

Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Biotechnologie, Agro ressources, Aliment et Nutrition
Option : Corps gras



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Caractérisation de l'huile des graines de Citrouille
(*Cucurbita pepo*) et essai d'incorporation dans la
margarine de CEVITAL spa.**

Présenté par :

KHENNOUSS Kenza

Soutenu le : **15 Juin 2015 à 15 :00**

Devant le jury composé de :

M^r BOUAOUDIA.N

M^r MADANI.K

M^{elle} TOUATI.N

M^r HAMITRI.M

MAA

Professeur

MAA

Président

Encadreur

Examineur

Invité

Année universitaire : 2014 / 2015



Remerciement



Dieu merci pour m'avoir donné la santé, la volonté et le courage sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé. .

Mes remerciements les plus vifs vont à M^{lle} AMRANE Meriem pour les conseils et l'aide qu'il m'a apporté au cours de ce MEMOIRE sans lesquels je n'aurai pu mener à bien ce travail, pour sa permanente disponibilité, son encouragement, la pertinence de ses conseils et avis sur les travaux que j'ai pu mener, qu'il veuille accepter toute ma reconnaissance.

Je tiens à remercier mon promoteur Mr MADANI .K pour avoir accepté de m'encadrer et pour ces conseils.

Je remercie Mr BOUAOUDIA. N de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury, M^{elle} TOUATI. N d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je tiens aussi à remercier Mr HAMITRI . M , M^{eme} BENCHACHI. S, Mr ALIENE et Mr HADJAL et Mr AZOUZ .L, sans oublier le directeur de la margarine de CEVITAL Mr Hadjadj et toute l'équipe de laboratoire physico-chimique et centrale de CEVITAL.

J'exprime ma profonde remerciements envers tous ceux et celles qui ont participé à la réalisation de ce travail, en particulier Mr FERGANI. F, Mr SOUAGUI -K, Mr TOUATI. R



C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux deux personnes qui sont sacrifiées pour que je grandisse avec un savoir faire et qui m'ont appris à ne jamais baissé les bras, et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, sans lesquels je n'y serais jamais parvenue Mes très chers parents.

Je dédie aussi cette modeste réalisation À ma famille Khennous, Souagui, Hadjout, ma sœur Safia et mes frères Nacer, Chafaa, Hmana, Fares et Kassa et à tous mes amies Ouiza, Gaya, Fouzia, Sabrina,ounissa, kahina, Tiziri, Gania, Cilya, yasmin, Nihad et Meriem, Fella, hakima, sakina, zwina, imene, Safia, Bahia, Chrifa pour leur aide et leur présence amical.

Et à tout ce qui m'aime et qui mon soutenu particulièrement.

El foudil

Sans oublier la promotion 2014/2015 de Sciences des aliments et Biotechnologie, corps gras et industrie laitière.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Partie théorique

Chapitre I : Généralités sur la citrouille

I.1. Historique	1
I.2. Description botanique	1
I.3. Classification de <i>Cucurbita pepo</i>	2
I.4. Utilisation de <i>Cucurbita pepo</i>	2
I.5. Composition chimique de <i>Cucurbita pepo</i>	2
I.6. Extraction d'huile de graines de <i>Cucurbita pepo</i>	3
I.7. Huile de <i>Cucurbita pepo</i>	3

Chapitre II : Généralités sur la margarine

II.1. Historique de la margarine	6
II.2. Définition de la margarine	6
II.3. Composition de la margarine	6
II.4. Processus de fabrication de margarine.....	6
II.5. Types de margarine.....	9
II.6. Valeur nutritionnelle de la margarine	9
II.7. Altération de la margarine.....	9

Chapitre III : Généralités sur l'oxydation et les antioxydants

III.1. Oxydation	11
III.1.1. Mécanismes d'oxydation	11
III.2. Antioxydants	13

Partie pratique

Chapitre I : Matériels et méthodes

I.1. Echantillonnage	16
I.2. Caractérisation d'huile de <i>Cucurbita pepo</i>	16
I.2.1. Analyses physico-chimiques d'huile <i>Cucurbita pepo</i>	16
I.2. Évaluation d'activité antioxydant (DPPH°) d'huile de <i>Cucurbita pepo</i>	21
I.3. Identification des acides gras par chromatographie en phase gazeuse.....	22
I.4. Incorporation d'huile de <i>Cucurbita pepo</i> dans des margarines de table.....	22
I.5. Analyses physico-chimiques des margarines	23
I.6. Évaluation de la stabilité oxydative de la margarine par le test de Rancimat.....	26
I.7. Étude statistique	27

Chapitre II : Résultats et discussions

II.1. Analyses physico-chimiques d'huile <i>Cucurbita pepo</i>	28
II.2. Évaluation d'activité antioxydant (DPPH°) d'huile de <i>Cucurbita pepo</i>	29
II.3. Identification des acides gras par chromatographie en phase gazeuse.....	30
II.4. Analyse physico-chimiques des margarines.....	31
II.5. Stabilité oxydative des margarines (test de Rancimat).....	33

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Liste d'abréviations

AGI : Acides gras insaturés

ANOVA: Analyse Of Variance

AGS: Acides gras saturés

BHA: Butyle hydroxyanisole

BHT: Butyl Hydroxytoluène

CPG: Chromatographie en phase Gazeuse

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

H: Humidité

HCl : Chlorure d'hydrogène

I_i : Indice d'iode.

IP: Indice de peroxyde.

Is : Indice de saponification.

ISO : international Organisation of Standardisation

Meq : Equivalent gramme

NE : Norme européen

pH : Potentiel Hydrogène

ROO°: Radical peroxyde

ROOH : Hydroperoxyde

ROOR : Peroxyde

SD : Différences significatives

Liste des figures

Figure N°1 : Diagramme de fabrication de la margarine	8
Figure N°2 : Structure chimique des tocophérols.....	14
Figure N °3 : Structure des caroténoïdes présents dans l'huile des graines de <i>Cucurbita pepo</i>	15
Figure N° 4 : Photographie d'un flacon d'huile de <i>Cucurbita pepo</i>	16
Figure N° 5 : Résultats de la stabilité des margarines à l'oxydation accélérée.	34

Liste des tableaux

Tableau I : Illustration de quelques organes de <i>Cucurbita pepo</i>	1
Tableau II : Classification de <i>Cucurbita pepo</i>	2
Tableau III : Caroténoïdes dans l'huile des graines de <i>Cucurbita pepo</i>	4
Tableau IV : Recette de la margarine témoin est des margarines avec adition d'huile de citrouille (<i>Cucurbita pepo</i>).....	23
Tableau V : Analyses physico-chimique d'huile de <i>Cucurbita pepo</i>	28
Tableau VI : Pourcentage de réduction du radical DPPH par l'huile de <i>Cucurbita pepo</i> ...	29
Tableau VII : Composition en acides gras de l'huile des graines de <i>Cucurbita pepo</i>	30
Tableau VIII : Analyses physico-chimiques des margarines.....	31

Introduction

Introduction

Les effets protecteurs des fruits et légumes contre les radicaux libres qui réagissent avec les tissus, causant des lésions oxydatives, ont été attribués à la présence de composés phyto-chimiques, dont les acides phénoliques, caroténoïdes, vitamines E. Ces composés possèdent une gamme d'activités biologiques démontrées dont les effets anti-inflammatoires, antibactériennes et antioxydants (Mazza et Miniati, 1993).

Parmi ces aliments, la citrouille qui est un fruit très nutritif, il renferme des molécules bioactives. Ses graines renferment une gamme impotente d'éléments bénéfiques, contribuant à traiter les problèmes liés à la prostate, vessie et empêcher la formation des calculs rénaux. Ainsi, elles sont connues pour leurs effets préventifs naturels contre l'ostéoporose (Fruhwirth et Hermetter, 2007). Ces dernières appartiennent à la famille des oléagineux, riches en acides gras insaturés et tocophérols. De ce fait l'huile de *Cucurbita pepo* est visée par de nombreuses études pour sa richesse en composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines E, phytostérols et aussi pour ces différentes propriétés biologiques, antimicrobiennes et antioxydants (Caili et al, 2006). En 2006, il y avait 12 500 hectares utilisés pour la culture des graines des citrouilles oléagineuses en Autriche, situés dans la région de Styrie avec un total annuel de 11 110 tonnes de citrouilles produites (Fruhwirth et Hermetter, 2008).

Maîtriser de l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leurs complexités, en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire (Karleskind, 1992).

Parmi ces produits alimentaires : la margarine qui est une émulsion plastique constituée essentiellement de deux phases grasse et aqueuse, elle contient en outre 2 % d'additifs hydro et liposolubles. 82% de sa composition est représentée par un mélange d'huiles : première cible de l'oxydation (Karleskind, 1992). L'oxydation des lipides est la 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).

La préservation des corps gras contre l'oxydation repose habituellement sur l'usage d'additifs antioxydants synthétiques ou naturels, lesquels limitent et/ou retardent la détérioration oxydative résultant de la formation de nombreux radicaux libres dans des

Introduction

réactions radicalaires en chaînes avec le dioxygène. Ces antioxydants sont généralement des composés phénoliques d'origine pétrochimique comme le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA) ou encore les gallates (Johnson et Gu, 1988 ; Zhang et *al.*, 2004).

Vue l'importante capacité de production de la margarinerie de CEVITAL spa, l'utilisation des antioxydants ne cesse d'augmenter. La vitamine E s'avère la plus employée, mais économiquement parlant ce dernier est très coûteux. Ainsi, les substances naturelles douées d'activité anti-oxydante présenteraient-elles un intérêt socioéconomique sans équivoque.

Ce travail est structuré en trois parties, initiées par une synthèse bibliographique mettant l'accent sur la citrouille, la margarine et sur l'oxydation et les antioxydants. La deuxième partie elle est divisée en deux volets : la première concerne la caractérisation d'huile de *Cucurbita pepo* (les analyses physico-chimiques, profile en acides gras, l'étude de leurs pouvoirs antioxydant par la méthode de DPPH°), le deuxième volet élucide l'élaboration des margarines aux différentes concentration d'huile de *Cucurbita pepo* et la comparaison de leurs résistances à l'oxydation par rapport à la margarine témoin par le test Rancimat. Enfin la dernière partie regroupe l'ensemble des résultats obtenus et leur discussion suivie d'une conclusion générale.

Partie

théorique

Chapitre I :
Généralités sur la
citrouille

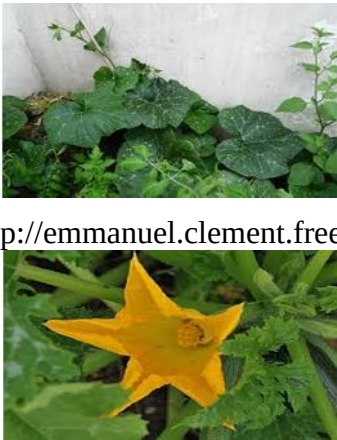
I.1. Historique

Les citrouilles sont originaires d'Amérique centrale, où les fruits et surtout les graines étaient consommés par les Indiens; mais une grande part de leur évaluation s'est déroulée en Europe, suite aux expéditions de Christophe Colomb dans le nouveau monde au XVIème siècle. L'huile a été extraite des graines depuis le XVIIème siècle, découverte par un botaniste Autrichien en 1934 (Ahamat-Silaye, 1981).

I.2. Description botanique

La citrouille est un fruit issu d'une plante herbacée, annuelle à longue tige très vigoureuse, rampante, qui s'accroche par des vrilles ramifiées à tout support. Ses feuilles sont grandes, cordiformes, à nervation palmées, formant cinq lobes arrondis avec de grandes fleurs (5 à 10 cm) pentamères, unisexuées, de couleur jaune (Wichtl et Anton, 2003; Bruneton, 2009). Le fruit est une grosse baie volumineuse avec une chair épaisse de couleur jaune orangé (Polèse, 2006), renfermant de nombreuses graines dans une pulpe spongieuse. Ses graines sont aplaties, de forme ovale, blanchâtre (Wichtl et Anton, 2003; Bruneton, 2009). Les différents organes de la citrouille (*Cucurbita pepo*) sont illustrés dans le tableau I

Tableau I : Illustration de quelques organes de *Cucurbita pepo*

Espèce	Feuilles et fleur	Fruits	Graines
<i>C. pepo</i> (Citrouille)	 http://emmanuel.clement.free.fr www.foodavenue.fr fleur	 www.kew.org	 http://www.alexetgen.com/

I.3. Classification de *Cucurbita pepo*

La classification de *Cucurbita pepo* est représentée dans le tableau II.

