

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE
FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

*Extraction et Caractérisation de la lécithine et de
l'ovalbumine de l'œuf de poule*

Présenté par : AIT ALLAOUA
OUBBAD

SIHEM
SAMIA

Soutenu publiquement, le 06/ 11 / 2017, devant le Jury composé de :

DERRIDJ	FAZIA	MCA	UMMTO	PRESIDENT
FERNANE	FARIDA	PROFESSEUR	UMMTO	ENCADREUR
ABBERBACHE	NEFISSA	DEMS	LB-SAIDAL	Co-ENCADREUR
AYATI	FADILA	MCB	UMMTO	EXAMINATEUR
DERMECHE	SAMIA	MAA	UMMTO	EXAMINATEUR

Remerciements

Le premier à qui je dois le plus de remerciement est le bon Dieu qui nous a donné la force, le courage, et la volonté pour atteindre notre objectif.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à nos encadreurs Madame FERNANE Farida et Docteur ABERBACHE Nefissa, qui ont suivi et encadré ce travail avec intérêt et disponibilité. Nous les remercions infiniment pour leurs conseils et orientations afin de mener à bien ce travail.

Nos plus vifs remerciements vont également aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce modeste travail.

Nous n'oublions pas aussi de remercier tous les membres du laboratoire de chimie pharmaceutique pour l'aide qu'ils nous ont fourni lors de la conduite de nos expériences.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ceux qui ont éclairé ma vie, ma mère et mon père qui me sont les plus chères au monde et auxquels je ne saurais jamais exprimer ma gratitude et ma connaissance en quelques lignes. Que dieu vous protège en parfaite santé et vous donne longue vie.

*A mon très cher frère : **Ahcène**. A mes très chères sœurs : **Karima, Fatiha et Lila** et pour leurs familles, et surtout **Celia**.*

*A mes grands parents. A tous mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines et toute la famille **OUBBAD**.*

*A ma très chère amie et au même temps ma binôme **Sihem**, merci pour les bons moments que nous avons passé ensemble. Merci pour ton soutien.*

Enfin à toute la promotion Chimie Pharmaceutique 2016/2017 ainsi qu'à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

SAMIA

*Je tiens d'abord à remercier le bon **Dieu** le tout puissant de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout.*

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents qui m'ont tout donné sans rien en retour. A **mon père**, école de mon enfance, qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner de l'aide et à me protéger. A **ma Mère** celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite.*

*A mes très chers frères **SMAIL** et **ZOUBIR** qui ont été comme mon deuxième père.*

*A ma très chère sœur jumelle **HAYET** et mes très chères sœurs **SAFIA** et son mari et leur petit ange **ILIANE**, et aussi **KAHINA** et son mari.*

*A ma très chère binôme **OUBBAD SAMIA** merci pour ton soutien, ton amitié, merci pour tous les moments que nous avons passé ensemble.*

*A mes amies **KAHINA ; NADIA, FAZILI** je leur remercie pour leur soutien et leur encouragement. Sans oublier ma chère copine et sœur **SASSI** qui été toujours à mes cotés et je la remercie pour son aide et son soutien moral.*

*A mon cher ami **MANI** qui n'a pas cessé de m'encourager.*

*A toute la famille **AIT ALLAOUA** et tout ceux qui m'ont encouragé de prêt ou de loin*

SIHEM

Liste des abréviations

AG : Acides Gras.

AgCl : Chlorure d'argent.

C : Concentration (mol/l).

CHCl₃ : Chloroforme.

D : Densité

HCl : Acide Chloridrique.

IR : Infra Rouge.

IRTF : Spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier.

M : Masse Molaire.

M_{exp} : Masse expérimentale de composé.

M_{théo} : Masse théorique de composé.

MEB : Microscopie Électronique à Balayage.

NaCl: Chlorure De Sodium.

NaOH: Hydroxyde De Sodium.

PC : PhosphatidylCholine.

PE : PhosphatidylEthanolamine.

PH : Potentiel d'Hydrogène.

PL : Phospholipides.

PS : Phosphatidylsérine.

R : Rendement.

S : Solubilité.

T : Température.

Liste des figures

Figure 1. 1: Formule générale de La lécithine.....	2
Figure 1.2 : Structure chimique de l'ovalbumine.....	3
Figure 2.1: Schéma représentatif des étapes d'extraction de la lécithine du jaune d'œuf selon la méthode de Bligh Dyer.....	10
Figure 2.2 : Schéma représentatif des étapes d'extraction par précipitation de la lécithine de jaune d'œuf.....	11
Figure 2.3: Schéma représentatif d'extraction d'ovalbumine de blanc d'œuf par dilution.....	12
Figure 2.4: Extraction d'ovalbumine de blanc d'œuf dans le milieu acide.....	13
Figure 2.5 : Photo de MEB.....	15
Figure 3.1: Vue macroscopique de la lécithine extraite de jaune d'œuf par la méthode de Bligh Dyer(A) et extraction par précipitation(B).....	17
Figure 3.2: Vue macroscopique de l'ovalbumine extraite de blanc d'œuf par la méthode de dilution (A) et extraction dans un milieu acide(B).....	19
Figure 3.3. Aspect microscopique d'extrait de lécithine obtenue par la méthode de Bligh Dyer avec des grossissements différents.....	20
Figure3.4. Aspect microscopique d'extrait de lécithine obtenue par l'extraction par précipitation avec des grossissements différents.....	21
Figure 3.5. Aspect microscopique d'extrait d'ovalbumine obtenue par l'extraction en dilution avec des grossissements différents.....	21
Figure 3.6. Aspect microscopique d'extraits d'ovalbumine obtenue par l'extraction en milieu acide avec des grossissements différents.....	22
Figure 3.7. Plaques CCM de l'élution dans différents solvants des solutions de lécithines de jaune d'œuf et de soja.....	23
Figure 3.8: Spectre IR de la lécithine extrait par la méthode de Bligh et Dyer.....	24
Figure 3.9: Spectre IR de la lécithine extrait par une autre méthode.....	24
Figure 3.10: Spectre IR de l'ovalbumine extrait par la première méthode.....	25
Figure 3.11: Spectre IR de l'ovalbumine extrait par la deuxième méthode.....	26

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Principaux avantages et inconvénients des méthodes de Folch et de Bligh Dyer.....	5
Tableau 2.1 : Principaux avantages et inconvénients des méthodes d'extraction d'ovalbumine.....	6
Tableau2.1 : Produits employés dans les procédés d'extractions et de caractérisations.....	8
Tableau2.2 : Matériels employés dans les procédés d'extractions et de caractérisations.....	9
Tableau 3.1 : Rendement de la lécithine extrait par deux méthodes.....	16
Tableau 3.2 : Rendement de l'ovalbumine extrait par deux méthodes.....	17
Tableau 3.3 : Résultats de la solubilité (en g/l) de nos extraits de lécithine du jaune d'œuf dans différents solvants	19
Tableau 3.4 : Résultats de la solubilité (en g/l) de nos extraits d'ovalbumine mesurée dans différents solvants à température ambiante.....	20
Tableau 3.5 : Valeurs du rapport frontal R_f mesurées pour le cas de l'extrait de lécithine du jaune d'œuf (LJ) obtenue avec l'extraction par précipitation et celle de soja (LS).....	24
Tableau 3.6 : Principales bandes repérées pour les spectres IR présentés par les figures 4.5 et 4.6 Pour le cas des extraits de lécithine du jaune d'œuf.....	25
Tableau 3.7 : Principales bandes repérées pour les spectres IR présentés par les figures 4.7 et 4.8 Pour le cas des extraits d'ovalbumine.....	26

Table des matières

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre 1 : Techniques d'extractions et de caractérisations de la lécithine et de l'ovalbumine d'œuf de poule

I. Généralité.....	2
I.1. Composition de l'œuf de poule.....	2
I.1.1. Jaune d'œuf.....	2
I.1.2. Blanc d'œuf.....	3
I.2. Intérêt des composants de l'œuf de poule dans le domaine pharmaceutique.....	4
I.2.1. Lécithine.....	4
I.2.2. Ovalbumine.....	4
II. Méthodes d'extraction des composants de l'œuf de poule	4
II.1. Extraction de la lécithine du jaune d'œuf.....	4
II.2. Extraction de l'ovalbumine du blanc d'œuf.....	6
III. Procédés de caractérisation de la lécithine et l'ovalbumine d'œuf	7
III.1. Microscopie Electronique à Balayage MEB.....	7
III.2. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	7
III.3. Méthodes spectroscopiques Infra Rouge IR.....	7

Partie II : Travaux expérimentaux

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

I. Matériels et Réactifs.....	8
II. Protocoles d'extractions.....	9
II.1. Extraction de la lécithine du jaune d'œuf	9
II.1.1. Méthode de Bligh et Dyer.....	9
II.1.2. Extraction par précipitation.....	10
II.2. Extractions de l'ovalbumine du blanc d'œuf.....	12

II.2.1. Extraction par dilution.....	12
II.2.2.Extraction en milieu acide.....	12
III. Caractérisations et identifications des extraits.....	13
III.1.Evaluation du rendement d'extraction	13
III.2.Méthodes chimiques et physiques.....	14
III.2.1. Solubilité.....	14
III.2.2. Densité.....	14
III.3.Microscopie Electronique à Balayage MEB.....	15
III.4. Chromatographie sur Couche Mince CCM.....	15
III.5. Spectroscopie IR.....	16

Chapitre 3: Résultats et Discussions

I. Rendements d'extraction en lécithine.....	17
II. Rendements d'extraction en ovalbumine.....	17
III. Caractérisation physico-chimique des extraits de lécithine et d'ovalbumine.....	18
III.1. Aspects macroscopiques	18
III.2.Solubilité des extraits dans différents solvants.....	19
III.2.1. Solubilité des extraits de lécithine du jaune d'œuf.....	19
III.2.2. Solubilité des extraits d'ovalbumine du blanc d'œuf.....	20
III.2.3. Densité des extraits de lécithine et ovalbumine de l'œuf de poule.....	21
III.3. Résultats de l'analyse MEB.....	22
III.3.1. Extraits de lécithine.....	22
III.3.2.Extraits d'ovalbumine.....	23
III.4. Résultats de l'analyse CCM pour l'extrait de la lécithine.....	23
III.5. Résultats de l'analyse par spectroscopie IR.....	24
III.5.1.Extraits de la lécithine	24
III.5.2.Extraits d'ovalbumine.....	26
Conclusion générale.....	29

Glossaire.....	30
Références bibliographiques.....	32
Résumé.	

La lécithine et l'ovalbumine sont les principaux composants du jaune et du blanc d'œuf. Elles sont respectivement de nature lipidique et protéique. Elles sont utilisées comme matière première pour l'élaboration de nombreux produits qui peuvent être employées dans différents domaines tels que l'industrie pharmaceutique, l'agroalimentaire, le cosmétique, la recherche scientifique et la médecine grâce à leurs propriétés émulsifiantes, moussantes et gélifiantes. Etant donné ses propriétés fonctionnelles et sa valeur nutritionnelle pour l'organisme, l'œuf demeure un aliment de haute qualité nutritive pour l'être humain.

Le principal objectif de notre présent travail est d'extraire la lécithine et l'ovalbumine en se basant sur des méthodes d'extractions faciles à mettre en œuvre au laboratoire. Pour obtenir la lécithine du jaune d'œuf nous envisageons deux techniques d'extractions celle de Bligh Dyer et une extraction par précipitation. L'extraction de l'ovalbumine depuis le blanc d'œuf sera conduite selon deux protocoles, dont l'un est basé sur la dilution et l'autre sur l'extraction en milieu acide. Une fois les extraits obtenus nous envisagerons dans une seconde étape de les caractériser en exploitant des techniques physico-chimiques appropriées et disponibles.

