

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences Alimentaires
Option : Industrie Corps Gras



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Enrichissement de la margarine en
caroténoïdes**

Présenté par :
AYAS Noura et MESSAOUDI Kamelia
Soutenu le 22/06/2017

Devant le jury composé de :

Mme GUERFI F.	MAA	President
Mr CHIKHOUNE A.	MCA	Examineur
Mme MERZOUK H.	MAA	Encadreur

Année universitaire : 2016 / 2017

Dédicaces

En signe de respect et de reconnaissance je dédie ce travail:

*À mes très chers parents que j'aime et je respecte énormément;
Qui, m'ont aidé et encouragé dans mes études.*

À mes chers frères et sœurs, qui n'ont jamais cessé de croire en moi.

À toute ma famille.

À mes chères amies: Sarah, Baya, Ghania et à tous mes amis.

*À ma camarade Kamelia, je la remercie pour ses efforts et sa
compréhension.*

À tous ceux qui me connaissent.

Noura

Dédicaces

Je dédie ce travail à ma chère mère qui m'a tout donné, encouragé et soutenu du mieux qu'elle a pu

A mes Oncles

A mes tantes et leurs époux

A ma camarade et sa famille

A mes ami(e)s qui m'ont soutenu

A tous ceux et celles qui ont contribué à la réalisation de ce travail

Kamelia

Remerciements

Nous tenons à remercier avant tout Allah le tout puissant de nous avoir données la santé, le courage, la volonté et la patience de réaliser ce modeste travail.

Nos remerciement vont tout particulièrement à :

- *Mme Marzouk H. de nous avoir encadré, et accompagné dans la réalisation de ce travail. Ces mots d'encouragement, ces remarques méthodologiques, ces explications, nous ont été d'une très grande aide.*
- *Mme Guerfi F. d'avoir accepté de présider ce modeste travail.*
- *Mr Chikhoune A. d'avoir accepté de lire et de juger ce modeste travail.*
- *Tous nos enseignants du cursus universitaire.*
- *Mr hadjal S. directeur de la direction R&D du complexe agroalimentaire Cevital de nous avoir permis de réaliser ce travail . Ainsi que Mr Zeroual B. de nous avoir aidé à réaliser notre travail et Mme boualit S. responsable du labo physico-chimie de la margarine pour nous avoir permis d'effectuer les analyses nécessaires.*
- *Au département de Technologie alimentaire de l'université M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES en particulier leur chef de département et Mr Zidani*

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Partie théorique

Chapitre I: Généralités sur la carotte et caroténoïdes

I.1. Carotte

I.1.1.Culture et conditions de culture..... 2

I.1.2 .Variétés, production régionale et nationale2

I.1.3. Composition biochimique.....4

I.2.Les Caroténoïdes

I.2.1. Classification.....5

I.2.2. Propriétés physico-chimiques.....5

Chapitre II: Margarine, Oxydation et antioxydants

II.1. Margarine

II.1.1. Définition.....8

II.1.2. Composition globale de la margarine8

II.1.3.Les types existant sur le marché.....8

II.1.4. Facteurs de détérioration de la margarine.....9

II.2. oxydation et antioxydants

II.2.1. Introduction.....11

II.2.2. Mécanisme d'autoxydation des lipides.....11

II.2.3. Comment agissent les caroténoïdes sur l'oxydation ?.....12

Matériel et méthodes

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Description et caractérisation des variétés de carottes.....	15
I.1.2. Caractérisation physico-chimiques de la carotte.....	15
I.1.3. Extraction et lyophilisation	17
I.1.3.1. Lyophilisation.....	17
I.1.3.2. Extraction des carotènes.....	17
I.1.3.3. Pouvoir anti-radicalaire des carotènes.....	18

I.2. Margarine

I.2.1. Elaboration de la margarine aux carotènes de carotte	19
I.2.2. Analyses physico-chimiques de la margarine.....	21
I.2.3. test de stabilité	25

Résultats et discussion

1. Description et caractérisation des variétés de carotte.....	26
1.1. Caractérisation physico-chimique de la carotte.....	26
1.2. Pouvoir anti-radicalaire des carotènes et du TBHQ.....	29
2. Margarine	
2.1 Analyse physicochimique	30
2.2 Stabilité oxydative.....	35
Conclusion	37

Références bibliographiques

Références électroniques

Liste des figures

Figure 1 : structure de quelques caroténoïdes.....	6
Figure 2 : diagramme de fabrication de la margarine.....	10
Figure 3 : schéma général de l'oxydation des lipides	13
Figure 4 : schéma récapitulatif de la partie pratique	14
Figure 5 : réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	18
Figure 6 : schéma de fabrication de la margarine à l'échelle laboratoire	20
Figure 7 : teneur en caroténoïdes des trois variétés de carotte.....	27
Figure 8 : teneur en sucres totaux des trois variétés de carotte.....	27
Figure 9 : teneur en polyphénols totaux des trois variétés de carotte.....	28
Figure 10 : pourcentage d'inhibition du radical DPPH des carotènes C1, C2, C3 et du TBHQ	29
Figure 11 : taux de sel dans les margarines incorporées	30
Figure 12 : taux d'humidité des margarines incorporées.....	31
Figure 13 : pH des margarines élaborées.....	32
Figure 14 : courbe de SFC des margarines en fonction de température.....	33
Figure 15 : variation de l'indice de peroxyde en fonction du temps de stockage des margarines incorporées.....	36

Liste des tableaux

Tableau I : zones de production en Algérie	3
Tableau II : Récapitulatif des superficies, des productions, des rendements et les taux d'accroissement national de l'année 2014/2015	3
Tableau III : représentatif de la production régionale.....	3
Tableau IV : composition chimique et nutritionnel de la carotte.....	4
Tableau V : quantités (ppm) de standards et de carotènes incorporées à la margarine	19
Tableau VI : caractéristiques des carottes étudiées.....	26
Tableau VII : teneur en eau des trois variétés de carottes.....	26
Tableau VIII : Teneur en solide (%) des margarines témoin et incorporées.....	33

LISTE DES ABREVIATIONS

¹O₂ : oxygène singulet

ACI : Agro Consulting International

BHA : Butyl Hydroxy Anisol

BHT : Butyl Hydroxy Toluène

DPPH : 2,2-Diphenyl-1-Picryl Hydrazyl

DSA : Direction des Services Agricole

EAG : Equivalent Acide Gallique

HO^o : radical hydroxyle

ITCMI : institut technique des cultures maraichères et industriel

INRA : institut national de la recherche agricole

mg eq G: milligramme équivalent glucose

RH : acide gras insaturé

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

R^o : radical alcoyle

ROO^o: radical peroxyde

ROOH: Peroxyde

SFC: Solid Fat Content

TBHQ : Tétrabutyle Hydro Quinone

R : red

Y : yellow

L'oxydation des lipides, est la cause principale de la détérioration de la qualité dans les systèmes alimentaires, elle peut conduire à une perte importante de la nutrition d'un aliment et provoquer un goût de rance et la formation de composés toxiques. Ce processus peut être engagé par l'exposition à l'enzyme lipoxygénase, ions catalyseurs métalloprotéines, la chaleur, les rayonnements ionisants, la lumière et le métal **Elias et al 2008**. Pour cette raison, des antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) et le tert-butylhydro-quinone (TBHQ) sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire comme inhibiteurs potentiels de l'oxydation des lipides **Scherer et Godoy 2009**.

Ces antioxydants présentent un nombre incalculable d'inconvénients que ce soit sur le plan économique ou sur la santé, car tout ce qui est d'origine synthétique donne des sous produits dont on ne connaît pas encore tous leurs dangers sur l'homme et l'environnement.

La préférence des consommateurs pour les produits naturels a entraîné un intérêt accru pour la recherche et l'utilisation d'antioxydants naturels présents dans les fruits et légumes qui pourraient aider à atténuer les processus d'oxydation (**Viuda-Martos, Ruiz Navajas et al. 2010**).

La margarine est une émulsion eau dans l'huile dont la teneur en lipides peut varier de 10 à 90% en poids, stabilisée par l'addition d'émulsifiants. Certains additifs sont autorisés afin de développer une aromatique spécifique ou apporter des molécules d'intérêt comme les vitamines, colorants ou antioxydants. Ils doivent être mentionnés dans la liste des ingrédients contenus dans le produit destiné à la consommation humaine (arrêté du 2 octobre 1997 version 2017 Annexe I-C).

L'objectif essentiel de cette étude est d'évaluer l'influence des caroténoïdes de la carotte sur la stabilité de la margarine, vu que la carotte est un légume de qualité, disponible tout au long de l'année et qu'elle possède un fort pouvoir antioxydant et colorant.

I.1. Carotte

La carotte (*Daucus carota*) est originaire du bassin méditerranéen ; de la famille des Apiacées.

Celle que l'on connaît dans nos jardins et sur les étals est une descendante de la carotte sauvage, qui est une des plantes les plus répandues. Cultivées depuis des siècles, les carottes étaient à l'origine blanches, jaunes ou violettes. Ce n'est qu'au 17^{ème} siècle, et grâce aux agriculteurs belges et hollandais, que les carottes sont devenues de couleur orange (**Anonyme 1**).

I.1.1. Culture et conditions de culture

La carotte est un légume qui n'a pas de grande exigence de culture car c'est un produit qu'on peut cultiver tout au long de l'année, elle nécessite :

- Température de germination optimum : 27°C.
- Température minimale de levée : 5°C. (**ITCMI, 2010**).

I.1.2 Variétés, production régionale et nationale

Les principales variétés de la carotte en Algérie sont : Super muscade, Muscade, Touchons - Nantaise améliorée (**ITCMI, 2010**).

La carotte muscade d'Algérie est peut être la meilleure variété pour sa saveur, c'est une semence qui a l'avantage d'être prête à l'arrachage 15 jours plus tôt que toute autre variété semée le même jour. Sa racine est d'autant plus appréciée qu'elle a le cœur moins volumineux. Les variétés à racine rouge sont les plus appréciées, celles à racine jaune sont moins estimées. Les variétés à racine blanche sont destinées à l'alimentation du bétail (**anonyme 2, 2010**).

✓ Zones de production nationales

Très répandue dans les régions du littoral (Alger, Boumerdes, Mostaganem), les hauts plateaux (M'sila, Oum el bouaghi, Sétif) et le sud (Adrar, Biskra, Ghardaia, El oued) ; Tableau I (**PROFERT, 2016**).

Le tableau indique qu'il y a 5 zones agro-écologiques de production de la carotte en Algérie. On constate que la production se concentre sur les hautes plaines du centre et de l'Est, le littoral centre et l'Est ; ces dernières ont la même période de fin de plantation (28/02), la durée du même cycle de culture (65-90 jours) et sont récoltés à la même période (30/07)

Généralités sur la carotte et les caroténoïdes

Tableau I : La Culture De La Carotte Par "Espace Agronome Algérien".(PROFERT, 2016).

Zones agro-écologiques	Zones administratives	Culture	Période de semis/plantation - début	Période de semis/plantation - fin	Dose de semences/matériel végétatif	Unité de mesure de densité de semis/plantation	Durée du cycle de culture	Période de récolte - début	Période de récolte - fin
Hautes plaines de l'Ouest	Tiaret, Saïda, Tissemsilt	Carotte	01/01	28/02	4-5	kg/ha	65-90 jours	01/06	20/06
Hautes plaines du Centre et de l'Est	Medea, Bordj-Bouarreridj, Sétif, Batna, Khenchela, Oum el Bouaghi, M'sila	Carotte	15/01	28/02	4-5	kg/ha	65-90 jours	15/06	30/07
Littoral Centre et Est	Blida, Boumerdes, Alger, Bejaïa, Skikda, Annaba, El Tarf- Jijel- Tipaza	Carotte	15/01	28/02	4-5	kg/ha	65-90 jours	15/06	30/07
Littoral Ouest	Oran- Mostaganem	Carotte	01/01	15/02	4-5	kg/ha	65-90 jours	01/06	20/06
Sud	Adrar, Ouargla, Laghouat, Gardaïa, El Oued, Biskra	Carotte	01/01	28/02	4-5	kg/ha	65-90 jours	15/05	15/06

Production régionale et nationale

✓ Production local

La production régionale se concentre dans la région d'Akbou à plus de quarante mille quintaux par hectares.

Tableau II : récapitulatif de la production régionale (DSA, 2015).