Tableau II: Classification de *Cucurbita pepo* (Vanier, 2007).

Règne	plantae
Division	Manoliophyta
Subdivision	Spermatophytes
Classe	Magnoliopsida
Superordre	Rosanae
Ordre	Cucurbitales
Famille	Cucurbitaceae
Genre	<i>Cucurbita</i>
Espèce	<i>Cucurbita pepo</i>

I.4. Utilisation de *Cucurbita pepo*

Les citrouilles sont couramment utilisées pour la consommation humaine (tartes, puddings, plats). Dans de nombreux pays, les citrouilles sont cultivées principalement pour la production de graines qui peuvent être utilisées pour la consommation ou la production d'huile (Filbrandt et Katelyn, 2012). La valeur énergétique des graines de citrouille varie de 550 à 610 calories par 100g (Deimel, 2007). Les citrouilles sont aussi associées aux décorations d'automne ainsi qu'à l'alimentation hivernale. Il existe cependant un marché pour la citrouille d'Halloween biologique (Chait, 2009).

Les graines ont été longtemps employées dans la médecine traditionnelle pour la remédiation des différentes maladies, en particulier, comme traitement contre des vers (ténia) (Younis et *al.*, 2000).

I.5. Composition chimique de *Cucurbita pepo*

La composition chimique de *Cucurbita pepo* est : protéines, fibres, lipides, caroténoïdes tel que β -carotène, alcools (cucurbitol, polyalcool), acides carboniques, acides

aminés (citrulline et cucurbitine), chlorophylle, glucides et minéraux (phosphore, calcium, magnésium, fer, cuivre et sélénium) (Wichtl et Anton, 2003).

Tandis que les graines contiennent de 35 à 55 % d'huile et de 30 à 40% de protéines, ainsi que les vitamines tel que : la vitamine E, la vitamine A, les vitamines de groupe B (B1, B2, B6), la vitamine C et la vitamine D (Deimel, 2007).

I.6. Extraction d'huile des graines de *Cucurbita pepo*

I.6.1. Pressage à chaud

Les huiles de graines de citrouille (*Cucurbita pepo*) sont généralement extraites en expulsant l'huile mécaniquement. Après avoir retiré les graines de la citrouille, elles sont séchées jusqu'à 5-7% d'humidité. Les graines séchées sont broyées et immergées dans une saumure. Avant d'expulser l'huile, les graines sont torréfiées (Nakic et al., 2006).

La torréfaction a l'avantage de libérer les arômes typiques et de dénaturer les protéines pour faciliter la libération de l'huile (Fruhworth et Hermetter, 2007). Le pressage des huiles se fait à des températures supérieures à 120°C. Ensuite, l'huile est refroidie puis conditionnée dans des bouteilles de couleur sombre (Fruhworth et Hermetter, 2007).

I.6.2. Pressage à froid

Les huiles pressées à froid sont obtenues sans modification de l'huile, grâce à non application de chaleur (Fruhworth et Hermetter, 2007). Le processus technologique de l'huile de graines pressée à froid s'effectue par pressions comprises entre 300 et 600 bar. L'humidité des graines est de l'ordre de 7%. Le pressage se fait dans une presse à vis. La rupture des graines lors du pressage est éliminée par sédimentation ou filtration à la température ambiante. L'huile filtrée est remplie dans des bouteilles en verre sombre (Murkovic et Pfannhauser, 2000).

I.7. Huile de *Cucurbita pepo*

L'huile des graines de *Cucurbita pepo* est une huile alimentaire, elle présente une haute valeur nutritive. Elle est utilisée comme supplément alimentaire, par sa richesse en acides gras essentiels. Une exposition à la chaleur entraîne un développement d'un goût de rance, suite à une oxydation des acides gras et cette huile ne convient plus à la cuisson

(Vujasinovic et *al.*, 2010). Cette huile possède une forte activité antioxydant (Stevenson et *al.*, 2007), ce qui peut expliquer la capacité préventive exceptionnelle contre l'hypertension et les maladies cancérigènes (Zuhair et *al.*, 2000; Jian et *al.*, 2005) .

I.7.1. Composition de l'huile de *Cucurbita pepo*

La composition des huiles issues des graines de *Cucurbita pepo* en acides gras est typiquement constituée de l'acide linoléique et l'acide oléique comme étant les acides gras les plus dominants. Les acides gras saturés palmitique et l'acide stéarique se trouvent à des niveaux inférieurs (Murkovic et Pfannhauser, 2000). Elles contiennent aussi des oligo-éléments (Phosphore, calcium, magnésium, fer et sélénium) (Bavec et *al.*, 2007).

Comme une huile non-raffinée contient jusqu'à 2% de non-triacylglycérides par exemple les alcools gras, des phytostérols et des composés phénoliques (Andjelkovic et *al.*, 2010). Elle contient également des quantités élevées de vitamine E (α -tocophérols, γ -tocophérol, le δ -tocophérol) (Murkovic et Pfannhauser, 2000 ; Nakic et *al.*, 2006) . Les caroténoïdes sont également présents. Le tableau III représente la teneur en caroténoïdes dans l'huile de graines de *Cucurbita pepo*.

Tableau III : Caroténoïdes dans l'huile des graines de *Cucurbita pepo* (Filbrandt et Katelyn, 2012).

Caroténoïdes	$\mu\text{g/kg}$ d'huile
Beta Carotène	981
Lutéine	272
Zeaxanthine	28.6
Cryptoxanthine	4917

I.7.2 Bienfaits de l'huile de *Cucurbita pepo*

L'huile de *Cucurbita pepo* est utilisée dans les préparations culinaires telles que les sauces de salade (Applequist et *al.*, 2006). De nombreuses allégations de santé accompagnent la consommation de cette huile (Pericine et *al.*, 2009). La consommation d'huile de graines de citrouille peut aider à la prévention et la thérapie des maladies cardiovasculaires, les infections des voies urinaires, problèmes digestifs (Filbrandt et Katelyn, 2012), le cancer de la prostate et du sein (Nakic et *al.*, 2006). L'huile de *Cucurbita*

pepo a également démontré être un antidiabétique, antifongique, antihypercholestérolémique, et anti-inflammatoire (Caili et *al.*, 2006).

Elle inhibe la prolifération et le développement de plusieurs genres bactériens, par exemple *Klebsilla*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* et *Stapylococcus aureus* (Caili et *al.*, 2006).

Une administration du sitostérol présent dans l'huile de graines de *Cucurbita pepo*, se révèle d'être un puissant inhibiteur de la biosynthèse des prostaglandines (Fruhworth et Hermetter, 2007).

Chapitre II :
Généralités sur la
margarine

II.1. Historique de la margarine

La margarine a vu le jour en 1869 suite à un concours lancé par Napoléon III, dans le but de trouver une alternative au beurre. En effet, le beurre était une denrée trop onéreuse et trop vite périssable pour fournir la marine. Le concours fut remporté par un français : Hippolyte Mège –Mourises (Berthoud et Real, 2008).

II.2. Définition de la margarine

La margarine est une émulsion du type eau dans l'huile (w/o) qui comprend :

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

Elle contient aussi des additifs (lécithine, mono glycérides, sel, colorant, antioxydants, conservateurs, vitamines) répartis dans la phase grasse et la phase aqueuse (Faur, 1992).

II.3. Composition de la margarine

La composition peut varier en fonction des utilisations, des saisons et des régions. En général, la phase grasse constituée de lipides représente 80 à 82% de la masse totale, 16 à 18 % d'eau et/ou lait, constituant la phase aqueuse et enfin 2% d'additifs (obligatoire ou facultatif) (Graille, 2003).

II.4. Processus de fabrication de la margarine

La fabrication de la margarine comprend les étapes suivantes :

II.4.1. Préparation de la phase grasse

La phase grasse constituée d'un mélange d'huiles raffinées et /ou interestérifiées où sont incorporés les additifs liposolubles (colorants, émulsifiants, etc.). Ils sont mis dans des bacs chauffés à 45°C pour garder leur liquidités (Jonathan, 2004 ; O'brien, 2008).

II.4.2. Préparation de la phase aqueuse

La phase aqueuse contient de l'eau et/ou du lait, mélangé avec des ingrédients hydrosolubles (sel, amidon, acide acétique et l'acide sorbique) (Kone, 2001 ; Jonathan, 2004).

II.4.3. Préparation de l'émulsion

La pompe centrifuge traite le mélange de façon à repartir la phase aqueuse dans la phase grasse jusqu'à obtention d'une émulsion eau/huile stable (homogène) (Kone, 2001 ; Jonathan, 2004).

II.4.4. Pasteurisation

La pasteurisation s'effectue à une température comprise entre 82-85 °C, pendant 3 à 4 secondes, permet la destruction des germes pour assurer la sécurité du produit (Dia et *al.*, 2001).

II.4.5. Refroidissement, cristallisation et malaxage

Le refroidissement s'effectue par un système qui provoque un échange thermique considérable. La cristallisation est un phénomène qui permet d'avoir une structure et une bonne stabilité du produit, elle se fait à une température de (15 à 20) °C (Jonathan, 2004).

Le produit solide est ensuite mis dans un malaxeur où il va subir un traitement mécanique qui lui permet d'acquérir ses propriétés plastiques, une homogénéité et une texture convenable (Ahmad et Clyde, 2002).