Le présent mémoire comporte trois chapitres essentiels:

- Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique. Il résume les principales techniques d'extraction et de caractérisation de la lécithine et de l'ovalbumine de l'œuf de poule.
- Le second chapitre présentera le matériel et les méthodes utilisés pour extraire et caractériser la lécithine et l'ovalbumine de l'œuf
- Le dernier chapitre sera consacré à la présentation et l'interprétation des principaux résultats obtenus.

Enfin nous terminerons avec une conclusion dans laquelle nous résumerons les principaux résultats obtenus et les perspectives envisagées pour ce modeste travail.

I. Généralités

I.1. Lécithine du jaune d'œuf

Le jaune d'œuf est une partie très importante de l'œuf de poule. Il occupe 30% de sa masse. Il est composé de 51% d'eau, 30% des lipides, 16% des protéines, 0.6% des glucides et 2,4% de minéraux et vitamines [1].

Les composants majoritaires du jaune d'œuf sont généralement des lipides (phosphatidylcholine) extraits et purifiés par plusieurs méthodes selon leurs degrés de solubilité dans les solvants organiques [2].

La lécithine ou la phosphatidylcholine a été isolée en 1846 par le chimiste pharmacien français Théodore Gobley à partir du jaune d'œuf. Elle représente la principale substance du jaune d'œuf qui désigne un phospholipide membranaire formé à partir d'une choline, d'un phosphate, d'un glycérol et de deux acides gras [3].

Il ne s'agit pas donc d'une seule molécule mais d'un groupe de molécules qui comprend des acides gras (AG) différents, des triglycérides et des phospholipides PL [4].

La structure chimique d'une lécithine est représentée sur la figure 1.1.

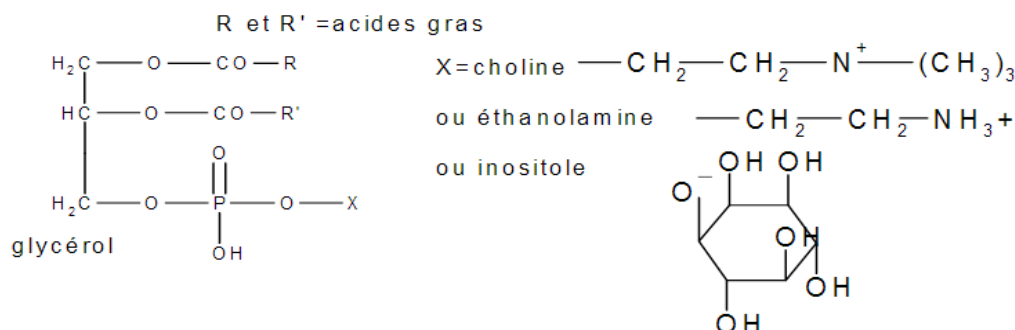


Figure 1.1 : Structure chimique d'une lécithine

I. 2. Ovalbumine du blanc d'œuf

Le blanc d'œuf est une substance organique interne de l'œuf qui est constitué de 88 % d'eau et de 10,6% de protéines. Il est de nature hétérogène car il résulte de la juxtaposition de quatre zones physiquement distinctes: une albumine épaisse, une albumine liquide externe, une albumine liquide interne et la chalaze [2].

En plus, il est composé de différents types de protéines dont la plus importante est l'ovalbumine qui représente 54% de sa majorité et les autres sont l'ovotransferrine (13%), l'ovomucoïdes (11%), le lysozyme (3,5%) et l'ovomucine (1,5 à 3,5%) [5]. Nous pouvons

trouver aussi des minéraux (0,5%), des glucides (0,9%) et une faible quantité de vitamines hydrosolubles [2].

L'ovalbumine est la protéine la plus abondante du blanc d'œuf laquelle possède une importance vitale pour la santé et le bien-être de nombreux organismes. C'est une glycoprotéine qui renferme quatre (4) groupements sulfhydryls S-H libres et deux (2) ponts disulfures.

En plus, elle possède des propriétés intéressantes pour les industries agroalimentaire et pharmaceutique grâce à leur fonctionnement dans le corps humain qui permet de transporter les acides gras essentiels des tissus adipeux vers les tissus musculaires [6].

La structure chimique d'une ovalbumine est représentée sur la figure 1.2.

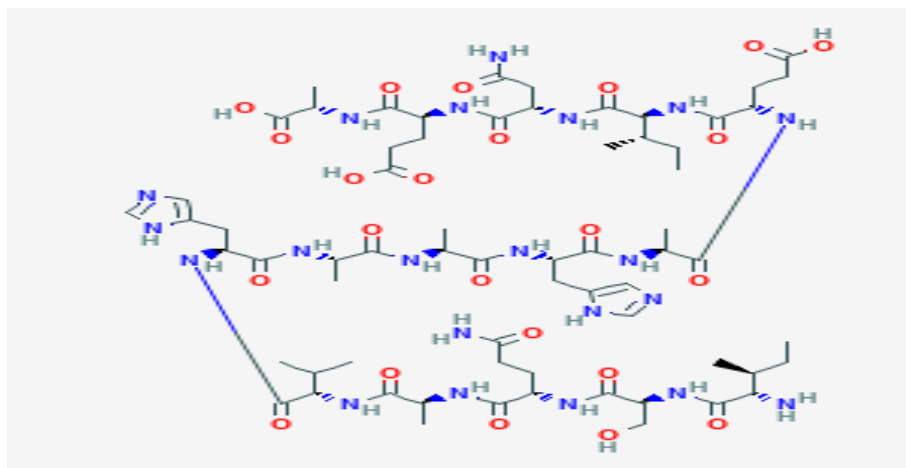


Figure 1.2 : Structure chimique de l'ovalbumine

II- Intérêt de la lécithine et de l'ovalbumine pour le domaine pharmaceutique

II.1. Lécithine du jaune d'œuf

La lécithine, grâce à ses diverses propriétés physico-chimiques, est utilisée dans de nombreux secteurs industriels tels que l'agroalimentaire, le cosmétique et le pharmaceutique.

Dans le domaine pharmaceutique, les phospholipides PL sont utilisés pour leurs propriétés émulsifiantes et leur effet mouillant qui permet la dispersion de pigments au sein d'une phase huileuse [7].

Également, les phospholipides PL sont utilisés pour leurs propriétés d'auto-assemblages qui permettent d'encapsuler des molécules thérapeutiques. Ils jouent aussi un rôle important au niveau nutritionnel, soit comme vecteur de choline (PC) ou de sérine (PS), ou encore d'acides gras indispensables [8,9].

En effet, la choline limite les dépôts adipeux hépatiques et améliore le métabolisme des triglycérides en s'incorporant dans des lipoprotéines responsables du transport des triglycérides hépatiques vers le foie. Ainsi les phospholipides PL participent à la prévention des risques cardiovasculaires [8]. Quant à la PS cérébrale, elle joue un rôle important dans les phénomènes de neuro-protections en régulant un certain nombre d'activités enzymatiques [8].

Parallèlement, les phospholipides PL sont des vecteurs d'acide gras (AG) associés dans la prévention d'un certain nombre de pathologies inflammatoires, cardio-vasculaire, neuro-dégénérative et psychiatrique [9].

II.2. Ovalbumine du blanc d'œuf

L'ovalbumine possède une très grande importance dans la médecine car elle transporte les acides gras essentiels à la régulation de l'osmose qui aide à transporter les hormones, les vitamines, les médicaments et les autres substances à travers le sang [2].

L'ovalbumine représente la protéine majoritaire du blanc d'œuf qui est peu soluble dans l'eau à 37°C et insoluble à température ambiante.

Elle est appliquée comme agent émulsifiant qui permet de véhiculer autant les matières hydrosolubles que les matières liposolubles. Elle est utilisée également comme agent moussant dans les préparations pharmaceutiques grâce à la présence des saponines et d'une substance gélifiante [2].

III. Méthodes d'extraction de la lécithine et de l'ovalbumine

III.1.Extraction de la lécithine du jaune d'œuf

Ces méthodes sont basées sur l'isolement de la lécithine du jaune d'œuf. Elles nécessitent l'utilisation de solvants organiques de qualité analytique qui sont dans notre cas le chloroforme et le méthanol, dans le but de récupérer la totalité des lipides polaires et apolaires [10-12].

En laboratoire, l'extrait lipidique est obtenu généralement selon trois protocoles celui de Folch ; Bligh Dyer et extraction par précipitation.

Le protocole de Folch diffère peu de celui de Bligh Dyer sauf qu'il nécessite une étape de lyophilisation du produit initial [12].

Ces trois méthodes conduisent à des surnageants non solubles qui permettent de déduire la présence ou non de la phase lipidique [10, 11].

Nous regroupons dans le tableau **1.1**, les principaux avantages et inconvénients des méthodes de Folch, Bligh Dyer et l'extraction par solvant de la lécithine du jaune d'œuf.

Tableau 1.1 : Principaux avantages et inconvénients des méthodes de Folch et de Bligh Dyer [13-15]

Méthode	Avantages	Inconvénients
Folch	1- Plus précise que d'autres méthodes car elle donne de bons résultats de séparation et d'isolement. 2- Permet l'extraction d'un grand nombre de substances de natures chimiques variées. 3-Automatisable, plus reproductible et donne des extraits plus propres.	1-Méthode compliquée car elle se réalise en deux étapes importantes (lyophilisation et extraction). 2- Grande consommation en solvants, surtout lorsqu'il s'agit d'extraction multiple. 3- Temps de réalisation relativement lent en absence d'automatisation
Bligh et Dyer	1-Plus efficace, très simple et donne un pourcentage lipidique élevé. 2-Coût très raisonnable car on utilise juste le matériel du laboratoire. 3-Possibilité de travailler sur des matrices très variées. 4-Possibilité d'extraire la totalité de produit	1-Difficulté d'extraire les molécules très polaires 2- Pour les solvants très toxiques, il faut utiliser le matériel de protection et manipuler sous une hotte 3-Techniques manuelles longues, moins reproductibles, et difficilement automatisables. 4-L'opération d'évaporation est longue. Donc certains composés volatils peuvent être perdus
Extraction par précipitation	1-Méthode très simple à mettre en œuvre. 2- L'utilisation de solvants organiques volatiles qui permet d'éliminer les molécules interférentes. 3-donne un extrait facile à être conserver (poudre).	1-Consommation de grand volume de solvants et de matière initiale. 2- Méthodes très longues.

II.2. Procédés d'extraction de l'ovalbumine du blanc d'œuf

Le blanc d'œuf est composé de plusieurs molécules ayant des propriétés physico-chimiques différentes selon leur degré de solubilité et de polarité. Dont, l'ovalbumine est l'une de ces composants qui est extraite par des méthodes appropriées. Ces méthodes sont basées sur l'utilisation de solvants organiques de qualité analytique pour analyser et identifier les protéines.

D'où, en laboratoire, l'extrait protéique est obtenu généralement selon deux protocoles l'un est basé sur la dilution et l'extraction dans un milieu acide [16].

