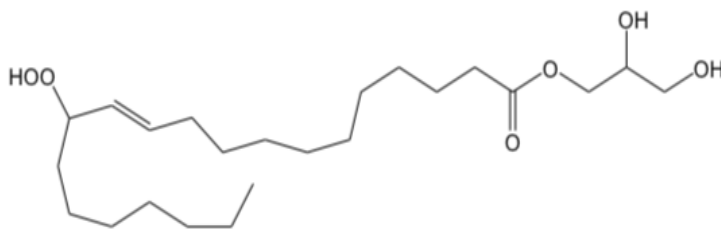
MG C18:1 E(8) 10-OOH



- Mono-10-hydroperoxyde – 11 (E)-eicosénoate de glycérol
MG C20:1 E(11) 10 – OOH



- Mono-13 hydroperoxyde- 10 (E)- eicosénoate de glycérol
MG C20:1 E(11) 13-OOH



- monoesters d'acides gras di-insaturés de conformation *cis* et de glycérol

Trois observations doivent être faites à ce stade.

La première est que les réactions de condensation sont quasi quantitatives.

La deuxième concerne la disparition de la configuration *trans* des substrats insaturés. Les mono esters de glycérol et d'acides gras insaturés sont des monoglycérides purs de configuration *cis*.

La troisième est la condensation simultanée des acides gras saturés et des acides gras insaturés selon la réactivité du glycérol, ces acides gras hydroperoxydés insaturés *cis* et acides gras saturés se positionnent chacun en position 1 de glycérol. On obtient des monoesters de glycérol à très forte teneur en esters d'acides gras appelés monoglycérides purs. Ce sont des tensioactifs monoinsaturés.

Pour comprendre l'intérêt de ces tensioactifs, examinons les comportement physiques des monoglycérides purs appelés aussi monoglycérides distillées. Grace à leur structure moléculaire bien définie et leur pureté. Les monoglycérides purs

sont polymorphes et doués de points de fusion élevés. Ce qui en fait de bons candidats dédiés pour créer des réseaux cristallins, c'est le cas du :

- monopalmitate de glycérol. Il présente un point de gel de 81 °C et un point de fusion de 74-74,5 °C.
- monostéarate de glycérol avec le C18 :0 à 85 %. Son point de gel est de 81 °C et son point de fusion de 81-81,5 °C. dans sa forme β , son point de fusion est de 74 °C et le point de transition de la forme en sub- α est de 42 °C.
- monobéhénoate de glycérol. Il présente un point de cristallisation de 78 °C sous forme α et un point de fusion de 84 °C. Son point de transition est de 78 °C pour sa forme α à la forme sub- α est de 54 °C.

Les monoglycérides constitués de mélange d'acides gras saturés C16:0 et C18:0 sont les lipides les plus connus dans l'industrie alimentaires. L'exemple connu est le Dimodan® HP, commercialisé par Danisco, c'est un mélange MG C18/C16: 50 % en poids. Selon le diagramme de phase MGC18 / C16/ huile de noisette, la température de cristallisation diminue de 36 °C à 12 °C à cause de la différence mineur de leur longueur de chaîne aliphatique. [29, 30].

Nous avons relevé dans la littérature des caractéristiques physiques des hydroxyacides gras obtenus à partir de l'acide oléique via l'hydroxylation de l'acide oléique avec le dioxyde de sélénium/ ter-butyl hydroperoxyde. L'hydroxylation allylique de l'acide oléique aboutit aux deux isomères : acide 8-hydroxy-9 (E)-octadécénoïque et acide 11-hydroxy-9 (E) octadécénoïque. Leurs points de fusion sont respectivement de 54-55 °C et de 43-44 °C. L'enseignement majeur est que le groupe hydroxy allylique situé proche du groupe fonctionnel carboxylique C1 exerce leur influence sur la forme solide mésosphère [31, 32].

Ces données laissent augurer d'une part la constitution des mélanges polymorphes des acides gras hydroxy allyliques *trans* (E) en C18:1 et C20:1 avec les acides gras saturés et d'autre part la constitution du mélange polymorphe des acides gras hydroperoxydes allyliques *trans* (E) en C18:1 et C20:1 avec les acides gras saturés. Ces dernières étant des intermédiaires obtenus de la réaction d'hydroperoxydation allylique soit de l'acide oléique 86-87 % ou 90-92 % ou des concentrats d'acides gras issus de l'hydrolyse de l'huile de ramboutan.

Une autre donnée importante sur le comportement surfacique de ces acides gras hydroxy allyliques est leurs propriétés de surface qui semblent meilleures que celles des acides gras insaturés non-substitués. Les résultats des études sur la détermination des tensions de surface révèlent que les acides gras hydroxylés allyliques sont doués de propriétés de surface meilleures quand le groupe hydroxy est proche de la fonction carboxylique C1 de l'isomère allylique en C18:1 et C20:1. Acide 8-hydroxy-9 (E) octadécénoïque : CMC 8×10^{-5} mol/ L, $\gamma_{\text{CMC}} = 33,1$ mN/ m, acide 11hydroxy-9 (E) – octadécénoïque : CMC 4×10^{-4} mol/ L, $\gamma_{\text{CMC}} = 32,5$ mN/ m ; acide 10-hydroxy- 11 (E) – eicosénoïque CMC 3×10^{-4} mol/ L, $\gamma_{\text{CMC}} = 31,9$ mN/ m ; acide 13- hydroxy- 11 (E) – eicosénoïque CMC= 1×10^{-3} mol/ L, $\gamma_{\text{CMC}} = 31,6$ mN/ m. En comparaison avec l'acide ricinoléique (CMC = 5×10^{-4} mol/ L, $\gamma_{\text{CMC}} = 33,5$ mN/ m), les acides gras hydroxy allylique issus de l'acide eicosénoïque sont

des tensioactifs plus efficaces et ce d'autant que le groupe hydroxy est plus proche du groupe carboxylique et la chaîne carbonée est longue (CMC et gamme CMC de C20:1_(E) – 13-OH >> CMC et γ_{CMC} de C18 :1_(E) – 10-OH ; CMC et γ_{CMC} C18:1 (Z) 12-OH).

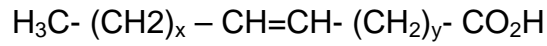
Nous pouvons ainsi préconiser la synthèse de ces acides gras hydroxylés allyliques individuelles et celle de leurs acides gras hydroperoxydés en vue d'acquérir des connaissances fondamentales pour pouvoir exploiter leurs propriétés et performances dans des applications industrielles, lubrifiants, cosmétiques voire alimentaires et nutritionnels. La ou les réactions de condensations de ces acides gras hydroxydes insaturés en mélanges avec les acides gras saturés semblent montrer que les esters de glycérol d'acides gras hydroperoxydés insaturés correspondants s'isomérisent et se stabilisent en *cis* ou Z. les analyses des spectres par RMN¹H et infrarouge sont dépouillées dans la suite de l'exposé.

V-2. Caractérisation physico-chimique des monolesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydes insaturés *cis* (Z)

V-2-1. Caractérisation physico-chimique des monolesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydes insaturés *cis* (Z) par résonance magnétique nucléaire (RMN)

La figure III.24 (et figure III.24-1) présente le spectre RMN obtenu après analyse du brut réactionnel de la réaction ou des réaction de condensation du glycidol avec des acides gras hydroperoxydes insaturés *trans* (E) en mélange avec les acides gras saturés en C16:0, C18:1 et C20:0 et C22:0. Pour les besoins de simplicité et didactiques et afin de suivre les modifications chimiques opérées autour des groupes carboxyliques C1 des acides gras en groupes carboxyester de glycérol. Nous focalisons les analyses des spectres sur deux zones. Il s'agit de la zone entre 5 et 6 ppm, dans laquelle apparaît le proton en α de la fonction allylique des chaînes carbonées et de la zone 3 et 4 ppm dans laquelle apparaît le proton en α de la fonction hydroperoxyde OOH allylique et apparaissent les deux protons des deux fonctions hydroxyles primaire et secondaire du groupe carboxyester de glycérol.

Présentons d'abord le spectre RMN¹H (figure III.25 et figure III.25-1 et 2) en mélange des acides 10-hydroperoxy-9 (E)-octadécénoïque et 12-hydroperoxy- 11 (E)- eicosénoïque et des acides gras saturés. Ce mélange est issu du schéma général de l'hydroxylation allylique via l'hydro peroxydation allylique des acides gras monoinsaturés ci-dessous.

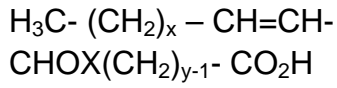


1- base, H₂O/ EtOH

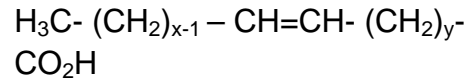
2- Na₂MoO₄/ H₂O₂

3- NaBH₄

Hydroxylation allylique



+



C18:1		x=y=7	X=O H	Acide 9-hydroperoxyoctadéc-11(E)-énoïque
C18:1	X=7	Y=9	X=O H	Acide 10-hydroperoxyoctadéc-9(E)-énoïque
C20:1	X=7	Y=10	X=O H	Acide 11-hydroperoxyeicos-12(E)-énoïque
C20:1	X=7	Y=10	X=O H	Acide 12-hydroperoxyeicos-10(E)-énoïque

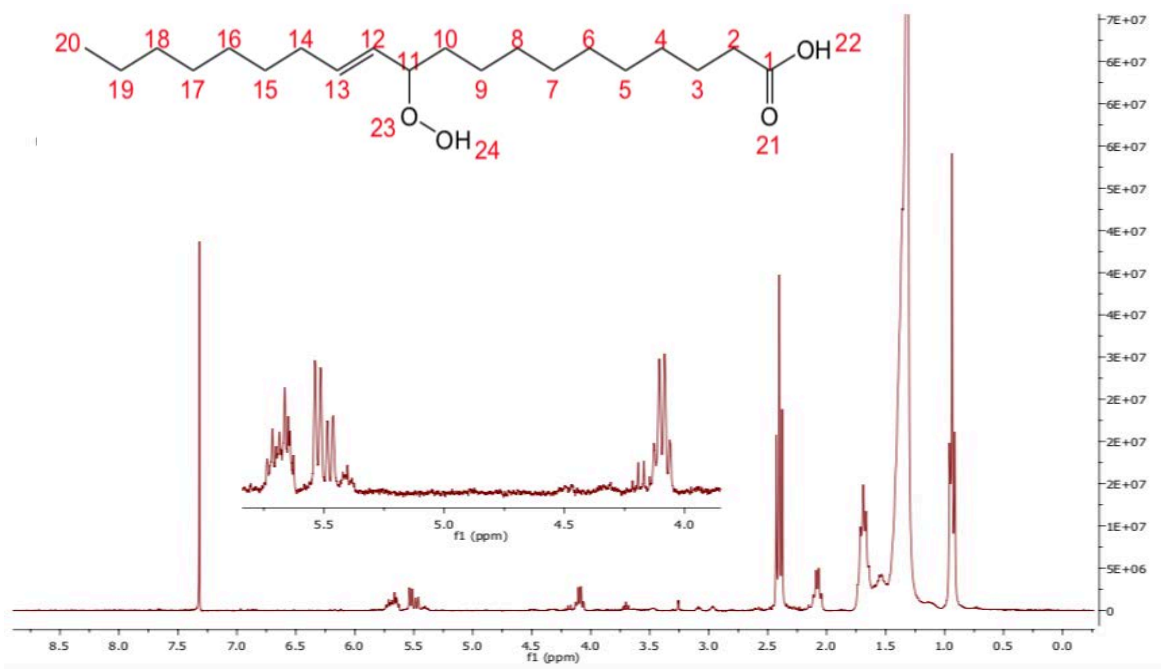


Figure III.24 : Spectres RMN ^1H de l'acide 10-hydroperoxy-(E) octadécénoïque et 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque

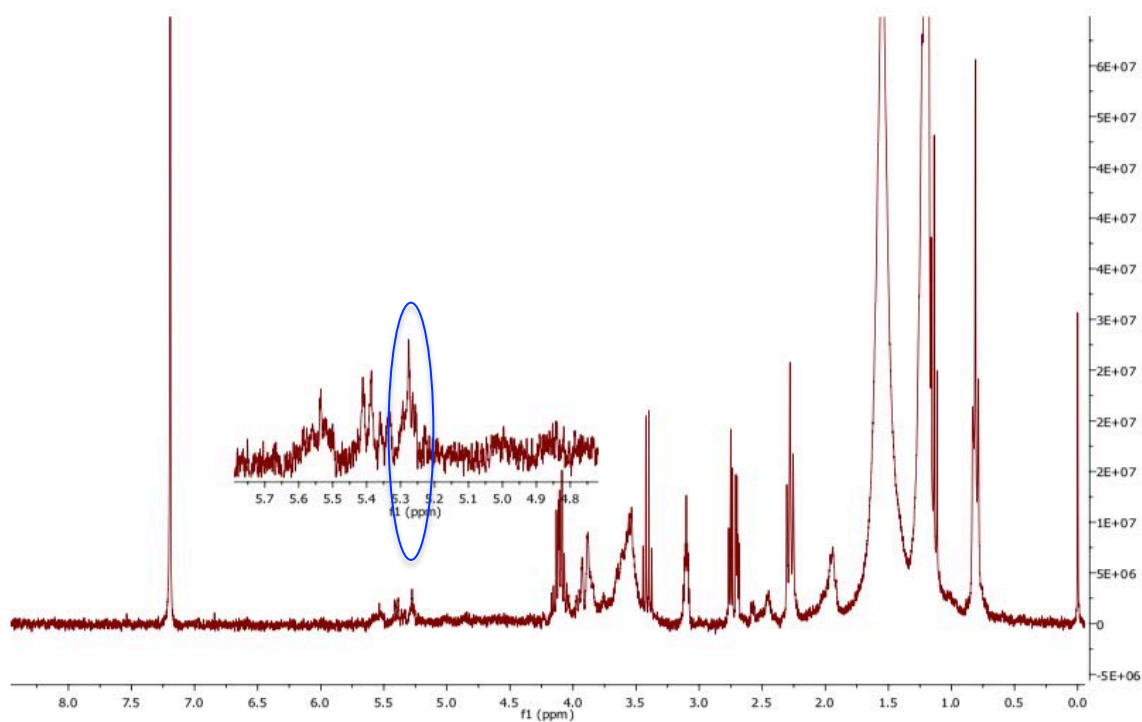


Figure III. 25 : Spectre RMN ^1H des mono 10-hydroxyperoxy- 9 (Z)-octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11 (Z)- eicosénoate de glycérol