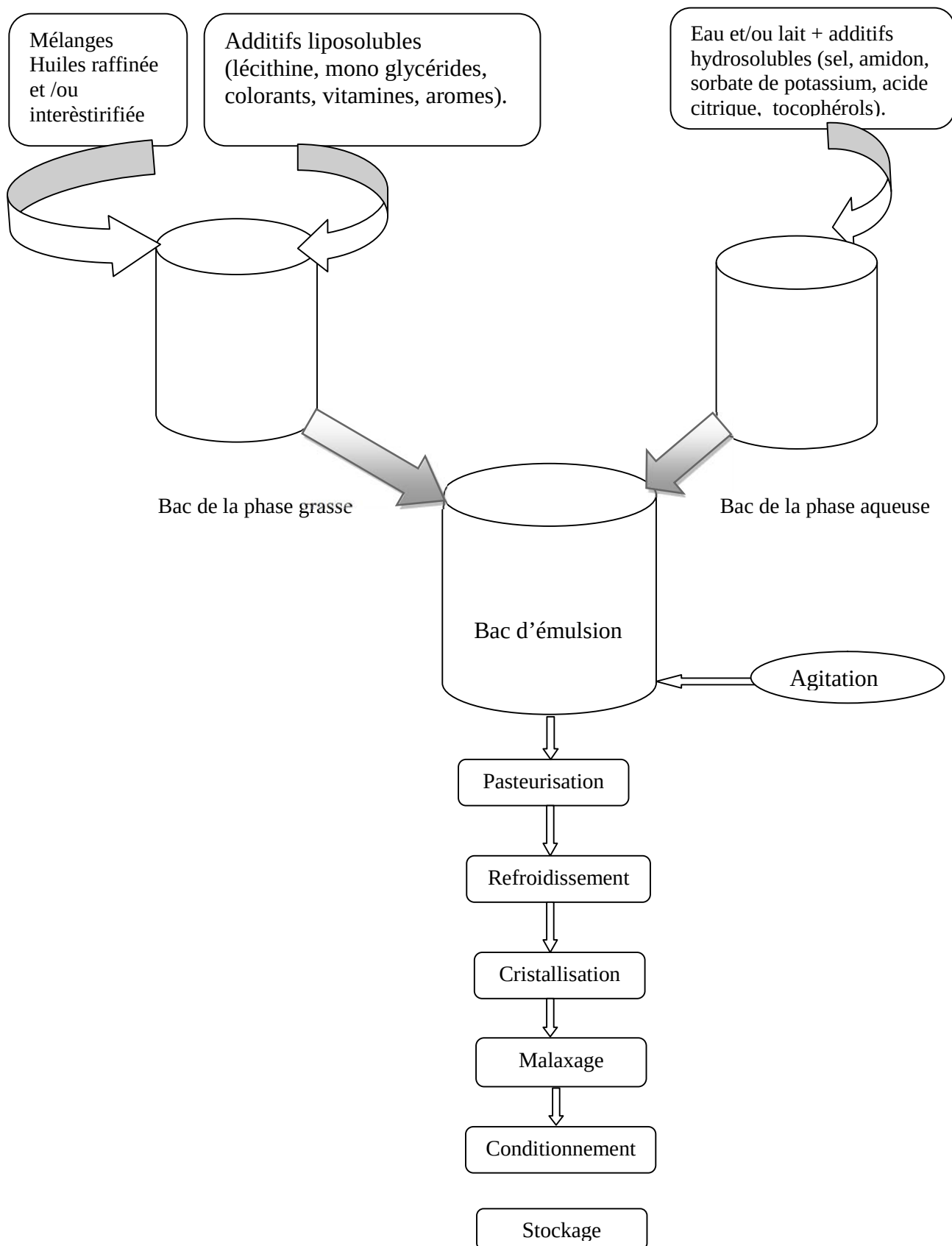
II.4.6. Emballage et conditionnement

La margarine est acheminée vers l'emballageuse où elle subit un moulage. Elle est conditionnée soit dans des pots ou paquettes en plastiques, soit enveloppée dans un emballage adéquat. L'emballage a pour but de préparer le produit à la distribution et la vente mais il doit aussi veiller à conserver les propriétés essentielles de la margarine, principalement le goût, la fraîcheur et la couleur (Jonathan, 2004).

II.4.7. Stockage

Après le conditionnement, la margarine est transférée dans une chambre froide à une température entre 5 °C à 10 °C (Karleskind et Wolff, 1992).

Les étapes de fabrication de la margarine sont schématisées dans la figure N°1

**Figure N°1:** Diagramme de fabrication de la margarine

II.5. Types de margarine

II.5.1 Margarine pour usage domestique

Ce type de margarine est destiné aux emplois ménagers culinaires (François, 1974). Elle possède les propriétés fonctionnelles suivantes :

- Suffisamment ferme à 20°C.
- Se laisse étendre aisément en tartine même à 10°C.
- Fond rapidement dans la bouche.
- Possède un arôme et une couleur proche de ceux du beurre (Cheftel et Cheftel, 1977).

II.5.2. Margarines diététiques

Ces margarines sont fabriquées sur mesure pour certains emplois particuliers (régime amaigrissant, enfants et vieillards, certaines catégories de malades, sportifs), elles présentent les caractéristiques suivantes. Elles sont facilement tartinables à la température du réfrigérateur, elles apportent moins de calories (400Kcal/100g) (François, 1974).

II.5.3. Margarine pour l'industrie alimentaire

Les propriétés fonctionnelles recherchées sont soit l'absence d'acides gras libres et la stabilité à haute température dans le cas de graisse pour la friture, soit une plasticité convenable dans le cas de produits destinés à la biscuiterie et à la pâtisserie (Alais et Linden, 1997).

II.6.Valeur nutritionnelle

Rien ne doit différencier les margarines, sur le plan nutritionnel, des autres corps gras alimentaires ; elles apportent les éléments biologiquement importants qui sont :

- Energie métabolisable (7500Kcal/Kg).
- Acides gras essentiels (surtout linoléique).
- Vitamines (A, D,E , K) (François, 1974).

II.7. Altération de la margarine

La margarine peut être sensible à plusieurs altérations principalement l'oxydation due à sa richesse en matière grasse et ce qui peut, par voie de conséquence, diminuer l'intensité de l'arôme désirée et provoquer également un rancissement total de la margarine la rendant inconsommable (Graille, 2003).

Elle peut être altérée par des microorganismes présents dans la margarine qui sont généralement introduits par l'atmosphère ambiante, par l'appareillage de traitement insuffisamment stérilisé, par les emballages, par les contacts humains, par les insectes, par les constituants de la phase aqueuse (eau, lait), surtout en présence d'amidon et ils sont favorisés par certaines conditions de température et d'un pH du milieu supérieur à cinq (François, 1974).

L'action de ces microorganismes a pratiquement pour résultat la formation d'enzymes génératrices d'acide gras libre, de produit d'oxydation d'aldéhydes et des cétones. Ce qui se traduit par des modifications d'apparence, de structure, de saveur et aussi par l'apparition de toxicité dans la margarine (François, 1974).

Chapitre III :
Généralités sur
l'oxydation
et les
Antioxydants

1III.1. Oxydation

L'oxydation est une des plus importantes manifestations à l'origine du vieillissement des produits alimentaires et cosmétiques (Djemoui, 2012). Elle provoque une altération de la qualité nutritionnelle, sensorielle ainsi que les propriétés chimiques des huiles comestibles et matières grasses (Cillard et Cillard, 2006 ; Viilière et Genot, 2006 ; Choe et *al.*, 2009). C'est une réaction radicalaire en chaîne dans laquelle les atomes d'hydrogène les plus instables du substrat sont arrachés par des radicaux libres (Poaty, 2009).

II.1.1. Mécanismes d'oxydation

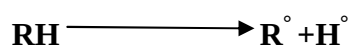
Il existe plusieurs mécanismes d'oxydation qui mettent en œuvre des mécanismes réactionnels très différents en fonction des agents initiateurs (Vilière et Genot, 2006 ; Rahmani, 2007). Parmi les classes d'oxydation : auto-oxydation, oxydation enzymatique.

II.1.1.1. L'auto- oxydation

L'auto- oxydation correspond à une fixation de l'oxygène sur des molécules insaturées. Les composés les plus exposés à cette oxydation sont les acides gras insaturés mais elle peut aussi dégrader d'autres constituants tels que les tocophérols et les pigments liposolubles (Laguerre, 2007 ; Rossignot, 2009). C'est un enchainement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes : l'initiation (amorçage), propagation et enfin terminaison (Bilthoven, 2006).

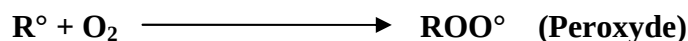
- **Réaction d'initiation**

En présence d'initiateurs tels que les formes réactives de l'oxygène, les métaux (Cu, Fe, Mn) ou la chaleur, la phase d'initiation peut se déclencher (Hannebelle et *al.*, 2004 ; Cottone, 2006). L'oxygène moléculaire attaque les doubles liaisons des acides gras insaturés (AGI), l'arrachement du proton d'hydrogène conduit à la formation de radicaux alkyles (Bilthoven, 2006).



- **Réaction de propagation**

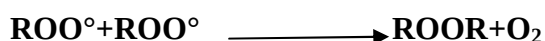
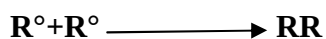
Les radicaux libres alkyles (R°) formés lors de l'initiation, fixent l'oxygène moléculaire (O_2) et forment des radicaux libres peroxydes (ROO°) instables qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras insaturée et conduit à la formation d'un néo-radical et un hydroperoxyde selon les réactions suivantes (Marc *et al.*, 2004 ; Mezita, 2009 ; Poaty, 2009).



Hydroperoxyde (produit secondaire)

- **Réaction de terminaison**

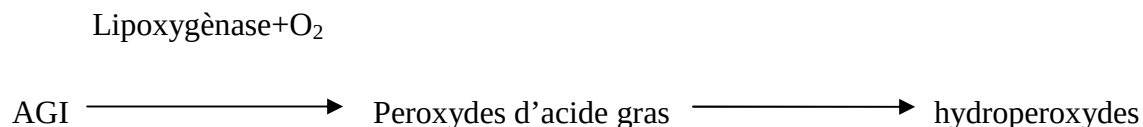
C'est la combinaison de radicaux formés au cours des premières étapes en composés non radicalaires, stables (Bonne et Muller, 2000 ; Chikhon, 2010 ; Bouhadjara, 2011).



Globalement ce processus conduit à la formation des hydrocarbures, des aldéhydes des cétones, des acides et des esters (Bilthoven, 2006).

III.1.1.2. Oxydation enzymatique

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés (AGI) peut être d'origine enzymatique et l'enzyme principalement impliqué est la lipoxygénase (Eymard, 2003 ; Pokorny, 2003). L'oxydation enzymatique se fait selon la réaction suivant :



L'oxydation enzymatique peut se produire même à basses températures. Seulement, durant le stockage à l'état congelé, l'activité enzymatique est très faible (Eymard, 2003 ; pokorony, 2003).

III.2 Antioxydants

Un antioxydant est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible (Berger, 2006). Comparée à celle du substrat oxydable (Djamoui, 2012). En tant qu'additif alimentaire, un antioxydant est une molécule qui protège les aliments contre les réactions d'oxydation, qui accélèrent leurs vieillissements (Lassad, 2010).

III.2.1. Classes des antioxydants

Les antioxydants peuvent être classés selon leurs origines en antioxydants naturels et synthétiques (Himed, 2011).

III.2.1.1. Antioxydants naturels

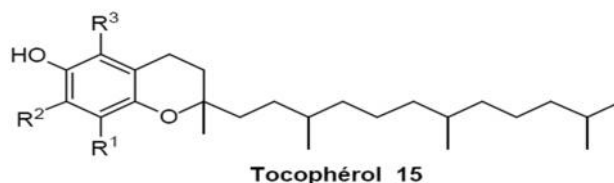
➤ Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires complexes, abondante dans divers aliments d'origines végétale, ils sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (Bellebcir, 2008 ; Hadj-Salem, 2009 ; Zeghad, 2009). Ces molécules possèdent des propriétés antioxydants, c'est-à-dire, elles sont capables de piéger les radicaux libres générés (Scalbert, 2003 ; Cutary et Robin, 2000).

➤ Vitamine E

La vitamine E est bien reconnue comme antioxydant liposoluble (tocophérols). La structure chimique de la vitamine E comprend des différentes formes α , β , γ , δ -tocophérols (Guy, 1994 ; Kohen et Nyska, 2002). Elle est présente dans l'huile, les matières grasses végétales et les légumes (Lambert, 2005). Elle se comporte comme un puissant antioxydant, empêchant le rancissement des graisses (Couplan, 1998).

Les tocophérols identifiés dans l'huile des graines de *Cucurbita pepo* (citrouille) sont : α tocophérol, β tocophérol, γ tocophérol (Fruhworth et Hermetter, 2007). La figure N°2 représente la structure des tocophérols



α -tocophérol : $R^1 = R^2 = R^3 = \text{Me}$

β -tocophérol : $R^1 = R^3 = \text{Me}$; $R^2 = \text{H}$

γ -tocophérol : $R^1 = R^2 = \text{Me}$; $R^3 = \text{H}$

δ -tocophérol : $R^1 = \text{Me}$; $R^2 = R^3 = \text{H}$

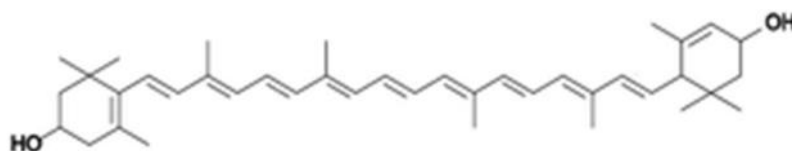
Figure N°2 : Structure chimique des tocophérols (Bruneton, 2009).