Les avantages et inconvénients des deux méthodes l'extraction de l'ovalbumine sont résumés dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Principaux avantages et inconvénients des méthodes d'extraction de l'ovalbumine [13-15]

Méthode	Avantages	Inconvénients
Extraction par dilution	1- Méthode reproductible, économique et rapide 2-Préparation simultanée de plusieurs échantillons 3- Absence de problème de séparation de phase 4- Ne nécessite pas d'étape de séchage des solutions organiques après séparation 5-Méthode simple, efficace et d'un coût raisonnable	1-Multiplication des étapes d'extractions pour obtenir un rendement optimum 2-Utilisation d'importants volumes de solvants organiques 3-Difficulté de former une émulsion qui ne permet pas la récupération de 100% de l'extrait 4-Présence de traces d'éluant qui nécessite un traitement supplémentaire de l'échantillon avant l'étape d'évaporation
Extraction dans le milieu acide	1-Grande capacité de production pour une consommation d'énergie réduite. 2-sélectivité, en particulier quand d'autres procédés ne conviennent pas ou sont très chers 3-Des produits thermosensibles qui peuvent être traités à température ambiante ou modérée. 4-Utilisation dans le cas de produits lourds ou très dilués, en particulier pour des solutions aqueuses	1-Méthode longue, difficilement automatisable et moins reproductible. 2-Consommation élevée en solvants organiques souvent toxiques. 3-Ne permet pas une bonne extraction des molécules très polaires. 4-Etape d'évaporation longue et au cours de laquelle certains composés volatils peuvent être perdus

III. Techniques de caractérisations de la lécithine et de l'ovalbumine de l'œuf

III.1. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage est une technique capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons-matière. Elle consiste en un faisceau d'électrons balayant la surface de l'échantillon à analyser qui en réponse, réémet certaines particules [17].

Ces particules sont analysées par différents détecteurs qui permettent de reconstruire une image en trois dimensions de la surface et cette analyse se fait selon plusieurs étapes tels que : la production, la source d'électrons, la colonne, les détecteurs et enfin on a formation et acquisition de l'image [18].

Afin de déterminer la taille de la lécithine et de l'ovalbumine extraites et de vérifier leurs homogénéité, nous avons analysé ces échantillons par MEB.

III.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants. Elle est basée sur la différence d'affinité des substances à l'égard de deux phases, dont l'une stationnaire qui est fixée sur une plaque et l'autre mobile nommée éluant. L'éluant peut comporter un solvant ou un mélange de solvants [19].

La chromatographie sur couche mince, ou sur plaque est effectuée surtout en vue d'une analyse d'un mélange. La phase stationnaire solide est fixée sur une plaque, et la phase mobile liquide, nommée éluant, est un solvant ou un mélange de solvants.

On dépose sur la phase fixe une petite quantité du mélange à séparer et on met cette phase au contact de la phase mobile. La phase mobile migre de bas en haut, par capillarité, le long de la phase fixe en entraînant les constituants du mélange. C'est le phénomène d'élution, qui permet la séparation des constituants du mélange à analyser. Chaque constituant migre d'une certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle rapport frontal ou rétention frontale (R_f) tel que [19]:

$$R_f = \frac{\text{Hauteur de la tache}}{\text{Hauteur du front du solvant}} \quad (1)$$

Chaque tache correspond à un constituant et on l'identifie par comparaison du R_f avec un témoin (une même substance qui migre à la même hauteur dans des conditions opératoires identiques; même R_f).

III.3. Spectroscopie Infra Rouge (IR)

La spectroscopie infrarouge est une technique de caractérisation permettant de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans une molécule. Elle est basée aussi sur l'absorption du rayonnement électromagnétique par un échantillon solide ou liquide [26].

Elle constitue une méthode de choix pour la caractérisation et l'identification des substances organiques et renseigne sur la construction de l'édifice moléculaire et par la présence de bandes d'absorption spécifiques [20].

Les absorptions dans le domaine infrarouge qui s'étend de 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} constituent une signature des composés examinés et permettent de déduire des particularités de leurs structures.

Pour le cas des échantillons solides, la technique d'identification peut être basée sur la préparation des pastilles à base de KBr (IRTF) ou la détection à base des sondes de silicium (ATR).

L'objectif de notre travail est d'extraire de l'œuf des substances à usage pharmaceutique. Le choix est porté sur la lécithine (à partir du jaune d'œuf) et l'ovalbumine (à partir du blanc d'œuf).

Pour cela, nous avons suivi deux étapes :

- Première étape : extraire la lécithine du jaune d'œuf grâce aux propriétés particulières de solubilité, et ce en exploitant deux méthodes d'extractions : La méthode de Bligh Dyer et l'extraction par précipitation. Également, l'extraction de l'ovalbumine à partir du blanc d'œuf en exploitant deux méthodes d'extractions : la dilution et l'extraction en milieu acide.
- Deuxième étape: caractérisation et identification des extraits obtenus en utilisant des méthodes physico-chimiques, chromatographiques et spectroscopiques.

I. Matériels et Réactifs

Notre partie expérimentale a été effectuée au laboratoire de chimie pharmaceutique du département de chimie de l'Université de Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou. Tous les produits et matériels utilisés sont fournis par ce laboratoire.

Sur les tableaux 2.1 et 2.2 nous avons récapitulé la liste des réactifs et matériel utilisés pour l'extraction et la caractérisation de la lécithine du jaune d'œuf et de l'ovalbumine du blanc.

Tableau 2.1 : Produits et réactifs utilisés pour les opérations d'extraction et de caractérisation de la lécithine et de l'ovalbumine de l'œuf de poule

Opérations	Produits et Réactifs
Extraction de la lécithine	1- Matière première: jaunes d'œufs frais récupérés de l'alimentation. 2- Solvants : chloroforme, méthanol, éthanol, acétone, eau distillée, sulfate de sodium anhydre et éther de pétrole
Extraction de l'ovalbumine	1- Matière première : blancs d'œuf frais récupéré de marché. 2- Solvants : Acétonitrile, Acide chlorhydrique 0.1M et eau distillée
Solubilité des extraits	1- Extraits obtenus de lécithine et d'ovalbumine 2- Solvants: Chloroforme, méthanol, éthanol, acétone, éther de pétrole, acide chlorhydrique, ammoniac, 2-butanol, acétonitrile, eau distillée, eau oxygénée, acide sulfurique et hexane
Densité des extraits	1- Extraits obtenus de lécithine et ovalbumine 2- Eau
Analyse CCM	1- Extraits obtenus de lécithine et ovalbumine + lécithine de soja commerciale 2- Solvants : Chloroforme, éthanol, acétone et méthanol

Tableau 2.2 : Matériel utilisés pour les opérations d'extraction et de caractérisation de la lécithine et de l'ovalbumine de l'œuf de poule

Opérations	Matériel
Extraction de la lécithine	Evaporateur rotatif, balance analytique de précision, étuve thermostatée, pompe à vide pour filtration, verre fritté, réfrigérateur réglé à 4°C, plaque chauffante à agitation magnétique et ampoules à décanter
Extraction de l'ovalbumine	Evaporateur rotatif, balance analytique de précision, plaque chauffante à agitation magnétique, étuve thermostatée, pompe à vide, béchers et ampoules à décanter.
Solubilité des extraits	Balance analytique de précision, tubes à essais, pipettes jaugées de 1ml et verres de montre
Densité des extraits	Balance analytique de précision, verres de montre et pycnomètres de 5ml
Analyse CCM	Plaque CCM à gel de silice, béchers.
Analyse IR	Appareil ATR à sonde de silice

II. Protocoles d'extractions

II.1. Extraction de la lécithine du jaune d'œuf

Les phospholipides des œufs ont été extraits par deux méthodes : Bligh Dyer et extraction par précipitation [10, 21]. Ces deux méthodes sont basées sur l'utilisation de solvants organiques pour former un système miscible avec l'eau contenu dans le tissu qui favorise l'extraction de la totalité des lipides.

II.1.1. Méthode de Bligh et Dyer

Cette méthode est décrite ci-dessous :

-100g de jaune d'œuf sont placés dans un bécher étiqueté auquel 100 ml de chloroforme et 200 ml de méthanol sont ajoutés. A l'aide d'un agitateur mécanique, le mélange est agité à la vitesse de 500 tours/min pendant 2 minutes. Puis 100 ml de chloroforme et 100 ml d'eau distillée sont ajoutés en poursuivant l'agitation pendant 30s.

-Le mélange obtenu est versé dans une ampoule à décanter afin de séparer la phase organique laquelle précipite au fond de l'ampoule. Cette dernière est ensuite filtrée sous vide et on ajoute le sulfate de sodium pour bien sécher notre extrait.

-L'extrait est récupéré dans un ballon de 25ml puis le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à 50°C.

-Le résidu lipidique est pesé avant et après séchage dans l'étuve. Le résultat est exprimé respectivement en pourcentage (%) de matière humide et de matière sèche [10].

Le protocole est résumé sur la figure 2.1.

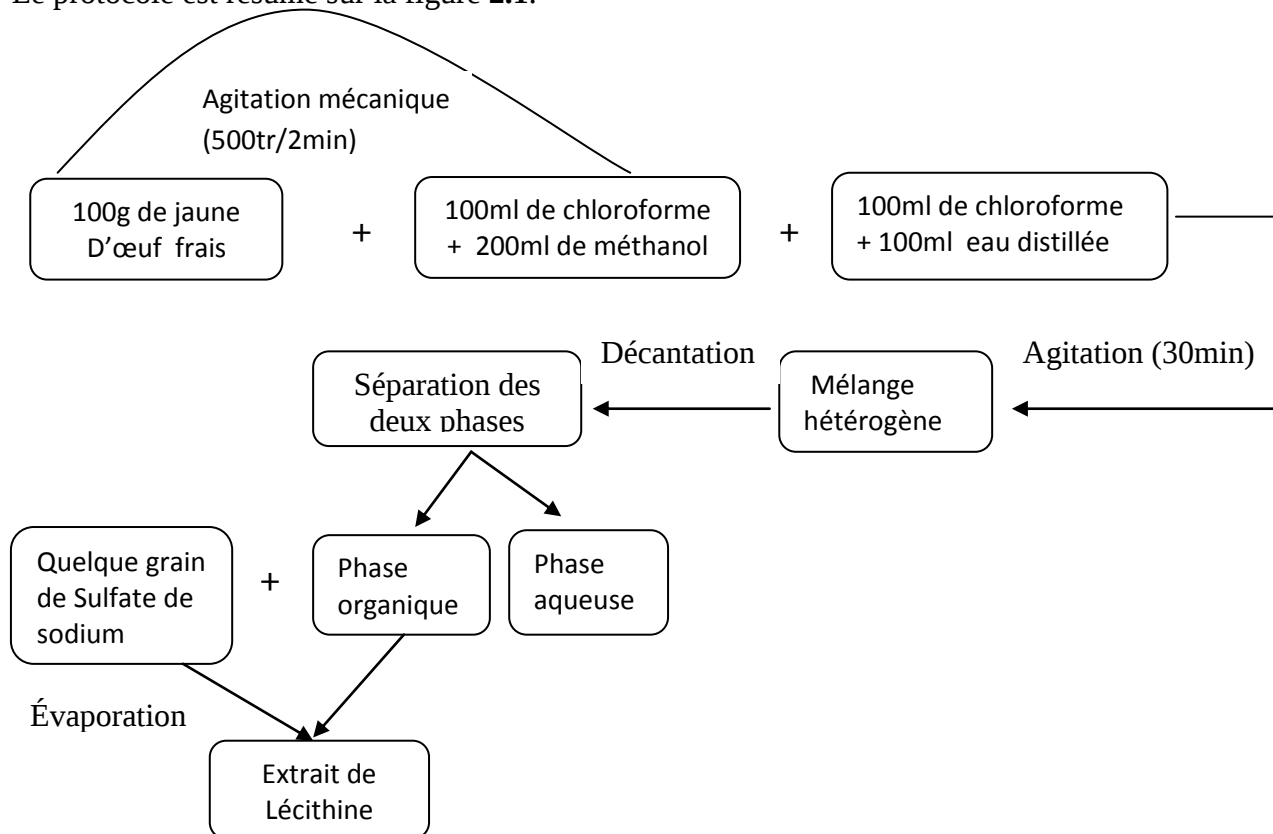


Figure 2.1: Organigramme des étapes d'extraction de la lécithine du jaune d'œuf selon la méthode de Bligh Dyer

II.1.2. Extraction par précipitation

Le protocole appliqué est décrit par les étapes suivantes [21] :

Première étape :

- 300g de jaunes d'œufs frais lavés à l'eau sont passés à travers un tamis pour éliminer les membranes.
- 500ml d'acétone à froid (4°C) est ajouté à la solution de jaune d'œuf obtenue. Puis le mélange est homogénéisé pendant 5 min.
- Pour faire précipiter les phospholipides et les protéines brutes ; la suspension obtenue est maintenue au réfrigérateur à 4°C durant 1 heure.
- La suspension est ensuite filtrée sous vide et le précipité est lavé avec 10 ml de l'acétone. L'acétone résiduelle est ensuite éliminée par évaporation au rota vapeur.

