

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

**Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane MIRA de Bejaia  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires**

# **Mémoire de Fin de Cycle**

**En Vue de l'Obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Contrôle de Qualité et  
Analyse**

## ***Thème***

---

**Extraction et caractérisation des composés phénoliques  
de *Myrtus communis L* en vue de leur incorporation  
dans la margarine**

---

**Proposé par :**

- M<sup>r</sup> BENCHEGRA Hachimi
- M<sup>r</sup> HADDAD Djamel

**Membres du jury :**

**Présidente : M<sup>me</sup> ACHAT S.**  
**Promoteur: D<sup>r</sup> MADANI K.**  
**Co-promoteur: M<sup>r</sup> DAHMOUNE F.**  
**Examinatrice: M<sup>me</sup> MEDOUNI S.**  
**Examinatrice : M<sup>me</sup> TAMENDJARI S.**

**Année : 2012-2013**

## Remerciements

*On remercie Dieu le tout puissant qui nous a donné la volonté et le courage afin de réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à notre promoteur M<sup>r</sup> MADANI K, pour nous avoir aidés et orientés, pour ses conseils et ses encouragements permanents, et d'avoir accepté d'être notre promoteur.*

*Nous remercions également :*

- *M<sup>ME</sup>. ACHAT S., Maitre assistante A à l'université A. Mira de Bejaia, de nous avoir fait l'honneur de présider ce jury ;*
- *M<sup>ME</sup>. MEDOUNI S., Maitre assistante A à l'université A. Mira de Bejaia d'avoir accepté d'examiner ce travail et être membre du jury ;*
- *M<sup>ME</sup>. TAMENDJARI S., Maitre assistante A à l'université A. Mira de Bejaia d'avoir accepté d'examiner ce travail et être membre du jury.*
- *Nous remercions la société « CEVITAL » pour nous avoir accueilli et permis l'accès à ces laboratoires de recherche et développement et d'effectuer les différents tests et analyses, et pour avoir mis à notre disposition le matériel et les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons également à remercier M<sup>r</sup> DEHMOUNE F., qui nous a aidés à réaliser notre travail.*

*Nous tenons à remercier énormément M<sup>ME</sup> BOUCHACHI S., membre de laboratoire corps gras du complexe « CEVITAL », pour avoir mis à notre disposition les moyens nécessaires pour la réalisation de la partie expérimentale.*

*Enfin, nous tenons à remercier sincèrement toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes très chers parents*

*A mon frère Rafik et sa famille*

*A mes sœurs : Linda et sa famille, Fayrous et sa famille*

*A mes cousins et cousines*

*A toute la famille HADDAD*

*A mes amis (es) : Lyes, Idir, Youcef, Hicham, Hani, Nassim, Bicou, Said, Toufik, Samia, Souad, Warda.*

*A mon collègue Benchegra hachimi, a toute la promotion CQA 2012/2013.*

*HADDAD Djamel*

## *Dédicace*

### *Je dédie ce modeste travail à :*

- *Mes très chers parents qui m'ont soutenu depuis toujours. C'est grâce à eux que je suis aujourd'hui au stade final de ma formation.*
- *Mes très chères frères et sœurs : Lamnouer et sa famille, Noureddine, Salima et sa famille, Noura et sa famille, Ghania, Sohila et sa famille, Kahina et Donia et sa famille.*
- *Ma grande famille et à toute la famille BENCHEGRA.*
- *Tous mes amis.*
- *Mon collègue HADDAD Djamel et à toute la promotion des ingénieurs contrôle de qualité et analyse 2012/2013.*

*Hachimi BENCHEGRA*

## Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**Introduction** ..... 1

### Chapitre I : Les composés phénoliques

I-1- Définition ..... 2

I-2- Classification des composés phénoliques ..... 2

I-2-1- Les acides phénoliques ..... 2

I-2-2- Flavonoïdes ..... 3

I-2-3- Les tannins ..... 3

I-3- Propriétés des polyphénols ..... 4

I-3-1- Oxydation et l'activité antioxydante ..... 4

I-3-1-1- Mécanismes d'oxydation ..... 4

I-3-1-2- Mécanisme d'action des antioxydants ..... 5

I-3-1-3- Types d'antioxydants ..... 5

I-3-1-4- Mesure de l'activité antioxydante ..... 7

### Chapitre II : Description de la plante *Myrtus communis L*

II-1- Historique ..... 8

II-2- Caractéristiques botaniques ..... 8

II-2--1- Description botanique ..... 8

II-2-2- Classification ..... 9

II-2-3- Répartition géographique ..... 9

II-2-4- Utilisation et intérêt biologique ..... 9

**Chapitre III : Margarine**

III-1- Définition.....	10
III-2- Composition globale de margarine.....	10
III-3- Types de margarines.....	10
III-3-1- Margarines de tables.....	11
III-3-2- Margarine sous forme liquide .....	12
III-4- Schéma générale de fabrication de la margarine (Karleskind, 1992).....	13
III-4-1- La phase grasse.....	15
III-4-2- La phase aqueuse.....	16

**ChapitreIV : Matériels et méthodes**

IV-1- Préparation de l'échantillon.....	19
IV-2- Taux d'humidité .....	19
IV-3- Méthodes d'extractions des composés phénoliques.....	19
IV-3-1-Extraction conventionnelle .....	19
IV-3-2-Extractions par solvant assistée par micro-onde .....	20
IV-3-3-Extractions par solvant assistée par ultrason .....	20
IV-4- Analyses phytochimiques des extraits.....	20
IV-4-1- Dosage des phénols totaux.....	20
IV-4-2-Dosage des flavonoïdes.....	21
IV-4-3-Dosage des tannins condensés .....	21
IV-5- Evaluation de l'activité antioxydant.....	22
IV-5-1-Mesure de pouvoir de piégeage du radical DPPH .....	22
IV-6- Elaboration et caractérisation d'une margarine de table .....	22
IV-6-1- Formulation.....	22
IV-6-2- Analyse de margarine.....	25
IV-6-2-1- Détermination du taux de solide par SFC (Solid Fat Content) (wolf, 1968).....	25

IV-6-2-2- Test d'oxydation accéléré ou détermination de la stabilité à l'oxydation ou encore test au rancimat (ISO 6886, 2006). .....	26
IV-6-2-3- Analyse physico-chimique.....	28
IV-7- Analyse statistique.....	31

## **Chapitre V: Résultats et discussions**

V-1- Taux d'humidité.....	32
V-2- Extraction des composés phénoliques .....	32
V-3- Analyses phytochimiques .....	33
V-3-1- Dosages des polyphénols totaux.....	33
V-3-2-Dosage des flavonoïdes .....	34
V-3-3-Dosage des tannins.....	35
V-4- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits .....	36
V-4-1-Mesure de pouvoir de piégeage du radical DPPH.....	36
V-5- Elaboration et caractérisation d'une margarine enrichie en extrait de myrte .....	37
V-5-1- Elaboration de la margarine enrichie.....	37
V-5-2- Caractérisation de la margarine enrichie .....	37
V-5-2-1- Caractéristique physique .....	37
V-5-2-2- Caractéristique physico-chimique.....	39
V-5-2- 3- Test d'oxydation accéléré ou test de rancimat.....	39
<b>Conclusion</b> .....	42

## **Références bibliographiques**

## **Annexe**

**Liste des Figures**

Figure 1 :Exemples de dérivés de l'acide hydroxybenzoïque .....	2
Figure 2 :Quelques exemples des flavonoïdes .....	3
Figure 3 :Exemple d'un tannin hydrolysable (Pentagalloyglucose).....	4
Figure 4 :Photo duMyrtuscommunisL.....	8
Figure 5 : Les différentes étapes de production de la margarine.....	14
Figure 6 :Feuilles et poudre dumyrte (myrtuscommunis L).....	19
Figure 7 : Diagramme de fabrication de la margarine au laboratoire.....	24
Figure 8 :Spectromètre à résonance magnétique nucléaire (RMN) basse résolution type (minispecmq 20, Germany) .....	25
Figure 9 :Représentation schématique de l'appareillage du test de Rancimat .....	27
Figure10 :Représentation en secteur du taux d'humidité et de matière sèche .....	32
Figure11 :Teneurs et vitesse d'extraction de polyphénols totaux de différentes techniques d'extractions .....	33
Figure 12 :Teneurs et vitesses d'extraction des flavonoïdes .....	34
Figure13 :Teneurs et vitesses d'extraction des tannins .....	35
Figure 14 :Les pourcentages d'inhibition du radical DPPH des extraits de myrte .....	36
Figure 15 :Evolution de la SFC en fonction de la température .....	38
Figure 16 :Temps d'induction exprimé en heurs.....	40

## Liste des tableaux

Tableau V-1 : Recette de la margarine enrichie en extrait de myrte. .... 39

Tableau V-2: Indice SFC de la margarine témoin et celle enrichie en extrait de myrte. ....40

Tableau V-3 : Caractéristiques physico-chimiques de la margarine élaborée. ....41

## *Liste des abréviations*

**Abs<sub>éch</sub>** : Absorbance de l'échantillon.

**Abs<sub>blanc</sub>** : Absorbance de **blanc**.

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**BHA** : Butyl-hydroxy-anisole.

**BHT** : Butyl-hydroxy-toluène.

**Ca** : Calcium.

**CV** : Conventionnelle.

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl.

**EAG** : Equivalant d'acide gallique.

**EAT** : Equivalant d'acide tannique.

**EAM** : Extraction Assisté par Micro-onde.

**EQ** : Equivalant de quercétine.

**I(%)** : pourcentage d'Inhibition.

**ISO** : Organisation internationale de normalisation.

**K** : potassium.

**M<sub>1</sub>** : Margarine enrichie.

**min** : Minute.

**MO** : Micro-onde

**MS** : Matière Sèche.

**M<sub>t</sub>** : Margarine témoin.

**Na** : Sodium.

**PG : Gallate Propylée.**

**PI : Période d'Inhibition.**

**PPM : Particule Par Million.**

**RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.**

**SFC : Solid Fat Content.**

**TBHQ : Tetra-butylhydroquinone.**

**US : Ultrason.**

# *Introduction*

## **Introduction**

Depuis longtemps, l'être humain utilise les plantes aromatiques dans de nombreux domaines incluant par exemple la nutrition, la médecine et les boissons.

Les plantes alimentaires ou médicinales représentent une nouvelle source de composés actifs, en effet les métabolites secondaires restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* et *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tel que les composés phénoliques qui peuvent être utilisées en thérapeutique comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et antiradicalaires.

C'est pourquoi nous sommes intéressés à faire une étude phytochimique des extraits phénoliques du *Myrtus communis L* poussant à l'état spontané dans la région de Bejaia.

La caractérisation de l'extrait de Myrte a révélé une richesse en antioxydants naturels : polyphénols, tannins et flavonoïdes. Ceci nous a conduits à la valorisation de l'extrait par incorporation dans une recette de margarine.

La margarine est une émulsion plastique initialement formulée pour remplacer et suppléer le beurre trop cher et périssable. Sous sa forme standard, elle est constituée de deux phases essentielles grasse et aqueuse et contient, en outre, 2 % d'auxiliaires de fabrication, pour la plus part, d'origine synthétique. Dans sa conception initiale, la margarine est dépourvue de vitamine de groupe B (vitamine hydrosoluble) et de minéraux, et par sa composition, elle peut subir des détériorations dont la plus importante est l'oxydation.

Le but de cette étude est la valorisation des extraits de myrte, comme additif alimentaire naturel dans la margarine en substituant aux additifs synthétiques utilisés couramment ( $\alpha$ -tocophérol). Ainsi, cette étude s'attellera en premier lieu à étudier les dosages et caractéristiques antioxydantes de l'extrait de myrte obtenus par les techniques : microonde, conventionnelle et ultrason. En second lieu sur son incorporation dans une margarine de table fabriquée par le complexe agro-alimentaire Cévital de la wilaya de Béjaia.

# *Partie théorique*

# *Chapitre I*

## *Les composés phénoliques*

### I-1- Définition

Les polyphénols naturels sont des métabolites secondaires, ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités principales de l'organisme végétal (**Gugnard, 2000**). Les polyphénols sont des composés organiques qui possèdent un ou plusieurs noyaux aromatiques, auxquels sont attachés un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Bruneton, 1993**).

### I-2- Classification des composés phénoliques

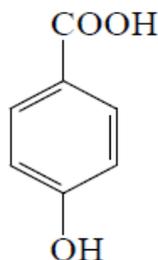
Il existe environ 8000 composés phénoliques, allant de molécules à bas poids moléculaire à d'autres hautement polymérisés. Ils peuvent être liés à un ou plusieurs résidus sucrés ou ils peuvent être liés avec d'autres composés chimiques, tel que les acides carboxyliques, les amines ou les lipides (**Mratin et Andriantsitohaina, 2002**).

#### I-2-1- Les acides phénoliques

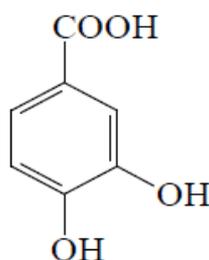
Les acides phénoliques englobent les dérivés de l'acide benzoïque, dont l'acide gallique est le représentant principal (constitués d'un squelette à sept carbones) suivis des dérivés d'esters hydroxycinamiques (constitués d'une structure de type C6-C3) (**Barboni, 2006**).

##### a- Les acides benzoïques

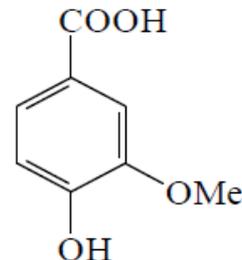
Les acides benzoïques présentent un aspect squelettique à sept atomes de carbones. Ils sont représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, acides galliques, acides vanilliques, acides syringiques, acides salicyliques, acides protocatéchiques, et les acides gentisiques (**Ribereau-Gayon, 1968**). Ils peuvent être combinés aux sucres ou aux acides organiques par des combinaisons généralement de type ester, dont ils sont libérés par hydrolyse alcaline (**Ribereau-Gayon, 1972**).



Acide p-hydroxybenzoïque



Acide protocatéchique



Acide vanillique

**Figure 1** : Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque

### b- Les acides cinnamiques

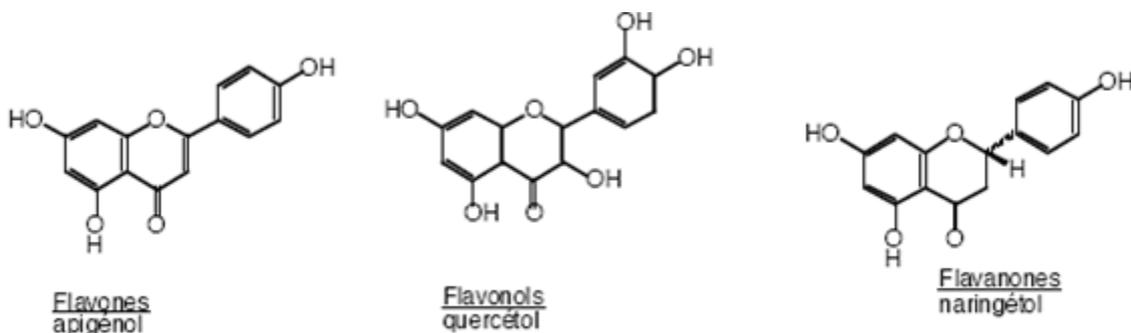
Sont des acides à structure de type C6-C3. Les composés les plus fréquents soient l'acide p-coumarique, l'acide caféique et l'acide fertarique (**Ribereau, 1968**).

