

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abderahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de microbiologie

*Mémoire de fin de cycle en vue d'obtention du
diplôme d'ingénieur d'état en Génie
Biologique
Thème*

*Évaluation de la qualité et de la stabilité
de deux margarines
enrichies en huile d'olive*

Devant le jury :

Président: M^r. TAMENDJARI A.

Promotrice: M^{elle}. LAINCER F.

Examinatrice: M^{elle}. BOUCHEFFA S.

Co-promoteur: M^r. AIMENE.Y

présenté par

M^{elle} : BELKASMI Hayette.

Année universitaire

2013/2014

Remerciements

Je tiens à remercier avant tous DIEU le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage, la volonté et la patience de réaliser ce travail.

Un remerciement exceptionnel à mes parents et à toute ma famille pour leur soutien, leur présence et leurs encouragements.

J'exprime mes profonds remerciements à mon enseignante et promotrice M^{elle} LAINCERF, d'avoir accepté de m'encadrer, pour l'aide compétente qu'elle m'a apportée, pour sa confiance, son encouragement et son œil critique qui m'a été très précieux pour améliorer la qualité de mon mémoire. L'apport de ses sincères soutiens ne s'est pas limité au cadre formel du travail, mais a été une grande source de motivation pour continuer et accomplir ce travail. Veuillez trouver ici madame l'expression de mes sincères reconnaissances.

Un remerciement à mon co-encadreur Mr. AIMENE.Y méthodiste à CEVITAL pour ses efforts son aide et sa disponibilité.

J'adresse mes remerciements à l'égard de Mme TAMENDJARI.S, pour toute l'aide qu'elle m'a apporté mais aussi pour sa disponibilité et son orientation. Recevez ici madame mes sentiments de respect et de gratitude.

Mes remerciements les plus vifs vont à Mr. TAMENDJARI.A, d'avoir consacré son précieux temps à juger ce manuscrit en présidant le jury.

Je tiens à présenter toute ma gratitude envers M^{elle} BOUCHEFFA.S pour son dévouement afin d'estimer ce travail, elle a tout mon respect pour cela, je la remercie également pour son aide, ses conseils et encouragement.

J'aimerais remercier Mr. ZAIDI.L et Mr. AZZOUZ de CEVITAL pour leur aide, leurs conseils et orientations durant la réalisation de ce travail.

Je remercie LINDA, ZAHRA NEDJOUN, KENZA, LILI, KHALIDA, BILAL et SOFIANE.

Enfin, mes remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avec l'aide du Dieu le tout puissant, est enfin achevé ce travail, lequel je dédie à toutes les personnes qui me sont chères, Je dédie ce modeste travail :

Aux deux êtres qui me sont plus précieux que tout le reste dans ce monde afin de les remercier pour toute leur bonté, leur générosité, leur soutien et leur patience ainsi que leur grand amour à l'égard de leurs enfants. Ces deux êtres ma mère et mon père qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour « Que dieu les protège ».

À ma très chère sœur SONIA et son mari SLIMANE je les remercie pour leur aide leurs conseils et encouragements et à ma petite nièce WIDADE.

À ma très chère sœur SILIA et mes très chers frères WALIDE et MENAD.

Je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussite.

À ma promotrice M^{elle} LAINCERF, un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis. Vous avez toujours été présente.

Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond respect.

À ma grande mère, mes cousins(es) particulièrement DAMIA, RATIBA, NADIA, LOULA et WEZNA et SERINE, mes oncles, mes tantes et toute la famille BELKASMI.

À mon très cher grand père et mes tantes et toute la famille KACI.

À Mr. ZIZI BOUALAME et sa femme SVITLANA, je les remercie infiniment pour leur aide et conseils.

À mes amies CHERIFA, SOUAD, YASMINE, SOULTANA, MERIEM, HIBA, NASSIMA, SAMIA, SABRINA, KAHINA, SARA, NABILA, CHAHRA.

À tous les êtres chers à mes yeux que je n'ai pas évoqués.

À la promotion génie biologique 2014.

HAYETTE

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

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

Partie expérimentale	
-----------------------------	--

II.	Matériel et méthodes	
------------	-----------------------------	--

II.1.	Matériel végétal	7
II.1.1.	Extraction de l'huile d'olive	7
II.2.	Matériel étudié	7
II.2.1.	Composition des deux formulations de margarines	7
II.2.2.	Préparation du blend	7
II.2.3.	Procédé de fabrication dans la chaîne pilote.....	8
II.3.	Analyses effectuées sur l'huile d'olive	10
II.3.1.	Détermination des indices de qualité	10
II.3.1.1.	Détermination de l'acidité	10
II.3.1.2.	Détermination de l'indice de peroxyde.....	10
II.3.1.3.	Détermination absorbance spécifique dans l'Ultraviolet.....	11
II.3.2.	Détermination des indices d'identification	11
II.3.2.1.	Détermination de l'indice d'iode	11
II.3.2.2.	Détermination de la viscosité	11
II.3.2.3.	Détermination de l'indice de réfraction	11
II.3.2.3.	Détermination de la couleur	12
II.3.4.	Détermination de la composition en acides gras de l'huile	12
II.3.4.1.	Préparation des esters méthyliques	12
II.3.4.2.	Dosage qualitatif et quantitatif	12
II.3.5.	Dosage de la chlorophylle et des caroténoïdes	13

II.4. Analyses effectuées sur les margarines produites	13
II.4.1. Détermination du taux de solide par RMN (teneur en corps gras solides).....	13
II.4.2. Analyses physico-chimique	14
II.4.2.1. détermination de la teneur en eau (humidité)	14
II.4.2.2. Taux de sel (teneur en sel)	14
II.4.2.3. Détermination du point de fusion	15
II.4.2.4. Détermination du pH de la phase aqueuse par la méthode potentiométrique.....	15
II.4.2.5. Détermination de l'indice de peroxyde.....	15
II.5. Extraction et dosage des composés phénoliques et <i>ortho</i>-diphénols de l'huile d'olive et des deux blends	16
II.5.1. Extraction des composés phénoliques	16
II.5.2. Dosage des composés phénolique totaux	16
II.5.3. Dosage des <i>ortho</i> -diphénols	16
II.6. Activité scavenger sur le radical DPPH	17
II.7. Détermination de la stabilité à l'oxydation (Rancimat)	17
II.8. Analyses microbiologiques des margarines produites	18
II.8.1. Préparation des échantillons pour analyse	18

III. Résultats et discussion

III.1. Indices de qualité de l'huile d'olive	19
III.1.1. Acidité	19
III.1.2. Indice de peroxyde	20
III.1.3. Absorbance dans l'UV	21
III.2. Les indices d'identification de l'huile d'olive	22
III.2.1. Indice d'iode.....	22
III.2.2. Viscosité	23
III.2.3. Indice de réfraction.....	23
III.2.4. Couleur	23
III.3. Composition en acides gras des huiles	24
III.4. Dosage des pigments	25
III.5. Indices physiques de la margarine	27
III.5.1. Taux de solide par RMN	27
III.6. Analyses physico-chimiques	29

III.6.1. Teneur en eau (Humidité)	30
III.6.2. Détermination du point de fusion.....	30
III.6.3. Détermination du pH de la phase aqueuse par la méthode potentiométrique	30
III.6.4. Détermination de l'indice de peroxyde	30
III.6.5. Teneur en sel (taux de sel).....	31
III.7. Dosage des composés phénolique	32
III.7.1. Dosage des polyphénols totaux	32
III.7.2. Dosages des <i>ortho</i> -diphénols	34
III.8. Activité antiradicalaire de l'huile d'olive et des deux blend avec et sans vitamine E sur le radical DPPH	34
III.9. Détermination de la stabilité à l'oxydation (Rancimat)	36
III.10. analyses microbiologiques	39
<hr/>	
Conclusion	40

Références bibliographiques

Glossaire

Annexes

Liste des abréviations

A.G.I: Acides Gras Insaturés.

A.G.S: Acides Gras Saturés.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

AGT: Acides Gras *Trans*.

COI: Conseil Oléicole International.

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse.

Ii: indice d'iode.

I_P: indice de peroxyde.

ISO: International Standard Organisation.

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire.

SFC: Solid Fat Content (Teneur en solides).

UI : unité internationale.

UV: UltraViolet.

DPPH : 2,2-DiPhényl-1 PicrylHydrazyl.

CEE : Communauté Economique Européenne.

CE : Commission Européenne.

E.A.C : Equivalent en Acide caféique.

E.A.G : Equivalent en Acide Gallique.

FDA: Food and Drug Administration.

TIR : Temps d'Induction au test Rancimat.

MF1 : margarine formulation 1 enrichie en l'huile d'olive avec vitamine E.

MF2 : margarine formulation 2 enrichie en l'huile d'olive sans vitamine E.

B-AVE: Blend avec vitamine E.

B-SVE: Blend sans vitamine E.

Liste des figures

<i>Figure 1:</i> Schéma de fabrication des deux margarines MF1 et MF2 au niveau de la chaîne pilote (schéma interne de l'entreprise)	9
<i>Figure 2:</i> Teneur de l'huile d'olive en pigments	26
<i>Figure 3:</i> Taux de solides (SFC) de MF1 et MF2	29
<i>Figure 4:</i> Résultats des indices de peroxyde des deux formulations	32
<i>Figure 5:</i> Teneur en sel des deux margarines des deux margarines MF1 et MF2	33
<i>Figure 6:</i> Teneurs en polyphénols de l'huile d'olive et des deux blends avec et sans vitamines E	34
<i>Figure 7:</i> Pourcentages d'inhibition du radical DPPH des différents échantillons.....	36
<i>Figure 8:</i> Temps d'induction exprimé (h) des échantillons de la margarine	38

Annexe 1

Figure 1: Diagramme de la fabrication de la margarine.

Annexe 2

Figure 2 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques.

Figure 3: Courbe d'étalonnage pour le dosage des *Ortho*-diphénols.

Annexe 4

Figure 4: Chromatogramme type des esters méthyliques des acides gras de l'huile d'olive.

Annexe 5

Figure 5: Courbe de la stabilité oxydative au test Rancimat margarine enrichie en huile d'olive avec vitamine E.

Figure 6: Courbe de la stabilité oxydative au test Rancimat margarine enrichie en huile d'olive sans vitamine E.

Liste des tableaux

<i>Tableau I:</i> Les indices de qualité de l'huile d'olive	20
<i>Tableau II :</i> Les indices d'identification de l'huile d'olive.....	23
<i>Tableau III:</i> Composition de l'échantillon étudié en acide gras totaux.....	25
<i>Tableau IV:</i> Teneurs en solide (SFC) des deux margarines MF1 et MF2	28
<i>Tableau V :</i> Caractéristiques physico-chimiques des deux margarines élaborées MF1 et MF	30
<i>Tableau VI:</i> Teneurs de l'huile d'olive en <i>ortho</i> -diphénols	35

Annexe 2

Tableau I: Les différentes catégories d'huile d'olive et leurs critères de qualité.

Tableau II: Composition de l'huile d'olive en acides gras.

Annexe 7

Tableau III: Analyses microbiologiques effectuées sur le produit fini.

Tableau IV: Résultats d'analyses microbiologique de produit fini.

Introduction

I. Introduction générale

L'empereur Napoléon III a incité l'invention de la margarine en 1869 en appelant à une alternative moins chère que le beurre pour nourrir ses armées. Un chimiste français, Hippolyte Mège-Mouriès, a répondu avec une formule dans laquelle un extrait du suif de bœuf remplaça le beurre. Malgré que le beurre et la margarine soient à 80% de matière grasse, cette dernière possède des qualités nutritionnelles et sensorielles qui diffèrent de son prototype (Morris et Vaissey-Genser, 2003).

La margarine est conçue pour répondre aux exigences de saveur, de plasticité et de tartinabilité en combinant un mélange d'huile avec une phase aqueuse (Carr et Vaissey-Genser, 2003). Selon Karleskind. (1992) la margarine est une émulsion du type eau dans l'huile (W/O) qui comprend deux phases essentielles:

- Une phase continue: la phase grasse.
- Une phase dispersée: la phase aqueuse.

Elle contient aussi des additifs (lécithines, monoglycérides, sel, colorant, antioxydants, conservateurs, vitamines) répartis en partie dans la phase grasse (solubles dans les corps gras) et en partie dans la phase aqueuse (solubles dans l'eau et/ou le lait). Pour assurer une bonne formulation de la margarine, les deux phases grasse et aqueuse doivent être préparées individuellement (Carr et Vaissey-Genser, 2003) (annexe 1). Le composant principal de la phase grasse est le blend d'huiles (soja, palme, maïs, coton, tournesol, canola, colza), ayant subi un processus de raffinage (Carr et Vaissey-Genser, 2003). Les propriétés et les proportions des huiles utilisées sont des paramètres déterminants de la qualité du produit fini (Wiedermann, 1978). L'eau et les corps gras n'étant pas naturellement miscibles, on a recours à des auxiliaires spéciaux appelés émulsifiants pour assurer la formation et l'équilibre des émulsions, en margarinerie on se sert des dérivés de lecithines (0,2%) et de monoglycérides d'acide gras (Wiedermann, 1978, Miskandar et *al.*, 2002).

Le constituant majeur de la phase aqueuse de la margarine est soit du lait écrémé soit de l'eau, ou un mélange d'eau et du lait reconstitué écrémé (Vaissey-Genser, 2003). Le lait doit subir une pasteurisation convenable à 75 °C avec un temps de contact suffisant (Karleskind, 1992).

D'autres composés solubles sont rajoutés à la phase aqueuse tels que: les conservateurs, les correcteurs de pH, le sel et le sucre (Miskandar et *al.*, 2005). Selon Wiedermann. (1978), Carr et Vaissey-Genser. (2003), le sel, est ajouté d'une part pour accentuer la saveur et

d'autre part comme un inhibiteur microbien. Le sucre est aussi additionné, il sert à donner l'aspect «doré» au met rôti ou cuit, très apprécié. Les quantités employées sont de l'ordre de 0.2 à 0.3% pour le sucre et de 0.2 à 2% pour le sel. Étant, tous deux, des produits alimentaires, leur incorporation ne pose pas alors de problème sur le plan légal (Delamarre et Batt, 1999).

Outre le sel de table (Na Cl), l'addition de l'acide sorbique (E200) ainsi que celle de ses sels de sodium (E201), de potassium (E202) et de calcium (E203) séparément ou conjointement peuvent être utilisés à une proportion pondérale de 2 g par kilogramme de produit fini (Faur, 1992). Leurs emplois sont autorisés si le pH de la phase aqueuse est inférieur à 5,5. L'acide citrique est aussi rajouté comme un conservateur, il réduit le pH de la phase aqueuse à environ 5,3, afin d'améliorer la performance de l'inhibiteur microbien (Faur, 1992).

Les margarines sont souvent aromatisées par le diacétyle arôme, naturel du beurre ou le butane-dione 1,3 de synthèse (FDA, 1993 *In Koca et al.*, 2010).

La margarine constitue un véhicule idéal pour l'addition de vitamines liposolubles A et D. L'ajout de ces vitamines est régit par différents règlements (Morris et Vaissey-Genser, 2003). La norme internationale pour la margarine publiée par la Commission de Codex Alimentaire de l'Organisation d'alimentation et l'agriculture (FAO) à Rome recommande leur addition. Au Canada et au Royaume-Uni, l'addition des vitamines A et D est obligatoire. Tandis qu'aux Etats-Unis, l'addition de vitamine A est exigé, alors que l'addition de vitamine D est facultative (Morris et Vaissey-Genser, 2003). D'après Vaissey-Genser. (2003), la législation canadienne autorise l'addition de la vitamine E, mais à des quantités minimales de 0.6UI d' -tocophérol par gramme d'acide linoléique. Selon Luterotti et *al.* (2006), pour retrouver la couleur naturelle du beurre, on peut faire recours à l'huile de palme fortement pigmenté (rouge) riche en caroténoïdes, ou de -carotène de synthèse.

La margarine constitue un important apport nutritionnel en étant une source d'une ou de plusieurs vitamines essentielles liposolubles comme les vitamines A et/ou D et en étant faible en acides gras saturés. L'usage de la margarine a su une augmentation, quand il a été démontré par les professionnels de santé qu'une alimentation riche on matière grasse, notamment les acides gras saturés, augmente le taux des lipoprotéines de basse densité (LDL) appelé mauvais cholestérol et réduit le taux de lipoprotéines de haute densité (HDL) appelé bon cholestérol (Morris et Vaissey-Genser, 2003) des taux sanguins élevés en

cholestérol total et LDL sont des facteurs de risque de maladie coronarienne (CHD) (Morris et Vaissey-Genser, 2003).

L'industrie de la margarinerie modernise l'image de produit ont formulant des produits qui répondent aux désirs des consommateurs pour des produits "sains pour le cœur", avec des teneurs faibles on matière grasse totale, les acides gras saturé et les acides gras *trans* (Morris et Vaissey-Genser, 2003). Les produits de margarineries ont connu plusieurs améliorations dont les plus importantes, est l'utilisation des huiles végétales pour la production, en effet les premières margarines ont été fabriquées à base de graisses animales (suif ou saindoux), mais actuellement la plupart sont préparées avec des huiles végétales. La gamme de produits comprend des margarines de table, margarines de boulangerie, pâte feuilleté et les margarines dites «diététiques», à faibles taux en calories et graisse ainsi que des niveaux élevés d'eau (Laia et *al.*, 2000). L'enrichissement des margarines par les sitostérol a aboutit a une diminution des taux de cholestérol d autre part la margarine enrichie en phytostérols ou margarine "santé Pro.activ" (Miettinen et *al.*, 1995; Vaissey-Genser, 2003), introduite au USA et en Europe: 20 g par jour (environ 4 tartines) permet de réduire de 15 à 20 % le taux de LDL-cholestérol sans modifier le taux de HDL-cholestérol (correspondant à une réduction de plus de 40 % des risques cardiovasculaires).

L'enrichissement de la margarine par l'huile d'olive pourrait être une autre option efficace pour remédier aux maladies coronariennes, cardiovasculaire et certains cancers, en effet, plusieurs études épidémiologiques et cliniques confirment le rôle incontestable de la consommation régulière de l'huile d'olive dans la réduction du risque des cancers et des maladies chroniques, notamment les affections cardiovasculaires (Cicerale et *al.*, 2009). Carrera-González et *al.* (2013), rapportent que les composés phénoliques sont bénéfiques pour la santé parce qu'ils sont impliqués dans la prévention de plusieurs maladies chroniques; athérosclérose, le cancer, inflammation chroniques et les maladies neurodégénératives.

L'huile d'olive joue un rôle important dans l'industrie alimentaire et la nutrition humaine (Veillet et *al.*, 2009). Elle est extraite à partir des fruits de l'olivier, en utilisant uniquement des mécanismes physiques, incluant le broyage des olives le malaxage de la pâte résultante et la séparation de la phase huileuse (Veillet et *al.*, 2009; Cecchi et Alfei, 2013). Selon le COI. (2003) «l'huile d'olive vierge» est toute huile extraite du fruit de l'olivier (*Olea europeae L.*) uniquement par des procédés mécaniques ou autres procédés

physiques et dans des conditions, notamment thermiques, n'entraînant pas d'altération de l'huile, à l'exception des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. L'huile d'olive vierge ne doit avoir subi aucun autre traitement que le lavage, la centrifugation, la filtration et la décantation. Les huiles d'olive peuvent être répertoriées selon diverses catégories établies selon les caractéristiques des huiles (annexe 2).

L'huile d'olive est extraite sans procédés de raffinage ce qui permet de préserver sa composition naturelle, incluant deux fractions: la fraction mineure (2%) et fraction majeure (98%) (Bengana et *al.*, 2013). La fraction saponifiable (majeure), est composée de triglycérides, diglycérides et d'acides gras libres. Les principaux acides gras présents sous forme de triglycérides dans l'huile d'olive sont l'acide oléique (C18:1), l'acide linoléique (C18:2), l'acide palmitique (C16:0), et l'acide stéarique (C18:0). Les esters de l'acide oléique sont présents à des concentrations plus élevées que les autres acides (55-83%) (Tarakowski et *al.*, 2014) (annexe 2). Les valeurs nutritionnelles de l'huile d'olive sont liées à sa teneur élevée en acide gras moninsaturé, principalement représenté par l'acide oléique (Servili et *al.*, 2013). Veillet et *al.*, (2009), rapportent que l'huile d'olive est une source importante d'acides gras insaturés essentiels qui ne peuvent pas être synthétisés par le corps humain.

La fraction mineure appelée aussi insaponifiable est constituée de: polyphénols, tocophérols, alcools, vitamines, hydrocarbures, pigments et des stérols (Tura et *al.*, 2008). Les stérols sont des composés majeurs de la fraction insaponifiable avec une teneur de 20%. Ce sont des éléments importants pour la stabilité de l'huile puisqu'à haute température ils agissent comme des inhibiteurs de réactions de polymérisation (Fuentes de Mendoza et *al.*, 2013). Selon Perona et *al.* (2006), le principal stérol trouvé dans l'huile d'olive est le β -sitostérol (95%), d'autres stérols sont également présent: campesterol, le β -7-stigmastérol, -stigmastérol, spinastérol-et-avenastérol.