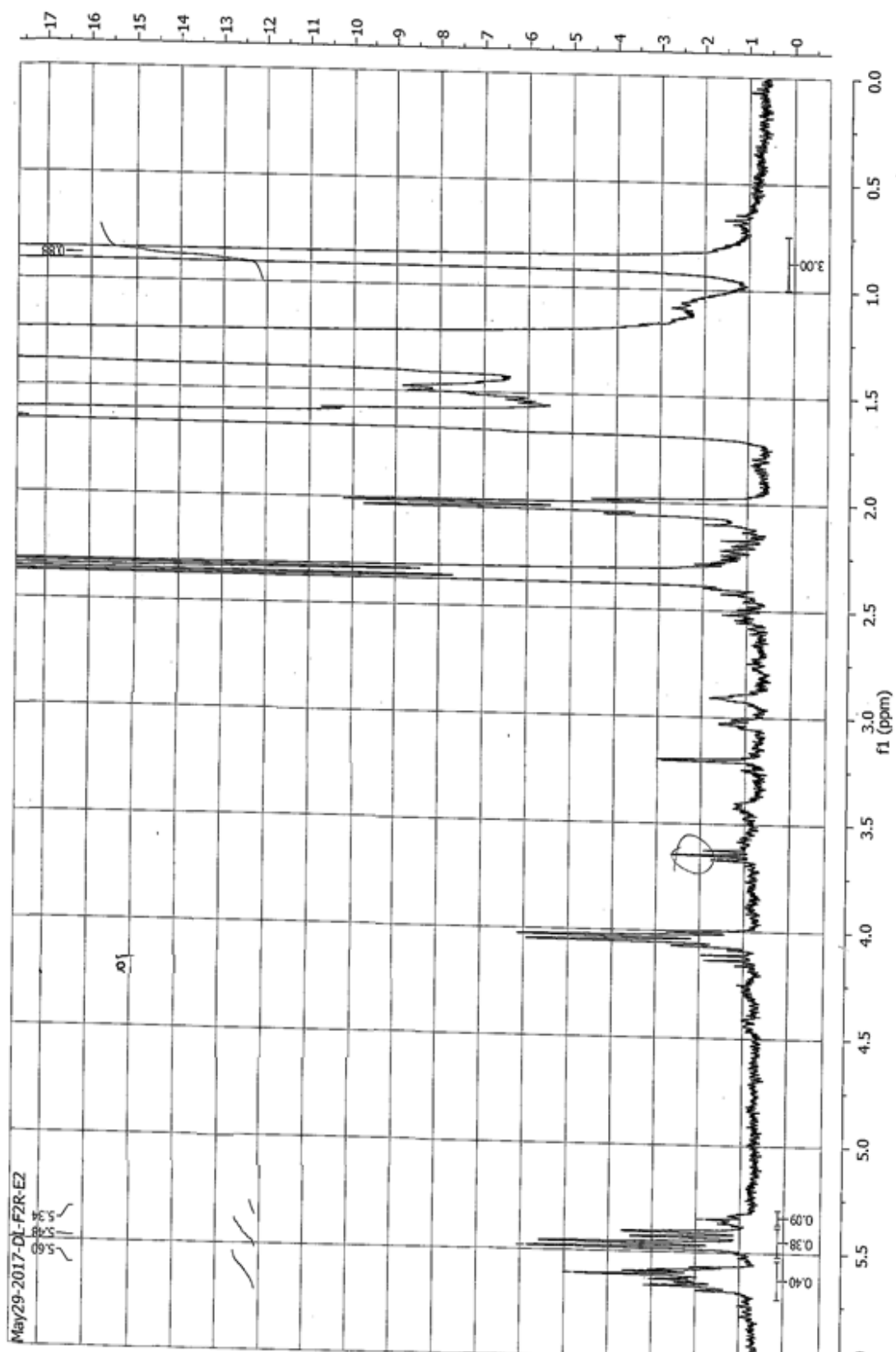


Figure III.24-1 : Spectres RMN¹H de l'acide 10-hydroperoxy-(E) octadécénoïque et 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque

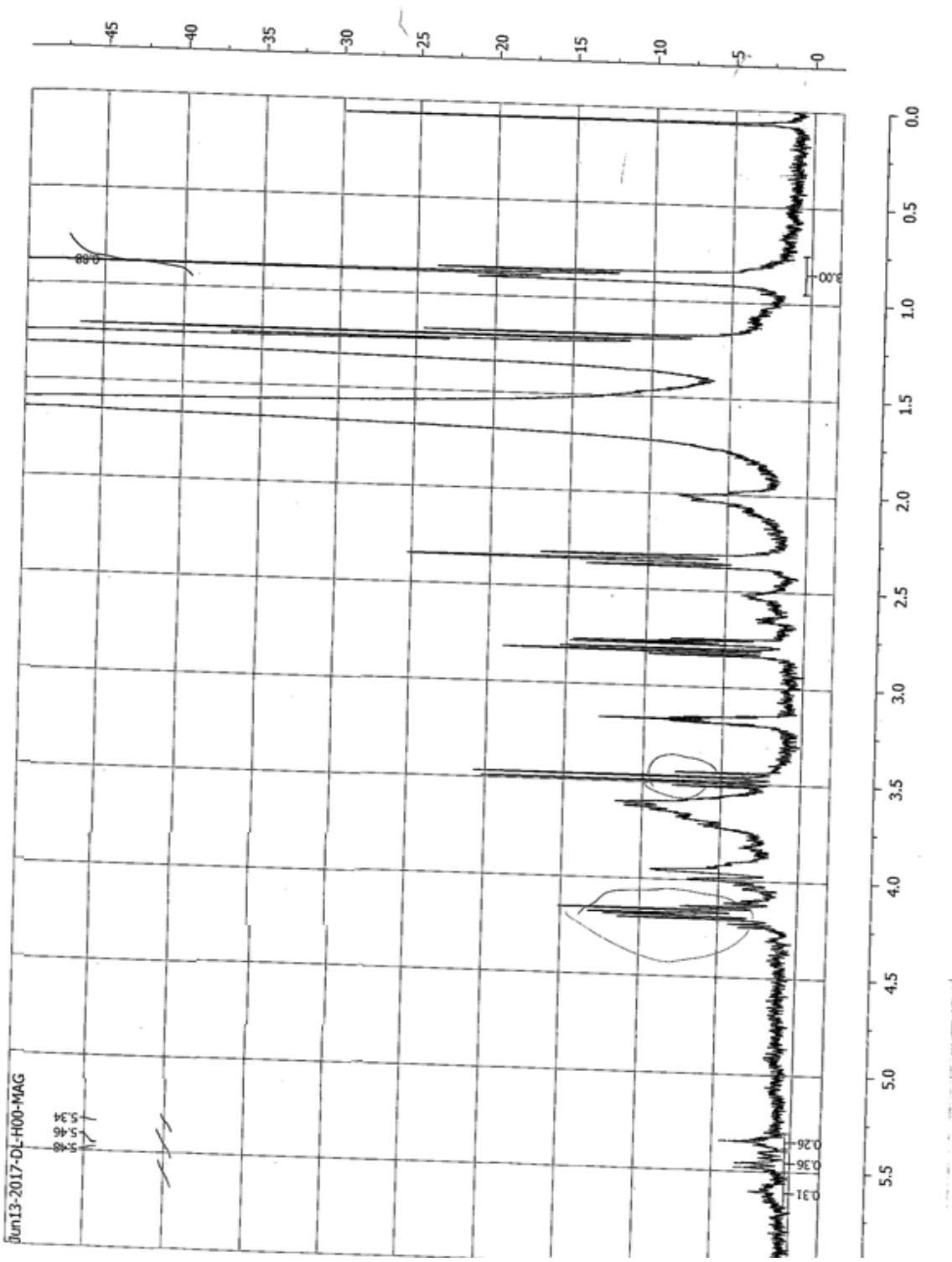
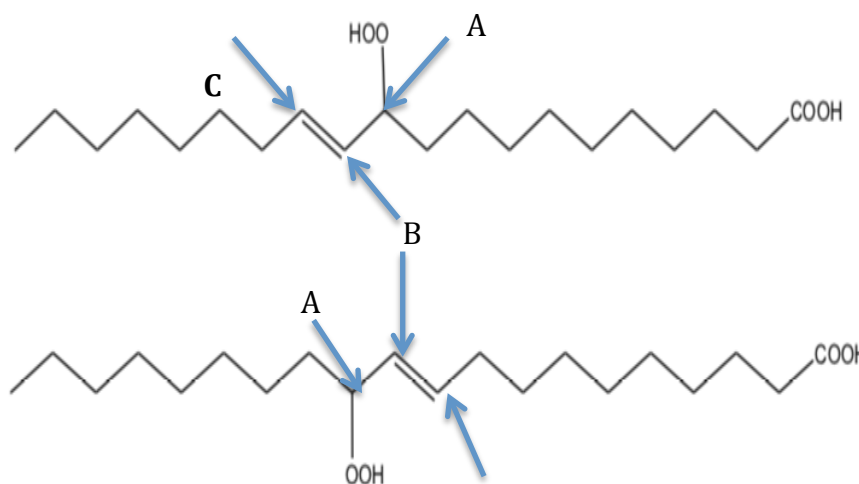


Figure III. 25-2 : Spectre RMN¹H des mono 10-hydroperoxy- 9 (Z)-octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11 (Z)- eicosénoate de glycérol

Les spectres RMN¹H de ces acides gras hydroperoxydes allyliques présentent deux massifs de pics à 5,60 ppm, 5,48 ppm et 5,34 ppm. Chacun de ces acides gras monoinsaturés C18:1 et C20:1 engendre deux isomères représentés ainsi :

Acide 9-hydroxy-10(E)- octadécénoïque



Acide 10-hydroxy-8(E)- octadécénoïque

Les protons des carbones C, B, A de l'isomère de l'acide 9-hydroxy-10(E)-octadécénoïque résonnent respectivement à 5,60 ppm, 5,48 ppm et 4,1 ppm tandis que les protons des carbones A, B et C de l'isomère de l'acide 10-hydroxyperoxy-(E) octadécénoïque résonnent à 4,1 ppm, 5,48 ppm et 5,60 ppm.

Ce raisonnement est appliqué aussi pour les isomères de l'acide eicosénoïque. Ces protons indiquent la présence des protons éthyléniques sous forme de doublet et triplet à 5,60 ppm et de double doublet à 5,48 et 5,34 ppm. Ces derniers donnent des valeurs de constants de couplage de l'ordre de $J = 16$ Hz. On déduit que la configuration des doubles liaisons dans les isomères des acides gras hydroperoxydes monoinsaturés est *trans* (E). A environ 4,10 ppm on identifie le proton alpha du carbone A de la fonction oxygénée du groupe hydroperoxyde.

Le spectre RMN¹H (figure III.24) présente une allure similaire. Il est caractérisé par l'apparition des pics à 5,48 ppm, 5,46 ppm et 5,34 ppm. Par superposition du spectre RMN¹H de l'acide oléique (figure III.25), le massif de pics à 5,34 ppm est identique à celui engendré par les protons éthyléniques de l'acide oléique. Ces protons donnent des constantes de couplages de valeur de 5 et 12 Hz. Leur configuration est *cis* (Z). Le massif de pics à 5,46 ppm est réduit à un doublet. Les valeurs de déplacements chimiques, les formes de pics et les valeurs de constantes de couplage militent en faveur de la présence des isomères *cis* (Z) à la suite de la réaction ou des réactions de condensation des acides gras hydroxydes monoinsaturés *trans* (E) avec le glycidol. Il en résulte des isomères monoglycérides purs *cis* (Z) dans lesquels les acides gras insaturés *cis* (Z) sont en position 1. Cette

position est mise en évidence par la présence des protons du carbone 1 du motif glycérol du groupe carboxyester de glycérol.

Ceux-ci résonnent sous forme de massif entre 4,06-4,26 ppm. On observe également des pics à 3,6 ppm qui indique la présence d'un proton (CH_2) en α d'une fonction hydroxyle, à environ à environ 3,9 ppm, un proton (CH) en α d'une fonction hydroxyle.

Le système réactionnel est hétérogène, solide/ liquide. La phase solide est représentée par la résine échangeuse d'ions anioniques et la phase liquide constituée par les réactifs organiques et l'eau. La phase liquide est transparent et visqueux, en raison de la présence du glycidol.

Le produits de synthèse de la réaction de condensation apparaît avec la même couleur et texture que celle du milieu réactionnel, une couleur blanche pâle et de texture légèrement visqueuse, sont constitués d'un mélange de trois familles de monoglycérides d'acides gras : acides gras saturés, acides gras monoinsaturés, acides gras hydroperoxydes et acides gras n'ayant pas réagi, soit un rendement massique de 50 %.

