

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTER DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABD EL-HAMIDE IBN BADIS

MOSTAGANEM

FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DE L'INFORMATIQUES DEPARTEMENT DE CHIMIE

MEMOIRE

Présenté pour obtenir le diplôme de

MASTER II EN CHIMIE

Option: ANALYSE SPECTRALE EN CHIMIE

Par

BELHADJ FATMA

CARACTÉRISATION ET L'ETUDES DES COLORANTS ALIMENTAIRES

Date de soutenances: 28/05/2015

Membres de jurys :

Président : Dr H.BELHAKEM université de Mostaganem.

Examinateur : M.A S.BOURAHLA université de Mostaganem.

Encadreur : M.A A.KADI université de Mostaganem.

ANNEE UNIVERSITAIR: 2014-2015

SOMMAIRE

Introduction	l
CHAPITRE I : Les colorants	
I.1.Définition.	2
I.2.Les colorants alimentaires.	2
I.2.1. Historique.	2
I.2.2.Définition.	3
I.2.3.Nature des colorants alimentaires	3
Colorants naturels.Colorants synthétiques.	
I.3. Stabilité des colorants alimentaires.	4
I.4. Les effets des colorants alimentaires sur la santé	5
I.4.1.des effets néfastes	5
I.4.2.des effets bénéfiques.	6
I.5. Réglementation	7
I.6. Les colorants autorisés en Europe	8
I.7. La dose journalière admissible	
I.8. Le pouvoir colorant	12
CHAPITRE II: l'absorption	
II.1.Généralités sur la couleur.	13
II.2. Lien entre la structure moléculaire et la couleur	14
II.2.1. Chromophore	14
II.4.2. Auxochrome	15
II.3. Les effets de l'absorbance.	15
II.4. Les effets influences sur l'absorbance.	15
II.4.1. Les effets de solvants	15
II.4.2. Les effets de conjugaison.	16

II.4.3. Les effets de substitution.	16
II.5. Spectroscopie d'absorption dans l'UV-Visible	16
II.5.1. Définition.	16
II.5.2. Demain spectral	16
II.6. Spectrophotométrie UV-visible.	16
II.6.1. Définition	16
II.6.2. Le spectrophotomètre	17
II.6.3. Le principe.	17
CHAPITRE III : étude des colorants alimentaires	
III.1.safran	19
III.1.1. Définition.	19
III.1.2. Les type de safran	20
Safran en filamentSafran en poudre	
III.1.3. Les composition de safran	21
 L'α-crocine. La picrocrocine. Le safranal. III.1.4. classification du safran. 	21
III.2. Curcumine.	
III.3. Tartrazine.	
	24
CHAPITRE IV : partie expérimental	25
IV.1. Le but	
IV.2. L'effet de solvant	
IV.3. L'effet de pH	
IV.4. L'effet de la température	
IV.5. Résultats et discussion.	27
IV.6. Conclusion.	33

Conclusion générale.	34
Références bibliographique.	35

I. LES COLORANTS:

I.1.Définition:

Un colorant est une substance chimique colorée capable de transmettre sa coloration à d'autre corps [1], est un composé organique insaturé et aromatique [2].

Les premières matières colorantes étaient d'origines végétales ou même animales. A l'heure actuelle, presque la totalité des matières colorantes employées sont des dérivées des hydrocarbures contenus dans le goudron de houille [1]. La coloration d'une molécule est due à la présence de groupements fonctionnels appelés : « groupements chromophores », absorbe certaines radiations composantes la lumière [3].

I.2.Les colorants alimentaires :

I.2.1. Historique:

Avant 1850, les colorants alimentaires étaient d'origine naturelle (safran, cochenille, caramel, curcuma, rouge de betterave). Les premiers colorants artificiels datent donc de la seconde moitié du XIXème siècle, et sont, au départ, préparés à partir des produits de distillation de la houille.

Devant la multiplication des substances proposées, l'idée de la liste positive fait son chemin et est adoptée en France en 1912. De nombreux amendements viennent modifier cette liste, à cause de problèmes toxicologiques, qui entraînent notamment l'interdiction du jaune de beurre et du ponceau 3 M. En 1962, la CEE propose une liste de colorants qui est adoptée en France en 1963. Elle comporte 38 colorants d'origine variée mais dont la pureté est définie. En 1977, et sur recommandation de la CEE, neuf colorants sont retirés de la liste des additifs autorisés, pour cause de dossier toxicologique incomplet (chrysoïne S, jaune solide, orange GGN, orseille, écarlate GN, ponceau 6 R, bleu anthraquinonique, noir 7984, terre d'ombre brûlée).

Depuis, la législation européenne a encore évolué. La dernière phase de proposition du Parlement Européen sur les colorants fut émaillée par le dépôt de plus de cent amendements en première lecture par les socialistes et les écologistes, réclamant des restrictions plus sévères sur l'emploi de ces substances et l'interdiction totale d'un certain nombre d'entre eux. Sous la pression de l'industrie agro-alimentaire, la moitié des amendements fut supprimée. Mentionnons la position très inconfortable de la Grande-Bretagne qui, traditionnellement, est une grande utilisatrice de colorants dans l'industrie alimentaire. Finalement, la directive sur les colorants a été adoptée le 30 Juin 1993.

I.2.2.Définition:

Le terme de colorant désigne toute substance colorée utilisée pour changer la couleur d'un support (textile, papier, aliment, etc.) ; un colorant est appelé « teinture » s'il est soluble dans le milieu qu'il colore, ou « pigment » s'il est insoluble. Son origine peut être naturelle (organique ou minérale) ou synthétique.

Les colorants alimentaires sont utilisés pour ajouter de la couleur à une denrée alimentaire, ou pour en rétablir la couleur originale.

Les colorants alimentaires ajoutent de la couleur aux aliments, pour les rendre théoriquement plus appétissants et réhaussants [4].

I.2.3. Nature des colorants alimentaires:

C'est un composé chimique colorée naturels qui se trouve dans la nature sous forme des plantes (ex : safran) ou synthétiques (liquide ou poudre....) en générale organiques [5]. La terminologie industrielle moderne définit un colorant comme un produit contenant le colorant organique pur avec différents additifs et agents de couplage, qui facilitent son utilisation [2].

Il existe deux types de colorants :

I.2.3.1.Colorants naturels:

Il existe une dizaine de colorants naturels, alors que l'on compte des milliers de colorants synthétiques [6].

Jusqu'en 1850, les colorants alimentaires ont été d'origine naturelle. C'était des colorants pour la plupart organiques qui provenaient :

- de végétaux comestibles (carotte [orange], betterave [rouge], peau de raisin noir [noir], ...)
- d'extraits d'origine animale ou végétale non habituellement consommée (rouge cochenille provenant d'un insecte d'Amérique centrale [Coccus Cacti], stigmate de crocus [safran], ...)
- du résultat de la transformation de substances naturelles (caramel [marron], ...). Les colorants naturels sont extraits des plantes, des arbres, des lichens ou insectes et des mollusques [2].

