GALLAND Thomas Promo 44

PLATZER Victor Groupe 1

PERRIER Jean-Baptiste

**Compte-rendu de travaux pratiques de chimie appliquée**

**Acides gras dans une huile alimentaire - CPG**

L'objectif de ce TP est de d'identifier une huile (l'huile à travers l'étude de sa composition en acides gras qui la caractérise.

# Principe

## Généralités

Le principe de cette identification s'appuie sur l'analyse qualitative et quantitative des acides gras présents au moyen d'une chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Les acides gras étant des molécules peu volatiles, il est impossible de les faire passer directement dans la colonne. Il est nécessaire de le faire subir un traitement chimique initial afin de les rendre volatilisable à la température du chromatogramme.

## Préparation

Ces acides gras étant essentiellement présents sous forme de triglycérides, la première étape consiste à hydrolyser ces lipides par saponification en ajoutant de l'hydroxyde de potassium afin de les libérer sous forme de carboxylate de potassium. Ces molécules subissent alors un traitement au méthanol appelé estérification aboutissant à la formation d'Esters Méthyliques d'Acides Gras (EMAG) volatils.

Ces EMAG sont dissouts dans une solution organiques d'hexane, solvant très utilisé en CPG car étant apolaire, l'hexane n'a aucune affinité pour la colonne également apolaire dans laquelle migrent les solutés. A cette solution est ajouté un étalon interne: le C14ME permettant l'analyse quantitative des acides gras.

## Analyse qualitative

L'analyse qualitative des acides gras est permise par le temps caractéristique mis pour chaque acide gras à parcourir la colonne chromatographique. Ce temps dit "de rétention" est fonction de l'affinité des acides gras pour les 2 phases du chromatogramme:

- Volatilité dans la phase mobile (le gaz vecteur)

- Adsorption sur la phase stationnaires (la colonne)

L'ordre de sortie des acides gras est défini en premier lieu par leur masse moléculaire: les acides gras les plus courts (ayant le plus petit nombre de carbone) serons les premiers détectés et les plus longs (ayant un plus grand nombre de carbone) seront les derniers.

Par ailleurs, pour les acides gras dont la longueur de la chaine carbonée est identique, les composé sortirons en fonction de leur affinité pour la colonne.

Etant donné que la colonne est polaire, les AG les plus insaturés (les plus polaires) seront plus retenus par la colonne et sortirons donc après les AG saturés (moins polaires donc moins retenus).

Par ailleurs, chaque temps de rétention au conditions données de l'expérience est caractéristique d'un acide gras donné ce qui, par comparaison avec le chromatogramme que nous avons obtenu, nous donne l'ordre de sortie suivant:

C16, C16:1, C18, C18:1, C18:2, C18:3

## Analyse quantitative

L'analyse quantitative des acides gras est permise par l'ajout, au sein de notre échantillon d'huile, d'une quantité déterminé de molécule étalon: le C14ME à raison de 2μg/μL. Cet étalon, permet d'obtenir, suite à son passage dans le chromatogramme, un pic lui correspondant associée à une aire étalon directement proportionnelle à la quantité introduite.

Ainsi, nous avons une relation de proportionnalité établie entre l'aire d'un pic de soluté et une quantité dans l'échantillon ayant traversé le chromatogramme.

Cette relation de proportionnalité est ensuite appliqué à l'ensemble des autres composés déterminé à l'analyse qualitative:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Molécule analysée | Aire du pic | Quantité analysé | Proportion de chaque AG |
| C14ME (EI) | 2021,04 | 2 μg/μL | Etalon |
| C16 | 200,38 | 0,20 μg/μL | 11,5 % |
| C18:0 | 41,98 | 0,04 μg/μL | 2,4 % |
| C18:1 | 1382,27 | 1,37 μg/μL | 79,5 % |
| C18:2 | 100,13 | 0,10 μg/μL | 5,8 % |
| C18:3 | 12,94 | 0,01 μg/μL | 0,7 % |
|  | Quantité total AG: | 1,72 μg/μL |  |

*Tableau Excel de détermination des proportions de chaque acide gras*

Par la suite, la somme de ces quantité est effectuée et l'on obtient la quantité totale d'acide gras de notre échantillon. Cette quantité totale nous permet de remonter à la proportion de chaque acides gras de notre huile.

## Détermination de l'huile

Notre huile est caractérisée par la nature et la proportion des acides gras qu'elle contient. Par comparaison avec des valeurs de références d'une gamme des huiles courantes en agroalimentaires, nous pouvons raisonnablement penser de notre huile qu'il s'agit d'huile d'olive.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| C16:0 | Acide palmitique | 11,9 |
| C18:0 | Acide stéarique | 2,26 |
| C18:1 | Acide oléique | 76,84 |
| C18:2 | Acide linoléique | 8,35 |
| C18:3 | [Acide linolénique](http://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_alpha-linol%C3%A9nique) | 0,65 |

*Tableau de proportion des acides gras d'une huile d'olive*

*(Trouvé sur internet)*

# Pertinence de la méthode

La méthode d'analyse des huiles par CPG est une méthode précise d'analyse aussi bien au niveau:

* Qualitatif car les temps de rétention aux conditions données de l'expérience sont constant. Il est donc possible, grâce à cela, d'établir une gamme avec des temps de rétentions de référence accélérant par la suite les séries de mesure suivantes. (méthode appliquée au cours de ces TP bien que réalisé par le professeur).
* Quantitatif. L'emploi d'un étalon interne est un atout car il subit les mêmes conditions d'expérimentation que les solutés avec lesquels il est analysé ce qui permet de s'affranchir d'éventuelles pertes liées aux faibles volumes étudiés. Mais cela suppose l'emploi d'un étalon avec un temps de rétention à la fois assez proche des autres éléments dosés mais également distinct de ceux-ci.

Mais cette méthode est également soumise à quelques contraintes. Elle ne permet l'étude que de produits volatilisés d'où la nécessité de travailler en milieu étanche au gaz et d'effectuer un contrôle strict sur la température de la colonne. Par ailleurs, les volumes injecté, très faible, sont sources d'erreur ou en cas d'une mauvaise homogénéité des solutés à étudier, peuvent ne pas être représentatifs de l'échantillon. De plus, si la mise en œuvre est rapide (2h pour la totalité des manipulations), elle nécessite de la rigueur quand au suivi du protocole ainsi que de la précision sur les manipulations rendues difficiles par les faibles volumes d'échantillon. Enfin, l'appareillage est un véritable investissement à l'achat qui, en dehors d'une utilisation professionnelle d'analyse ou d'expertise, n'est pas intéressante même si les colonnes peuvent durer plusieurs années.

Sources:

Cour de M. Hallier du S3