Seconde étape :

- Le précipité brut est transféré dans un b cher. Puis 100ml d'éthanol lui sont ajoutés en agitant pendant 5min afin d'homogénéiser la suspension.

- La suspension est ensuite filtrée sous vide et le précipité lavé avec l'éthanol.

- Les extraits d'éthanol qui contiennent des phospholipides sont soumis à une évaporation pour éliminer le solvant résiduel.

- L'extrait de lécithine résultant est ensuite dissous dans 400 ml d'éther de pétrole. Ensuite 500ml d'acétone (  4 C) sont ajoutés pour faire précipiter la lécithine. Le mélange est ensuite transvasé dans une ampoule à décanter et laissé reposer durant 2h pour obtenir la séparation des deux phases.

- L'extrait de lécithine brute obtenu a été dissous à nouveau dans 400 ml d'éther de pétrole et le procédé de précipitation répété. Ensuite, l'extrait brut a été solubiliser dans du chloroforme et évaporer sous pression réduite.

La figure 2.2 résume les étapes d'extraction de la lécithine selon la deuxième méthode.

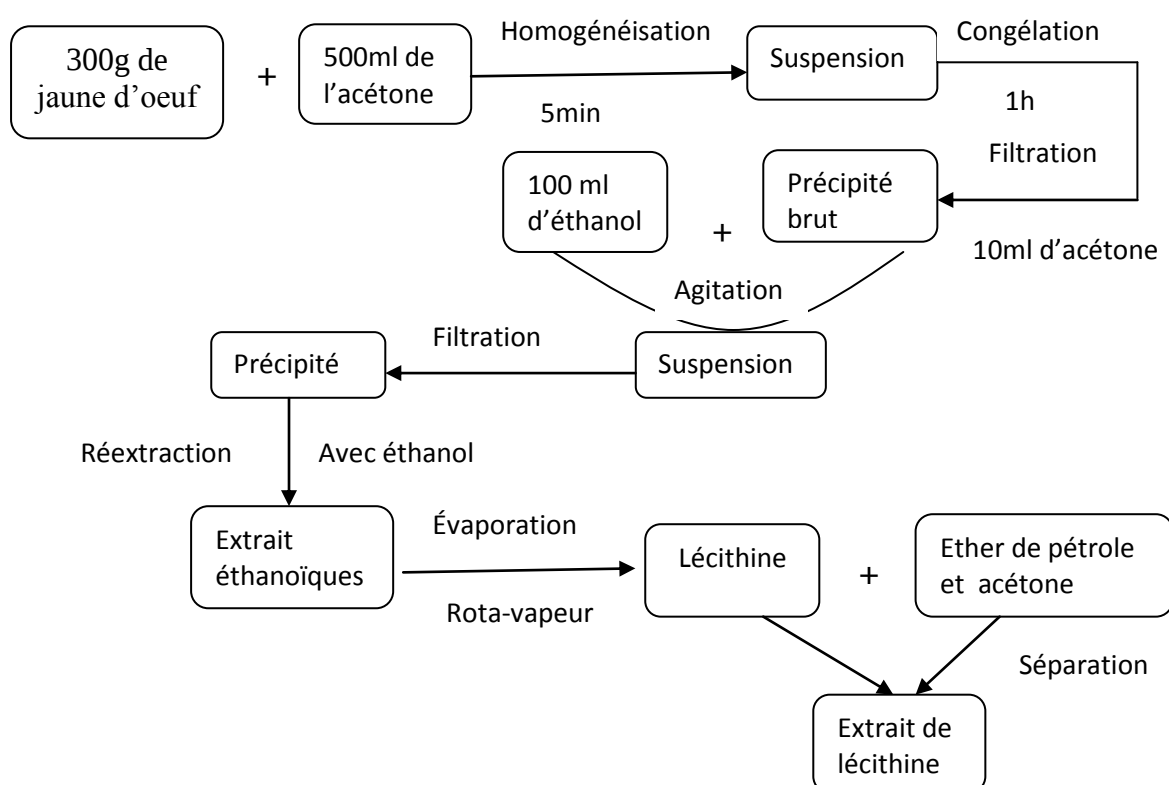


Figure 2.2 : schéma représentatif des étapes d'extraction par solvant de la lécithine de jaune d' uf

II.2. Extraction de l'ovalbumine du blanc d'œuf

Les blancs d'œufs possèdent plusieurs propriétés importantes comme agents émulsifiants, moussants et gélifiants puisqu'elles sont solubles dans l'eau, ce qui simplifie l'extraction de leurs protéines (ovalbumine) par diverses méthodes [2]. Les méthodes d'extractions de l'ovalbumine sont basées sur l'utilisation de solvants organiques et la dilution d'échantillons pour former des aspects laiteux par coagulation avec l'eau contenue dans le tissu qui permet l'extraction de la totalité de produit protéique [12].

II.2.1. Extraction par dilution

Le protocole suivi est décrit ci-dessous [12]:

-101.83 g de blancs d'œuf (3 blancs) sont dilués dans de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume de 200ml. Le mélange est ensuite chauffé à 125°C sous agitation à la vitesse de 300 à 400 rpm.

- Quand la température atteint 70°C, la solution prend un aspect laiteux par coagulation de l'ovalbumine. Ainsi nous arrêterons le chauffage et nous procéderons à la filtration.

La figure 2.3 résume toutes les étapes d'extraction de l'ovalbumine de blanc d'œuf.

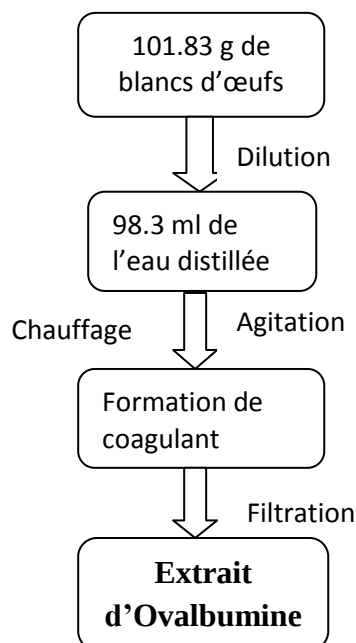


Figure 2.3: Organigramme des étapes d'extraction par dilution de l'ovalbumine du blanc d'œuf

II.2.2. Extraction en milieu acide

Le protocole suivi est décrit ci-dessous [12]:

- Nous pesons 200g de blanc d'œuf auquel nous ajoutons 10ml d'Acétonitrile, 2ml de HCl (0.1M) et 5 ml d'eau distillée.
- Le mélange est agité durant 2heures au cours des quelles il devient laiteux.
- Le mélange est ensuite soumis à une filtration sous vide suivi d'une évaporation rotatif.

Le protocole d'extraction est résumé dans la figure 2.4.

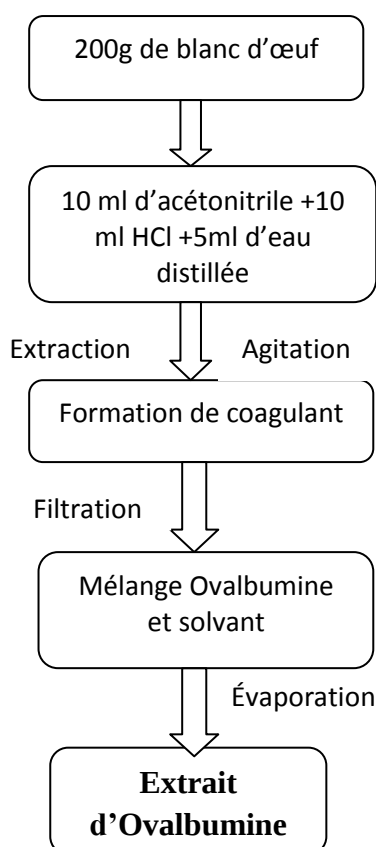


Figure 2.4: Extraction d'ovalbumine de blanc d'œuf dans le milieu acide.

III. Caractérisations et identification des extraits

III.1. Evaluation du rendement d'extraction

Lorsque nous procédons à une extraction, l'un des buts à atteindre est de récupérer la plus grande quantité possible de substance à l'aide d'un volume donné de solvant extractif. Pour étudier le rendement d'extraction, il faut connaître la quantité extraite par le solvant à partir de la quantité initiale présente dans la matière de base (jaune et le blanc d'œuf).

Donc, il existe deux manières d'exprimer le rendement dans la littérature, Soit en pourcentage (%) de masse de la lécithine récupérée par la masse de la matière animale (jaune

d'œuf) donnée, soit en rapport de volume de ce composé recueillie pour 100g de matière animale donnée [14].

Dans notre étude, nous avons exprimé les rendements en pourcentages de la matière animale

comme suit :
$$R = \frac{M_{\text{exp}}}{M_{\text{théo}}} \times 100\% \quad (1)$$

Avec :

M_{exp} : Masse de la lécithine récupérée (g).

$M_{\text{théo}}$: Masse de la matière animale donnée (g).

III.2. Tests physico- chimiques

Les propriétés physico-chimiques de nos extraits sont importantes du point de vue commercial. Ces propriétés sont déterminées par une série de tests mentionnés ci-dessous :

III.2.1. Solubilité

Par définition, la solubilité représente la capacité d'une substance appelée soluté à se dissoudre dans une autre substance appelée solvant, pour former un mélange homogène appelé solution.

Elle désigne la concentration massique maximale du soluté dissoute dans le solvant à une température donnée. Cette grandeur physique est notée par S , elle s'exprime en g/L ou en mol/L.

Pour évaluer la solubilité (S) de nos extraits dans différents solvants nous avons adopté le protocole expérimental suivant : Dans un tube à essai on verse 1ml de solvant auquel on disperse grain par grain 10 mg d'extrait de lécithine ou d'ovalbumine. La quantité maximale dissoute dans le millilitre de solvant est évaluée par la différence de masse déduite de la quantité d'extrait restant des 10 mg pesé initialement à température ambiante(T) [22].

III.2.2. Densité

Elle est définie comme étant le rapport entre la masse d'un volume occupé par l'extrait sur la masse du même volume d'eau distillée pris à la même température ($T=25^{\circ}\text{C}$) qui s'exprime comme suit [23] :

$$d = \frac{m_s}{m_e} \quad (2)$$

Avec :

m_s : masse du solide (extrait de lécithine ou d'ovalbumine) en g.

m_e : masse du même volume d'eau (en g)

Pour effectuer ce test, nous avons pris 1g (m_s) de notre produit (extrait de lécithine ou d'ovalbumine) pour lequel nous avons évalués le volume qu'il occupe dans une éprouvette graduée de contenance 5ml. Nous prélevons ensuite un volume d'eau égal à celui indiqué par le 1g de notre produit et nous évaluons sa masse (m_e) par pesée.

III.3. Analyse par Microscopie Electronique à Balayage

La Microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique qui permet de visualiser directement la texture microscopique des particules [18].

Quelques mg d'échantillon sous forme de poudre sont déposés sur une bande adhésive double face découpée à la dimension du porte échantillon et fixée sur celui-ci. Puis, la surface de l'échantillon est métallisée par dépôt d'une couche d'or dont l'épaisseur dépend du temps d'exposition et de l'intensité du courant de l'enceinte de dépôt [17].