➤ Caroténoïdes

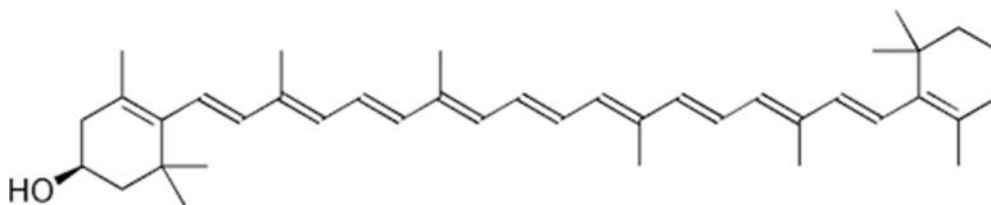
Les caroténoïdes se retrouvent dans les fruits et légumes colorés tels que l'abricot, le cantaloup, les carottes, citrouilles et la patate douce (Rock et *al.*, 1998 ; Paiva et Russell, 1999). L'action antioxydante des caroténoïdes est basée sur la capacité à neutraliser les radicaux libres (Sies et Stahl, 1995).

Selon leurs compositions chimiques, les caroténoïdes sont classés en deux groupes : les carotènes et les xanthophylles (Delia et *al.*, 2001).

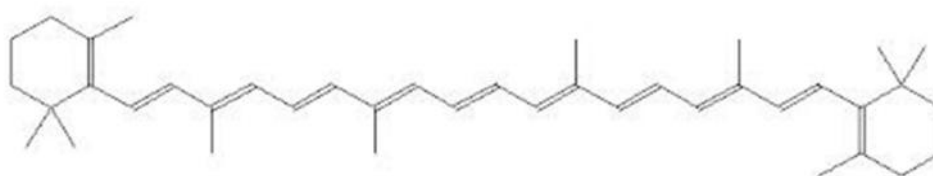
Les caroténoïdes identifiés dans l'huile des graines de *Cucurbita pepo* sont représentés par la lutéïène, cryptoxanthine, β carotène, α carotène et γ carotène (Fruhworth et Hermetter, 2007). La figure N°3 représente la structure des caroténoïdes présents dans l'huile des graines de *Cucurbita pepo*.



Lutéine



Cryptoxanthine



βcarotène

Figure N°3: Structure des caroténoïdes présents dans l'huile des graines de *Cucurbita pepo* (Rodriguez-Amaya ,2001).

➤ oligo-éléments

Les oligo-éléments interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments ; le zinc, le sélénium et le manganèse (Pastre, 2005).

III.2.1.2. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont apparus dans les années 50 avec les fameux BHT et BHA (Gulcin et *al.*, 2005 ; Barus, 2008). Ils sont largement répandue (Cortel et Sgaragli ,1984). Dans l'industrie alimentaire, ces antioxydants synthétiques sont utilisés pour empêcher les aliments gras de rancir et protéger les vitamines liposolubles (A, D, E, et K) contre l'oxydation (Cortel et Sgaragli ,1984).

Partie pratique

Chapitre I :

Matériels et méthodes

I.1. Echantillonnage

Un flacon de 30 ml d'huile de citrouille était acheté chez l'herboriste dans la région de Bejaia, l'origine de l'huile est l'EGYPT (*compagnie de Captain*).



Figure N° 4 : Photographie d'un flacon d'huile de *Cucurbita pepo*

I.2. Caractérisation de l'huile de *Cucurbita pepo*

I.2.1. Analyses physico-chimiques de l'huile de *Cucurbita pepo*

I.2.1.1. Taux d'humidité (NE : 1.2.47-1985)

➤ Définition

C'est la perte en masse subie par le produit chauffé à $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans les conditions spécifiques, exprimée en pourcentage.

➤ Principe

Evaporation de l'eau ainsi que les matières volatiles d'huile sous l'effet de la chaleur (plaque chauffante).

➤ Mode opératoire

Peser le bécher vide (P_0), puis peser 5g d'huile (P_1). Déposer sur une plaque chauffante, en agitant soigneusement de temps en temps afin d'éviter la formation des gouttelettes d'eau sur les parois du bécher. Laisser refroidir dans un dessiccateur. Peser le bécher contenant l'échantillon, soit un poids (P_2).

➤ Expression des résultats

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

H(%) : Humidité exprimée en pourcentage massique.

P₀ : Poids du bêcher vide en gramme.

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

P₂ : Poids du bêcher contenant l'échantillon en gramme après chauffage.

I.2.1.2. Indice de peroxyde (NE.1.298/88)

➤ Définition

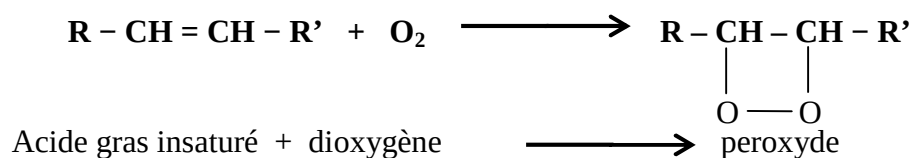
L'indice de peroxyde est exprimé en milliéquivalents gramme d'oxygène actif nécessaire pour oxyder un kilogramme de corps gras.

➤ Principe

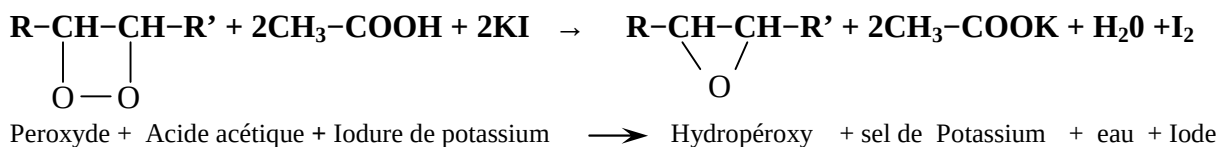
C'est le traitement d'une prise d'essai, en solution dans l'acide acétique et du chloroforme, par une solution d'iodure de potassium (KI).

Puis le titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃), en présence d'amidon comme indicateur de couleur.

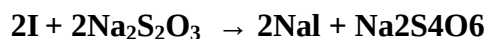
Les acides gras s'oxydent en présence d'oxygène, en donnant des peroxydes selon les réactions suivantes :



En présence de l'acide acétique, l'oxygène actif du peroxyde oxyde à son tour l'iodure de potassium, en libérant de l'iode.



L'iode est titré par une solution de thiosulfate de sodium.



➤ Mode opératoire

Peser 5g d'huile, additionné avec 12 ml du chloroforme et 18 ml d'acide acétique puis 0.1 ml d'iodure de potassium. Après une minute d'agitation, 75 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon, ont été rajoutées au mélange. Un titrage a été réalisé par une solution de thiosulfate de sodium à 0.01N.

➤ Expression des résultats

$$IP = \frac{(V_0 - V) \cdot N \cdot 1000}{M}$$

IP : Indice de peroxyde (MeqO₂/Kg).

V₀ (ml): Volume de Na₂S₂O₃ utilisé pour l'essai à blanc.

V₁ (ml): volume de Na₂S₂O₃ utilisée pour la détermination.

N : Normalité de la solution de Na₂S₂O₃ utilisée.

M : La masse en gramme de la prise d'essai.

I .2.1. 3. Indice d'iode

➤ Définition

C'est le nombre de grammes d'iode fixés par 100g de matière grasse. Il permet d'évaluer le degré d'insaturation d'une glycérade.

➤ Principe

Se base sur le titrage, par le thiosulfate de sodium, de l'excès de réactif de wijis transformé en iode par l'addition de thiosulfate de potassium. (ISO 3961.1996).

➤ Mode opératoire

Peser 0.2 g d'huile, additionnée à 15 ml de tétrachlorure de carbone et 2.5 ml de réactif de « Wijis » dans un flacon. Ce dernier est bouché, agité doucement puis mis à l'abri de la lumière pendant 1 heure. Après, 20 ml de la solution d'iodure de potassium et 150 ml d'eau distillée sont ajoutées. L'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium à 0.1N en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon jusqu'à décoloration.

➤ Expression des résultats

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

$$Ii = \frac{(V_0 - V_x) \cdot N}{m} \cdot 12.96$$

Ii (g/100g) : Indice d'iode.

V₀ (ml) : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.

V_x (ml): Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai d'échantillon.

N : Normalité

m (g) : masse de la prise d'essai.

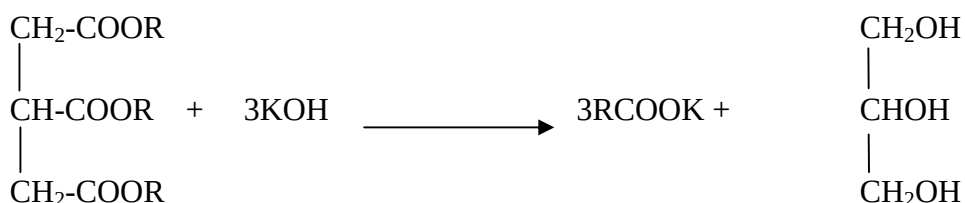
I.2. 1. 4. Indice de saponification

➤ Définition

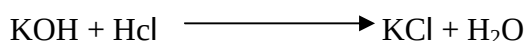
C'est la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) exprimée en mg nécessaire pour saponifier 1g de corps gras.

➤ Principe

Saponification de la prise d'essai et titrage de l'excès de KOH par une solution titrée d'acide chlorhydrique HCl selon la réaction suivante :



Triglycérides + Hydroxyde de potassium $\longrightarrow$ Sel de potassium + Glycérol

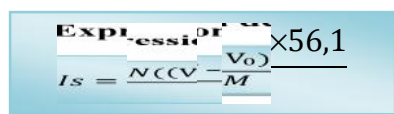


➤ Mode opératoire

Peser 2 g de la matière grasse préalablement filtrée sur sulfate de sodium dans un ballon à col rond. Ajouter 25 ml de KOH éthanolique à l'aide d'une burette et mettre en ébullition sous un réfrigérant à reflux pendant une heure.

Prolonger l'ébullition pour les graisses à points de fusion élevés. Titrer la solution savonneuse avec la solution titrée d'HCl. Faire un essai à blanc dans les mêmes conditions sans corps gras.

➤ Expression des résultats



$$Is = \frac{N(CV - V_0)}{M} \times 56,1$$

Is : Indice de saponification (**mg /g**).

N : Normalité de HCl

V : Volume en millilitre de HCl utilisé pour l'essai.

V₀ : Volume en millilitre de HCl utilisé pour l'essai à blanc.

M : Masse en gramme de la prise d'essai.

I.2.1.5. Indice de réfraction (ISO 6320-2000)

L'indice de réfraction d'une substance est le rapport de la vitesse de la lumière à une longueur d'onde définie dans le vide et sa vitesse dans la substance. Il permet de mesurer la pureté d'un échantillon. La mesure est effectuée à l'aide d'un réfractomètre, à 20 C°.

I.2.1.6. Couleur (NE.1.2.91/1989)

➤ Définition

Elle est mesurée par un colorimètre LOVIBOND. Ce dernier composé de deux cellules de verre (jaune, rouge).

➤ Principe

La colorimétrie consiste à comparer la couleur de la lumière transmise à travers une certaine couche d'huile contenue dans une cuve à face parallèle.

➤ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en termes de nombre d'unités jaune et rouge nécessaires afin d'obtenir la couleur correspondante. La valeur de la couleur est donnée comme suit X_J , Y_R avec :

J : couleur jaune

R : couleur rouge

X, Y : les valeurs lues au LOVIBOND

I.2. Évaluation d'activité antioxydant (DPPH[•]) d'huile de *Cucurbita pepo*

L'évaluation d'activité antioxydante d'huile de *Cucurbita pepo* consiste à la décoloration de la solution contenant le radical DPPH lors de sa réduction par les antioxydants. (Ramadan et Moersel, 2006).

Un volume de 3.9 ml de la solution DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) préparée dans du toluène (10^{-4} M) est additionné d'un volume de solution d'huile diluée dans du toluène à différentes concentrations [0.1-0.4g/ml]. Le mélange est agité pendant 10

Secondes au vortex et l'absorbance est lue après 60 minutes d'incubation à 515 nm. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé par la formule suivante :

$$\text{(\%)} \quad \text{d'inhibition du DPPH} = \frac{(AC - Ae)}{AC} \cdot 100$$

AC : absorbance de contrôle.