Exemple : Caroténoïdes (E 160a à E 160f)

Les caroténoïdes sont des pigments naturels, très largement répandus dans la nature, et possédant des teintes brillantes : jaune, orange, rouge de nombreux fruits comestibles (citrons, pêches, abricots, oranges, fraises, cerises, tomates...), de légumes (carottes), de champignons (girolles), d'animaux (œufs, homards, langoustes, poissons divers...).

Le β -carotène est sans doute le plus connu de tous les caroténoïdes. Il est insoluble dans l'eau, l'éthanol, légèrement soluble dans les graisses végétales. Il a une activité vitaminique A.

Figure 1 : structure chimique de *Le* β -carotène

I.2.3.2. Colorants synthétiques :

Les colorants synthétiques sont des composés synthétisés à partir de premier chaine principale de base telle que le benzène..... qui sont eux même issu synthétisée des huiles [7].

Exemple:

Bleu patenté V (E131) : est un composé chimique de couleur bleu-foncé. Il est utilisé en agroalimentaire comme colorant (dans les bonbons Schtroumpf).

Figure 2 : structure chimique de Bleu patenté

I.3. Stabilité des colorants alimentaires :

Les colorants alimentaires les plus sensibles sont les pigments naturels dont la stabilité sera conditionnée par la composition de l'aliment, le procédé de fabrication utilisé, l'emballage et la date limite de consommation. Les principaux facteurs intervenant sont :

Tableau 1 : Les facteurs qui influencé sur les colorants alimentaires

Facteurs	Effets	Solutions éventuelles
Lumière	Décoloration	Conservation à l'abri de la lumière
рН	Dépôts à pH bas	Micro encapsulation
	Changements de couleur	
Chaleur	Pas de Changement de couleur	/
Oxydations	Dégradations, décolorations	Microencapsulation
		Antioxydants (Acide ascorbique,
		BHA, BHT,)
Métaux	Dégradation	Agents chélatants (séquestrants)
	Dépôts de calcium	
SO2	Décoloration	Limiter l'emploi de SO2, le
302		remplacer par
		d'autres antioxydants

I.4. Les effets des colorants alimentaires sur la santé :

Après avoir étudié certaines propriétés chimiques des colorants alimentaires, intéressons-nous maintenant à leurs effets sur la santé et à leur réglementation, leurs dangers étant souvent ignorés des consommateurs.

I.4.1.des effets néfastes :

Parmi tous les aliments, rares sont ceux qui ne contiennent pas de colorants (naturels ou synthétiques). Or, l'absorption de ceux-ci n'est pas toujours sans conséquences pour notre santé. En effet, certains sont responsables d'intolérances. Seul le rouge de la cochenille E124 provoque, dans quelques rares cas, des allergies. Il met ainsi en jeu le système immunologique contrairement à l'intolérance. Plus grave, d'autres sont mutagènes et génotoxiques ou encore provoquent des cancers de la thyroïde voire même des tumeurs des glandes surrénales et des riens chez les animaux. Ces derniers effets sont cependant rarissimes et ne surviennent que si l'on en ingère de fortes doses.

Les colorants alimentaires que l'on peut considérer comme toxiques pour l'être humain et à éviter sont la Tartrazine E102 et l'Amarante E123 (interdit aux Etats-Unis et très réglementé en France). Ces additifs sont entre autre suspectés de jouer un rôle dans le syndrome d'hyperactivité et pourraient contenir des substances cancérigènes. Ceci dit, les réactions d'intolérance liées aux colorants alimentaires en générale ne sont pas de meme nature voici la liste de celles le plus fréquemment observées :

-Action sur le système nerveux central : interférence avec la neutrasmission de type GABA-ergique ; synthèse excessive d'acétylcholine (composant du neurotransmetteur) ou encore présence d'amines biogènes.

-Action sur le système nerveux dit « périphérique » : effet excitant (tels l'Amarante et la Tartrazine) et anomalie des récepteurs neuroniques.

- -Inhibition ou déficit de certains enzymes.
- -Augmentation de la perméabilité intestinale.

I.4.2. Des effets bénéfiques :

Heureusement pour le consommateur, tous les colorants alimentaires ne sont pas dangereux pour la santé. C'est le cas du Lycopène E160d et du \(\beta\)-carotène E160a. Ces deux colorants appartiennent à une même famille : les caroténoïdes que l'on retrouve dans presque tous les fruits et légumes.

Le Lycopène :

Le Lycopène est un antioxydant qui, une fois absorbé par l'organisme, aide à protéger et à réparer les cellules endommagées. Les antioxydants ont démontré leur capacité à empêcher l'oxydation de l'ADN, laquelle serait à l'origine des cancers. Selon de récentes études il préviendrait l'apparition de certains cancers (de la prostate, du poumon, du sein, de l'appareil digestif), de maladies cardio-vasculaires ainsi que la dégénérescence maculaire. L'organisme ne produit pas de Lycopène. On le trouve alors dans le pamplemousse, la goyave et le melon d'eau mais c'est la tomate la plus grande source de Lycopène. De surcroît, il a été démontré qu' il est mieux absorbé par le corps et encore plus concentré s'il provient de produits industriels comme le coulis de tomate plutôt que de tomates fraîches.

Leß-carotène:

Le rôle du β-carotène est similaire à celui de la vitamine A. D'ailleurs il est aussi appelé 'provitamine A'. Il doit en effet être digéré avant d'être transformé en vitamine. Dans les cellules de la paroi intestinale, le β-carotène est transformé en rétinol (proche de la vitamine A) et couvre ainsi les besoins indispensables de l'organisme. Il joue lui aussi un rôle très important dans la prévention des cancers et il est recommandé dans le cas de vieillissement prématuré et de troubles de la vision. Il est présent dans les épinards, la betterave, les carottes, les abricots, les melons...

Ces substances que sont le Lycopène et le \(\beta\)-carotène ne font paradoxalement pas partie des éléments qualifiés de nutritifs par les autorités de la santé. Prises à fortes doses, elles peuvent être toxiques (surtout le rétinol) et il faudra attendre des études de plus grandes envergures pour définir véritablement leurs bienfaits direct sur la santé.