V-2-2. Caractérisation chimique des monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydes insaturés *cis* par spectrométrie infrarouge (IR)

La figure III.26 présente les spectres IR de l'acide 10-hydroperoxy-9 (E)-octadécénoïque et l'acide 12-hydroperoxy-11 (E)-eicosénoïque en mélange avec les acides gras saturés.

Le figure III.27 présente les spectres IR des monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydes insaturés en mélange avec les monoesters de glycérol et d'acides gras saturés. Ces deux spectres permettent de visualiser et d'identifier les changements opérés sur les fréquences des grands caractéristiques des groupes fonctionnels éthyléniques, carboxyliques des acides gras utilisés comme substrats de la réaction ou des réactions de condensation avec du glycidol. L'analyse des spectres IR se fait au niveau de trois zones. Les premières sont situées entre 3600-3300 cm^{-1} pour les fréquences des fonctions hydroxyles et hydroperoxyde ; la seconde zone entre 940-700 cm^{-1} dans laquelle apparaissent les fréquences des fonctions éthyléniques. Dans le spectre IR des produits de la ou des réactions de condensation, une bande centrée à 3324 cm^{-1} est attribuable à la fréquence σ (OH) ou σ (O-O-H) respectivement des hydroxydes des groupes glycéryl des fonctions carboxylique-esters et des hydroperoxydes allyliques. Cette fréquence est large à l'opposé de la fréquence σ (OH) à 3428 cm^{-1} des hydroperoxydes insaturés des acides gras (figures III.26). L'enseignement à retenir est la mobilité de la fréquence σ (O-O-H) des substrats hydroperoxy acides allyliques dans les monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydes insaturés. Les fréquences σ (COOglycéryl) à 1738 cm^{-1} et 1730 cm^{-1} sont attribuées à la présence de la fonctions carbonyles des carboxyesters issus de la condensation des groupes carboxyliques des acides gras insaturés et saturés avec le glycidol.

La fréquence σ (CH=CH) identifiées à 963 cm^{-1} et 939 cm^{-1} et $731\text{-}723\text{ cm}^{-1}$ dans les substrats hydroperoxy allyliques *trans* (z). Il semble que les protons éthyléniques présents sous la conformation *trans* (E) dans les substrats hydroperoxy allyliques acquièrent la configuration *cis* (z) dans les monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxy allyliques *trans* (E), hydroperoxy allylique *trans* (E) et des monoesters de glycérol.

Ces dernières mettent en évidence l'existence des protons éthyléniques σ (CH=CH) des composés monoinsaturés de configurations *cis* (Z) (figure III.26-1, figure III.26-2, figure III.27-1, figure III.27-2, figure III.23-3).

A notre connaissance la condensation du glycidol avec les acides gras monoinsaturés (acides oléique, érucique, ricinoléique) en présence de résine échangeuse d'anion est une réaction catalytique qui a toujours favorisé la formation des monoglycérides purs, avec conservation de la configuration des insaturations dans le monoesters de glycérol et d'acides gras insaturés [33]. L'isomérisation *trans* (E) vers *cis* (z) observée au cours de ces réactions de condensation menés en bull d'acides gras hydroperoxydes allyliques ne s'insère pas dans le mécanisme prévisionnel de la condensation. Ce comportement électronique est une question scientifique fondamentale à laquelle nous tentons de répondre par des hypothèses. La première hypothèse serait de considérer que la résine échangeuse d'anion sous forme OH⁻ est le catalyseur de la réaction d'isomérisation *trans* (E) – *cis* (z). la matière première peut être soit les substrats acides hydroperoxydes allyliques *trans* (E) ou les monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxyde allylique *trans* (E). Le catalyseur par son site ammonium quaternaire et sa fonction hydroxyle OH fixerait les ligands organiques. Les ligands organiques majeurs sont les substrats des produits hydroperoxy allyliques. Leurs structures portent des acides gras et des hydroperoxydes allyliques ou des monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxydes allyliques. D'après les résultats RMN¹H et IR, l'influence de ces groupes hydroperoxy et carboxylique ou hydroperoxy et carboxyesters glycéryl est manifeste. Elle est traduite par la miscibilité des carbones éthyléniques et leur vibration ou élongation. Par le biais de la complexation de ces fonctions hydroperoxy et carboxylique et/ou hydroperoxy et carboxyester glycérydique, l'isomérisation des doubles liaisons allyliques s'opère. Nous observons par des études e cours sur la caractérisation des acides gras hydroxy allylique, *trans* la possibilité pour ces substrats d'être doués de deux stéréocentres (R) et (S). Etant donné que le glycidol est le second ligand et que celui ci est capable de participer à la réaction de condensation par l'unité glycidique non racémique. In situ, cette unité est activée par complexation avec le cation ammonium. Ce dernier acquiert la force catalytique pour provoquer l'isomérisation des carbones des groupes allyliques activés par les fonctions hydroperoxydes et carboxyliques et ou carboxyesters glycéridique.

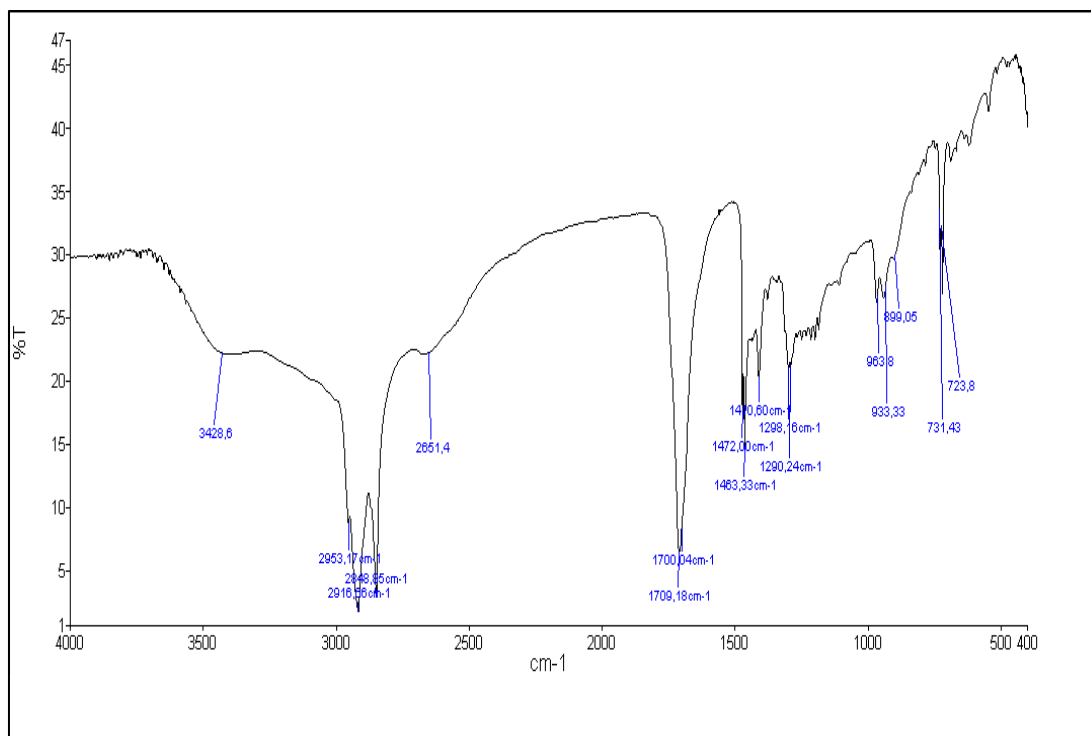


Figure III.26 : Spectres IR de l'acide 10-hydroperoxy-(E) octadécénoïque et 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque.

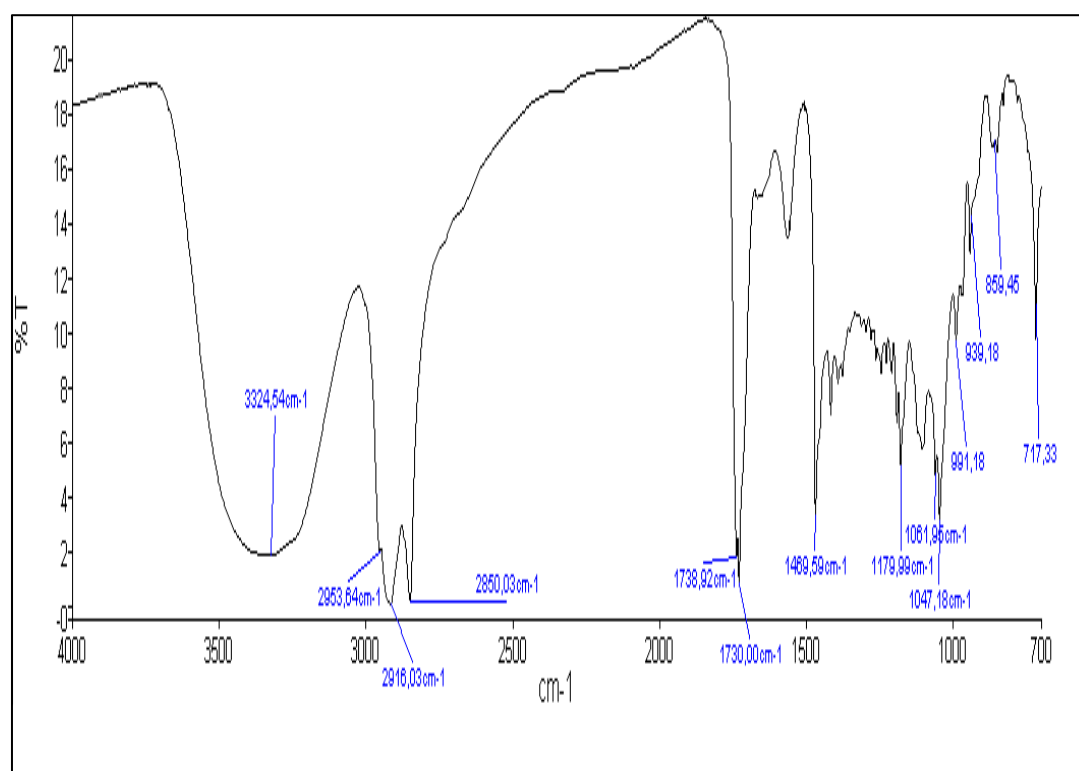


Figure III.27 : Spectre IR des mono 10-hydroxyperoxy-9 (Z)-octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11 Z)-eicosénoate de glycérol

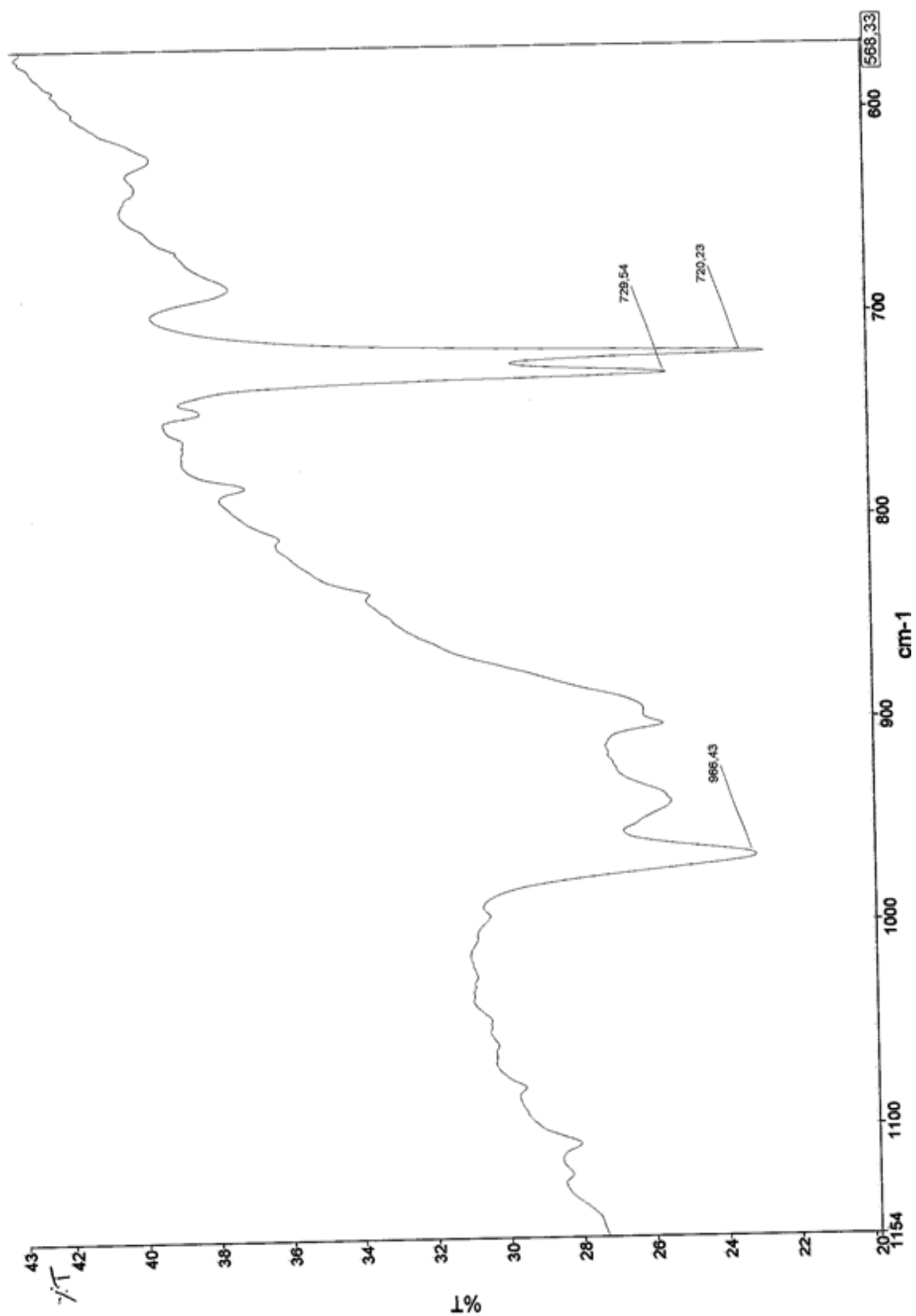


Figure III.26-1 : Spectres IR de l'acide 10-hydroperoxy-(E) octadécénoïque et 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque.