Communes	Tamokra	Akbou	Tazmalt	Ait rezïne	Beni-ksila	Ouzelaguen	Bouhamza	Total des Exploitations
Sup (ha)	1,00	2,00	2,00	1,00	4,00	1,00	1,00	12,00
Carottes Prod (qx)	150,00	430,00	300,00	60,00	60,00	290,00	50,00	1340

✓ Production nationale

Tableau III : Récapitulatif des superficies, des productions, des rendements et les taux d'accroissement national de l'année 2014/2015 (INRA, 2015)

Années	2014			2015			2014/2015		
	Sup (ha)	Prod (qx)	Rdt (qx/ha)	Sup (ha)	Prod (qx)	Rdt (qx/ha)	Sup (ha)	Prod (qx)	Rdt (qx/ha)
Carotte	18042	3868139	214.4	18649	3915631	210.0	3	1	-2

✓ Production mondiale

La carotte est cultivée pratiquement partout dans le monde, et elle fait partie des légumes les plus consommés sur la planète. Aujourd'hui, on ne dénombre pas moins de 500 variétés de carottes dans le monde. Chaque seconde, ce sont plus de 1.12 kilo de carottes qui sont produits dans le monde (compteur). La production mondiale des quelque 500 variétés de carottes est donc d'environ 35,5 millions de tonnes par an (2014) dont près de la moitié en Chine. (Anonyme 3).

I.1.3. Composition biochimique

La carotte est un légume important, tant pour les enfants que pour les adultes: une seule portion de 100 grammes couvre jusqu'à 200 % de nos besoins quotidiens en bêta carotène, un antioxydant connu pour son implication dans la lutte contre le vieillissement et la prévention des maladies cardiovasculaires et le cancer, sans parler de ses nombreux minéraux comme l'illustre le tableau IV, la carotte contient également des fibres bien tolérés par l'organisme(ACI, 2016).

Tableau IV : Composition chimique et nutritionnelle de la carotte (ACI, 2016).

<i>Les données de base</i>	<i>Crue</i>	<i>Cuite</i>
Calories (kcal pour 100 g)	36,3	27,7
Protides (g pour 100 g)	0.8	0.76
Glucides (g pour 100 g)	6.6	4.94
Lipides (g pour 100 g)	0.26	0.1
<i>Vitamine</i>	<i>Crue</i>	<i>Cuite</i>
Béta-carotène (µg pour 100g)	7260	3340
Vitamine B9 (µg pour 100 g)	52	24
<i>Minéraux</i>	<i>Crue</i>	<i>Cuite</i>
Potassium (mg pour 100g)	243	96.4
Calcium (mg pour 100g)	26.2	46
Magnésium (mg pour 100g)	11.9	10.7
<i>Oligoéléments</i>	<i>Crue</i>	<i>Cuite</i>
Sélénium (µg pour 100 g)	<1.33	1
iode (µg pour 100 g)	1.32	2

I.2. Les Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles qui contiennent une chaîne centrale hautement polyinsaturée. La structure de base des caroténoïdes est formée d'une longue chaîne hydrocarbonée en C18 ou alternent simples et doubles liaisons portant quatre groupements méthyles, et de cycles en C6 (β -ionone), situés à chacune des extrémités de cette chaîne.

I.2.1. Classification

Les caroténoïdes sont divisés en deux grands groupes :

On peut répertorier les caroténoïdes selon deux grandes classes : (1) les carotènes ou les caroténoïdes hydrocarbonés composés uniquement d'atomes de carbone et d'hydrogène (α -carotène, β -carotène, phytoène, lycopène, etc.), (2) : les xanthophylles ou les caroténoïdes oxygénés, qui contiennent en plus de la chaîne carbonée des fonctions époxy, carbonyle, hydroxyle, méthoxy ou acide carboxylique (violaxanthine, canthaxanthine, zéaxanthine, spirilloxanthine, torularhodine) **Rivera et Canela-Garayoa (2012)**. On peut classer les carotènes en deux sous-classes : les carotènes acycliques et les carotènes cycliques.

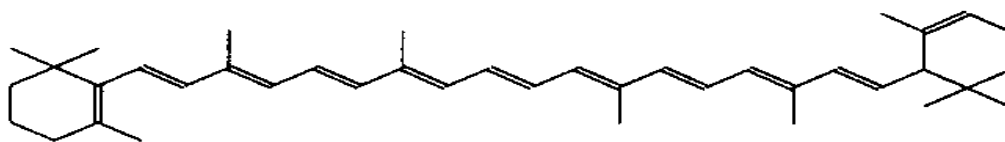
La figure n^o1 représente la structure de quelques xanthophylles et carotènes.

I.2.2. Propriétés physico-chimiques

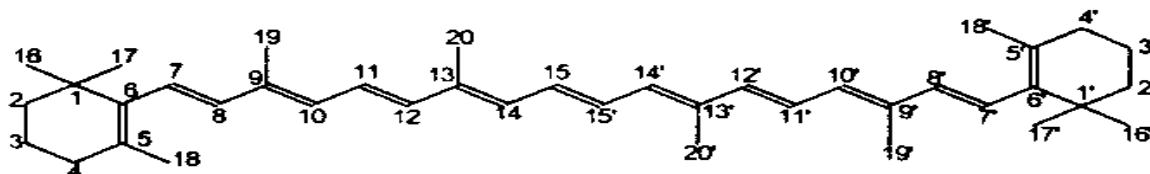
2.2.1. Solubilité

Ce sont des molécules extrêmement hydrophobes qui présentent donc une faible solubilité dans l'eau. La polarité des caroténoïdes varie d'un pigment à l'autre, suivant le groupe fonctionnel lié aux extrémités de la chaîne polyène. Ceci influence leur interaction avec les membranes biologiques et diverses molécules **Jomova et Valko (2013)**. Ils sont solubles dans les solvants organiques tels que l'acétone, l'éthanol, l'éther diéthylique, le chloroforme, et l'acétate diméthyle. Les carotènes, qui sont de façon générale apolaires, sont solubles dans l'hexane, le toluène et l'éther de pétrole. En revanche, les xanthophylles telles que la lutéine ou la Zeaxanthine sont des molécules très polaires, solubles dans le méthanol et l'éthanol (**Rodriguez-Amaya 2001**).

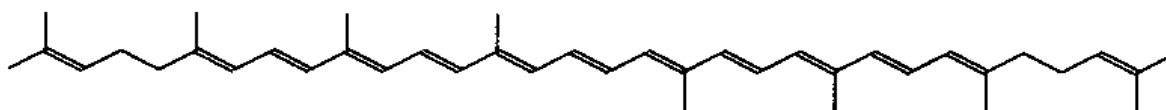
Généralités sur la carotte et les caroténoïdes



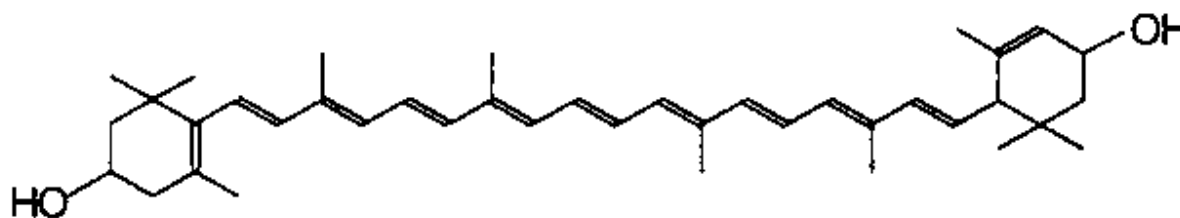
α -Carotène



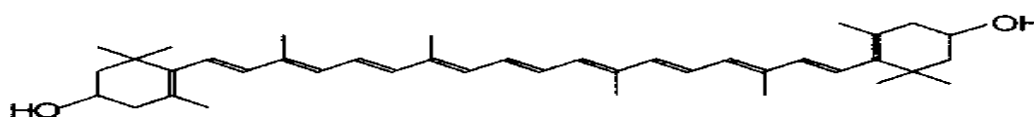
β -Carotène



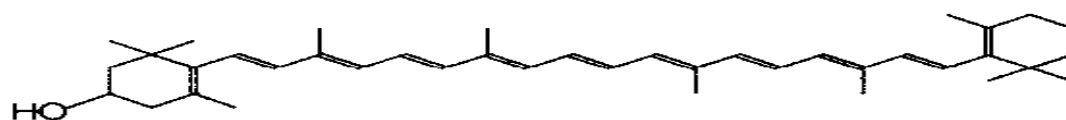
Lycopene



Lutéine



Zeaxanthine



β -Cryptoxanthin

Figures N^o1 : structure de quelques caroténoïdes (*Rodriguez-Amaya 2001*)

2.2.2. Absorption de la lumière UV-visible

Le système conjugué de doubles liaisons des caroténoïdes constitue le chromophore qui absorbe la lumière UV-visible généralement entre 400 et 600 nm. La majorité des caroténoïdes ont un spectre d'absorption avec 3 maxima, en relation avec leur structure chimique. Le nombre élevé de doubles liaisons conjuguées explique l'absorption dans le vert (**Meléndez-Martínez, Britton et al. 2007**).

2.2.3. Stabilité et réactivité des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont une famille de molécules thermolabiles, sensibles à la température et à l'oxygène. Leurs structures chimiques insaturées les rendent peu stables et très réactives (**Lemmens, Colle et al. 2014**)

II.1. Margarine

II.1.1. Définition

La margarine est une émulsion de type eau dans l'huile qui comprend deux phases : une continue (grasse) et une autre dispersée (aqueuse). Elle contient aussi des additifs (lécithine, sel, colorant, antioxydant, vitamines, etc.).

La définition complète de la margarine est donc celle d'un système polydispersé de corps gras à l'état solide et à l'état liquide d'eau et/ou de lait, d'ingrédients et quelque fois des bulles de gaz (**Karleskind, Wolff *et al.* 1992**).

II.1.2. Composition globale de la margarine

Selon **Karleskind, Wolff *et al.* (1992)**, toutes les margarines ont en général une composition globale identique ; une phase grasse qui constitue 80 % à 82 %, une phase aqueuse (16 % à 18 %) et un tensioactif.

2.1 Composition de la phase grasse :

- Mélange d'huiles et de graisses ;
- Additif liposoluble (mono et/ou diglycéride, lecithine),
- Colorant et conservateur,
- Antioxydant ;

2.2 Composition de la phase aqueuse

- Eau et/ou lait ;
- Additif hydrosoluble ;
- Arômes et conservateurs ;
- Correcteur de pH.

II.1.3..Les types de margarine existants sur le marché

La majorité des margarines existant sur le marché sont composées essentiellement d'une phase grasse végétale et contiennent des acides gras polyinsaturés et mono-insaturés ; elles diffèrent les unes des autres par leur teneur en acide gras ; on a :

- Margarine allégée (60 à 62% de matière grasse) ;
- Margarine entière (au moins 80% de matière grasse) ;
- Margarine spéciale cuisson ;

Margarine, oxydation et antioxydants

- Margarine de santé.

II.1.4. Facteurs de détérioration de la margarine

- Les matières grasses s'altèrent essentiellement à cause de différents facteurs qui peuvent être d'ordre physique, chimique ou bactériologique.
- la lumière : en particulier les rayons UV qui exercent une action catalytique ;
- la température élevée et la durée de stockage ;
- la présence de germes lipolytiques ;
- le taux d'insaturation que contient la phase grasse ;
- l'exposition de la margarine à l'oxygène atmosphérique.

La figure n°2 représente l'ensemble des opérations de fabrication d'une margarine qui comprend plusieurs étapes.

Margarine, oxydation et antioxydants

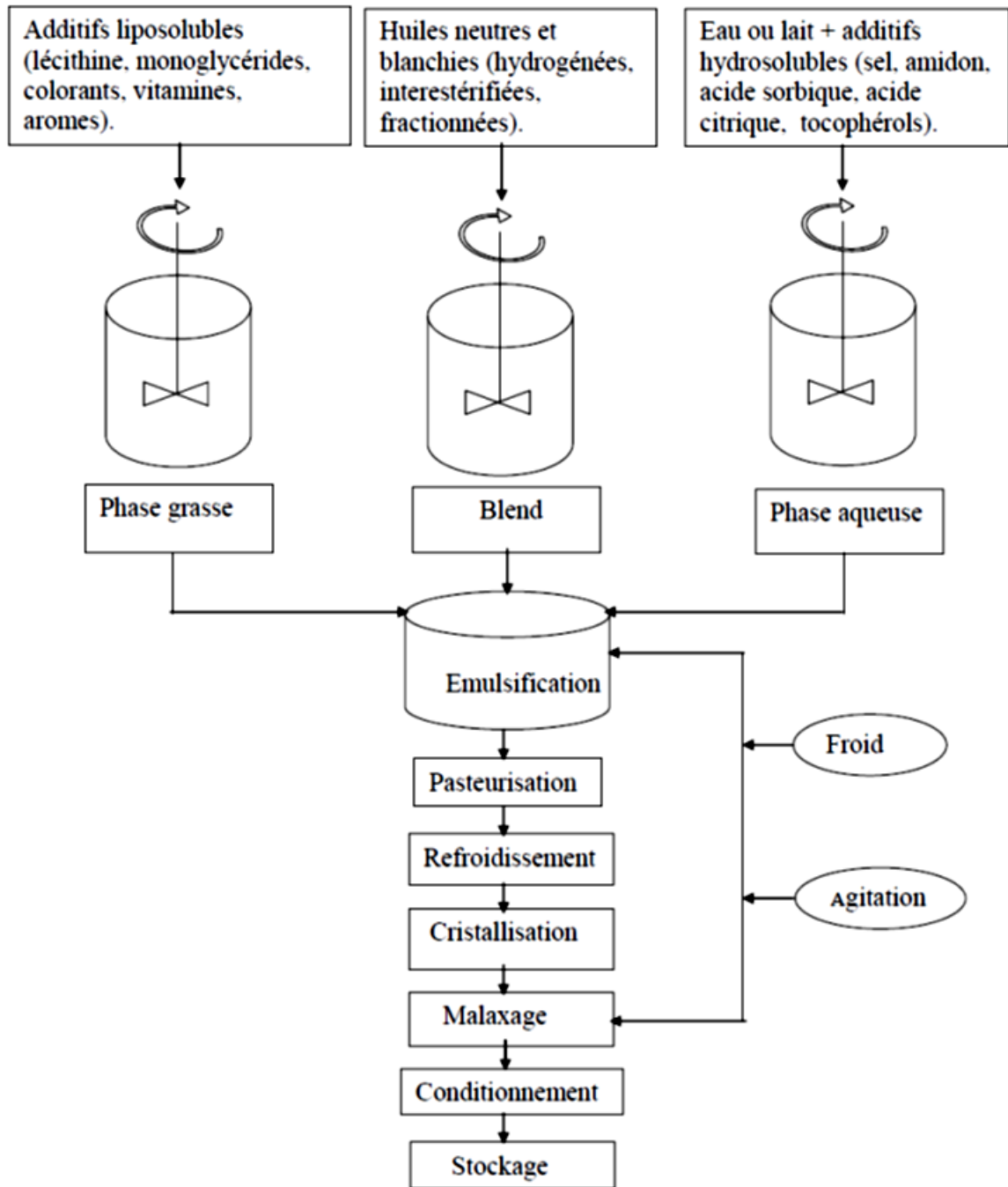


Figure n° 2 : Diagramme de fabrication de la margarine (Cossut *et al.* 2002)