I.5.Réglementations:

Les colorants alimentaires sont testés par différents organismes à travers le monde qui donnent parfois des avis différents sur leur innocuité. Aux États-Unis, l'acronyme « FD&C » (indique que l'additif est approuvé comme colorant alimentaire, pour les médicaments et cosmétiques) le nombre considéré est donné pour les composés artificiels, tandis que l'Union européenne utilise le préfixe E suivi du numéro international (Le chiffre 1 pour les centaines (E1xx) indique que l'additif est un colorant. Les dizaines et unités indiquent la teinte. En 2007, la commission européenne a interdit l'utilisation du colorant rouge alimentaire Rouge 2G (E128) car son innocuité pour la santé n'était plus prouvée.

La réglementation touchant les colorants alimentaires, ou plutôt les additifs alimentaires en général, est régie sur trois niveaux :

-Au niveau international par la FAO (Food and Agriculture Organization), l'OMS (Organization Mondiale de la Santé) ou encore la WHO (World Health Organization).

-Au niveau européen selon un protocole strict : « codex alimentarius » qui regroupe une multitude d'établissements.

-Au niveau national par le Conseil Supérieur d'Hygiène publique de France et l'Académie de Médecine.

I.6. Les colorants alimentaires autorisés en Europe :

Ils sont ajoutés aux aliments essentiellement pour les raisons suivantes :

- compenser les pertes de couleur dues à l'exposition à la lumière, à l'air,
 à l'humidité et aux variations de température ;
- renforcer les couleurs naturelles ;
- ajouter de la couleur à des aliments qui, dans le cas contraire,
 n'auraient pas de couleur ou une couleur différente.

Les colorants alimentaires autorisés en Europe sont dotés d'un numéro de code précédé de la lettre E et composé de trois chiffres dont celui des centaines est le 1.

Celui des dizaines correspond à leur couleur :

- 0 pour le jaune ;
- 1 pour l'orange;
- 2 pour le rouge ;
- 3 pour le bleu;
- 4 pour le vert ;
- 5 pour le brun ;
- 6 pour le noir;
- 7 pour les colorants minéraux ;
- 8 pour les colorants spéciaux.

Il est important de retenir que la répartition des colorants se fait dans la masse et reste stable contrairement aux pigments qui sont insolubles et colorent uniquement la surface sur laquelle on les applique.

La sécurité de tous les colorants alimentaires autorisés dans l'Union européenne (UE) fait l'objet d'une évaluation scientifique rigoureuse, effectuée par les experts scientifiques du groupe ANS (Alimentation, Nutrition, Sécurité); leurs résultats sont publics. Le règlement n° 257/2010 de la Commission établit un programme pour la réévaluation des additifs alimen-

taires (45 au total seront réétudiés d'ici 2015), en fonction des nouvelles données scientifiques accessibles et de diverses allégations concernant leur innocuité. A cette occasion, la Dose Journalière Acceptable « DJA », peut être réévaluée.

Six colorants alimentaires ont été réexaminés en priorité en 2010. Pour trois d'entre eux : le jaune de quinoléine (E 104), le jaune orangé (E110) et le Ponceau 4R (E124)), la DJA a été réduite, sans modification pour 1 zes trois autres, la tartrazine (E 102), l'azorubine/carmoisine (E22) et le rouge Allura AC (E 129). L'ANS a notamment conclu qu'aucune preuve de l'existence d'un lien de cause à effet entre les colorants individuels et d'éventuels effets sur le comportement, notamment chez les enfants n'a été établi, contrairement à certaines allégations. Des avis pour les colorants alimentaires du groupe 1 et 2, prioritaires, ont été émis le 15 avril et le 31 décembre 2010. Des nouvelles évaluations sont attendues pour les 31 juillet (E 131 et 170) et le 31 décembre 2011 (E32). Les avis pour le dernier groupe sont attendus fin 2015.

Tableau2: les colorants autorisés, caractéristiques et utilisations

Code	Nom usuel	Origine	Utilisation	D.J.A	Effet(s) sur la santé
E 100	Curcumine	Extrait du curcuma	Moutarde, potages, produits laitiers	Aucune	A forte dose, stimule les sécrétions biliaires
E 101	Riboflamine	Origine végétale	Produits laitiers, pâtisserie, desserts	Aucune	Bénéfique car c'est la vitamine B2
E 102	Tartrazine	Synthétique	Nombreux aliments et médicaments	7.5	Rend hyperactif, cancérigène, mutagène
E 104	Jaune de quinoléine	Synthétique	Liqueurs, boissons, bonbons	0,75	Cancérigène ; interdit en Australie, U.S.A
E 110	Jaune-orangé S	Synthétique	Nombreux aliments	2,5	Rend hyperactif, cancérigène, tumeurs rénal chez les animaux. Cancérigène ?
E 120	Cochenille, Carmin	Origine animale	Apéritifs, charcuterie, produits laitiers	Aucune	Risque d'intolérance mineure
E 122	Azorubine	Synthétique	Nombreux aliments	2,0	Rend hyperactif, cancérogénicité controversée
E 123	Amarante	Synthétique	Caviar seulement en France (très réglementé), interdite aux Etats-Unis	0,75	Rend hyperactif, cancérigène, dépôts calcaires dans les reins chez les animaux
E 124	Rouge cochenille	Synthétique	Nombreux aliments	0,15	Rend hyperactif, cancérigène
E 127	Erythrosine	Synthétique	Bonbons, fruits au sirop, fruits confits	2,5	Cancer thyroïde chez les animaux, influence sur les fonctions nerveuses
E 131	Bleu patenté V	Synthétique	Glaces, bonbons, liqueurs	2,5	Cancérogénécité non établie, interdit en Australie
E 132	Indigotine	Synthétique	Nombreux aliments	5,0	Innocuité très mal connue
E 140	Chlorophylle	Naturel végétal	Très rare en France	Aucune	Considéré inoffensif
E 141	Cuivre + chlorophylle	Naturel + cuivre	Très rare en France	15,0	Problématique pour certaines maladies

E 142	Vert acide brillant	Synthétique	Bonbons, desserts, liqueurs	5,0	Serait cancérigène
E 151	Caramel	Naturel végétal(issu du maïs transgénique)	Nombreux aliments	Aucune	Considéré comme inoffensif
E 151	Noir brillant BN	Synthétique	Bonbons, glaces	0,75	Rend hyperactif, diminue activité enzymes
E 153	Charbon végétal médicinal	Naturel végétal	Nombreux aliments, autorisé en France pour le fromage de chèvre biologique	Aucune	Considéré comme inoffensif
E 160*	Caroténoïdes	Naturel ou synthétique	Nombreux aliments	Aucune	Bénéfique car c'est la vitamine A
E 161*	Xanthophylles	Naturel végétal	Potages, charcuteries, condiments	Aucune	Considéré comme inoffensif
E 162*	Bétanine	Naturel végétal	Nombreux aliments	Aucune	Considéré comme inoffensif
E 163*	Anthocyanes	Naturel végétal			
E 170	Carbonate de calcium	Minérale	Très rare en France	Aucune	Considéré comme inoffensif
E 171	Dioxyde de titane	Minérale	Très rare en France, utilisé pour toute l'A.B	Aucune	Considéré comme inoffensif
E 172	Oxydes de fer	Minérale	Très rare en France	Aucune	Cancérogénécité non établie
E 173	Aluminium	Minérale	Rare en France, utilisé pour certains aliments de l'A.B	Aucune	Considéré comme inoffensif
E 174	Argent	Minérale	Enrobage des confiseries au sucre	Aucune	Suspecter de faire apparaître la maladie d'Alzheimer
E 175	Or	Minérale	Enrobage des confiseries au sucre	Aucune	Empoisonnement des reins
E 180	Pigment rubis	Synthétique	Enrobage des confiseries au sucre Seulement croûtes de fromage comestibles	Aucune	Perturbation formule sanguine Rend hyperactif, cancérigène?

