

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 de Microbiologie
Spécialité : Biotechnologie Microbienne



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Etude du remplacement de la tocophérol dans
une margarine Cevital**

Présenté par :
TABOURI Chahinez & YAHIAOUI Hassiba
Soutenu le : **16 /07/2022**

Devant le jury composé de :

Mme. BELHAMICHE N.	MAA	Présidente
Mme. IDRES KERAMANE B.	MCB	Encadreur
Mr. LADJOUZI R.	MAA	Examineur

Année universitaire : 2021 / 2022



Dédicaces

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

A MA CHERE MERE

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices.

Puisse Dieu le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

A MON CHER GRAND-PERE

*A vous mon grand-père **BELAID**, ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel amour. Que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse vous offrir.*

*A Ma Chère grand-mère **FATIMA**, que dieu lui prête longue vie.*

*A Ma Famille **Maternelle**, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.*

*A Ma Sœur Unique **Yasmine**, chère sœur, je ne trouve pas toujours les mots pour te remercier au cours des années, des paroles d'encouragement que tu as su prononcer et du soutien extraordinaire que tu m'as offert.*

Tu es un cadeau du ciel.

*A Mon cher **Nabil**, tu es toujours là pour moi, tu m'écoutes quand je te raconte mes soucis, tu me remontes le moral quand je suis triste et fatiguée. Merci beaucoup de m'avoir supporté tout au long de mon parcours.*

*A Ma Chère Cousine **TIMIZGHA**, merci mille fois pour ton soutien plus que précieux.*

*A mes chères copines **Yasmine, Kahina et Ahlam**, il y a tellement de choses à dire, mais pour l'instant, je veux juste vous remercier pour votre aide précieuse.*



Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail à :

Je commence par rendre grâce à DIEU, pour le soutien, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade.

A celle qui m'a transmis la vie, l'amour, le courage, le sacrifice. Quia toujours été à mes côtés, à ma chère Mère.

A mon cher père.

A mes chers frères : Toufik, Bilal, Fayçal et Islam.

A ma chère sœur : Souhila et son mari Abdalmoumen.

A mes adorables neveux : Sidra, Sirin et Abdraouf.

A mes proches amies : Meriem et sawsam.

A ma copine et sa famille.

A tout Person que je connais de près ou de loin.

Hassiba



Remerciement

*Nous remercions **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord, ce travail ne saurait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de **Mme KERAMANE B**, nous la remercions pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier également les **membres de jury Mme BELHAMICHE et Mr. LADJOUZI** pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nos remerciements s'adressent à **Mr DJABRI Nabil** pour son soutien plus que précieux.*

*Nos remerciements s'adressent à toute l'équipe du **Laboratoire de Recherche et Développement du complexe Cevital Agro – Industrie SPA** en particulier : **Mr ZEROUAL Brahim** pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements.*

*Nos remerciements s'adressent également à tous **nos professeurs** pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.*