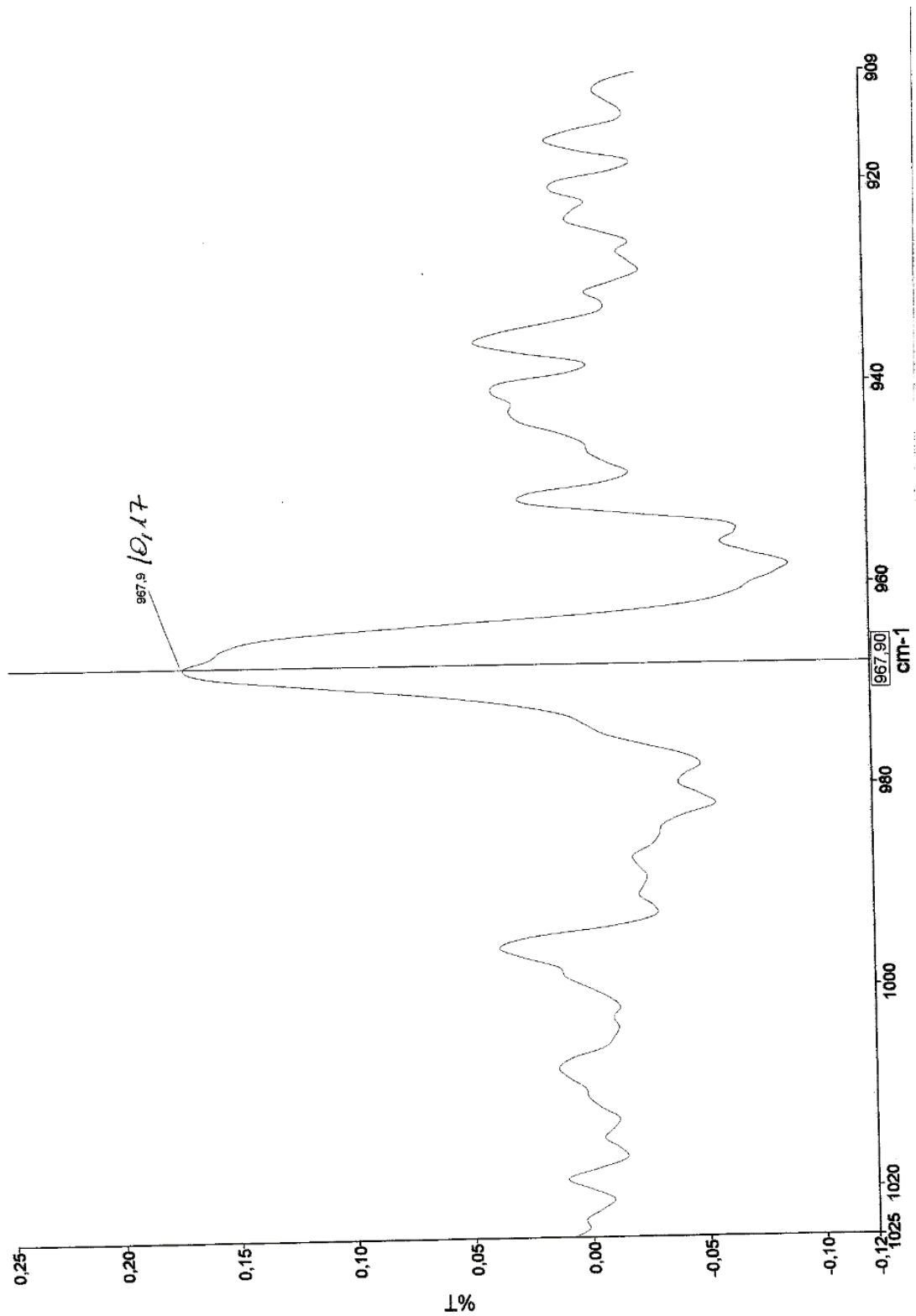


Figure III.26-2 : Spectres IR de l'acide 10-hydroperoxy-(E) octadécénoïque et 11-hydroperoxy-12(E)-eicosénoïque.

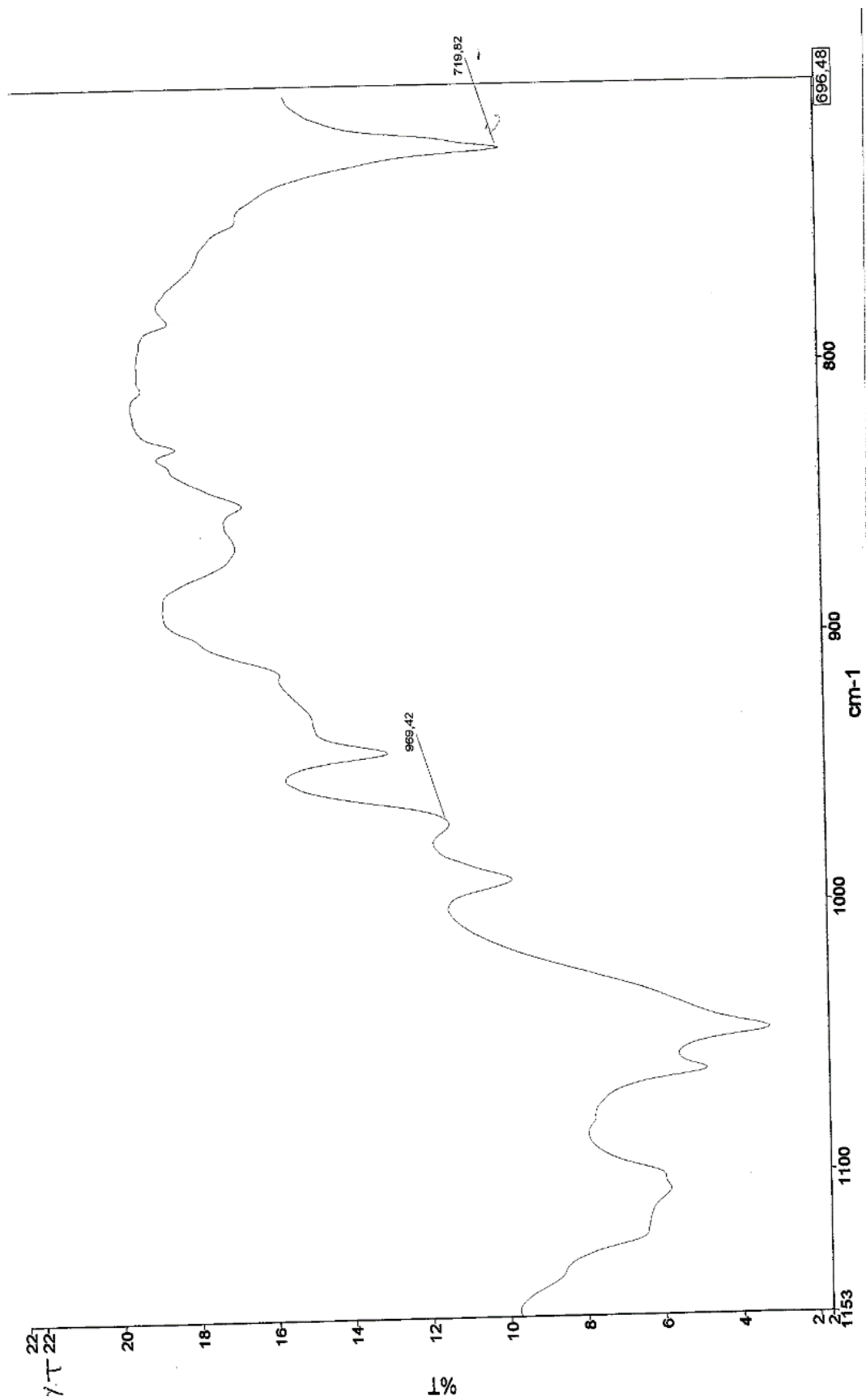


Figure III.27-1 : Spectre IR des mono 10-hydroxyperoxy- 9 (Z)-octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11 Z)- eicosénoate de glycérol

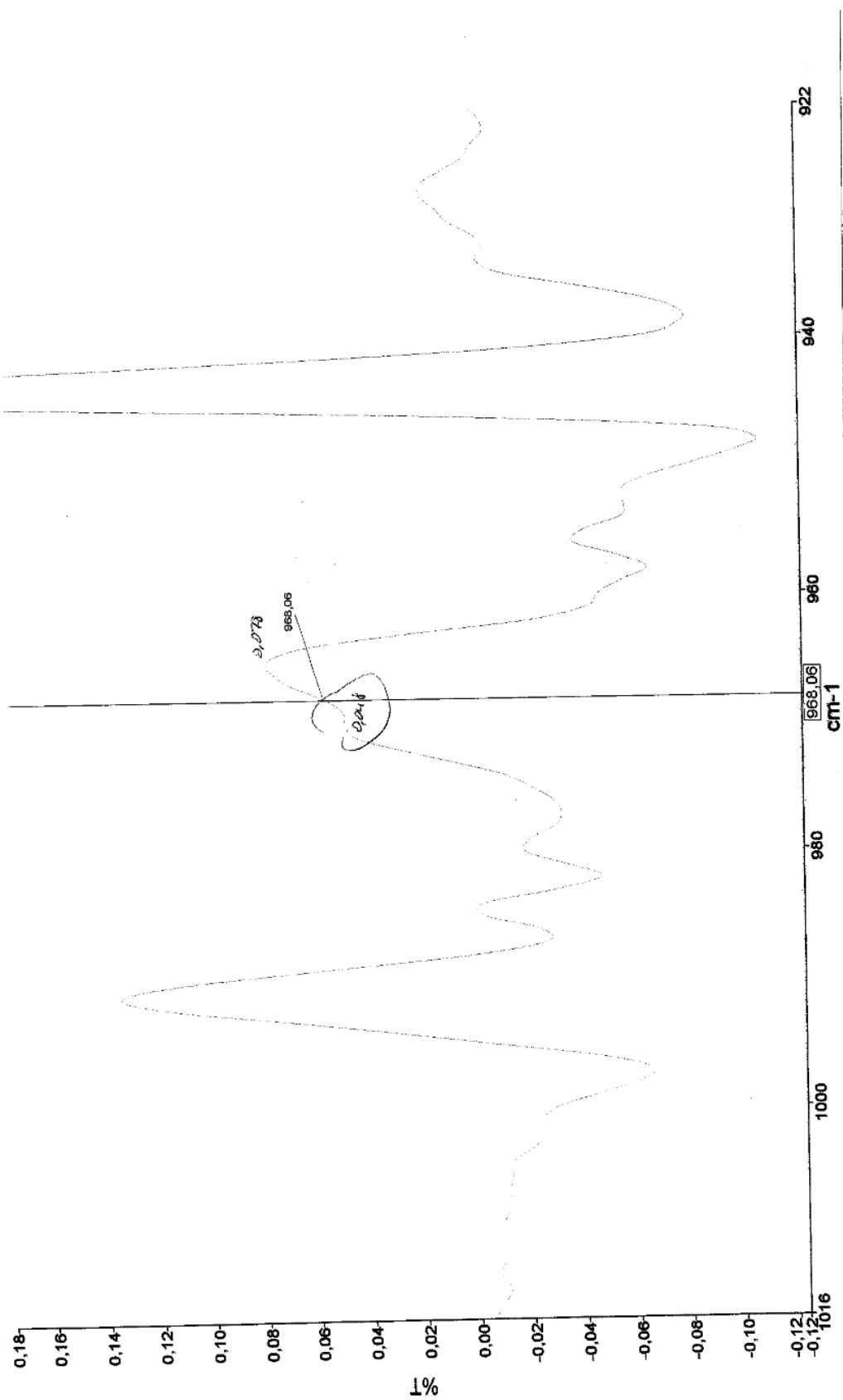


Figure III.27-2 : Spectre IR des mono 10-hydroperoxy- 9 (Z)-octadécénoate de glycérol et de mono 12-hydroperoxy-11 Z)- eicosénoate de glycérol