I.8. La Dose Journalière Admissible (DJA):

La DJA est la quantité d'une substance qu'un être humain peut ingérer chaque jour au cours de son existence sans risque notable pour sa santé. De ce fait, même si une personne dépasse la DJA pour une substance donnée, cela n'aura pas forcément d'effets négatifs sur sa santé. On exprime généralement la DJA en mg/kg/j.

I.9.Pouvoir colorant:

Le pouvoir colorant d'une couleur est déterminé par le type de pigment, la quantité de pigments et le raffinement du broyage. Plus on broie le pigment, plus son pouvoir colorant est élevé. Plus le pouvoir colorant d'une peinture est élevé, moins il faut de pigment pour influencer une autre couleur.

Pouvoir colorant=Absorbance₄₄₀ x 250

Le pourcentage de crocine sera donné par :

% Crocine = $4.9.10^{-2}$ x pouvoir colorant.

II.1. Généralités sur la couleur :

La couleur est due aux ondes lumineuses. Ces ondes naissent de sources produisant de la lumière (soleil). Notre œil ne peut percevoir que les longueurs sont comprises entre 400 et 700nm.

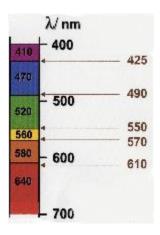


Figure3: Les différentes longueurs d'ondes correspondent à des couleurs différentes.

- de 400 à 425 nm violet - de 550 à 570 nm jaune

- de 425 à 490 nm bleu - de 570 à 610 nm orange

- de 490 à 550 nm vert - de 610 à 700 nm rouge

La lumière blanche est composée d'ondes lumineuses de toutes les longueurs. Lorsque le rayon atteint un corps (exemple : colorant alimentaire), il peut se passer plusieurs phénomènes :

-si toutes les ondes lumineuses sont absorbées par le corps, celui-ci nous apparait noir.

-si elles sont réfléchies, le corps est blanc

-lorsque la lumière est partiellement absorbée indépendamment de la longueur d'onde, le corps est gris

-lorsque le corps absorbe dans une certaine longueur d'onde, le corps est coloré.

La couleur du corps sera la couleur complémentaire à celle correspondant à la longueur d'ondes absorbée : le violet est complémentaire au jaune, le bleu à l'orange et le vert au rouge et inversement.

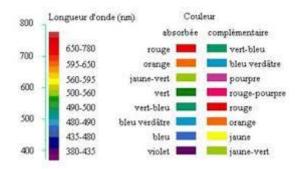


Figure 4 : Schéma des couleurs complémentaires.

II.2. Lien entre la structure moléculaire et la couleur :

Nous avons vu que la couleur est due aux ondes lumineuses projetées par les sources de lumière, nous allons voir maintenant comment un colorant peut absorber ses ondes pour donner une couleur. Pour cela, nous allons étudier leur structure moléculaire.

C'est le chimiste allemand Witt qui a introduit la théorie du pouvoir colorant. En faisant réagir des composés colorés avec de l'hydrogène, on constate une décoloration du composé. Witt en a déduit que toute molécule colorée renferme des groupes d'atomes insaturés, c'est-à-dire qu'ils possèdent une ou plusieurs doubles liaisons (l'hydrogénation n'ayant lieu que dans les zones présentant des liaisons multiples).

En distingue deux types des groupes responsables de la couleur des colorants :

II.2.1. Chromophore : c'est le groupe fonctionnel qui responsable de la couleur du colorant. Ce sont des systèmes moléculaires très insaturés. Ces groupes peuvent renfermer des

groupes azoïques (
$$-N=N-$$
), nitrés ($-N=0$), nitrosés ($-N=0$), carbonylés ($-N=0$), fonctions alcènes

Ces doubles liaisons doivent être nombreuses pour que le corps soit coloré.

Les molécules ne possédant que des groupes chromophores sont appelés des chromogènes. Bien que colorés, les chromogènes ne sont pas des colorant, pour en devenir, ils doivent posséder des groupes salifiables (c'est-à-dire des groupes susceptibles de se transformer en sel). Ils existant sous forme ionique. Ils absorbent certaines longueurs d'onde de la lumière, et apparaissent ainsi colorés.

II.2.2.Auxochrome : c'est le groupe qui permet de la fixer sur le produit ; ce sont essentiellement des groupes acides (COOH, SO₃H, OH) ou basiques (NH₂, NHR, NR₂). C'est par leur caractère polaire, qui permet la formation de liaisons ioniques, que les auxochromes permettent cette fixation sur le substrat. Ils possèdent une autre propriété importante qui est d'amplifier la couleur, c'est-à-dire d'élargir la bande d'adsorption de la lumière. Ces colorants pénètrent dans la masse de l'aliment, car ils sont solubles, soit dans les graisses, toujours présentes.

II.3.Les effets de l'absorbance :

- **Effets bathochrome :** si le déplacement les bande d'absorption (A) vers les grand (λ) .
- **Effets hypsochrome :** si l'inverse de bathochrome.
- **Effets hyperchrome :** si l'auguementation de ε .
- **Effets hypochrome :** si la duminition de ε .

II.4.Les effets influençant sur l'absorbance

II.4.1. Les effets de solvants :

Lors de la mise en solution d'un soluté est l'existe les interactions soluté-solvant qui sont très différents suivant que le solvant polaire ou non.

En effet si un solvant:

- -est polaire, il stabiliser les formes polaire de la molécule.
- -est non polaire, il stabiliser les formes non polaire.

II.4.2.Les effets de conjugaison :

L'enchainement d'instauration entraine la délocalisation des électrons π . Cette délocalisation facilitée de mouvement des électrons accompagnée d'un rapprochement des niveaux d'énergies

II.4.3.Les effets de substitution :

La position de la bande de l'absorbance dépend de la présence ou non des autres sur le groupement chromophorme.