### I-2-2- Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de coloration jaune, orange et rouge de différents organes de végétaux. Ils sont rencontrés dans les fruits, légumes, les boissons (vin rouge, thé, café) et plusieurs plantes médicinales (**Ghedira, 2005**).

caractérisés par la présence du noyau flavon, les flavonoïdes sont des composés à deux cycles benzoïques reliés par un cycle pyrone (oxygène contenu au niveau d'une pyranne) (**Rice-Evans et al., 1996 Hakkinen, 2000**).

A l'état naturel, les flavonoïdes se trouvent généralement sous forme de glycosides. L'aglycone est cependant la partie non sucre. L'ensemble des flavonols, flavones, flavanones, isoflavones et des anthocianes constituent la grande famille des flavonoïdes.



**Figure 2** : Quelques exemples de flavonoïdes.

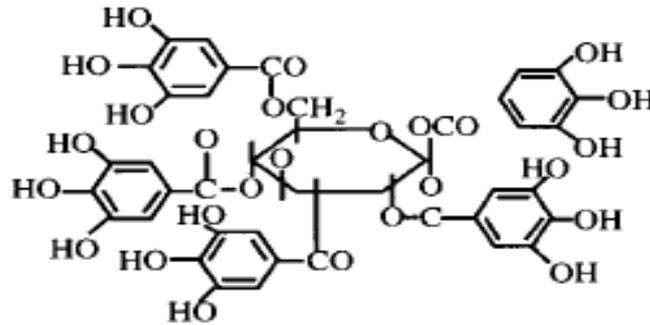
### I-2-3- Les tannins

Les tannins sont des polyphénols constituants d'organes végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits. Ils sont caractérisés par leurs poids moléculaire élevé, leurs capacité à s'associer aux glucides, aux protéines, et aux enzymes digestives des complexes insolubles réduisant ainsi la digestibilité des aliments (**Remesy et al., 1996 ; Bruneton, 1999**).

Selon la structure des molécules, les tannins se subdivisent en hydrolysables et en condensés :

### a- Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables sont des esters de glucides et d'acides phénoliques, ou de leurs dérivés. Les molécules glucidiques sont en général du glucose, mais dans certains cas ils peuvent se présenter en tant que polysaccharides (**Ribéreau-Gayon, 1968**).



**Figure 3 :** Exemple d'un tannin hydrolysable (Pentagalloylglucose) **Cowan (1999)**.

### b- Tannins condensés

Les tanins condensés, appelés aussi procyanidines ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans les tissus végétaux. Ce sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation des unités de flavan-3-4-diol liées par des liaisons C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> (**Gurgnard, 2000**).

## I-3- Propriétés des polyphénols

### I-3-1- Oxydation et activité antioxydante

Les propriétés des antioxydants découlent de la présence des noyaux aromatiques, à doubles liaisons conjuguées et les groupements hydroxyles permettant le piégeage des radicaux libres (**Knert et al., 2002**). Ils permettent de maintenir la qualité du produit et d'augmenter la durée de conservation de ce dernier. Ils peuvent retarder la peroxydation des lipides et de minimiser efficacement les rancissements. L'antioxydant naturel doit être efficace à faible dose, non toxique, soluble dans les graisses et stable dans le produit fini (**Poknory et al., 2001**).

#### I-3-1-1- Mécanismes d'oxydation

L'oxydation des lipides peut se faire par plusieurs voies :

- La photo-oxydation initiée par la lumière.
- L'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques et les radicaux libres.

- L'oxydation enzymatique initiée par la lipoxygénase.

#### **a- Auto-oxydation**

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Une réaction est dite d'initiation est celle produisant un radical libre par élimination d'hydrogène de l'acide gras, les réactions s'enchainent ensuite pour produire plusieurs radicaux libres, ces par combinaison entre eux, forment des composés non radicalaires.

#### **b- Photo-oxydation**

La photo-oxydation produit des hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photo sensibilisateurs (**Hultin, 1992**).

#### **c- Voie enzymatique**

La lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé qui aboutit à la formation d'hydroperoxyde. Elle agit sur les acides gras non estérifiés. Son activité est souvent couplée avec celle des lipases et des phospholipases (**Eymard, 2003**).

### **I-3-1-2- Mécanisme d'action des antioxydants**

D'une manière générale, en s'oxydant lui-même plus rapidement qu'un autre, un antioxydant pourra empêcher l'oxydation d'un autre substrat. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atomes d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques, cas des dérivés du phénol. Les antioxydants interviennent en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un autre acide gras (**Berset et Cervelier, 1996**).

### **I-3-1-3- Types d'antioxydants**

Les antioxydants sont classés soit en fonction de leurs origine, ce qui donne les naturels ou les synthétiques, si non selon leurs mode d'action en primaires ou en secondaires.

#### **a- Antioxydants synthétiques**

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluene (BHT), la gallate propylée (PG) et le tetra-butylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés pour leurs efficacités et leurs couts réduits, comparés aux antioxydants naturels. Cependant, leurs sécurités est très discutée en ce qui concerne leurs substitution aux antioxydants naturelles, en particulier ceux utilisés dans la nourriture (**Lisu et al., 2003**).

**b- Antioxydants naturels**

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydantes in vivo. Tout en incluant le bêta carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E, etc.

Ils peuvent stabiliser les membranes en diminuant leurs perméabilité, elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (**Svoboda et Hampson, 1999**).

**c- Antioxydants synergistes**

Ce sont des substances qui ne sont guère actives en tant qu'antioxydants, et dont les propriétés apparaissent surtout en présence d'autres antioxydants. Il en est ainsi des lécithines, des acides citrique et tartrique, des acides aminés (lysine et arginine) de certains flavonoïdes. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux dont le fer et le cuivre aux effets pro-oxydants à faibles doses. Certains produits ont un effet inhibiteur de la décomposition des hydroperoxydes, et d'autres semblent régénérer des antioxydants, comme les tocophérols ou les dérivés de l'acide ascorbique à partir de leurs formes oxydées (**Morelle, 1988**).

**d- Antioxydants primaires**

Ils englobent les composés qui interfèrent avec l'oxydation lipidique tout en convertissant les produits d'oxydation de ces derniers ( $L\cdot$ ,  $LOO\cdot$ ,  $LO\cdot$ ) en produits plus stables (LH, LOOH, LOH) cette démarche est assurée grâce à leurs propriété de donneurs de protons actifs. Le radical ( $A\cdot$ ) dérivé de l'antioxydant se convertit en produit stable (**Kim et Lee, 2004**).

**e- Antioxydants secondaires**

**Gordon** en (1990) avant cité que les antioxydants secondaires sont des composés qui retardent l'oxydation lipidique selon différents modes d'action :

- Absorption des radiations ultraviolettes ;
- Inactivation de l'oxygène singlet ;
- Chélation des métaux ;
- Décomposition des hydroperoxydes.

**I-3-1-4- Mesure de l'activité antioxydante**

Les principaux métaux de transition, présent au sein des tissus biologiques étant le fer (Fe) et le cuivre (Cu). Ces derniers provoquent l'oxydation enzymatique et la non enzymatique des lipides. Les méthodes retenues pour l'évaluation de l'activité antioxydante sont nombreuses dont la mesure du pouvoir réducteur et du pouvoir chélateur des métaux (**Hazzit, 2008**).

## *Chapitre II*

### *Description de la plante*

*(Myrtus communis L)*

## II-1- Historique

Le myrte commun (*Myrtus communis* L), plante annuelle couvrant plusieurs aires des forêts et maquis méditerranéens, cet arbuste est très utilisé pour ses vertus médicinales et culinaires. Dans la médecine traditionnelle, les feuilles et les fruits ont été utilisés comme agent antiseptique et pour la cicatrisation des plaies ainsi que dans le traitement des maladies urinaires (Baytop, 1999).

## II-2- Caractéristiques botaniques

### II-2-1- Description botanique

Le myrte est un arbuste buissonnant (moyennement dense) répandu sur tout le littoral méditerranéen, dans les bois et sur les coteaux. Les tiges sont recouvertes d'une écorce rousse, les feuilles sont persistantes (annuelles), coriaces et ovales. Les fleurs sont blanches et odorantes (spécifiques et retenus pour la reconnaissance de la plante), les fruits sont de forme ovoïdale, charnu, noir bleuâtre à maturité. On trouve le myrte dans toute l'Europe méridionale, dans le sud et l'ouest de l'Asie et en Afrique du nord (Quezel et Santa, 1963; Barboni, 2006).



**Figure 4 :** *Myrtus communis* L.

### II-2-2- Classification

Le myrte commun appartient à la famille des myrtacées. Cette dernière regroupe environ 3800 espèces répartie en 133 genres (**Oldrich et al., 2005**). Selon **Greté, (1965)** l'identité taxonomique du *Myrtus communis L* est la suivante :

<u>Règne</u>	: <i>Plantae</i>
<u>Embranchement</u>	: <i>Spermaphytæ</i>
<u>Classe</u>	: <i>Dicotylédonæ</i>
<u>Ordre</u>	: <i>Myrtales</i>
<u>Famille</u>	: <i>Myrtaceæ</i>
<u>Genre</u>	: <i>Myrtus</i>
<u>Espèce</u>	: <i>Myrtus communis L</i>

### II-2-3- Répartition géographique

Le myrte (*myrtus comminus L*) est une plante méditerranéenne, un arbrisseau annuel qui résiste bien à la sécheresse. C'est une plante qui pousse dans les forêts du pin et dans les régions situées à 600 mètres d'altitude (**Cevat et Musa, 2007**), les zones ayant un développement très considérable en matière de cette espèce sont l'Europe méridionale, les pays du nord de l'Afrique et dans le sud et le sud-ouest de l'Asie.

### II-3- Utilisation et intérêt biologique

Les feuilles de myrte sont utilisées dans la médecine traditionnelle comme infusion pour lutter contre les inflammations de la gorge et les douleurs abdominales. Ses fruits sont aussi utilisés comme remède (**Baba-aissa, 1991**). Le myrte est considéré comme élément préventif contre les maladies liées au stress oxydatif pour sa richesse en composés phénoliques et en huiles essentielles (**Christian et al, 2005**).

Il est recommandé aussi d'utiliser les écorces des tiges fines et les jeunes feuilles en tant que agents antiseptique et pour la cicatrisation, le myrte est utilisé aussi en cas des soins contre les maladies urinaires (**Baytop, 1999**).

# *Chapitre III*

## *Margarine*

### III-1- Définition

La margarine est une émulsion composée d'une phase grasse la plus importante (82-84 %) et d'une phase aqueuse contenant de l'eau et/ou du lait (16-18 %), le tout additionné de quelques constituants dits mineurs mais dont l'influence est considérable.

C'est une émulsion du type eau dans l'huile, tel que la phase grasse constitue la phase continue, et la phase aqueuse constitue la phase dispersée (**Faur, 1988**).

La margarine est donc un système poly-dispersé de corps gras à l'état solide et à l'état liquide, d'eau et/ou de lait, d'ingrédients et quelque fois de bulles de gaz (**Faur, 1992**).

Selon l'utilisation prévue, deux débouchés sont possibles :

- Milieu professionnel : boulangerie, pâtisserie, industrie biscuitière
- Consommateurs : vente linéaires (**Cossut et al., 2002**).

### III-2- Composition globale de margarine

En général, toutes les margarines ont une composition globale identique, dont une phase grasse constitue de lipides représentant de 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 facultatifs (**Karleskind, 1992**).

### III-3- Types de margarines

Il est difficile de donner une composition même typique des margarines tant celle-ci peuvent varier en fonction des utilisations, des saisons, de régions. Du point de vue commercial, on peut distinguer plusieurs types de margarines (**Karleskind, 1992**).

**III-3-1- Margarines de tables**

Elles sont destinées aux emplois ménagers et culinaires, dont :

**a- Margarine de table tartinable**

Elles ont un apport élevé en acides gras polyinsaturés principalement, linoléique de 20 à 30 %, 25 à 40 % d'acides mono-insaturés, 10 à 30 % d'acides gras saturés, 15 à 30 % d'acides trans. Le rapport polyinsaturés /saturés est de 0,3 à 0,7.

**b- Margarine de table végétale**

Elles contiennent de 6 à 12 % d'acides gras polyinsaturés, 25 à 55 % d'acides mono-insaturés, 10 à 30 % d'acides gras à chaînes courtes et moyenne, 35 à 75 % d'acides saturés et jusqu'à 51 % d'acides trans.

**c- Margarine de table courante**

Elles sont assez voisines des précédentes, mais s'en différencient par le fait qu'elles peuvent contenir une certaines proportions de l'huiles et de graisses d'origine animale ou marine. De ce fait, ces margarines contiennent une certaine quantité de cholestérol, de l'ordre de 0,1 à 0,2 %, que les deux catégories précédentes n'en contiennent pas ou juste des traces inévitables.

**d- Margarine douce battue**

Contenant jusqu'à 50 % d'air injecté, disponible aux Etats-Unis sous forme de six paquets d'une livre chacun et emballée dans du papier aluminium, et enveloppé dans un carton d'aluminium laminé (**Anonyme**).

**e- Minarines**

Que ne sont pas réglementées par la norme relative aux margarines ordinaires ou diététiques, contient entre 72 % et 52,5 % de matières grasses,

se vendent en forme de paquets ou de paquettes. Le paquet est emballé et cartonné tout comme la margarine ordinaire.

### **III-3-2- Margarine sous forme liquide**

Contenant 80 % de matières grasses, vendue dans des tubes en plastiques d'une livre.

#### **a- Margarine diététiques ou spéciales (basses calories)**

Elles sont spécialement fabriquées pour certains emplois particuliers : «sportifs, enfants, vieillards, amaigrissants etc...».