II.2. Oxydation et antioxydants

II.2.1. Introduction

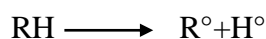
La matière grasse peut subir des altérations majeures lors de la fabrication et de la conservation causée par la présence d'acides gras insaturés. Il existe plusieurs types d'oxydations qui mettent en œuvre des mécanismes réactionnels très différents, aboutissant au rancissement oxydatif ou hydrolytique. Les altérations conduisant au rancissement oxydatif sont l'autoxydation, l'oxydation enzymatique et la photooxydation; catalysées par les métaux lourds et les radicaux libres, les lipooxygénases et les molécules photosensibles respectivement. Les produits primaires de ces oxydations sont des hydroperoxydes qui peuvent générer, après leurs dégradations des composés de faible poids moléculaire (carbonyles, alcools, acides,...) qui peuvent être volatiles ou non volatiles. A ce stade, la flaveur de « rance » se développe dans le lipide altéré ; ce qui réduit sa qualité marchande, nutritionnelle, organoleptique et conditionne directement sa durée de vie. Ces altérations se caractérisent par une forte acidité et un indice de peroxyde élevé.

II.2.2. Mécanisme d'autoxydation des lipides

L'autoxydation des lipides passe par 3 stades (initiation, propagation et terminaison) qui sont illustrés dans la figure n°3

II.2.2.1. Initiation

Cette première étape peut être modulée par de nombreux facteurs, comme le chauffage ou l'exposition à la lumière **Karleskind, Wolff et al. (1992)**, elle se caractérise par la formation des premiers radicaux libres (R°) à partir des acides gras insaturés (RH). Selon la réaction suivante :



II.2.2.2. Propagation

Est une réaction radicalaire en chaîne où les radicaux libres formés réagissent avec l'oxygène moléculaire pour former des radicaux peroxydes (ROO°). **Fazzalari.(1978)**. Ensuite, ces radicaux peroxydes (ROO°) vont réagir avec les acides gras pour former des hydroperoxydes ($ROOH$) et de nouveaux radicaux libres ($R^{\circ\prime}$), engageant ainsi de nouveaux cycles réactionnels. Les hydroperoxydes, produits primaires de la réaction, sont des molécules

Margarine, oxydation et antioxydants

instables. Ils se décomposent sous l'effet de la chaleur ou des métaux en donnant naissance à des produits secondaires.

II.2.2.3. Terminaison

Ce stade est caractérisé par la formation des espèces non radicalaires volatiles (cétones, aldéhydes, alcool) et d'autres non volatiles (Epoxydes, Ether-oxydes, Oxy-monomère/dimère).

II.2.3. Comment agissent les caroténoïdes sur l'oxydation ?

Les caroténoïdes, grâce à leurs longues chaînes polyinsaturées, sont de bons piègeurs de radicaux libres, dont le mécanisme d'action est de piéger les radicaux libres et l'oxygène singlet ($^1\text{O}_2$) **Grolier, Agoudavi et al. (1995)**.

Un radical libre est une espèce très réactive peut être une molécule ou un atome possédant un ou plusieurs électrons non appariés dont l'intérêt est de combiner son manque d'électrons, par contre l'oxygène singlet $^1\text{O}_2$ se trouve à l'état excité (ne possédant pas d'électron non apparié).

➤ Selon ce schéma :

1. $\text{ROO}^\circ + \text{CAR} \rightarrow \text{ROO-CAR}^\circ$
2. $\text{ROO-CAR}^\circ + \text{O}_2 \leftrightarrow \text{ROO-CAR-OO}^\circ$

Transfer d'électron

1. $\text{CAR} + \text{R}^\circ \leftrightarrow \text{CAR}^{+\circ} + \text{R}^-$
2. $\text{CAR} + \text{O}_2^{-\circ} \leftrightarrow \text{CAR}^{-\circ} + \text{O}_2$

Transfers d'hydrogène

1. $\text{CAR} + \text{ROO}^\circ \rightarrow \text{CAR}^\circ + \text{ROOH}$
2. $\text{CAR}^\circ + \text{CH}_3\text{OH} \rightarrow \text{CAR-OCH}_3 + \text{H}^\cdot$

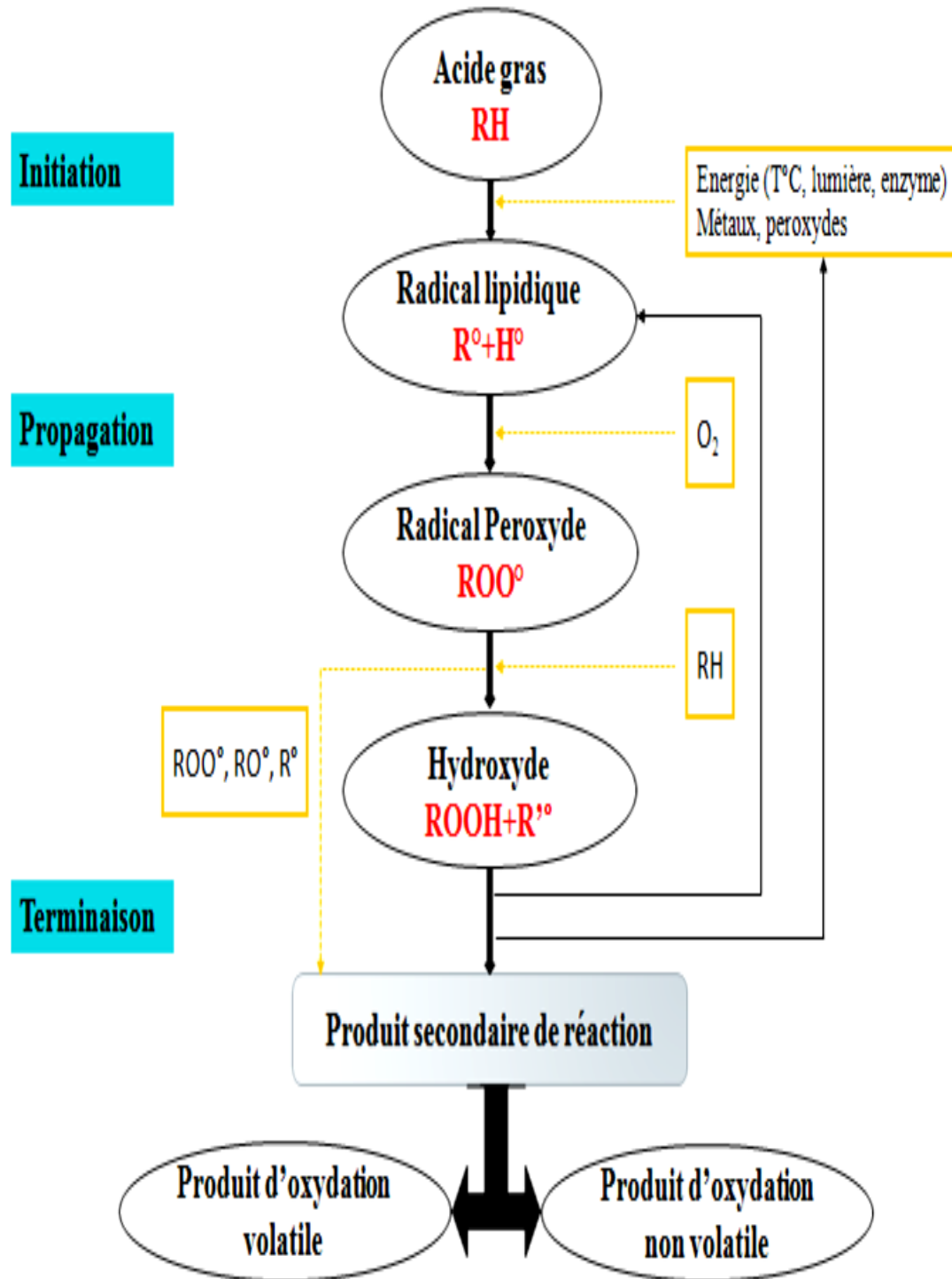


Figure n°3: Schéma général de l'oxydation des lipides (Eymard (2003))

Dans le cadre de notre recherche, il est question de formuler une margarine enrichie de carotènes de trois variétés de carottes, de caractériser ces dernières, d'en juger la qualité physico-chimique de chacune des margarines incorporées. Dans cette étude nous comparerons également les résultats avec ceux obtenus par les antioxydants synthétiques. Le schéma ci-dessous (figure n°4) regroupe les procédures et analyses effectuées dans la présente étude.

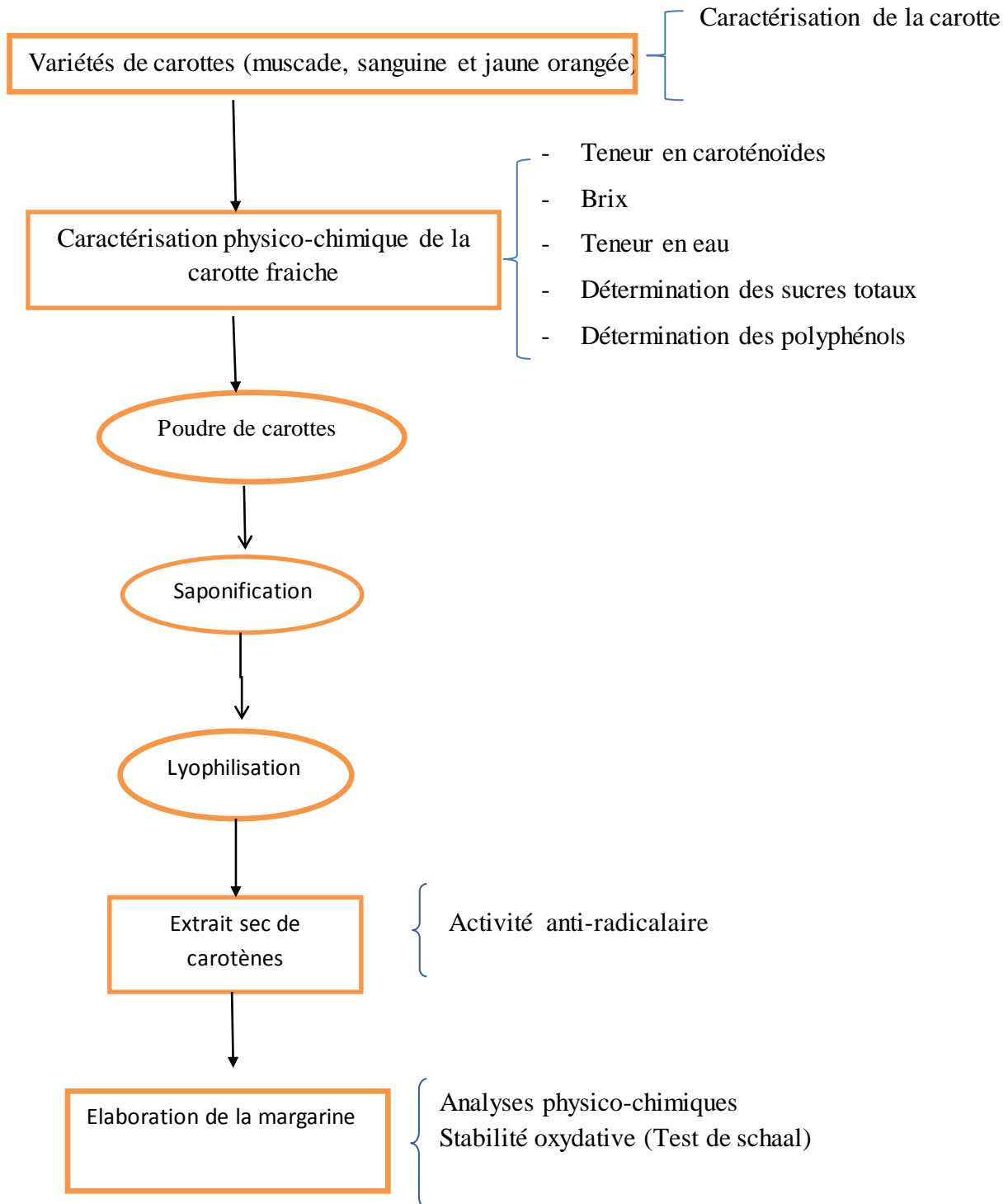


Figure n°4 : schéma récapitulatif de la partie pratique

I.1. Matériel végétal

I.1.1. Description et caractérisation des variétés de carottes

Les variétés de carottes étudiées sont la Muscade, Jaune orangée et la Sanguine, récoltées fin Mars des champs de cultures maraichères des wilayas : Sidi-Bel-Abbès et Ghardaïa. Une sélection de dix carottes a été prise comme échantillons caractéristiques dont on a mesuré le poids à l'aide d'une balance analytique, la longueur et l'épaisseur à l'aide d'un pied à coulisse.