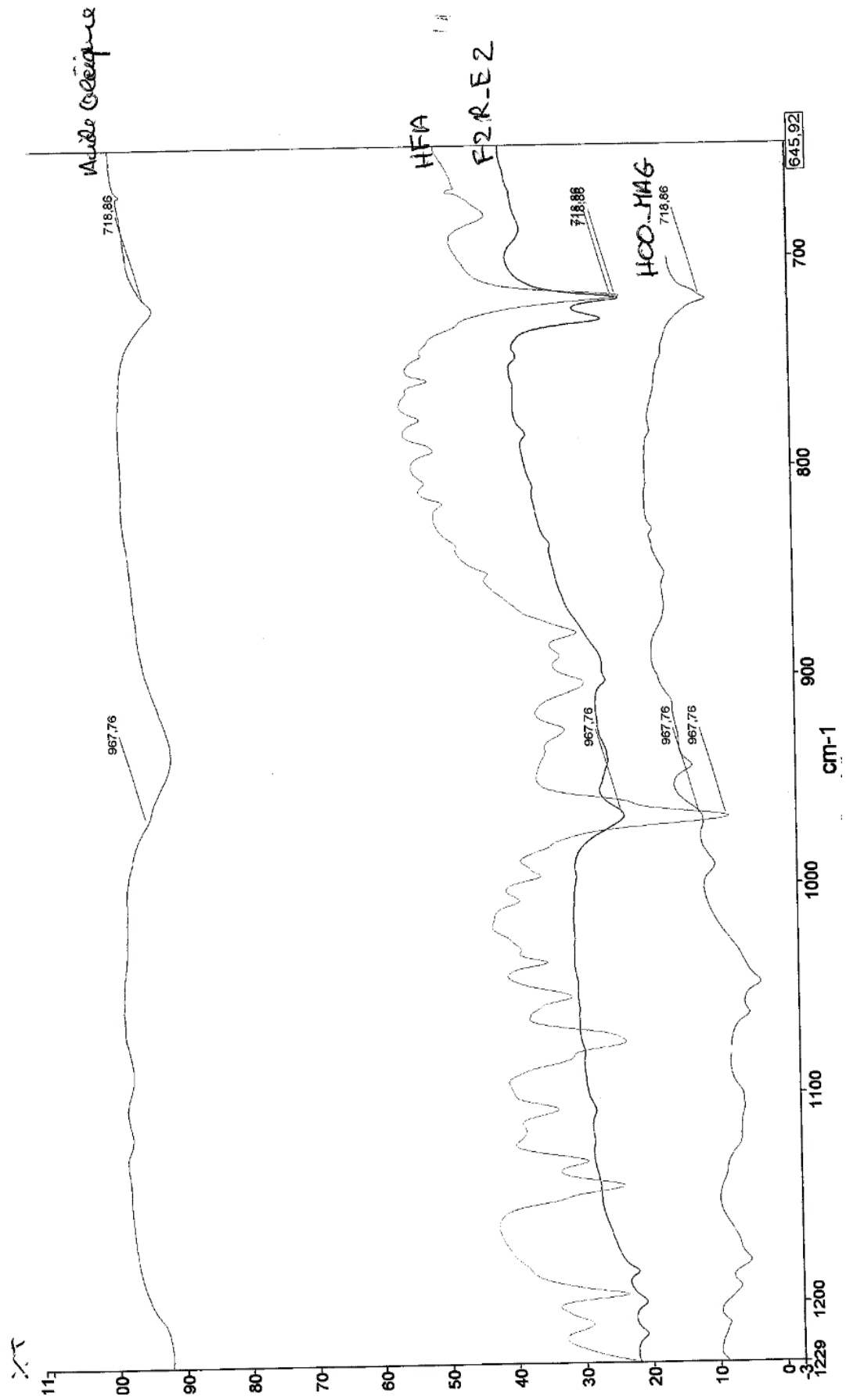


Figure III.27-3 : Spectre de comparaison IR

VI- Références bibliographiques

1. **Valentin R, Ngakegni-Limbili AC, Mouloungui Z & Ouamba JM.**, Thermal properties of monoglycerides from *Néphélium Lappaceum* L. oil, as a natural source of saturated and monounsaturated fatty acids. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2013, **52**: 14089-14098.
2. **Augustin MA & Chua BC.**, Composition of Ramboutan seeds. *Pertanika*; 1998, **11**: 211-215.
3. **Solis-Fuentes JA, Camey-Ortiz G, Hernández-Medel MDR, Pérez-Mendoza F & Durán-de-Bazúa C.**, Composition, phase behavior and thermal stability of natural edible fat from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) seed, *Bioresource Technology*. 2010, **101**: 799–803.
4. **Winayanuwattikun P, Kaewpiboon C, Piriayakanon K, Tantong S, Thakernkarnkit W, Chulalaksananukul W, Yongvanich T.**, Potentiel plant oil feedstock for lipase-catalyzed biodiesel production in Thailand, *Biom. Bioene*. 2008, **32** (12): 1279-1286.
5. **Lourith N, Kanlayavattanakul N, Mongkonpaibool K, Butsaratrakool T, Chinmuang T.**, Rambutan seed as a new promising unconventional source of specialty fat for cosmetics, *Ind. Cr. & Prod*. 2016, **83** : 149-154.
6. **Manaf YNA, Marikkar JMN, Long K, et Ghazali HM**, Characteristics of *Nephelium lappaceum* (red-skin rambutan) seed and fat, *Journal of Oleo Science*. 2013, **62** (6): 335-343.
7. **Ibrahim CO, Nishio N & Nagai S.**, Fat hydrolysis and Esterification by lipase from *Humicola lanuginosa.*, *Agric. Biol. Chem*. 1987, **51**(8) : 2159-1987.
8. **Ciquel Regal FFN.**, Table de composition des corps gras ; Répertoire général des aliments ; Tec & doc Lavoisier : Paris. 1987, 168p.
9. **Bockish Michael**; In: Fats and Oils Handbook. Composition, Structure, Physical Data, and Chemical Réactions IG Fats and soûls, Their Derivatives, and Their Associates. *AOCS Press*. 1998, **Chap. 2** : 53-120.
10. **Salas Joaquin J, Bootello Miguel A & Garcés R.**, Food Uses of Sunflower Oils ; Chemistry, Production., *Processing, and Utilization*. 2015, 441-464.
11. **Brubach JB, Jannin V, Mahler B, Bourgaux C, Lessieur P, Roy P & Ollivon M.**, Structural and thermal characterization of glyceryl behenate by X-ray diffraction coupled to differential calorimetry and infrared spectroscopy ; *International of Pharmaceutics*. 2007, **336** : 248-256.
12. **Lecomte J.**, Les cires végétales : sources et applications ; *OCL*. 2009, **16** : 262-266.
13. **Wismak J.**, In: Jojoba Oil. The chemistry and technology of jojoba oil., *AOCS*. 1987, **Chap 1** : pp 1-71.
14. **Mouloungui Z, Alfoss C & Rossignol-Castera A.**, Utilisation des lipides non polaires dans les rouges à lèvres : état de l'art et perspectives ; *OCL*. 2006, **13**(5) : 326-328.
15. **Rousseau D & Marrangoni AG.**, Foods lipids : Chemical Interesterification of food lipids : Theory and Praticce. 2017, pp 340--380.
16. **Mouloungui Z & Nsa Moto H.**, Procédé d'oxydation d'un acide gras insaturé et système réactionnel pour la mise en œuvre d'un tel procédé FR 3 051790-A1. 2017, 1-79.
17. **Mercier B, Prost J & Prost M.**, Un environnement cellulaire bien oxygéné permet de lutter contre la glycation des protéines., *International Journal of Occupational Medecine and Environmental Health*. 2014, **24**(1) : 102-107.

18. **Poulenat G.**, Etudes des réactions de transfert et d'échange en réacteur batch agité et en réacteur hydrothermal chauffé par induction thermique, thèse Université de Toulouse. 2003, 357p.
19. **Holmière S. & Mouloungui Z.**, Etape3 : Acylation des oligomères de carbonate de glycérol : obtention d'esters faiblement à fortement acylés, Analyse et caractérisation ; Projet financé par OSEO-Anvar, Rapport intermédiaire ; 2008.
20. **Akhter SA, Skaer CA, Kypson AP, McDonald PH, Peppel KC, Glower DD, Lefkowitz RJ & Koch WJ.**, Restoration of beta-adrenergic signaling in failing cardiac ventricular myocytes via adenoviral-mediated gene transfer., *National Academy of Sciences*. 1997, **94** : 12100-12105.
21. **Nardello V, Marko J, Vermeersch G & Aubry JM.**, 95MoNMR and Kinetic Studies of Peroxomolybdic Intermediates Involved in the Catalytic Disproportionation of Hydrogen Peroxide by Molybdate Ions., *Inorganic Chemistry*. 1995, **34** : 4950-4957.
22. **Nardello V, Boutemy S & Aubry JM.**, Olefin oxidation by the system H₂O₂/MoO₄²⁻: competition between epoxidation and peroxidation., *Journal of Molecular Catalysis A : Chemical*. 1997, **117** : 439 – 447.
23. **Aubry JM & Cazin B.**, Chemical sources of singlet oxygen. 2. Quantitative generation of singlet oxygen from hydrogen peroxide disproportionation catalyzed by molybdate ions., *Inorganic Chemistry*. 1988, **27** : 2013-2014.
24. **Rogers MA, Wright AJ, Marangoni AG.**, Crystalline stability of self-assembled fibrillar networks of 12-hydroxy stearic acid in edible oils., *Food. Res. Int.* 2008, **41** : 1026-1034.
25. **Valoppi F, Calligaris S, & Marangoni AG.**, Structure and physical properties of oleogels containing peanut oil and saturated fatty alcohols ; *Eur J. Lipid Sci Technol*. 2017, **119** : 1-11.
26. **Balas L, Bertrand-Michel J, Viars F, Faugere F, Lefort C, Caspar – Bauguil S, Languin D, & Durand T.**, Regiocontrolled syntheses of FAHFAs and LC-MS/MS differentiation of regioisomeres. *Organic & Biomolecular Chemistry*. 2016, **14** : 9012-9020.
27. **Yore M, Syed I, Pedro M, Vieira M, Zhang T, Herman Mark A, Homan A, Edwin, Patel Rajesh T, Lee J, Chen S, Peroni Odille D, Dhaneshwar Abha S, Hammarsted A, Smith U, McGraw Timothy E, Saghatelian A & Kahn Barbara B.**, Discovery of class of Endogenous Mammalian Lipids with Antidiabetic and Anti-inflammatory effects., *Cell*. 2014, **159** : 318-332.
28. **Imai T, Nakamura K & Shibata M.**, Relationship between the hardness of an oil-wax gel and the surface of the wax crystals ; A : Physicochemical and Engineering Aspects. 2001, **194** : 233-237.
29. **Garti N & Sato K.** Crystallisation-Process in Fats and Lipids Systems Marcel Dekker New York. 2001, 552p.
30. **Krogs N.**, Foods Emulsifiers. In: Lipids Technologies and Applications; Gunstone FD, Padley FB., Marcel Dekker New-york Bazal-Hong Kon, **Chap 20** : 521-534.
31. **Knothe G, Bagby MO, Weisleder D & Peterson RE.**, Allylic Hydroxy Fatty Compounds with Δ 5-, Δ 7-, Δ 8-, and Δ 10- Unsaturation., *Journal American Oil Chemical Society*. 1995, **72** (6): 703-706.
32. **Knothe G, Bagby MO, Weisleder D & Peterson RE.**, Hydroxy Fatty acids Trough Hydroxylation of Oleic Acid with Selenium Dioxide/ tert-Butylhydroperoxide., *Journal American Oil Chemical Society*. 1993, **70** (4): 401-404.

33. **Mouloungui Z, Rakotondrazafy V, Valentin R, & Zebib B.**, Synthesis of Glycerol 1-Monooleate by condensation of Oleic Acid with Glycidol catalyzed by Anion-Exchange Resin in Aqueous Organic Polymorphic System,; *Industrial Engenering Chemistry Research*. 2009, **48** : 6949-6956.

CONCLUSION GENERALE

Les travaux de recherche menés dans le cadre de ce projet ont alterné les études de mises en œuvre :

- des méthodes d'extraction de l'huile de ramboutan et des techniques d'analyse des constituants majeurs de l'huile de *ramboutan* pour l'identification des acides gras saturés C16:0, C18:0, C20:0 et acides gras monoinsaturés C18:1, C20:1,
- de procédé d'hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan pour l'obtention des concentrats d'acides gras,
- de procédé de séparation de concentrats d'acides gras par des technologies de cristallisation extractive à froid sous forme des fractions solide enrichies en acides gras saturés « haut arachidique, C20:0 » et des fractions fluide enrichies en acides gras monoinsaturés « haut eicosénoïque, C20:1 » ; appliquée à l'huile de *ramboutan* brute, la cristallisation extractive est efficace pour produire des huiles fractionnables en fractions solide enrichies en triglycérides d'acides gras saturés et en fraction fluide enrichies en triglycérides d'acides gras (mono)insaturés,
- de techniques de caractérisation physique et chimique des acides gras saturés et acides gras monoinsaturés contenant ces fractions solide et fractions fluide pour déterminer par DSC leur comportement physique notamment leurs points de fusion, température de cristallisation et leur assemblage exprimé en terme de la teneur en graisses solides (SFC),
- de procédé d'oxydation allylique des constituants acides gras monoinsaturés en acides gras hydroperoxy insaturés *trans* (E) dans le bulk des substrats acides gras pour oxygéner les concentrats d'acides gras,
- de procédé de condensation du glycidol avec les concentrats d'acides gras hydroperoxy insaturés *trans* (E) dans le bulk permettant l'obtention des monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxy insaturés *cis* (Z) en mélange avec les monoesters d'acides gras saturés. Les monoesters de glycérol hydroperoxy insaturés *cis* (Z) contribuent à la superoxygénation des monoglycérides purs biotensioactifs,
- d'analyse et de caractérisation de ces composés oxygénés par spectroscopies RMN¹H et Infrarouge. Ces deux moyens analytiques ont démontré leur pertinence dans la mise en évidence des mouvements électroniques autour de la double liaison allylique. Ils ont permis de mettre en évidence la mobilité des carbones de la double liaison allyliques *cis* original des substrats acides gras monoinsaturés vers la double liaison *trans* dans les produits « acides gras hydroperoxy insaturés *trans* (E). Nous avons ainsi pu révéler l'isomérisation *trans-cis* engendrée au cours du procédé de condensation conduisant aux monoesters de glycérol et d'acides gras hydroxyperoxy insaturés *cis* (Z).