#### **b- Margarines enrichies en phytostérols**

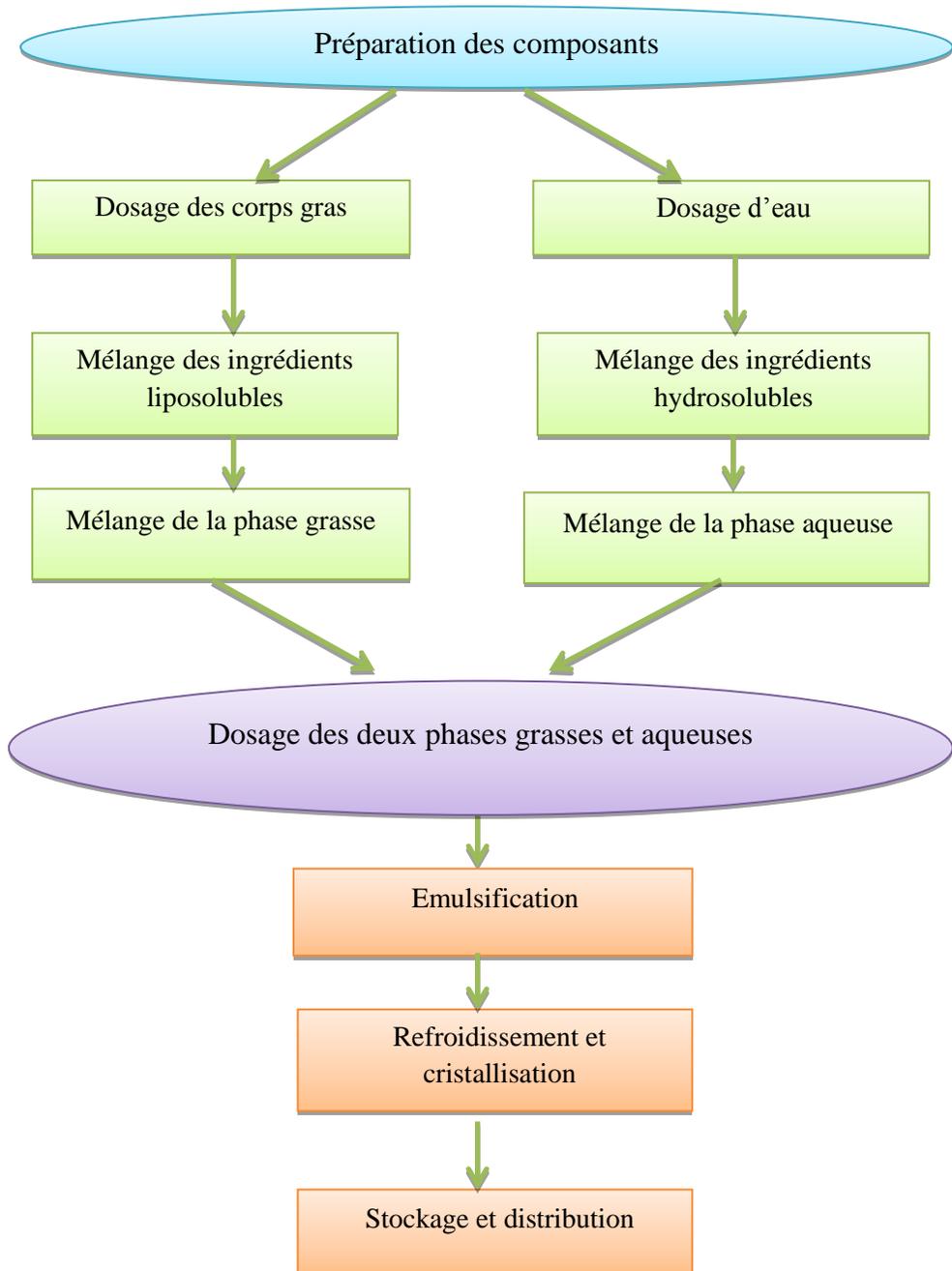
Fruit d'or a été le premier producteur à lancer sa margarine "santé". C'est la fameuse Pro.activ : 20 g par jour (environ 4 tartines) permettraient de réduire de 15 à 20 % le taux de mauvais cholestérol (correspondant une réduction de plus de 40 % des risques cardiovasculaires). Et cela sans modifier le taux de bon cholestérol. Un enrichissement en certaines composées, les phytostérols (stérols d'origine végétale). Or la force de Pro-activ est d'avoir enrichi sa margarine pour arriver à 8 % de phytostérols. Et ses qualités ont été démontrées par de nombreuses études scientifiques (**Miettinen *et al.*, 1995 ; Ayesl *et al.*, 1999 ; Serfaty-Lacrosniere *et al.*, 2001 ; Mussner *et al.*, 2002 ; Vogt *et al.*, 2004 ; Ho, 2005 ; Girardet, 2006**). Ce produit est destiné aux gens souffrant d'hypercholestérolémie.

**III-4- Schéma générale de fabrication de la margarine**

La fabrication de la margarine est une technologie connue et maîtrisée. Elle comprend les phases suivantes :

- La phase grasse : huile et grasses telles qu'elles raffinées et/ou modifiées par hydrogénation, interestérification ou fractionnement, lécithine, mono-glycérides et colorants ;
- La phase aqueuse : eau, lait, sel, sucre, arômes, conservateurs, correcteur de pH ;
- Emulsion : qui est le mélange de ses deux phases ;
- Refroidissement, cristallisation, malaxage de l'émulsion pour avoir les caractéristiques espérées et la stabilité désirée ;
- Conditionnement du produit (emballage).

La composition et les propriétés des matières grasses ainsi que les conditions de fabrications jouent un rôle important pour obtenir les caractéristiques des margarines souhaitées (**Karleskind, 1992**).



**Figure 5 : Les différentes étapes de production de la margarine (Karleskind, 1992).**

### **III-4-1- La phase grasse**

La phase grasse est la partie la plus importante de l'émulsion, elle est de 82 à 84 % dans les margarines traditionnelles. Elle est constituée par un mélange d'huiles raffinées et d'huiles concrètes d'origine végétales, animales et/ou marines selon les performances souhaité par la production, c'est-à-dire que le choix des huiles de cette phase détermine en grande partie, la qualité des produits fini, notamment : la texture, la consistance, point de fusion et la stabilité vis-à-vis de l'oxygène.

#### **a- Additifs liposolubles (Karleskind, 1992).**

Ce sont des émulsifiants, colorants, vitamines et aromes

#### **✓ Les émulsifiants**

Ce sont des composés ayant des propriétés tensioactives, dues à leur caractère amphiphatique : leurs structures chimiques étant composés à la fois de groupes hydrophiles et lipophiles et de ce fait pouvant se dissoudre dans les deux phases, permettant leur union sous forme d'émulsion homogène. Ces corps sont caractérisés par leur équilibre hydrophile-lipophile. Les émulsifiant utilisés dans la margarine sont les mono et diglycérides et la lécithine.

#### **✓ Les agents colorants**

La couleur de la margarine doit être assez voisine de celle du beurre, elle est obtenue soit par addition de l'huile de palme rouge riche en caroténoïdes, soit de  $\beta$ -carotène de synthèse (Luterotti *et al.*, 2006).

#### **✓ Les aromes**

Les margarines sont souvent aromatisées par le diacétyle arôme naturel du beurre ou le butane Dione 1-3. On utilise une solution dans l'huile à 4 %.

Au-delà d'une certaine limite le gout n'est pas agréable et jugé comme artificiel.

#### ✓ **Les vitamines liposolubles**

Afin de réduire les risques de carence en vitamine A du fait de remplacement du beurre par la margarine, certains pays européens avaient depuis longtemps invités les fabricants de margarine à introduire 20 à 30 UI de vitamine A dans leurs produits.

#### **III-4-2- La phase aqueuse**

Cette phase est représentée environ de 16 à 18 % de la composition globale de la margarine.

Elle est constituée soit d'eau soit de lait, soit d'un mélange eau /lait. Elle est la plus sensible des constituants de la margarine, à des contaminants microbiens, et nécessite donc une pasteurisation préalable.

##### **a- L'eau**

L'eau utilisée doit répondre aux critères de potabilité, elle doit subir un adoucissement pour éliminer les ions métalliques catalyseurs d'oxydation et les substances toxiques et une pasteurisation pour éliminer les microorganismes.

##### **b- Le lait**

Le lait est à la fois une solution, une suspension et une émulsion. Les sels minéraux et le lactose sont en solution, les matières azotées en suspension et les matières grasses en émulsion. On utilise généralement le lait écrémé, le lait reconstitué, ou un mélange de ces deux derniers. Avant utilisation le lait doit subir une fermentation pour produire le diacétyle suivi d'une pasteurisation.

**c- Les additifs hydrosolubles (Karleskind, 1992).****✓ Le sel**

Il est en premier lieu ajouté pour améliorer la sapidité, mais il peut jouer un rôle protecteur "bactériostatique". Les teneurs peuvent varier de 0,1 à 1 et même 2 %. Le sel utilisé doit être de qualité alimentaire, pratiquement anhydre, neutre ou faiblement alcalin avec absence de sels de Mg, de Fe et d'ions  $\text{SO}_2$  qui accélèrent l'oxydation des graisses. En solution dans l'eau il doit donner une solution saumure limpide et claire.

**✓ Les conservateurs**

Outre le sel de table (NaCl), l'addition de l'acide sorbique (E200) ainsi que celle de ses sels de sodium (E201), de potassium (E202) et de calcium (E203) isolément ou ensemble dans une proportion pondérale de 2 g par Kilogramme de produit fini. Emploi autorisé si le pH de la phase aqueuse est inférieure à 5,5. L'acide sorbique est un acide faible, avec ses sels, il présente un bon effet fongicide dont l'action inhibitrice est fonction de la concentration en acide non dissous, elle augmente quand le pH diminue.

**✓ Les correcteurs de pH**

L'acide citrique, lactique et leurs sels de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  et  $\text{Ca}^+$  sont autorisés. L'acide citrique est autorisé à la dose maximale de 1g par Kg de produit fini. Au niveau des corps gras c'est un antioxydant synergiste puissant. En général on fixe le pH entre 4 et 5,5.

**✓ Les antioxygènes**

On peut ajouter des tocophérols (extrait naturels) via la phase grasse, qui ont pour rôle d'éviter l'oxydation des huiles en retardant l'apparition du rancissement.

✓ **Les révélateurs**

L'amidon en tant que révélateur à une dose de 0,2 % permet de différencier la margarine du beurre, quoiqu'il existe actuellement autres moyens de les distinguer.

✓ **Le sucre**

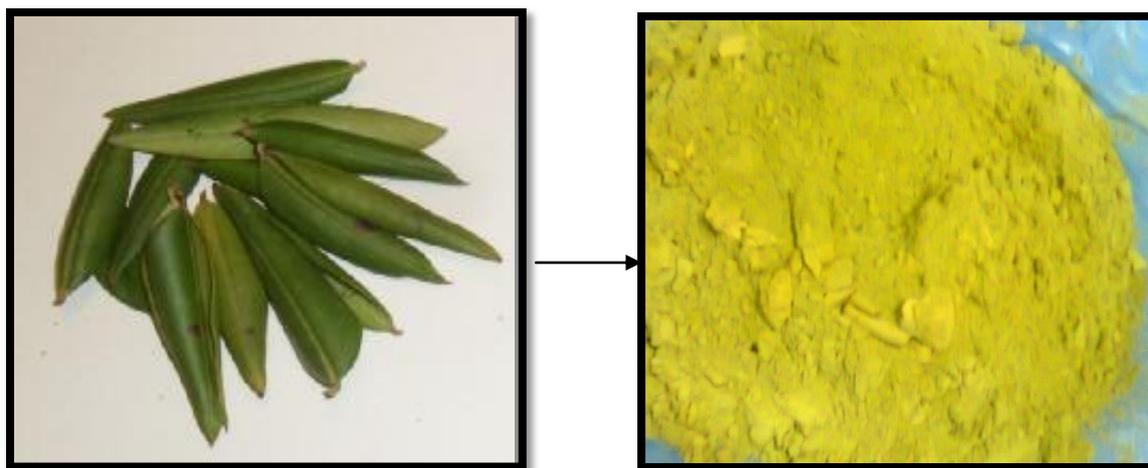
Le sucre augmente les qualités organoleptiques, et donne la douceur aux margarines, il est utilisé dans les margarines de tables à raison de 0,2 à 0,3 %.

*Partie pratique*

*Chapitre IV*  
*Matériels et méthodes*

### IV-1- Préparation de l'échantillon

Les feuilles de *myrtus communis L* appelée localement «Chilmun» et en arabe «Rihane», sont récoltées en février 2013 dans la région de Oued Ghir, Wilaya de Bejaia. La plante a subi un traitement préliminaire : broyage, tamisage et séparation en fonctions de différentes granulométries. Une fraction a été principalement utilisée dans nos études : particulière de taille inférieures à 125  $\mu\text{m}$ .



**Figure 6** : Photographies des Feuilles et poudre du myrte (*Myrtus communis L*).

### IV-2- Taux d'humidité

L'humidité de la poudre utilisée est mesurée par un dessiccateur RADWAG (Modèle Mac 50/NP). Un échantillon de 1 g est porté à une température de 120°C pendant 5 min et 10 sec.

### IV-3- Méthodes d'extractions des composés phénoliques

#### IV-3-1- Extraction conventionnelle

L'éthanol à 50 % a été utilisé en tant que solvant d'extraction. Dans un bécher, 1 g de poudre de myrte est mis dans 50 ml de cette solution, le mélange est incubé et agité pendant 2 heures à la température ambiante. Le mélange est filtré à l'aide d'un dispositif sous vide. La méthode utilisée a été optimisée au niveau de laboratoire par utilisation des plans d'expérience.

### IV-3-2- Extraction par solvant assistée par micro-onde

Dans un ballon, 1 g de poudre de myrte est mélangé avec un volume de 32 ml de solution éthanolique (42,19 %). Le mélange est exposé aux radiations microondes pendant 62 secondes à une puissance de 500 watts (W). Après filtration, la poudre est récupérée pour une deuxième extraction avec 20 ml de solvant dans les mêmes conditions. La méthode utilisée a été optimisée au niveau de laboratoire par utilisation des plans d'expérience.

### III-3-3- Extraction par solvant assistée par ultrason (EAU)

L'extraction par ultrason est une méthode simple et convenable. Dans cette étude, EAU a été utilisée pour extraire les polyphénols de myrte, dans un bécher, on mélange 1g de poudre de l'échantillon avec un volume de 50 ml de la solution éthanolique (39,99 % dans l'eau distillée). Le mélange est irradié par les ondes acoustiques (mécaniques) pendant 14,52 minutes à une amplitude de 26,66 %. La méthode utilisée a été optimisée au niveau de laboratoire par utilisation des plans d'expérience.

Le rendement et la vitesse d'extraction des polyphénols, flavonoïdes et tannins est calculé pour chaque technique d'extraction.

## IV-4- Analyses phytochimiques des extraits

### IV-4-1- Dosage des phénols totaux

Le réactif de folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu tungstène et de molybdène (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits obtenus (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Les polyphénols totaux des extraits ont été déterminés par utilisation de la méthode de Follin-Ciocalteu, l'acide gallique a été utilisé comme standard (**Singleton-Rossi, 1965**).

- **Mode opératoire**

Un volume de 200 µl de l'extrait éthanolique est mélangé avec 1 ml de réactif de Folin-ciocalteu dilué à 1/10. Après 1 minute d'agitation, 0,8 ml de carbonate de sodium à 7,5 % est additionné. Le mélange est incubé à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est lue à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (SpectroScan UV Visible). La concentration en composés phénoliques totaux est exprimée en mg équivalent de l'acide gallique par g (mg EAG/g) en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique [annexe 1].

#### IV-4-2- Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes contiennent des groupements hydroxyde (OH) libres. Ces derniers forment des complexes qui donnent une couleur jaunâtre par chélation des métaux (**Ribereau-Gayon, 1968**). La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de **Huang et al., (2004)** avec le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>).

- **Mode opératoire**

Un volume de 1.5 ml d'extrait est mélangé avec 1.5 ml de la solution méthanolique de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 2 %. Après 10 minutes d'incubation à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche, en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine [annexe 2].

#### IV-4-3- Dosage des tannins condensés

Les tannins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide (**Price et al., 1978**). Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tannins condensés en présence de l'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm.