Ae : absorbance de l'échantillon.

I.3. Identification des acides gras par chromatographie en phase gazeuse

La composition en acides gras de l'huile *Cucurbita pepo* est déterminée par la chromatographie en phase gazeuse équipé d'un détecteur d'ionisation de la flamme (60 cm de longueur et un diamètre interne de 0.25 millimètre) et d'une colonne capillaire fondue de silice (**Varian, Amérique du Nord**). Le gaz porteur est l'hydrogène, la température d'injection et la détection est de 260 °C. Le volume d'injection est 1 µl et la durée d'analyse est de 40 minutes. Le logiciel Agilent .chemstation : rev.B.04 03 [16], à été employé pour l'intégration des chromatogrammes. Des acides gras ont été identifiés par comparaison de leurs temps de rétention avec les mélanges standards.

I.4. Incorporation d'huile de *Cucurbita pepo* dans des margarines de table

Trois margarines de table ont été manuellement produites à l'échelle laboratoire aux niveaux de CEVITAL spa. La première margarine M_0 contient la vitamine E comme antioxydant synthétique et les deux autres margarines M_1 et M_2 contiennent l'huile de citrouille (*Cucurbita pepo*) comme antioxydant naturelle. Ces margarines sont composées essentiellement de deux phases : 82% de phase grasse et 16% de phase aqueuse. Les Trois margarines sont conditionnées dans des barquettes en plastique et stockées au réfrigérateur à 4 °C. La recette détaillée est donnée dans le tableau IV.

Tableau IV : Recette de la margarine témoin et des margarines avec addition d'huile de citrouille (*Cucurbita pepo*)

Matière première	M ₀	M ₁	M ₂
Phase grasse 82%			
Mélange d'huile	X	X	X
Huile de citrouille	0	100 ppm	150 ppm
Emulsifiants	X	X	X
Arômes	X	X	X
β-carotènes	0	0	0
Vitamine E	100ppm	0	0
Phase aqueuse 16%			
Eau +lait	X	X	X
Sel+acide lactique + sorbate de potassium	X	X	X

X: la matière première est ajoutée.

M₀ : Margarine témoin avec 100 ppm de la vitamine E.

M₁ : Margarine avec 100 ppm d'huile de *Cucurbita pepo*

M₂ : Margarine avec 150 ppm d'huile de *Cucurbita pepo*

I.5. Analyses physico-chimique des margarines

Le taux d'humidité et l'indice de peroxyde sont déterminés pour la margarine. Le principe et le mode opératoire sont expliqués dans les analyses physico-chimiques de l'huile de *Cucurbita pepo* (page 16-18).

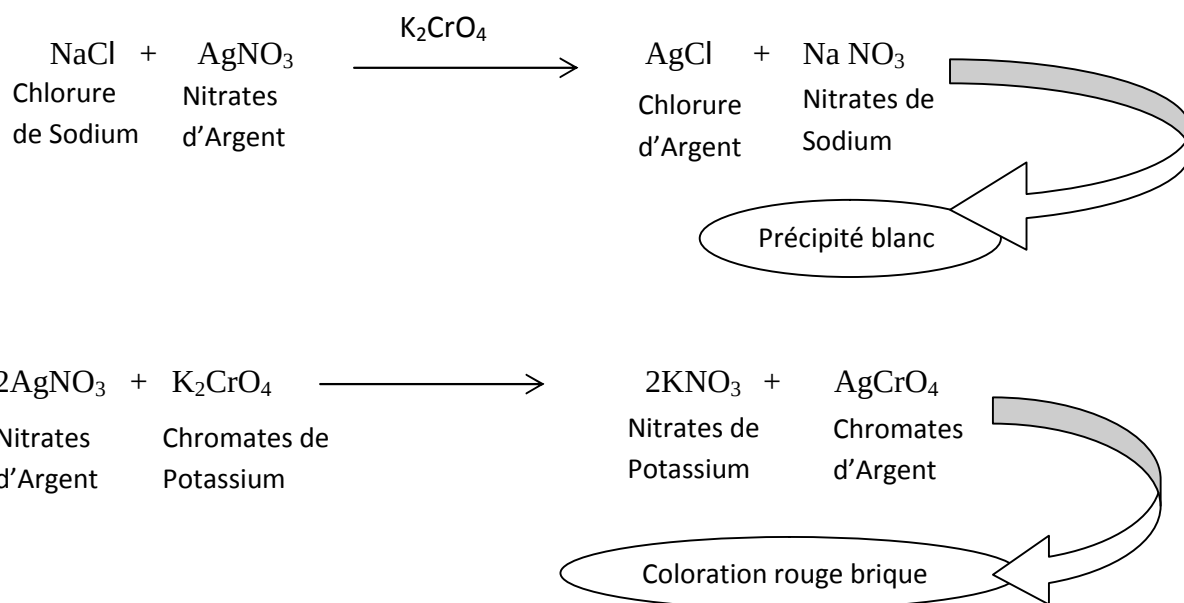
I.5.3. Teneur en sel (NE .1.2.87-429/89)

➤ Définition :

C'est la quantité de sels présente dans l'échantillon de margarine (ou la phase aqueuse), sous forme de chlorure de sodium (NaCl) Autrement dit, c'est la quantité de saumure contenue dans la margarine.

➤ Principe

Titration des chlorures avec du nitrate d'argent (0,1 N), en présence de chromate de potassium (K_2CrO_4) comme indicateur coloré suivant les réactions :



➤ Mode opératoire

Peser 5 gramme de margarine dans un Erlen-Meyer. Ajouter avec précaution 100 ml d'eau distillée bouillante. Dissolution complète de l'échantillon. Laisser refroidir jusqu'à température 50-55° C. Ajouter quelques gouttes de chromates de potassium. (K_2CrO_4).

Titrer avec la solution de nitrates d'argent jusqu'à obtention d'une couleur rouge brique qui persiste pendant 30 secondes.

➤ Expression des résultats

$$Ts (\%) = \frac{N \times V \times eqg(NaCl)}{P \times 1000} \times 100$$

Ts : Taux de sel exprimé en %

N : Normalité d' $AgNO_3$ (0,1 N).

V : Volume de $AgNO_3$ utilisé pour le titrage (en ml).

P: Prise d'essai (en grammes).

E q g : Equivalent gramme de NaCl = 58.5g/mol.

I.5.4. Détermination du point de fusion (NE.1.2.91.88)

➤ Définition

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. C'est une caractéristique très importante qui varie selon le type de la margarine, soit margarine de table, de feuilletage ou pâtissière.

➤ Principe

Il est basé sur le passage de la matière grasse de l'état solide à l'état liquide sous l'effet de la chaleur.

➤ Mode opératoire

Les margarines sont fondues dans l'étuve. Deux tubes capillaires en verre sur une hauteur de 1 cm sont remplis de margarine, puis les refroidir au réfrigérateur (20 minutes). Les deux capillaires sont fixés à un thermomètre de telle façon que la partie basse des capillaires soit au même niveau que le fond de la boule de mercure du thermomètre. L'ensemble est immergé dans un bêcher contenant de l'eau osmose. Ensuite, il est chauffé lentement (0.5°C/mn) dans un bain marie rempli d'eau. La température à laquelle les colonnes de margarine commencent à remonter dans les tubes est notée.

➤ Expression des résultats

La température notée correspond au point de fusion de la margarine (huile) exprimée en degrés Celsius (°C). Si le moment du découlement de la margarine (huile) diffère entre les deux tubes alors on prend la valeur moyenne.

I.5.5. Détermination du pH (NE.1.2.430/89)

➤ Définition

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, déterminée selon le mode opératoire, exprimé en unité du pH.

➤ Mode opératoire

La première étape est étalonner le pH-mètre par l'eau distillée à pH=7. Introduire les électrodes dans la phase aqueuse à la température de mesure. Lorsque la lecture devient constante, lire la valeur du pH indiquée par le pH-mètre à 0,01 près, sur l'échelle de l'instrument.

I.6. Évaluation de la stabilité oxydative de la margarine par le test rancimat (ISO 6886,2006)

La stabilité oxydative est un paramètre important de la qualité des corps gras. (Aparicio et *al.*, 1999). Le Rancimat est une méthode validée pour la stabilité oxydative. Il est généralement appliqué pour ses facilités d'utilisation et reproductibilité (García-Moreno et *al.*, 2013).

Le principe consiste à faire vieillir prématurément les matières grasses par décomposition thermique sous un bullage intensif d'air. Les acides organiques est produits de dégradation de cette oxydation poussée, sont entraînés par un courant d'air et recueillis dans une cellule de mesure remplie d'eau distillée, dans laquelle est immergée l'électrode de mesure de la conductivité. Cette dernière est connectée à un dispositif de mesure d'enregistrement. Le temps d'induction est déterminé par conductimètre. Il correspond au temps pendant lequel la matière grasse a résisté à un stress oxydatif (ISO 6886, 2006).

Les échantillons à analyser sont chauffés jusqu'à une température de 98 °C et le débit de gaz est de 10 L/h, 65 ml d'eau distillée sont versées dans les cellules de mesure. Trois g d'échantillons sont introduits dans un flacon d'oxydation à l'air. Les résultats sont mesurés par un enregistreur.

I.7. Étude statistique

Les résultats sont analysés par STATISTICA, basé sur l'analyse de la variance ANOVA-MANOV, post-hoc, test de Tukey différences significatives $p < 0.05$.

Chapitre II :

Résultats et

discussions

II.1. Analyses physico-chimiques de l'huile de *Cucurbita pepo*

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'huile de *Cucurbita pepo* sont récapitulés dans le tableau V.

Tableau V : Analyses physico-chimique d'huile de *Cucurbita pepo*

Analyses	Valeurs
Humidité (%)	0.0031±0.001
Indice de peroxyde (MeqO ₂ /Kg)	6.8 ±0.013
Indice d'Iode (g/100g)	125 ±0.310
Indice de saponification (mg de KOH / g)	185 ±0.272
Indice de réfraction à 20 °C	1.466 ±0.02
Couleur J :	17
R :	7

J : couleur jaune

R : couleur rouge

Selon le tableau ci dessus le taux d'humidité est égale à 0.0031±0.001% cette valeurs est inferieure par rapport à celle trouvé par Schinas et *al.* (2009), qui égale de 0.0584%. Cette faible valeur est le résultat d'une bonne extraction de cette huile, ce qui l'empêche le risque d'oxydation.

L'indice de peroxyde est égale à 6.8 ±0.013 M_{Eq}O₂ / kg d'huile cette valeur est inférieure par rapport à celle trouvée par Ardabili G et *al.* (2011) qui de 10.85 ± 0.62 M_{Eq}O₂ / kg de huile de *Cucurbita pepo* .Selon Ajayi et *al.* (2006), l'huile devient rance lorsque l'indice de peroxyde est compris entre 20,0 et 40,0 M_{Eq} O₂ / kg. Par conséquent, l'huile de graines de *Cucurbita pepo* peut être considérée comme une huile comestible d'une bonne qualité.

L'indice d'iode d'huile de *Cucurbita pepo* dans la présente étude a une valeur de 125 ± 0.310 (g/100g), ce résultat est supérieur à ceux qui ont été trouvés par Schinas et al. (2009) ; Lazos. (1986) et Tsaknis et al. (1997) qui sont respectivement de 115 ; 103.2 et 107 (g/100g). L'indice d'iode d'huile de *Cucurbita pepo* est élevé ce qui signifie que cette huile est riche en acides gras insaturés.

Tandis que l'indice de saponification d'huile de *Cucurbita pepo* est égale 185 ± 0.272 (mg de KOH / g), cette valeur est dans la gamme de 174 à 197 (mg de KOH / g) trouvée pour les huiles de graines de citrouille par Nichols et Sanderson. (2003). Cette valeur indique que l'huile de la présente étude contient des acides gras avec un nombre élevé d'atomes de carbones (acides gras à longues chaînes).