II.5. Spectroscopie d'absorption dans l'UV-Visible :

II.5.1. Définition :

La spectroscopie d'absorption dans l'UV et le visible est une méthode très commune dans les laboratoires. Elle est basée sur la propriété des molécules d'absorber des lumineuses de longueur d'onde déterminée.

II.5.2.Domaine spectral:

Le demain UV-visible s'étende environ de 800 à 10 nm

Visible: 800 nm (rouge) -400 nm (indigo)

Proche-UV: 400 nm -200 nm

➤ UV-lointain: 200 nm – 10 nm

II.6. Spectrophotométrie UV-Visible

II.6.1. Définition :

La spectrophotométrie est une méthode d'analyse quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou densité optique d'une substance chimique donnée en solution [8] plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncée par la loi de Beer-lambert.

La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonnée sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier [2].

II.6.2. Le spectrophotomètre :

Le spectrophotomètre est constitué de :

- Sources de lumières visible.
- Un monochromateur permettant de générer à partir d'une source de la lumière visible. Il est formé d'un réseau qui disperse la lumière blanche.
- Une cuve contenant la solution étudiée, la longueur de la cuve est définie (1, 2, 4 ou 5cm du trajet optique). La condition principale de la cuve est d'être transparente aux radiations d'étude en plastique ou en quartz.
- Une cellule photoélectrique qui fournit un courant électrique proportionnel au nombre de photons qu'elle reçoit.
- Un détecteur ou récepteur physique pour mesurer le flux incident.
- Un appareil de mesure ou enregistreur qui reçoit, directement ou par l'intermédiaire d'un amplificateur, le courant est délivré par le récepteur.

II.6.3. Principe:

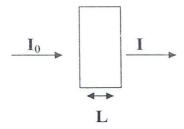


Figure 5 : schéma du trajet lumineux à travers une cuve d'un spectrophotomètre.

On cherche à savoir quelle est l'absorbance à chaque valeur de la longueur d'onde. On utilise donc un système de type monochromateur pour fixer la longueur d'onde et un photomultiplicateur vient enregistrer l'absorbance correspondante. Il suffit de faire varier la longueur d'onde sur une plage adéquate pour obtenir un spectre.

Une source de lumière est rendue mono chromatique à travers un système dispersant (prisme) ou un système diffractant (réseau). Le faisceau est dédoublé. Un faisceau traverse la cuve et l'autre sert de référence (passe à travers une cuve de solvant). Un photomultiplicateur enregistre le spectre de la transmission **T=I/I**₀ puis traite l'information de façon à donner l'absorption. Le spectre est ensuite affiché et traite par un ordinateur qui détermine les

différentes longueurs d'onde d'adsorption maximale ainsi que les absorptions correspondantes [9].

Cette dépendance est exprimée par la loi de Beer-Lambert donnée par la relation suivante :

A=Log (I/I₀) =Log (1/T) =
$$\varepsilon \ell C$$

Avec:

A: l'absorbance ou la densité optique de la solution pour une longueur d'onde λ.

I, Io: intensité du faisceau émergent et incident.

C: concentration de l'espèce absorbée (mol /l).

l: épaisseur de la cuve (en cm).

 ϵ : coefficient d'absorption molaire.

III.1. Safran

III.1.1.définition:

Le safran est une épice extraite de la fleur d'un crocus, le crocus sativus L. on l'obtient par déshydratation de ses trois stigmates rouges, dont la longueur varie généralement entre 2,5 à 3,2 cm. Le style et les stigmates sont souvent utilisés en cuisine comme assaisonnement ou comme agent colorant. Le safran, poétiquement appelé « Or rouge », est l'épice la plus chère au monde. Il est originaire du Moyen-Orient. Il a été cultive pour la première fois dans les provinces grecques, il y a plus de 35 siècles.

Le safran est caractérisé par un gout amer et un parfum proche de l'iodoforme ou du foin, causés par la picrocrocine et le safranal. Il contient également un caroténoïde, la crocine, qui donne une tonalité jaune-or aux plats contenant du safran. Ces caractéristiques font du safran un ingrédient fortement prisé pour de nombreuses spécialités culinaires dans le monde entier, notamment dans la cuisine persane. Le safran possède également des applications médicales [10].



Figure6 :fleur de safran

Composant	Masse(%)
Glucides	12,0-15,0
Eau	9,0-14,0
Polypeptides	11,0-13,0
Cellulose	4,0-7,0
Lipides	3,0-8,0
Minéraux	1,0-1,5
Divers non-azotés	40,0

Tableau3: les compositions chimiques de safran

III.1.2. Les types de safran

III.1.2.1. safran en filaments:

Stigmates du crocus sativus L. constitués par la partie aérienne du pistil séché de la fleur ; ces stigmates peuvent être isolés ou réunis par deux ou trois à l'extrémité d'une portion du style qui est de couleur jaune-blanc et ont une longueur variant entre 20nm et 70nm ; ils sont de couleur rouge foncé, enroulés en comets et crénelés à leur extrémité distale.



Figure7: safran en filament

III.1.2.2.safran en poudre:

Il est obtenu par broyage des filaments.



Figure8: safran en poudre

III.1.3.Les composition de safran :

Les composés actifs du safran sont principalement des composés volatils5terpènes et aldéhydes) et des pigments (caroténoïdes et carotènes)

III.1.3.1.L'α-crocine

Un caroténoïde responsable de la couleur jaune-orange or du safran. C'est un pigment présent à hauteur de 10% dans la masse du safran frais. L'α-cricine est un colorant idéal pour tous les aliments cuisinés avec de l'eau comme le riz ou les pates. La crocine fait partie des précurseurs de la vitamine A. Une fois parvenu dans l'intestin, une réaction le transforme en vitamine A. Cette vitamine joue un rôle en particulier au niveau des pigments de l'œil et des tissus de la rétine, favorisant une bonne vision. Elle aide aussi à la cicatrisation de la peau.

Figure9 : structure chimique de la crocine

III.1.3.2.La picrocrocine:

4-(β-D-glucopyranosyloxy)-2, 6,6-triméthylcyclohex-1-éne-1-carboxaldéhyde.

Est un composé donnant l'arome du safran. Cette molécule a des propriétés insecticides et pesticides, est présente à hauteur de 4% dans le safran sec. La picrocrocine est une version tronquée d'un caroténoïde, la zéaxanthine. La zéaxanthine est, par ailleurs, l'un des caroténoïdes naturellement présent dans la rétine de l'œil humain.