La saveur (gout et arôme) et la couleur unique de l'huile d'olive la distingue du reste des huiles végétales comestibles, ses caractéristiques lui donnent une qualité supérieure qui est souvent appréciée par les consommateurs (Inarejos-García et *al.*, 2010).

Responsable de la saveur unique de l'huile d'olive (Kalua et *al.*, 2007; kiritsakis, 1998), l'arôme est le facteur le plus important qui définit les attributs sensoriels de l'huile d'olive (Kesen et *al.*, 2013), les composés aromatiques sont constitués d'un mélange de composés volatils: aldéhydes, alcools, esters, hydrocarbures, cétones et les furannes (Kalua

et *al.*, 2007; kiritsakis, 1998). Les réactions enzymatiques et l'auto-oxydation jouent un rôle crucial dans la création des substances aromatiques (Kesen et *al.*, 2013). D'après Angerosa et *al.* (2006), La nuance verdâtre jaune de l'huile d'olive est due essentiellement à la présence des chlorophylles, caroténoïdes et phéophytines, la teneur en chlorophylles varie entre 1 et 10 ppm et jusqu'à 100 ppm pour les caroténoïdes. Ghanbari et *al.* (2012) rapportent que les principaux caroténoïdes présents dans l'huile d'olive sont le β -carotène (0,3 à 4,4 ppm) et la lutéine (trace-1.4 ppm). En plus de la couleur, la chlorophylle et les caroténoïdes jouent un rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive en raison de leur nature anti-oxydante à l'obscurité et pro-oxydante à la lumière (Criado et *al.*, 2008).

En plus de ces composés l'huile d'olive contient de nombreux agents antioxydants, les caroténoïdes et les tocophérols, les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants, les classes couramment retrouvés dans l'huile d'olive sont, les alcools phénoliques, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les lignanes et les sécoiridoïdes. L'huile d'olive renferme plus de 30 composés phénoliques (Tuck et Hayball 2002). Les antioxydants les plus puissants sont représentés par les *ortho*-diphénols, dont les principaux sont: l'hydroxytyrosol, l'acide caféique et l'oléuropéine. L'hydroxytyrosol, ayant le meilleur pouvoir antioxydant (Del Carlo et *al.*, 2004). L'huile d'olive est quasiment la seule huile contenant des quantités notables de substances phénoliques naturelles, qui lui confèrent son goût si particulier à la fois amère et fruité et contribuent à la bonne stabilité de l'huile à l'auto-oxydation (Perrin, 1992; Ollivier et *al.*, 2004; Tura et *al.*, 2007), leur concentration est comprise entre 40 et 900 mg/kg (Baldioli et *al.*, 1996). L'oléuropéine glucoside, ses aglycones ainsi que les acides phénols dérivés des acides benzoïques et cinnamiques sont responsables du goût amer de l'huile d'olive (Morello et *al.*, 2004).

Enfin, les tocophérols sont des composés importants de l'huile d'olive, en raison de leur contribution à sa stabilité oxydative et ses qualités nutritionnelles (Gimeno et *al.*, 2002). On distingue quatre types de tocophérol dans de l'huile d'olive: α -, β -, γ - et δ -tocophérol (Ghanbari et *al.*, 2012). L' α -tocophérol est l'analogue ayant l'activité biologique la plus élevée, est le représentant prédominant de la vitamine E dans l'huile d'olive vierge (Boskou et *al.*, 2006; Grigoriadou et *al.*, 2007), avec une teneur qui varie de quelques ppm jusqu'à 300 ppm (Blekas et *al.*, 2002).

Vue l'importance de l'huile d'olive notamment sa richesse en antioxydants son incorporation dans les produits alimentaires telles que les margarines, première cible de

l'oxydation, pourrait être une meilleure solution que l'utilisation des tocophérols synthétiques.

L'oxydation des lipides est une cause majeure de dégradation de la margarine lors de sa fabrication et de sa conservation. La conséquence la plus perceptible de celle-ci est l'apparition d'odeurs désagréables. Ces odeurs conduisent souvent au rejet du produit par le consommateur (Prior, 2003).

Vue la diversité des produits de la margarinerie de Cevital, l'utilisation des antioxydants ne cesse d'augmenter. Les tocophérols s'avèrent les plus employés, mais économiquement parlant ces derniers sont très coûteux. Ainsi, les substances naturelles douées d'activité anti-oxydante présenteraient-elles un intérêt socioéconomique sans équivoque.

Dans le présent travail nous nous intéressons à l'élaboration de deux margarines enrichies en l'huile d'olive l'une étant additionnée de l' -tocophérol et la deuxième sans - tocophérol et la comparaison de leur stabilité oxydative par le test de Rancimat.

La première partie de la présente étude est consacrée à une introduction générale traitant des généralités sur la margarine et l'huile d'olive, leurs compositions et le processus de fabrication de la margarine.

La deuxième partie est consacrée, en premier lieu à la caractérisation de l'huile d'olive par détermination des indices de qualité et la composition en acides gras. En second lieu, pour l'élaboration de deux margarine enrichie avec 10% d'huile d'olive l'une avec le rajout de la vitamine E et l'autre sans l'addition, ainsi que des dosages des polyphénols, l'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'huile d'olive ainsi que les deux blends et contrôle des paramètres de qualité des deux margarine et leurs résistance à l'oxydation par le test de Rancimat, ainsi que leurs contrôle microbiologique. Enfin la dernière partie regroupe l'ensemble des résultats obtenus et leurs discussions suivie d'une conclusion générale.

*Matériel et
méthodes*

II. Matériel et méthodes

La présente étude porte sur deux types de margarines à tartiner fabriquées au niveau de l'industrie agroalimentaire « CEVITAL » :

MF1 : margarine formulation 1 enrichie en l'huile d'olive avec vitamine E.

MF2 : margarine formulation 2 enrichie en l'huile d'olive sans vitamine E.

II.1. Matériel végétal

L'échantillon d'olive utilisé dans notre expérimentation a été récolté durant la campagne agricole 2013/2014 au niveau de Beni Maouche wilaya de Bejaia. Les olives ont été prélevées sur des arbres adultes de plusieurs variétés dont les plus connues dans la région sont; *Atefah*, *limli*, *Chemlal* et *Azerradj*.

II.1.1. Extraction de l'huile

L'huile d'olive a été obtenue par un système continu à trois phases (centrifugation) et collectée dans une huilerie moderne, située au niveau de Beni Maouche (Tibouamouchine), après extraction l'huile d'olive a été stockée dans des récipients en plastique.

II.2. Matériel étudié

II.2.1. Composition des deux formulations

Les deux formulations de margarines à tartiner MF1 et MF2 sont confectionnées à base de quatre huiles pour les deux margarines: huile de tournesol, huile de palme, huile inter-estérifiée et l'huile d'olive à 10 % de la masse totale de mélange utilisée. Le blend des huiles des deux margarines précédentes est additionné des additifs liposolubles et hydrosolubles.

II.2.2. Préparation du blend

La formulation consiste à élaborer une margarine à tartiner avec deux formulations, dont la seule et unique différence réside dans la présence ou l'absence de la vitamine E. Ces deux formulations répondent au profil type d'une margarine à tartiner de composition globale de : 82% de matières grasses et 18% de phase aqueuse, les constituants des deux phases sont comme suit :

- La phase grasse est constituée du blend d'huiles citées ci-dessus et des additifs liposolubles suivants : un émulsifiant de type mono-glycéride, un colorant : - carotène, des vitamines : A, D pour les deux formulations deux antioxydants - carotène et tocophérol (vitamine E) pour la formulation MF1, sans la vitamine E pour la deuxième formulation MF2.

- La phase aqueuse est constituée d'eau osmosée traitée aux ultraviolets de lait à 0% de matières grasses et d'additifs hydrosolubles : un exhausteur de goût (sel), un conservateur qui est le sorbate de potassium (E202) et un correcteur de pH qui est l'acide lactique.

II.2.3. Procédé de fabrication dans la chaîne pilote

La conception de l'installation est en conformité avec l'EMD (European Machinery Directive) 2006/42/EC. Une charge de 30Kg d'émulsion a été produite à raison de 15 Kg pour la MF1 et 15 Kg pour la MF2. Les deux margarines ont été conditionnées dans des barquettes de 250 g.

La chaîne dispose d'un logiciel de pilotage (GS Logic System). Celui-ci est conçu pour le contrôle, l'enregistrement et la documentation des paramètres importants concernant le process de fabrication.

Les blends des deux margarines sont préparés dans des bacs d'émulsion prévus à cet effet. Il en existe deux: l'un pour la préparation de la phase grasse (le blend d'huiles) et l'autre pour la phase aqueuse. Les deux bacs sont des cylindres en acier inoxydable à double paroi et munis d'agitateurs. Un système d'émulsification permet une homogénéité de l'émulsion. Parfaitement scellé, aucune intrusion d'air n'est possible ; assurant ainsi l'impossibilité d'oxydation au cours de la production et du produit fini.

L'émulsion passe par une étape de pasteurisation, réalisée au niveau du pasteurisateur. Deux opérations ont ainsi lieu : une pasteurisation (chauffage) à 80°C à l'aide d'une vapeur à 3 bar saturante pendant 3 à 4 secondes et un refroidissement jusqu'à 40°C. La température de l'émulsion étant au préalable de 45°C avant son entrée dans le pasteurisateur.

Une fois pasteurisée et refroidie à 40°C, l'émulsion passe à travers des refroidisseurs. Ceux-ci permettent le refroidissement du produit à la température requise du process (22°C). Chaque refroidisseur se compose d'un cylindre à double paroi dans lequel circule un axe équipé de lames rotatoires. La surface des tubes en contact avec l'émulsion est en acier inoxydable, tandis que la surface externe est en acier carbone soutenue par une couche de chrome dur. Le refroidissement est assuré par un liquide frigorigène (le fréon) qui circule dans la chemise réfrigérante. A l'intérieur du tube refroidisseur, les lames de l'axe raclent la paroi intérieure du tube cylindrique. Elles empêchent ainsi la cristallisation du produit sur celle-ci et assurent un transfert de chaleur optimal. L'intensité de raclage et de refroidissement au cours du process dépend du produit (type de margarine par exemple).

Le produit sortant de l'échangeur est travaillé dans les cristalliseurs. Les appareils de cristallisation ou cristalliseurs permettent un traitement intermédiaire du produit pendant la phase de cristallisation. Chaque cristalliseur se compose d'un cylindre à double paroi équipé de tiges, dans lequel circule un autre porte-tiges. A l'intérieur du cristalliseur les tiges mélangent le produit pour en améliorer la structure. Dans les conditions de fabrication de notre produit les températures au niveau de C1 (Combinateur 1) est de 22°C. Ce dernier assure un refroidissement suffisant de l'émulsion pour donner une forme au produit et lui assurer une bonne cristallisation. L'émulsion cristallisée est acheminée par la trémie jusqu'au malaxeur. Cette étape va désaérer et malaxer le mélange en lui donnant consistance, souplesse et homogénéité.

La margarine est ainsi récupérée à la sortie du cristalliseur dans des barquettes de 250g et est laissée reposer avant de la mettre au frais dans un réfrigérateur à une température de 4 à 6 °C.

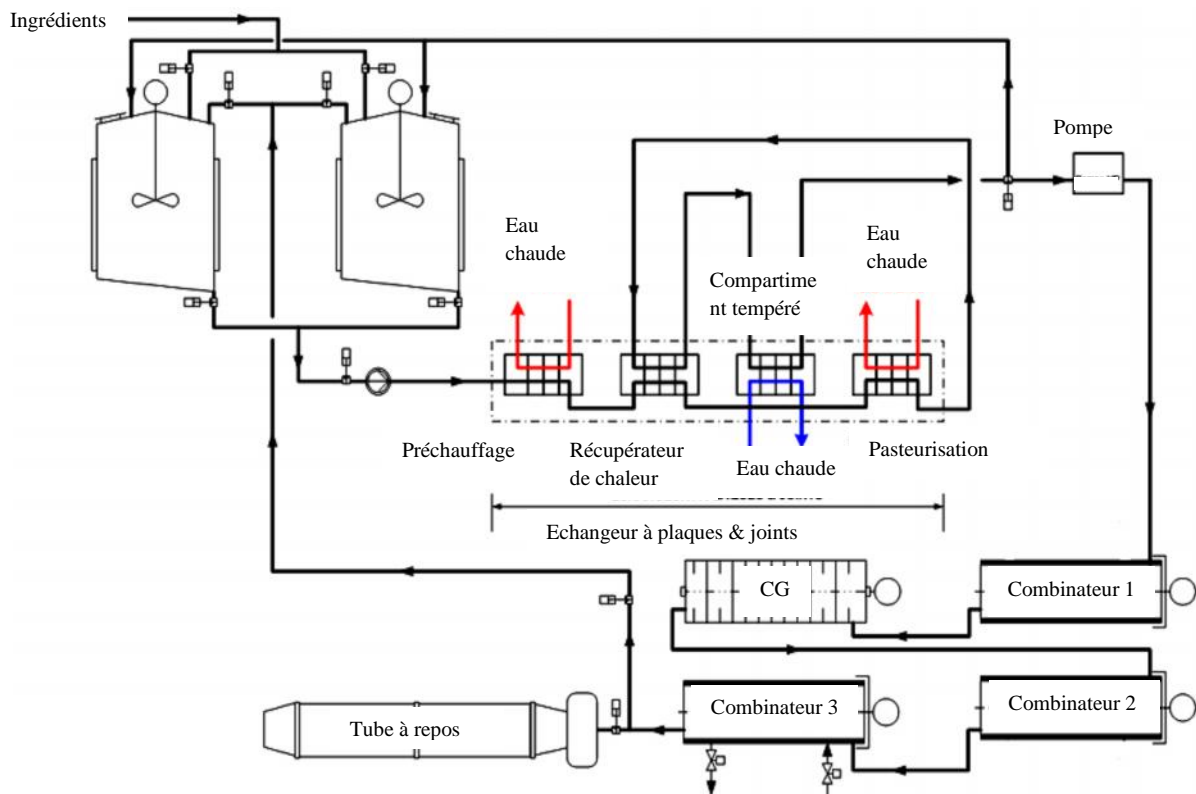


Figure 1: Schéma de fabrication des deux margarines MF1 et MF2 au niveau de la chaîne pilote (schéma interne de l'entreprise).

II.3. Analyses effectuées sur l'huile d'olive

II.3.1. Détermination des indices de qualité

II.3.1.1. Détermination de l'acidité

Le taux d'acidité de l'huile d'olive, exprimé en % d'acide oléique, est déterminé selon la méthode décrite dans le règlement CEE /2568/91 relatif aux caractéristiques des fruits d'olives et des huiles de grignons d'olive. Une prise d'essai de 5 g d'huile est dissoute dans 20 ml d'un mélange (V/V) d'oxyde diéthylique-ethanol à 95 %. Le mélange est titré, en agitant, avec une solution d'hydroxyde de potassium à 0,1 N jusqu'à virage de l'indicateur coloré (la phénolphthaléine), vers le rose, persistant pendant au moins 10 secondes. L'acidité est exprimée en pourcentage en poids d'acide oléique, elle est égale à :

$$A \% (\text{d'acide oléique}) = (V - V_0) * (N * M / 10 * m)$$

V et V₀ : volume en ml de KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon et le blanc, respectivement ;

N: normalité de l'hydroxyde de potassium ;

M: masse molaire (g/ml) de l'acide oléique qui est égale à 282 g/ml ;

m: masse en g de la prise d'essai.

II.3.1.2. Détermination de l'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde représente la quantité des substances de l'échantillon exprimée en meq d'O₂ actif /Kg, qui oxydent l'iodure de potassium. La méthode utilisée est celle du règlement CEE/2568/91. Dans une fiole conique un échantillon de 2g de l'huile est mis en solution dans 10 ml de chloroforme et 15 ml de l'acide acétique glacial, le mélange est agité pour dissoudre complètement l'huile ; puis 1ml d'iodure de potassium saturé est ajouté, la fiole est immédiatement bouchée et agitée vigoureusement pendant une minute, puis laissé à l'obscurité pendant 5 minute à température ambiante. 75ml d'eau distillé sont ajoutées au mélange, l'iode libéré est titré après ajout de quelques gouttes d'empois d'amidon par une solution de thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) à 0.01N tout en maintenant le mélange en agitation vigoureuse. L'indice de peroxyde se détermine ainsi :

$$I_p = N (V - V_0) * 1000 / m \text{ (meq d'O}_2\text{/Kg d'huile)}$$

N : normalité Na₂S₂O₃ ; **V, V₀**: volume en ml de Na₂ S₂O₃ nécessaire pour le titrage de l'échantillon et de l'essai à blanc respectivement ; **m**: masse en gramme de la prise d'essai

II.1.3. Détermination absorbance spécifique dans l'Ultraviolet

Les absorbances à 232 nm et 270 nm d'un corps gras renseignent sur son degré d'oxydation. L'extinction spécifique est déterminée selon la méthode décrite par COI (1996). Après filtration des échantillons d'huiles à travers le sulfate de sodium anhydre, une solution à 1% d'huile dans le hexane est préparée. L'absorbance est mesurée à deux longueurs d'ondes 232nm et 270 nm.

II.3.2. Détermination des indices d'identification

II.3.2.1. Détermination de l'indice d'iode (NE. 1. 2. 96, 1988)

Correspond à la masse d'halogène exprimée en grammes, calculée en I₂ fixé sur les doubles liaisons de 100g de corps gras. On dispose de solvant tétrachlorures de carbone CCl₄ et du réactif Wijs. Dans un ballon un échantillon (huile) est mis en solution dans 25ml de solvant et 20 ml de réactif de Wijs. Le ballon est ensuite boucher, mélangé et laisser à l'obscurité pendant 30min. Après 30 min d'incubation 3g de KI dissout dans 20 ml sont rajouter et le tout est bien mélanger. Quelques gouttes d'une solution d'amidon sont additionnées et titrage au thiosulfate de sodium à 0.1N.

Le calcul de l'indice d'iode est donné par la formule suivante:

$$I_i = \frac{(V_0 - V_x) \times N \times 12.96}{p}$$

Où :

V₀ (ml): Essai à blanc; **V_x (ml):** Essai échantillon; **N (mole/l):** Normalité; **P (g):** prise d'essai.

II.3. 2.2. Détermination de la viscosité

Le principe de la viscosité est basé sur la mesure du temps mis par un volume déterminé de prise d'essai, contenue dans le réservoir d'un viscosimètre, pour s'écouler entre deux repères (Karleskind,1992). Un volume déterminé d'huile est introduit dans le réservoir d'un viscosimètre de type « Osswald » ayant un facteur de correction égale à 3.009 mm²/S plongé dans un bain thermostat. Le temps mis par ce volume pour s'écouler entre les deux repères R1, R2 du capillaire à une température de 20°C est mesuré. Les résultats sont lus directement sur l'appareil.

II.3.2.3. Détermination de l'indice de réfraction (ISO 6320, 2000)

L'indice de réfraction d'une substance est le rapport de vitesse de la lumière à une longueur d'onde définie dans le vide à sa vitesse dans la substance, il varie avec la

longueur d'onde de la lumière incidente et avec la température. Son principe consiste à mesurer à l'aide d'un réfractomètre convenable, l'indice de réfraction de l'échantillon liquide ou solide à une température constante. On dépose quelques gouttes d'huile à analyser entre deux prismes de réfractomètre, la valeur de l'indice de réfraction est lue directement sur le réfractomètre.

II.3.2.4. Détermination de la couleur (ISO 15305 1^{ère} édition, 1998)

La couleur d'un aliment est souvent liée à sa maturité, à la mise en œuvre appropriée ou déficiente d'un traitement technologique, à de mauvaises conditions d'entreposage ou au début de détérioration. On utilise pour cette détermination un colorimètre électronique « Lovibond ». On verse l'échantillon d'huile à analyser dans une cellule en verre de cinq pouces et ¼. La valeur de la couleur est lue directement sur Lovibond.

Les résultats sont déterminés en unités jaune (J) et rouge (R).

II.3.4. Détermination de la composition en acides gras de l'huile

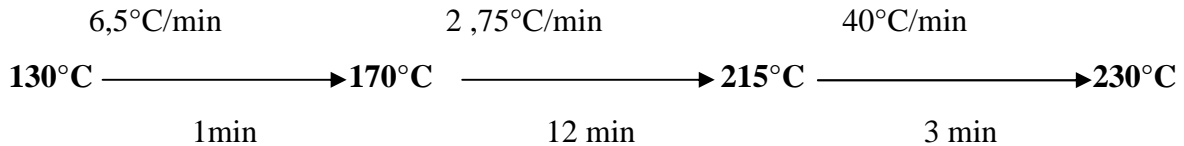
I.3.4.1. Préparation des esters méthyliques

Les esters méthyliques sont préparés suivant la méthode E.C. (2002). Une aliquote de 0,5g d'huile est dissoute dans 5ml d'hexane pour chromatographie, à laquelle sont ajoutés 0,5 ml d'une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium (2N). Le tout est agité pendant 30 secondes, puis centrifugé à 3000 tours/min pendant 5 minutes. 2 gouttes du surnageant sont prélevées et mélangées avec 1ml d'hexane.