L'indice de réfraction à 20 °C d'huile de *Cucurbita pepo* est égale 1.466 ± 0.02 cette valeur est similaire à la gamme rapportée par Lazos. (1986) (1.466 à 1.474) avec l'huile de graines de citrouille. Cette valeur indique que cette huile est pure.

La couleur de l'huile est un facteur déterminant de la qualité. C'est un critère de sélection pour les consommateurs (Ganduel-Rojas et Minguez-Mosquera, 1996). L'huile *Cucurbita pepo* analysée contient 17 et 7 unités respectivement pour la couleur jaune et couleur rouge. Dont le premier représente les xanthophylles et le deuxième les carotènes. Ce qui signifie que cette huile est riche en xanthophylles.

II.2. Évaluation d'activité antioxydant (DPPH°) d'huile de *Cucurbita pepo*

L'activité antioxydant d'huile de *Cucurbita pepo* est représentée dans le tableau VI

Tableau VI : Pourcentage de réduction du radical DPPH par l'huile de *Cucurbita pepo*.

DPPH (%)	(Rezig et al., 2012)
69.87 ± 2.81	36.22%

D'après ce tableau l'huile de *Cucurbita pepo* a une grande activité antioxydante qui atteint $69.87 \pm 2.81\%$, ce résultat est supérieur à celui trouvé par Rezig et al. (2012) qui atteint

36.22%. L'huile de la présent étude à une grande capacité anti-radicalaire (c'est-à-dire une grande capacité à fixer les radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne) (Popovici *et al.*, 2009).

II.3. Identification des acides gras par chromatographie en phase gazeuse

Le tableau VII représente la composition en acides gras d'huile de graines de *Cucurbita pepo*.

Tableau VII : Composition en acides gras d'huile de graines de *Cucurbita pepo*

Formules d'acides gras	Nom commun	Temps rétention (min)	Teneurs (%)
C16 :0	Acide palmitique	13.409	10.935
C16:1	Acide palmitolique	14.123	0.337
C18:0	Acide stéarique	17.024	5.199
C18:1	Acide oléique	17.591	28.911
NI	NI	17.683	0.719
NI	NI	18.371	0.899
C18:2	Acide linoléique	18.636	50.276
C18:3	Acide linolénique	19.326	1.541
C20:0	Acide arachidonique	19.801	0.223
C20:1	Acide ecosanoïque	20.913	0.408
NI	NI	28.098	0.290
C22:0	Acide betrique	29.374	0.256

NI : Nom Identifié

D'après le tableau précédant l'acide linoléique (C18:2) est l'acide prédominant dans l'huile de *Cucurbita pepo* avec une teneur de 50.276%, suivi par l'acide oléique (C18:1) avec une teneur de 28.911%. Tandis que l'acide palmitique (C16 :0) et stéarique (C18 :0), sont présent avec des proportions faible qui sont respectivement 10.935%, et 5.199%. Les

teneurs en acide linolénique (C18:3), écosanoïque (C20:1), palmitolique (C16:1), bétrique (C22:1) et arachidonique (C22:0) sont inférieures à 2 %. Ces résultats sont dans la gamme trouvée dans les études réalisées par Lazos. (1986) et El-Adawy et Taha. (2001), sur la composition en acides gras de *Cucurbita pepo* : l'acide linoléique était plus élevée (43.1 à 55.6 %) et l'acide oléique (20.4-37.8%). Par conséquent l'huile de la présente étude à une forte teneur en acides gras insaturés, linoléique et oléique et une teneur très faible en acide linolénique. Ces résultats confirment que l'huile des graines de citrouille (*Cucurbita pepo*) est une huile comestible riche en acides essentielles.

II.4. Analyse physico-chimiques des margarines

L'ensemble des résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur les trois margarines sont récapitulés dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Analyses physico-chimiques des margarines.

Analyses	Valeurs	Norme ISO662 (1998-90-1)
Humidité (%) M ₀ M ₁ M ₂	15.25±0.04 ^a 15.23±0.06 ^a 15.26±0.04 ^a	16
Indice de peroxyde (MeqO₂/Kg). M ₀ M ₁ M ₂	0.30±0.01 ^a 0.30±0.02 ^a 0.30±0.01 ^a	10
Teneur en sel (%) M ₀ M ₁ M ₂	0.39±0.01 ^a 0.36±0.01 ^a 0.37±0.02 ^a	0.1-0.4
Point de fusion (°C) M ₀ M ₁ M ₂	35.93±0.49 ^a 36.27±0.22 ^a 36.00±0.27 ^a	34-37
pH M ₀ M ₁ M ₂	4.62±0.12 ^a 4.49±0.01 ^a 4.55±0.03 ^a	4-5.5

M₀ : Margarine témoin avec 100 ppm de la vitamine E.

M₁ : Margarine contient 100 ppm d'huile de *Cucurbita pepo*

M₂ : Margarine contient 150 ppm d'huile de *Cucurbita pepo*

Des résultats sont rapportés comme la moyenne $\pm$ S.D. les mêmes lettres dans la même colonne se rapporte à des moyennes statistiquement non significatives selon l'essai post-hoc d'ANOVA test de Tukey $p < 0.05$.

II.4.1. Taux d'humidité

D'après ce tableau il n'y a pas une différence significative entre la margarine témoin et les deux autres margarines, dont les taux sont respectivement $15.25 \pm 0.04\%$; $15.23 \pm 0.06\%$ et $15.26 \pm 0.04\%$. Ceci est compatible avec la formulation initiale de la margarine qui contient (82-84)% de la phase grasse et (16-18%) de la phase aqueuse. Les valeurs de ces margarines répondent aux normes ISO662.

II.4.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est le nombre d'oxygènes libre en Meq d'O₂/Kg de corps gras ; Il renseigne sur le degré d'oxydation de ce corps. L'indice de peroxyde est un critère très utile est d'une sensibilité satisfaisante pour apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative (Karleskind, 1992).

D'après les résultats obtenus l'indice de peroxyde des trois margarines élaborées est de 0.30 Meq/kg avec aucune différence significative. Ces indices de peroxyde sont inférieurs à 10 Meq O₂/kg requis par les normes ce qui indique que le taux d'oxydation est très faible. (Karleskind et Wolff, 1992).

II.4.3. Teneur en sel

L'addition de sel à la margarine a pour but d'améliorer les caractéristiques organoleptiques et également d'inhiber le développement de certaines bactéries, ce qui prolonge la durée de sa conservation.

Dans la présente étude la teneur en sel (Na Cl) des trois margarines élaborées sont respectivement 0.39 ± 0.01 ; 0.36 ± 0.01 et 0.37 ± 0.02 %. Avec aucune différence significative. Donc les trois margarines sont conformes à la norme ISO662

II.4.4. Détermination du point de fusion

Le point de fusion des margarines élaborées sont respectivement 35.93 ± 0.49 °C ; 36.27 ± 0.22 °C et 36.00 ± 0.27 °C pour M_0 , M_1 et M_2 , avec aucune différence significative, ces valeurs sont conforme à la norme ISO662. Le point de fusion à une relation avec la composition en acides gras, dont les acides gras saturés (AGS) à longues chaines ont un point du fusion plus élevé que les acides gras insaturés (AGI) à courtes chaines.

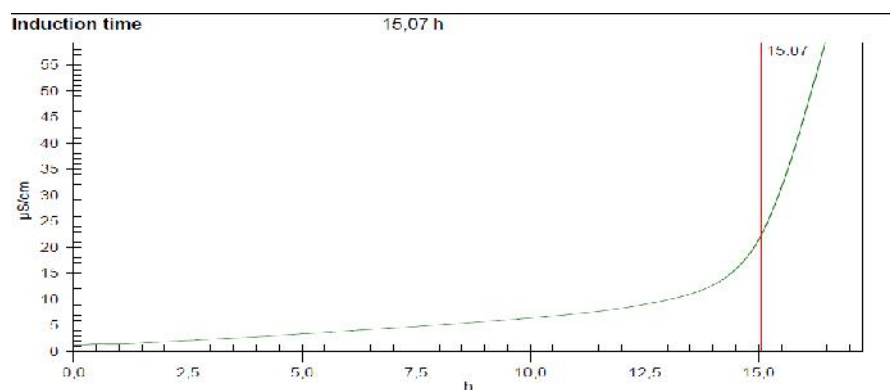
II.4.5. Détermination du pH

La détermination du pH renseigne sur l'état de fraîcheur de l'échantillon. Le pH de la phase aqueuse des trois margarines élaborées sont proches (aucune différence significative) et sont dans la formulation fixées par la norme ISO 662 (pH entre 4 et 5.5). Ce qui signifie que les doses de l'acide acétique ajouté aux margarines sont respectées. Le pH entre 4-5.5 a pour but de donner un bon gout à la margarine et d'éviter le développement microbien.

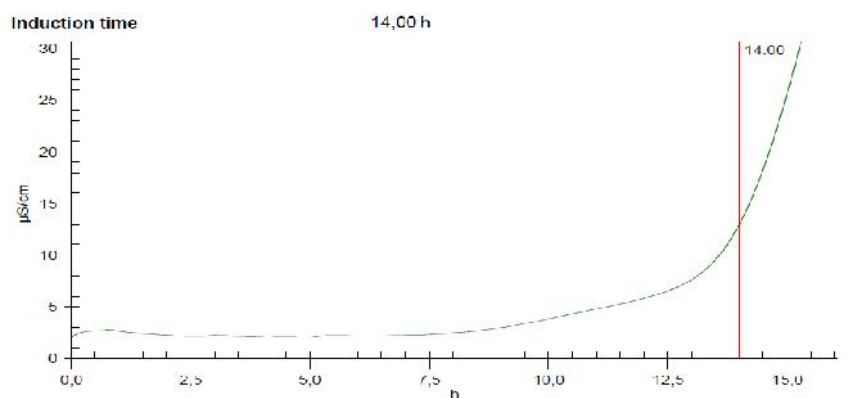
D'après (Karleskind et Wolff, 1992)

II.5. Stabilité oxydative des margarines (test de Rancimat)

La figure N°5 représente les résultats de la stabilité à l'oxydation des trois margarines, témoin M_0 (avec vitamine E) et avec l'huile de citrouille (*Cucurbita pepo*) à différentes concentrations (M_1 , M_2).



M₁ Margarine + 100 ppm d'huile de citrouille (*Cucurbita pepo*)



M₂ Margarine avec 150ppm d'huile de citrouille (*Cucurbita pepo*)

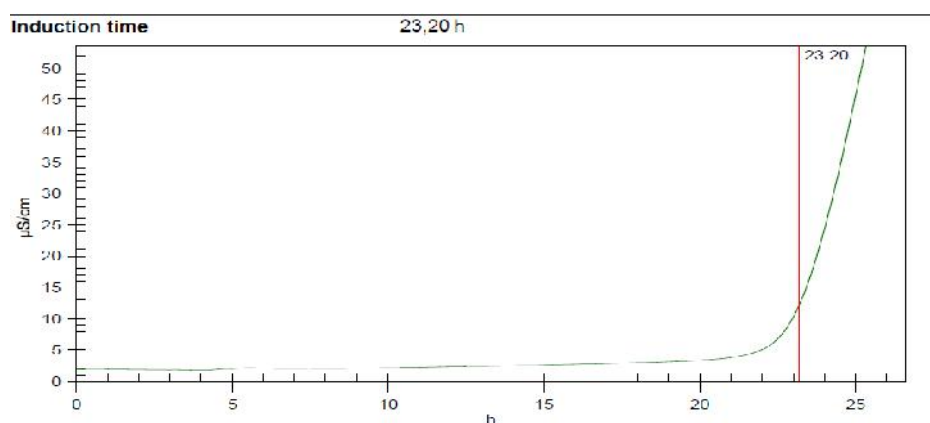


Figure N° 5: Résultats de la stabilité des margarines à l'oxydation accélérée

D'après les résultats obtenus le temps d'induction des trois margarines élaborées M_0 , M_1 et M_2 sont respectivement 15h 07, 14h00 et 23 h20. Ces résultats démontrent que les margarines avec huile de *Cucurbita pepo* prouvent une stabilité oxydative. Celle avec

100 ppm d'huile est inférieure à la stabilité oxydative de la margarine avec la vitamine E, mais la stabilité oxydative de la margarine avec 150ppm d'huile de *Cucurbita pepo* est largement supérieure à celle de la vitamine E. Cette réaction est probablement liée aux composées bioactives ayant une activité antioxydante.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

À la lumière de ces résultats, l'huile de graines de *Cucurbita pepo* a une grande importance. C'est une source en composée bioactive, dont l'activité anti-oxydante déterminée par le test DPPH° a montré que l'huile de *Cucurbita pepo* possède une capacité de neutralisation du radical DPPH avec un pourcentage d'inhibition de 69.87 ± 2.81 %. L'identification de l'huile de *Cucurbita pepo* en acide gras indique que cette huile est une source d'acides gras insaturés essentiellement acide linoléique et l'acide oléique.