L'objectif d'aboutir aux biomolécules oxygénées, voire superoxygénées, est atteint à travers les technologies séparatives physiques par cristallisation extractive à froid et par des technologies de transformations raisonnées par oxydation catalytique des concentrats d'acides gras. Cette oxydation catalytique est suivie de la condensation catalytique et régiosélective, respectivement en acides gras hydroxyperoxy insaturés *trans* (E) puis en monoesters de glycérol et d'acides gras hydroperoxy insaturés *cis* (Z) en masse avec des acides gras saturés. Cette dernière réaction d'isomérisation permet de qualifier ces biomolécules superoxygénées dans des formulations industrielles et alimentaires en tant que nouveaux biotensioactifs. Nous avons démontré que les acides gras saturés en mélanges avec des acides gras monoinsaturés dans les concentrats d'acides gras sont en mesure de délivrer des systèmes fusibles et/ou fluides sans passer par la technologie d'hydrogénation. Ces acides gras insaturés en C18:1 et C20:1 en balance avec les acides gras saturés C16:0, C18:0, C20:0 ont démontré leur capacité à fabriquer des shortening à points de fusion et température de cristallisation modulables selon la fonctionnalisation introduite sur la chaîne aliphatique des acides gras insaturés et sur le groupe fonctionnel carboxylique en groupe carboxyester glycérolique.

En perspectives, nous envisageons poursuivre cette étude en deux temps. Le premier temps concerne la biodisponibilité des acides gras des graines ainsi que la l'étude comparative de la coque du fruit de *ramboutan*. La culture de l'espèce doit être soutenue et améliorée. Nous suggérons le développement du fruits enrichis en acides gras saturés, notamment en C20:0 majoritaire, qui est doué des propriétés physiques déterminant dans l'organisation et les assemblages des shortening. Fort de notre technologie de cristallisation extractive à froid, applicable à l'huile brute, il sera possible de fournir des shortenings sans hydrogénation et sans transformations chimiques. Évidemment, les shortenings issus des transformations chimiques successives et raisonnées se trouveront améliorés. Le deuxième temps consiste à isoler les biomolécules oxygénées et superoxygénées. Ces acides gras hydroperoxy *trans* (E) insaturés et les monoesters de glycérol hydroperoxy *cis* (Z) sont nouveaux. Ils peuvent délivrer des propriétés de polymorphisme afin de mieux les façonner dans des applications alimentaires et industrielles. Leur toxicité et écotoxicité doivent être étudiées. Enfin, nous devons comparer les propriétés inflammatoire, antidiabétique, cardiovasculaire de ces nouveaux produits du deuxième temps à celles des acides gras hydroxylés décrits dans la littérature ; à savoir les FAHFAs. Ces FAHFAs portent la même signature que les composés à quatre atomes d'oxygène produits dans le cadre de cette étude. Ce sont des acides solides issus de la combinaison de l'acide palmitique avec l'acide hydroxystéarique. Il en résulte plusieurs isomères dont l'action biologique, anti-inflammatoire par exemple, dépend de l'isomère 9-PAHSAs. Un autre domaine de recherche ouvert par ces biomolécules est celui de l'élaboration des gels, hydrogels et oléogels.

Dans les industries alimentaire et pharmaceutique, les acides gras ou les monoesters de glycérol sont appropriés pour développer des organisations structurales susceptibles pouvant contribuer à la protection des matières actives

fragiles. C'est le cas lors du transport des huiles végétales polyinsaturés et l'enrobage des matières actives à vectoriser pour une libération contrôlée sur des organes hôtes.

ANNEXES

Article original 1.1.

En cours de soumission

FRACTIONABILITY OF SATURATED AND UNSATURATED FATTY ACID CONCENTRATES OF RAMBUTAN OIL WITH A FREEZE-THAW COLD CRYSTALLIZATION PROCEDURE

Gré Véronique Douniama-Lönn ^{a,b,c}; Adolphe Christian Ngakegni-Limbili ^b; Romain Valentin ^{a,c}; Hermine Nsamoto ^{a,c}, Muriel Cerny ^{a,c}, Zéphirin Mouloungui ^{a,c,*}, Jean-Maurille Ouamba ^b.

- a. *Laboratoire de Chimie agroindustrielle, LCA, INP- ENSIACET, 310130 Université de Toulouse, INRA, Toulouse, France*
- b. *Unité de Chimie du Végétal et de la vie (UC2V), BP 69 Faculté des Sciences et Techniques – Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo.*

Corresponding: Zéphirin MOULOUNGUI :

Adress: 4 allée Émile Monso, BP : 44362 - 31432 Toulouse, Cedex 4

E-mail: zephirin.mouloungui@ensiacet.fr

Phone number: [+33\(0\)5 34 32 35 20](tel:+330534323520); Fax : [+33\(0\)5 34 32 35 98](tel:+330534323598)

Abstract

Extractive cold crystallization is a physical process that leads to the reasoned fractionation of families of fatty acids. The behavior and physical properties of oil depend on its composition. Rambutan oil (36%) is composed of long-chain fatty acids, in particular C20:0 (Mp=75.4 °C) and C22:0 (Mp=79.9 °C). Two co-extractions were discovered, one of the monounsaturated fatty acids by saturated fatty acids in the gelling phase and the other of the saturated fatty acids by monounsaturated fatty acids in the de-icing phase. Applied to crude rambutan oil, the process is successfully extrapolated. The results to be claimed are the obtaining of fluid and solid fractions for which the responses given by the chromatographic analyzes show a swing of the ratios. The grades go from 55.6 % to 63.53 % (monounsaturated fatty acids) and from 39.1 % to 45.13 % (saturated fatty acids). The exploitation of the concentrates is carried out by the study of the physical properties (DSC, TAG, SFC). A thermal study of the different fractions showed that saturated fatty acids cool faster, but melt less quickly than monounsaturated fatty acids. Fractions of high melting and crystallization points are obtained without resorting to hydrogenation.

Keywords: *Nephelium lappaceum, fatty acids, enrichment, freeze-thaw technology, thermal studies.*

Article original 1.2.

En cours de soumission

CATALYTIC HYDROPEROXIDATION INCREASING THE DENSITY OF OXYGENATED GROUPS ON MONOUNSATURATED FATTY ACIDS IN AN ORGANIZED MEDIUM IN THE PRESENCE OF $\text{Na}_2\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2$

Gré Véronique Douniama-Lönn ^{a,b,c}; Adolphe Christian Ngakegni-Limbili ^b; Romain Valentin ^{a,c}; Hermine Nsamoto ^{a,c}, Muriel Cerny ^{a,c}, Zéphirin Mouloungui ^{a,c,*}, Jean-Maurille Ouamba ^b.

- a. *Laboratoire de Chimie agroindustrielle, LCA, INP- ENSIACET, 310130 Université de Toulouse, INRA, Toulouse, France*
- b. *Unité de Chimie du Végétal et de la vie (UC2V), BP 69 Faculté des Sciences et Techniques – Université Marien Nguoubi, Brazzaville, Congo.*

Corresponding: Zéphirin MOULOUNGUI :

Adress: 4 allée Émile Monso, BP : 44362 - 31432 Toulouse, Cedex 4

E-mail: zephirin.mouloungui@ensiacet.fr

Phone number: [+33\(0\)5 34 32 35 20](tel:+330534323520); Fax : [+33\(0\)5 34 32 35 98](tel:+330534323598)

Abstract

This study focused on the allylic oxidation in medium catalysis of monounsaturated fatty acids (MUFA) from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) oil. Rambutan produces seeds rich in oil and protein, with an oil content of 36%. A two-step oxygenation method was implemented:

Step 1: Neutralization of the saturated and unsaturated fatty acid concentrates from rambutan oil with 0.05 N NaOH in water/ethanol (1:1 ratio by weight or by volume) and structuring of the organized medium with lipophilic carboxylate salts.

Step 2: Allyl oxidation catalyzed by the $\text{Na}_2\text{MoO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaOH}$ complex in the organized medium.

The organized medium was then acidified and the final organic compounds were recovered. ¹H-NMR demonstrated migration of the *cis* double bond of the monounsaturated fatty acids and their isomerization to generate hydroperoxidized derivatives in the *trans* configuration (E). Infrared spectroscopy and thermal studies (DSC and SFC) confirmed these attributes. We observed a chemical displacement from 5.5 ppm (*cis*) to 5.60 ppm, and 5.34 - 5.48 ppm (*trans*), and characteristic $\mu(\text{C}=\text{C})$ bands from 716.72 cm^{-1} (*cis*) to 963.8 cm^{-1} – 933.33 cm^{-1} (*trans*), and the appearance of a $\mu(\text{O}-\text{H})$ band at about 3428.6 cm^{-1} . The reaction product appears to be an oleogel with crystalline forms displaying properties of interest for the chemical industry.

Keywords: *Nephelium lappaceum*, monounsaturated and saturated fatty acids, hydroperoxidized fatty acids, allyl oxidation.

Article original 1.3.

En cours de soumission

CONDENSATION DES HYDROPEROXYDE DE RAMBOUTAN: SOURCE DE CHANGEMENT DE CONFORMATION TRANS EN CIS

G.V. Douniama-Lönn^{a,b}, H. Nsamoto^a, C. Ngakegni^b, R. Valentin^a, M. Cerny^a, Z. Mouloungui^a, J.M. Ouamba^b.

a. Laboratoire de Chimie Agro-industrielle, LCA, Université de Toulouse, INRA, Toulouse, France.

b. Unité de Chimie du Végétal et de la vie (UC2V), BP 69 Faculté des Sciences et Techniques – Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo

Résumé

Les acides gras oxygénés portant des fonctions oxygènes sont reconnus comme étant de bons candidats pour l'industrie chimique, cosmétique, pharmaceutique à l'image de l'acide ricinoléique. De même MAG étant déjà très utilisés dans l'industrie chimique, alimentaire, cosmétique sont des composés polymorphe, stable, etc. Cet article présentera les moyens de densification en oxygène, partant des acides gras libres de ramboutan aux acides gras hydroperoxydés puis aux monoglycérides d'acides gras hydro peroxydés (MAG-OOH). Les acides gras libres issus de l'huile de ramboutan (*Nephelium lappaceum* L.) par hydrolyse enzymatique ont été oxydés par voie catalytique (système H₂O₂/ MoO₄²⁻); Les hydroperoxydes d'acides gras a ensuite été estérifié par condensation au glycidol au moyen d'une catalyse hétérogène (Amberlyst A26 OH⁻). Cette huile est au préalable composée d'un mélange d'acide gras suivant les teneurs ci-après : C16 :0 à 4,84 %, C18 :0 à 5,48 %, C18 :1 à 42,62 %, C20 :0 à 26,53 %, C20 :1 à 9,27 % et C22 :0 à 2 ?64 %.

Trois analyses qualitatives ont été effectués afin d'identifier les produits issus de la réaction de condensation : IR, RMN et DRX.

Mots clés : *Nephelium Lappaceum, Acides gras, condensation au glycidol, hydroperoxydes d'acides gras, monoglycérides d'acides gras hydroperoxydés.*

Proceeding 2.1 :

*GPE –6th International Congress on Green Process Engineering
3-6 June 2018 – Toulouse (France)*

METHODS OF ENRICHING RAMBUTAN FREE FATTY ACIDS INTO SATURATED AND MONOINSATURATED FATTY ACID CONCENTRATES

Gré Véronique Douniama-Lönn^{a,b}, Adolphe Christian Ngakegni-Limbili^b, Hermine Nsa moto^a, Zéphirin Mouloungui^a, Jean-Maurille Ouamba^b.

- a) Laboratoire de Chimie agroindustrielle, LCA, INP-ENSIACET,
310130 Université de Toulouse, INRA,
Toulouse, France
E-mail : zephirin.mouloungui@ensiacet.fr
- b) Unité de Chimie du Végétal et de la vie (UC2V),
Faculté des Sciences et Techniques – Université Marien Nguabi,
BP 69, Brazzaville, Congo.

Abstract.

Modern oleochemistry organizes oleaginous corps into two types or oils qualities, multipurpose oils and technicals oils. It spreads the oil suppliers in oleochemical platforms according to the chemical function and the percentage of this function in the fatty acids constituting these vegetable oils. As a result, vegetable oils acquire the status of conventional oils or specialty oils. *Nephelium Lappaceum* "Rambutan" is a tropical species native to Indonesia and Malaysia but also bioavailable in the Republic of Congo. This plantoil gives oilseeds with the oil-rich kernel (36%). The oil of *N. Lappaceum* is composed by saturated and monosaturated fatty acids with the proportions expressed into percentage such as palmitic acid C16 :0 (4.84 %), stearic acid C18 :0 (5.48 %), oleic acid C18:1 (45.62 %), linoleic acid C18 :2 (2.70 %), arachidic acid C20:0 (26.53%), eicosenoic acid C20:1 (9.27%) and behenic acid C22 :0 (2.67%). In this study, rambutan fruits were harvested in Republic of Congo. The fruit almonds are extracted by soxhlet with cyclohexane to obtain oil. Then, oil is hydrolysed enzymatically. In the first step of our study, a free fatty acid concentrate was enriched in monounsaturated fatty acids by a mechano-physical process that we called freezing/centrifugation technology. The results of GC analysis of the fatty acid concentrates obtained show the enrichment in fatty acids with an increase in the C18:1 content (47.54% to 58.72%) and in the C20 :1 (8.06% to 9.45%) and a lowering of the arachidic acid content (26.21% to 15.66 %). In the second step, the study of the allylic insertion of singlet oxygen into the monounsaturated free fatty acids is carried out in an emulsified medium consisting of a multiphase NaOH/ H₂O₂/ Na₂MoO₄ system. The post-treatment sequence and GC analysis showed an increase in saturated fatty acids visualized by C18:0 (5.69% to 10.94%) and C20:0 (26.21% to 56,46%). Using this regioselective modification technology for monounsaturated fatty acids, we obtain both saturated fatty acids in high content (82%) and hydroxy monounsaturated fatty acids with double bond of trans configuration. Thus, the fatty acid concentrates enriched in saturated fatty acids and hydroxy

fatty acids was obtained with a conversion regioselective of monounsaturated fatty acids. These new enrichment processes contribute to the integrated valorization of Rambutan kernel oil, proposing integrated biomolecules production platform for the chemical industry and the formulations of specialty products owing to the presence of saturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, hydroxy fatty monounsaturated and the fatty acid concentrates with high content of these fatty acids thanks to these oleochemical media engineering.