I.3.4.2. Dosage qualitatif et quantitatif

Un volume de 1µl des esters méthyliques sont injectés dans un chromatographe en phase gazeuse de type Chrompack C 9002 dont les conditions d'analyse sont décrites ci après:

- Injecteur: SPLIT 1/100 ;
- Colonne capillaire DB 23: (longueur : 30, diamètre intérieur : 0,32 mm et épaisseur : 0.25µm);
- Gaz vecteur: Azote ;
- Détecteur: FID ;
- Températures:(injecteur: 250 °C, détecteur: 250 °C) ;
- Vitesse du papier: 0.5 cm/min ;
- Programme (gradient de température).



Les acides gras sont identifiés en fonction de leur temps de rétention au niveau de la colonne par comparaison à des acides gras étalons. La quantité de chaque acide gras est donnée en % d'acide gras totaux.

II.3.5. Dosage de la chlorophylle et des caroténoïdes

Le protocole adopté au dosage des chlorophylles et des caroténoïdes est celui de Minguez-Mosquera *et al.* (1991). Un échantillon de 7,5g d'huile est ajusté à 25 ml avec du cyclohexane. Le maximum d'absorption à 670 nm renseigne sur la fraction chlorophyllienne, alors que la fraction caroténoïde est détectée à 470 nm. La valeur du coefficient d'extinction spécifique appliquée est $E_0=613$ pour la pheophytine comme composant majeur des chlorophylles et $E_0=2000$ pour la lutéine comme caroténoïde majeur. Ainsi le contenu en pigments est déterminé comme suit :

$$\text{Chlorophylle (mg Kg}^{-1}\text{)} = \frac{A_{670} \times 10^6}{613 \times 100 \times T}$$

$$\text{Caroténoïdes (mg Kg}^{-1}\text{)} = \frac{A_{470} \times 10^6}{2000 \times 100 \times T}$$

A : Absorbance

T : Trajet optique (épaisseur de la cuve 1 cm).

II.4. Analyses effectuées sur Les margarines produites

II.4.1. Détermination du taux de solide par RMN (teneur en corps gras solides) (NF EN ISO 8292 T60-250, 1995)

La détermination de la teneur en corps gras solides est effectuée à l'aide d'un spectromètre de résonance magnétique nucléaire (RMN) pulsée basse résolution, de type (minispec mq 20, Germany). L'échantillon est tempéré dans un état stable à une température spécifique et ensuite chauffé et stabilisé à la température de mesure. Les températures de mesure sont : 10, 20, 30, 40°C. Après équilibrage de l'appareil, un champ magnétique est appliqué sur la phase liquide uniquement. Les corps gras solides sont calculés en référence à un échantillon étalon constitué entièrement de corps gras liquides.

La méthode directe consiste à faire préparer des tubes d'échantillons d'huiles bien mélangés après avoir fait fondre la margarine. Ces tubes doivent être remplis à hauteur de 3cm ensuite essuyés. Après, on procède à des incubations de : 0°C/20min, 10°C/20min

20°C/20min, 30°C/20min, 40°C/20min. En faisant la lecture à chaque température. Les résultats sont donnés par le logiciel de l'appareil en pourcentage de solides.

II.4.2. Analyses physico-chimique

II.4.2.1. Détermination de la teneur en eau (humidité) (NE 1. 2-47, 1985)

Consiste à l'évaporation de l'eau ainsi que les matières volatiles de la margarine sous l'effet de la chaleur (plaque chauffante). On pèse le bécher à vide (P_0) et le poids de la prise d'essai (P_1), ensuite on dépose le bécher contenant l'échantillon sur une plaque chauffante, en agitant soigneusement de temps en temps afin d'éviter la formation d'éclaboussures et gouttelettes d'eau aux parois du bécher. On laisse l'échantillon refroidir dans un dessiccateur. Après refroidissement on pèse le bécher contenant l'échantillon (P_2). La teneur en eau est déterminée par la formule suivante :

$$H\% = \frac{(P_0 + P_1) - P_2}{P_2} \times 100$$

Où :

H% : humidité exprimée en pourcentage massique.

P₀ : poids du bêcheur vide en gramme.

P₁ : poids de la prise d'essai en gramme.

P₂ : poids du bêcheur contenant l'échantillon après chauffage.

II.4.2.2. Taux de sel (teneur en sel) (NE. 1. 2.429, 1989)

C'est la quantité de sel présent dans la margarine (phases aqueuse), sous forme de chlorure de sodium. Consiste à titrer les chlorures contenus dans la prise d'essai, avec de nitrate d'argent ($AgNO_3$), en présence de chromate de potassium comme indicateur coloré. Selon la méthode de Mohr. 5g de la margarine sont dissous dans 100ml d'eau distillé préalablement chauffé. Le mélange est maintenu en agitation jusqu'à dissolution complète de l'échantillon après refroidissement le mélange est titré avec une solution de nitrate d'argent en présence de chromates de potassium jusqu'à obtention d'une couleur rouge brique qui persiste pendant 30 secondes.

Le taux de sel ($T_s\%$) est déterminé par l'équation suivante :

$$T (\%) = \frac{N \times V \times Eq.g \text{ NaCl} / 100}{p} \times 100$$

Où :

TS : taux ou teneur en sel exprimée en % ;

N : Normalité d'Ag NO₃ (0.1N) ;

V (ml) : volume en ml d'Ag NO₃ utilisé pour le titrage ;

Eq.g (NaCl) : équivalent grammes d'NaCl égal à 58.5 ;

p: prise d'essai en g.

II.4.2.3. Détermination du point de fusion (NE. 1. 2.91, 1988)

Le point de fusion est la température à laquelle une matière grasse solidifiée dans un tube capillaire se ramollit jusqu'à tel point qu'elle remonte dans le tube.

Après avoir fait fondre une quantité de margarine, on obtient un blend qui est filtré puis introduit dans deux tubes capillaires en verre sur une hauteur de 1 cm, les refroidir au réfrigérateur (8 à 10 min), on fixant les deux capillaires à une pince en bois.

La pince est suspendue sur les côtés du bécher et les deux capillaires sont immergés dans l'eau osmosée, ensuite le milieu est chauffé lentement (0.5°C/min) dans un bain marie.

On observe attentivement et noter la température à laquelle les colonnes de margarine (huile) commencent à remonter dans les tubes. La température notée correspond au point de fusion de la margarine (huile) exprimée en degrés Celsius.

II.4.2.4. Détermination du pH de la phase aqueuse par la méthode potentiométrique (NE. 1. 2.430, 1989)

Le pH de la phase aqueuse de la margarine est la différence de potentiel, à la température de mesure, entre deux électrodes immergées dans la phase aqueuse de la margarine, et exprimé en unité du pH. On étalonne le pH mètre par l'eau distillé à pH=7, ensuite on introduit l'électrode dans la phase aqueuse à la température de mesure. Lorsque la lecture devient constante, on lit la valeur du pH indiqué par le pH mètre à 0.01 unité de pH près, sur l'échelle de l'instrument.

II.4.2.5. Détermination de l'indice de peroxyde (NE. 1. 2. 98, 1988)

Son principe est basé sur traitement d'une prise d'essai en solution dans l'acide acétique et du chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI). Titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium. Un échantillon de 5g de l'échantillon à analyser (blend), est pesé dans un ballon préparé, bien séché et à l'abri de contact avec l'air. On prépare dans un bécher 0.5g d'iodure de potassium (KI) complété à 1.5g d'eau distillée en assurant une bonne agitation.

Le ballon préparé et contenant le blend à titrer, on rajoute le mélange chloroforme (12ml), acide acétique (18ml) tout en agitant, puis on ajoute en dernier lieu l'iodure de potassium. On doit Boucher le ballon, on agiter bien pendant une minute et on laisse à l'abri de la lumière pendant une minute. On ajouter 75ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois

d'amidon comme indicateur coloré, le titrage se fait à l'aide de la solution de thiosulfate de sodium à 0.01N. La lecture sur la burette la chute de niveau correspondant. Le résultat est exprimé selon la formule suivante :

$$I_p = \text{Chute} \times 2$$

II.5. Extraction et dosage des composés phénoliques et *ortho*-diphénols de l'huile d'olive et des deux blends

II.5.1.Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques est réalisée suivant le protocole de Ollivier et *al* (2004). 10 g d'huile d'olive et 10 ml de solution méthanolique (méthanol/eau; 80/20, v/v) sont placés dans un tube à centrifuger. On agite pendant 10 minutes au Vortex. Après centrifugation, pendant 15 min à 3800 rpm. L'opération est reconduite 2 fois.

II.5.2.Dosage des composés phénolique totaux

La mesure de la proportion des composés phénoliques dans les extraits méthanolique a été réalisés selon la méthode de folin-ciocalteu utilisée par Favati *et al.* (1994).

Dans des tubes de 20 ml, sont mélangés 2 ml d'extrait méthanolique, 5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min, 4 ml de solution de carbonate de sodium (10%) sont ajoutés, ensuite ajuster à 20 ml avec de l'eau distillée. Après 90 min d'incubation à l'obscurité, le mélange est filtré et l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 765 nm.

La concentration en composés phénoliques est déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage (annexe 4) obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les concentrations en polyphénols totaux des extraits méthanolique d'huile d'olive sont exprimées en mg d'E.A.G./Kg.

II.5.3.Dosage des *ortho*-diphénols

Les *ortho*-diphénols sont les antioxydants les plus puissants (hydroxytyrosol, acide caféique) (Ollivier et *al.*, 2004). La méthode est basée sur la formation de complexe jaune, entre les *ortho*-diphénols et les ions molybdate, qui absorbent au voisinage de 370 nm. (Ollivier et *al.*, 2004).

La concentration en *ortho*-diphénols des extraits méthanoliques des échantillons d'huiles est déterminée suivant le protocole de Mateos et *al.* (2001).

Quatre d'extrait méthanolique sont additionné de 1 ml d'une solution de molybdate de sodium déshydraté à 5% dans l'éthanol-eau (v/v). Le mélange est agité vigoureusement et après 15min d'incubation *ortho*-à l'obscurité, l'absorbance des solutions phénoliques est mesurée à 370nm. Les teneurs en diphénols des échantillons sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide caféique (annexe 4).

II.6. Activité scavenger sur le radical DPPH

Le Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre, stable et caractérisé par une couleur violette dont l'intensité est mesurée à 515 nm (Brand-Williams et *al.*, 1995). La substance antioxydante agit en transférant un électron ou un atome d'hydrogène ce qui conduit à la réduction du DPPH au cours de la réaction et à un changement de coloration jaune pâle.

Une solution mère a été préparé on solubilisant l'huile dans de l'éthyle acétate à 10 % (m/v), un volume de 4ml de la solution DPPH fraîchement préparé dans de l'éthyle acétate (10^{-4} M), est additionné à des solutions d'huile dilué dans de l'éthyle acétate à différentes concentrations. Le mélange est agité pendant 10 secondes au vortex et l'absorbance est lue après 30 min d'incubation à 515 nm contre un blanc (Oueslati et *al.*, 2009). L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la formule suivante :

$$\text{(\% d'inhibition du DPPH)} = (1 - [\text{DPPH}]_{30} / [\text{DPPH}]_0) \cdot 100$$

[DPPH]₀: Absorbance du contrôle ;

[DPPH]₃₀: Absorbance de l'échantillon.

II.7. Détermination de la stabilité à l'oxydation (Rancimat)

La spécification du Temps d'Induction au test Rancimat (TIR), exprimé en heures correspond au temps pendant lequel la matière grasse a résisté à un stress oxydatif. Le principe du test consiste à vieillir prématurément les matières grasses par décomposition thermique, sous un bullage intensif d'air (Rahmani, 2007).

La stabilité de nos échantillons est déterminée à l'aide d'un appareil Rancimat Metrohm 743, on fixe la pompe à membrane pour gaz et on règle le débit à 10l/h exactement. Puis on arrête à nouveau la pompe, amenant le bloc chauffant à la température voulue (100°C en général) à l'aide du thyristor et du thermomètre à contact. La température doit être maintenue constante à $\pm 0,01$ °C près pendant la durée de l'essai. On

Remplit les cellules de mesure de 50 ml d'eau distillée ou déminéralisée, on pèse 3g de l'échantillon et les introduire dans le flacon d'oxydation à l'air. Mettant en marche la pompe à membrane pour gaz et régler à nouveau le débit sur 10 l/h exactement. Reliant le tube d'arrivée et le tube de sortie d'air aux flacons d'oxydation à l'air et aux cellules de mesure à l'aide des tubes de raccordement, Introduisant le flacon d'oxydation à l'air muni de son bouchon hermétique dans le trou percé à cet effet dans le bloc chauffant ou dans le bain chauffant, qui doivent être tous deux à la température requise .nous arrêtons les mesures au moment où le signal a atteint 100% de l'échelle de l'enregistreur.

II.8. Analyses microbiologiques des margarines produites

II.8.1. Préparation des échantillons pour analyse

Dans un flacon stérile préalablement taré, on pèse la prise d'essai d'une masse de 40g, prélevée aseptiquement à partir de l'échantillon à contrôler, à l'aide d'une spatule stérile on ajoute 34 ml du diluant (Solution Ringer 1/4) et on place les flacons au bain marie.

Le réglage à $45 \pm 1^\circ\text{C}$ s'effectue jusqu'à fusion complète du produit. Ce temps ne doit pas excéder 20 min. On agite jusqu'à l'obtention d'une émulsion homogène, et on laisse reposer à température ambiante, afin d'obtenir une bonne séparation de la phase grasse et de la phase aqueuse. Les examens et les tests effectués sont résumés dans le tableau N°IV (Annexe 7).

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Indices de qualité de l'huile d'olive

Les paramètres de qualité de l'huile d'olive étudiée sont représentés dans le tableau I.

Tableau I: Les indices de qualité de l'huile d'olive.

Les paramètres	Huile étudiée
Acidité (en % d'acide oléique)	7.75± 0,21
Indice de peroxyde (en meq d'O ₂ / kg)	17.25 ±0.35
K ₂₃₂	1.948±0.008
K ₂₇₀	0.247±0.005

III.1.1. Acidité

L'acidité est l'un des principaux critères de qualité de l'huile d'olive. D'après les résultats mentionnés dans le tableau, on constate que l'acidité de notre huile est supérieure à la norme fixé par le COI (2003) pour une huile d'olive lampante vierge qui est de 3.3%. Nos résultats se situent dans les intervalles rapportés par Tamendjari et *al.* (2004) pour la variété *Chemlal* 50% naturel et 100% attaqué, qui varient entre 0.28 et 10.93% et entre 0.64 à 13.7% respectivement, mais très élevés par rapport aux résultats rapportés par Ben Tekaya et Hassouna. (2005) pour l'huile d'olive extra vierge tunisienne étudiée dans différentes conditions de stockage.

Selon Tamendjari et *al.* (2004) la durée de stockage influe négativement sur la qualité de l'huile d'olive et cela est plus nuisible et néfaste quand les olives sont endommagées par la mouche *Bactrocera oleae*, ceci crée l'accélération des processus d'hydrolyse et d'oxydation qui se traduisent par une augmentation de l'acidité libre. Ce qui peut expliquer l'acidité élevée de notre huile qui est probablement due a une forte activité lipolytique sur ses triglycérides.

D'autre part, l'acidité élevée de notre l'huile peut être expliquée par le fait que les olives soient récoltées tardivement, d'après Fuentes de Mendoza et *al.* (2013), l'acidité de l'huile augmente avec le stade de maturité, ils ont constaté qu'au stade vert l'acidité de l'huile qui été de 0.29%, s'élève au stade mur jusqu'à atteindre une valeur de 0.53%, cette élévation est expliquée selon Gutiérrez et *al.* (1999), Salvador et *al.* (2001), par l'augmentation de l'activité enzymatique des enzymes lipolytiques, ainsi que la sensibilité

des olives aux infections pathogènes et les endommagements mécaniques qui engendrent des valeurs élevées de l'acidité libre.

En outre, la température de stockage de l'huile influe sur sa qualité, il a été rapporté par Ben Tekaya et Hassouna. (2005), que l'augmentation de la température (60-80°C), favorise l'élévation de l'acidité jusqu'à atteindre une valeur maximale d'environ 1.4%, tandis que le type d'emballage dans le quel l'huile est conditionnée (verre, plastique et métal) n'a pas d'influence significative.

III.1.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde détermine la quantité d'hydroperoxydes présents dans l'huile d'olive, ce qui permet de mesurer l'auto-oxydation des lipides (Haddada et *al.*, 2008). L'huile étudiée montre un indice de peroxyde (tableau I) qui est de 17.25 meq O₂/Kg, notre huile reste donc dans la norme établie par le COI (2003) (20 meq O₂/Kg pour une huile d'olive extra vierge). Cette valeur est supérieures à celles enregistrées pour la variété *Chemlal* a différents stades de maturité (3.2 à 9 meq O₂/Kg) (Bengana et *al.*, 2013) et des variétés algériennes (entre 3.25 à 8.7 meq O₂/Kg) (Laribi et *al.*, 2011). Proche de celles enregistrées pour les huiles espagnoles commerciales stockées dans des bouteilles en plastique, pour lesquels l'indice de peroxyde varie entre 12.2 à 25.5 meq O₂/Kg pour une durée de stockage de 6 mois (Méndez et Falqué, 2007).

La valeur de l'indice de peroxyde atteinte indique une présence éventuelle des hydroperoxydes produits de l'oxydation, qui peut être expliquée d'une part, par le stade de maturité tardif, l'état (blessures et lésions) et la durée de stockage des olives et d'autre part, par le système d'extraction de l'huile d'olive et les conditions de stockage (emballage, durée, température et la présence de l'air).

D'après les résultats obtenus par Méndez et Falqué. (2007), l'emballage en plastique n'est pas adéquat pour la conservation du fait qu'il est perméable à l'oxygène atmosphérique et à la lumière ce qui intensifie le processus de l'oxydation ce qui peut expliquer la valeur élevée de l'I_p de notre échantillon vu qu'elle a été extraite par centrifugation en trois phases et stocké dans des bouteilles en plastique. En outre, selon Gemino et *al.* (2002) et Di Giovacchino et *al.* (2002), les huiles d'olives extraites à partir des olives saines par le système d'extraction en deux ou trois phases, n'a pas d'influence significative sur les indices de qualité (acidité, indice de peroxyde et absorbance dans l'UV).

III.1.3. Absorbance dans l'UV

D'après les résultats obtenus l'extinction spécifique à 232 et 270 nm (tableau I), on remarque que l'échantillon (huile d'olive) présente un coefficient d'extinction k_{232} qui est de 1.948. Cette valeur reste dans la norme préconisée par le COI (2003) pour une huile d'olive extra vierge (≤ 2.5), tandis que le coefficient d'extinction spécifique k_{270} , qui a atteint une valeur de 0.247, dépasse la norme d'une huile d'olive extra vierge (≤ 0.22), néanmoins la valeur enregistrée est inférieure à la limite fixée par le COI (2003) pour une huile d'olive vierge (≤ 0.25).

Ces résultats rejoignent ceux enregistrés pour les huiles des variétés algériennes étudiées sur deux années de récolte successives qui varient entre 1.14 et 3.32 pour le coefficient k_{232} et de 0.13 à 0.37 pour le coefficient k_{270} (Douzane *et al.*, 2013), ainsi que les huiles marocaines durant les campagnes 07/08, 08/09, 09/10, (entre 1.35 à 1.8 pour le coefficient k_{232} et entre 0.11 à 0.38 pour le coefficient k_{270}) (Tanouti *et al.*, 2011).

Concernant les résultats d'analyse (k_{270} et k_{232}), les valeurs enregistrées sont relativement élevées, ceci est dû probablement à l'oxydation de l'huile. En effet selon Bengana *et al.* (2013) et Krichene *et al.* (2010), l'indice de peroxyde et les coefficients d'extinction k_{232} et k_{270} , sont des paramètres de qualité qui permettent d'évaluer l'oxydation de l'huile, les deux premiers paramètres (I_p et k_{232}) sont considérés comme indicateur d'oxydation primaire et le dernier (k_{270}) est un indicateur d'oxydation secondaire.

Cette oxydation peut être liée à plusieurs facteurs dont les principaux sont les conditions de stockage de l'huile, l'exposition à l'oxygène, la récolte tardive des olives et l'attaque par les insectes, il a été rapporté par Tamendjari *et al.* (2004), que l'attaque des olives par la mouche *B. oleae* accélère les processus d'hydrolyse et de l'oxydation accompagné par l'augmentation de l'absorbance dans l'UV.