L'essai de l'incorporation de l'huile de *Cucurbita pepo* dans la margarine a prouvé que cette huile peut faire face au risque d'oxydation avec une stabilité qui dépasse l'antioxydant synthétique utilisé (vitamine E). De ce fait cette l'huile est un bon ingrédient alimentaire.

Dans le but d'améliorer et de compléter ce travail, il serait intéressant d'identifier et d'isoler ces antioxydants par des méthodes plus avancées, effectuer des tests de toxicité et étudier l'activité antimicrobienne de l'huile de *Cucurbita pepo*.

Références bibliographiques

A

Ahamat –Silaye O. (1981). Etude de la composition chimique et de la valeur nutritive de quelques aliments du Sénégal .Rapport de stage, ORSTOM –Nutrition.

Ahmad M. et Clyde S. (2002). Les matières grasses destinées aux produits de boulangeries. Edition : ASA (Association soybean association), pp : 60-63.

Ajayi I. A., Oderinde R. A., Kajogbola D.O. et Uponi J. I. (2006). Oil Content and Fatty Acid Composition of Some Underutilized Legumes from Nigeria. Food. Chem. 99: 115–120.

Alais C. et Linden G. (1997). Biochimie alimentaire .Edition masson paris .ISBN :2-225-82853-9.

Andjelkovic M., Van Camp J., Trawka A. et Verhé R. (2010). Phenolic compounds and some quality parameters of pumpkin seed oil. European Journal of Lipid Science and Technology. 112: 208-217.

Aparicio R., Roda L., Albi M. A. et Gutiérrez F. (1999). Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by rancimat. Journal of Agricultural and Food Chemistry.47:4150-4155.

Applequist W., Avula B., Schaneberg B., Wang Y. et Khan I. (2006). Comparative fatty acid content of seeds of four *Curcubita* species grown in a common (shared) garden. Journal of Food Composition and Analysis. 19: 606-611.

Ardabili G.A., Farhoosh R. et Khodaparast H. M. H. (2011). Chemical Composition and Physicochemical Properties of Pumpkin Seeds (*Cucurbita pepo Subsp. pepo Var. Styriaka*) Grown in Iran. Journal of Agriculteur, Science.and Technology. 13: 1053-1063.

B

Barus C. (2008). Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leurs associations en milieu homogène et biphasique, application aux produits dermocosmétique. Thèse de l'université de Toulouse.

Bavec F., Mlakar S., Rozman C. et Bavec M. (2007). Oil pumpkins: Niche for organic

Producers. Reprinted from: Issues in new crops and new uses. 2007. J. Janick & A. Whipkey (eds.). ASHS Press, Alexandria, VA. Retrieved from.

<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/ncnu07/pdfs/bavec185-189.pdf>.4.

Bellebcir L. (2008). Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversités chez les céréales, pp : 26-28.

Berger M.M. (2006). Manipulation nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances
Nutritional manipulation of oxydative stress : review of the évidence. Nutrition clinique et métabolisme. 20 :48-53.

Berthoud L. et Real M. (2008). La margarine est-elle une bonne Alternative au

Beurre ? .Filière Nutrition et diététiques, Haute Ecole de Santé, Genève.

Bilthoven. (2006). Etablissements des critères relatives aux cargaisons précédents acceptables pour les graisses et les huiles, pp: 45-47.

Bonne C. et Muller A. (2000). Rôle de stress oxydant dans la dégénérescence musculaire lié à l'âge. Journal français d'ophtalmologie, pp : 835-840.

Bouhadjara K. (2011). Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative d'huile d'olive. Thèse de l'université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, pp :18-21.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, photochimie plantes médicinales 4^{ème} édition Technique & Documentation/Lavoisier, Paris. ISBN : 978-2-7430-1188-8.

C

Caili F., Huan S. et Quanhong L. (2006). A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant Foods for Human Nutrition*. 61:73-80.

Chait J. (2009). Pros and cons of organic Halloween pumpkins.
<http://blisstree.com/live/pros-and-cons-of-organic-Halloween-pumpkins>.

Cheftel H. et Cheftel J.C. (1977). Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Edition : Tec et Doc. Lavoisier, paris, pp : 381-383.

Chikhon A. (2010). Texture d'une margarine nouvellement formulée et effets des huiles incorporées (hydrogénées et interestirifiées). Thèse d'universités MENTOURI– Constantine.

Choe E., Lee J. et Min D.B. (2009). Mecanisme of antioxidant in the oxydation of foos comprehensive. *Reveiw in food science Safety*, pp: 345-358.

Cillard J. et Cillard P. (2006). Mécanisme de la peroxydation lipidique et des Antioxydants .Oléagineux corps gras, pp : 24-29.

Cortel D. et Sgaragli G. (1984). 2-t-Butyl-4-Methoxypheno (BHA) actute toxicity in rodents: influence of the administration rout .*Pharmacological Research communications*.

Cottone E. (2006). Use of natural antioxidant in Dairy and meat product. *Review of sensory and instrumental analysis*, pp : 4-6.

Couplan F. (1998). Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées .Edition : Delachaux et Niestlè SA, Lausanne.Paris, pp : 228-230.

Cutary J.P. et Robin J.M. (2000). Intérêt des complexes antioxydants.

D

Deimel T. (2007). Important facts about award-winning styrian pumpkin seed oil and Your health.

Retrieved from: www.deimel.biz/_biz/info/pumpkinoil.htm.

Delia B.et Rodriguez –Amaya P.D. (2001). A guide to carotenoid analysis in foods. Printed in the united states of Americ. ISBN 1-57881-072-8.

Dia K., Munier M. et Vandredeuil D. (2001). Autres valorisations de la matière grasse laitière .In « Valorisation de la matière grasse laitière ».Université de Lille, pp : 19-22.

Djemoui D. (2012). Contribution à l'étude de l'activité antioxydants et antimicrobienne de quelques coumarines synthétisées .Mémoire de master académique en science et de la technologie des sciences de la matière .Université Kasdi Merbah Ouargla.

E

El-Adawy T. A. et Taha K. M. (2001). Characteristics and Composition of Watermelon, Pumpkin, and Paprika SeedOils and Flours. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49:1253–1259.

Eymard S. (2003). Mise en évidence et suivit de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (trachurus trachurus) : choix des procédés. Thèse de l'Université de Nantes, pp : 126-128.

F

FAUR L. (1992).Technologie des margarines. Manuel des corps gras Tome II.

Filbrandt et Katelyn R. (2012). Effect of Pumpkin Seed Oil Cake on the Textural and Sensory Properties of White Wheat Bread. MS Food & Nutritional Sciences .American Psychological Association, 6^{ème} Edition.

FRANCOIS .R (1974). I industrie des corps gras .Edition : Technique et documentation. Lavoisier, pp : (283-291). ISBN : 2.88020.007.5.

Fruhworth G.O. et Hermetter A. (2007). Seeds and oil of the styrian Oil pumpkin: components and biological activities. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109:1128-1140.

Fruhworth G. et Hermetter A. (2008). Production technology and characteristics of Styrian pumpkin seed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 110:637-644.

G

Ganduel-Rojas B. et Minguez- Mosquera M.I. (1996). Chlorophyll and carotenoides composition in Virgin olive oils from various Spanish olive varieties. *Journal of the science of food and agriculture food* .72: 31-39.

García-Moreno P.J., Pérez-Gálvez R., Guadix A. et Guadix E. M. (2013). Influence of the parameters of the Rancimat test on the determination of the oxidative stability index of cod liver oil. *LWT - Food Science and Technology*. 51 : 303-308.

Graille J. (2003). Lipides et corps gras alimentaire .Edition Tec et Doc. Lavoisier.

Gulcin I., Berashvili D., Gepdiremen A. (2005). Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from perillapan kinesis, *journal of Enthopharmacology* , pp:287-293.

Guy J. (1994). Antioxydants et vieillissement. Edition Paris (France). ISBN : 2-7420-0055.

H

Hadj-Salem J. (2009). Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques des flavonoïdes de Nitraria Reusa et synthèse de divers acyles de ces molécules par voie enzymatique, pp : 19-23.

Hannebelle T., Sahpaz S., et Baillalus F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, pp : 3-6.

Himed L. (2011). Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de citrus limon : application à la margarine .Mémoire de magister en sciences alimentaires. Université Mentouri –Constantine.

J

Jian L., Lee A., Binns C. et Du C-J. (2005). Do dietary lycopene and other carotenoids Protect against prostate cancer? Int. J. Cancer. 113: 1010–1014.

Johnson D.R. et Gu L.C. (1988). In Autoxidation and Antioxidants, John Wiley, New York, pp : 433-448.

Jonathan A. et Elise H. (2004). Additifs alimentaire : les lécithines. Université de paris val de Merne.

K

Karleskind A. (1992). Manuel des corps gras .Edition : Technologie et Document, pp : 938-941.

Karleskind A. et Wolff J.p. (1992). Manuel des corps gras. Lavoisier, TEC& DOC, paris.

Kohen R. et Nyska A. (2002). Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reaction and methods for their quantification. Toxicolo pathol. 30:620-650.

Kone S. (2001). Fabrication artisanale de margarine.

L

Laguerre M., Lecomte J. et Villeneuve P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxydation: Existing method, new trend and challenges .Progress in lipid Research, pp: 244-282.

Lambert J. (2005). Les huiles végétales : 2000 plantes oléagineuses répertoriées. Institut français des huiles végétales pures, ISBN : 2-916150-01-3, pp : 23-26.

Lassad H. (2010). Les antioxydants dans les aliments .Universités du 7 novembre Carthage Tunis.

Lazos E. S. (1986). Nutritional, Fatty Acid and Oil Characteristics of Pumpkin and Melon Seeds. *Journal. Food Science*. 51: 1382–1383.

M

Marc F., Davin A., Deglene –Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M. et Fritsh P. (2004). Méthodes d'évaluations du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine/science*, pp : 458-463.

Mazza G. et Miniati E. (1993). Anthocyanins in fruit, vegetable and grains. *press Boca Ronton*. 362:12-18.

Mezita A. (2009). Activités antioxydants des extraits des graines de Nigella Sativa. Etude in vitro. Thèse de l'université el Haj Lakhdar Batna.

Murkovic M. et Pfannhauser W. (2000). Stability of pumpkin seed Oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 102: 607-611.

N

Nakic S., Rade D., Skevin D., Strucelj D., Mokrovac Z. et Bartolic M. (2006). Chemical characteristics of oils from naked and husk seeds of Cucurbita pepo L. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 108: 963-943.

Nichols D. S. et Sanderson K. (2003). The Nomenclature, Structure, and Properties of Food Lipids. In *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*, PP: 29 -59

O

O'Brien R.D. (2008). *Fats and oils: formulating and processing for application*. Edition: CRC press, Taylor & Francis Group, Boca Raton London New York, pp: 680-682.

P

Paiva S .et Russell M. (1999). β carotene and other carotenoids as antioxidants .Journal of the American college of nutrition.18:426-433.

Pastre C.O. (2005). Intérêt de la supplémentation en antioxydant dans l'alimentation des carnivores domestiques .Thèse université Louis Pasteur Strasbourg.