Concernant l'analyse de nos extraits, nous avons utilisé l'appareil de marque Philips ESEM XL 30 à filament de tungstène couplé à un système complet de la microanalyse X. La figure 2.5 présente une photo de l'appareil MEB utilisé.



Figure 2.5 : Photo de l'appareil MEB

III.4. Chromatographie sur Couche Mince CCM

La CCM est une technique chromatographique d'analyse et d'identification utile et simple qui s'effectue selon le protocole suivant [24] :

Après avoir opté pour la phase stationnaire la plus indiquée pour l'échantillon à analyser, l'éluant ou la phase mobile est choisi par rapport à sa capacité à faire migrer les substances polaires ou apolaires. Pour le cas de nos extraits nous avons optés pour le gel de silice comme phase stationnaire

On prépare 1 μ L d'échantillon qui doit être dilué dans un solvant volatil qui est le chloroforme CHCl₃ à 2 ou 5% et il n'est pas forcément le même que l'éluant, puis la solution est déposée à l'aide d'une micropipette ou d'un tube capillaire en un point de la plaque situé à environ 1 cm du bord inférieur. En fin, la solution préparée est placée dans le bécher qui contient l'éluant puis on remarque qu'il y a des migrations des composants.

Les substances peuvent être identifiées en calculant la valeur du Rapport Frontal (R_F) qui sera comparée à celle de la littérature ou à celle de référence. Il est calculé suivant la relation ci-dessous [25] :

$$R_F = \frac{x}{y} \quad (3)$$

Avec :

x : hauteur de la tache (mm).

y : hauteur du front du solvant (mm).

III.5. Spectroscopie Infra Rouge

La spectroscopie IR est une technique d'analyse qui s'intéresse à l'identification des différents groupements fonctionnels présents dans un échantillon solide ou liquide [26].

Pour le cas des échantillons solides, la technique d'identification peut être basée sur la préparation des pastilles à base de KBr (IRTF) ou la détection à base des sondes de silicium (ATR).

Concernant l'analyse de nos extraits, nous avons opté pour l'analyse IR par transmittance (ATR) qui ne nécessite aucune préparation préalable de pastilles à base de KBr.

Nous avons travaillé avec un appareil ATR de marque Shimadsu pour une plage de longueur d'onde s'étalant de 4000 à 500 cm⁻¹.

I- Rendements d'extraction en lécithine du jaune d'oeuf

Les extraits majoritaires du jaune d'œuf (lécithine) obtenus avant et après évaporation et séchage ont été pesés. Le rendement a été évalué par rapport à la masse de jaune d'œuf pris initialement pour chacune des deux méthodes d'extraction effectuées sur deux essais. Les résultats sont regroupés dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1- Rendements d'extraction de la lécithine par les procédés Bligh Dyer et extraction par précipitation

Procédé	Extrait	Rendement %		Rendement Moyen %
		1 ^{er} essai	2 nd essai	
Bligh Dyer	Avant séchage	79.84	91.52	85.60
	Après séchage	23.11	21.96	22.53
Extraction par précipitation	Avant séchage	88.15	90.02	89.08
	Après séchage	55.36	55.89	55.62

Les résultats regroupés dans le tableau 3.1 montrent qu'avant l'opération de séchage les rendements d'extraction atteignent en moyenne 85.60% et 89.08% respectivement pour le procédé Bligh Dyer et l'extraction par précipitation. Après l'opération de séchage ces rendements diminuent jusqu'à 22.53 et 55.62 respectivement pour le procédé Bligh Dyer et extraction par solvant.

Il s'avère que la méthode d'extraction par précipitation donne de meilleurs rendements en lécithine comparativement au procédé Bligh Dyer. Ceci est probablement dû au fait que cette méthode utilise des solvants organiques plus polaires (Acétone et éthanol) que ceux utilisés dans la méthode Bligh Dyer (Chloroforme et méthanol). En effet, les solvants très polaires favorisent la solubilité de la lécithine composée essentiellement de phospholipides (PL) [27].

II- Rendements d'extraction en ovalbumine du blanc d'oeuf

Les extraits majoritaires du blanc d'œuf (ovalbumine) obtenus avant et après évaporation et séchage ont été pesés. Le rendement a été évalué par rapport à la masse de blanc d'œuf pris initialement pour chacune des deux méthodes d'extraction utilisées. Les résultats sont regroupés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2. Rendements d'extraction de l'ovalbumine par dilution et en milieu acide

Extraction	Extrait	Rendement %		Rendement Moyen %
		1 ^{er} essai	2 nd essai	
Par dilution	Avant séchage	30.37	32.17	31.27
	Après séchage	3.94	4.10	04.02
En milieu acide	Avant séchage	15.62	15.30	15.46
	Après séchage	08.06	12.81	10.43

Les résultats regroupés dans le tableau 3.2 montrent qu'avant l'opération de séchage les rendements d'extraction atteignent en moyenne 31.27% et 15.46% respectivement pour la méthode d'extraction par dilution et celle en milieu acide. Après dessiccation, ces rendements diminuent jusqu'à 04.02 et 10.43 respectivement pour l'extraction par dilution et en milieu acide.

Il s'avère que la méthode d'extraction en milieu acide donne de meilleurs rendements d'extraction en ovalbumine comparativement à la méthode par dilution.

En effet l'ovalbumine est une protéine qui possède plusieurs types de liaisons entre ses acides aminés qui la compose : les liaisons hydrogène, hydrophobe, disulfure, ionique, par transfert d'électrons et de Van der Waals. La modification du pH entraîne une modification des charges portées par les groupements ionisables des acides aminés, et modifie ainsi les liaisons ioniques et hydrogènes stabilisant la structure spatiale. Ce qui facilite l'extraction de ces protéines qui sont plus solubles dans l'eau, donc il y'a déformation de ces liaisons [27].

III- Caractérisation physico-chimique des extraits de lécithine et d'ovalbumine

III-1-Aspects macroscopiques

Les aspects macroscopiques de nos extraits sont présentés par les photos rassemblées sur les figures 3.1 et 3.2 respectivement pour la lécithine et l'ovalbumine.

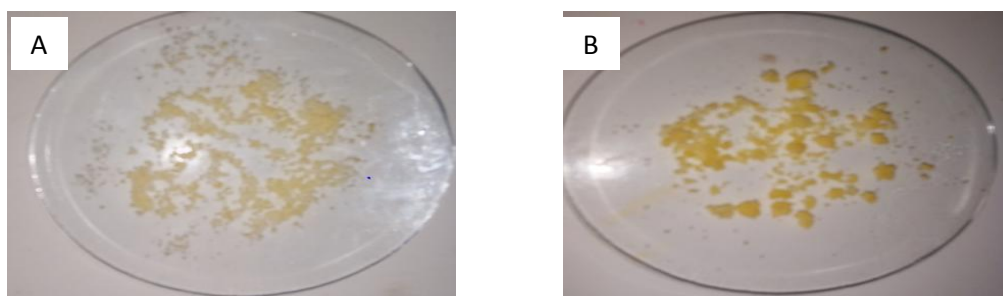


Figure 3.1. Vue macroscopique des extraits de lécithine du jaune d'œuf obtenus par les méthodes Bligh Dyer (A) et extraction par solvant (B).

Les photos rassemblées dans la figure 3.1 montrent que l'extrait de lécithine obtenu par la méthode de Bligh Dyer (A) est sous forme de poudre moyennement fine inodore, de couleur jaune claire. Par contre celle obtenue par le procédé d'extraction par précipitation (B) est un agglomérat inodore, de couleur jaune foncé.

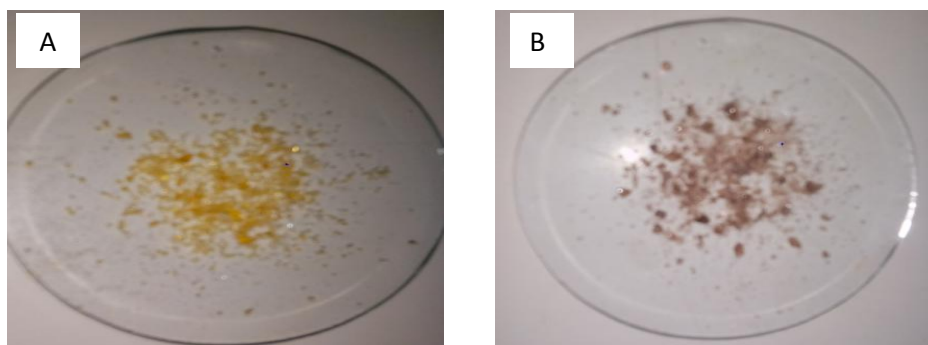


Figure 3.2. Vue macroscopique des extraits d'ovalbumine du blanc d'œuf obtenus par les méthodes de dilution (A) et en milieu acide (B).

Les photos rassemblées dans la figure 3.2 montrent que l'extrait d'ovalbumine obtenu par la méthode de dilution (A) est sous forme de particules cristallisées de couleur jaune. Par contre celle obtenue par la technique d'extraction en milieu acide (B) est peu cristallisée de couleur violette.

III-2- Solubilité des extraits dans différents solvants

III-2-1- Solubilité des extraits de lécithine du jaune d'œuf

Nous rassemblons dans le tableau 3.3 les résultats de la solubilité mesurée pour les extraits de lécithine du jaune d'œuf obtenus respectivement par la méthode de Bligh Dyer et l'extraction par précipitation. Ces résultats sont évalués à température ambiante et comparés à ceux obtenus pour la lécithine de soja commerciale fourni par le laboratoire de contrôle qualité de Cevital (unité de Bejaia).

Les résultats regroupés dans le tableau 3.3 montrent que nos deux extraits de lécithine sont insolubles dans l'eau à température ambiante. Par contre, ils sont peu solubles dans les solvants organiques tels que le chloroforme et l'éthanol.

En effet, la solubilité des composés lipidiques dépend de leur composition chimique riche en chaînes aliphatiques non hydroxylées et en acide gras lesquels sont insolubles dans l'eau, l'acétone et autres solvants organiques [16].

Comparativement aux résultats de solubilité obtenus avec la lécithine de soja commerciale, nous pouvons conclure que nos extraits renferment une bonne proportion de lécithine.

Tableau 3.3. Résultats de la solubilité (en g/l) de nos extraits de lécithine du jaune d'œuf dans différents solvants comparés à ceux obtenus avec la lécithine de soja commerciale

Solvant	Bligh et Dyer	Extraction par précipitation	Lécithine de soja
Eau	2.51	0	0
HCl (0.1M)	9.5	---	---
Ammoniac	0	---	---
Acétone	---	0	0
Acétonitrile	---	1.1	0
Chloroforme	1.9	1.6	10.02
Ethanol	0	0.02	1.82
Ether de pétrole	0.1	---	---
Méthanol	0	0	0
2-Butanol	0	---	---

III.2.2. Solubilité des extraits d'ovalbumine du blanc d'œuf

Nous rassemblons dans le tableau 3.4 les résultats de la solubilité mesurée pour les extraits d'ovalbumine obtenus respectivement par la méthode de dilution et l'extraction en milieu acide. Ces résultats sont évalués à température ambiante et comparés à ceux donnés dans la littérature pour l'ovalbumine de référence.

L'ovalbumine de référence nous a été fournie pour le laboratoire de recherche LABAB de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.

Tableau 3.4. Résultats de la solubilité (en g/l) des extraits d'ovalbumine mesurée dans différents solvants à température ambiante et comparée aux données de la littérature

Solvant	Dilution	Milieu acide	Ovalbumine de Référence
Eau	0	0	0
H ₂ SO ₄ concentré	1.61	---	---
H ₂ O ₂	0	---	----
Acétone	1.01	0.52	1.40
Chloroforme	9.8	10.0	10.0
Ethanol	1.6	2.71	2.42
Ether de pétrole	0	---	----
Hexane	4.1	---	----
Méthanol	0	0	0
2-Butanol	2.1	----	----
Acétonitrile	---	1.4	0

Les résultats regroupés dans le tableau 3.4 montrent que nos deux extraits d'ovalbumine sont insolubles dans l'eau et le méthanol à température ambiante. Par contre, ils sont très solubles dans le chloroforme et peu solubles dans l'éthanol et l'acétone.