III.2. Les indices d'identification de l'huile d'olive

Les indices d'identification de l'huile d'olive sont représentés dans le tableau II.

Tableau II: Les indices d'identification de l'huile d'olive.

Paramètres d'identification	Huile étudiée	Codex Stan 33
Indice d'iode (g d'I ₂ /100 g d'huile)	90	75 - 94
Viscosité (mPaS)	86.6	-
Indice de réfraction	1.4606	1,4677 à 1,4705
Couleur (unité)	Rouge 4.5	-
	Jaune 30	-

III.2.1. Indice d'iode

L'indice d'iode est une appréciation de l'insaturation des acides gras et de leurs esters (Naudet, 1988). Les résultats de l'indice d'iode sont présentés dans le tableau II.

On consultant les résultats (tableau II), on note que notre huile présente un indice d'iode qui est de 90 g d'I₂/100 g d'huile, cette valeur est dans la norme établie par le Codex Stan 33-1981 qui est de 75 à 94 g d'I₂/100 g d'huile, pour une huile d'olive vierge. Nos résultats sont proches de ceux obtenus par Bengana et *al.* (2013), qui varient entre (82 et 88 g d'I₂/100 g d'huile) et de ceux rapporté par Méndez et Falqué. (2007) pour les huiles d'olives espagnoles commerciales, qui varient entre (77.50 à 87.93 g d'I₂/100 g d'huile) et les variétés cultivées *Arbequina*, *Koroneiki*, *Leccino*, *Oueslati* et *Chemlali* planter en Tunisie (81.98 et 94.40 g d'I₂/100 g d'huile) (Dabbou et *al.*, 2010).

Il a été démontré par Bengana et *al.* (2013), que l'indice d'iode augmente durant la maturation, cet indice suit une tendance similaire à celle des acides gras insaturés, particulièrement l'acide linoléique. Méndez et Falqué. (2007) on rapportés que l'emballage en plastique favorise l'oxydation, il a une nette incidence sur les doubles liaisons et par conséquent sur la valeur de l'indice d'iode.

III.2.2. Viscosité

La viscosité est une constante de caractérisation physique qui dépend principalement de la température et de la composition des huiles végétales (Ogutcu et *al.*, 2008).

La viscosité enregistrée pour notre huile est de 86.6 mPaS à 20°C (tableau II), cette valeur est relativement élevée comparés aux résultats rapportés par Ogutcu et *al.* (2008) qui varient entre 60.4 et 66.3.

D'après Samah et Fyka. (2002), La viscosité est fortement affectée lorsque l'huile est exposée à de hautes températures et à l'air, qui favorisent la formation des composés d'oxydation et de polymérisation. En effet les hautes températures (30 à 60°C) entraînent l'oxydation de l'huile d'olive et la formation de composés d'oxydation tels que les hydroperoxydes qui à leur tour du fait de leurs instabilités se dégradent pour former des aldéhydes, des cétones, des alcools et des hydrocarbures et d'autres composés polaires qui favorisent l'augmentation de la viscosité (Maskan, 2003 ; Navarra et *al.*, 2011).

L'augmentation de la viscosité à lieu à cause de la formation de composés de hauts poids moléculaire par polymérisation d'acides gras insaturés (Tsaknis et *al.*, 2002).

III.2.3. Indice de réfraction

Les résultats de l'indice de réfraction de l'huile d'olive étudiée sont représentés dans le tableau II. La valeur obtenue (1.4606), est légèrement inférieure aux valeurs de la norme de Codex Stan 33-1981 qui sont de 1,4677 à 1,4705 pour une huile d'olive vierge.

L'indice de réfraction de notre huile est inférieure aux indices de réfractons enregistrés pour l'ensemble des huiles d'olive tunisiennes qui présentent des valeurs qui varient entre 1.469 et 1.470 (Tekaya et Hassouna, 2005) ainsi que de ceux des variétés turques (1.468 et 1.47 à 25°C) (Ogutcu et *al.*, 2008).

III.2.4. Couleur

La couleur de l'huile d'olive est dépendante de sa composition en pigments, qui est considérée comme un paramètre de qualité (Beltran et *al.*, 2005). Les résultats de l'analyse de la couleur sont représentés dans le tableau II.

Comme c'est illustré dans le tableau, on remarque que le nombre d'unités jaunes (30 unités) est plus important que celui d'unités rouge (4.5 unités).

Selon Criado et *al.* (2008), la couleur de l'huile d'olive est affectée par la période de récolte, ce qui peut expliquer la couleur de notre huile probablement extraite des olives récoltées tardivement, en effet les teneurs en chlorophylles des fruits diminuent au fur et à

mesure de leur maturation suite à la réduction de l'activité photosynthétique qui diminue progressivement (Criado *et al.*, 2007; Baccouri *et al.*, 2008).

D'après Giuliani *et al.* (2011), plus le stade de maturité avance, les huiles obtenues sont d'une couleur dorée pour arriver à la fin à une coloration jaunâtre, cela est expliqué d'après Gandul-Rojas *et al.* (2000), par la transformation des chlorophylles a et b en phéophytines a et b, au fur et à mesure que le stade de maturité augmente.

Les chlorophylles et les phéophytines ont des effets pro-oxydants en présence de la lumière (Giuliani *et al.*, 2011), mais les phéophytines ont l'action pro-oxydante la plus élevée (Rahmani et Csallany, 1998).

III.3. Composition en acides gras des huiles

La composition en acide gras de l'huile d'olive joue un rôle important pour sa qualité nutritionnelle et organoleptique (Tanouti *et al.*, 2011) et sa grande stabilité (Krichene *et al.*, 2010).

L'analyse de la composition en acides gras démontrée sur le chromatogramme (annexe 4), présente des teneurs en différents acides gras répondants aux limites établies par le COI (2003) pour l'huile d'olive de catégorie extra vierge.

Tableau III: Composition de l'échantillon étudié en acide gras totaux.

Acides gras	Acide gras (%)	Norme COI (%)
Acide palmitique (C16 :0)	12.78	7.5-20
Acide stéarique (C18 :0)	3.26	0.5-5
Acide oléique (C18 :1)	72.72	55-83
Acide linoléique (C18 :2)	9.79	3.5-21
Acide linoléique (C18 :3)	0.65	1
AG saturé (AGS)	16.04	–
AG insaturés (AGIS)	83.16	–
AG Polyinsaturé	10.44	–
C18:1/C18:2	7.42	–
AGMI/AGPI	6.96	–

A partir des résultats du tableau III, on remarque que l'acide oléique, palmitique et linoléique, sont les acides gras majoritaires, tandis que l'acide stéarique et linoléique sont présents à des quantités relativement faibles.

Habituellement, l'acide oléique est l'acide gras majoritaire dans l'huile d'olive, la valeur enregistré pour notre huile est de 72.72%, ce taux est proche des teneurs obtenus pour les variétés tunisiennes (Oueslati et *al.*, 2009) et de celles enregistrées pour les huiles espagnoles (Fuentes de Mendoza et *al.*, 2013), supérieure aux valeurs obtenus pour l'huile d'olive algérienne de la variété *Chemlal* (Bengana et *al.*, 2013) et inférieurs aux taux enregistrés par Pardo et *al.* (2007) pour les variétés espagnoles *Picual*, *Cornicabra*, *Manzanilla*, *Arbequina* et *Local*. Les propriétés nutritionnelles de l'huile d'olive sont attribuées pour sa teneur élevé en cet acide gras qui en plus d'être nutritionnel, augmente la résistance des LDL à l'oxydation (Bonanome et *al.*, 1992).

Le stade de maturité des olives affecte le profil de l'huile en acides gras. Durant la maturation une augmentation de la teneur en acides linoléique et palmitique et une diminution de celle de l'acide oléique est observée. Comme il a été démontré par (Gutiérrez et *al.*, 1999), la biosynthèse des triacylglycérols est active durant la maturation, on obtient principalement l'acide oléique qui est transformé en acide linoléique par l'enzyme active «oléate désaturase». Les teneurs en acide linoléique obtenu pour notre huile (9.79%), sont analogues à celles rapportés par Morello et *al.* (2004) et inférieure aux taux rapportés par Oueslati et *al.* (2009).

Le rapport C18:1/C18:2 obtenue est égale a 7.42, ce rapport est utilisé pour caractériser les cultivars ainsi qu'il contribue à la stabilité de l'huile (Allalout et *al.*, 2009), la valeur obtenue est proche des rapports rapporté par Fuentes de Mendoza et *al.* (2013).

L'huile étudiée présente un rapport qui est de 6.96. De toutes les huiles végétales consommées, l'huile d'olive est celle qui présente le rapport acides gras moninsaturés/ acides gras polyinsaturés le plus élevé, cette particularité confère à l'huile d'olive une plus grande stabilité à l'auto-oxydation (Ryan et *al.*, 1998).

III.4. Dosage des pigments

Les résultats obtenus pour les dosages des pigments (chlorophylle et caroténoïdes) sont représentés dans la figure 2.

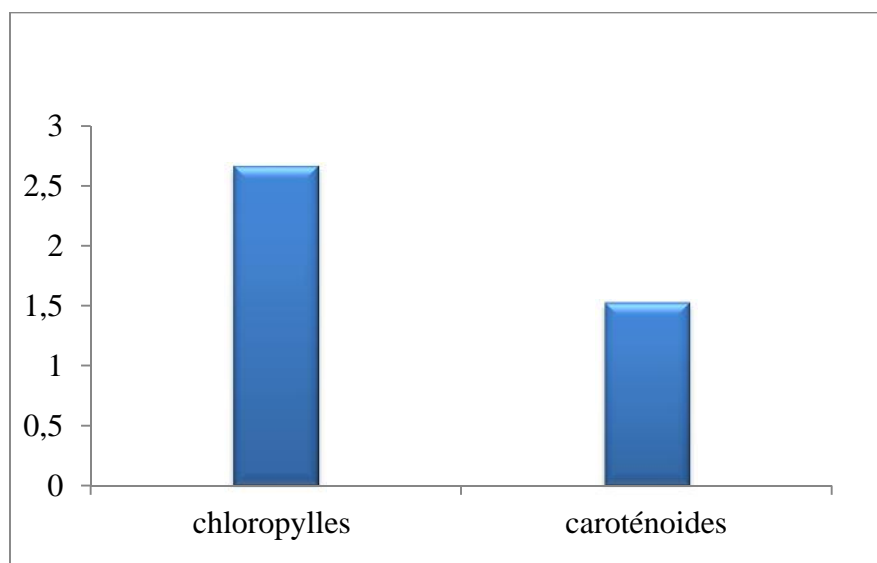


Figure 2: Teneur de l'huile l'olive en pigments.

On consultant les résultats du tableau on note que l'huile étudiée montre des teneurs relativement faibles en pigments chlorophylliens (2.636 mg/kg), par rapport à ceux retrouvés par Morello et *al.* (2004) (14 mg/kg), ainsi que ceux retrouvés par Bengana et *al.* (2013), qui varient entre 13 et 22 mg/kg. La teneur en caroténoïdes de notre huile qui est de 1.52 mg/kg est similaire aux résultats apportée par Bengana et *al.* (2013) qui varient entre 1.2 à 1.5 mg/kg, mais inférieure à la moyenne trouvée par Tanouti et *al.* (2011) (2,76mg/Kg).

La récolte des olives à un stade de maturité tardive est une pratique courante, probablement c'est le cas des olives à partir desquels notre huile a été extraite, d'après Bengana et *al.* (2013), le stade de maturité est une étape clé qui détermine la concentration en chlorophylles, en effet ils ont constaté qu'à des stades prématurés la teneur en chlorophylle est relativement élevée et leur dégradation durant ces périodes est faible, tandis que des pertes remarquables ont été enregistrées à des stades plus avancées avec une chute de 22 mg/kg à 13 mg/kg.

La diminution en pigment chlorophylliens durant la maturation peut être expliquée par la transformation des chlorophylles (a) et chlorophylles (b) en phéophytines (a) et phéophytine (b) respectivement (Bengana et *al.*, 2013), ce qui induit un passage de la coloration de l'huile d'olive du vert à une coloration jaunâtre (Giuliani et *al.*, 2011).

D'autre part, les faibles taux en caroténoïdes enregistrés par notre huile, peuvent être dus à leur oxydation pendant le processus de maturation, ainsi qu'à leur rôle protecteur contre la photooxydation en désactivant l'oxygène singulet (Perrin, 1992).

Le profil de l'huile d'olive en pigments chlorophylliens est affecté par les facteurs agronomiques, les caractéristiques de la région de la provenance des olives (sol, température, humidité), leurs variétés et leur stade de maturité et les techniques agronomiques adopté (Cerretani et *al.*, 2008; Baccouri et *al.*, 2008a).

En plus de la couleur, les chlorophylles et les caroténoïdes jouent un rôle de l'huile d'olive vierge en raison de leur nature anti-oxydante à l'obscurité et pro-oxydante à la lumière (Criado et *al.*, 2008; Oueslati et *al.*, 2009; Dabbou et *al.*, 2010).

III.5. Indices physiques de la margarine

III.5.1. Taux de solide par RMN (SFC)

Le profil de taux de solide, donne une indication sur les propriétés de fusion de la matière grasse (Laia et *al.*, 2000; Carr et Vaisey-Genser, 2003). le SFC est l'un des facteurs déterminants la texture et la plasticité de la margarine. La phase grasse est responsable de plusieurs caractéristiques de la margarine incluant l'apparence, facilité de conditionnement (emballage), les propriétés organoleptiques libération de la flaveur, la fraîcheur la densité et facilité de tartinabilité et exsudation de l'huile (Laia et *al.*, 2000).

Pour les margarines à tartiner, le SFC ne doit pas dépasser 40% à 5°C, pas plus de 6% à 37°C (De Greyt et Huyghebaert, 1993) ou pas plus de 32% à 10°C (Charteris et Keogh, 1991). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IV.

Tableau IV: Teneurs en solide (SFC) des deux margarines MF1 et MF2.

T (°C) / échantillon	20°C	30°C	40°C
MF1(%)	8.7	3.9	0.5
MF2(%)	8.7	3.9	0.5

Les résultats obtenus par le RMN, nous permettent de conclure que les deux margarines sont d'une nature plastique et facile à tartiner. A 37°C, l'indice de SFC est inférieur à 6%, ce qui indique que nos margarines fondent facilement (De Greyt et Huyghebaert, 1993).

L'information obtenue à partir des courbes de solide (SFC) permet de prévoir la compatibilité du corps gras, ainsi que les caractéristiques finales du produit fini.

D'après l'allure des courbes, on remarque une diminution du solide en allant de basses températures (20°C), vers les hautes températures (40°C), tendant même à zéro pour

les deux formulations, les deux courbes se superposent du fait de la composition identique de la phase grasse (blend d'huiles) des deux margarines.

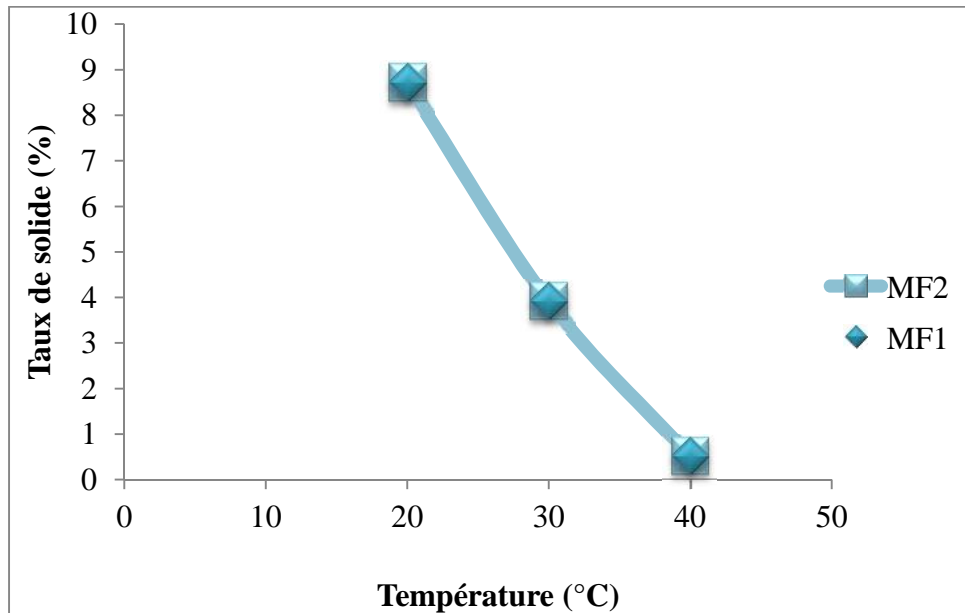


Figure 3: Taux de solides (SFC) de MF1 et MF2.

Selon Laia et *al.* (2000), le SFC à 20°C détermine la tendance à l'exsudation de l'huile il ne doit pas être inférieure à 10%, concernant les deux margarines le taux de solide enregistré à cette température est de 8,7%, ce qui peut engendrer le phénomène de huilage. La fermeté de la margarine est généralement augmentée par le processus d'hydrogénation, car celui-ci est responsable de la formation d'AGS à partir des AGI et des AGT, ces derniers contribuent énormément aux propriétés fonctionnelles des huiles hydrogénées (Idris et Dian, 2005). Cependant, ceux-ci sont considérés comme étant un facteur de risque potentiel dans les maladies cardiovasculaires (Idris et Dian, 2005).

L'huile de palme est parmi les huiles utilisées pour la préparation des deux margarines MF1 et MF2, ainsi pour améliorer la fermeté des deux produits, l'une des options possible est l'augmentation de la fraction utilisée en huile de palme, en effet cette huile présente des avantages d'utilisations liés à la stabilité thermique et oxydative importantes ainsi que la plasticité (Idris et Dian, 2005). Une autre option, étant l'interestérification. Ainsi, pour améliorer leurs propriétés de fusion, ces huiles peuvent être interestérifiées avec des huiles et des graisses végétales contenant des acides gras à chaînes courtes. (Karabulut et *al.*, 2004; Idris et Dian, 2005).

Les taux de solides à diverses températures fournissent de bonnes indications du comportement général du corps gras, information utilisée avant tout pour la formulation et le développement de nouveaux produits. En fait, à chaque type de margarine (cuisine, à tartiner, crème, feuilletage) correspond un type de courbe de solide bien déterminé (Karleskind et Wolff, 1992 ; Ribeiro et *al.*, 2009a).

D'après Karleskind et Wolff (1992) et Ribeiro et *al.* (2009b), la quantité de solide présente à différentes températures au cours de la cristallisation et aussi inversement au cours de la fusion est sans doute un paramètre primordial à considérer et va de suite spécifier la phase grasse. Le SFC est responsable de plusieurs caractéristiques propres aux margarines:

- le SFC à 0,5 et 10°C contrôle le comportement à l'étalement du produit (sa facilité à être tartiner à la température du réfrigérateur) en relation avec le procédé et les conditions de fabrication.
- A 15 et 20°C le SFC est un facteur important pour le procédé, la dureté du produit final et l'exsudation huileuse.
- A 20 et 25°C, il est lié à la stabilité de la margarine.
- A 30 et 35°C, il est lié à la texture (tenue lors de certaines utilisations) et aux propriétés de libération de l'arôme et de la saveur dans la bouche (appréciation orale du produit).

III.6. Analyses physico-chimiques

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des margarines élaborées (margarines enrichie en l'huile d'olive avec vitamine E et margarine enrichie en l'huile d'olive sans vitamine E) sont représentés dans le tableau V.

Tableau V: Caractéristiques physico-chimiques des deux margarines élaborées MF1 et MF2.

	Teneur	
	MF1	MF2
Humidité en (%)	15.61	15.61
Point de fusion (°C)	35.4	35.4
pH de la phase aqueuse	4.5	4.5

III.6.1. Teneur en eau (Humidité)

Les résultats de l'humidité pour les deux margarines MF1 et MF2 sont présentés dans le Tableau V. On remarque que la teneur en eau (humidité) est analogue pour les deux margarines; elle est de l'ordre de 15.61. Ceci est compatible avec la formulation initiale des deux margarines qui contiennent 82 % de phase grasse et 18 % de phase aqueuse, dont l'eau et les composés hydrosolubles.

III.6.2. Détermination du point de fusion

Le point de fusion des deux margarines MF1 et MF2 (tableau V) est identique pour les deux formulations, cela est dû à la similarité dans la composition en matière grasse des deux margarines. Les points de fusion retrouvés pour nos formulations MF1 et MF2 sont similaires à ceux apportés par Karabulut et Turan. (2006), dont les valeurs varient 31,2 à 34,5 °C pour l'ensemble des 15 margarines turques étudiées.