Keywords : *Nephelium Lappaceum* L., saturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, freezing/centrifugation, allylic oxidation, hydroxy fatty acids.

Introduction

Unsaturated fatty acids with long chains in particular, participate in the prevention of certain pathologies. One of their beneficial effects is that they reduce the risk of a cardiovascular even [1]. They have been recognized for the biological properties they possess in addition to the physical properties and are essentially represented in health, for their nutritional contribution. Some studies suggest that monounsaturated fatty acids may be associated with improved blood indicators of cardiovascular disease [2]. Modern industry organizes vegetable raw materials [3,4] and spreads the oil suppliers in oleochemical platforms according to the chemical function and the percentage of this function in the fatty acids constituting these vegetable oils. An enrichment of functionalized fatty acids in the natural pool of vegetable oil fatty acids can be conceived naturally, by simple varietal selection or by genetic engineering. This is the case of vegetable oil platforms rich in monounsaturated fatty acids, which have given it the status of technical oils. This concept could be expanded to saturated fatty acids. Their disadvantage is to produce trans fatty acids that are not compatible with human nutrition. Thus, these saturated oils will be able to penetrate the manufacture of margarines and butters without trans fatty acids [5]. *Nephelium Lappaceum* "Rambutan" is a tropical species native to Indonesia and Malaysia but also bioavailable in the Republic of Congo, this plant gives an oil-rich almond oil seed (36%). The oil of *N. Lappaceum* is essentially composed of saturated and monounsaturated fatty acids including palmitic acid C16:0 4.84%, stearic acid C18:0 5.48%, oleic acid C18:1 45.62%, linoleic acid C18:2 2.70%, arachidic acid C20:0 26.53%, eicosenoic acid C20:1 9.27% and behenic acid C22:0 2,64%. Rambutan oil consists of 55% monounsaturated fatty acids and 39% saturated fatty acids. It indicates both a high content of monounsaturated fatty acids and saturated fatty acids which gives it good chemical stability to oxidation. They can be used in applications with high thermal stress and high pressure (lubrication, metallurgy, fried foods, ...).

In this work, we are interested in studying the enrichment of oleic acid, eicosenoic acid and arachidic acid in fatty acid concentrates from rambutan oil. Two chemical approaches for the enrichment of fatty acid concentrates are presented. The first develops a mechano-physical process. It leads to cascading chemical modifications of free fatty acids into monounsaturated, monounsaturated fatty acid concentrates. The second approach explores the allylic function typology of monounsaturated fatty acids in the presence of singlet oxygen to release a saturated fatty acid-enriched fatty acid concentrate.

Methodology

In this study, rambutan fruits were harvested in Boko, southern zone of the Republic of Congo. The fruit almonds are subjected after grinding to a Soxhlet extraction with cyclohexane to obtain oil. The latter is then hydrolysed enzymatically [6,7]. In a batch reactor

of 1L, 62 g of rambutan oil and 250 ml of distilled water are introduced and heated to 37°C. Once the temperature is reached, 0.62 g of lipase powder (*Candida rugosa*) supplied by the company Lyven (Colombelles, France) is solubilized in 1L of distilled water. It is added in the middle. The reaction is carried out with stirring using ultraturax at 8000 rpm for 1h30. Samples are taken every 15 minutes for kinetic monitoring.

In the first step of our study, a free fatty acid concentrate was enriched in monounsaturated fatty acids from a process we called freeze/ thaw technology. This process consists in placing the reaction medium resulting from the enzymatic hydrolysis in a salt-ice bath at a temperature of -15 °C. The medium is thus progressively cooled at a rate of 4 °C./min for 30 minutes. It is maintained at this temperature for 2 hours. The gel of the reaction medium is then left at ambient temperature 25 °C. until thawing. After thawing, the medium is centrifuged at a speed of 10,000 g, rotor 12500; at a temperature of 40 °C, for 20 min, using a sigma centrifuge, type 6K16. A separate product is obtained in three phases after centrifugation. In the second step, allyl insertion of singlet oxygen on the monounsaturated fatty acids contained in the hydrolysis product is carried out in an emulsified medium consisting of a multiphase NaOH/ H₂O₂/ Na₂MoO₄ system [8,9]. In a 500 ml three-necked flask, 20 g (22.08 mmol) of free fatty acids (at 50 ml of NaOH, at 0.05N), 50 ml of ethanol (99%) and 1.18 g are charged (4.88 mmol) of sodium molybdate dihydrate (Na₂MoO₄, 2H₂O). The reactor is equipped with a refrigerant and a magnetic stirrer 750 rpm. The reaction medium is heated to 65 ° C. and a solution of H₂O₂ (50%, 50 ml or 146 mmol) is added dropwise using an electric syringe pump for 4 hours; simultaneously 3 g (0.07 mol) of sodium crystals are added over 4 hours in the medium.

The fatty acid composition of the various products obtained is analyzed and quantified by gas chromatography using a Varian 3900 chromatograph coupled to a flame ionization detector (FID) and equipped with a capillary column (CP for FAME fused silica WCOT, L 50 m, Ø 0.25 mm, particle size 0.25 m). The mobile phase is helium (Air Liquide, France) at a flow rate at the top of the capillary column of 1.2 ml per minute. The temperature of the oven is maintained at 100 °C for 5 minutes and then gradually increased to 180 °C at a rate of 5 °C. min⁻¹ for 10 min, and finally raised to 250 °C at a rate of 10 °C. min⁻¹ for 5 minutes. The total analysis time is 50 minutes. The detector and injector temperatures are set at 250 °C.

Results and discussions

The relative free fatty acid composition after hydrolysis has the following free fatty acid contents: C16:0 4.72%, C18:0 5.69%, C18:1 47.54%, C18:2 2.71% C20:0 26.21%, C20:1 8.06% and C22:0 2.48%. The hydrolysis product is rich in saturated long-chain fatty acids (C20:0 26.21%), with a constant content in long-chain monounsaturated fatty acids (C20:1 8.06%).

The products of the freeze and thaw technology have a divided phase divided into 3 oily, oily and aqueous layers. GC analysis of the oily phase obtained after centrifugation showed an enrichment in monounsaturated fatty acids. There was an increase in the levels of C18:1 and C20:1 fatty acids, which went from 48.57% to 58.72% for C18:1 and for C20:1 from 8.06% to 9.49%. % respectively ; then lowering the C20:0 content from 26.07% to 15.66%; with a ratio of saturated to monounsaturated fatty acids of 0.26 /0.70.

In the second stage, enrichment is also observed, but this time in saturated fatty acids. The results of the GC analysis show an increase in saturated fatty acids which can be cited mainly C18:0 (5.69 to 10.94%) and C20:0 (26.21 to 56.46%). As a result of this step, the ratio of saturated fatty acid to total fatty acids is 0.82/1 in favor of saturated fatty acids. Through this regioselective modification of monounsaturated fatty acid technology, we obtain both

saturated fatty acids in high content (82%) and unsaturated hydroxylated fatty acids of trans configuration. As a result, a fatty acid concentrate enriched in saturated fatty acids and hydroxylated fatty acids with an almost total consumption of monounsaturated fatty acids is obtained.

Conclusion

These new enrichment processes contribute to the integrated valorization of Rambutan oil, proposing candidate biomolecules for the chemical industry, and the formulation of specialty products (monounsaturated fatty acids), pharmaceutical convenience (hydroxy fatty acids) and without the use of hydrogenation techniques (saturated fatty acid concentrates). In perspective, the processes for obtaining fractions of fatty acid concentrates enriched in monounsaturated fatty acids on the one hand and in saturated fatty acids on the other hand can be prolonged until the physical fractionation of long-chain fatty acids, for to obtain separately C20:0 and C20:1, each of the biomolecules has important physical and biological properties due to their polymorphism [7].

References

- [1] Tengku-Rozaina T.M., Birch E.J., Enrichment of omega-3 fatty acids of refined Hoki Oil. *J. Am Oil Chem Soc*, 2013, 90, 1111-1119.
- [2] Leray C., *Les lipides nutrition et santé*. Edit. Lav., 2013.
- [3] Carlsson AS. Plant oils as feedstock alternatives to petroleum - A short survey of potential oil crop platforms . *Biochimie* 2009, 91, 665-670.
- [4] Beaudoin F. et al.; Oleaginous crops as integrated production platforms for food, feed, fuel and renewable industrial feedstock. *OCL* 2014, 21(6) D606
- [5] Ngakegni-Limbili A.C. Etudes de synergie des effets chimiques et biologiques des huiles essentielles et des lipides de réserves des fruits et graines saisonniers de la sous-région d'Afrique centrale. These Univ. de Toulouse. Univ. Marien Ngouabi, 2012, 1-223.
- [6] Mouloungui Z. ; Mechling E. Method for preparing fatty acids by hydrolyzing in situ lipids contained in a plant seeds 2005, WO2004022677(A1) EP1537194.
- [7] Valentin R. et al.; Thermal properties of monoglycerides from *Nephelium Lappaceum* L. Oil as a natural source of saturated and monounsaturated fatty acids. *Ind. Eng. Chem.Res.* 2013, 52, 14089-14098.
- [8] Mouloungui Z. ; Nsa Moto H. Procédé d'oxydation d'un acide gras insaturé et système réactionnel pour la mise en œuvre d'un tel procédé FR 3 051790-A1 (01/12/2017)
- [9] Mouloungui Z. ; Nsa Moto H. Procédé d'oxydation d'un acide insaturé et système réactionnel pour la mise en œuvre d'un tel procédé PCT/FR2017/051324(29/05/2017)

Communication 2.1.

News processes for enrichment into saturated and monounsaturated fatty acids concentrates from technologies and media engineering involving ramboutan kernel oil.

G.V. Douniama-Lönn^{a,b}, A.C. Ngakegni-Limbili^b, H. Nsamoto^a, Z. Mouloungui^a, J.M. Ouamba^b.

^a: Laboratoire de Chimie Agro-industrielle, LCA, Université de Toulouse, INRA, Toulouse, France.

^b: Unité de Chimie du Végétal et de la vie, UC2V, BP 69, Faculté des Sciences et Techniques – Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo.

Correspondant: zephirin.mouloungui@ensiacet.fr

Modern oleochemistry organizes oleaginous corps into two types or oils qualities, multipurpose oils and technicals oils. It spreads the oil suppliers in oleochemical platforms according to the chemical function and the percentage of this function in the fatty acids constituting these vegetable oils. As a result, vegetable oils acquire the status of conventional oils or specialty oils. *Nephelium Lappaceum* "Rambutan" is a tropical species native to Indonesia and Malaysia but also bioavailable in the Republic of Congo. This plantoil gives oilseeds with the oil-rich kernel (36%). The oil of *N. Lappaceum* is composed by saturated and monosaturated fatty acids with the proportions expressed into percentage such as palmitic acid C16 :0 (4.84 %), stearic acid C18 :0 (5.48 %), oleic acid C18:1 (45.62 %), linoleic acid C18 :2 (2.70 %), arachidic acid C20:0 (26.53%), eicosenoic acid C20:1 (9.27%) and behenic acid C22 :0 (2.67%).

In this study, rambutan fruits were harvested in Boko, southern zone of the Republic of Congo. The fruit almonds are extracted by soxhlet with cyclohexane to obtain oil. Then, oil is hydrolysed enzymatically. In the first step of our study, a free fatty acid concentrate was enriched in monounsaturated fatty acids with a ratio of saturated / monounsaturated fatty acids of 0.26/0.70 by a mechano-physical process that we called freezing/centrifugation technology. The results of GC analysis of the fatty acid concentrates obtained show the enrichment in fatty acids with an increase in the C18:1 content (47.54% to 58.72%) and in the C20 :1 (8.06% to 9.45%) and a lowering of the arachidic acid content (26.21% to 15.66 %). In the second step, the study of the allylic insertion of singlet oxygen into the monounsaturated free fatty acids is carried out in an emulsified medium consisting of a multiphase NaOH/ H₂O₂/ Na₂MoO₄ system. The post-treatment sequence and GC analysis showed an increase in saturated fatty acids visualized by C18:0 (5.69% to 10.94%) and C20:0 (26.21% to 56,46%). As a result of this reaction, the ratio of saturated fatty acid / total fatty acids is 0.82/1 with more than saturated fatty acids. Using this regioselective modification technology for monounsaturated fatty acids, we obtain both saturated fatty acids in high content (82%) and hydroxy monounsaturated fatty acids with double bond of trans

configuration. Thus, the fatty acid concentrates enriched in saturated fatty acids and hydroxy fatty acids was obtained with a conversion regioselective of monounsaturated fatty acids.

These new enrichment processes contribute to the integrated valorization of Rambutan kernel oil, proposing integrated biomolecules production platform for the chemical industry and the formulations of specialty products owing to the presence of saturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, hydroxy fatty monounsaturated and the fatty acid concentrates with high content of these fatty acids thanks to these oleochemical media engineering.