I.1.2. Caractérisation physico-chimiques de la carotte

❖ Préparation de l'échantillon

Les carottes ont été transportées au laboratoire pour être lavées et débarrassées des impuretés et de la partie non comestible (feuilles) ; ensuite elles ont été râpées finement et congelées à (-80°C) ; avant d'être lyophilisées.

I.1.2.1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est déterminée sur un échantillon de 02 g finement coupé en rondelles puis séchés dans une étuve à 105° C jusqu'à obtention d'un poids constant (**Doymaz et al.2004**).

Le taux d'humidité est déterminé par la formule suivante :

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

H (%) : humidité exprimée en pourcentage massique ; **P1** : poids du bécher vide en gramme (**g**) ; **P2** : poids de la prise d'essai en gramme (**g**) ; **P** : poids du bécher contenant l'échantillon après chauffage (**g**).

I.1.2.2. Détermination du taux de résidu sec soluble (Brix)

On entend par résidu sec soluble (déterminé par réfractométrie) la concentration en saccharose d'une solution aqueuse ayant le même indice de réfraction que le produit analysé, dans les mêmes conditions de préparation et de température. Cette concentration est exprimée en pourcentage de masse (**Sofiane 2009**).

Mode opératoire

Une goutte de jus de carotte a été disposée sur le réfractomètre de paillasse, avant d'effectuer la lecture des graduations.

I.1.2.3. Dosage des caroténoïdes totaux

Un échantillon de 0,5 g de carottes fraîches râpées est ajouté à 20ml d'un mélange de solvants: hexane, acétone, éthanol (2v, 1v, 1v). Après agitation pendant 30 min, le surnageant est récupéré. 10 ml d'hexane sont ajoutés au culot pour une deuxième extraction, et le surnageant est récupéré. Ensuite, ces deux surnageants sont mélangés, et l'absorbance mesurée à 450 nm. La concentration des caroténoïdes est exprimée en mg équivalent gramme de β -carotène dans 100g de carotte fraîche, en se référant à la courbe d'étalonnage (**Sass-Kiss, Toth-Markus et al. 2009**)

I.1.2.4. Dosage des sucres totaux

La méthode adoptée pour la détermination de la teneur en sucres totaux est la méthode de **DuBois, Gilles et al. (1956)** La destruction des sucres complexes en sucres simples en présence d'acide sulfurique, et à une haute température, s'ensuit la formation de furfuraldéhyde, qui se combine avec le phénol pour donner un complexe marron.

Mode opératoire

- On écrase 1g de carotte fraîche, de chaque variété ;
- Ensuite, 1 ml de jus de carotte dilué est rajouté à 1 ml de la solution de phénol à 5% ;
- A ce mélange on ajoute 5 ml d'acide sulfurique concentré suivi d'un chauffage à 150°C pendant 3 min ;
- Après 30 min à l'obscurité, la lecture des absorbances est effectuée à 487 nm.
- Les teneurs ont été estimées en se référant à la courbe d'étalonnage à l'aide d'une solution de glucose, et les résultats sont exprimés en mg équivalent de glucose /100g de carotte fraîche.

I.1.2.5. Extraction et dosage des composés phénoliques totaux

Principe

La teneur en composés phénoliques des différentes variétés de carotte a été déterminée par la méthode de **Ribereau-Gayon sGautheret(1968)** citée par (**Li, Cheng et al. 2007**). La teneur des polyphénols est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) du réactif de folin par les groupements oxydables des composés phénoliques conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu (oxyde tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_{32}). Ces derniers

présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de phénols présente dans l'échantillon (**Georgé, Brat *et al.* 2005**).

➤ **Extraction**

2 g de carotte auxquels sont ajoutés 20 ml d'acétone à 70%, sont macérés sous agitation pendant 2 h après extraction, le mélange est centrifugé et le surnageant est récupéré.

Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques des échantillons est déterminée suivant la méthode de **Negi, Jayaprakasha *et al.* (2003)** :

200 µl d'extrait ont été ajoutés à 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois avec l'eau distillée) et 800 µl de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (7.5%). L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 765 nm, après 30 min d'incubation à l'obscurité

Expression des résultats :

La concentration en composés phénoliques des extraits est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique préparé dans le même solvant. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique/100 g de carottes fraîches.

I.1.3. Extraction et lyophilisation

I.1.3.1. Lyophilisation

Principe

La lyophilisation est une méthode utilisée pour déshydrater les échantillons de carottes afin d'avoir une poudre, elle offre beaucoup d'avantages tels que le maintien de la qualité et la réduction du poids de ce légume. C'est un moyen approprié de conserver les échantillons devant être stockés avant l'extraction des carotènes.

I.1.3.2. Extraction des carotènes

10 g de poudre de carotte lyophilisée de chaque variété sont introduites dans une fiole, on ajoute 60 ml de KOH méthanolique à 10%, et on le laisse sous agitation magnétique et en obscurité pendant 2 h à 40° C. Après la saponification, l'échantillon obtenu est transvasé dans une ampoule à décanter, on y ajoute 60 ml d'eau distillée, 30 ml d'hexane, et 3 ml de méthanol. L'hexane contenant les carotènes et d'autres composés lipidiques solubles est récupéré et stocké à 4° C. A ce qui reste dans l'ampoule à décanter on ajoute 30 ml d'hexane,

et 3 ml de méthanol. On extrait les carotènes de l'échantillon jusqu'à ce que le mélange aqueux devienne incolore. On mélange les différentes phases de l'hexane et on procède au lavage à l'eau distillée plusieurs fois afin d'éliminer toute les impuretés alcalines. Ensuite, l'extrait est filtré en utilisant du sulfate de sodium anhydre sur le papier whatman pour éliminer les résidus d'eau. L'hexane est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif à 30° C avant la lyophilisation des extraits(Calvo 2005).

La lyophilisation est réalisée afin d'éliminer toute trace de solvants résiduels dans les extraits destinés à être incorporées dans la matrice alimentaire qu'est la margarine.

I.1.3.3. Pouvoir anti-radicalaire des carotènes.

L'évaluation de l'activité anti-radicalaire des carotènes de la carotte est estimée selon la méthode de **Ramadan and Moersel (2006)** sur le radical DPPH . Cette dernière se base sur la capacité des antioxydants à réduire le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) qui est de couleur violette en solution vire vers une couleur jaunâtre quand son électron célibataire est apparié avec un hydrogène provenant d'un antioxydant (**Boskou, Salta et al. 2006**).

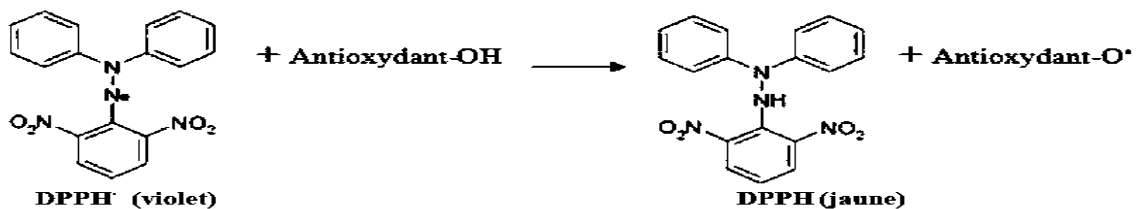


Figure n°5 : réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH(Molyneux 2004).

Mode opératoire

Un volume de 1 ml de solution de DPPH a été préparé dans le toluène est additionné de 0.1 ml d'extrait de caroténoïdes à différentes concentrations. Le mélange est agité pendant 10 s et incubé à l'obscurité pendant 60 min. L'absorbance est mesurée à 515 nm.

Expression des résultats

L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la formule suivante :

$$(\%) \text{d'inhibition du DPPH} = \frac{Ac - Ae}{Ac} * 100$$

Ac : absorbance du control

Ae : absorbance de l'échantillon (extrait)

I.2. Margarine

I.2.1. Elaboration de la margarine aux carotènes de carottes

- Formulation de la margarine à l'échelle laboratoire

La margarine élaborée est constituée d'une phase aqueuse qui contient de l'eau, de la poudre de lait, du sel, et du sorbate de potassium et d'une phase grasse contenant le blend (huile de palme, équivalent soja hydrogéné et tournesol), de l'émulsifiant mono et di glycéride, de carotènes de la Muscade (C1), de la Sanguine (C2) et de la Jaune orangée (C3) ou d'antioxydant standard (TBHQ, BHT, BHA et B-carotène). L'acide lactique est ajouté exceptionnellement dans cette phase pour éviter la coagulation du lait durant le mélange des deux phases. 3 kg de margarine ont été élaborées pour un total de 07 barquettes de 500 g chacune. 04 barquettes incorporées de 22 ppm de chaque standard, 03 barquettes de même poids sont incorporées de 100 ppm d'extrait de carotènes C1, C2 et C3 comme indiqué dans le tableau V et la figure n°06,

Tableau V : quantités (ppm) de standards et de carotènes incorporées à la margarine

Matière première	Margarine							
	Margarine témoin	BHA	BHT	TBHQ	B-carotène	C3	C2	C1
BHA	0	22 ppm	0	0	0	0	0	0
BHT	0	0	22 ppm	0	0	0	0	0
TBHQ	0	0	0	22 ppm	0	0	0	0
β carotène	0	0	0	0	22 ppm	0	0	0
Jaune orangée	0	0	0	0	0	100 ppm	0	0
Sanguine	0	0	0	0	0	0	100 ppm	0
Muscade	0	0	0	0	0	0	0	100 ppm