Les propriétés physiques de la margarine, fermeté, consistance et plasticité, dépendent de plusieurs facteurs dont les principaux sont le point de fusion des triglycérides constituant l'huile, le taux de solide à une température donnée et la structure cristalline de la matière grasse. La fermeté de la margarine est souvent mesurée par le point de fusion des triglycérides rentrant dans sa composition (Wiedermann, 1978).

III.6.3. Détermination du pH de la phase aqueuse par la méthode potentiométrique

D'après les résultats (Tableau V) on constate que les pH des deux phases aqueuses sont égaux et sont de l'ordre de 4.5.

Selon Karleskind et Wolff (1992), il est préférable de contrôler le pH de la phase aqueuse. Une valeur basse de ce dernier freine la croissance des microorganismes. En général on fixe le pH entre 4.0 et 5.5 (dans certaines margarines de feuilletage on peut avoir des valeurs de 3.0 à 3.5).

III.6.4. Détermination de l'indice de peroxyde

La cause la plus commune pour la détérioration de l'huile est le rancissement qui est causé par l'oxydation, ayant comme premiers produits d'oxydation les hydroperoxydes (Laia et al., 2000). L'indice de peroxyde est un critère très utile et d'une sensibilité satisfaisante pour apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative (Karleskind et Wolff, 1992).

Les résultats des indices de peroxyde estimés pour les deux margarines sont représentés sur figure.

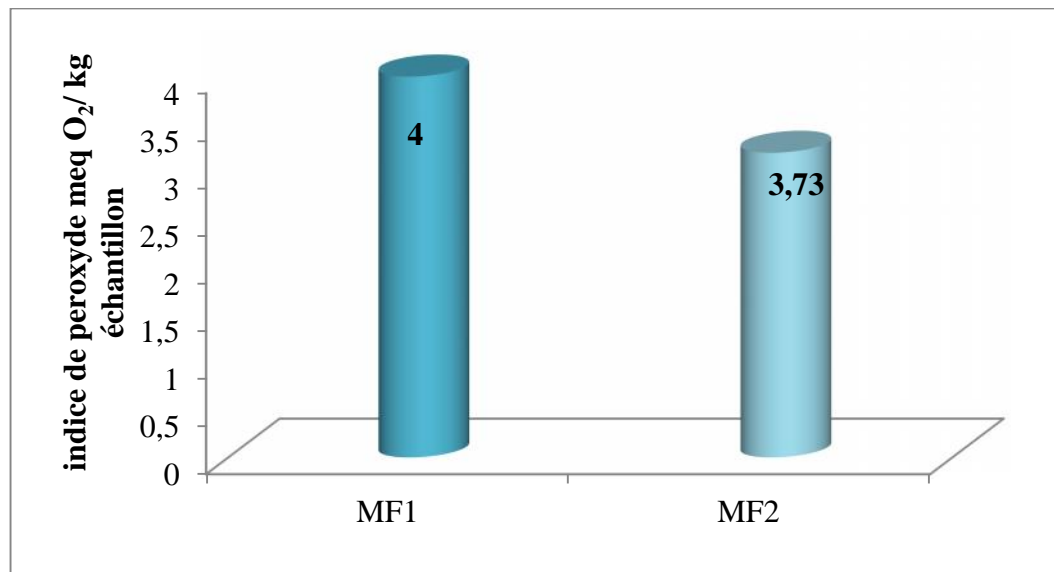


Figure 4: Résultats des indices de peroxyde des deux formulations.

D'après les résultats mentionnés sur la figure on remarque que les indices de peroxydes obtenus pour les deux margarines MF1 et MF2 qui sont de 3.73 et 4 meqO₂/Kg respectivement, sont supérieures à ceux rapportés par Laia et *al.* (2000), pour les margarines expérimentales et commerciales à différentes durée et températures de stockage, qui présentent des valeurs comprises entre 1.38 et 1.74 meq O₂/Kg pour les margarines expérimentales et entre 1.28 et 1.54 meq O₂/Kg pour les margarines commerciales. Néanmoins Les valeurs atteintes sont inférieures à la norme fixée par (NE.1.2.98.88) qui est de 10 méq O₂/Kg MG utilisées par l'entreprise. Ainsi qu'au seuil maximum requis par Karleskind, (1992) qui est de l'ordre de 5 méq O₂/kg.

III.6.5. Teneur en sel (taux de sel)

Concernant la teneur, d'après les résultats obtenues (figure 5) on remarque que les deux formulations MF1 et MF2 ont quasiment les même teneurs en sel qui est de 0.32%.

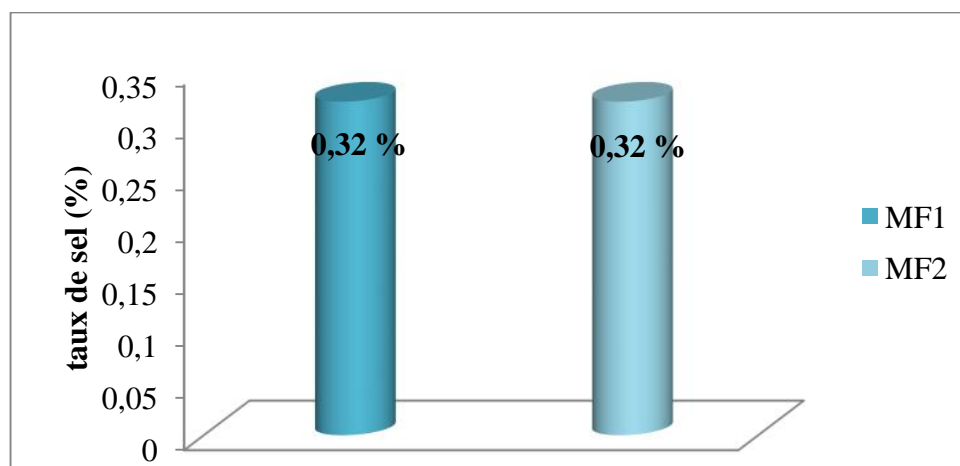


Figure 5: Teneur en sel des deux margarines des deux margarines MF1 et MF2.

Selon Karleskind et Wolff (1992), la teneur en sel varie suivant l'utilisation de la margarine et sa texture. Elle est de l'ordre de 0,1 à 0,3 % pour les margarines tartinables. Il est ainsi nécessaire de contrôler la présence et le taux de sel.

Le sel joue un rôle très important dans la stabilisation de l'émulsion. D'après Frasc-Melnik et *al.* (2010), l'utilisation des cristaux de monoglycérides comme émulsifiant ou bien en combinaison avec les cristaux de triglycérides améliore la stabilité des émulsions eau dans l'huile par encapsulation du sel qui se fait grâce à la formation de coquilles solides autour des gouttelettes d'eau (contenant le sel) par les cristaux d'émulsifiants agglomérés. Cependant, la température est un paramètre limitant et peut s'avérer néfaste à la stabilité de l'émulsion si elle est assez élevée.

III.7. Dosage des composés phénolique

III.7.1. Dosage des polyphénols totaux

Les résultats du dosage colorimétrique des polyphénols totaux sont représentés dans la figure 6. L'huile d'olive analysée montre des teneurs en polyphénols totaux relativement proches de celles rapportées par Gemino et *al.* (2002), qui varie entre 42 et 72.33 mg/kg, pour les huiles obtenues par centrifugation en trois phases, ainsi que de celles enregistrées pour les variétés espagnoles qui présentent des teneurs en polyphénols comprises entre 37.2 et 93.2 mg/kg (Ceci et Carelli 2007). Les teneurs en polyphénols de notre huile sont largement inférieure à celles des variétés algériennes étudiées par Lincer et *al.* (2014), qui présentent des teneurs comprises entre 115.73 et 420.95mg/kg.

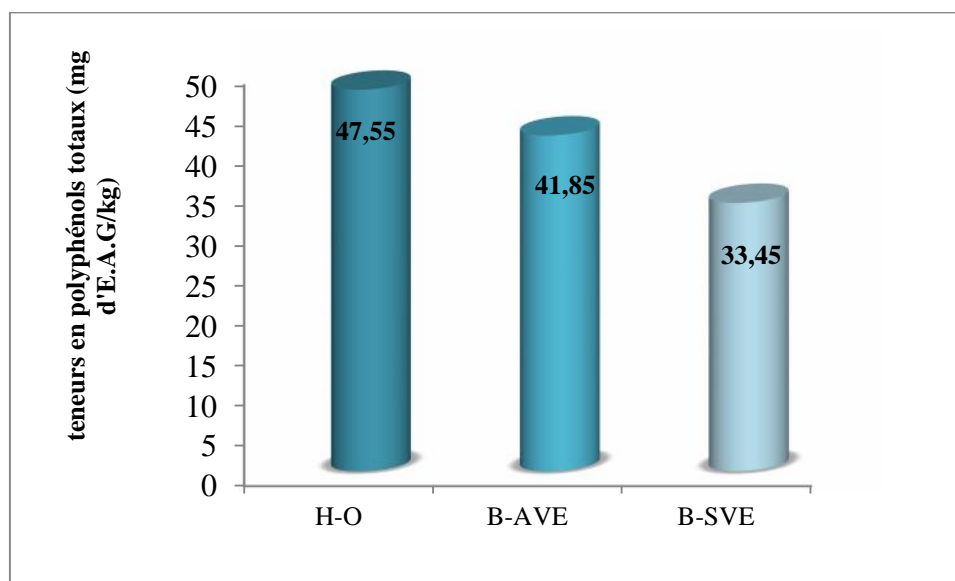


Figure 6: Teneurs en polyphénols de l'huile d'olive et des deux blends avec et sans vitamines E.

La teneur enregistrée en phénols totaux pour l'huile d'olive nous permet de classer cette huile dans la catégorie à teneur faible en polyphénols totaux (50-200 mg/kg) (Tsimidou, 1998).

Les faibles teneurs en composés phénoliques de l'huile étudiée peuvent être reliées, au stade de maturité, d'après Bengana et *al.* (2013), plus les olives sont mures plus la dégradation en polyphénols augmente. Morello et *al.* (2005), rapportent que le stade de maturité qui est une caractéristique variétale affecte d'une part l'activité enzymatique de la L-phénylalanine ammonia lyase et d'autre part la teneur en composés phénoliques. des coefficients de corrélations de 0.82, 0.82 et 0.64 ont été apportés entre l'activité de la PAL et les teneurs en composés phénoliques pour les trois variétés *Arbequina*, *Farga* et *Morrut* respectivement (Morello et *al.*, 2005).

Avant d'être soumises aux procédés d'extraction, il est probable que nos olives soient stockées pour une longue période de temps, ce qui peut engendrer des pertes importantes en composés phénoliques, en effet selon Tamendjari et *al.* (2004), le stockage des olives influe négativement sur la teneur en composés phénoliques, avec des pertes plus importantes pour les olives attaquées.

Les teneurs en composés phénoliques montrent également des fluctuations en fonction du système utilisé pour l'extraction, d'après Gemino et *al.* (2002), la centrifugation à deux phases préserve le contenu en polyphénols plus que le système de la centrifugation à trois phases, en effet l'addition de l'eau au cours de centrifugation à trois

phases, entraînent leur passage dans la phase aqueuse aboutissant à des huiles pauvres en polyphénols.

On comparant les résultats des teneurs en composés phénoliques totaux obtenus pour l'huile d'olive et les deux blends sans et avec vitamine E, une diminution est détectée pour les deux blends par rapport à l'huile d'olive, les concentrations qui sont de l'ordre de 47.55 mg/kg. Pour l'huile, diminue pour les deux blends jusqu'à atteindre des teneurs de 41.85 mg/kg et de 33.45 mg/kg pour le blend avec et sans respectivement.

La présence des polyphénols dans les deux blends est la conséquence des 10 % d'huile d'olive qui ont été mélangés avec trois huiles raffinées (tournesol, palm et ininteresterfié) pour la préparation des deux margarines avec et sans vitamine E, en effet les composés phénoliques s'avèrent introuvables dans les huiles raffinées parce qu'elles sont soumises au processus de raffinage qui engendre la dégradation des polyphénols du fait de leur sensibilité à la chaleur (Pinelo et al., 2005), conformément aux résultats rapportés par (De Leonardis et Macciola, 2012) après mélange de 20 % d'huile d'olive avec 80 % de l'huile de palme.

III.7.2. Dosages des *ortho*-diphénols

L'analyse des teneurs en *ortho*-diphénols de l'huile d'olive est représentée dans le tableau VI.

Tableau VI: Teneurs de l'huile d'olive en *ortho*-diphénols.

	Huile d'olive
Teneur (mg d'EAC/Kg)	1

Les résultats obtenus sont inférieurs à ceux apportés par Lincer et al. (2014), dont des valeurs qui varient entre 5.68 et 29.67 mg/kg, ainsi que de ceux enregistrés pour les huiles espagnoles *Picual*, *Hojiblanca* et *Arbequina* pour lesquelles les valeurs sont comprises entre 3.9 et 18.92 mg/kg (Gutiérrez et al., 2002).

III.8. Activité antiradicalaire de l'huile d'olive et des deux blends avec et sans vitamine E sur le radical DPPH

Les résultats du pouvoir antiradicalaire des échantillons, huile d'olive, blend sans vitamine E (B-SVE) et blend avec vitamine E (B-AVE), sont représentés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH figure 7.

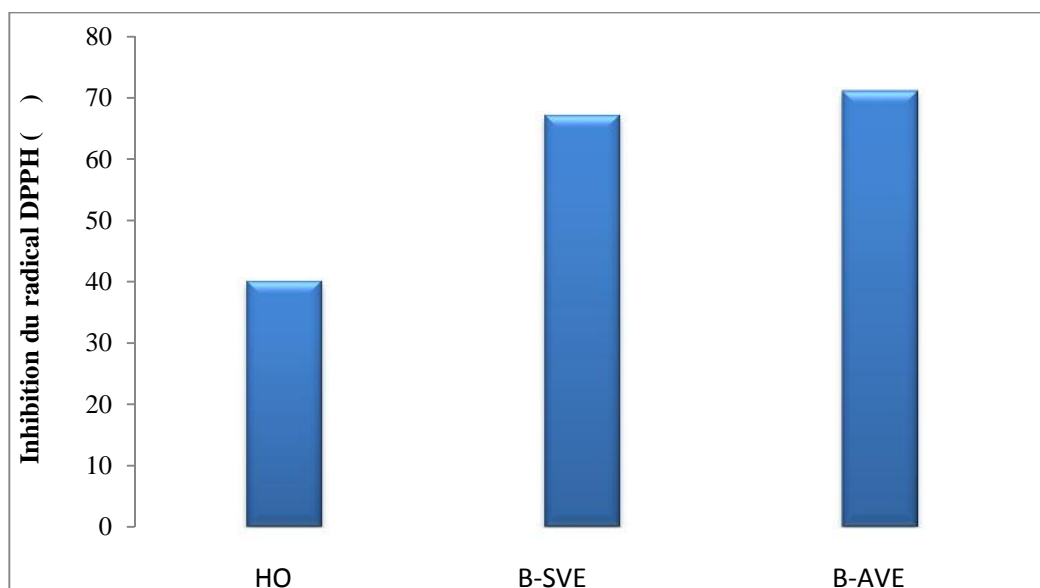


Figure 7: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH des différents échantillons.

Nos résultats révèlent la performance du blend avec vitamine E, qui exerce le meilleur pourcentage d'inhibition du radical DPPH (71%), suivi du blend sans vitamine E avec un pourcentage d'inhibition de (67%), l'activité la plus faible étant enregistré pour l'huile d'olive individuelle (40%).

La faible activité de l'huile d'olive pourrait être liée aux faibles teneurs en polyphénols et *ortho*-diphénols, qui sont de 47.55 mg/kg et 1 mg/kg respectivement. Samaniego Sanchez et *al.* (2007) ont abouti à des corrélations significatives entre l'activité antiradicalaire et les teneurs en polyphénols totaux avec un coefficient de corrélations de 0,79, Kiralan et *al.* (2009) ont aussi apporté des coefficients de corrélation de 0,81 et 0,62 pour les polyphénols totaux et *ortho*-diphénols respectivement.

Lesage-Meessen et *al.* (2001), ont évalué l'activité antioxydante au DPPH des composés phénoliques des huiles obtenus par système d'extraction à deux et à trois phases, une activité antiradicalaire plus grande a été constaté pour l'huile obtenue par système à deux phases que s'elle obtenue à trois phase, ils ont attribué ce résultat au fait que l'huile du système à deux phases soit plus riche en *ortho*-diphénols principalement en hydroxytyrosol, ce qui peut expliquer la faible activité antioxydante de notre huile. D'après Baldioli et *al.* (1996), Huang et Sumpio (2008), les composés *ortho*-diphénoliques, tels que l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine aglycone et l'acide caféique, sont plus impliqués dans l'activité antioxydante.

D'après les résultats, on constate que le blend sans vitamine E présente une activité relativement importante malgré qu'il renferme la plus faible teneur en composés phénoliques (33.45 mg/kg), cela peut être expliqué par la présence d'autres composés ayant une activité antioxydante, autre que les composés phénoliques, qui sont les tocophérols, en plus des tocophérols présents dans l'huile d'olive, ceux présents dans les huiles raffinées utilisées pour la préparation des deux margarines. En effet, d'une part l'huile d'olive est une source importante en tocophérols, avec une prédominance de l' α -tocophérol qui présente une forte activité antioxydante, Grigoriadou et *al.* (2007). D'autre part, selon Rossi et *al.* (2007), des concentrations assez élevées en tocophérols sont détectées après le raffinage des huiles, ce qui prouve que ces composés résistent aux opérations de raffinage (dégradation entre 25% et 65 % de la teneur total).

Une activité notable des tocophérols dans des huiles raffinées en absence d'autres antioxydants est rapportée par Andrikopoulos et *al.* (2002), ce qui prouve que ces composés jouent un rôle prédominant dans l'activité antioxydante dans les huiles raffinées, dans lesquelles d'autres composés à activité antioxydante (polyphénols et caroténoïde) sont principalement détruits par le traitement de raffinage (Andrikopoulos et *al.*, 2002; Nergiz, 1993; Rossi et *al.*, 2001).

Le blend avec vitamine E présente l'activité la plus importante cela est dû à la présence de la vitamine E ainsi que les tocophérols endogènes de l'huile d'olive et des huiles raffinées, ce qui peut être à l'origine d'une action antioxydante potentiellement supérieure. En effet selon Jiang et *al.* (2005), l' α -tocophérol l'analogue prédominant de la vitamine E et le constituant majeur des tocophérols, contribue à l'activité anti-DPPH aux environs 39 à 69%.

La variation de l'activité antiradicalaire pourrait être interprétée par la différence de la composition et du contenu en antioxydants ainsi que par la diversité structurale des composés phénoliques présents dans l'huile (Carrasco-Pancorbo et *al.*, 2006).

III.9. détermination de la stabilité à l'oxydation (Rancimat)

Les résultats de l'analyse des deux margarines MF1 et MF2 sont représentés en Figure 8. Ils sont présentés sous forme d'un graphe représentant le temps d'induction en fonction de la conductivité (annexe 5). Le graphe se présente sous forme d'une fonction parabolique. Cette allure est expliquée d'après Arain et *al.* (2009), par le fait que les

produits de dégradation volatiles sont piégés dans l'eau distillée induisant ainsi l'augmentation de la conductivité.

D'après les résultats illustrés (Figure 8) on remarque que la margarine MF1 présente une période d'induction plus courte que la margarine MF2, ce qui signifie une moindre stabilité oxydative.

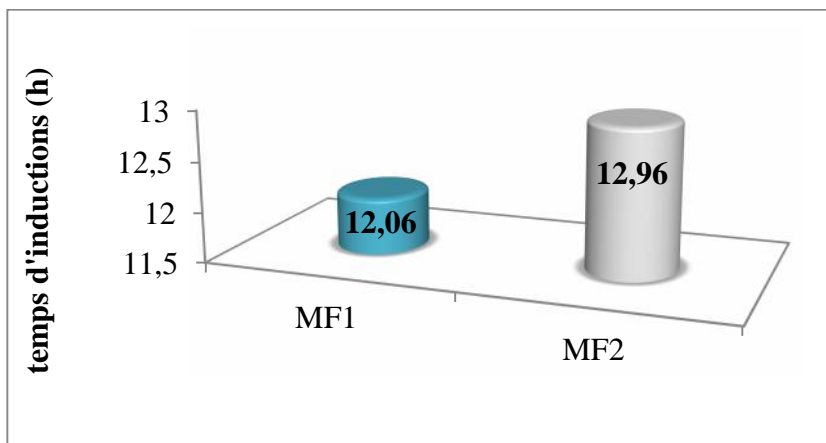


Figure 8: Temps d'induction exprimé (h) des échantillons de la margarine.

D'après Farmani et *al.* (2007), l'huile qui contient une plus grande teneur en AGS et une moindre teneur en AGI possède une période d'induction plus importante. Une réduction plus importante de la période d'induction est due à la présence d'AGPI.