Keywords: *Nephelium Lappaceum L.*, saturated / monounsaturated fatty acids, freezing/centrifugation allylic oxidation, hydroxy fatty acids.

Proceeding et communication 2.2 :

GPE –6th International Congress on Green Process Engineering
3-6 June 2018 – Toulouse (France)



Société Française pour l'Etude des Lipides



Journée Adhérents SFEL
FIAP Paris (France), 6 Juin 2017
Email: journéesfel2017@gmail.com

Thème: Etats des lieux des innovations technico-économiques dans le domaine des lipides

OXYDATION DES ACIDES GRAS MONOINSATURÉS EN C18:1 ET C20:1 ET ENRICHISSEMENT EN ACIDES GRAS SATURÉS DE L'HUILE DE RAMBOUTAN.



G.V. Douniama-Lönn^{1,2,3}; Z. Mouloungui^{1,3}; J-M. Ouamba²

¹ Laboratoire de Chimie Agro-industrielle (LCA), Université de Toulouse, INRA, INPT, Toulouse, France

² Unité de Chimie du Végétal et de la vie (UC2V), BP 69 Faculté des Sciences et Techniques – Université Marien Nguabi, Brazzaville, Congo.

³ INRA, UMR 1010, 310130 Toulouse, France



INTRODUCTION

Néphélium Lappaceum (Ramboutan)



cultivée au sud du Congo: AGMI (55,34%) et AGS (38,8 %).

Pourquoi oxyder les acides gras monoinsaturés?

- Précurseurs dans la production de saveurs et fragrances de parfum
- Propriétés polymorphiques
- Réactivité, stabilité et viscosité plus élevées
- Possibilité d'application dans différentes branches de l'industrie, de la confiserie aux cosmétiques
- Activités antifongique, anti-inflammatoire et anticancéreuse
- Activité inhibitrice vers l' α -glucosidase

Composés terpéniques volatils oxydés:
amélioration de l'oxygénation cellulaire
(B. Mercier et al., 2011)

Problématique:

Densification de l'oxygène sur les acides gras libres de ramboutan cultivés du Congo

PARTIE EXPÉRIMENTALE

1. Extraction:

Méthode Soxhlet / Solvant: Cyclohexane (durée 6h à chaud).

Rendement: 36%

Composition en acides gras libres majoritaires avant hydrolyse:

C18:1 (42,67%); C20:1 (7,33%); C20:0 (29,89%)

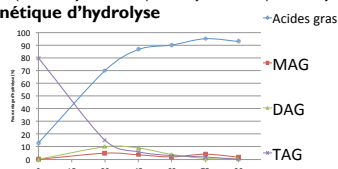
2. Hydrolyse:

Hydrolyse enzymatique en présence d'une lipase (candida rugosa), à 37°C pendant 1h30 sous agitation 8000rpm à l'ultraturax Sylverson

Composition en acides gras libres majoritaires après hydrolyse:

C18:1 (46,11%); C20:1 (9,23%); C20:0 (26,40%)

Cinétique d'hydrolyse



3. Enrichissement en acides gras insaturés

- Gélification du produit d'hydrolyse dans un bain salin à -10°C

- Dégel à température ambiante

- Centrifugation à 40°C (Rotor 12500, vitesse 10000g, pendant 20min)

Composition en acides gras enrichis en saturés/ insaturés

	AGI (%)	AGS (%)
C18:1	58,68	48,57
C20:1	9,45	8,07
C20:0	15,62	25,48



4. Oxydation (peroxydation) allylique

AGR (20 g) + Ethanol/ Eau 1:1 (50 mL) + Molybdate de sodium (1,18 g)

Peroxyde d'hydrogène à 50%
(50 mL / 4 heures)
+
Cristaux de soude (3g)

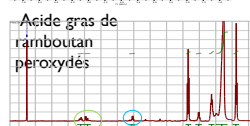
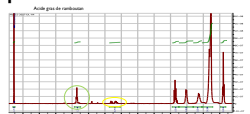
Produit de réaction
(Acides gras peroxydés)

GC, IR, RMN1H

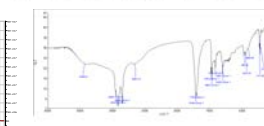
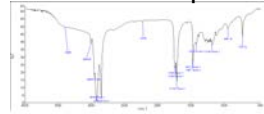
Composition en acides gras libres majoritaires après hydrolyse

	AG avant oxydation (%)	AG après oxydation (%)
C18:1	46,11	0,99
C20:1	9,23	0,99
C20:0	26,40	53,46

Spectre RMN



Spectre IR



Conclusion

La réaction d'oxydation a permis:

- ❖ de densifier les acides gras libres mono insaturés en oxygène par la formation des peroxydes;
- ❖ d'hydrolyser totalement les esters d'acides gras (MAG, DAG et TAG) encore présent après hydrolyse enzymatique;
- ❖ d'enrichir en acides gras saturés le produit de réaction.

Perspectives:

Etudier les propriétés physiques et biologiques du produit de réaction et son utilité en industrie pharmaceutique, alimentaire ou cosmétiques.

Références

Endrizzi et al. 1996; Waché et al. 2006; Shureiqi et al., 2003; Itoh et al., 2008; Moreno, 2008; Paul et al., 2010; Metzger et Bornscheur 2006; B. Mercier et al., 2011; S. Fuentes 2009; Ngakegni 2012; R. Valentin et al., 2013 S. Fuentes 2009; Ngakegni 2012; R. Valentin et al., 2013; Nattaya Lourith et al., 2016

Summary

In this study, the fruits of *Nephelium Lappaceum* L. (Rambutan) were harvested in Boko, in the southern area of the Republic of Congo. Oilseed plant with an oil-rich core (36 %), particularly composed of long chain fatty acids: C16:0 4.84 %, C18:0 5.48 %, C18:1 45.62 %, C18:2 2.70 %, C20:0 26.53 %, C20:1 9.27 % and C22:0 2.64 %. Rambutan oil was hydrolyzed enzymatically in the presence of lipase *Candida rugosa*, the free fatty acids are obtained with a ratio of saturated fatty acids (AGS)/monounsaturated (AGI) of 0.67. The availability of saturated and monounsaturated fatty acids of the C20 and C22 families stimulated our investigations towards the development of shortenings and biotensioactives with a high melting point. Two strategies have been implemented using free fatty acid concentrates derived from the enzymatic hydrolysis of rambutan oil in the presence of *Candida rugosa* lipase. The first was to achieve the cold crystallization of saturated fatty acids by gelation / defrosting technology. At the end of this process, a physical separation of the fatty acid mixture into two fractions is observed. A thermal study of the solid and fluid fractions was carried out and showed that the AGS ($T_o = 15, 86\text{ °C}$, $T_f = 18.49\text{ °C}$) cool faster, but melt slower than the AGI ($T_o = -19\text{ °C}$, $mp = 3.87\text{ °C}$). The contents go from 55.6% after hydrolysis to 63.53 % of AGI in the fluid fraction and 39.1 % after hydrolysis to 45.13 % of AGS. The results of the SFC indicate an AGS content of 25.98 % in the fluid fraction but of 38.24 % in the solid fraction ; And the mass yield of 16 % to 55 % and 84 % to 45 % respectively of the fluid fraction (enriched in AGI, in particular in MUFA) and the solid fraction (enriched with AGS). The second strategy was to perform the allyl insertion of singlet oxygen in long-chain monounsaturated free fatty acids C18:1 and C20:1, carried out in an emulsified medium consisting of a multiphase NaOH / H₂O₂/Na₂MoO₄ system. The reaction product, using GC, shows the presence of unconventional fatty acids, two isomers of respective fatty acid hydroperoxides of each trans-conforming MUFA (C18:1 and C20:1) and an increase in saturated fatty acids content with long chain C20:0 (26.21 % to 56.46 %) and C22:0 (2.48 % to 3.77 %). The product of this reaction has an AGS/AGT ratio of 0.82. The sequential evaluation of the fatty acids of the Ramboutan core oil makes it possible to propose two platforms of biomolecules shortenings with a high melting point: A platform with a well defined composition of saturated fatty acids C20:0 and C22:0 and another constituted by a bulk of C20:0-C22:0 saturated fatty acids and trans-monohydroxyperoxide trans unsaturated fatty acids. Investigations on the hydroperoxidation of unsaturated fatty acids have revealed a particular interest on the impact of hydroxyperoxide radical on the movement of the trans and cis configuration in these fatty acids modified in the presence of glycidol in monoesters of glycerol and hydroxyperoxide fatty acids unsaturated cis. This is another novel synthesis platform of new cis-unsaturated hydroxyperoxyd biotensioactives offered by the sequenced recovery of unsaturated fatty acid concentrates from rambutan oil.

Key words : Nephelium Lappaceum, saturated and monounsaturated fatty acids, trans hydroperoxide fatty acids, glycerol monoesters and cis unsaturated hydroxyperoxide fatty acids, cold crystallization, allylic oxidation, glycidyl condensation

Structures d'exécution des travaux :

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle
INP-ENSIACET-INRA
Université de Toulouse (France)

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie
PER-AUF-PMTA/MD-SEV
Faculté des Sciences et Techniques
Université Marien Ngouabi
Brazzaville (Congo)



Résumé

Dans cette étude, les fruits du *Nephelium Lappaceum* L. (ramboutan) ont été récoltés en Mars 2015 à Boko, dans la zone sud de la République du Congo. Plante à graines oléagineuses avec un noyau riche en huile (36 %), particulièrement composée d'acides gras saturés et monoinsaturés à longues chaînes : C16:0 4,84 %, C18:0 5,48 %, C18:1 45,62 %, C18:2 2,70 %, C20:0 26,53 %, C20:1 9,27 % et C22:0 2,64 %. L'huile de ramboutan a été hydrolysée par voie enzymatique en présence de lipase *Candida rugosa*, les acides gras libres sont obtenus avec un ratio acides gras saturés (AGS)/acides gras monoinsaturés (AGI) de 0,67. La disponibilité des acides gras saturés et monoinsaturés des familles en C20 et C22 a stimulé nos investigations vers l'élaboration des shortenings et biotensioactifs à haut point de fusion. Deux stratégies ont été mises en place à partir des concentrats en acides gras libres issus de l'hydrolyse enzymatique de l'huile de ramboutan en présence de lipase de *Candida rugosa*. La première a consisté à la cristallisation à froid des acides gras saturés par la technologie de gélification/dégélification. On observe à l'issue de ce procédé une séparation physique du mélange d'acides gras en deux fractions. Une étude thermique des fractions solide et fluide a été effectuée et a montré que les AGS ($T_o = 15, 86\text{ °C}$; $T_f = 18,49\text{ °C}$) refroidissent plus vite, mais fondent moins vite que les AGI ($T_o = -19, 46\text{ °C}$, $T_f = 3,87\text{ °C}$). Les teneurs des AGI passent de 55,6 % après hydrolyse à 63,53 % dans la fraction fluide et celles des AGS passent de 39,1 % après hydrolyse à 45,13 %. Les résultats de la SFC indique une teneur en AGS de 25,98 % dans la fraction fluide mais de 38,24 % dans la fraction solide ; Et le rendement massique de la fraction fluide passent de 16% à 55 % et de 84 % à 45 % respectivement de la fraction fluide et la fraction solide. La deuxième stratégie a consisté à réaliser l'insertion allylique de l'oxygène singulet dans les acides gras libres monoinsaturés à longues chaînes C18:1 et C20:1. Elle est réalisée dans un milieu émulsionné constitué d'un système multiphase NaOH/H₂O₂/Na₂MoO₄. Le produit de réaction, au moyen de la GC, montre la présence des acides gras non conventionnels, deux isomères d'hydroperoxydes d'acides gras respectifs de chaque AGMI (C18:1 et C20:1) de conformation *trans*. Il en résulte une augmentation de la teneur en acides gras saturés à longues chaînes C20: 0 (26,21% à 56,46%) et C22 (2,48 % à 3,77 %). Le produit de cette réaction présente un ratio AGS/AGT (acides gras totaux): 0,82. La valorisation séquencée des acides gras de l'huile de noyau de ramboutan permet de proposer deux plateformes de biomolécules shortenings à haut point de fusion: Une plateforme de composition bien définie en acides gras saturés C20:0 et C22:0 et une autre constituée par un bulk en acides gras saturés C20:0-C22:0 et acides gras insaturés monohydroxyperoxydés *trans*. Les investigations sur l'hydroperoxydation des acides gras insaturés ont révélé un intérêt particulier sur l'impact du radical hydroxy peroxyde sur le mouvement de la configuration *trans* et *cis* dans ces acides gras modifiés en présence de glycidol en monoesters de glycérol et d'acides gras hydroxy peroxydes insaturés *cis*. C'est une autre plateforme de synthèse originale de biotensioactifs hydroxy peroxydes insaturés *cis* nouveaux qu'offre la valorisation séquencée des concentrats d'acides gras insaturés de l'huile de ramboutan.

Mots clés : *Nephelium Lappaceum*, Acides gras saturés et monoinsaturés, acides gras hydroperoxydes *trans*, monoesters de glycérol et d'acides gras hydroxyperoxydes insaturés *cis*, cristallisation à froid, oxydation allylique, condensation glycidique, DSC.

Structures d'exécution des travaux :

Laboratoire de Chimie Agro-Industrielle
INP-ENSIACET-INRA
Université de Toulouse (France)

Unité de Chimie du Végétal et de la Vie
PER-AUF-PMTA/MD-SEV
Faculté des Sciences et Techniques
Université Marien Ngouabi
Brazzaville (Congo)