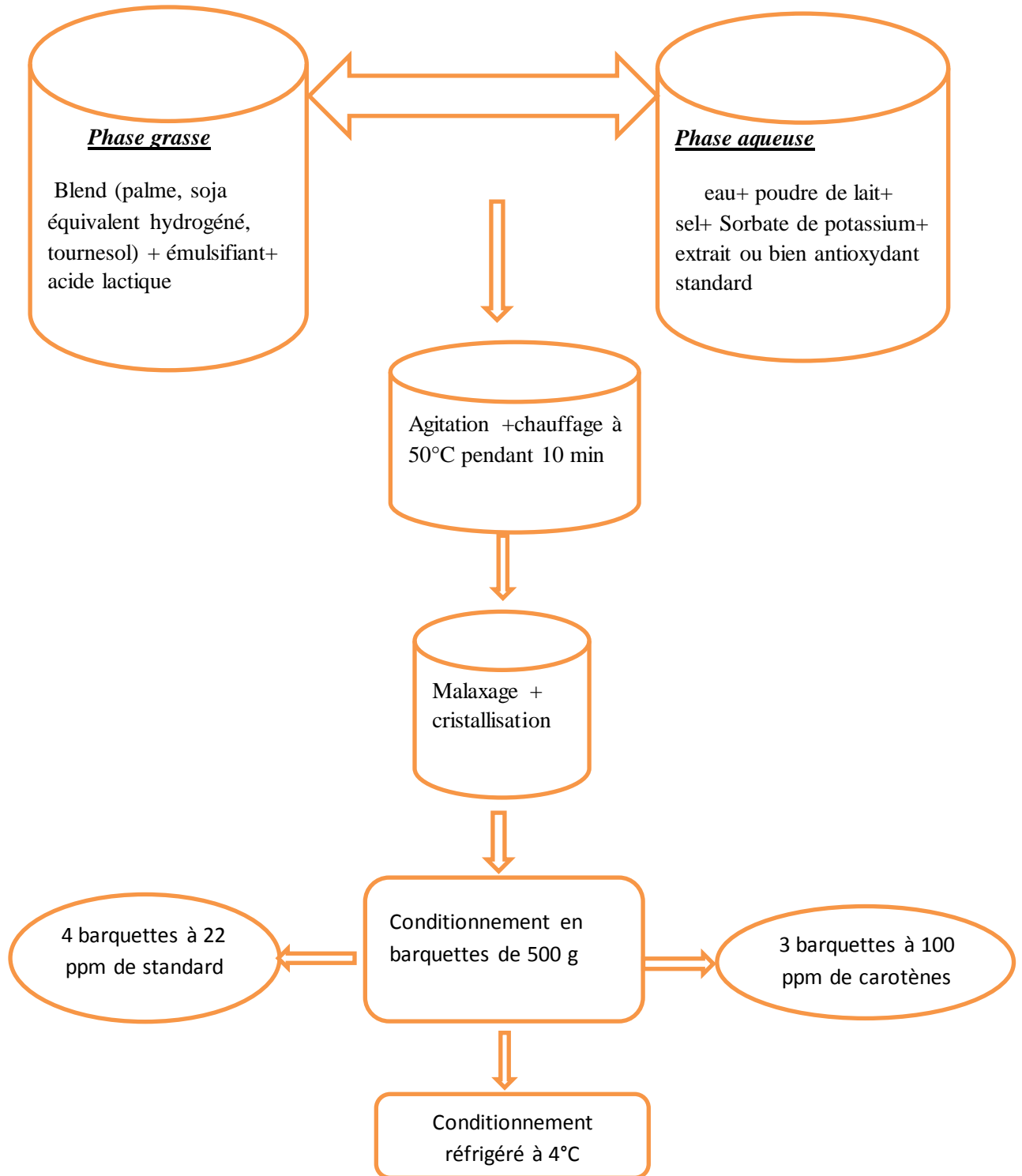


Figure n°6: Schéma de fabrication de la margarine à l'échelle laboratoire

I.2.2. Analyses physico-chimiques de la margarine

I.2.2.1. Taux de sel (NE. 1. 2.429, 1989)

Définition

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

Principe

Consiste à titrer les chlorures contenus dans la prise d'essai, par une solution de nitrates d'argent (AgNO₃) et en présence d'indicateur coloré (chromate de potassium, K₂CrO₄), selon la méthode de Mohr.

Mode opératoire

On pèse 5 g de margarine dans un Erlenmeyer sec, on y ajoute 100 ml d'eau distillée préalablement chauffée. On laisse sous agitation jusqu'à refroidissement total. Ensuite, quelques gouttes de chromate de potassium sont ajoutées, avant de titrer avec la solution de nitrate d'argent jusqu'à obtention de la couleur rouge brique.

Expression des résultats

Le taux de sel est calculé selon la formule suivante :

$$\text{sel (\%)} = \frac{V * N * PM}{10 * P} * 100$$

V : chute de burette (volume en ml d'AgNO₃ utilisé pour le titrage) ;

PM : masse molaire de NaCl (58.44 g/mol)

N : Normalité d'AgNO₃ (0.1 N) ; *P* : prise d'essai en g

Sel (%) : taux de sel exprimé en %.

I.2.2 2 Taux d'humidité (NE 1. 2-47, 1985)

Définition

C'est la perte en masse subie par le produit chauffé à 103 ± 2 °C dans les conditions spécifiques.

Principe

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

Mode opératoire :

Peser le bécher vide (p1) et le poids de la prise d'essai (p2), déposer sur une plaque chauffante, en agitant soigneusement de temps à autre afin d'éviter la formation de gouttelettes d'eau sur les parois du bécher, puis laisser refroidir dans un dessiccateur. Peser le bécher contenant l'échantillon jusqu'à avoir un poids (p) stable.

Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

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

H (%) : humidité exprimée en pourcentage massique ; **P1** : poids du bécher vide en gramme (g) ; **P2** : poids de la prise d'essai en gramme (g) ; **p** : poids du bécher contenant l'échantillon après chauffage (g).

I.2.2 3. Détermination du pH de la phase aqueuse par la méthode potentiométrique (NE. 1. 2.430, 1989)

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, et exprimée en unité de pH.

Principe

Mesure de la différence de potentiel entre une électrode de verre et une électrode de référence dans la phase aqueuse séparée de la margarine fondue.

Mode opératoire :

Etalonner le pH-mètre par l'eau distillée à pH =7 puis 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 unités de pH près, sur l'appareil.

I.2.2 4. Détermination du point de fusion (NE. 1. 2.91, 1988)

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.

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, à une certaine température.

Mode opératoire :

Après avoir fondu une quantité de margarine, on obtient un blend qui est filtré puis introduit dans deux tubes capillaires en verre sur une hauteur de 1 cm, les refroidir au réfrigérateur (20 min) fixer les deux capillaires à une pince en bois. La pince est suspendue sur les côtés du bécher et les deux capillaires sont immergés dans l'eau osmosée. Ensuite, le milieu est chauffé lentement (0.5°C/min) dans un bain-marie. On observe attentivement et on note la température à laquelle les colonnes d'huile commencent à remonter dans les tubes.

Expression des résultats

La température notée correspond au point de fusion de la margarine exprimée en °C.

I.2.2 5. Détermination du taux de solide par RMN (NF EN ISO 8292 T60-250, 1995)

La détermination du taux de solide du corps gras est effectuée à l'aide d'un spectromètre de résonance magnétique nucléaire (RMN) pulsée basse résolution, de type minispec mq 20, Germany (Villière *and* Genot 2006).

Principe

L'échantillon est tempéré dans un état stable à une température spécifique et ensuite chauffé et stabilisé à la température de mesure. Les températures de mesure sont : 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40°C. Après équilibrage électromagnétique dans le champ magnétique statique du spectromètre RMN et l'application d'une impulsion de radiofréquence à 90°, le signal de décroissance de magnétisation des protons dans la phase liquide uniquement est mesuré et les corps gras solides sont calculés en référence à un échantillon étalon constitué entièrement de corps gras liquides.

Mode opératoire

La méthode indirecte dite aussi standard consiste à faire préparer des tubes d'échantillons d'huiles bien mélangés après avoir fait fondre la margarine. Ces tubes doivent être remplis à hauteur de 3 cm avant d'être essuyés. Après, on procède à des incubations : 15 min à 100°C, 5 min à 60°C, 60 min à 0°C, 30 min à 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 °C en faisant la lecture pour chaque température. Les résultats sont donnés par le logiciel de l'appareil en pourcentage de solides.

I.2.2 6. Détermination de l'indice de peroxyde (ISO 3960 Quatrième édition 2007)

Définition

L'indice de peroxyde représente la quantité des substances de l'échantillon (exprimée en milliéquivalent d'oxygène actif par kg du corps) qui oxyde l'iodure de potassium.

Principe

C'est le traitement d'une prise d'essai en solution dans l'acide acétique et de chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI). Titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

Mode opératoire

A 5 g de margarine à 0.01 g près dans un Erlenmeyer on ajoute 12 ml de chloroforme et 18 ml d'acide acétique puis on incorpore à cette solution 1 ml d'iodure de potassium (KI) de concentration 0.5 g/ml. Agiter la solution et mettre à l'abri de la lumière pendant une minute puis ajouter 75 ml d'eau distillée et on mélange vigoureusement en présence d'empois d'amidon (0.005 g/ml). Titrer avec le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) à 0,01 N et parallèlement effectuer un essai à blanc (sans margarine) jusqu'à décoloration totale de la solution.

Expression des résultats :

L'indice de peroxyde est donné par la relation suivante :

$$IP\left(\frac{\text{m}é\text{q}\text{O}_2}{\text{kg}}\right) = N * (v1 - v0)*1000/p$$

I_p : indice de peroxyde exprimé en milliéquivalent gramme d'oxygène actif par kilogramme de matière grasse ;

V_0 : volume de la solution de thiosulfate de sodium pour l'essai à blanc en ml;

V_1 : volume de thiosulfate de sodium utilisé en ml;

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium 0,01 N;

P : prise d'essai en gramme.

I.2.2 7. Détermination de la couleur :

Le Lovibond PFX880 fonctionne comme un colorimètre autonome contenant une source de lumière et un collimateur normalisé, une chambre d'échantillonnage avec un appareil de chauffage optionnel, un détecteur de lumière, un monochromateur et une carte de processeur. Les longueurs d'ondes sur la plage de 420 à 710 nm sont isolées par les 16 filtres à interférence à bande étroite, sélectionnés automatiquement en séquence rapide.

La valeur obtenue par analyse de la lumière transmise au travers d'une épaisseur connue de corps gras liquide et lue sur le dispositif d'affichage de l'appareil (anonyme).

I.2.3. Test de stabilité ; méthode à l'étuve

Test de schaal

Le test consiste à oxyder la matière grasse dans une étuve à 30°C et suivre l'indice de peroxyde pendant 3 semaines. La mise en évidence de l'oxydation est montrée par la mesure de l'indice de peroxyde sur des prélèvements faits deux fois par semaine. Elle a l'avantage de se rapprocher des conditions réelles de stockage(**Sofiane 2009**).

Résultats et discussion

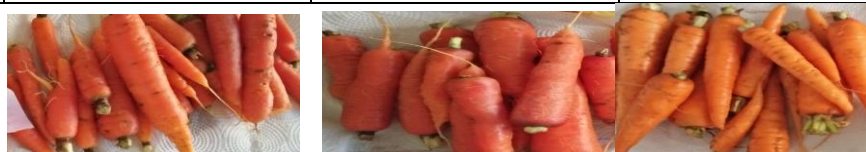
1- Matériel végétal

1.1. Description et caractérisation des variétés de carotte

Le tableau VI représente les principales caractéristiques des trois variétés de carottes de la présente étude

Tableau VI : caractéristiques des carottes étudiées

Variétés / Caractéristique	Muscade	Sanguine	Jaune orangée
Couleur	Orange	Orange vif	Jaune vif
Largeur (cm)	2,5	2	3,5
Longueur (cm)	12,47	11,82	11,09
Goût	Moyennement sucrée	Sucrée	Peu sucrée
Masse (g)	407	620	545



1.2. Caractérisation physico-chimique de la carotte

1.2.1. Teneur en eau

Les résultats obtenus de la teneur en eau sont exprimés en pourcentage (%) comme le montre le tableau VII

Tableau VII : teneur en eau des trois variétés de carottes Musc

Variétés	Muscade	Jaune orangée	Sanguine
H%	93,02±1,34	89,33±6,81	77,33±19,4

Les aliments à haute teneur hydrique nous apportent l'eau dont notre organisme à besoin et la carotte crue est un légume très riche en eau puisqu'elle apporte l'équivalent de 90% d'eau. En effet, d'après les résultats obtenus de la teneur en eau, celle-ci varie en fonction de la variété avec un maximum de 93,02% pour la variété Muscade et un minimum de 77,33% pour la variété Sanguine, cela peut s'expliquer par la différence phénotypique des variétés étudiées, les facteurs climatiques, la qualité du sol et son irrigation.

Résultats et discussion

1.2.2. Teneur en caroténoïdes

Les carottes sont riches en caroténoïdes ce qui est montré dans la figure n°7 .

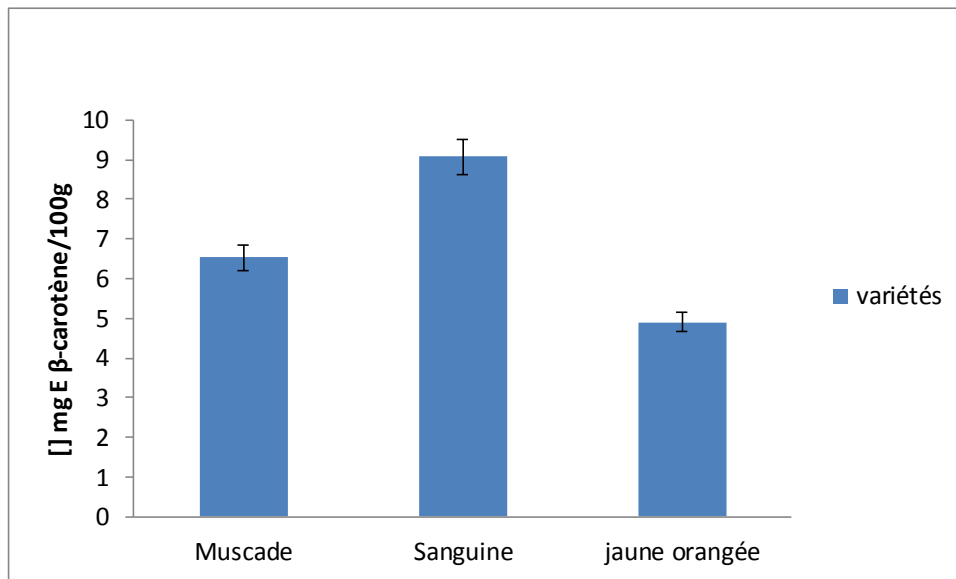


Figure n° 7: teneur en caroténoïdes des trois variétés de carotte.