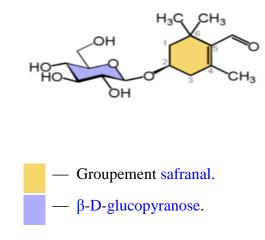


Figure 10: structure chimique de la picrocrocine (C₁₆H₂₆O₇)

III.1.3.3.Le safranal:

2, 6,6-triméthylcyclohexa-1,3-diéne-1-carboxaldéhyde.

Quand le safran est séché après sa récolte, l'augmentation de la température coupe la molécule de picrocrocine pour donner du β-D-glucopyranose et une molécule de safranal libre. Le safranal est une huile volatile (huile essentielle) donnant au safran la plus grande part de son arome. Il représente prés de 70% de la fraction volatile du safran sec dans certains échantillons.

III.1.4. Classification du safran:

Le safran est classé en trois catégories selon sa teneur en picrocrocine, safranal et crocine :

- Son goût, est déterminé par le taux de picrocrocine. C'est la puissance culinaire du safran. Ce condiment harmonise les saveurs et exalte le goût des aliments.
- Le safranal indique la force du parfum. Plus le safranal est élevé, moins est puissant le goût du safran. Le safranal se développe également avec l'âge. Au fil des années, le taux de picrocrocine diminue et se transforme en safranal. C'est pourquoi le vieux safran prend une odeur de plus en plus "piquante": il s'enrichit en safranal.
- La concentration en crocine donne le pouvoir colorant de l'épice.

La norme internationale ISO/TS 3632-2:2003 fixés les spécifications du safran obtenu à partir des fleurs de *Crocus sativus* [11].

Tableau4: classification de safran selon la Norme - ISO/DIS 3632-1:2010

Classification catégories star	des ndards (<u>ISO</u> 3632)	safran
Catégorie ISO	Absorbance de la valeur de (à λ =440 nm)	crocine (A_{λ})
I	> 190	
II	150–190	
III	110–150	
IV	80–110	
Source: Tarvar	nd (2005b)	

III.2. Curcumine:

La curcumine (E100) est un des constituants du curry et est extraite de curcuma longa, ou safran, cultivée en Extrême-Orient et à Madagascar.

Le produit, de couleur jaune orang é brunâtre, est soluble dans éthanol et l'acide acétique glacial (couleur jaune clair), dans les bases (couleur rouge brun) [12].

Figure11 : Structure chimique de la curcumine.

Groupes chromophores : groupes carbonylés, fonctions alcènes et cycles benzéniques famille des stilbéniques.

Groupes auxochromes: groupes hydroxyles OH.

III.3.Tartrazine:

La tartrazine (E102) est un colorant jaune à noyau pyrazole soluble dans l'eau. Elle est suspectée de présenter des risques d'allergie, tout particulièrement en association avec d'autres substances (dont l'aspirine et les substances à noyau pyrazole). Ceci ne l'empêche pas d'être un colorant synthétique parmi les plus utilisés, surtout à cause de son excellente stabilité [13].

Figure 12 : Structure chimique de la tartrazine.

Groupes chromophores : groupes azoïques et cycles benzéniques famille des azoïques.

Groupes auxochromes: groupe hydroxyle et fonctions amines N.

IV. Partie expérimentale

IV.1. Le but :

Le but de cette partie expérimentale c'est l'étude et caractérisation des 3 colorants (safran, curcumine, tartrazine) et l'effet de certains paramètres physico-chimiques tel que (T°, pH, et solvant) sur ces colorants, en déterminant leur pouvoir colorant.

IV.2.l'effet de solvant :

Objectifs:

On cherchera à savoir si le solvant a une incidence quelconque sur la couleur des colorants alimentaires étudiés.

Matérielle utilisée : la balance, agitateur magnétique, pro pipete, pissette.

Verrerie utilisée : fiole de jaugée (50ml, 500ml), pipete, verre de montre.

Produit utilisée : le solvant (eau distillée, éthanol), safran (naturelle en filament et synthétisée en poudre)

✓ Pour la solution (S1) on utilise le solvant est éthanol.

Mode opératoire :

- > peser 50mg d'épice de safran poudre (curcumine, tartrazine, safran)
- > mettre dans une fiole de jaugée de 50ml et introduire 5ml d'eau distillée
- > On Complète la fiole jaugée avec de l'éthanol jusqu'au trait de jaugée
- Diluer 5 fois dans l'éthanol
- ➤ Agiter environ 20min
- Après on mesure l'absorbance de la solution entre 200nm et 480nm
- ✓ Pour la solution S2 le solvant utilisé est eau distillé

Mode opératoire :

- > peser 50mg de safran
- > mettre dans fiole de jaugée de 500ml

- ➤ On agite pendant 20min
- ➤ Après on mesure l'absorbance de cette solution entre 400nm et 470nm

IV.3. L'effets de pH:

Objectifs:

On cherchera à savoir si le pH a une incidence quelconque sur la couleur des colorants alimentaires étudiés.

Mode opératoire :

- Dans un tube à essai, on introduire du safran en filament et on ajoute l'éthanol.
- > On bouche puis on agite la solution.
- > filtrer le mélange et recueilli le filtrat dans un bécher.
- Sur chaque support, on répartir dans cinq tubes à essai un des deux filtrats en faisant en sorte que les cinq tubes aient la même quantité.
- On ajoute ensuite dans les tubes à essai de chaque support une solution de pH différent pour chaque tube.

Tube1: on prépare une solution acide (pH=3)

Tube2: on prépare une solution (pH=4)

Tube3 : on utilise l'eau distillé (pH=neutre)

Tube4 : on prépare une solution basique (pH=8)

Tube5 : on prépare solution avec augmentation de la basicité (pH=9)

IV.4.L'effets de la température :

Objectifs:

On cherchera à savoir si la température a une incidence quelconque sur la couleur des colorants alimentaires étudiés.

Mode opératoire :

- On prépare 3 solutions de différents colorants avec l'eau distillé.
- On remplir 3 tubes à essai pour chaque colorant étudié.

• Et après on place un tube dans le bain marie avec thermomètre, un autre à température ambiante (tube témoin) et Le troisième dans le mélange glace-sel avec thermomètre. On va laisser ainsi 10 min et on compare les tubes.