Concernant les deux formulations, les huiles utilisées sont identiques (types et proportions), sachant que l'incorporation de l'huile d'olive augmente le taux des AGI. Cependant ce paramètre ne pourrait pas être la cause de différence de temps d'induction enregistré du fait de la composition identique des deux blend en huiles.

La stabilité oxydative de l'huile d'olive dépend de ses composés endogènes et varie considérablement en fonction de la composition en acides gras et les niveaux naturels des pro/antioxydants. En plus du rôle individuelle de chaque antioxydant dans le contrôle de la stabilité oxydative de l'huile d'olive, l'effet de synergie entre l'ensemble des antioxydants présents dans l'huile tels que les composés phénoliques, l' α -tocophérols, le profil lipidique et les pigments, peut être aussi impliqués dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive (Dabbou et *al.*, 2010).

Une étude réalisée par Baldioli et *al.* (1996), à démontrée que l' α -tocophérol ne présente pas de corrélation significative avec la stabilité oxydative de l'huile d'olive, tandis que quand il est mélangé avec l'hydroxytyrosol et ses formes oléosidiques dans une huile

d'olive purifiée, un effet de synergie est constaté entre eux, et sont fortement corrélés avec la stabilité oxydative de l'huile d'olive.

Cependant, malgré que la margarine MF1 soit plus riche en substances antioxydantes, avec une teneur en polyphénols totaux de 41.85 mg/kg et le fait de l'addition de la l' -tocophérol, mais celle-ci présente une période d'induction moins faible que la MF2 qui est sans l' -tocophérol, ce qui peut être expliqué par la présence d'un effet pro-oxydant, en effet d'après Blekas *et al.* (1995), l' -tocophérol peut agir soit comme antioxydant ou pro-oxydant. A des températures relativement élevées, l' -tocophérol n'est pas un antioxydant primaire idéal (Deiana *et al.*, 2002; Rahmouini *et al.*, 2006) et ne contribue pas vraiment dans la définition de temps d'induction (Baldioli *et al.*, 1996). Des corrélations non significatives ont été rapportées par Cerretani *et al.* (2006), Dabbou *et al.* (2010) entre la stabilité oxydative et les teneurs en -tocophérols, pour des concentrations comprises entre 152.93 à 369.04 mg/kg et de 212 à 377.5 mg/kg pour les variétés étudiées par Dabbou *et al.* (2010) et Cerretani *et al.* (2006) respectivement.

Selon Ben Tekaya et Hassouna. (2007), l' -tocophérol montre un effet inhibiteur de l'auto- et la photo-oxydation, mais l'association -tocophérol/ -carotène semble être moins efficace que l' -tocophérols seul pour inhiber ces réactions (Perrin, 1992). En effet l'étude menée par Ben Tekaya et Hassouna. (2007), a prouvé que l'ajout de, l' -tocophérol à une huile d'olive contenant de -tocophérol et de -carotène, présente un effet pro-oxydant, ce qui expliquera probablement la période d'induction obtenu pour la MF1, qui est initialement formulé par l'addition de -carotène et l'utilisation de l'huile d'olive qui peut être une source importante de -carotène et de l' -tocophérol, après l'addition de la l' -tocophérol un éventuelle effet pro-oxydant a eu lieu, contrairement à la margarine MF2 qui a été formulé sans l'addition de l' -tocophérol, sa période d'induction est plus importante.

D'après Perrin. (1992), Satue *et al.* (1995), Deiana *et al.* (2002), une activité légèrement pro-oxydante de l' -tocophérol peut avoir lieu également dans les premiers stades de l'auto-oxydation de l'huile d'olive, dépendant de sa concentration. Il est ainsi vraisemblable que les effets de synergie ou d'antagonisme varient en fonction des rapports molaires entre les différents composés (Ben Tekaya et Hassouna, 2007).

D'après les résultats obtenus, on peut supposer que les antioxydants endogènes de l'huile d'olive réagissent en synergie (Ben Tekaya et Hassouna, 2007), plus puissants que l' -tocophérol synthétique utilisée pour la formulation de la margarine MF1.

En outre, De Leonardis et Macciola. (2012) ont démontrés dans leurs études que la stabilité oxydative d'un mélange d'huile de palme et une huile d'olive extra vierge (ration inférieur à 20% d'huile d'olive) est importante grâce aux composés phénoliques du mélange, conformément aux résultats trouvés par (Gallina-Toschi et *al.*, 2005), (Dabbou et *al.*, 2010), (Bengana et *al.*, 2013) qui ont abouti à des corrélations significatives entre la stabilité oxydative et la composition phénolique d'une huile d'olive vierge.

III.10. analyses microbiologiques

D'après les résultats obtenus (tableau VI annexe 7), une présence de quelques germes de la flore aérobie totale inférieur à la norme fixée (10^2 UFC/g) est détectée, leur présence est attribuée à plusieurs facteurs dont l'emballage ou l'air ambiant dans la salle de fabrication à l'échelle pilote. Cela ne pourrai pas être lié à la matière première utilisé (lait, eau et ingrédients utilisés), ni au process de fabrication.

Les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, levures et Salmonella, se sont avérées inexistantes dans nos échantillons, cela peut être expliqué d'une part par l'efficacité de la pasteurisation ($70^{\circ}\text{C}/4\text{min}$) et d'autre part par la présence des composés phénoliques ayant une activité antibactérienne dans l'huile d'olive utilisée, à cet égard Brenes et *al.* (2007), rapportent que l'huile d'olive présente l'activité antibactérienne la plus élevée comparé aux autres huiles végétales (Tournesol, Corne, Soja, Cotton et Colza), cela est en relation avec la diminution des teneurs en composés phénoliques, cette activité est expliquée par la sensibilité des bactéries aux composés phénoliques, l'activité antibactérienne est plus élevée vis-à-vis des bactéries à Gram positive que les Gram négative.

Conclusion

Conclusion et perspectives

L'étude réalisée a été consacrée à l'élaboration de deux margarines à tartiner enrichie en l'huile d'olive l'une additionné de l'antioxydant synthétique utilisé au niveau de la margarinerie de CEVITAL et l'autre sans antioxydant synthétique.

Concernant la composition en acides gras, l'huile d'olive étudiée présente des teneurs en différents acides gras répondant aux normes établies par le COI (2003), pour l'huile d'olive extra vierge, avec une prédominance de l'acide oléique (72.72%).

Le dosage des polyphénols totaux montre que l'huile d'olive renferme les teneurs les plus élevées en polyphénols (47.55 mg/kg) suivie de blend avec α -tocophérol (41.85 mg/kg), les teneurs les plus faibles ont été obtenues pour le blend sans α -tocophérol (33.45 mg/kg).

L'essai de formulation des margarines de table additionnées de l'huile d'olive sans et avec antioxydants a été expérimenté, en vue d'évaluer leurs stabilité. Concernant la caractérisation physico-chimique des deux formulations de margarine étudiées s'avère conforme à la recette préétablie. En outre, l'indice de peroxyde des deux margarines est conforme aux normes. Pour les deux formulations MF1 et MF2, l'humidité est de 15.61%. L'analyse des critères de composition et de qualité, le pH de MF1 et MF2 : 4.5, teneur en sel : 0.32%, points de fusions pour les deux margarines MF1 et MF2 est de 35.4 °C, l'indice de peroxyde 4 meq d'O₂/kg pour MF1 est de 3.73 meq d'O₂/kg pour MF2, s'avèrent conformes aux normes.

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive et des deux blend sans et avec α -tocophérol, révèle l'ordre suivant: blend avec α -tocophérol > blend sans α -tocophérol > huile d'olive. Le blend avec α -tocophérol exerce la meilleure activité anti-radicalaire avec un pourcentage de 71%, le blend sans α -tocophérol est moins performant que celui avec α -tocophérol (67%), l'huile d'olive présente l'activité anti-oxydante la plus faible (40%).

Les résultats de l'évaluation de la stabilité oxydative par le test de Rancimat indique que la margarine sans l' α -tocophérol (12.96h) est plus résistante que celle a l' α -tocophérol (12.06h). En conséquence, la substitution des antioxydants synthétiques (les tocophérols) par l'huile d'olive a eu pour effet, une approche innovante et concluante, afin d'utilisé l'huile d'olive dans l'objectif d'élaborer un aliment fonctionnel. Concernant l'analyse microbiologique les deux margarines MF1 et MF2 se sont avéré exemptes de

germes pathogènes, Aucune présence des coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, levures et *Salmonella* n'a été détectée.

Au vu des résultats obtenus, et tenant compte de la problématique du sujet, il nous semble conséquent d'approfondir le présent travail par :

- ✓ Une détermination qualitative et quantitative des teneurs en tocophérols dans l'huile d'olive et la margarine.
- ✓ Une quantification des acides gras dans le produit fini et le rapport Oméga 3/oméga 6.
- ✓ Une incorporation de l'huile d'olive à plusieurs pourcentages.
- ✓ D'étudier une margarine enrichie en huile d'olive sans pasteurisation (activités antimicrobienne, antifongique de la composition phénolique de l'huile).

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

Allalout A, Krichène D, Methenni K, Taamalli A, Oueslati I, Daoud D et Zarrouk M. (2009). Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia horticulturae*. 120, 77-83.

Andrikopoulos NK, Kalogeropoulos N, Falirea A et Barbagianni MN. (2002). Performance of virgin olive oil and vegetable shortening during domestic deep-frying and pan-frying of potatoes. *International journal of food science and technology*. 37, 177-190.

Angerosa F, Campestre C et Giansante L. (2006). Analysis and Authentication in Olive Oil, Chemistry and Technology, Ed, The American Oil Chemists' Society, pp. 113-172.

Arain S, Sherazi STH, Bhangar MI, Talpur FN et Mahesar SA. (2009). Oxidative stability assessment of *Bauhinia purpurea* seed oil in comparison to two conventional vegetable oils by differential scanning calorimetry and Rancimat methods. *Thermochimica Acta*. 484, 1-3.

Ayesh R, Weststrate JA, Drewitt PN et Hepburn PA. (1999). Safety evaluation of phytosterol esters. Part 5. Faecal short-chain fatty acid and microflora content, faecal bacterial enzyme activity and serum female sex hormones in healthy normolipidaemic volunteers consuming a controlled diet either with or without a phytosterol ester-enriched margarine. *Food and Chemical Toxicology*. 37, 1127-1138.

B

Baccouri O, Guerfel M, Baccouri B, Cerretani L, Bendini A, Lercker G, Zarrouk M et Daoud Ben Miled D. (2008). Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. *Food Chemistry*. 109, 743-754.

Baldioli M, Servili M, Perretti G et Montedoro GF. (1996). Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 73, 1589-1593.

Beltran G, Aguilera MP, Rio CD, Sanchez S et Martinez L. (2005). Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry*. 89, 207-215.

Ben Tekaya I et Hassouna M. (2007). Effets des chlorophylles, du bêta-carotène, de l'alphatocophérol, du tyrosol et de leurs interactions sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive tunisienne. *Oléagineux, corps gras, lipides*. 14, 60-67.

Ben Tekaya I. et Hassouna M. (2005). Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux Corps gras Lipides*. 12, 447-453.

Bengana M, Bakhouché A, Lozano-Sanchez J, Amir Y, Youyou A, Segura-Carretero, A et Fernandez-Gutiérrez A. (2013). Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil. *Food Research International*. 54, 1868-1875.

Blekas G, Psomiadou E, Tsimidou M et Boskou D. (2002). On the importance of total polar phenols to monitor the stability of Greek virgin olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104, 340-346.

Blekas G, Tsimidou M et Boskou D. (1995). Contribution of α -tocopherol to olive oil stability. *Food Chemistry*. 52, 289-294.

Bonanome A, Pagnan A, Biffanti S, Opportuno A, Sorgato F, Dorella M. et Ursini F. (1992). Effect of dietary monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the susceptibility of plasma low density lipoproteins to oxidative modification. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 12, 529-533.

Boskou D., Blekas G. et Tsimidou M. (2006). Olive Oil Composition in Olive Oil, *Chemistry and Technology*, Boskou, D. Ed, The American Oil Chemists' Society, pp. 41-72.

Brand-Williams W, Cuvelier ME et Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel - Wissenschaft Technologie*. 28, 25-30.

Brenes M, Medina E, Romero C et De Castro A. (2007). Antimicrobial activity of olive oil. *AGRO FOOD INDUSTRY HI TECH*. 18, 6.

C

C.E.E. 2568/91. Communauté Economique Européenne. Règlement (CEE) N°2568/91 de la commission du 11 juillet 1991. Relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes : 27-30.

C.O.I. (1996). Analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet. Conseil Oléicole International/ T20/ Doc 19 6 juin 1996, Madrid. Espagne.

- C.O.I. (2003).** Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.
- Carr RA et Vaissey-Genser M. (2003).** Margarine/Methods of manufacture. In: Encyclopaedia of Food Science and Nutrition. Academic Press, Amsterdam, pp. 3709–3714.
- Codex Alimentarius Commission. (2003).** Codex alimentarius: Standard for olive oils and olive pomace oils. (Rev. 2-2003 Ed., Vol. STAN 33-1981).
- Carrasco-Pancorbo A, Cerretani L, Segura-Carretero A, Gallina-Toschi T, Lercker G et Fernandez-Gutierrez A. (2006).** Evaluation of individual antioxidant activity of single phenolic compounds on virgin olive oil. Progress In Nutrition. 8, 28-39.
- Carrera-González MP, Ramírez-Expósito MJ, Mayas MD, et Martínez-Martos JM. (2013).** Protective role of oleuropein and its metabolite hydroxytyrosol on cancer. Trends in Food Science and Technology. 31, 92-99.
- Cecchi T et Alfei B. (2013).** Volatile profiles of Italian monovarietal extra virgin olive oils via HS-SPME–GC–MS: Newly identified compounds, flavors molecular markers, and terpenic profile. Food Chemistry. 14, 2025-2035.
- Ceci LN et Carelli AA. (2007).** Characterization of monovarietal Argentinian olive oils from new productive zones. Journal of the American Oil Chemists' Society. 84, 1125-1136.
- Cerretani L, Bendini A, Del Caro A, Piga A, Vacca V, Caboni MF et Toschi TG. (2006).** Preliminary characterization of virgin olive oils obtained from different cultivars in Sardinia. European Food Research and Technology. 222, 354-361.
- Cerretani L, Motilva MJ, Romero MP, Bendini A et Lercker G. (2008).** Pigment profile and chromatic parameters of monovarietal virgin olive oils from different Italian cultivars. European Food Research and Technology. 226, 1251-1258.
- Chateris W et Keogh K. (1991).** Fats and oil in table spread. LipidTechnology. 3, 16-22.
- Cicerale S, Conlan XA, Sinclair AJ et Keast RSJ. (2009).** Chemistry and health of olive oil phenolics. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 49, 218-236
- Criado MN, Motilva MJ, Goni M et Romero MP. (2007).** Comparative study of the effect of the maturation process of the olive fruit on the chlorophyll and carotenoid fractions of drupes and virgin oils from *Arbequina* and *Farga* cultivars. Food Chemistry. 100, 748-755.

Criado MN, Romero, MP, Casanovas M et Motilva, MJ. (2008). Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from *Arbequina* cultivar obtained during two consecutive crop seasons. Food Chemistry. 110, 873-880.

D

Dabbou S, Brahmi F, Taamali A, Issaoui M, Ouni Y, Braham M, Zarrouk M et Hammami M. (2010). Extra virgin olive oil components and oxidative stability from olives grown in Tunisia. Journal of the American Oil Chemists' Society. 87, 1199-1209.

De Greyt WO et Huyghebaert A. (1993). Food and nonfood applications of milk fat. Lipid Technol.5, 138-140.

De Leonardis A et Macciola V. (2012). Heat-oxidation stability of palm oil blended with extra virgin olive oil. Food Chemistry. 135, 1769-1776.

Deiana M, Rosa A, Cao CF, Pirisi, FM Bandino G et Dessi, MA. (2002). Novel approach to study oxidative stability of extra virgin olive oils: importance of α -tocopherol concentration. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50, 4342-4346.

Del Carlo M, Sacchetti G, Di Mattia C, Compagnone D, Mastrocola D, Liberatore L et Cichelli A. (2004). Contribution of the phenolic fraction to the antioxidant activity and oxidative stability of olive oil. Journal of agricultural and food chemistry. 52, 4072-4079.

Del Nobile, MA, Bove S, La Notte E et Sacchi R. (2003). Influence of packaging geometry and material properties on the oxidation kinetic of bottled virgin olive oil. Journal of food engineering. 57, 189-197.

Delamarre S et Batt CA. (1999). The microbiology and historical safety of margarine. Food microbiology. 16, 327-333.

Di Giovachino L, Sestili S. et Di Vincenzo D. (2002). Influence of olive processing on virgin olive oil quality. European Journal of Lipids and Science Technology. 104, 587-601.

Douzane M, Tamendjari A, Abdi AK, Daas MS, Mehdid F et Bellal MM. (2013). Phenolic compounds in mono-cultivar extra Virgin olive oils from Algeria. Grasas y Aceites. 64, 285- 294.

E

E.C. (2002). Regulation n° 796 of 6 May 2006 on changes EC- Regulation. 2568/91. Official J.L.128/815/05/02. 2002. Bruxelles (Belgium).

F

Farmani J, Hamed M, Safari M et Madadlou A. (2007). Trans-free Iranian vanaspati through enzymatic and chemical transesterification of triple blends of fully hydrogenated soybean, rapeseed and sunflower oils. *Food Chemistry*. 102, 827-833.

Faur L. (1992) . Margarine technology. *Oils and Fats Manual* Karleskind, A. Vol. II, Lovoisier Publishing, Paris : 938-987.

Favati F, Caporale G et Bertuccioli M. (1994). Rapid determination of phenol content in extra virgin olive oil. *Grasas y Aceites*. 45, 68-70.

FDA (Food and Drug Administration). (1993) . Code of federal regulations, 21CFR101.67, 58 FR 2455. Citéin : **Koca N, Kocaoglu-Vurma NA, Harper WJ et Rodriguez-Saona LE. (2010) .** Application of temperature-controlled attenuated total reflectance-mid- infrared (ATR-MIR) spectroscopy for rapid estimation of butter adulteration *Food Chemistry*. 121, 778–782.

Frasch-Melnik, S, Norton IT et Spyropoulos F. (2010). Fat-crystal stabilised w/o emulsions for controlled salt release. *Journal of food engineering*. 98, 437-442.

Fuentes de Mendoza M, De Miguel Gordillo C, Marin Expoxito J, Sanchez Casas J, Martinez Cano M, Martin Vertedor D. et Franco Baltasar MN. (2013). Chemical composition of virgin olive oils according to the ripening in olives. *Food Chemistry*. 141, 2575-2581.

G

Gallina-Toschi T, Cerretani L, Bendini A, Bonoli-Carbognin M et Lercker G. (2005). Oxidative stability and phenolic content of virgin olive oil: an analytical approach by traditional and high resolution techniques. *Journal of separation science*. 28, 859-870.

Gandul-Rojas B, Cepero, MRL et Minguéz-Mosquera MI. (2000). Use of chlorophyll and carotenoid pigment composition to determine authenticity of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77, 853-858.

Ghanbari R, Anwar F, Alkharfy, KM, Gilani AH, et Saari N. (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea L.*)—a review. *International journal of molecular sciences*. 13, 3291-3340.

Gimeno E, Castellote AI, Lamuela-Raventos RM, De la Torre MC et Lopez-Sabater M C. (2002). The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, -tocopherol, and -carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*. 78, 207-211.

Giuliani A, Cerretani L et Cichelli A. (2011). Chlorophylls in olive and in olive oil: Chemistry and occurrences. *Critical reviews in food science and nutrition*. 51, 678-690.

Grigoriadou D, Androulaki A, Psomiadou E et Tsimidou MZ. (2007). Solid phase extraction in the analysis of squalene and tocopherols in olive oil. *Food Chemistry*. 105, 675-680.

Gutierrez F, Jimenez B, Ruiz A et Albi MA. (1999). Effect of Olive Ripeness on the Oxidative Stability of Virgin Olive Oil Extracted from the Varieties Picual and Hojiblanca and on the Different Components Involved. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47, 121-127.

Gutierrez F, Villafranca MJ et Castellano JM. (2002). Changes in the main components and quality indices of virgin olive oil during oxidation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 79, 669-676.

H

Haddada FM, Krichène D, Manai H, Oueslati I, Daoud D et Zarrouk M. (2008). Analytical evaluation of six monovarietal virgin olive oils from Northern Tunisia. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 110, 905-913.

Hidalgo FJ, Leon MM et Zamora R. (2006). Antioxidative activity of amino phospholipids and phospholipid/amino acid mixtures in edible oils as determined by the Rancimat method. *Journal of agricultural and Food Chemistry*. 54, 5461-5467.

Huang CL et Sumpio BE. (2008). Olive oil, the mediterranean diet, and cardiovascular health. *Journal of the American College of Surgeons*. 207, 407-416.