De l'histogramme on voit que la teneur en caroténoïdes la plus élevée est celle de la variété Sanguine suivie de la Muscade, puis de Jaune orangée. Ce qui peut expliquer l'intensité de couleur de la variété Sanguine. 6.525 mg/100 g \pm 0.069 pour la muscade, 9.064 mg/100 g \pm 0.105 sanguine et 4.901 mg/100 g \pm 0.180 jaune orangée.

1.2.3. Dosage des sucres totaux

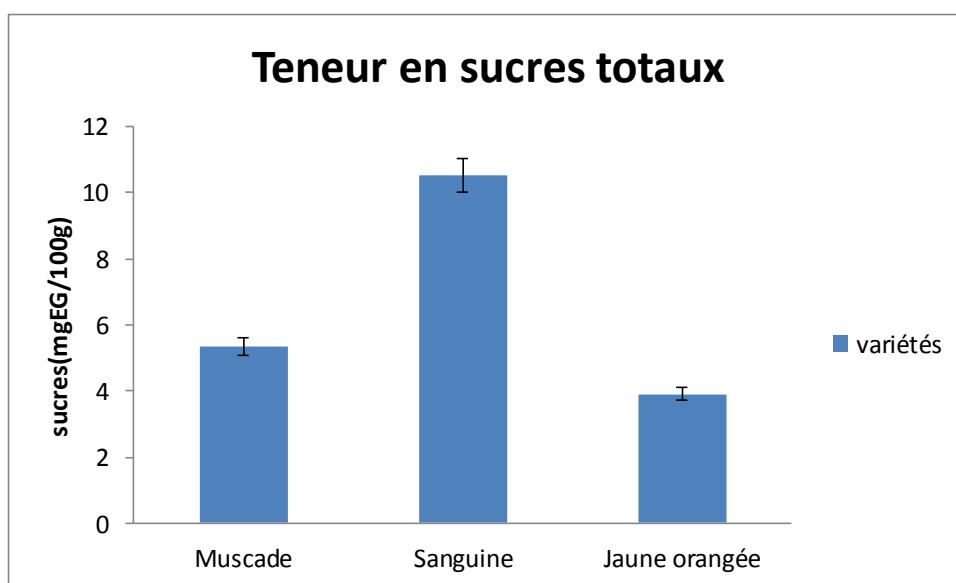


Figure n° 8 : Teneur en sucres totaux des trois variétés de carotte.

Résultats et discussion

Des résultats obtenus du dosage des sucres totaux, on constate que la variété sanguine est extrêmement riche en sucres totaux (10.52 mg eq G/100 g), suivie de la variété Muscade avec 5.35 mg eq G/100 g de carotte puis de la Jaune orangée avec 3.91 mg eq G/100 g de carotte.

Les teneurs obtenues sont cohérentes avec celles rapportées dans la bibliographie. Effectivement, la concentration en glucides de la carotte crue sont proches des concentrations moyennes présentes dans les légumes (glucides : 5.47 g pour 100 g en moyenne) (Alasalvar et al.2001)

1.2.4. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols sont des substances à effet antioxydant. Les résultats du dosage de ces substances sont illustrés dans la figure n°9

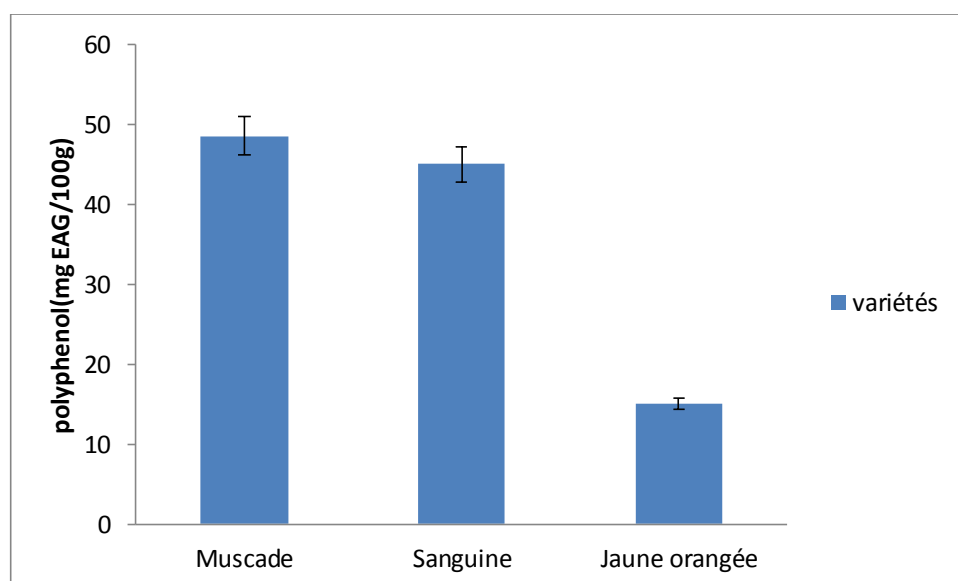


Figure n°9 Teneur en polyphénols totaux des trois variétés de carotte

La teneur en polyphénols de la variété Muscade est élevée par rapport aux autres variétés ;

Le dosage des polyphénols totaux donne une estimation globale de la teneur en différentes classes de composées phénoliques contenus au niveau de la carotte. La teneur en polyphénols des variétés étudiées sont 48.49 mg EAG /100 g de carotte pour la Muscade, 45 mg EAG /100 g de carotte pour la Sanguine, 15 mg EAG /100 g de carotte pour la Jaune orangée mg EAG /100 g de carotte, les teneurs sont similaires à celles obtenus par Alasalvar et al. (2001) qui sont de ; 7.72, 74.65, 16.21 mg/100 g de carotte. Une différence entre les valeurs répertoriées

Résultats et discussion

dans la bibliographie peut s'expliquer par la différence entre les méthodes et solvants d'extraction, les conditions de culture et la période de récolte.

1.3. Pouvoir anti-radicalaire des carotènes et du TBHQ

Les résultats de l'activité anti-radicalaire des carotènes des variétés étudiées et du TBHQ, exprimé en pourcentage (%) d'inhibition du DPPH, sont illustrés dans la figure n°10 indiquent que les carotènes extraits possèdent une grande capacité de piégeage du radical DPPH. Effectivement le pourcentage d'inhibition obtenu des carotènes de la Muscade(C1) est supérieur à celui obtenu par le TBHQ, les carotènes de la Sanguine (C2) et ceux de la Jaune orangée.

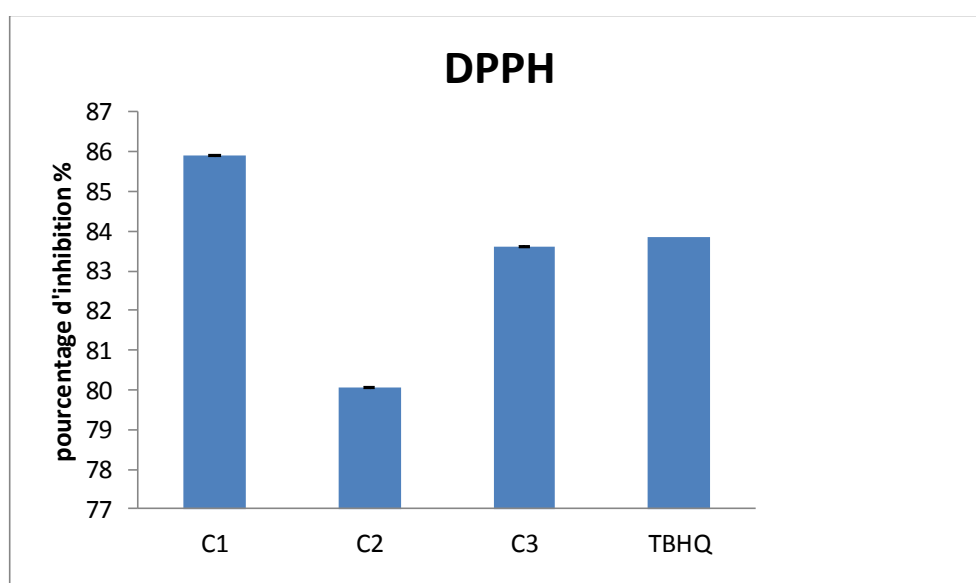


Figure n°10: pourcentage d'inhibition du radical DPPH des carotènes C1, C2, C3 et du TBHQ

Le pourcentage d'inhibition de la C1 est plus élevé que celui de C3, du TBHQ et de C2.

Cela peut s'expliquer par la composition biochimique des variétés étudiées, teneur en acides phénoliques, car selon **Böhm, Edge et al. (2012)**, les caroténoïdes ont un rôle clé dans la photosynthèse, transférant l'énergie lumineuse à la chlorophylle. Ces pigments participent aussi dans la photo-protection de l'appareil photosynthétique, en quenchant l'état triplet des chlorophylles, l'oxygène singulet et en inhibant les radicaux libres.

Résultats et discussion

2. Margarine

L'élaboration de la margarine à l'échelle laboratoire est suivie d'une série d'analyse physico-chimique afin d'estimer la qualité organoleptique et un test de stabilité (test de schaal) pour estimer la résistance de la margarine incorporée aux carotènes à l'oxydation.

2.1. Analyses physico-chimiques

2.1.1. Détermination du taux de sel

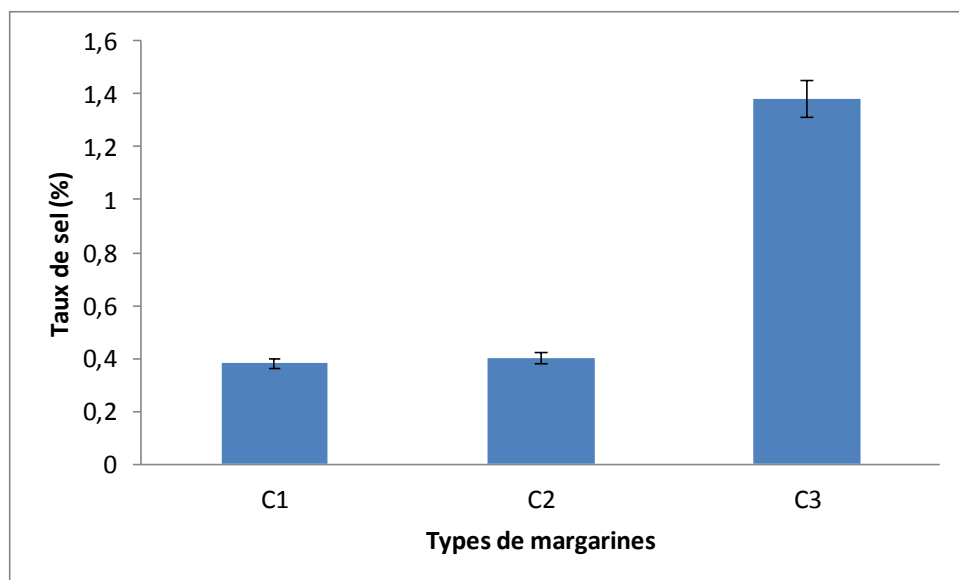
Le sel est agent bactériostatique ajouté pour améliorer la sapidité, il doit être de qualité alimentaire, pratiquement anhydre, neutre ou faiblement alcalin avec absence de sel de magnésium qui à l'état de traces accélère l'oxydation des graisses.

Selon les résultats obtenus, on remarque que le taux de sel dans la margarine incorporée aux carotènes (C2) de la sanguine (0.4%) est un peu plus salé que les margarines incorporées aux carotènes (C3) de la jaune orangé et de la muscade (C1) qui ont le même taux de sel (0.38%).

D'après **Karleskind, Wolff et al. (1992)** les normes de margarine sont :

- Entre 0.1% et 0.3% : margarine en pot, tartinable.
- Entre 0.4% et 0.8% : margarine enveloppée (cuisine).
- Entre 0.8% et 2% : margarine pâtisserie.

Selon la norme interne de l'entreprise, le taux de sel pour la margarine à tartiner est entre 0.1% et 0.4%.



Résultats et discussion

Figure n°11 : Taux de sel dans les margarines incorporées

2.1.2. Détermination du taux d'humidité

Selon les résultats obtenus, le taux d'humidité de la margarine incorporée aux C1 (14.43%) est plus élevé que celui de la margarine incorporée aux C2 (14.42%) et C3 (14.42%) qui sont égaux. D'après la norme interne de l'entreprise le pourcentage d'humidité ne doit pas dépasser 16%.