- **Mode opératoire**

Un volume de 1 ml de l'extrait est ajouté à 5 ml du réactif Hcl-Vanilline (2 g de vanilline dans 100 ml + 8 ml de Hcl ajusté à 100 ml). Le mélange obtenu est laissé réagir à l'obscurité et à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 500 nm. La

concentration en tannins condensés est exprimée en mg équivalent de catéchine par g de matière sèche [annexe 3].

#### IV-5- Evaluation de l'activité antioxydant

##### IV-5-1- Mesure de pouvoir de piégeage du radical DPPH

Le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre, il se caractérise par une coloration violette en état oxydé et une coloration jaune en état réduit (Parejo *et al.*, 2004). En présence de composés antiradicalaire, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 515 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'extrait.

- **Mode opératoire**

Un volume de 0,5 ml de de l'extrait est mélangé avec 3 ml d'une solution éthanolique de DPPH. Le mélange est incubé à température ambiante et l'abri de la lumière pendant 20 min. L'absorbance est mesuré à 515 nm (Lee *et al.*, 1998). Le pourcentage d'activité antioxydant (I%) est calculé selon la formule suivante :

$$I(\%) = [(Abs_{\text{blanc}} - Abs_{\text{éch}}) / Abs_{\text{blanc}}] \times 100$$

Abs<sub>blanc</sub> : absorbance du DPPH au temps zéro avant l'addition de l'échantillon.

Abs<sub>éch</sub> : absorbance de l'échantillon testé après 20 mn d'incubation.

#### IV-6- Elaboration et caractérisation d'une margarine de table

##### IV-6-1- Formulation

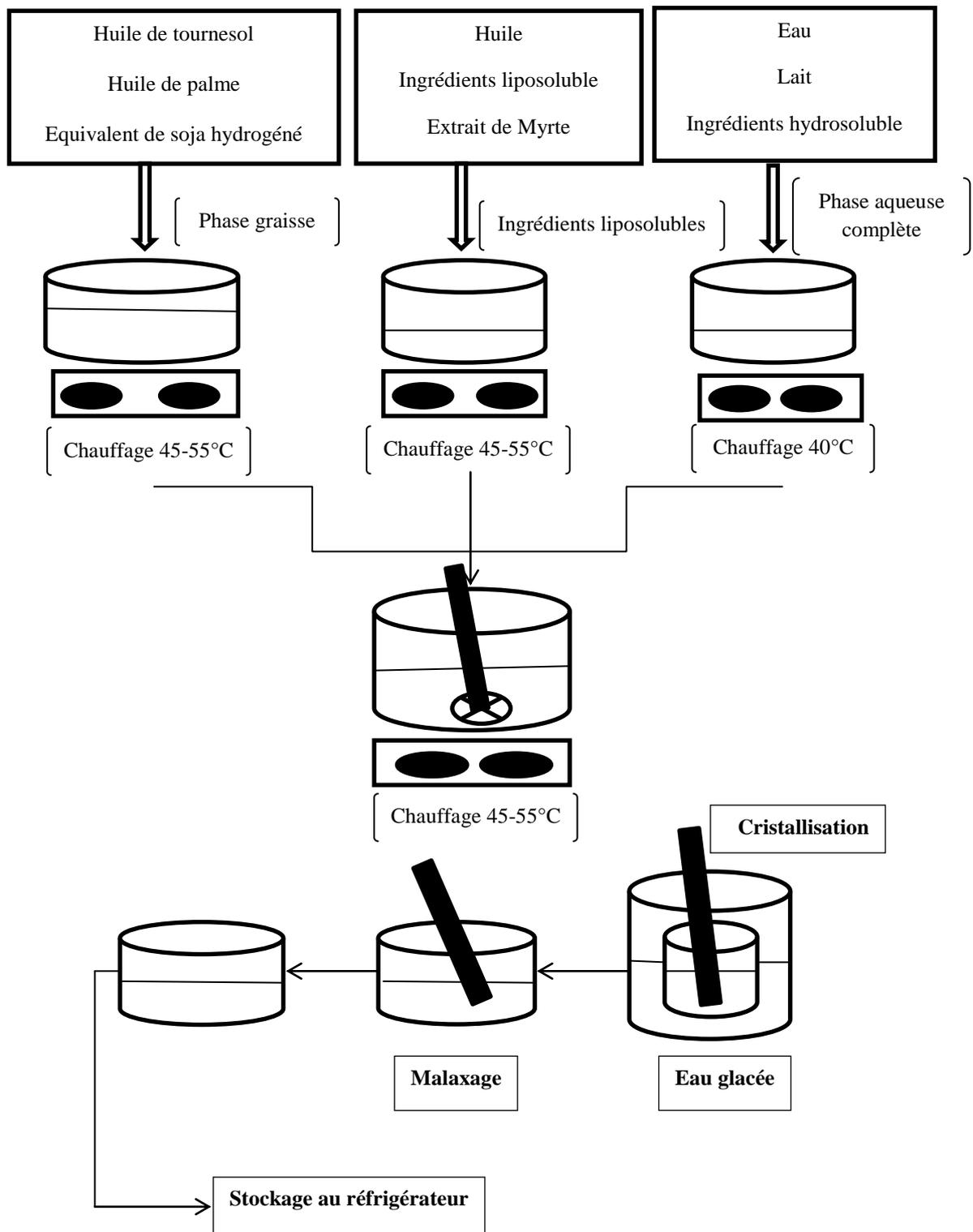
La première chose à faire est de fixer les propriétés que l'on désire conférer à notre produit, notamment son point de fusion, son pH et sa teneur en matière grasse totale.

Dans ce travail nous avons formulé une margarine dont la composition globale est :

- ✓ 82 % de phase grasse (matière grasse + ingrédients liposolubles) ;
- ✓ 18 % de phase aqueuse (eau + ingrédients hydrosolubles).

- ❖ La phase grasse utilisée est constituée de trois huiles : Palme, Equivalent Soja hydrogéné et l'huile de tournesol. Ces huiles sont introduites dans un bêcher de 500 ml et porté à une température de 45-55°C.
- ❖ En parallèle, l'émulsifiant et l'extrait de myrte sont mélangés dans un bêcher de 250 ml contenant le mélange huileux.
- ❖ L'extrait incorporé est obtenu par la technique d'extraction assisté par micro-onde, après évaporation du solvant dans l'étuve, la reconstitution est effectuée on utilisant l'eau.
- ❖ Les deux phases sont mélangées dans le même bêcher de 500 ml et maintenu à température de 45-55°C pour faire dissoudre l'émulsifiant et le mélange d'huiles. La dissolution est réalisée à l'aide d'un agitateur magnétique.
- ❖ La phase aqueuse est constituée de l'eau, lait, sel, acide lactique et sorbate de potassium.
- ❖ L'émulsion est le mélange des deux phases grasse et aqueuse à une température de 45-55°C pendant 10 à 15mn avec agitation. Cette dernière est réalisée avec un batteur électrique pour obtenir une émulsion homogène et plastique.
- ❖ L'émulsion obtenue est versé dans un pot, ce dernier est déposé dans un autre plus grand contenant de la glace. Une agitation manuelle permet à la margarine de se stabilisé et de se figé.
- ❖ La margarine une fois produite, est mise dans des pots en plastique fermés hermétiquement.
- ❖ Les pots de margarines sont stockés au réfrigérateur à une température de 4°C.

Les différentes phases sont présentées dans la figure 7:



**Figure 7 :** Diagramme de fabrication de la margarine au laboratoire.

**IV-6-2- Analyse de margarine****IV-6-2-1- Détermination du taux de solide par SFC (Solid Fat Content) (Wolf, 1968)**

- **Principe**

Consiste à déterminer le taux de solide dans la matière grasse à une certaine température, elle est réalisée par RMN (**R**ésonance **M**agnétique **N**ucléaire). Le taux de solide est exprimé en pourcentage, il nous renseigne sur la caractéristique physique qui influence beaucoup les propriétés technologiques.

- **Mode opératoire**

On fait fondre la margarine dans un bûcher à 70°C puis on filtre. On remplit un tube propre et sec à 2 cm et l'incube dans un bain marie pendant 20 mn à 20°C. Ensuite, on place le tube dans l'appareil RMN pour lire la première valeur en %. On réchauffe le tube dans le bain marie à 30°C (2<sup>ème</sup> lecture), puis 40°C (3<sup>ème</sup> lecture). Les valeurs de SFC sont notées chaque 20 min à des températures différentes. Ensuite on trace la courbe de SFC (%) en fonction de la température (°C).



**Figure 8** : Spectromètre à résonance magnétique nucléaire (RMN) basse résolution type (minispecmq 20, Germany).

**IV-6-2-2- Test d'oxydation accéléré ou détermination de la stabilité à l'oxydation ou encore test au Rancimat (ISO 6886, 2006).**

La méthode de Rancimat a été développée en tant que version automatisée extrêmement longue et elle permet de suivre simultanément le cours de l'oxydation et de mesurer l'indice d'oxydation de l'huile traitée. La détermination de la stabilité d'oxydation d'huiles et de graisses par le Rancimat est le temps d'induction qui se caractérise par la résistance de l'huile et de la graisse à l'oxydation. L'ISO 6886. (2006) définit la période d'induction comme suit :

➤ **La période d'induction** : c'est le temps écoulé entre le début de mesure et le moment où la formation de produits d'oxydation commence à augmenter rapidement.

- **Principe**

Elle est basé sur un simple principe, l'échantillon a analysé subit une décomposition thermique à une température comprise entre 100 et 120°C (à 98°C dans les conditions opératoire dans notre travail). Les acides organiques, produit de dégradation de cette oxydation poussé, sont entraîné par un courant d'air et recueillis dans une fiole contenant de l'eau distillée, dans laquelle est immergée une cellule de mesure de la conductivité. La courbe obtenu nous donne le temps déterminé par conductimétrie et correspond au temps d'induction ou période d'induction. Les valeurs obtenues fournis des informations sur la stabilité d'oxydation de l'échantillon. A la fin de cette période la conductivité se met à augmenter rapidement provoquée par l'accumulation d'acides gras volatils produits au cours de l'oxydation figure 9.

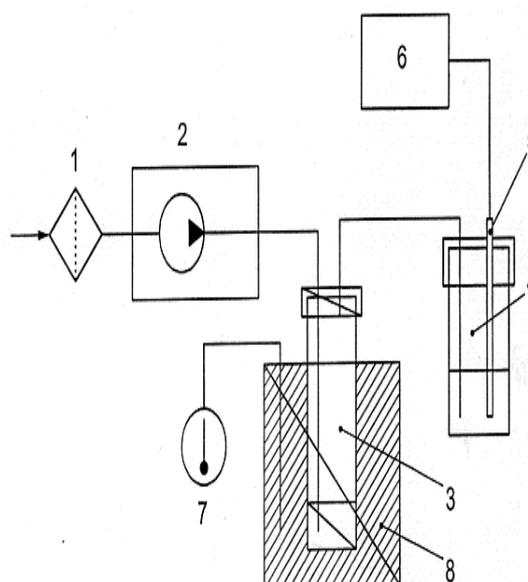
- **Mode opératoire**

- Monter l'appareillage conformément à la figure 9;
- Fixer la pompe à membrane pour gaz et régler le débit à 20l/h ;
- Amener le bloc chauffant à la température voulue (en général 100- 120°C) à l'aide d'un thyristor et du thermomètre à contact ou à l'aide d'un régulateur électronique. La température doit être maintenue constante à  $\pm 0,1^\circ\text{C}$  près pendant la durée d'essai ;
- Remplir les cellules de mesure de 50 ml d'eau distillée à l'aide d'une pipette de mesure ;
- A l'aide d'une pipette, peser, à 0,01g près, 3g de l'échantillon conditionné et les introduire dans le flacon d'oxydation à l'air ;

- Mettre en marche la pompe à membrane pour gaz. Relier 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 ;

- Introduire le flacon d'oxydation à l'air muni de son bouchon hermétique dans le trou percé à cet effet dans le bloc chauffant, qui doivent être tous deux à la température requise. Il convient de réaliser aussi vite que possible ces deux dernières étapes de préparation. Démarrer ensuite immédiatement l'enregistreur automatique des données ;

- Arrêter les mesurages au moment où le signal a atteint 100% de l'échelle de l'enregistreur, généralement  $200\mu\text{S/cm}$ .



- 1 Filtre à air.
- 2 Pompe à membrane pour gaz.
- 3 Flacon d'oxydation à l'air.
- 4 Cellule de mesure.
- 5 Electrode.
- 6 Appareil de mesure et d'enregistrement.
- 7 Thyristor et thermomètre à contact.
- 8 Bloc chauffant.

**Figure 9:** Représentation schématique de l'appareillage du test de Rancimat (ISO 6886, 2006).

**IV-6-2-3- Analyse physico-chimique****❖ Teneur en eau (humidité)****• Définition**

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

**• Principe**

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

**• Mode opératoire**

- Peser le bêcher vide ( $p_1$ ) et le poids de la prise d'essai ( $p_2$ ) ;
- Déposer sur une plaque chauffante, en agitant soigneusement de temps à autres afin d'éviter la formation des gouttelettes d'eau aux parois du bêcher ;
- Laisser refroidir dans dessiccateur ;
- Peser le bêcher contenant l'échantillon, soit un poids ( $p$ ).

**• Expression des résultats**

La teneur en eau est déterminée par la formule suivante :

$$\mathbf{H(\%) = \frac{(P1+P2)-P}{P2} *100}$$

Où :

**H (%)**: humidité exprimée en pourcentage.

**P1** : poids du bêcher vide en gramme (**g**).

**P2** : poids de la prise d'essai en gramme (**g**).

**P** : poids du bêcher contenant l'échantillon après chauffage (**g**).

**❖ Détermination du point de fusion (AOCS, 1997. In Soares *et al.*, 2009)****• Définition**

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

**• Principe**

Le principe repose sur le chauffage d'un tube capillaire contenant une prise d'essai de la margarine dans un bain marie et la notation de la température de fusion.

**• Mode opératoire**

- Introduire deux tubes capillaires dans l'échantillon de margarine et les remplir sur une hauteur de 2 cm ;
- Refroidir au congélateur les tubes capillaires et leur contenu pendant 20 mn ;
- Fixer les deux capillaires à pince en bois ;
- Introduire les capillaires et le thermomètre dans un bêcher contenant de l'eau ayant une température inférieure à la température de fusion ;
- Chauffé lentement le bêcher ;
- Observé attentivement et noter la température à laquelle le corps gras commence à monter dans les tubes capillaires.

**• Expression des résultats**

La température notée correspond au point de fusion de la margarine.

**❖ Détermination du pH (AFNOR, 1982)****• Définition**

Le pH est défini comme étant 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.

- **Principe**

Le pH est déterminé directement sur la phase aqueuse séparée de la margarine fondue, à l'aide d'un pH-mètre.

- ❖ **Taux de sel (teneur en sel) (NE. 1. 2.429, 1989)**

- **Définition**

C'est la quantité en chlorures de sodium (NaCl), autrement dit c'est la quantité de saumure contenue dans la margarine.

- **Principe**

Consiste à titrer le chlorure contenu dans la prise d'essai, par une solution de nitrate d'argent (AgNO<sub>3</sub>) en présence d'un indicateur coloré (chromate de potassium).