*Nous remercions **tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin.***

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste abrégées

Introduction..... 1

Partie bibliographique

Généralités sur les algues brunes

I. Généralités sur les algues 3

II. Algue brune ou Phaeophyta 3

III. Les composants bioactifs d'algue brune 4

III.1. Les polyphénols..... 4

III.1.1. Les Phlorotannins 5

III.2. Fucosterol 5

III.3. Terpènes 6

III.4. Polysaccharides 6

III.5. Lectines 7

IV. Activités biologiques 7

Généralités sur la Margarine

I. La Margarine 8

II. L'oxydation des lipides 9

II.1. Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides 9

II.1.1. Auto-oxydation 9

II.1.2. Photo-oxydation..... 9

II.1.3. Voie enzymatique 10

III. Les additifs alimentaires utilisés dans les corps gras 11

Partie pratique

Matériel & Méthodes

I. Matériel biologique.....	12
II. Extraction des composés bioactifs	13
II.1. Procédés d'extraction	13
II.2. Détermination des taux d'extraction.....	14
III. Formulation des différentes margarines.....	14
III.1. Préparation de la phase grasse.....	15
III.2. Préparation de la phase aqueuse.....	15
III.3. Émulsification	15
III.4. Refroidissement et cristallisation	15
III.5. Malaxage	15
III.6. Conditionnement et stockage	16
IV. Analyses effectuées sur les extrais	17
IV .1. Dosage des composés phénoliques	16
IV. 2 Activité antiradicalaire : test de piégeage du radical libre DPPH.....	17
V .Contrôle de qualité de la margarine	18
V.1. Contrôle physico-chimique	18
V.1.1. Détermination de l'acidité (ISO 3960, 2007).....	18
V.1.2. Détermination du Point de fusion (ISO 6321, 2002).....	19
V.1.3. Détermination du taux de solide SFC par RMN (Solid Fat Content).....	20
V.1.4. Détermination du potentiel hydrogène (pH) (ISO 662,1998).....	20
V.1 .5. Détermination de la teneur en eau (Humidité) (NE 1. 2647. 1985)	20
V.1.6. Détermination de l'indice de peroxyde (ISO 3960, 2007)	21
V.1.7. Détermination du taux de sel (NE.1.2.429, 1989)	22
VI. Evaluation de la stabilité oxydative de la margarine par le test Rancimat.....	22
VII. Contrôle microbiologique.....	23
VII .1. Dénombrement des germes aérobies	23

VII. 2. Dénombrement des levures et moisissures	24
VII .3. Recherche des coliformes fécaux	24
VII.4. Recherche des staphylocoques	24
VII .5. Recherche des salmonelles	24

Résultats et discussion

I. Taux d'extraction en composés phénoliques.....	26
II. Analyses effectuées sur les extraits	26
II.1. Dosage des composés phénoliques.....	26
II.2.Activité antiradicalaire : (Piégeage du radical libre DPPH).....	27
III. Caractérisation des margarines formulées	28
III.1. Analyses physico-chimiques	28
III.1.1. Point de fusion	29
III.1.2. Teneur en sel.....	29
III.1.3. La teneur en humidité	29
III.1.4. Taux de solide SFC (Solid Fat Content).....	30
III.1.5. Potentiel d'Hydrogène (pH)	30
III.1.6. L'acidité.....	31
III.1.7. Indice de peroxyde.....	32
III.2 Stabilité oxydative de la margarine	33
III.2.1. Test de Rancimat	33
IV. Analyse microbiologique.....	37
Conclusion	39

Références bibliographique

Annexes

Résumé

Liste des figures

Figure 1: Morphologie comparée entre une algue et une plante.....	3
Figure 2 : Algues brunes : (a) <i>Himanthalia elongata</i> ; (b) <i>Laminaria digitata</i> ; (c) <i>Palmaria palmata</i> ; (d) <i>Codium fragile</i> (Suringar)).	4
Figure 3 : Structures chimiques des polyphénols	5
Figure 4 : Structure du phloroglucinol : de base des phlorotannins..	5
Figure 5 : Structure chimique du fucostérol.	6
Figure 6 : Structure de la molécule d'isoprène.....	6
Figure 7: Diagramme schématique montrant les applications des algues brunes en fonction de ses composés bioactifs.....	8
Figure 8 : Photographie de <i>Padina pavonica</i> récoltée sur la plage d'El'ach El-baz, Béjaia	13
Figure 9 : Photographie d'un surnageant filtré à l'aide d'un papier filtre standard	14
Figure 10: Procédé de la formulation de la margarine à l'échelle laboratoire; a: Préparation de la phase grasse, b: Préparation de la phase aqueuse, c: Emulsification, d: Refroidissement, cristallisation et malaxage du produit fini	16
Figure 11: Principe du dosage de la capacité de piégeage des radicaux DPPH.....	18
Figure 12 : Taux de solide (SFC) de la margarine additionnée d'extrait d'algue.....	30
Figure 13 : Potentiel d'Hydrogène (pH) de diverses formulations préparées.	31
Figure 14 : Teneur en acidité de diverses formulations préparées.	32
Figure 15 : Courbe de la stabilité oxydative au test rancimat de la margarine témoin.	33
Figure 16 : Courbe de la stabilité oxydative au test rancimat de la margarine d'extrait d'algue à 50 ppm avec Vit E.....	34
Figure 17 : Courbe de la stabilité oxydative au test rancimat de la margarine d'extrait d'algue à 50 ppm avec Sorbate de potassium.	34
Figure 18 : Courbe de la stabilité oxydative au test rancimat de la margarine d'extrait d'algue à 50 ppm avec Vit E et Sorbate de potassium.....	35
Figure 19 : Courbe de la stabilité oxydative au test rancimat de la margarine d'extrait d'algue à 50 ppm.....	35
Figure 20 : Temps d'induction exprimés en (h) des échantillons de margarine.	36