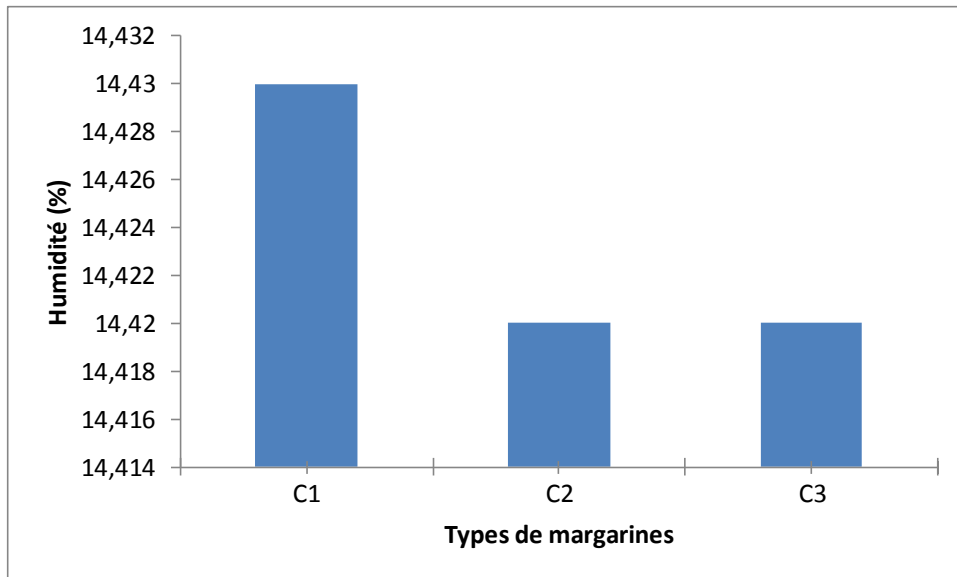


Figure n°12 : Taux d'humidité des margarines incorporées

2.1.3. Détermination du pH

Le pH et le sel sont deux paramètres qui caractérisent la phase aqueuse donc elle doit être contrôlée.

Les valeurs de pH obtenues à partir de la phase aqueuse de la margarine montrent que le pH de la margarine aux carotènes (C2) de la sanguine (4.8) est un peu élevé, suivi de celui de la jaune orangée (4.6), et enfin de la muscade (4.4).

D'après **Karleskind et Wolff (1992)**, la margarine de feuilletage peut avoir un pH acide (3 à 3.5) ce que nécessite de réaliser des émulsions fines et stables. Dans le cas de la margarine formulée à base de lait, le pH est déjà abaissé par l'acide lactique, et même d'acide citrique provenant de la décomposition du citrate.

Résultats et discussion

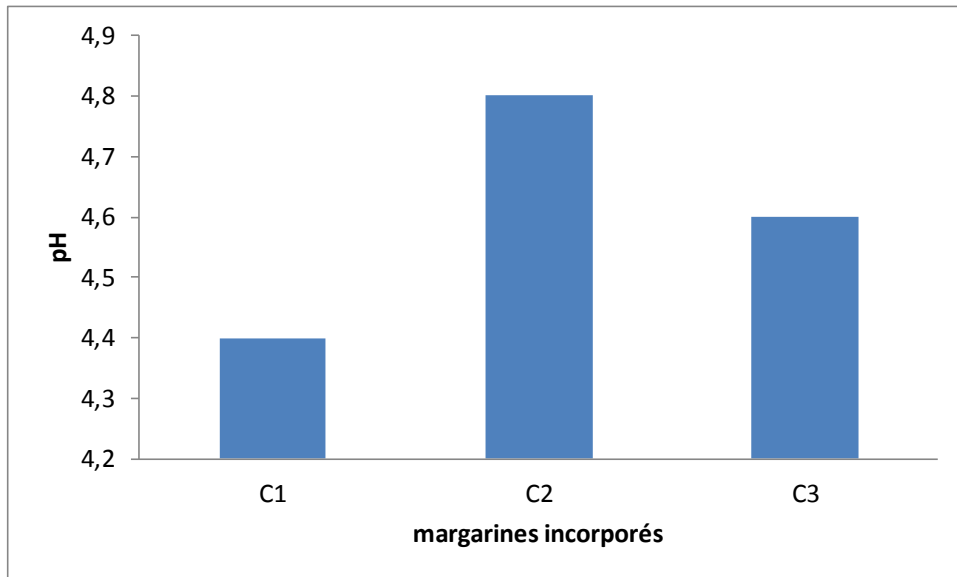


Figure n°13 : pH des margarines élaborées.

2.1.4. Détermination du point de fusion

Le point de fusion en tube capillaire fermé, qui indique la température à laquelle tous les cristaux disparaissent d'un corps gras peut renseigner sur l'impression gustative que donne ce corps gras (Karleskind, Wolff et al. 1992).

Selon les résultats obtenus, la margarine incorporée aux carotènes de la muscade (C1) a un point de fusion élevé 36,6°C que celui de la margarine incorporée aux carotènes (C3) de la Jaune orangée (36,5°C) et celle incorporée au (C2) de la muscade (36°C) respectivement. Un point de fusion précis n'existe pas, on parle généralement d'une plage de fusion ou zone de fusion. Plusieurs paramètres peuvent influencés :

- La longueur de la chaîne carbonée tel les acides gras à courte chaîne ont un point de fusion plus faible que celui des acides gras à longue chaîne ;
- Le nombre de doubles liaisons (les acides gras saturés ont un point de fusion plus élevé que celui des acides gras insaturés);
- La position de la double liaison sur le triglycéride (Small 1970);
- Le nombre pair ou impair de la chaîne carbonée, et la configuration cis ou trans (anonyme1) ;

Résultats et discussion

2.1.5. Détermination du taux de solide ou SFC (solide fat content)

L'indice de solide donne une indication sur le pourcentage de la matière grasse solide à différentes températures.

D'après **Cansell (2005)** la consistance de la margarine est liée à la qualité et la quantité des cristaux formés pour stabiliser l'émulsion.

Tableau VIII : Teneur en solide (%) des deux margarines témoin et incorporée.

T°C \ produit	05	10	15	20	25	30	35	40
Margarine témoin	40	30	25	20	15	10	5	2.1
Margarine incorporée C2	32.1	28.1	20.8	14.9	10.3	6.2	4.5	2.1

D'après le tableau VIII, on remarque une légère différence entre ces deux types de margarine.

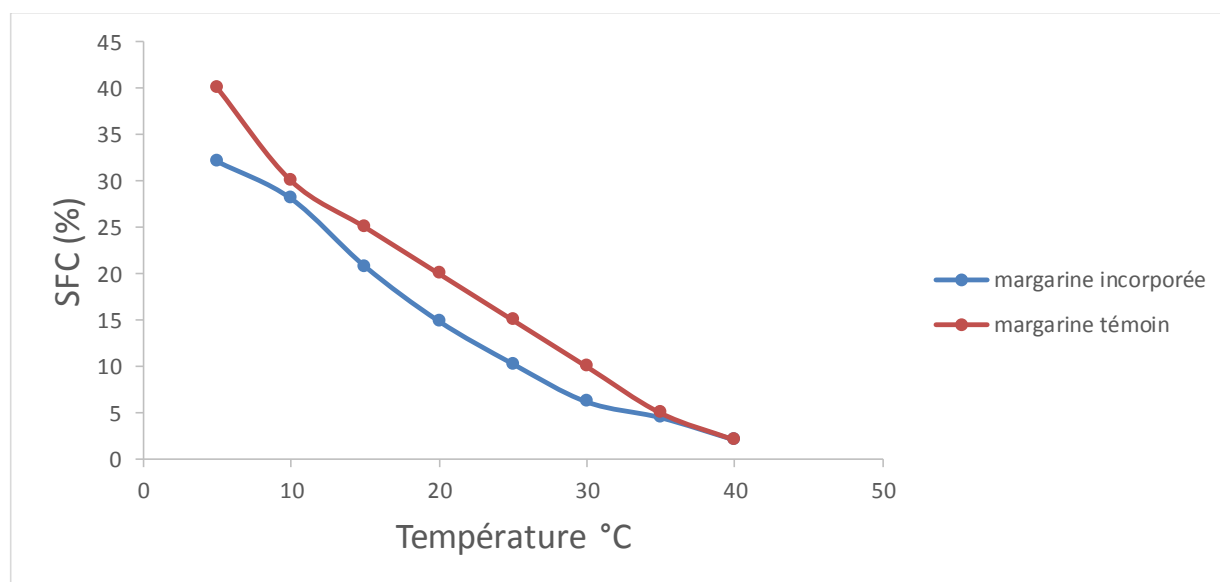


Figure n°14 : courbe de SFC des margarines en fonction de température.

On remarque une diminution du taux de solide en allant des basses températures (5°C) vers les hautes températures (40°C).

Résultats et discussion

La margarine incorporée aux caroténoïdes montre que le taux de solide est moins faible que celui de la margarine témoin, elles se distinguent à partir 5°C à 35°C, en atteignant la température 35°C les deux courbes de solide se rapprochent, et manifestent quasiment les mêmes teneurs en solide au-delà de cette température.

D'après **Karleskind et Wolff (1992)**, le taux de solide englobe un ensemble d'informations :

- Le taux de solide au-delà de 0°C, 5°C, et à 10°C : contrôle le comportement à l'étalement du produit, et donc lié au procédé et conditions de fabrication ;
- Le taux de solide au-delà de 15°C à 20°C : lié à la dureté du produit final et à l'exsudation huileuse ;
- Le taux de solide au-delà de 20°C à 25°C : liée à la stabilité du produit ;
- Le taux de solide au-delà de 30°C à 35°C : liée à la l'appréciation ;

D'après(**Ribeiro, Grimaldi et al. 2009**), la margarine à tartiner ne doit pas dépasser 32% de taux de solide à 10°C.

Dans la margarine incorporée, le taux de solide est de 28.1% à 10°C et donc ne dépasse pas 32%. On déduit donc qu'elle est tartinable.

La courbe solide fournit des indications sur la performance technologique d'une matière grasse. Un SFC entre 20 et 25 ° C qualifie la dureté de la matière grasse. La gamme de température dans laquelle un déclin expressif de la SFC est évident représente la résistance au chauffage, tandis que la fusion rapide entre 32 et 35 ° C est responsable de la sensation de refroidissement et de crémeuse lors de la dégustation (**Beckett, 2008**)

Résultats et discussion

2.1.6. Détermination de la couleur :

La couleur de la margarine, est assez voisine de celle du beurre.

Tableau 9 : Couleur des margarines incorporées.

Margarines	C1	C2	C3	β carotène
Valeurs	1.9R – 19Y	1.5R – 36Y	1.5R – 13Y	0.9R – 4.9Y



Selon les résultats obtenus, on remarque que la couleur jaune (Y) est dominante par rapport à la couleur rouge (R), et cela pour les 04 margarines.

La margarine incorporée aux carotènes de la sanguine (C2) est plus colorée (1.5R-36R) que les autres, suivie de celle de la muscade (C1) (1.9R-19Y), plus de la jaune orangée (C3), et enfin de β carotène (0.9R-4.9Y)

De cet indice de couleur, il ressort que les carotènes extraits des (03) variétés de carottes ont donné une coloration jaune foncé intense au produit élaboré, contrairement à celle de l'entreprise qui est de couleur jaune pâle.

2.2. Stabilité oxydative

- **Test de schaal**

D'après les résultats obtenus, les valeurs de l'indice de peroxyde au moment de l'élaboration des margarines sont représentées comme suit :

-1 méq d' O_2 /kg pour les margarines incorporées avec les standards TBHQ et BHT, suivi de β carotène (0.6 méq d' O_2 /kg)

-Le BHA présente la plus faible valeur (0.2 méq d' O_2 /kg).

En ce qui concerne, les margarines incorporées aux carotènes de carotte : 1 méq d' O_2 /kg est obtenu pour la margarine incorporée aux carotènes de la jaune orangée (C3), 0.8 méq d' O_2 /kg pour la margarine incorporée aux carotènes de la muscade (C1) et enfin 0.6 méq d' O_2 /kg pour celle incorporée aux carotènes de la sanguine (C2). Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par **Karabulut et Turman, (2006)** (< 5méq d' O_2 /kg).

Résultats et discussion

La formation de peroxydes est due à l'hydrolyse des acides gras insaturés, ce qui explique l'augmentation de l'indice de peroxyde.

Après 3 semaines d'incubation à 30°C, nous avons remarqué une évolution du potentiel antioxydant. En effet, l'indice de peroxyde augmente proportionnellement avec la durée de stockage. Les échantillons de margarine incorporée aux standards ont donné les résultats suivants: 7 méq d'O₂/kg pour la margarine incorporée au β carotène, suivi de 6 méq d'O₂/kg pour TBHQ, 6.2 méq d'O₂/kg pour BHA, 5 méq d'O₂/kg pour celle au BHT.

Pour les margarines incorporées aux carotènes, l'indice de peroxyde est selon l'ordre décroissant suivant: 6 méq d'O₂/kg pour la margarine incorporée aux C1, suivi du celle aux C2 (4.8 méq d'O₂/kg) et de 4 méq d'O₂/kg pour la margarine aux C3.

De ces résultats, il ressort que les carotènes des différentes carottes ont amélioré la stabilité oxydative des margarines incorporées.