En effet, la solubilité de l'ovalbumine est gouvernée par la nature de ses protéines qui sont de deux types : les protéines hydrosolubles qui sont dissoutes dans des solvants polaires ou peu polaires et les protéines hydrophobes qui sont solubles dans les solvants polaires. De ce fait elle se trouve très soluble dans les solvants organiques apolaires et peu polaires, mais insoluble dans les solvants polaires tels que le méthanol et l'acétone [16].

III.2.3. Densité des extraits de lécithine et d'ovalbumine de l'œuf de poule

La valeur de la densité mesurée pour l'extrait de lécithine du jaune d'œuf obtenue par la méthode de Bligh Dyer est de 0.804. Comparée à celle de lécithine de soja (1.005) pris comme référence l'écart relatif étant d'environ 20%.

En effet, la lécithine de soja est un liquide visqueux d'origine végétale (huile de soja) par contre notre extrait de lécithine de texture solide est d'origine animale (jaune d'œuf de poule) ayant subi des opérations de purification probablement insuffisantes.

La valeur de la densité mesurée pour l'extrait d'ovalbumine obtenu par la méthode de dilution est de 0.809. Ce qui constitue un écart relatif d'environ 1% comparé à la valeur de la densité énoncée dans la littérature (0.799) [28].

III.3. Résultats de l'analyse MEB

III.3.1. Extraits de lécithine

L'aspect microscopique de nos extraits de lécithine déterminé par Microscopie Electronique a Balayage (MEB) sont présentés par les photos rassemblées sur les figures 3.3 et 3.4 respectivement pour la méthode de Bligh Dyer et l'extraction par précipitation.

Les photos rassemblées dans la figure 3.3 montrent que les grains de lécithine obtenus sont sous forme d'agglomérats de cristaux de dimensions très variables.

Les photos rassemblées dans la figure 3.4 montrent que l'extrait de lécithine obtenu est sous forme de grains dotes de microporosité.

Ces structures microscopiques confirment les aspects macroscopiques observés sur la figure 3.1

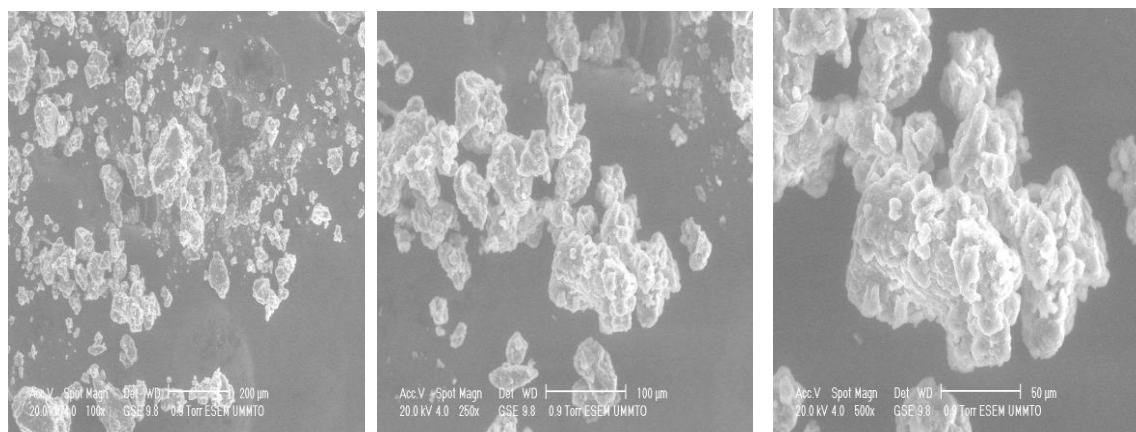


Figure 3.3. Photos MEB de l'extrait de lécithine obtenue par la méthode de Bligh Dyer

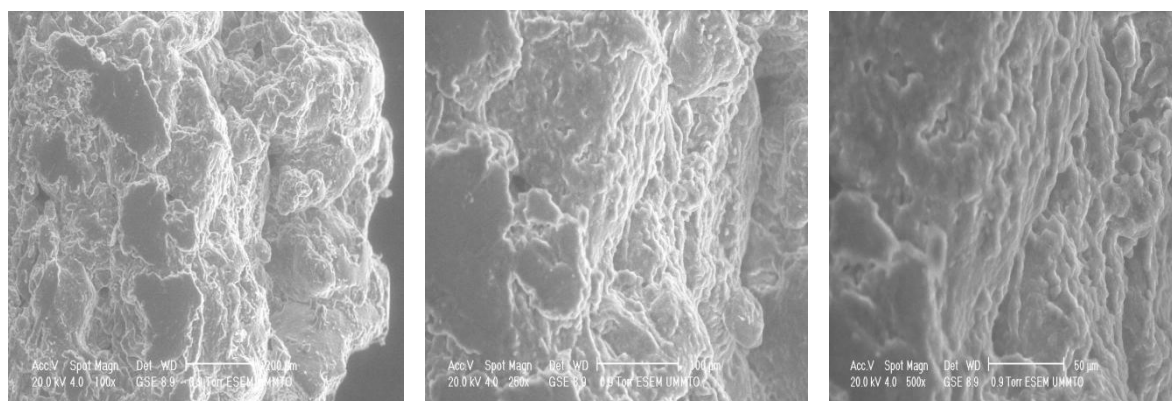


Figure 3.4. Photos MEB de l'extrait de lécithine obtenue par extraction par précipitation

III.3.2.Extraits d'ovalbumine

Les aspects microscopiques de nos extraits d'ovalbumines sont présentés par les photos rassemblées sur les figures 3.5 et 3.6 respectivement pour l'extraction par dilution et l'extraction en milieu acide.

Les photos rassemblées dans la figure 3.5 montrent que l'extrait d'ovalbumine obtenu par la méthode de dilution est composé de cristaux de texture et taille plus ou moins homogènes.

Les photos rassemblées dans la figure 3.6 montrent que l'extrait d'ovalbumine obtenu par la méthode d'extraction en milieu acide renferme des cristaux de texture et taille hétérogènes.

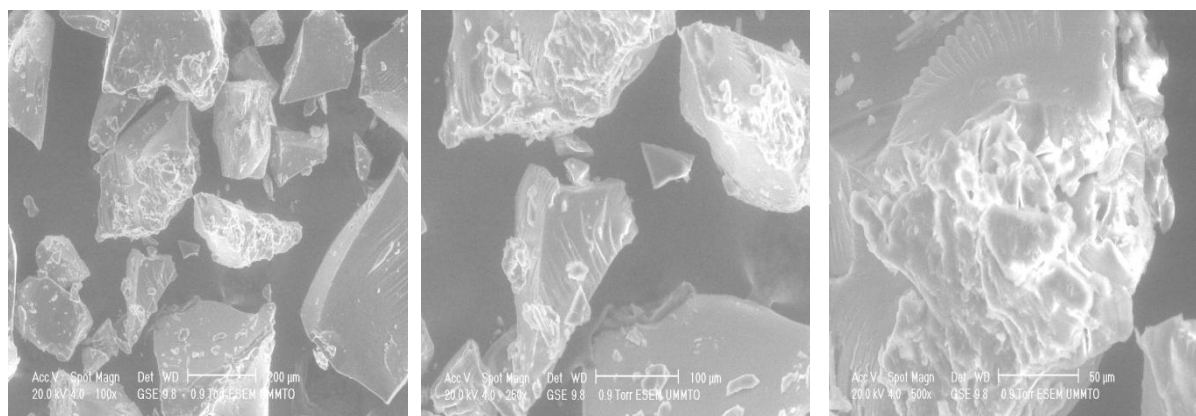


Figure 3.5. Photos MEB de l'extrait d'ovalbumine obtenu par la méthode d'extraction par dilution

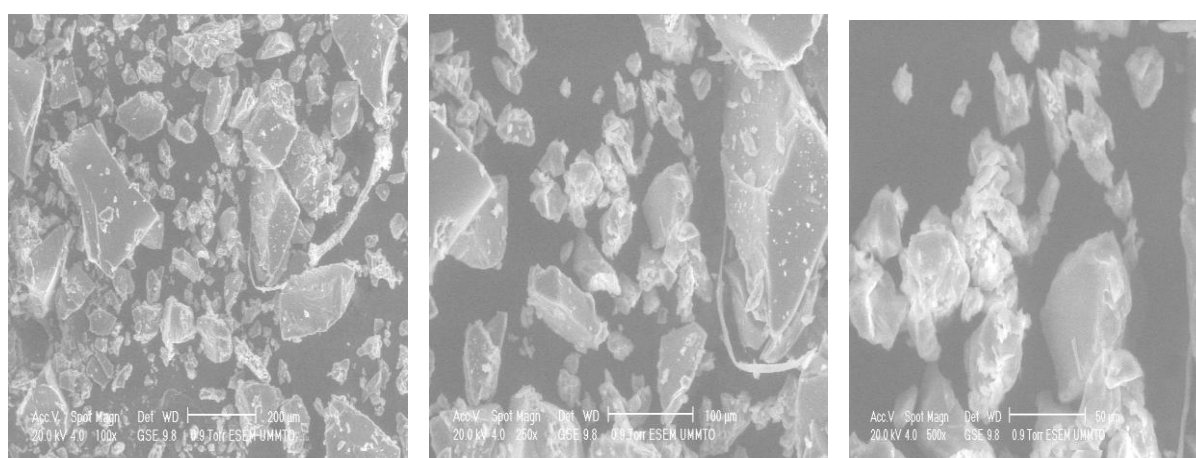


Figure 3.6. Photos MEB de l'extrait d'ovalbumine obtenu par la méthode d'extraction en milieu acide

III.4. Résultats de l'analyse CCM pour l'extrait de la lécithine

La figure 3.7 rassemble les photos prises pour les plaques CCM de l'élution de l'extrait de lécithine du jaune d'œuf obtenue par l'extraction par précipitation et la lécithine de soja diluées dans plusieurs éluants.

Les valeurs du rapport frontal R_f évaluées pour la lécithine du jaune d'œuf (LJ) et la lécithine de soja (LS) sont regroupées dans le tableau 3.5.

Les résultats de l'analyse CCM obtenus avec les trois phases éluantes (chloroforme ; chloroforme + méthanol et chloroforme + méthanol + eau) révèlent la présence d'une seule tache (figure 3.7) dont les valeurs du rapport frontal sont regroupées dans le tableau 3.5

Mis à part des dérives dans le choix des solvants constituant les trois phases éluante, nous pouvons prétendre que la composition chimique de notre extrait de lécithine du jaune d'œuf est proche de celle de la lécithine de soja pris comme référence.



Figure 3.7. Plaques CCM de l'élution dans différents solvants des solutions de lécithines de jaune d'œuf et de soja

Tableau 3.5 . Valeurs du rapport frontal R_f mesurées pour le cas de l'extrait de lécithine du jaune d'œuf (LJ) obtenue avec l'extraction par précipitation et celle de soja (LS)

Eluant	LJ	LS
Chloroforme	0.11	0.08
Chloroforme + Méthanol	1	1
Chloroforme +Méthanol + Eau	0.15	0.12

Pour une bonne séparation et migration des produits, il faut avoir un rapport frontal égal à 0,3. Nos résultats révèlent que la séparation par CCM n'est pas bonne car le rapport frontal évalué est très inférieur à 0,3.

Ceci est du probablement au mauvais choix de la phase éluante ainsi que la complexité de l'extrait obtenu qui nécessite sans doute une phase de purification préalable.