- **Mode opératoire**

- Peser 5g de margarine dans un Erlenmeyer ;
- Ajouté 100ml d'eau distillé chauffée ;
- Agiter l'eau distillée chauffée et la margarine puis laisser refroidir ;
- Ajouter quelques gouttes de chromate de potassium ;
- Titrer avec la solution de nitrate d'argent jusqu'au virage de la couleur (obtention d'une couleur rouge brique).

- **Expression des résultats**

Le taux de sel (ou teneur en sel) est calculé de la manière suivante :

$$Ts (\%) = \frac{N \cdot V \cdot EqgNaCl / 100}{p} * 100$$

Où :

Ts : taux ou teneur en sel exprimée en % ; N : Normalité d'AgNO<sub>3</sub> (0.1N) ; V (ml) :

Volume en ml d'AgNO<sub>3</sub> utilisé pour le titrage ; Eq.g (NaCl) : équivalent grammes

d'NaCl égal à 58.5 ; p: prise d'essai en g.

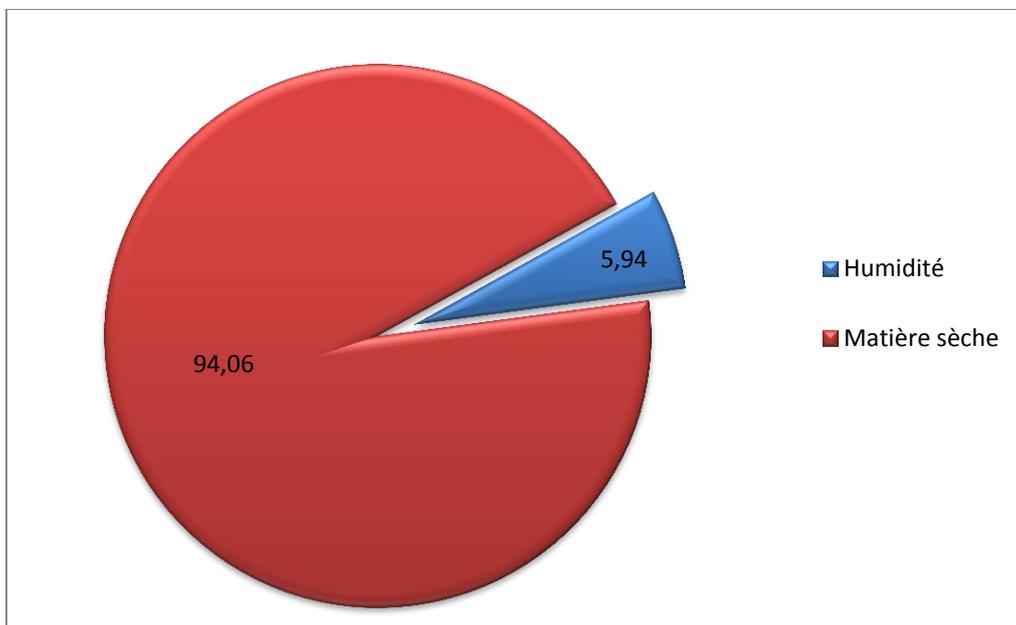
**IV-7- Analyse statistique**

Les résultats obtenus lors de l'analyse phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits obtenus par les trois techniques, ont fait l'objet d'une étude statistique par l'analyse de la variance (ANOVA/MANOVA) et l'analyse par le Test LSD, en utilisant le logiciel STATISTICA 5,5. Tous les graphes et les histogrammes représentés dans le document ont été réalisés en utilisant le logiciel : Excel (Microsoft Office 2010).

*Chapitre V*  
*Résultats et discussions*

### V-1- Taux d'humidité

Le résultat du test d'humidité de la poudre des feuilles de myrte est illustré dans la figure ci-dessous :



**Figure 10** : Représentation en secteur du taux d'humidité et de matière sèche.

Le résultat montre que la poudre contient un taux d'humidité de 5,94 % ce qui confirme la non richesse hydrique de la poudre.

### V-2- Extraction des composés phénoliques

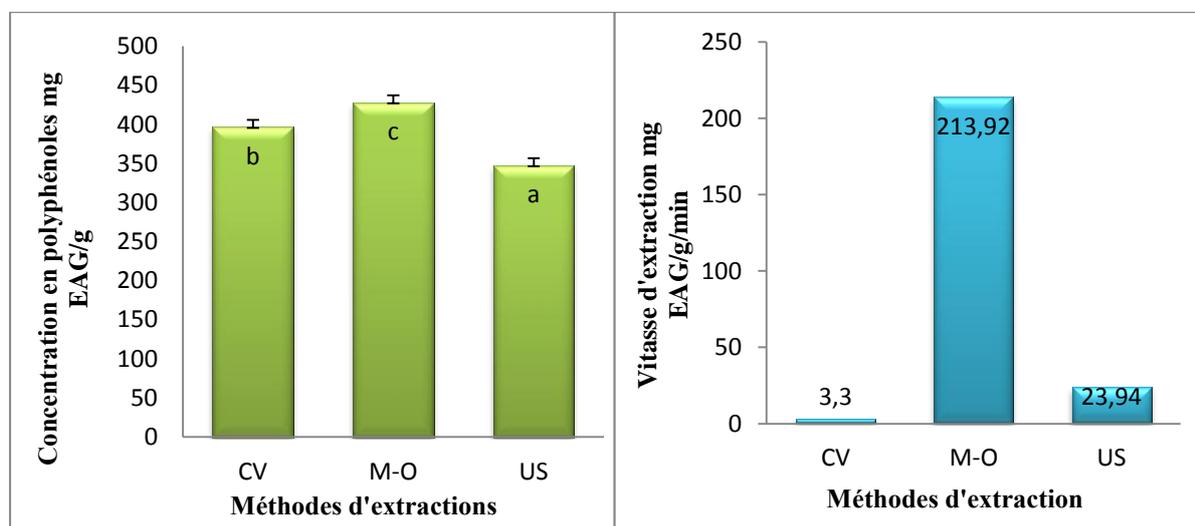
L'extraction des composés polyphénoliques est une étape cruciale pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend de la méthode et du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques.

L'extraction est effectuée par trois techniques différentes : microonde, conventionnelle et ultrason. Le travail consiste à évaluer les extraits de myrte obtenus en terme de quantité phénolique par ces trois techniques et faire une comparaison afin de choisir la meilleure procédure d'extraction par rapport à la vitesse et au taux d'extraction en polyphénols totaux.

### V-3- Analyses phytochimiques

#### V-3-1- Dosages des polyphénols totaux

Les résultats du dosage et de la vitesse d'extraction sont illustrés dans l'histogramme suivant :



**Figure 11:** Teneurs et vitesse d'extraction de polyphénols totaux de différentes techniques (MO, Micro-onde ; US, Ultrason ; CV, Conventiennelle).

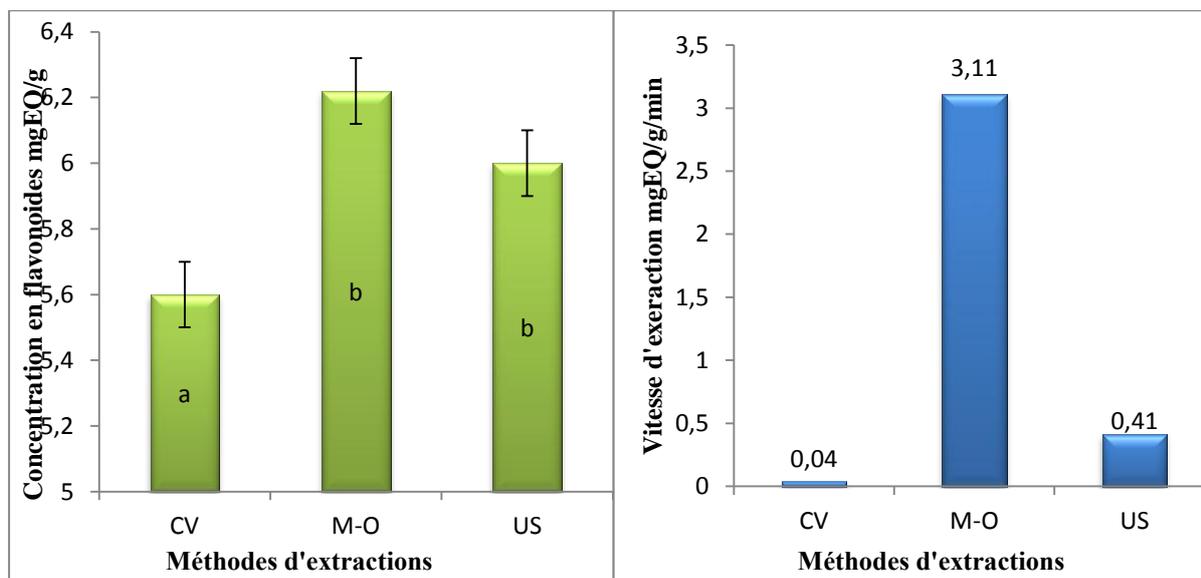
Les résultats présentés dans la figure (11) montrent que l'EAM (extraction assistée par micro-onde) donne le meilleur rendement d'extraction soit une moyenne de  $427,85 \pm 9,41$  mg EAG/g de MS, avec une vitesse d'extraction de 213,92 mgEAG/g/min. Ces résultats sont important par rapport à la technique d'extraction ultrason et conventionnelle ou la teneur en polyphénols est de  $347,66 \pm 4,25$  mg EAG/g de MS et  $396,61 \pm 9,15$  mg EAG/g de MS respectivement. Les teneurs en polyphénols totaux obtenus par les trois méthodes d'extraction, présentées dans cette figure, révèlent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

En se référant à la littérature, les travaux de **Gardeli et al. (2008)** sur des échantillons de feuilles de *Myrtus communis L* d'origine grecque, montrent que les extraits obtenus contiennent une teneur en polyphénols totaux estimée à 307 mg EAG/gde MS.

Selon **Dugald et al. (2004)** les facteurs environnementaux tels que : la température, la géographie, la durée du jour et les éléments nutritifs, influencent fortement sur la biosynthèse et l'accumulation des métabolites secondaires de la plante.

### V-3-2- Dosage des flavonoïdes

Les résultats obtenus sont illustrés dans l'histogramme suivant :



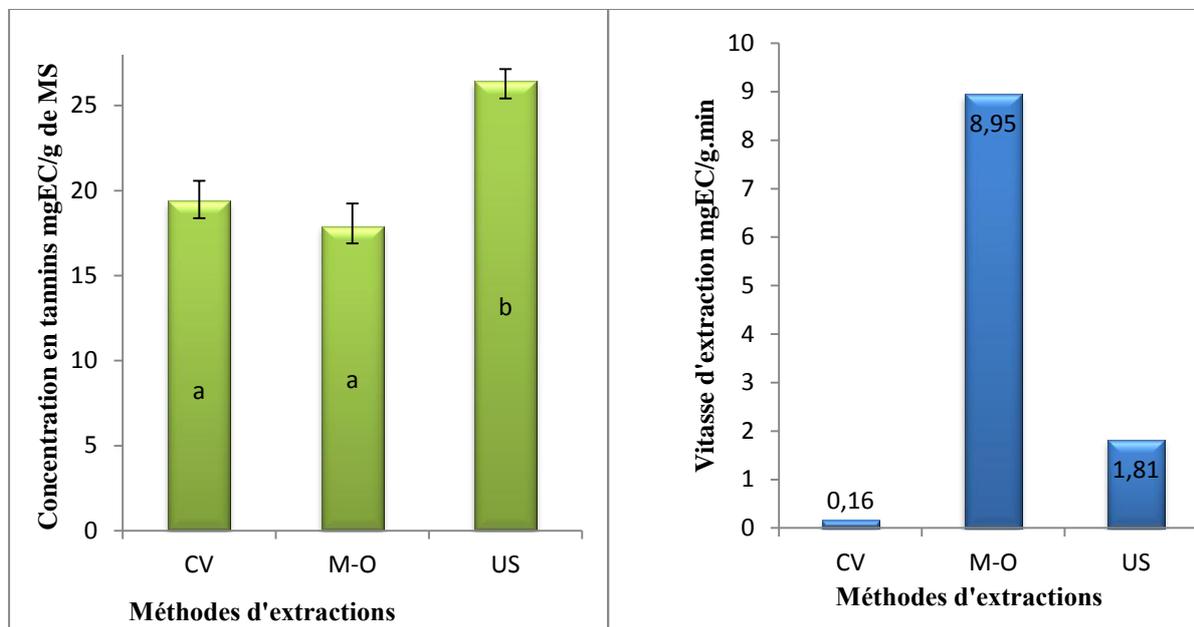
**Figure 12** : Teneurs et vitesses d'extraction des flavonoïdes.

Les résultats du dosage des flavonoïdes illustrés dans la figure ci-dessus, montrent une légère différence de la concentration en flavonoïdes dans les trois techniques d'extraction conventionnelle ( $5,60 \pm 0,22$  mg EQ/g de MS), micro-onde ( $6,22 \pm 0,15$  mg EQ/g de MS) et ultrason ( $6,00 \pm 0,05$  mg EQ/g de MS). Par contre, la vitesse d'extraction est importante pour la technique micro-onde, elle est de l'ordre de  $3,11$  mg EQ/g/min. Par ailleurs, une différence significative ( $p < 0,05$ ) est signalée entre les teneurs en flavonoïdes obtenus par la technique conventionnelle et le rendement trouvé par ultrason et micro-onde.

Les résultats obtenus sont très proches à ceux obtenus par **Aidi-Wannes *et al.*, (2010)**, ayant travaillé sur des échantillons de feuille de la même espèce ou la teneur en flavonoïdes est estimée à  $5,17$  mg EQ/g de MS.

### V-3-3- Dosage des tannins

Les résultats des concentrations en tannins des trois extraits sont illustrés dans la figure suivante :



**Figure 13:** Teneurs et vitesses d'extraction des tannins.

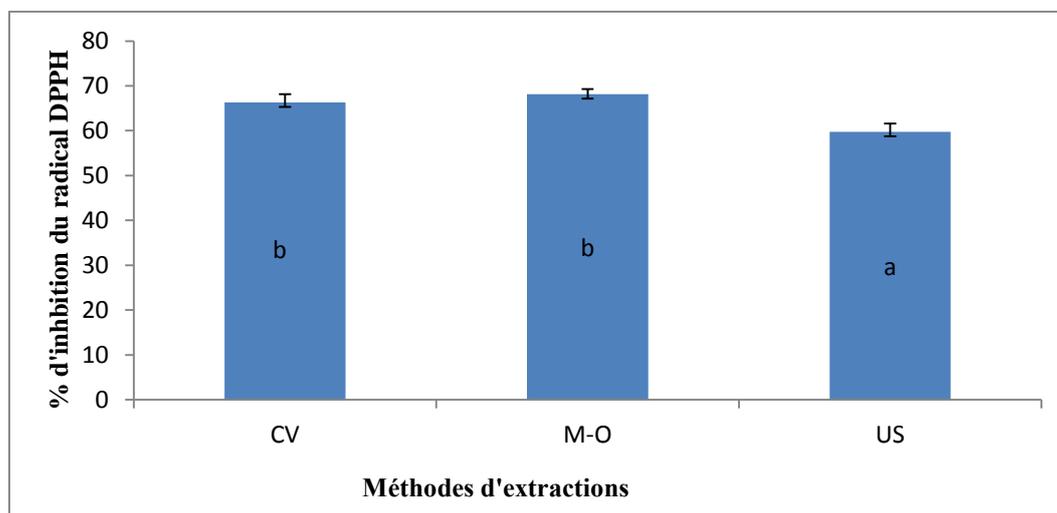
L'analyse des résultats de la teneur en tanins condensés sont consignés dans la figure (13), elle révèle que la technique ultrasonique est plus efficace et hautement significative ( $p < 0.05$ ) pour l'extraction des tanins ( $26,42 \pm 0,72$  mg EC/g de MS) que la macération et microonde. L'effet des bulles de la cavitation favorise d'une part la diffusion et la solubilité des substances extraites par la destruction complète de la paroi cellulaire, d'autre part elle détruit certaines substances fragiles, ceux qui sont observé dans le rendement des polyphénols totaux. Cette diminution des teneurs en tanins condensés avec la technique microonde peut être expliquée par la destruction par la chaleur générée par la rotation dipolaire et conduction ionique (phénomène de la surchauffe). Par ailleurs, la vitesse d'extraction la plus élevée est enregistrée pour l'extraction micro-onde avec 8,95 mg EC/g/min.