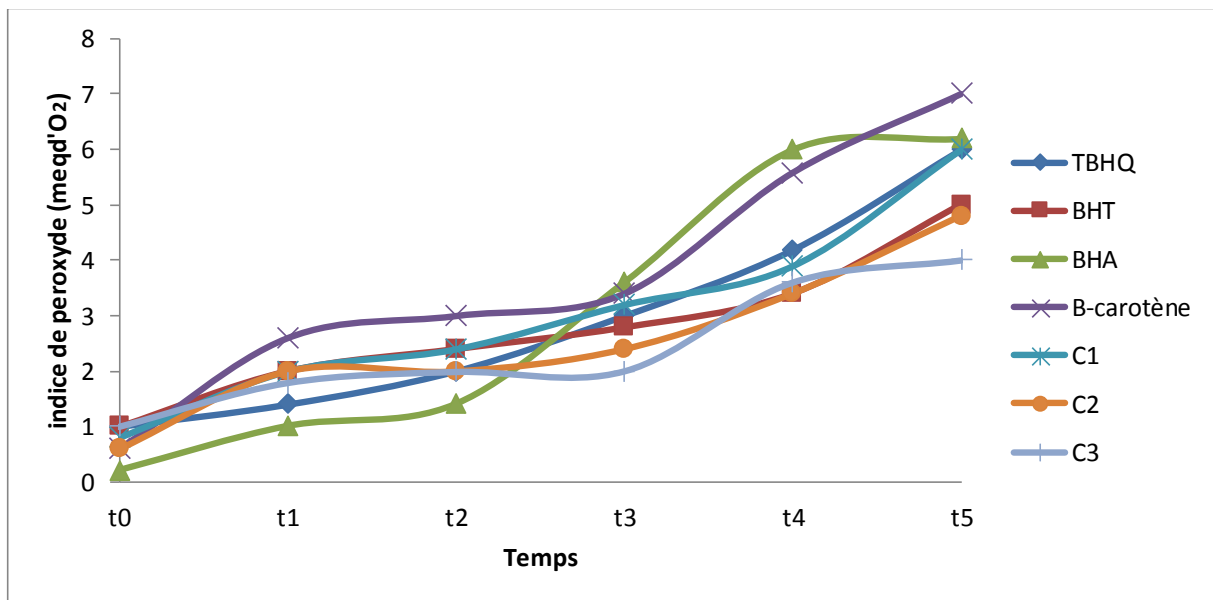


Figure n°15 : variation de l'indice de peroxyde en fonction du temps de stockage des margarines incorporées

Les caroténoïdes également connus sous le nom de composés bioactifs se retrouvent naturellement dans les fruits et légumes notamment la carotte, sont actuellement très utilisés comme colorants naturel pour beaucoup de denrées alimentaires comme les jus, les matières grasses etc... Le marché des additifs alimentaires repose principalement sur des additifs synthétiques; cependant, une sensibilisation accrue des consommateurs a entraîné leur remplacement par des substances naturelles.

La couleur recherchée dans l'industrie de la margarine est celle du beurre, c'est-à-dire une couleur jaune-orange de carotène synthétique. Pour cela, nous avons essayé d'exploiter la carotte, un légume très abondant dans notre pays afin d'extraire ses caroténoïdes et d'évaluer leur potentiel antioxydant et colorant sur la margarine.

Les carottes sélectionnées pour l'étude ont été caractérisées (Muscade, Sanguine et Jaune orangée) par une étude physico-chimique et morphologique :

- ✓ L'estimation de la teneur en caroténoïdes des trois variétés sont de l'ordre de 9.064 pour la Sanguine, 6.525 pour la Muscade et 4.901 mg eq β -carotène/g pour la Jaune orangée,
- ✓ La teneur en polyphénols totaux de la carotte crue est de 48.49 mgEAG/100g pour la muscade, 45 mgEAG/100g pour la sanguine et 15 mgEAG/100g pour la Jaune orangée.
- ✓ La teneur en sucres totaux est de l'ordre de 10.52mg EG/100g pour la Sanguine, 5.35 mg EG/100g pour la Muscade et 3.93 mg EG/100g pour la Jaune orangée.

L'activité antioxydante déterminée par le DPPH montre un fort pouvoir antiradicalaire des carotènes des trois variétés de carottes étudiées.

La formulation de la margarine à tartiner additionnée des carotènes des variétés Muscade, Sanguine, et Jaune orangée élaborée a montré des caractéristiques physico-chimiques (point de fusion, % SFC, taux d'humidité, taux de sel, pH) conformes à la norme de l'entreprise *Cevital*.

Les résultats du test de stabilité oxydative (Test de Schaal) a indiqué que les carotènes de carotte offraient une nette protection contre l'oxydation des acides gras en plus du pouvoir colorant de la margarine.

Les résultats très prometteurs obtenus de la couleur et du test de stabilité des margarines élaborées encouragent à poursuivre ce travail pour remplacer définitivement les antioxydants et les agents colorants synthétiques par les pigments naturels. Cette perspective nécessite d'autres études plus approfondies sur la stabilisation des lipides (margarine, huiles végétales...) en présence des caroténoïdes.

Références bibliographiques

- Alasalvar, C., J. M. Grigor, et al. (2001). "Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties." Journal of Agricultural and Food Chemistry **49**(3): 1410-1416.
- Beckett, S. T. (2008). Preface. The Science of Chocolate: P005-P006.
- Böhm, F., R. Edge, et al. (2012). "Interactions of dietary carotenoids with singlet oxygen ($1O_2$) and free radicals: potential effects for human health." Acta Biochimica Polonica **59**(1): 27.
- Cansell, M. (2005). "Impact de la cristallisation des corps gras sur les propriétés des produits finis." Oléagineux, Corps gras, Lipides **12**(5-6): 427-431.
- Karleskind, A., J. P. Wolff, et al. (1992). Manuel des corps gras, Technique et Documentation - Lavoisier.
- Ribeiro, A. P. B., R. Grimaldi, et al. (2009). "Zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: Physico-chemical properties and food applications." Food research international **42**(3): 401-410.
- Small, D. M. (1970). The physical state of lipids of biological importance: cholesteryl esters, cholesterol, triglyceride. Surface chemistry of biological systems, Springer: 55-83.
- Böhm, F., R. Edge, et al. (2012). "Interactions of dietary carotenoids with singlet oxygen ($1O_2$) and free radicals: potential effects for human health." Acta Biochimica Polonica **59**(1): 27.
- Boskou, G., F. N. Salta, et al. (2006). "Antioxidant capacity and phenolic profile of table olives from the Greek market." Food Chemistry **94**(4): 558-564.
- Calvo, M. M. (2005). "Lutein: a valuable ingredient of fruit and vegetables." Critical reviews in food science and nutrition **45**(7-8): 671-696.
- Cansell, M. (2005). "Impact de la cristallisation des corps gras sur les propriétés des produits finis." Oléagineux, Corps gras, Lipides **12**(5-6): 427-431.
- COSSUT, J., S. HUMBERT, et al. (2002). "Les Corps Gras: Entre Tradition et Modernité."
- DuBois, M., K. A. Gilles, et al. (1956). "Colorimetric method for determination of sugars and related substances." Analytical chemistry **28**(3): 350-356.
- Elias, R. J., S. S. Kellerby, et al. (2008). "Antioxidant activity of proteins and peptides." Critical reviews in food science and nutrition **48**(5): 430-441.
- 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, Université de Nantes.
- Fazzalari, F. (1978). "Compilation of odor and taste threshold values data." ASTM data series (USA).
- Georgé, S., P. Brat, et al. (2005). "Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products." Journal of Agricultural and Food Chemistry **53**(5): 1370-1373.
- Grolier, P., S. Agoudavi, et al. (1995). "Comparative bioavailability of diet-, oil- and emulsion-based preparations of vitamin A and β -carotene in rat." Nutrition Research **15**(10): 1507-1516.

Références bibliographiques

- Jomova, K. and M. Valko (2013). "Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants." European journal of medicinal chemistry **70**: 102-110.
- Karleskind, A., J. P. Wolff, et al. (1992). Manuel des corps gras, Technique et Documentation - Lavoisier.
- Lemmens, L., I. Colle, et al. (2014). "Carotenoid bioaccessibility in fruit-and vegetable-based food products as affected by product (micro) structural characteristics and the presence of lipids: A review." Trends in Food Science & Technology **38**(2): 125-135.
- Li, H.-B., K.-W. Cheng, et al. (2007). "Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae." Food Chemistry **102**(3): 771-776.
- Meléndez-Martínez, A. J., G. Britton, et al. (2007). "Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments." Food Chemistry **101**(3): 1145-1150.
- Molyneux, P. (2004). "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity." Songklanakarin J. Sci. Technol **26**(2): 211-219.
- Ramadan, M. F. and J.-T. Moersel (2006). "Screening of the antiradical action of vegetable oils." Journal of Food Composition and Analysis **19**(8): 838-842.
- Ribeiro, A. P. B., R. Grimaldi, et al. (2009). "Zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: Physico-chemical properties and food applications." Food research international **42**(3): 401-410.
- Ribéreau-Gayon, P. and R. J. Gautheret (1968). Les composés phénoliques des végétaux, Dunod Paris.
- Rivera, S. and R. Canela-Garayoa (2012). "Analytical tools for the analysis of carotenoids in diverse materials." Journal of Chromatography A **1224**: 1-10.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). A guide to carotenoid analysis in foods.
- Sass-Kiss, Á., M. Toth-Markus, et al. (2009). "Effect of varieties and cultivation on polyphenolics of cherry and sour cherry cultivars." EuroFoodChem Food for the Future—the Contribution of Chemistry to Improvement of Food Quality: 105-108.
- Scherer, R. and H. T. Godoy (2009). "Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method." Food Chemistry **112**(3): 654-658.
- Small, D. M. (1970). The physical state of lipids of biological importance: cholesteryl esters, cholesterol, triglyceride. Surface chemistry of biological systems, Springer: 55-83.
- Sofiane, Z. (2009). Valorisation des pelures de tomates séchées en vue de leur incorporation dans la margarine, Université M'hamed Bougara de Boumerdès.
- Villière, A. and C. Genot (2006). "Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsions." Oléagineux, Corps gras, Lipides **13**(2-3): 152-159.
- Viuda-Martos, M., Y. Ruiz Navajas, et al. (2010). "Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet." Flavour and Fragrance Journal **25**(1): 13-19.

Références électroniques

Anonyme 1: planetoscope.com/fruits-legumes/1486-production-mondiale-de-carottes.html.

Anonyme 2: <http://www.nouara-algerie.com/article-la-culture-de-la-carotte-par-espace-agronome-algerien-47181021.html>

Anonyme 3 : planetoscope.com/fruits-legumes/1486-production-mondiale-de-carottes.html

Les normes de matériels et méthodes:

<http://www.crapc.dz/content/prestations-analytiques>. Consulté le 20/06/17.

Résumé

La margarine est connue pour de sa sensibilité à l'auto-oxydation à cause de la présence des acides gras insaturés, catalysés par la lumière, température et les traces de métaux lourds. Afin de minimiser cette oxydation, l'ajout d'antioxydants est nécessaire. Pour cela nous avons incorporé des carotènes de carotte comme antioxydants et agents colorants.

Dans ce modeste travail, nous avons procédé à l'extraction des carotènes, de trois variétés de carottes : Muscade, Sanguine, Jaune orangée. La caractérisation de ces dernières a montré que la carotte est riche en eau, polyphénols et surtout en caroténoïdes et un fort pouvoir anti-radicalaire. La margarine incorporée aux carotènes de carotte a indiqué des caractéristiques physico-chimiques et une stabilité oxydative conformes aux normes internes de l'entreprise « Cevital ». La résistance oxydative de la margarine ainsi que sa couleur sont améliorées.

Mots clés : carotènes, carotte, polyphénols, extraction, margarine, activité antioxydante.

Abstract

Margarine is known for its sensitivity to auto-oxidation due to the presence of unsaturated fatty acids, catalysed by light, temperature and heavy metals. In order to minimize oxidation, the addition of antioxidants is necessary. We have incorporated carrot carotenes as antioxidants and coloring agents. Carrot carotenes of three varieties (muscade, Sanguine, Orange Yellow) were extracted and incorporated to margarine. Carrot characterization indicated that this latter is rich in water, polyphenols and especially in carotenoids and a strong antiradical power. Incorporated margarine showed an oxidative stability in accordance with the internal standards of "Cevital" company. So, margarine oxidative strength and its color are improved.

Key words: carotenes, carrot, polyphenols, extraction, margarine, antioxidant activity

A horizontal yellow scroll graphic with a dark blue outline. The scroll is unrolled in the middle, with the top and bottom edges curled up. The text "Partie théorique" is centered on the unrolled portion.

Partie théorique



Partie pratique



Introduction



Conclusion

A yellow scroll graphic with a dark blue outline, featuring a vertical strip on the left and a horizontal strip on the right, both with rounded ends and a small circular detail at the top. The text is centered on the horizontal strip.

Références bibliographiques