III.5. Résultats de l'analyse par spectroscopie IR

III.5.1.Extraits de la lécithine

Nous regroupons sur les figures 3.8 et 3.9 les spectres IR des extraits de lécithine du jaune d'œuf obtenus respectivement par la méthode Bligh Dyer et l'extraction par précipitation.

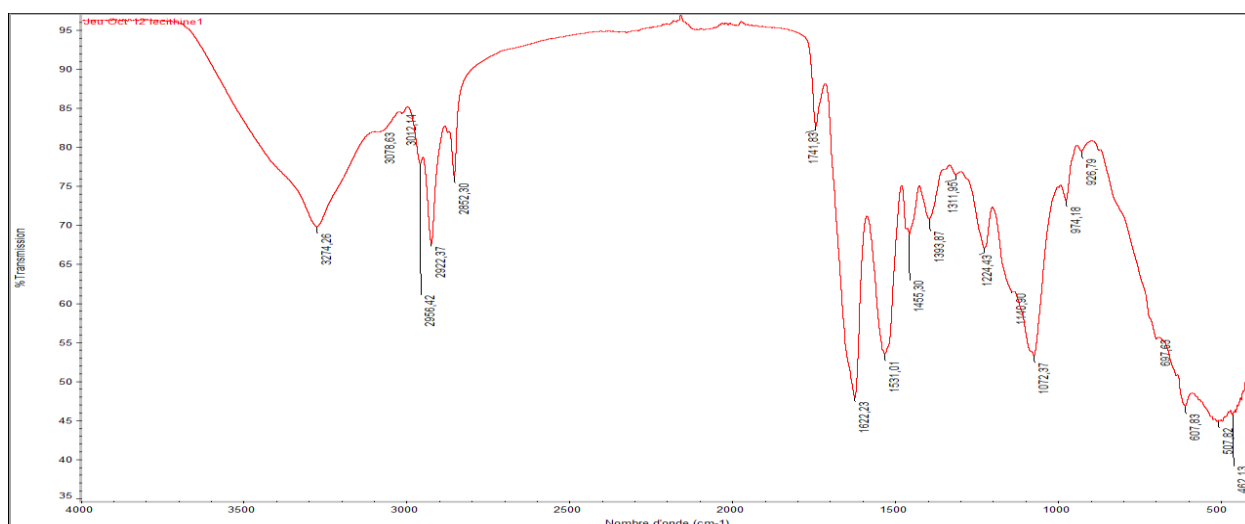


Figure 3.8. Spectre IR de la lécithine du jaune d'œuf extrait par la méthode de Bligh et Dyer

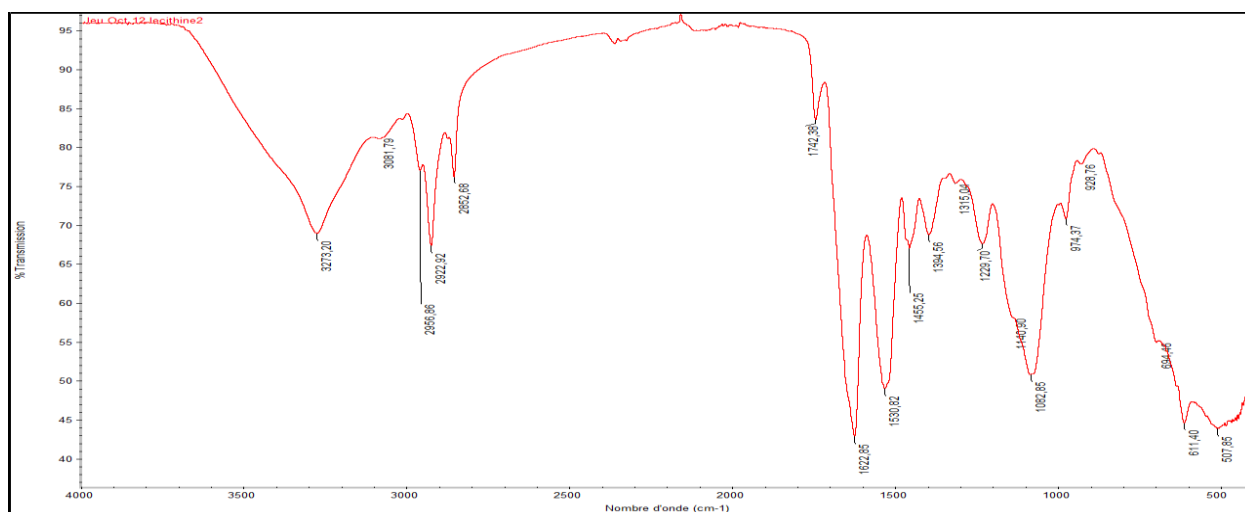


Figure 3.9. Spectre IR de la lécithine du jaune d'œuf extrait par précipitation

Les spectres IR présentés sur les figures 3.8 et 3.9 sont quasiment identiques. Ceci confirme que les extraits de lécithine de jaune d'œuf obtenus avec les deux méthodes d'extraction possèdent des compositions chimiques très voisines.

Le tableau 3.6 regroupe les principales interprétations des bandes caractéristiques observées sur les spectres des deux figures 3.8 et 3.9.

Tableau 3.6 - Principales bandes repérées pour les spectres IR présentés par les figures 3.8 et 3.9 pour le cas des extraits de lécithine du jaune d'œuf

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Liaison	Largeur de la bande	Intensité d'absorption	Famille
3220 - 3300	O—H avec liaison hydrogène	Large	Forte	Alcool
2770 - 2900	C _{tri} —H C=O	Large	Fine	Aldéhyde
1700 - 1740	C=O	Fine	Faible	Acide carboxylique
1500 - 1600	C=C	Large	Forte	Cycle aromatique
1000 - 1200	C—C	Variable	Moyenne	Alcane
500 - 900		Variable	Faible	

C_{tri} signifie que l'atome de carbone est trigonal

Par comparaison on constate que les deux produits extraits sont presque identique par rapport à l'absence et la présence de certaines fonctions contenues dans la structure chimique comme par exemple la fonction alcool qui représente dans notre cas le glycérol.

Par contre il y a présence d'autres fonctions qui ne sont pas dans sa structure chimique et cela signifie peut être que nous avons extrait d'autres substances du jaune d'œuf autre que la lécithine comme par exemple la phosphatidyléthanolamine et la phosphatidylsérine.

III.5.2.Extraits d'ovalbumine

Nous regroupons sur les figures 3.10 et 3.11 les spectres de nos extraits d'ovalbumine obtenus respectivement par la méthode de dilution et l'extraction en milieu acide.

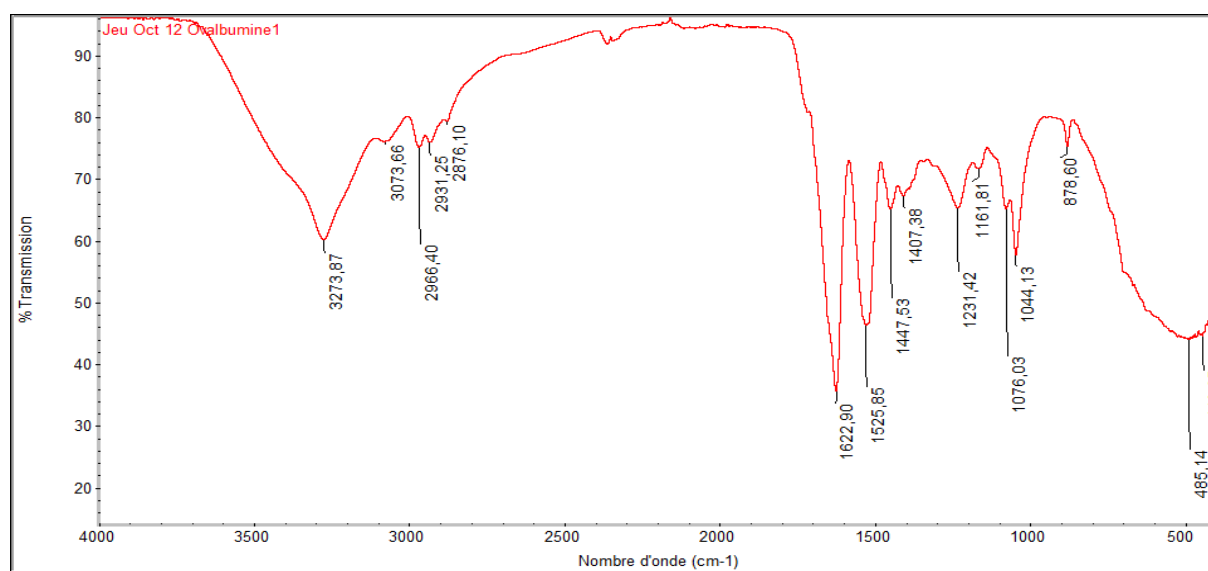


Figure 3.10. Spectre IR de l'extrait d'ovalbumine obtenu par la méthode de dilution

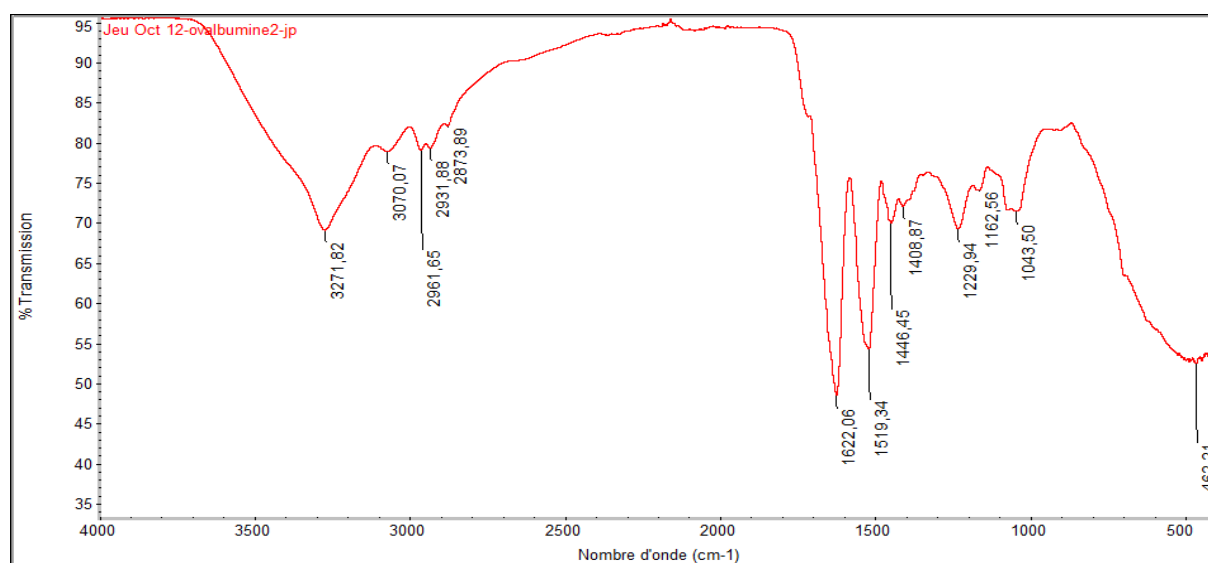


Figure 3.11. Spectre IR de l'extrait d'ovalbumine obtenu par la méthode d'extraction en milieu acide

Les spectres IR présentés sur les figures 3.10 et 3.11 sont quasiment identiques. Ceci confirme que les extraits d'ovalbumine du blanc d'œuf obtenus avec les deux méthodes d'extraction possèdent des compositions chimiques très voisines.

Le tableau 3.7 regroupe les principales interprétations des bandes caractéristiques observées sur les spectres des deux figures 3.10 et 3.11.