Les résultats obtenus dans ce présent manuscrit sont en concordance à ceux obtenus par **Aidi-Wannes et al., (2005)**. La teneur en tannins condensés des feuilles trouvés par ces auteurs est estimée à 26,55 mg EAG/g de MS.

#### V-4- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits

##### V-4-1- Mesure de pouvoir de piégeage du radical DPPH

L'activité antioxydante des extraits a été étudiée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH. Les résultats sont illustrés dans la figure suivante :



**Figure 14 :** Pourcentages d'inhibition du radical DPPH des extraits de myrte.

Les résultats montrent une activité remarquable d'inhibition du radical DPPH dans tous les extraits. Les extraits obtenus par micro-onde (68,18 %  $\pm$  1,12) et conventionnelle (66,29 %  $\pm$  1,86) donnent une activité inhibitrice la plus importante et significative à  $p < 0.05$  comparant à celle de l'ultrason (59,75 %  $\pm$  1,87).

Les différences dans l'activité antioxydante entre les extraits peuvent être expliquées par les teneurs en substances bioactives. En effet, l'extrait de myrte obtenu par micro-onde présente la teneur la plus élevée en polyphénols et flavonoïdes présentant ainsi le pourcentage le plus fort à piéger le radical DPPH. Selon **Pietta (2000)**, les polyphénols et flavonoïdes sont des excellents antioxydants dont la propriété oxydo-réductrice permet d'agir comme agent réducteur, donateur d'hydrogène et inhibiteurs de l'oxygène.

**V-5- Elaboration et caractérisation de la margarine enrichie en extrait de myrte****V-5-1- Elaboration de la margarine enrichie**

La recette de la margarine enrichie en extrait de myrte est donnée dans le tableau suivant :

**Tableau V-1** : Recette de la margarine enrichie en extrait de myrte.

<b>Matière première</b>	<b>Composition (g)</b>
<b>Phase grasse</b>	
Mélange de huiles (huile de palme, huile de tournesol, équivalent de soja hydrogéné)	410g
Emulsifiant (mono-glycéride)	2g
Extrait de myrtes (50ppm, 100ppm, 150ppm)	0,025g
	0,05g
	0,075g
<b>Phase aqueuse</b>	
Eau	50g
lait	22g
saumure	10g
Acide lactique	0,3g
Sorbate de potassium	0,7g

Le tableau ci-dessus résume la composition de la margarine enrichie en extrait de myrte, c'est une recette de 500g produite au niveau du laboratoire. Des tests de stabilités sont effectués pour déterminé la résistance oxydative de la margarine enrichie.

**V-5-2- Caractérisation de la margarine enrichie****V-5-2-1- Caractéristique physique****a- Détermination de taux de solide par SFC**

L'indice **SFC** (**S**olid **F**at **C**ontent) indique le pourcentage de matière grasse solide à différentes températures. C'est un indice essentiel étant responsable de plusieurs

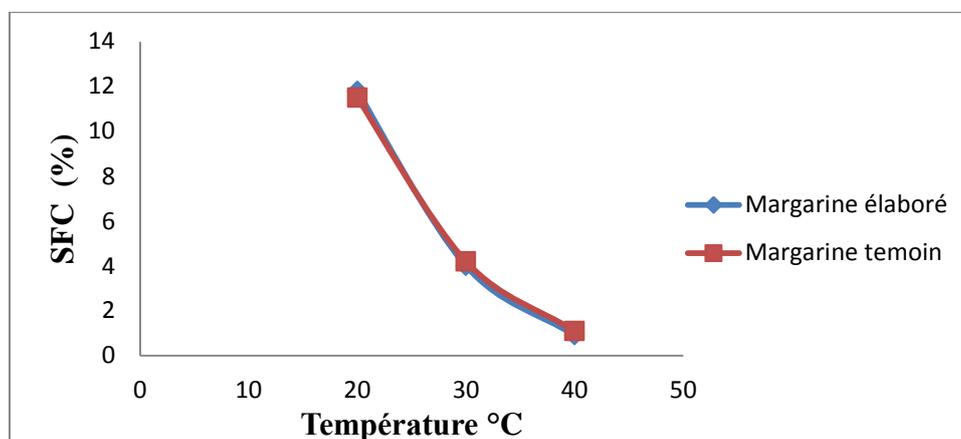
caractéristiques du produit (son aspect générale, exsudation d'huile et propriétés organoleptiques) (Noor Lida *et al.*, 2002).

Les résultats du SFC de la margarine élaborée en fonction de la température sont présentés dans le tableau V-2 et la figure V-6.

**Tableau V-2 :** Indice SFC de la margarine témoin (standard) et celle enrichie en extrait de myrte.

Température (°C)		20	30	40
SFC (%)	Margarine élaboré	11,8	4	0,91
	Margarine témoin	11,5	4,2	1,1

D'après les résultats obtenus nous pouvons dire que la margarine est plastique et facile à tartiner, à 37°C, l'indice de SFC est inférieur à 6 %, donc la margarine fond facilement dans la bouche.



**Figure 15 :** Evolution de la SFC en fonction de la température.

L'information obtenue à partir de cette courbe (SFC) permet de prévoir la compatibilité du corps gras, ainsi que les caractéristiques finales du produit fini. 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 déterminé (**Karleskind et Wolff, 1992 ; Ribeiro et al., 2009**).

#### V-5-2-2- Caractéristique physico-chimique

Les résultats de la caractérisation physico-chimique de la margarine élaborée sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau V-3** : Caractéristiques physico-chimiques de la margarine élaborée.

Paramètre	teneurs
Teneur en eau (%)	14,89
Point de fusion (°C)	34,25
Taux de sel (%)	0,38
pH	4,5

La teneur en eau (humidité) de la margarine élaborée est de l'ordre de 14,89% ceci est compatible avec la formulation initiale de la margarine qui contient 82,6% de phase grasse et 16,6% de phase aqueuse. Ce résultat est conforme à la norme (**ISO 662 deuxième édition 15-09-1998**) postulant que la teneur en eau ne doit pas dépasser 16%.

Le point de fusion de la margarine est de l'ordre de 34,25°C, elle doit être fixée de manière à ce que la margarine soit fondante dans la bouche mais aussi plastique à la température ambiante pour supporter le travail mécanique lors de la tartinabilité. Pour le pH de la phase aqueuse, il est de l'ordre de 4,5. Le taux de sel est de l'ordre de 0,38%. D'après **Karleskind et Wolf (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 en pots (tartinable).

#### V-5-2- 3- Test d'oxydation accéléré ou test de rancimat

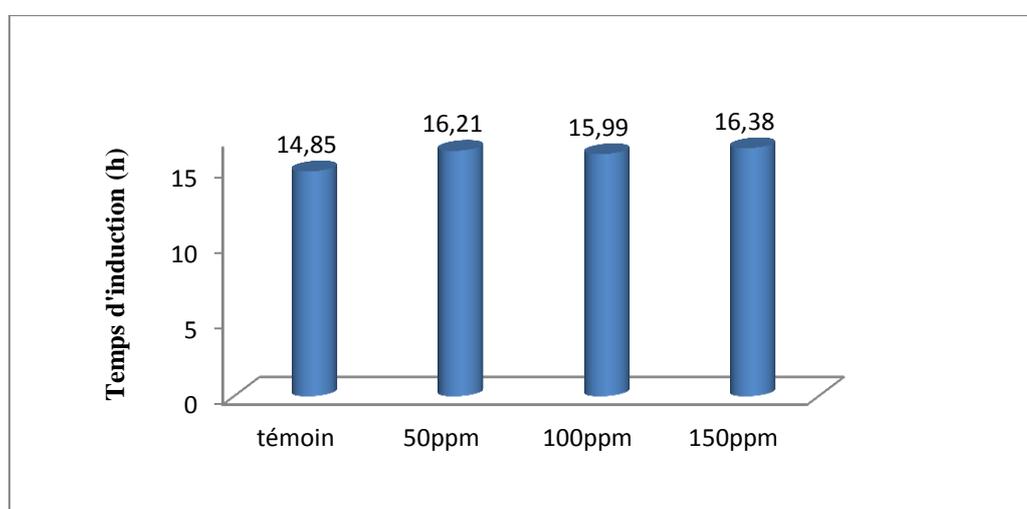
Parmi les problèmes trouvés dans l'agroalimentaire, on note l'oxydation lipidique des aliments. Elle réduit la durée de conservation du produit, induit sa fonctionnalité et sa qualité nutritionnelle (**Hidalgo et al., 2006**).

La mesure de la stabilité oxydative est un paramètre important pour évaluer la qualité des corps gras, pour cela des échantillons de margarine incorporés en extrait de myrte à des doses différentes ont été soumis à un test d'oxydation accéléré à l'aide d'un appareil de Rancimat Metrohm 743. Les résultats de l'analyse des échantillons sont représentés dans

**l'annexe 5,6,7.** Ils sont présentés sous forme de graphe représentant le temps d'induction en fonction de la conductivité. Le graphe se présente sous forme d'une fonction parabolique. Elle est expliquée selon **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. La période d'induction est déterminée à partir du point d'inflexion de la courbe de conductivité.

Des tests d'oxydation accélérée sur Rancimat ont été effectués à des concentrations de 50, 100 et 150 ppm de l'extrait de myrte dans la margarine.

La figure 16 montre les résultats obtenus par les tests de Rancimat et illustre l'influence de l'ajout de l'extrait de myrte sur la formulation de la margarine.



**Figure 16 :** Temps d'induction exprimé en heures.

On remarque que les périodes d'inductions varient d'un échantillon à l'autre. Le temps d'induction des trois échantillons est élevé par rapport à celui de l'échantillon témoin qui est de 14,85 h, cette augmentation de la résistance à l'oxydation forcée nous renseigne sur l'efficacité de l'extrait du myrte comparativement à celui de la vitamine E.

La période d'induction la plus courte est enregistrée pour 100 ppm avec  $PI = 15,99$  h qui signifie une moindre stabilité oxydative.

La période d'induction la plus élevée est observé pour l'échantillon 150ppm avec  $PI=16,38$  h suivie de l'échantillon 50 ppm avec  $PI = 16,21$  h. Par rapport aux deux concentrations 50 et 100 ppm, on remarque que le temps d'induction est élevé pour l'échantillon 50 ppm et présente une meilleure résistance à l'oxydation forcée.

D'après ces résultats on peut déduire que l'extrait de myrte contient des antioxydants plus puissants que l' $\alpha$ -tocophérol synthétique, ce qui a permis à la margarine la prolongation de sa durée de résistance à l'oxydation.

*Conclusion*

## Conclusion

Le présent travail a pour objectif l'exploitation des composés phénoliques de *Myrtus communis L* et leur valorisation à travers leur activité anti-oxydante en le comparant à un antioxydant artificiel ( $\alpha$ -tocophérol) utilisé au niveau de la margarinerie de Cévital.

L'analyse phytochimique de l'extrait de myrte (obtenu par les techniques : micro-onde, ultrason et conventionnelle) a permis de mettre en évidence une teneur considérable en polyphénols et des concentrations appréciable en flavonoïdes et en tannins condensés.

L'activité anti-oxydante déterminée par le test de DPPH, montre que les composés extraits sont des excellents antioxydants naturels. Ils possèdent des capacités de neutralisation de DPPH puissantes et inhibent d'une manière efficace l'oxydation.

L'essai de formulation d'une margarine enrichie en extrait de myrte obtenu par la technique d'extraction assisté par micro-onde a été expérimenté, en vue de substituer l' $\alpha$ -tocophérol synthétique utilisé dans l'industrie par les antioxydants naturels présents dans l'extrait.

Les indices de caractérisation de la margarine élaborée (point de fusion, taux de sel, taux d'humidité) s'avèrent conformes à la recette préétablie.

Les résultats de l'évaluation de la stabilité oxydative par le test de Rancimat indique que la margarine enrichie en extrait de *Myrtus communis L* est plus résistante à l'oxydation que la margarine témoin. En conséquence, la substitution de l'additif synthétique ( $\alpha$ -tocophérol), par l'extrait de myrte a pour effet, une approche innovante et concluante, afin d'encouragé une co-valorisation, dans l'objectif d'élaborer un aliment fonctionnel.

En perspective, il est souhaitable :

- D'étudier les autres activités biologiques des extraits (activité antimicrobienne, antifongique).
- D'appliquer ces extraits à d'autres produits alimentaires en substitution à des antioxydants artificiels comme le BHT (butyle hydroxy toluène) et le BHA (butyle hydroxy anisole).
- Faire une analyse sensorielle de la margarine enrichie en extrait de myrte par un jury expérimenté.
- D'étudier l'effet de toxicité de la plante.

*Références  
bibliographiques*

## *A*

**AFNOR, 1982.** Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. Ed. AFNOR, 325 p.

**Aidi-Wannes W., Mhamdi B., Sriti J., Ben-Jemia M., Ouchikh O., Hamdaoui G., Elyes-Kchouk M. et Marzouk B., 2010.** Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* L. var. *italica*.) leaf, stem and flower. *Food and Chemical Toxicology*, vol **48**,p1362-1370.

**AOCS, 1997.** Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society

**Arain S., Sherazi S.T.H., Bhangar M.L., Talpur F.N. et Mahesar S.A., 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.*, Vol. 484: pp.1-3.

**Ayesh R., Weststrate J.A., Drewitt P.N. et Hepburn P.A., 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*

**Baba-aïssa F., 1991.** Les plantes médicinales en Algérie. Co-édition Bouchène Ad. Diwan Alger. 113.

**Barboni T., 2006.** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p26.

**Baytop T., 1999.** Le traitement par les plantes médicinales en Turquie (Past and Present) *Nobel Astuce Kitapevleri* Press, Istanbul.

**Berset C. et Cervelier M.E., 1996.** Methods of estimating the degree of lipid oxydation and of measuring antioxidizing power. *Sciences des Aliments*. **16**, 219-245.

**Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 2<sup>ème</sup> Ed, Paris.623.

**Bruneton J., 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier,3<sup>ème</sup>Ed.,Paris.585.

## C

**Cevat A. et Musa Ö.,2007.** Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtuscommunis* L) fruits growing wild in Turkey, *Journal of Food Engineering.* **79**, 453-458.