Pericin D., Krimer V., Trivic S. et Radulovic L. (2009). The distribution of phenolic acids in pumpkin's hull-less seed, skin, oil cake meal, dehulled kernel and hull. Food Chemistry. 113: 450-456.

Poaty- poaty B. (2009). Modification chimique, activités pour les rendre lipophiles : application aux tanins. Thèse de l'université de Henri –Poincaré NancyI.

Pokorny J. (2003). Problèmes de stabilité des produits alimentaires liés à la présence des lipides .Edition : Lavoisier II, pp : 55-66.

Polèse J.M. (2006).la cultures des courges. Edition .Artémis, pp : 10-76.

Popovici C., Saykova L. et Tylkowski (2009). Évaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH .Revue de génie industriel. 4 :25-39.

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

R

Rahmani M. (2007). Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides, pp : 18-20.

Ramadan M.F. et Morsel J.T. (2006). Screening of the antiradical action of vegetal oil. Journal of Food Composition and analysis. 19:838-842.

Rezig L.,chouaibia M .,Msaadabk. et Hamdia S.(2012). Chemical composition and profile characterization of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed oil. Industrial and products. 37:82-87

Rock C.L., Lovalo J.L., Emenhier C., Ruffin M.T., Flatt S.W. et Schwartz S .J. (1998). Bio – availability of β carotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women .journal of nutrition. 128: 913-916.

Rodriguez-Amaya D.B. (2001).Aguide to carotinoide analysis in foods. International Life Science, pp: 17-19.

Rossignot- Castera A. (2009). L'oxydation des produits alimentaires et rôle préventif des antioxydants.

S

Scalbert A. (2003). Les polyphénols végétaux : des molécules aux atouts multiples. Laboratoire des Maladies Métabolique et Micronutriments. INRA, Clermont –Ferrand, pp : 28-29.

Schinas P., Karavalakis G., Davaris C., Anastopoulos G., Karonis D., Zannikos F., Stournas S. et Lois E. (2009). Pumpkin (Cucurbita pepo L.) seed oil as an alternative feedstock for the production of biodiesel in Greece. BIOMASS and BIOENERGY. 33: 44–49.

Sies H. et Stahl W. (1995). Vitamins E and C, β -carotène, and other carotinoide as antioxidants. American Journal of Clinical Nutrition. 62:1315-1321.

Stevenson D. G., Eller F.J., Wang L.P, Jane J.L., Wang T.et Inglett G.E. (2007). Oil and Tocopherol content and composition of pumpkin seed oil in 12 cultivars. J. Agric. Food Chem. 55:4005–4013.

Szterk A., Roszko M., Sosinska E., Derewiaka D.et Lewicki P. (2010). Chemical Composition and oxidative stability of selected plant oils. Journal of the American Oil Chemists Society. 87: 637–645.

T

Tsaknis J., Lalas S. et Lazos E. S. (1997). Characterization of Crude and Purified Pumpkin Seed Oil. Gras. Aceit. 48: 267–272.

V

Vanier P. (2007). La citrouille au fil du temps, usages culinaires, conservation, jardinage, biologique. Ecologie et environnement.

Viilière A., Genot C. (2006). Approche clinique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsion, pp : 152-159.

Vujasinovic V., Djilas S., Dimic E., Romanic R. et Takaci A. (2010). Shelf life of cold-pressed pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed oil obtained with a screw press. Journal of the American Oil Chemists' Society. 87: 1497-1505.

W

Wichtl M. et Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques. EMI/Tec & Doc, Paris, pp: 163–165.

Y

Younis Y.M.H., Ghirmay S., et Al-Shihry S.S. (2000) . African *Cucurbita pepo* L. properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. Phytochemistry, pp : 71–75.

Z

Zeghad N. (2009). Etudes du contenu polyphénoliques de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leurs activités antibactériennes .Thèse de l'université Mantouri-Constantine.

Zhang C.X., Wu H. et Weng X. (2004). Two novel synthetic antioxidant for deep frying oils. Food Chemistry. 84:219-222.

Zuhair H.A., Abd El-Fattah A.A. et El-Sayed M.I., (2000). Pumpkin-seed oil modulates The effect of feloipine and captopril in spontaneously hypersensitive rats. Pharmacol Res. 41:555–563.

Résumé

L'huile de graines de *Cucurbita pepo* est une huile alimentaire qui présente une haute valeur nutritive, par sa richesse en acides gras essentiels, composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines E et phytostérols. L'objectif de cette étude est de caractériser cette huile, déterminer son activité anti-oxydante et son effet sur la stabilisée oxydative de la margarine. Les résultats avaient démontré que l'huile de *Cucurbita pepo* possède une capacité de neutralisation du radical DPPH avec un pourcentage d'inhibition de 69.87 ± 2.81 %. L'indentification d'huile de *Cucurbita pepo* en acide gras indique que cette huile est une source en acides gras insaturée, essentiellement acide linoléique (C18 :2) et l'acide oléique (C18 :1). Le test de Rancimat est utilisé pour évaluer la stabilité oxydative, où il a montré que la margarine présente une grande stabilité oxydative avec 150 ppm de l'huile *Cucurbita pepo*.

Mots clés : Huile, *Cucurbita pepo*, margarine, antioxydant.

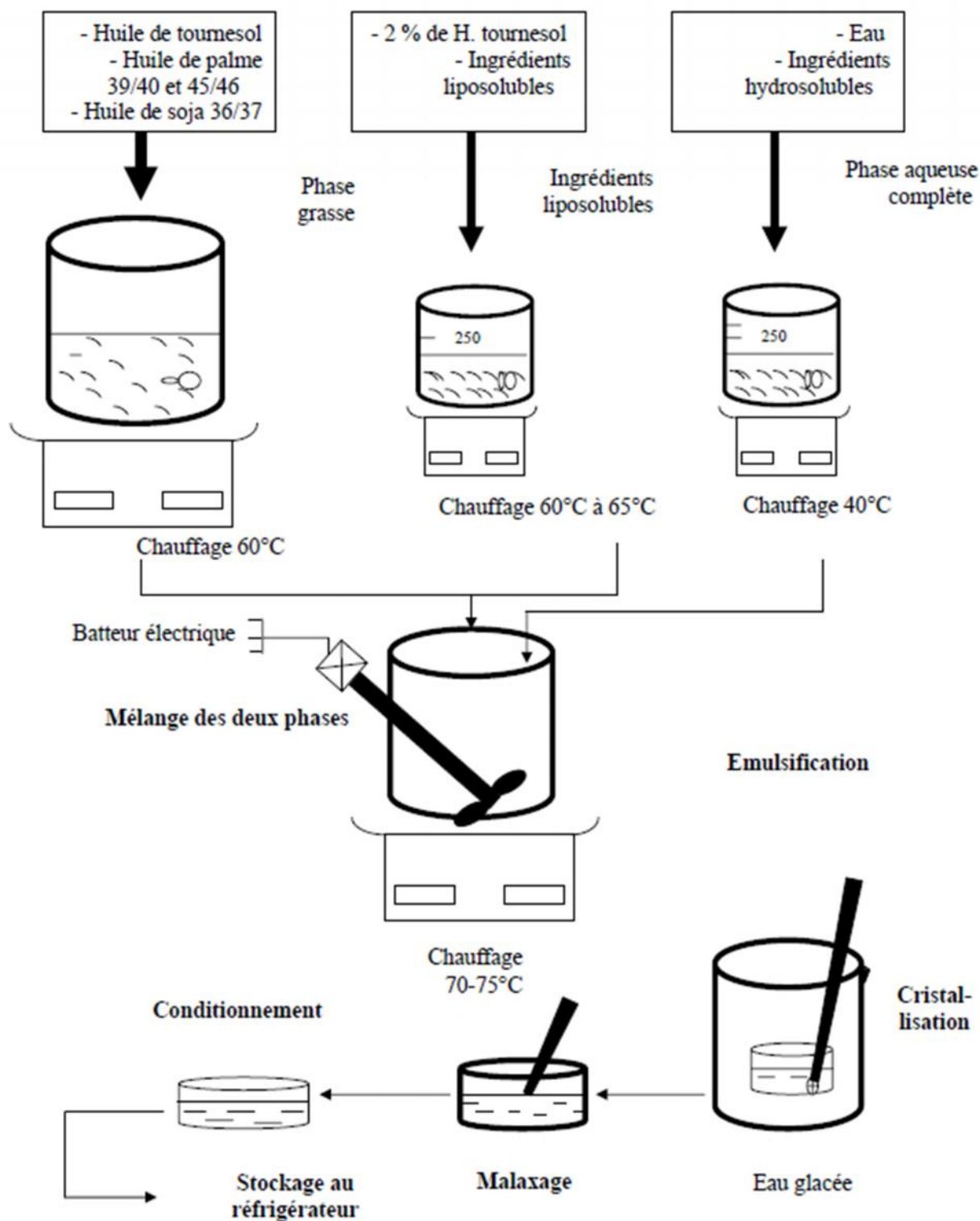
Abstract

Oil of *Cucurbita pepo* seeds was edible oil which presents a high food value, due to its wealth of fatty-acids essential, compounds phenolic, carotenoid, vitamins E and phytosterols. The objective of this study was to characterize this oil, determine its antioxidant activity and its effect on the margarine stabilized oxidative. The results show that *Cucurbita pepo* oil has a capacity of radical DPPH neutralization, where a percentage of inhibition was equal to $69.87 \pm 2.81\%$. Identification of fatty-acid from *Cucurbita pepo* oil indicates that this oil was a source of unsaturated fatty-acids, essentially linoleic acid (C18: 2) and oleic acid (C18: 1). Test of Rancimat was used to evaluate oxidative stability, where it showed that the margarine has a great oxidative stability with 150 ppm of oil *Cucurbita pepo*.

Keywords : Oil, *Cucurbita pepo*, margarine, oxydation, antioxydant.

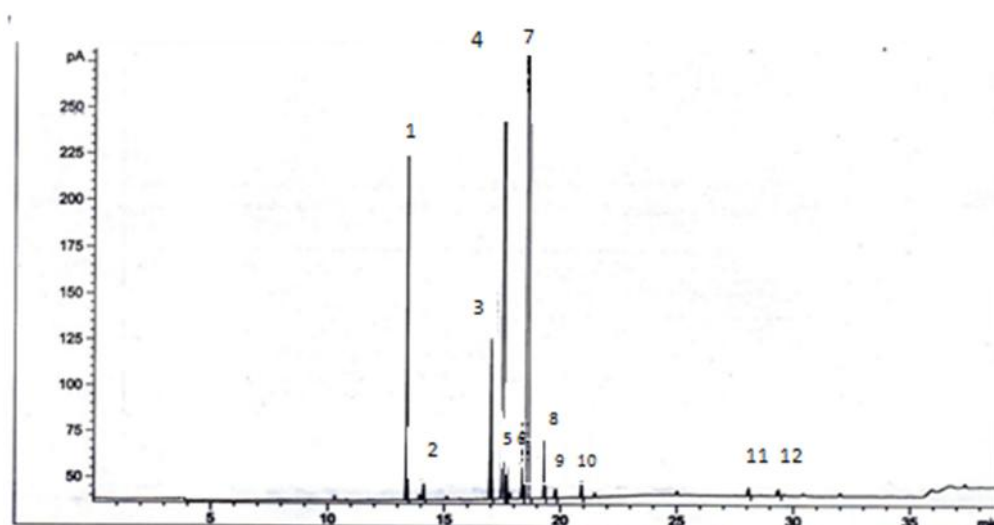
Annexes

Annexe I



Fabrication de la margarine à l'échelle laboratoire

Annexe II



Résultats de la chromatographie phase gazeuse : (1 : C16:0, acide palmitique ; 2 : C16:1, acide palmitolique ; 3 : C18:0, acide stéarique ; 4 : C18:1, acide oléique ; 5 :NI ; 6 : NI ; 7 : C18:2, acide linoléique ; 8 : C18:3, acide linolénique ; 9 : C20:0, acide arachidonique ; 10 : C20:1, acide écosanoïque ; 11 :NI ; 12 : C22:0, acide betrique)