IV.5. Résultats et discussion :

1-l'effet de solvant :

Pour la solution **S1** (le solvant est éthanol)

Tableau5: balayage de l'absorbance pour les trois colorants (S1)

λ (nm)	Abs (cur)	Abs (tar)	Abs (saf)
200	0,071	0,124	0,448
240	0,049	0,137	0,186
280	0,025	0,219	0,085
320	0,016	0,241	0,053
360	0,041	1,635	0,063
400	0,043	2,726	0,110
440	0,077	2,803	0,126
480	0,009	2,109	0,027

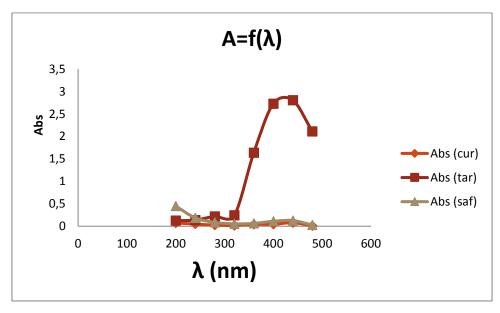


Figure 13: influence de solvant « éthanol » sur l'absorbance

✓ Safran naturelle : Abs₄₄₀ (saf)=0,126

Pouvoir colorant=0,126*250=31,5 31,5<100

%crocine=4,9.10⁻² *31,5=1,5%

Pour la solution S2 (le solvant : eau distillé)

Tableau6: balayage de l'absorbance pour les trois colorants (S2).

λ (nm)	Abs (cur)	Abs (tar)	Abs (saf)
400	0,104	0,111	0,043
410	0,119	0,126	0,060
420	0,127	0,136	0,078
430	0,125	0,136	0,087
440	0,116	0,127	0,077
450	0,097	0,106	0,052
460	0,069	0,078	0,027
470	0,042	0,048	0,014

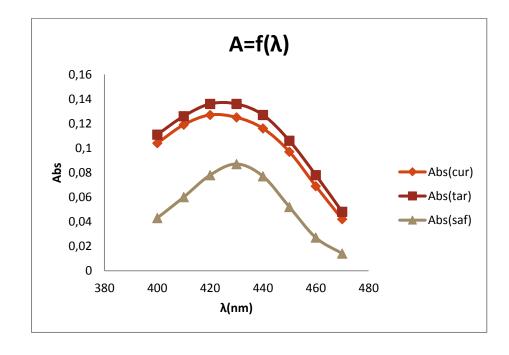


Figure 14 : influence de l'eau distillée sur l'absorbance

✓ Safran naturelle : Abs_{440} (saf)=0,077

Pouvoir colorant=0,077*250=19,3 19,3<100

%crocine=4,9.10⁻² *19,3=0,9%

Interprétation:

Selon les résultats que nous avons trouvés pour les deux types de solvant (l'eau distille, éthanol) on a remarqué que l'absorbance en présence d'éthanol est plus élève qu'en présence de l'eau distillé et à une longueur d'onde inferieur que dans l'eau distillé qui est due à la polarisation de l'état excité que l'état fondamental de l'échantillon (l'état excité plus polaire que l'état fondamental) de ce fait la forme excité est plus stabilisée par le solvant l'éthanol(polaire) d'où résultent les transitions électroniques de type $n \longrightarrow \pi^*$, $\pi \longrightarrow \pi^*$ et l'énergie de transition s'augmente. On peut observer deux phénomènes : l'effet bathochromique et hypsochromique

E augmente $\rightarrow \lambda$ diminue par augmentation de la polarité du solvant.

Ce type de transition est caractérisée par ϵ (coefficient d'absorbance molaire) qui peut atteindre jusqu'à 14 000 L.mol⁻¹.cm⁻¹, ce type de transition est caractérisée par une bande d'absorption : bande E.

2-L'effet de pH:

Tableau7: balayage de l'absorbance pour le safran e n filament (pH).

λ (nm)	рН=3	pH=9
200	0,054	1,458
240	0,270	0,337
280	0,002	0,282
320	0,019	0,133
360	0,068	0,124
400	0,065	0,117
440	0,140	0,190
480	0,022	0,103

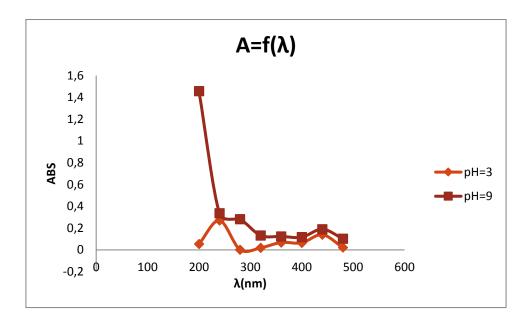


Figure 15: influence de pH sur l'absorbance

$$\checkmark$$
 À pH=3, A₄₄₀=0,140

Pouvoir colorant=0,140*250=35 35<100

%crocine=4,9.10⁻²*35=1,7%

 \checkmark À pH=9, A₄₄₀=0,190

Pouvoir colorant=0,190*250=47,5 47,5<100

%crocine=4,9.10⁻²*47,5=2,3%

Interprétation:

On utilise le safran naturelle (en filament)

- a- **Au niveau de** A_{max} le changement de pH a modifié le point d'absorbance maximal (A_{max}) de fait que cet absorbance a été doublé dans les deux milieux (acide et basique) on peut conclure que les deux milieux ont joués le rôle de solvant qui ont influencés sur la concentration, l'intensité d'absorbance et les groupements auxochromes présenté sur les molécules d'où l'augmentation de l'absorbance.
- b- **Au niveau de la couleur** le changement de pH a modifié la couleur de l'échantillon pour chaque milieu tel que dans le milieu acide (pH=3) la couleur est devenue jaune-clair,

par contre dans le milieu basique (pH=9) la couleur n'est pas changée fortement elle est de jaune-orange c.à.d. que le pH a changée les longueurs d'ondes d'absorbance. Dans le milieu acide on peut constater qu'il y a une diminution de la longueur d'onde au dessous de λ_{max} (440nm) tandis que dans le milieu basique la longueur d'onde est restée au voisinage de λ_{max} (440nm). On peut conclure que les deux milieux ont influencé sur les groupements auxochromes de l'échantillon (influence remarquable dans le milieu acide que milieu basique) d'où la création de l'effet hypsochromique sur l'échantillon, se phénomène est interprétée par une transition de type n $\longrightarrow \pi^*$ où l'état fondamental de l'échantillon a été stabilisé par la création des ponts d'hydrogènes de se fait la transition électronique devenue plus difficile donc plus d'énergie pour cette transition

E augmente → λ diminue par augmentation de la polarité de solvant.

3-L'effet de température :

Tableau8 : balayage de l'absorbance pour le safran e n filament(T°).