**Christian F., Lutz F., Giovanni A. et Oliver W., 2005.** Identification of Molecular Targets of the OligomericNonprenylatedAcylphloroglucinols from *Myrtuscommunis* L. and their complication as anti-inflammatory compounds.*The journal of pharmacology and experimental therapeutics.***315**, 389-396.

**Cossut, J. ,Defrenne, B. , Desmedt, C. , Ferroul, S et al. 2002.** Procédé de fabrication et contrôle qualité. In «Les corps gras : entre tradition et modernité». Institut agroalimentaire de Lille. 27, 40-42, 51

## D

**Debryne, les matières grasses destinées aux produits de boulangerie. Que sont-elles ? Comment fonctionnent-elles ? ([www.asa.com](http://www.asa.com))**

**Dugald C., Closea B.C., Arthura B.L., Pietrzykowskia E. et Patersona S., 2004.** Evaluating effects of nursery and post-planting nutrient regimes on leaf chemistry and browsing of eucalypt seedlings in plantations. *Forest Ecology and Management.* **200**,101-112.

## E

**Eymard S., 2003.** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) :choix des procédés. Thèse Doctorat, université de Nantes, France, 277.

## F

**Faur L., 1988.** L'industrie des corps gras. In «Les industries agricoles et alimentaires : progrès des sciences et techniques». Tec et Doc-Lavoisier, Paris. 287. ISBN : 2-85206-449-9.

**Faur L., 1992.** Transformation des corps gras à des fins alimentaires. In «Manuel des corps gras». Tec et Doc-Lavoisier, Paris. 2 :pp. 938, 984. ISBN : 2-85206-662-9.

## G

**Gardeli C., Papageorgiou V., Mallouchos A., Kibouris T. et Mechael K., 2008.** Composition de l'huile essentielle de *Pestacialentiscus L.* et *Myrtuscommunis L.* évaluation de la capacité antioxydante des extraits méthanoliques. *Chimie des aliments*, **107**, 1120-1130.

**Ghedira K., 2005.** Les flavonoïdes :structure, propriétés biologiques, role prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, pp.162-169.

**Gordon M.H., 1990.** The mechanism of antioxidant in vitro. "Food antioxidants": Ed. HUDSON B.J.F.

**Girardet J.P., 2006.** paris en charge des hypercholestérolémies d'Archives de pédiatrie, 13.pp 104-110

**Greté P., 1965.** Précis de botanique, systématique des angiospermes Tome II; 2<sup>ème</sup> édition révisée, Faculté de pharmacie de paris-Masson, 429.

**Gurgnard J.L., 2000.** Biochimie végétale, Préface de Pierre Potier, 2<sup>ème</sup> édition de l'abrégé Ed : Dunod, Paris : 163-175.

## H

**Hakkinen S., 2000.** Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. These doctorale. KUOPIO. pp93.

**Hazzit M., 2008.** Etude de la composition chimique des huiles essentielles de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie. Thèse doctorat, USTHB, Alger, 204.

**Hidalgo F.J., Leon M.M. Et Zamora R. 2006.** Antioxidative Activity of Amino Phospholipids and Phospholipid/Amino Acid Mixtures in Edible Oils As Determined by the Rancimat Method. *J. Agric. Food Chem*, Vol. 54, pp.5461-5467.

**Ho s.s., Pal s., 2005.** Margarine phytosterols decrease the secretion of atherogenic lipoproteins from HepG2 liver and Caco2 intestinal cells. *Atherosclerosis*, 182, pp 122-129

**Huang D.J., Lin C.D., Chen H.G. et Lin Y.H., 2004.** Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* L) Constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45, 179-186.

**Hultin H.O., 1992.** Lipid Oxidation in Fish Muscle. In: Advances in seafood in biological systems. *Food Science and Nutrition*, 25, 317.

### I

**ISO Norme Internationale. 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.

### K

**Karleskind A., 1992.** Manuel des corps Gras. Ed. Tech & Doc, paris, Tome 1. 1579p.

**Karleskind A. et Wolff J.P. 1992.** Manuel des corps gras. Ed : Tech et Doc. 1579p.

**Kim D.k. et Lee C.Y., 2004.** Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free Radical and its Structural Relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.

**Knert P., Kumpulaie J., Jarvinen R., Rissan H., Heliovaara M., Reunanen A., Hakulinen T., Aromaa A., 2002.** Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *The American journal of Clinical Nutrition*. 76, 560-568.

### L

**lee, S.K., Mbwambo, Z.H., Chung, H.S., Luyengi, L., Games, E.G.C., Mehta, R. G., et al. 1998.** Evaluation of the antioxidant potential of natural product. *Combinatorial Chemistry and high-throughput Screening*. 1, 35-46.

**Luterotti S., Bicanic D. et Pojzgaj R., 2006.** New simple spectrophotometric assay of total Carotenes in margarines. *Analytica Chimica Acta*, pp. 466–473.

**Lisu W., Jui-Hung Y., Hsiao-Ling L. et Wul M.J., 2003.** Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbonucifera* Gertn). *Journal of food and drug analysis*, 11(1): 60-66.

### *M*

**Marjorie Murphy Cowan., 1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): 564-582.

**Martin S., Andriantsitohaina R ., 2002.** Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. 51, 304-315.

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

**Morelle J., 1988.** Peroxydes lipidiques, radicaux libres, vieillissement et lipoprotéines : Parfums, Cosmétiques, Arômes.

**Mussner M.J., Parhofer K.G., Bergmann K.V., Schwandt P., Broedl U. et Otto C., 2002.** Effects of phytosterol ester-enriched margarine on plasma lipoproteins in mild to moderate hypercholesterolemia are related to basal cholesterol and fat intake. *Metabolism*, 51(2) pp: 189-194.

### *N*

**Noor Lida H.M.D., Sundram K., Siew W.L., Aminah A. et Mamot S., 2002.** TAG composition and solid fat content of palm oil, sunflower oil, and palm kernel olein blends before and after chemical interesterification. *J. Amer. Oil Chem.*

### *O*

**Oldrich L., Klejdus B., Ladislav K., Michaela D., Khaled A., Vlastimil K et Richard H., 2005.** Biochemical systematics and Ecology, **33**, 983-992.

## *P*

**Parejo, I; Viladomat, F; Bastida, J; Rosas-Romero, A; Flerlage, N; Burillo, J; Codina C., 2002.** Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 6882-6890.

**Pietta P.G., 2000.** Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural products*, **63**, 1035-1042

**Poknory J., Yanishlieva N et Gordon H., 2001.** Les antioxydants dans les aliments. Les applications pratiques. Woodhead Publishing limited. CRC Press. Cambridge Angleterre.

**Price, M.L; Van scoyoc, S; et Butler, L.G. 1978.** A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain, *J. Agric. Food Chem*, **26**: 1214-1218.

## *Q*

**Quezel, P ; et Santa, S. 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Edition. CNRS. Paris.

## *R*

**Remesy C., Manaca C., Demigne C., Texiero et Regeat F., 1996.** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Médecine et nutrition*, **32**, 17-27.

**Ribeiro A.P.B., Basso R.C., Grimaldi R., Gioielli L.A. et Aparecida Guaraldo**

**Gonçalves L. 2009.** Instrumental Methods for the Evaluation of Interesterified Fats. *Food Anal. Methods*. Vol 2, pp. 282-302.

**Ribereau-Gayon P., 1968.** Les composés phénoliques des végétaux, Dunod, Paris, p254.

**Ribereau-Gayon J., Peynaud E., Sudraud P., Ribereau-Gayon P., 1972.** Sciences et technique du vin. Tome 1. Ed. Dunod, Paris. p671

**Rice-Evans C.A; Miller N.J; Paganga G. 1996.** Structure-antioxydant Activity relationships of flavonoides and phenolic acids.

## S

**Serfaty-Lacrosniere C., Nigon F., Chauvois D., Neveu C., Chapman J. et Bruckert E., 2001.** Les phytostérols : Une nouvelle approche dans la prise en charge diététique de L'hypercholestérolémie. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, (36) : 341-347.

**Singleton, V. L., & Rossi, J. R. 1965.** Colorimetry of total phenolics with Phosphomolybdic-phosphotungstic acid. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.

**Svoboda K.P. et Hampson J.B., 1999.** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidants, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant biology department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, U.K., KA6 5HW.

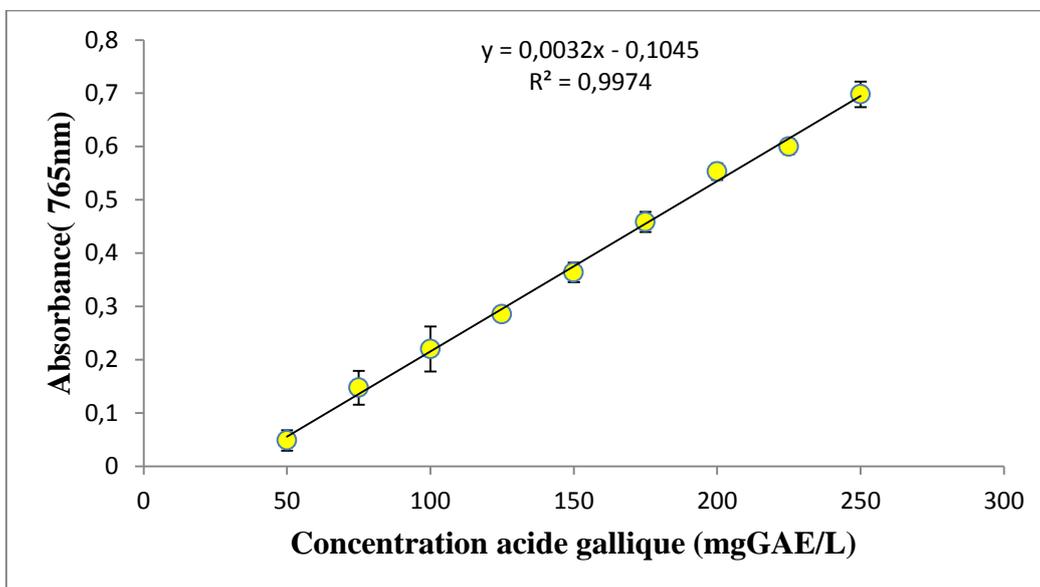
## V

**Vogt A., Thomas H., Schulze S., Steinhagen-Thiessen E. et Kassner U., 2004.** Effect of phytosterolester-enriched margarine and diet compared to diet on plasma lipids in hypercholesterolemic subjects. 74th EAS Congress, Seville, Spain. pp. 156.

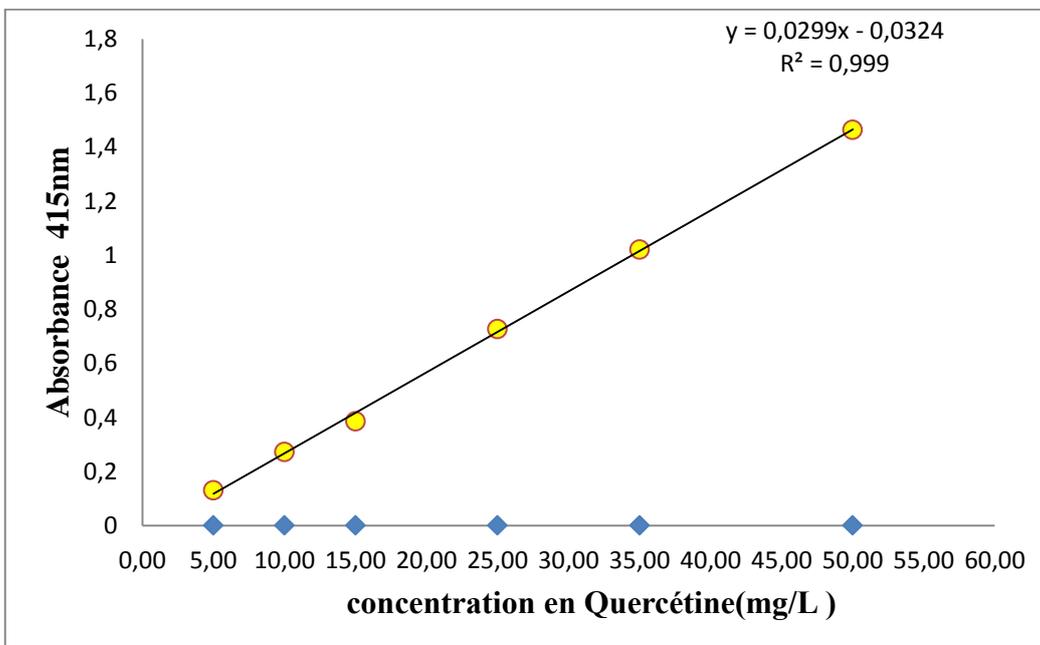
# *Annexes*

*Annexes*

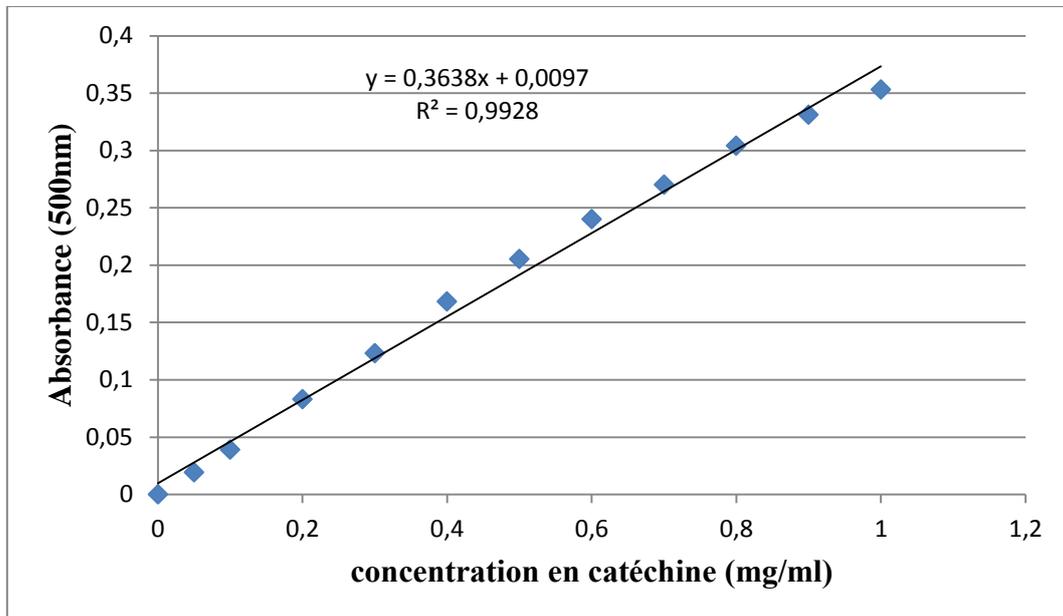
**Annexes 1 :** Courbe d'étalonnage du standard acide gallique utilisé dans le dosage des polyphénols totaux.