Tableau 3.7 - Principales bandes repérées par les spectres IR présentés sur les figures 3.10 et 3.11 pour le cas des extraits d'ovalbumine

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Liaison	Largeur de la bande	Intensité d'absorption	Famille
3200 à 3400 cm ⁻¹ .	O-H _{Lié}	Large	Forte	Alcool
2700 à 3000 cm ⁻¹	C _{tri} -H	Large	forte	Aldéhyde
1700 à 1740 cm ⁻¹	C-O	Large	forte	Ester
1510 à 1580 cm ⁻¹ .	N=O	variable	faible	Dérivé nitrile
1000 à 1250 cm ⁻¹	C-C	variable	forte	Alcane
1600 à 1680 cm ⁻¹	C=N	Large	moyenne	Amine

C_{tri} signifie que l'atome de carbone est trigonal

Enfin, par comparaison, on constate que les deux produits extraits sont identiques par la présence des fonctions caractéristiques tel que l'alcool qui peuvent être formé à partir

d'eau, alcane, alcène et les amines, ainsi que l'absence ou présence de certaines fonctions pour les deux produits extraites et cela revient à la différence de température dans les deux protocoles suivis. Donc on peut dire que nos produits ne sont pas purs à cent pour cent mais renferment des structures et composés proches.

L'objectif de notre travail était d'extraire et de caractériser la lécithine et l'ovalbumine de l'œuf de poule en recourant à des techniques simples d'extraction et de caractérisation.

Les produits obtenus pour les extraits de lécithine ont permis de conclure que l'extraction par précipitation est préférable par rapport à la méthode de Bligh Dyer. Car elle a donné un meilleur rendement d'extraction avec un extrait de bonne texture physique.

Les extraits obtenus pour l'ovalbumine ont permis de conclure que l'extraction en milieu acide donne de meilleurs rendements comparativement à la méthode par dilution.

En effet l'ovalbumine est une protéine qui possède plusieurs types de liaisons entre ses acides aminés qui la compose. La modification du pH entraîne ainsi une modification des charges portées par les groupements ionisables des acides aminés, et modifie ainsi les liaisons ioniques et hydrogènes stabilisant la structure spatiale, ce qui facilite l'extraction de ces protéines.

Les tests physico-chimiques effectués sur nos extraits nous ont permis de confirmer que la lécithine et l'ovalbumine de l'œuf de poule sont des produits apolaires insolubles dans l'eau mais solubles dans quelques uns des solvants organiques que nous avons testé.

Les analyses CCM, ATR et MEB nous ont permis de confirmer que la composition de nos extraits de lécithine et d'ovalbumine est très complexe.

En effet, il s'avère que la lécithine est un mélange de plusieurs classes de phospholipides (PL) et l'ovalbumine de l'œuf de poule est composée d'environ 385 acides aminés.

En perspectives, il serait judicieux d'envisager l'usage de nos extraits de lécithine et d'ovalbumine pour d'éventuelles formulations d'émulsions à usage pharmaceutique. A cet effet, il serait important d'envisager, au laboratoire, plusieurs techniques de séparation et de purification de ces extraits.

Glossaire

1-Acide gras $C_{18}H_{36}O_2$

Un acide gras est un acide carboxylique à chaîne aliphatique il possède une chaîne carbonée de 4 à 36 atomes de carbone.

On parle d'acides gras à longue chaîne pour une longueur de 14 à 24 atomes de carbone et à très longue chaîne s'il y a plus de 24 atomes de carbone.

2-Acide phosphatidique

L'acide phosphatidique est un lipide formé par estérification de deux acides gras et d'un acide phosphorique avec un glycérol.

3-Glucides $C_6H_{12}O_6$

Ce sont des molécules plus ou moins longues (sucres simples ou sucres complexes) composées d'hydrogène, de carbone et d'oxygène. Ils sont appelés aussi sucres et sont connus sous le nom d'hydrates de carbones ou de carbohydrates.

4-Glycérol $C_3H_8O_3$

Le glycérol est un liquide incolore, visqueux et inodore. Sa molécule possède trois hydroxyles correspondant à trois fonctions alcool responsables de sa solubilité dans l'eau.

5-Phospholipides $C_{23}H_{41}O_4P$

Les phospholipides sont des lipides possédant un côté hydrophile et un autre hydrophobe. Sa partie hydrophile (la tête) étant en contact avec l'espace extracellulaire et sa partie hydrophobe (la queue, qui est composée d'acides gras) avec l'intérieur de la cellule.

6-Phosphatidyléthanolamine $C_{40}H_{80}NO_8P$

Une phosphatidyléthanolamine (PE), appelée aussi céphaline est un phosphoglycéride constitutif des membranes biologiques. Les phosphatidyléthanolamine sont formées d'un résidu de glycérol estérifié par deux acides gras et un résidu de phosphoéthanolamine.

7-Phosphatidylsérine $C_{44}H_{86}NO_8P$

La Phosphatidylsérine (PS) est un phospholipide (deux acides gras estérifiés sur une molécule de glycérol, elle-même liée à un acide phosphatidique), dont le groupement phosphate est associé à un acide aminé.

8-Phosphatidylinositol $C_{49}H_{87}O_{13}P$

Un Phosphatidylinositol est un phospholipide qui est composé d'un acide phosphatidique (deux acides gras estérifiant une molécule de glycérol, elle-même liée de façon covalente à un acide phosphorique) .

9-Triglycérides

Les triglycérides appelés aussi triacylglycérol sont des glycérides dans lesquels les trois groupes hydroxyle du glycérol sont estérifiés par des acides gras. Ils sont le constituant principal des graisses animales et des huiles végétales.

- 1-Zaaboube. H. Benrahou A. 2014.** Etude de la conformation et de la composition des œufs de la poule locale. Comparaison avec les œufs de souche commerciale. Mémoire Master Université Abou berk Belkaid-Tlemcen.
- 2-Guérin-Dubiard, C. Anton, C, M. Gautron, J. Nys, Y. 2010,** Composition de l'œuf. Science et technologie de l'œuf. Volume 2. Thapon. P. 1-176.
- 3- Liébecq, C, 1992.** International Union of Biochemistry and Molecular Biology .Biochemical Nomenclature and Related Documents, 2^e éd, Portland Press
- 4-Théodore Gobley, 1847.** Phosphatidylcholine (Choline).Journal de Pharmacie et de Chimie.vol 20.
- 5-Lichan, E., Nakai, S. 1989.** Biochemical basis for the properties of egg white. Critical Reviews of Poultry Biology, 2: p.21-58.
- 6-Nau, F.2010.** Structure et formation de l'œuf, 1 : Lavoisier, Paris. P 161-250.
- 7- Cansell, M., 2007.** Use of egg compounds for cosmetics and pharmaceuticals, in: Bioactive Egg Compounds. Springer. P. 249-257.
- 8- Küllenberg, D. Taylor, L. A. Schneider, M. Massing, U. 2012.** Health effects of dietary phospholipids. Volume11. P. 1-16.
- 9- Ruxton, C.H.S. Reed, S.C.Simpson, M.J.A. Millington K.J., 2007.** The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids. Vol 20. p 275-285
- 10- Bligh, E. G., Dyer, W. J., 1959.**A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37: 911-917.
- 11- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G. H. 1957.**A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226:497-509
- 12-Malley A., Beacher L., Mackler D., Perlman F., 2004.** The isolation of allergens from the green pea . Journal. Allergy. Clin. Immunol, 56(4). 282-290 p.
- 13-Jordan, S. Moshiri, B. Durand, R. 2002.** Automation of liquid-liquid extraction using phase boundary detection. Volume 1. P 74-77.
- 14-Jean Claude, A., 2010.** Extraction liquide-liquide : théorie, application, difficulté. 22(2). P. 51-59.
- 15-Wingfors H, Hansson M, Papke O, Bergek S, Nilsson CA, Haglund P.2005.** Sorbent assisted liquid-liquid extraction (Chem-Elut) of polychlorinated biphenyls, dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in the lipid fraction of human blood plasma. 58 (3). P 311-320.
- 16-Godon B., Loisel W., Buré J. ; 1984.** Guide pratique d'analyse dans les industries des céréales. Tec & Doc .Lavoisier. Aparia Ed.685p.

- 17-Séverine, D.2003.**dosage de polymorphisme. Spectrométrie IRTF et chimiométrie application aux formes polymorphes du CL 20.
- 18- TOUMI-NOUR, N. 2016.** Synthèse et caractérisation de bioverres poreux par utilisation des phospholipides comme tensioactifs. UNIVERSITE D'ORAN Ahmed Ben Bella. P 47.
- 19-
- 20-Hamzaoui Ghat, I et Hammoudi, L., 2015.**étude de la complexation de Nickel par des dioxines application à la conversion de H₂O₂. P8.
- 21-Kassem Alsayed, M., 2007.** Extraction, fractionnement et caractérisation des lipides polyinsaturés d'œufs de la truite ARC-EN-CIEL. p61.
- 22- Michel N., Grambow B., 2006.** Propriété de surface ou du solide : Solubilité des solides dans l'eau . P 1, 53
- 23-Mathieu, J.P, Kastler, A, Fleury, P. 1985.** *Dictionnaire de physique*, 2^e éd., Masson Eyrolles, Paris, 1985 (ISBN 2-225-80479-6).
- 24-Rouessac.** Analyse chimique " Méthodes et techniques instrumentales modernes ". Masson.
- 25-Salesse, C., 1982.** Caractérisation des phospholipides des segments externes des bâtonnets rétinien.
- 26-Brownin, D. R. G., 1974.** Méthodes Spectroscopiques. Masson. Paris.
- 27-Werner J. Bauer, Raphaël Badoud , Jürg Löliger. 2010.** Science et technologie des aliments: principes de chimie des constituants et de technologie des procédés, PPUR Presses polytechniques.
- 28-Frénot M., Vierling E., 1997.** Biochimie des aliments Diététique du sujet bien portant. Doin Ed .285p.

Résumé

Le principal objectif de notre présent travail est d'extraire la lécithine et l'ovalbumine de l'œuf de poule en se basant sur des méthodes d'extractions faciles à mettre en œuvre au laboratoire.

Pour obtenir la lécithine du jaune d'œuf nous avons envisagé deux techniques d'extraction celle de Bligh Dyer et la technique par précipitation.

L'extraction de l'ovalbumine depuis le blanc d'œuf a été conduite selon deux protocoles. Le premier basé sur la technique de dilution et l'autre sur l'extraction en milieu acide.

Les différents extraits obtenus de lécithine et d'ovalbumine ont fait objets de caractérisation. Nous nous sommes basé sur des tests physico-chimiques, la spectroscopie IR et le MEB.

Les principaux résultats obtenus ont montré que la lécithine et l'ovalbumine extraites sont des produits apolaires insolubles dans l'eau à température ambiante mais solubles dans quelques uns des solvants organiques testés.

L'analyse IR nous a permis de conclure que la lécithine est un mélange de plusieurs classes de phospholipides. Par contre l'ovalbumine comporte un ensemble d'acides aminés.

Mots clés : lécithine ; ovalbumine ; œuf, extraction ; IR ; MEB

Abstract

The aim of present work is to extract lecithin and ovalbumin from chicken eggs based on easy extraction methods tested in laboratory.

To obtain the egg yolk lecithin we have considered two techniques the Bligh Dyer's extraction and precipitation technique. Extraction of ovalbumin from the egg white was conducted according to the dilution's technique and the extraction in acidic medium.

Different extracts obtained for lecithin and ovalbumin were characterized by physicochemical tests, IR spectroscopy and SEM.

The main results obtained showed that lecithin and ovalbumin extracted from chicken eggs are non polar, insoluble in water at room temperature and soluble in some of the organic solvents tested.

The IR analysis allowed us to conclude that lecithin is a mixture of several classes of phospholipids. On the other hand, ovalbumin contains a set of amino acids.

Key word: lecithin, ovalbumin, egg, extraction, IR, SEM