	Te	mpérature (°	°C)
λ (nm)	-17	25	90
200	0,021	0,041	0,11
240	0,032	0,059	0,037
280	0,047	0,078	0,042
320	0,058	0,087	0,053
360	0,077	0,06	0,019
400	0,063	0,065	0,064
440	0,069	0,071	0,079
480	0,019	0,093	0,085

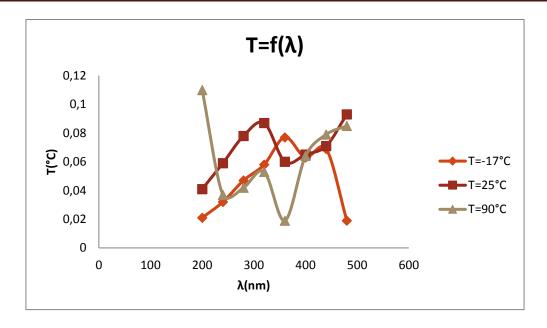


Figure16 : influence de la température sur l'absorbance

Pouvoir colorant=0,069*250=17,25 17,25<100

%crocine=4,9.10⁻²*17,25=0,8%

$$\checkmark$$
 À T=25°C, A₄₄₀=0,071

Pouvoir colorant=0,071*250=17,75 17,75<100

%crocine=4,9.10⁻²*17,75=0,9%

$$\checkmark$$
 À T=90°C, A₄₄₀=0,079

Pouvoir colorant=0,079*250=19,75 19,75<100

%crocine=4,9.10⁻²*19,75=1%

Interprétation:

On observe, une fois les solutions colorées de températures différentes mises côte à côte que la couleur n'a pas fortement changées (un faible changement de la couleur). Nous pouvons en conclure que la température (comprise entre -17°C et 100°C) n'influe en rien sur la coloration des colorants étudiées dans les conditions normales.

IV .6.Conclusion:

D'après les résultats en peut classer le safran utilisé dans une catégorie de mouvais qualité, mais en comparant avec les deux autre colorants le safran restera les colorants idéal et adéquat et bénéfique pour la santé de l'être humain.

Liste des figures

Figure1 : Structure chimique de $Le \beta$ – $carotène$	4
Figure2 : Structure chimique de Bleu patenté	4
Figure3 : Les différentes longueurs d'ondes correspondent à des couleurs différentes	13
Figure4 : Schéma des couleurs complémentaires	14
Figure5 : Schéma du trajet lumineux à travers une cuve d'un spectrophotomètre	17
Figure6: Fleur de safran	19
Figure7: safran en filament	20
Figure8: safran en poudre	20
Figure9 : Structure chimique de la crocine	21
Figure 10 : Structure chimique de la picrocrocine (C ₁₆ H ₂₆ O ₇)	22
Figure11 : Structure chimique de la curcumine.	23
Figure12: Structure chimique de la tartrazine	24
Figure13: influence de solvant « éthanol » sur l'absorbance	27
Figure14: influence de l'eau distillée sur l'absorbance	28
Figure15: influence de pH sur l'absorbance	29
Figure16: influence de la température sur l'absorbance.	32

Liste des tableaux

Tableau1 : Les facteurs qui influencé sur les colorants alimentaires.	5
Tableau2 : les colorants autorisés, caractéristiques et utilisations	10
Tableau3: les compositions chimiques de safran	20
Tableau4 : classification de safran selon la Norme - ISO/DIS 3632-1:2010	23
Tableau5 : balayage de l'absorbance pour les trois colorants (S1)	26
Tableau6 : balayage de l'absorbance pour les trois colorants (S2)	27
Tableau7 : balayage de l'absorbance pour le safran e n filament (pH)	28
Tableau8 : balayage de l'absorbance pour le safran e n filament (T°)	30

Les indices

FAO: Food and Agriculture Organization.

OMS : Organization Mondiale de la Santé.

WHO: World Health Organization.

UE: Union Européenne.

ANS: alimentation, Nutrition, Sécurite.

DJA: la Dose Journalière acceptable (ou admissible).

Conclusion:

Nous avons vu que les colorants alimentaires occupent une place très importante dans l'alimentation depuis quelques décennies. Les colorants étaient d'abord d'origine naturelles et grâce au développement scientifique et technologique, ils ont pu synthétisée d'autre colorant (colorant synthétique).

On peut dire que les colorants alimentaires ne sont pas dangereux sauf que la consommation à dépassé certains dose (D.J.A). La législation évolue en fonction des ces connaissances. Ainsi, depuis le début du siècle, où les colorants qui servaient à teindre les vêtements se retrouvaient aussi dans les aliments, de nombreuses substances ont été retirées de la liste des colorants alimentaires, grâce à la mise en place progressive d'institutions telle la FDA (Food and Drug Act, ex-FAO) en 1906 qui contrôlèrent et réglementèrent peu à peu leur utilisation et d'autre organisation et comité national et international (ISO, AFNOR).

Selon le travail que nous avons réalisé on a remarqué que les quantités (concentration) des molécules responsables de la coloration dans les trois colorants sont de grande différence alors que pour le tartrazine la concentration est la plus grande que les deux autres tendis que pour le safran la concentration de crocine est la plus faible on peut dire que est le safran au contraire de tartrazine, n'influe pas sur la santé de l'être humain de point de vue de la concentration et de la dose journalière admissible(D.J.A), c'est pour ça les produit naturelle sont sanitaires et n'ont pas des effets indésirables sur la santé de l'homme. Par contre les colorants synthétiques ont des conséquences et des effets secondaires sur la santé de l'être humain.

Et finissons par cette citation de Goethe:

"Les hommes éprouvent une grande joie à la vue de couleur, l'œil en a besoin comme il a besoin de lumière. "

- [1] F.ABDELMALK, « plasmachimie des solutions aqueuses .Application à la dégradation de composés toxiques » ; thèse de doctorat, université de Mostaganem, 2003.
- [2] M^{elle} S.ATBA et N.BENKADDOUR, « élimination d'un colorant par des algues marines modifies » ; diplôme de Master, université de Mostaganem, 2012-2013.
- [3] H.ZEROUALI et H.BESSAHA, « Elimination de deux colorants par une bentonite modifiée » ; mémoire de fin d'étude, université de Mostaganem, 2009.
- [4] http://fr.wikipedia.org/wiki/Colorant_alimentaire.
- [5] S.E.MANAHAN, Environnemental chemistry, 6^{ed} Ed, USA: Lewis publisher, 1994 color removal from textile effluent, JSDC, 1998.
- [6] N.J.WILLMOTT et J.T.GUTHRIE et G.NELSON, « the biotechnology approach to ».
- [7] U.PAGGA et D.BROWN, « the degradation of dyestuffs par II: behavior of dyestuffs in aerobic biodegradation tests »; chemosphere, 1986.
- [8] D.G. KRISHNA et G.BHTTACHRYYA, «adsorption of methylene bleu on kaolinite »; appl.clay.Sci 2002.
- [9] http://fr.wikipedia.org/wiki/Spectrophotom%C3%A8tre.
- [10] http://fr.wikipedia.org/wiki/Safran_%28%C3%A9pice%29.
- [11] http://www.sativus.com/fr/safran/elements-du-safran/.
- [12] http://fr.wikipedia.org/wiki/Curcumine.
- [13] http://en.wikipedia.org/wiki/Tartrazine.