**Annexe 2 :** Courbe d'étalonnage du standard Quercétine utilisé dans le dosage des flavonoïdes.



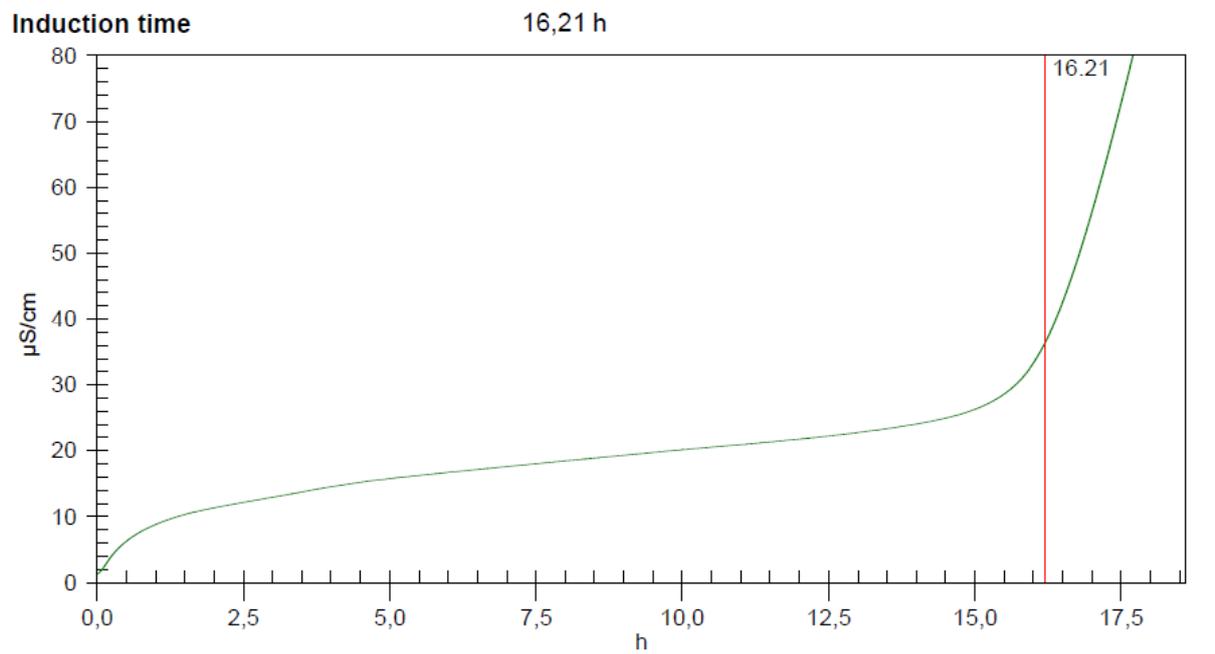
**Annexe 3 :** Courbe d'étalonnage du standard catéchine utilisé dans le dosage des tannins.



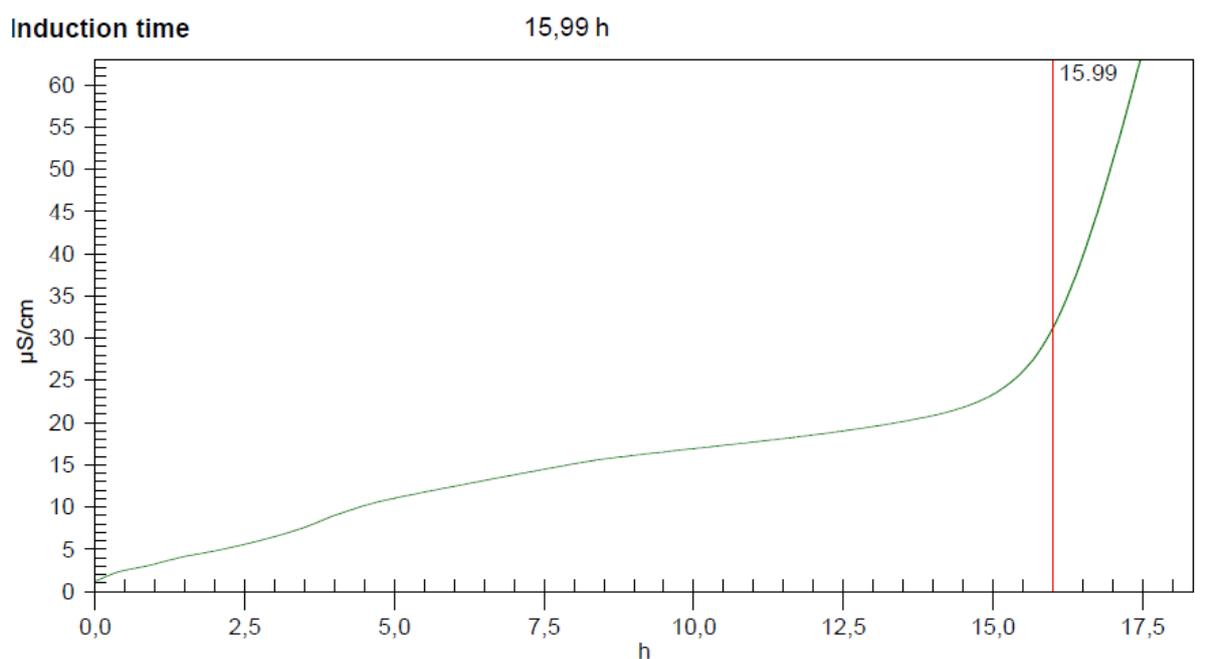
**Annexe 4 :** PhotorancimatMetrohm 743.



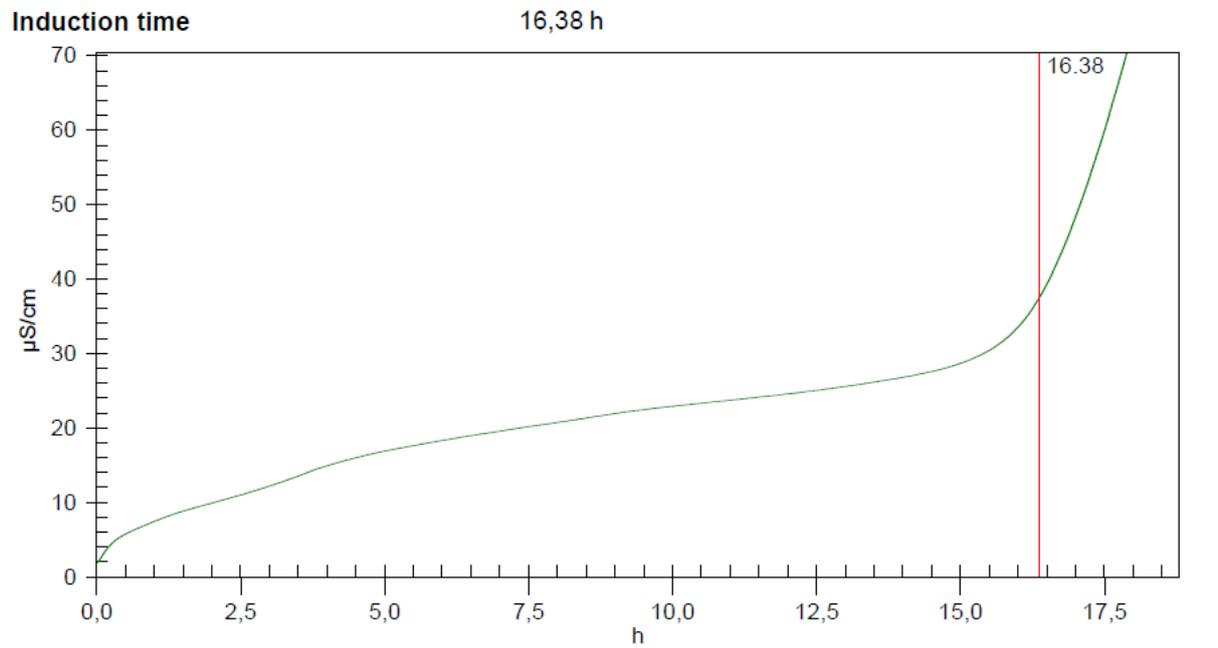
**Annexe 5** : Courbe de la stabilité oxydative au test Rancimat de la margarine à 50ppm d'extrait de myrte.



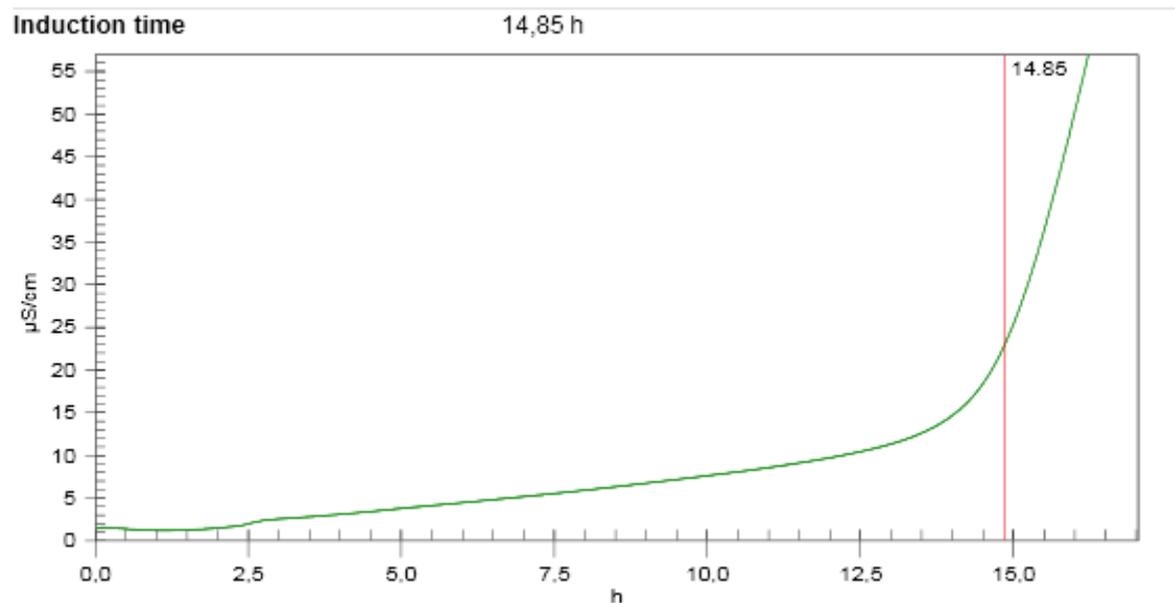
**Annexe 6** : Courbe de la stabilité oxydative au test Rancimat de la margarine à 100 ppm d'extrait de myrte.



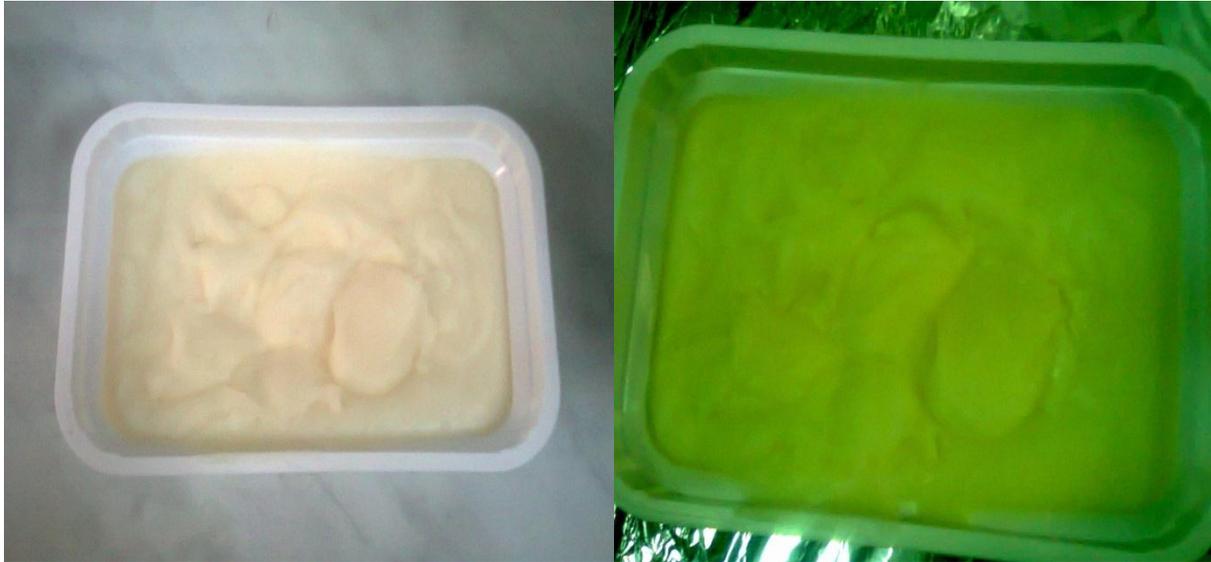
**Annexe 7** : Courbe de la stabilité oxydative au test Rancimat de la margarine à 150 ppm d'extrait de myrte.



**Annexe 8** : Courbe de la stabilité oxydative au test Rancimat de la margarine à 100 ppm de la vitamine E.



**Annexe 9** :Photos de la margarine élaborée au niveau du laboratoire du complexe cévital.



## Résumé

Le présent travail porte sur la caractérisation des composés phénoliques de *Myrtus communis L* et leurs valorisations par incorporation dans une recette de margarine.

Dans un premier temps, les caractéristiques phytochimiques de l'extrait de myrte sont déterminées. Sa teneur en polyphénols, en flavonoïdes et en tannins est respectivement ( $427,85 \pm 9,41$  mg EAG/g), ( $6,22 \pm 0,15$  mg EQ/g) et ( $17,90 \pm 1,35$  mg EC/g). L'activité antioxydante des composés phénoliques a été étudiée par le test DPPH.

L'essai de formulation des margarines de table additionnées des composés phénoliques de *Myrtus communis L* a été expérimenté, en vue de substituer un additif synthétique, vitamine E. les caractéristiques physicochimiques des margarines élaborées (point de fusion, taux de sel, pH) s'avèrent conformes à la recette préétablie. À 37°C, l'indice de SFC est inférieur à 6 %, et donc la margarine élaborée fond facilement dans la bouche.

L'évaluation de la stabilité oxydative est réalisée par le test de rancimat, les résultats obtenus ont montrés que les margarines enrichies en composés phénoliques de *Myrtus communis L* étaient plus résistantes que celle à la vitamine E.

**Mots clés :** extraits, *Myrtus communis L*, composés phénoliques, activité antioxydante, formulation de la margarine.

## Abstract

This work concerns the characterization of the phenolic compounds of *Myrtus communis L* and their valorization by incorporation in a margarine receipt.

Initially, the phytochimic characteristics of the myrtle extract are determined. Its content in polyphenols, flavonoïds and tannins are respectively ( $425,64 \pm 1,70$  mg EAG/g), ( $6,22 \pm 0,03$  mg EQ/g) and ( $18,04 \pm 0,12$  mg EC/g). The antioxydante activity of the extracts was studied by the DPPH test.

The test of formulation of the margarines of table added with the phenolic compounds of *Myrtus communis L* was tested, in order to substitute a synthetic additive "vitamin E" the physico-chemical characteristics of the elaborate margarines (point melting, rate of salt, pH) prove to be in conformity with the preestablished receipt. At 37°C, the index of SFC is lower than 6%, and thus the elaborate margarine melts easily in the mouth.

The evaluation of oxidative stability is carried out by the test of rancimat, the results obtained showed that the margarines enriched in phenolic compounds by *Myrtus communis L* were more resistant than that to the vitamin E.

**Key words:** extracts, *myrtus communis L*, phenolic compounds, antioxidant activity, formulation of margarine.