I

Idris NA, Dian M et Hab NL. (2005). Interesterified palm products as alternatives to hydrogenation. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 14, 387-395

Inarejos-García AM, Santacatterina M, Salvador MD, Fregapane G et Gómez-Alonso, S. (2010). PDO virgin olive oil quality—Minor components and organoleptic evaluation. *Food research international*. 43, 2138-2146.

ISO (1998). Méthode ISO 15305. Corps gras d'origines animale et végétale détermination de la couleur. Ed.1.

ISO. (2002). Méthode ISO. 6579. Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des salmonella sp. Ed: 3

ISO. (2003). Méthode ISO. **6888-1.** Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). Ed: 3

ISO. (1995). Méthode ISO 8292:1995 (F). Corps gras d'origines animale et végétale – détermination de la teneur en corps gras solides par la méthode de la résonance magnétique nucléaire pulsée. Ed : 2.

ISO. (2000). Méthode ISO 6320. Corps gras d'origines animale et végétale détermination de l'indice de réfraction. Ed: 4.

ISO. (2003). Méthode ISO 4833. Microbiologie des aliments -Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes- Technique de comptage des colonies à 30 °C. Ed: 3

ISO. (2005). Méthode ISO 7251 (E). Microbiologie des aliments Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement d'*Escherichia coli* présumés. Ed: 3

ISO. (2006). Méthode ISO 6886:2006 (F). Corps gras d'origines animale et végétale – détermination de la stabilité à l'oxydation (essai d'oxydation accéléré). Ed: 2.

ISO. (2008). Méthode ISO 21527. Microbiologie des aliments -- Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures - Technique par comptage des colonies dans les produits à activité d'eau inférieure ou égale à 0.95. Ed: 3.

J

Jiang L, Yamaguchi T, Takamura H et Matoba T. (2005). Characteristics of Shodo Island olive oils in Japan: fatty acid composition and antioxidative compounds. *Food science and technology research*. 11, 254-260.

K

Kalua CM, Allen MS, Bedgood JrDR, Bishop AG, Prenzler PD et Robards K. (2007). Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: A critical review. *Food Chemistry*. 100, 273-286.

Karabulut I, Turan S et Ergin G. (2004). Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *European Food Research and Technology*. 218, 224-229.

Karabulut I. et Turan S. (2006). Some properties of margarines and shortenings marketed in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*. 19, 55-58.

Karleskind A et Wolff J.P. (1992). Manuel des corps gras. Ed : Tech et Doc.pp : 1579.

Karleskind A. (1992). Manuel des Corps Gras. Ed,Tech&Doc,Paris,Tome I et Tome II. pp :1579.

Kesen S, Kelebek H, Sen K, Ulas M, et Selli S. (2013). GC–MS–olfactometric characterization of the key aroma compounds in Turkish olive oils by application of the aroma extract dilution analysis. *Food Research International*. 54, 1987-1994.

Kıralan M, Bayrak A et Ozkaya MT. (2009). Oxidation stability of virgin olive oils from some important cultivars in East Mediterranean area in Turkey. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 86, 247-252.

Kiritsakis AK. (1998). Flavor components of olive oil—A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75, 673-681.

Krichene D, Allalout A, Mancebo-Campos V, Salvador MD, Zarrouk M et Fregapane G. (2010). Stability of virgin olive oil and behaviour of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. *Food Chemistry*. 121, 171-177.

L

Laia OM, Ghazalia HM, Cho F et Chong CL. (2000). Physical and textural properties of an experimental table margarine prepared from lipase-catalysed transesterified palm stearin: palm kernel olein mixture during storage. *Food Chemistry*. 71, 173-179.

Laincer F, Laribi R, Tamendjari A, Arrarb L, Rovellini P et Venturini, S. (2014). Olive oils from Algeria: Phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. *Grasas y Aceites*. 65.

Laribi R, Laincer F, Tamendjari A, Rovellini P, Venturini S, Keciri S et Arrar L. (2011). Caractérisation de dix variétés d'huile d'olive algérienne, étude du profil en composés phénoliques par HPLC. *la rivista italiana delle sostanze grasse*. 88, 161-171

Lesage-Messen L, Navarro D, Maunier S, Sigoillot J-C, Lorquin J, Delattre M, Simon JL, Asther M et Labat M. (2001). Simple phenolic content in olive oil residues as a function of extraction systems. *Food Chemistry*. 75, 501-507.

Luterotti S, Bicanic D et Pozgaj R. (2006). New simple spectrophotometric assay of total carotenes in margarines. *Analytica chimica acta*. 573, 466-473.

M

Maskan M. (2003). Change in colour and rheological behaviour of sunflower seed oil during frying and after adsorbent treatment of used oil. *European Food Research and Technology*. 218, 20-25.

Mateos R, Espartero JL, Trujillo M, Rios JJ, Leon-Camacho M, Alcludia Fet Cert A. (2001). Determination of phenols, flavones and lignans in virgin olive oils by solid-phase extraction and high performance liquid chromatography with diode array ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49, 2185-2192.

Méndez AI et Falqué E. (2007). Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil. *Food Control*. 18, 521-529.

Miettinen TA, Puska P, Gylling H, Vanhanen H et Vartiainen E. (1995). Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *New England journal of medicine*. 333, 1308-1312.

Minguez-Mosquera MI, Rejano L, Gandul B, Higinio A et Carido J. (1991). Color pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*. 68, 332-336.

Miskandar MS, Man YC, Yusoff MSA et Rahman RA. (2002). Effect of emulsion temperature on physical properties of palm oil-based margarine. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 79, 1163-1168.

Miskandar MS, Man YC, Yusoff MSA et Rahman RA. (2005). Quality of margarine: fats selection and processing parameters. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 14, 387-395.

Morello JR, Motilva MJ, Tovar MJ et Romero MP. (2004). Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) during storage, with special emphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*. 85, 357-364.

Morello JR, Romero MP, Ramo T et Motilva MJ. (2005). Evaluation of l-phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic profile in olive drupe (*Olea europaea* L.) from fruit setting period to harvesting time. *Plant science*. 168, 65-72.

Morris DH et Vaissey-Genser M. (2003). Margarine/Dietary importance. In: *Encyclopaedia of Food Science and Nutrition*. Academic Press, Amsterdam, pp. 3719–3725.

N

Naudet M. (1988). Corps gras. Dans : *Techniques de l'ingénieur, traité de Génie des procédés*. K 330 1.

Navarra G, Cannas M, D'Amico M, Giacomazza D, Militello V, Vaccaro L et Leone M. (2011). Thermal oxidative process in extra-virgin olive oils studied by FTIR, rheology and time-resolved luminescence. *Food Chemistry*. 126, 1226-1231.

Nergiz C. (1993). The effect of refining processes on the total polyphenol and 1, 2-diphenol content of olive oil. *International journal of food science and technology*. 28, 461-464.

O

Ogutcu M, Mende M et Yilmaz E. (2008). Sensorial and physico-chemical characterization of virgin olive oils produced in Canakkale. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 85, 441-456.

Ollivier D, Boubault E, Pinatel C, Souillol S, Guère M et Artaud J. (2004). Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique (2ème Semestre)*. 965,169-196.

Oueslati I, Anniva C, Daoud D, Tsimidou MZ et Zarrouk M. (2009). Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varieties from the arid Tataouine zone. *Food Chemistry*. 112, 733-741.

P

Pardo JE, Cuesta MA et Alvarruiz A. (2007). Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin "Aceite Campo de Montiel"(Ciudad Real, Spain). *Food Chemistry*. 100, 977-984.

Perona JS, Cabello-Moruno R et Ruiz-Gutierrez V. (2006). The role of virgin olive oil components in the modulation of endothelial function. *The Journal of nutritional biochemistry*.17, 429-445.

Perrin J.L. (1992). Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et Recherche*. 4, 25-31.

Pinelo M, Fabbro PD, Manzocco L, Nunez MJ et Nicoli MC. (2005). Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts. *Food Chemistry*. 92, 109-117.

Prior E. (2003). Usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire. In : Graille J, Ed. *Lipides et corps gras alimentaires*: 87-147.

R

Rahmani M et Csallany AS. (1998). Role of minor constituents in the photooxidation of virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*.75, 837-843.

Rahmani M. (2007). Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides. *Les technologies de laboratoire*. 2, 18-21.

Rahmouini K, Bouhafa H, Labidi A, Nafti A. et Hamdi S. (2006). Oxydation de l'huile d'olive : relation entre l' α -tocophérol et l'indice de peroxyde. *Olivae*. 106, 24-31.

Ribeiro APB, Basso RC, Grimaldi R, Gioielli LA et Gonçalves LAG. (2009a). Instrumental methods for the evaluation of interesterified fats. *Food Analytical Methods*. 2, 282-302.

Ribeiro APB, Basso RC, Grimaldi R, Gioielli LA, dos Santos AO, Cardoso LP et Guaraldo Gonçalves LA. (2009b). Influence of chemical interesterification on thermal behavior, microstructure, polymorphism and crystallization properties of canola oil and fully hydrogenated cottonseed oil blends. *Food research international*. 42, 1153-1162.

Rossi M, Alamprese C et Ratti S. (2007). Tocopherols and tocotrienols as free radical-scavengers in refined vegetable oils and their stability during deep-fat frying. *Food Chemistry*. 102, 812-817.

Rossi M, Gianazza M, Alamprese C et Stanga F. (2001). The effect of bleaching and physical refining on color and minor components of palm oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78, 1051-1055.

Ryan D, Robards K. et Lavee S. (1998). Assessment of quality in olive oil. *Olivae* 72, 23.

S

Salvador MD, Aranda F et Fregapane G. (2001). Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality: A study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*. 73, 45-53.

Samah SMA et Fyka ES. (2002). Improving the frying characteristics of cottonseed oil by blending with apricot kernel oil. In 4th Food Quality Conference COMIBASSAL, Alexandria, Egypt pp. 11-13.

Samaniego Sanchez C, Troncoso Gonzalez AM, García-Parrilla MC, Quesada Granados JJ, López García de la Serrana H et Lopez Martinez MC. (2007). Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analytica chimica acta*. 593, 103-107.

Satue MT, Huang SW et Frankel E N. (1995). Effect of natural antioxidants in virgin olive oil on oxidative stability of refined, bleached, and deodorized olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 72, 1131-1137.

Serfaty-Lacrosniere C, Nigon F, Chauvois D, Neveu C, Chapman J et Bruckert E. (2008). Les phytostérols: Une nouvelle approche dans la prise en charge diététique de l'hypercholestérolémie. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 36, 341-347.

Servili M, Sordini B, Esposto S, Urbani S, Veneziani G, Di Maio I, Selvaggini R et Taticchi A. (2013). Biological Activities of Phenolic Compounds of Extra Virgin Olive Oil. *Antioxidants*. 3, 1-23.

T

Tamendjari A, Bellal MM, Laribi R et Angerosa F. (2004). Impact de l'attaque de *Bactrocera oleae* et du stockage des olives de la variété *Chemlal* sur la qualité de l'huile. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 81, 23-27.

Tanouti K, Serghini-Caid H, Chaieb E, Benali A, Harkous M et Elamrani A. (2011). Amélioration qualitative d'huiles d'olive produites dans le Maroc oriental. *Technologies de Laboratoire*. 6, 1-12.

Tarakowski R, Malanowski A, Koćieszka R et Siegoczyński RM. (2014). VIS spectroscopy and pressure induced phase transitions—Chasing the olive oils quality. *Journal of Food Engineering*. 122, 28-32.

Tsaknis J, Lalas S, et Protopapa E. (2002). Effectiveness of the antioxidants BHA and BHT in selected vegetable oils during intermittent heating. *Grasas y Aceites*. 53, 199-205.

Tsimidou M. (1998). Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Journal of Food*

Science. 10, 99-112.

Tuck K et Hayball PJ. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *The Journal of nutritional biochemistry*. 13, 636-644.

Tura D, Failla O, Bassi D, Pedò S et Serraiocco A. (2008). Cultivar influence on virgin olive (*Olea europea* L.) oil flavor based on aromatic compounds and sensorial profile. *Scientia horticulturae*. 118, 139-148.

Tura D, Gigliotti C, Pedo S, Failla O, Bassi D et Serraiocco A. (2007). Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europaeae* L.) and correlations with oxidative stability. *Scientia Horticulturae*. 112, 108–119.

V

Vaissey-Genser M. (2003). Margarine /Composition and Analysis In: *Encyclopaedia of Food Science and Nutrition*. Ed, Academic Press, Amsterdam, pp. 3714–3719.

Veillet S, Tomao V, Bornard I, Ruiz K et Chemat F. (2009). Chemical changes in virgin olive oils as a function of crushing systems: Stone mill and hammer crusher. *Comptes Rendus Chimie*. 12, 895-904.

Visioli F et Galli C. (1998). Olive oil phenols and their potential effects on human health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46, 4292-4296.

W

Wiedermann LH. (1978). Margarine and margarine oil, formulation and control. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 55, 823-829.

Annexes

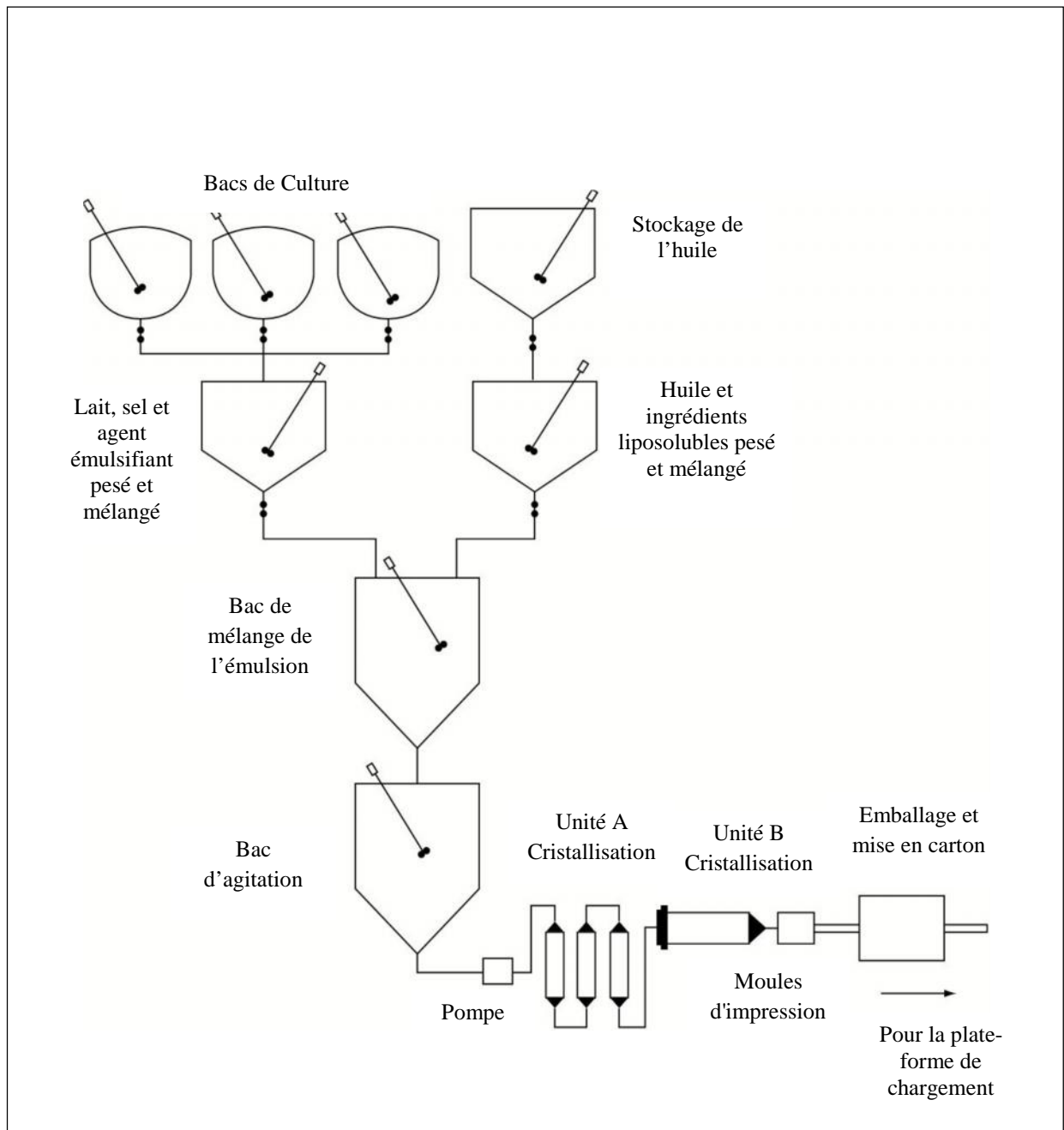


Figure 1: Diagramme de la fabrication de la margarine (Wiedermann, 1978).

Tableau I: Les différentes catégories d'huile d'olive et leurs critères de qualité (COI, 2003)

Catégorie	Acidité (%)	Indice de peroxyde (mEq O ₂ /Kg)	Extinction spécifique dans l'UV			Caractéristiques organoleptiques	
			270nm	K	232nm	Médiane du défaut	Médiane du fruité
1-Huile d'olive vierge extra	0,8	20	0,22	0,01	2,5	Me = 0	Me > 0
2-Huile d'olive vierge fine	2,0	20	0,25	0,01	2,6	0 < Me 2,5	Me > 0
3-Huile d'olive vierge courante	3,3	20	0,30	0,01	–	2,5 < Me 6	–
4-Huile olive vierge lampante	>3,3	Non limité	–	–	–	Me > 6	–

Tableau II: Composition de l'huile d'olive en acides gras (COI, 2003)

Acides gras	Symboles	Limite de variabilité (%)
Acide myristique	C14 : 0	0,05
Acide palmitique	C16 : 0	7,5 – 20,0
Acide palmitoléique	C16 : 1	0,3 – 3,5
Acide heptadécanoïque	C17 : 0	0,3
Acide heptadécénoïque	C17 : 1	0,3
Acide stéarique	C18 : 0	0,5 – 5,0
Acide oléique	C18 : 1	55,0 – 83,0
Acide linoléique	C18 : 2	3,5 – 21,0
Acide linoléinique	C18 : 3	1,0
Acide arachidique	C20 : 0	0,6
Acide gadoléique	C20 : 1	0,4
Acide béhénique	C22 : 0	0,2
Acide lignocérique	C24 : 0	0,2

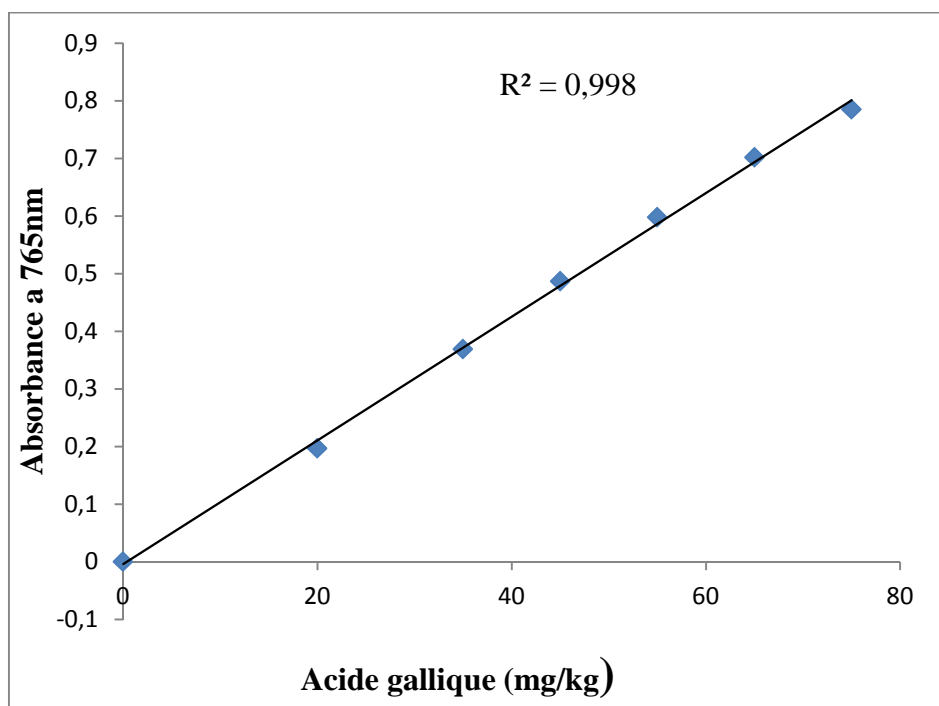


Figure 2 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques.

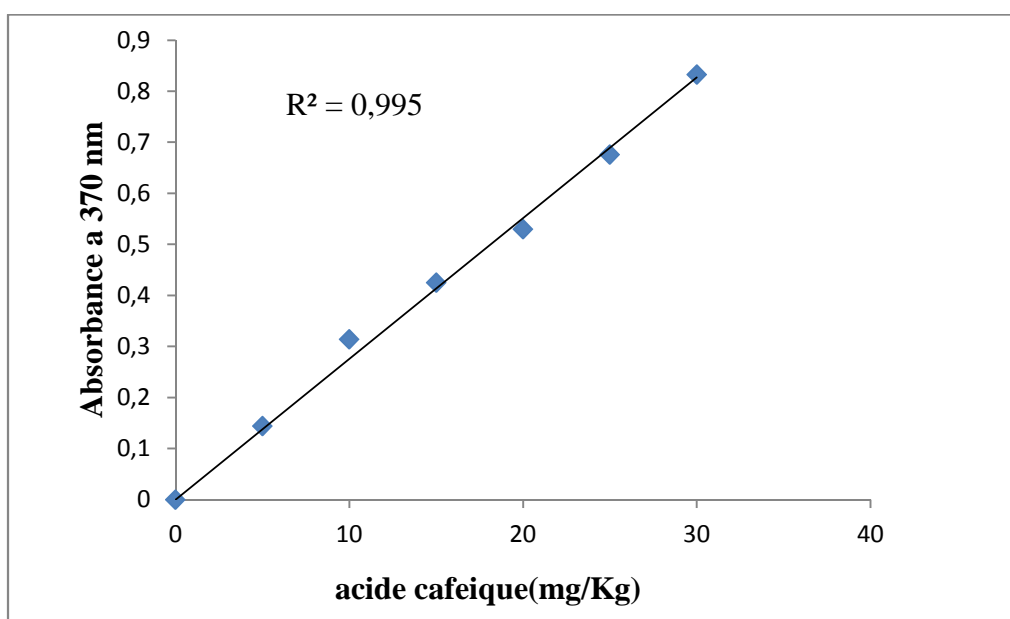


Figure 3: Courbe d'étalonnage pour le dosage des *Ortho*-diphénols.

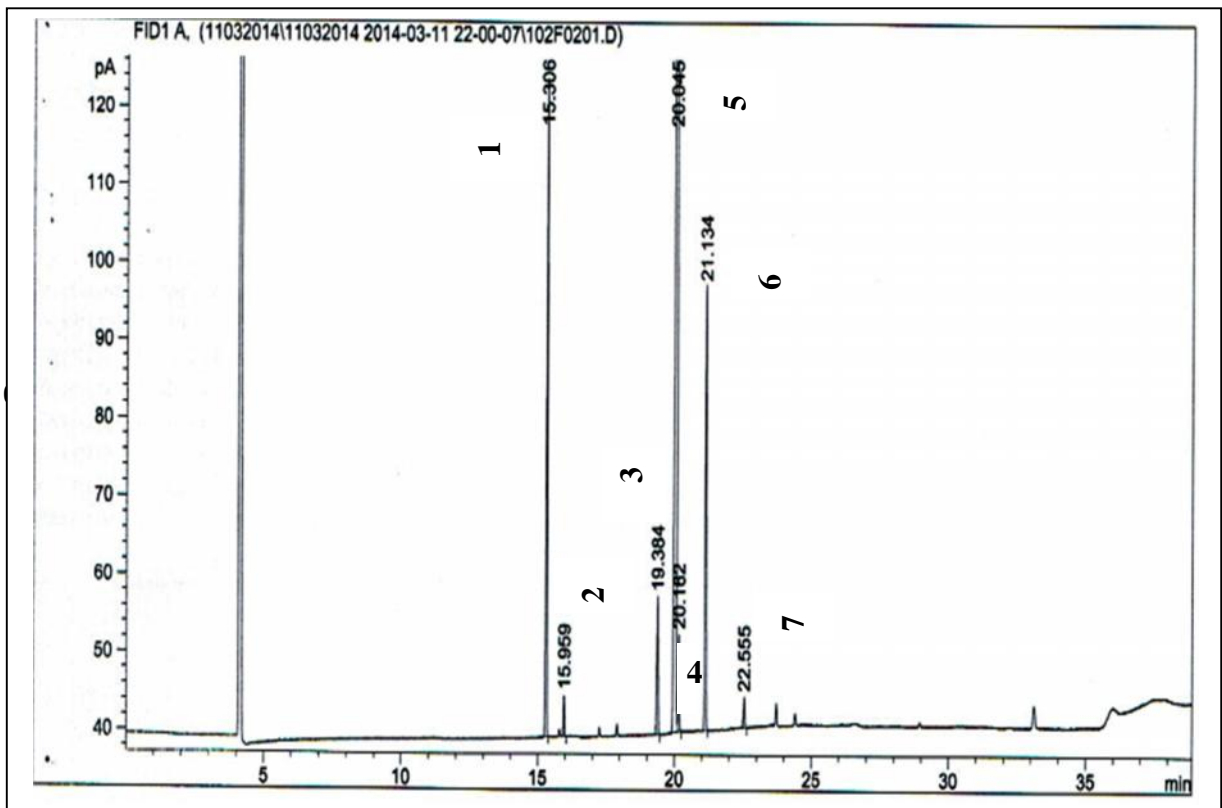


Figure 4: Chromatogramme type des esters méthyliques des acides gras de l'huile d'olive.

1 : acide palmitique (C16 :0), **3** : acide stéarique (C18 :0), **4** : acide oléique (C18 :1 [n-9]),
5 : acide oléique (C18 :1 [n-7]), **6** : acide linoléique (C18 :2), **7** : acide linoléique (C18:3).

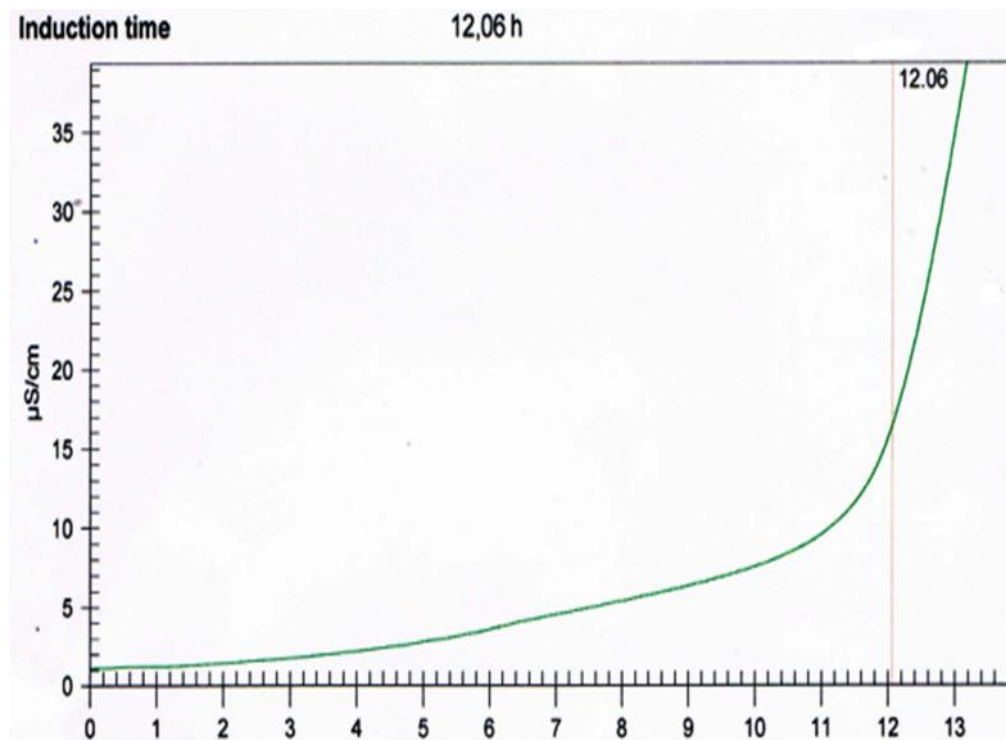


Figure 10 : Courbe de la stabilité oxydative au test Rancimat margarine enrichie en huile d'olive avec vitamine E.

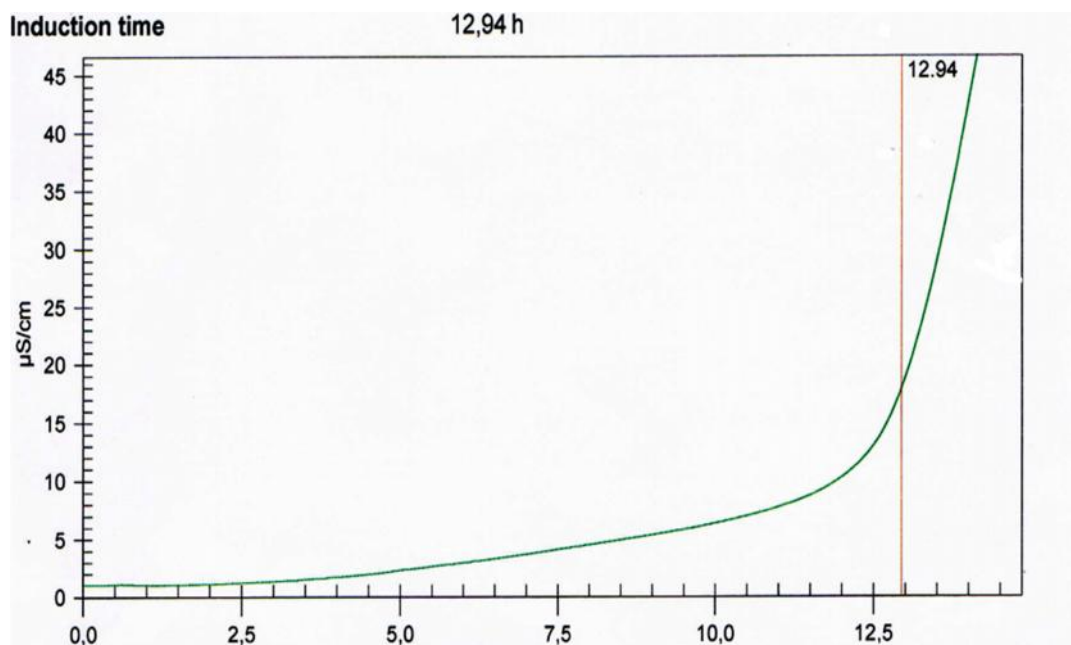


Figure 11: Courbe de la stabilité oxydative au test Rancimat margarine enrichie en huile d'olive sans vitamine E.

Tableau IV: Analyses microbiologiques effectuées sur le produit fini.

Germes recherchés	Milieu utilisés	Méthodes	incubation	lecture
Flore totale (ISO 4833/2003)	PCA	Ensemencement en masse	30°C/72h	Comptage des colonies et calcul de nombre N
Coliforme fécaux (ISO 7251/2005)	Bouillon Lauryl	Sur milieu liquide	37°C/24h ± 2h	Observation du tube (présence ou absence de trouble) et annotation de gaz éventuel dégagé dans la cloche de Durham
<i>Staphylococcus aureus</i> (ISO 6888-1/2003)	Baird Parker	Ensemencement en surface	37°C/24h et 48H	Comptage des colonies noires ou grises brillantes
Levures et moisissures (ISO 21527-2/2008)	Dichloran	Ensemencement en masse	25°C/4 à 5 jours	Comptage des colonies Levures : colonies brillantes Moisissures : thalle étendus, plats avec fructification colorée et des formes sporulées
Salmonelles (ISO 6579/2002)	Eau peptonée tamponnée	Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide	37/18h ± 2h °C ± 1 °C.	Présence ou absence des colonies (colonie spécifique à centre noire)
	Bouillon RVS	Enrichissement sélectif sur milieu liquide	41,5 °C/24 h	
	Bouillon MKTTn		37 °C/24 h	
	Gélose XLD.	Isolement et identification (Ensemencement en surface)	37 °C/24 h	

Tableau VI : Résultats d'analyses microbiologique de produit fini.

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech2	Ech4	Ech5	Normes
Germes aérobies	UFC/g	35	75	28	18	14	10 ²
Coliformes fécaux	UFC/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	0	0	0	0	0	10
Levures	UFC/g	0	0	0	0	0	10
Salmonella	UFC/25g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence

Tableau III : Composition des milieux de cultures.

Milieu PCA (Plate Count Agar).	Tryptone 5,0 g. Extrait de levure 2,5 g. Glucose 1,0 g. Agar agar bactériologique 12,0 g
Bouillon laurylsulfate-Tryptose	Tryptose .20 g. Lactose .5 g .Phosphate dipotassique .2,75 g Phosphate monopotassique .2,75 g .Chlorure de sodium .5, g. Laurylsulfate de sodium .0, 10 g
Baird-Parker	Tryptone 10,0 g .Extrait de viande 5,0 g. Extrait autolytique de levure 1,0 g. Pyruvate de sodium 10,0 g .Glycine 12,0 g. Chlorure de lithium 5,0 g .Agar agar bactériologique 15,0 g. Emulsion de jaune d'oeufs 47,0 ml Telurite de potassium à 3,5% 3,0 ml
Gélose au Dichloran-Glycérol (DG 18)	Tryptone 5,0 g .Glucose 10,0 g .Phosphate monopotassique 1,0 g Sulfate de magnésium, 0,5 g. Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline) 2,0 mg. Chloramphénicol 0,1 g. Glycérol 220g .Agar agar bactériologique 13,0 g
RAPPAPORTV-ASSILIADIS SOJA (RVS)	Peptone papainique de soja .4, 50 g. Chlorure de sodium .7, 20 g. Phosphate monopotassique .1, 26 g .Phosphate dipotassique 0,18g Chlorure de magnésium anhydre .13, 40 g. Vert malachite (oxalate) 36, 0 mg
Bouillon de MÜLLERKAUFFMAN N au Tétrathionate-Novobiocine (MKTTn)	Tryptone .8, 6 g. Extrait de viande .4, 3 g .Sels biliaires.4, 78 g Chlorure de sodium.2, 6 g. Carbonate de calcium .38, 7 g Thiosulfate de sodium anhydre.30, 45 g .Vert brillant.9, 6 mg
(Xylose-Lysine-Désoxycholate) XLD	Extrait autolytique de levure.3, 0 g .L-Lysine.5, 0 g. Lactose .7, 5 g Saccharose .7, 5 g. Xylose .3, 5 g. Désoxycholate de sodium.2, 5 g. Chlorure de sodium.5, 0 g .Thiosulfate de sodium.6, 8 g. Citrate ferrique ammoniacal .0, 8 g .Rouge de phénol.80, 0 mg. Agar agar bactériologique.13, 5 g
Solution de RINGER au $\frac{1}{4}$	Chlorure de sodium .2, 250 g .Chlorure de potassium.0, 105 g. Chlorure de calcium.0, 120 g .Hydrogénocarbonate de sodium.0, 050 g

Huile de palme

Acidité (% d'acide palmitique)	0,30		Max
Indice de peroxyde (meq O ₂ / kg huile)	10		Max
Matières volatiles à 105 °C %	0,2		Max
Impuretés insolubles %	0,05		Max
Indice de refraction (n _d 50 °C)	1,449	-	1,455
Indice de Saponification (mg KOH / g d'huile)	190	-	209
Indice d'iode	50	-	55
Point de fusion (°C)	36	-	40
Couleur Lovibond 5p 1/4			
Jaune	30		Max
Rouge	3,0		Max
Odeur et saveur	Caractéristiques au produit		
SFC %			
	5 °C		63 ± 4
	10 °C		57 ± 4
	15 °C		44 ± 4
	20 °C		31 ± 4
	25 °C		20 ± 4
	30 °C		11 ± 4
	35 °C		6 ± 4
	40 °C		3 Max

Huile estérifiée

Acidité (% d'acide palmitique)	0,30		Max
Indice de peroxyde (meq O ₂ / kg huile)	10		Max
Matières volatiles à 105 °C %	0,2		Max
Impuretés insolubles %	0,05		Max
Indice de refraction (n _d 50 °C)	1,449	-	1,454
Indice de Saponification (mg KOH / g d'huile)	190	-	220
Indice d'iode	39		Max
Point de fusion (°C)	38	-	42
Couleur Lovibond 5p 1/4			
Jaune	30		Max
Rouge	3,0		Max
Odeur et saveur	Caractéristiques au produit		
SFC %			
	5 °C		76 ± 4
	10 °C		73 ± 4
	15 °C		66 ± 4
	20 °C		48 ± 4
	25 °C		41 ± 4
	30 °C		22 ± 4
	35 °C		11 ± 4
	40 °C		4 ± 4

Huile de tournesol

Analyses	unités	résultats	Normes
Acridité	%(acide oleique)	0,62	2 max
Indice de peroxyde	MgO2/Kg MG	4,8	15 max
Impurte insoluble	Impurte insoluble	0,23	0,5 max
Humidité et matiere volatile à 105°C	%	0,06	
Couleur	Jaune rouge	26 1,8	-
Densité a 20°C	-	0,919	0,919-0,923
Indice de réfraction a 40°C	-	1,467	1,467-1,499
Indice d'iode	-	130	118-141
Indice de saponification	Mg KOH/g MG	190	188-194
Insaponifiable	g/ Kg	7	15 max
Phosphore	ppm	86	250 max
Cires	ppm	1350	-
Odeur et couleur	Caractéristique au produit		

Résumé

La présente étude porte sur la formulation de deux margarines à tartiner enrichies en l'huile d'olive à 10 % et l'estimation de leur qualité et stabilité oxydative au Rancimat. La chromatographie en phase gazeuse de l'huile d'olive a révélé la dominance de l'acide oléique, comme un élément majeur de la composition d'acides gras. Les teneurs en polyphénols et *orthodiphénols* sont respectivement 47.55 mg/kg, 1mg/kg, ce qui nous renseigne sur sa catégorie à teneur faible en polyphénols totaux. La teneur en pigment est relativement faible est de 2.636 mg/kg pour la chlorophylle et 1.52 mg/kg pour les caroténoïdes. Deux margarines à tartiner enrichies en l'huile d'olive, ont été élaborées. A 37 °C, l'indice de SFC est inférieur à 6% et donc fond facilement dans la bouche. L'analyse des deux margarines obtenues présentes, les caractéristiques physico-chimiques suivantes : pH de 4.5 pour les deux formulations, l'indice de peroxyde est de 4 meq d'O₂/kg pour MF1 et de 3.73 meq d'O₂/kg pour MF2, un point de fusion de 35.4 °C pour les deux margarines. L'évaluation de la stabilité oxydative, s'est révélée positive par le test du Rancimat. La margarine enrichie en l'huile d'olive sans vitamine E, s'est avérée plus résistante à l'oxydation que la margarine enrichie en l'huile d'olive avec vitamine E.

Mots clés : huile d'olive, margarine, tocophérol, stabilité oxydative, vitamine E, acide oléique.

Abstract

This study aims to formulation of two spreadable margarines enriched with 10% of olive oil and the estimation of their quality and oxidative stability Rancimat. The gas chromatography of olive oil revealed the dominance of oleic acid as a major component of the fatty acid composition. The phenolic contents and *ortho*-diphenol are respectively 47.55 mg/kg, 1mg/kg, which tells us about its category low of total phenolic content. The pigment content is relatively low about 2.636 mg/Kg for chlorophyll and 1.52 mg/kg for carotenoid. Two spreadable margarines enriched with olive oil, has been developed. At 37 ° C, the SFC index is less than 6%, and thus the margarine melts easily in the mouth. The analysis of margarine obtained has the following physicochemical characteristics: pH 4.5 for both formulations, peroxide value is 4 meq O₂/ kg for MF1 and 3.73 meq O₂/ kg MF2, a melting point of 35.4 ° C for two margarines. The evaluation of oxidative stability was positive by the Rancimat test. Margarine enriched with olive oil without vitamin E, proved to be more resistant to oxidation than the margarine enriched with olive oil with vitamin E.

Key words: Olive oil, margarine, tocopherols, polyphenol, oxidative stability, vitamin E, oleic acid.

Glossaire

Glossaire

- **Cholestérol HDL:** Appelé "bon cholestérol", est une lipoprotéine qui ramène le cholestérol au foie.
- **Cholestérol LDL:** Appelé "mauvais cholestérol", est une lipoprotéine qui amène le cholestérol aux tissus.
- **Neuro-dégénératives:** Sous groupe de maladies dégénératives (dans lesquelles un ou plusieurs organes sont progressivement dégradés), qui affecte le fonctionnement du cerveau ou plus généralement le système nerveux.
- **Inflammation :** Ensemble de phénomènes réactionnels se produisant suite à la réponse des tissus conjonctifs, vascularisés, à une agression (traumatisme, infection, etc.), pouvant se manifester par divers signes (douleurs, tuméfaction, chaleur, rougeur, etc.).
- **Cardiovasculaire:** Relatif au cœur et aux vaisseaux sanguins.
- **Athérosclérose:** Perte d'élasticité des artères dus à la sclérose provoquée par l'accumulation des corps gras, essentiellement le cholestérol LDL, au niveau d'une des trois tuniques constituant la paroi des gros et moyens artères (l'intima), ce dépôt se traduit par la formation d'une plaque jaunâtre, qui se nome « l'athérome »
- **Radical libre:** Espèce chimique possédant un électron non apparié.