Liste des tableaux

Tableau I: Les différents types de margarines.....	8
Tableau II: Résultats des analyses physico-chimiques des margarines préparées.	28
Tableau III: Résultats des analyses microbiologiques effectués sur les différents margarines formulées. ...	37

Liste des abréviations

IO_2 : Oxygène singulet

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrilhydrazyl

IC50 : Concentration d'inhibition à 50%

IP : indice de peroxyde

KI : Iodure de potassium

mg EAG/g : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

méq O₂/kg MG : milliéquivalent d'oxygène par kilogramme de matière grasse

PT : polyphénols totaux

ROOH : hydroperoxyde

Sens³ : état triplet excité

Sens : photosensibilisateurs

TI : Temps d'induction

Vit E : vitamine E

Introduction

Introduction

L'oxydation des lipides est une cause majeure de dégradation des aliments pendant la fabrication et le stockage. Elle affecte les acides gras insaturés présents dans les huiles, les graisses ou les lipides structurés (Villiere et Genot, 2005).

L'oxydation des lipides est un problème important pour certaines industries, comme l'industrie des corps gras, car elle est responsable de la perte de qualité et de durée de conservation des aliments (Penchev, 2010). Malgré une stabilité et des garanties relatives apparentes, tous les produits alimentaires changent. Leur manipulation (transformation, conditionnement, stockage, etc.) retire les produits transformés de leur état d'origine. Certaines méthodes physiques (cuisson sous vide, emballage sous atmosphère modifiée, etc.) peuvent être utilisées pour maintenir l'état idéal de l'aliment, mais l'utilisation d'additifs ajoutés à la formulation est un moyen simple et économique de compenser les modifications oxydatives et microbiennes (Deglène-Benbrahim, 2004).

La margarine, produit alimentaire à base de corps gras, définie comme une émulsion stable (type eau dans l'huile) composée principalement d'huile végétale et d'eau, et éventuellement de lait. Elle contient également des auxiliaires de fabrication (émulsifiants), des organoleptiques (aromes, colorants), des conservateurs (correcteurs de pH, antioxydants), et des nutriments (vitamines). Depuis la première recette, il y a eu une augmentation contrôlée de la production et de la consommation de margarine. Elle est constamment modifiée et améliorée, ce qui a abouti à divers produits actuellement disponibles sur le marché (O'Brien, 2004).

Les antioxydants synthétiques sont utilisés depuis de nombreuses années. Avec cela, de nombreuses études se sont concentrées sur leur toxicité élevée pour une utilisation dans l'industrie alimentaire, comme le butylhydroxytoluène (BHT), l'hydroxyanisole butyle (BHA), le tert-butylhydroquinone (TBHQ), (Penchev, 2010). Certains antioxydants, couramment ajoutés à la margarine, tels que : lepropylgallate, l'octylgallate et le gallate de dodécyle, peuvent causer des problèmes allergiques (Achat, 2013). Réduire leur utilisation nécessite d'orienter le marché vers les antioxydants d'origine naturelle et de stimuler la recherche dans ce domaine (Penchev, 2010). En conséquence, l'industrie nutraceutique s'intéresse de plus en plus à l'incorporation de substances bioactives naturelles telles que les pigments caroténoïdes, les α -tocophérols (vitamine E) et les composés phénoliques qui agissent comme antioxydants, pour maintenir la qualité de la margarine et minimiser les dommages pour la santé (Bakkalbasi et al., 2018 ; Wang et al., 2018).

Parmi les organismes marins, les algues sont riches en composés bioactifs structurellement divers tels que les caroténoïdes, les fibres alimentaires, les protéines, les acides gras essentiels, les vitamines et les

minéraux avec diverses activités biologiques (**Kumar et al., 2008**). Les algues sont une nouvelle source de substances bioactives. Plusieurs études ont montré que les composés dérivés des algues présentent de multiples activités biologiques, notamment antibactériennes, antivirales, antioxydantes, antitumorales et anti-inflammatoires (**Wijsekara et al., 2011 ; Demirel et al., 2012**). Récemment, il y a eu un intérêt considérable pour les algues dans les industries alimentaires et pharmaceutiques pour le développement d'antioxydants d'origine naturelle (**Kumaret al., 2008**).

Les algues brunes appartiennent à la classe des fucophycées, autrefois appelées les péophycées (**Ainane, 2011**).

Les algues brunes sont des algues économiquement précieuses qui peuvent être utilisées comme source de matière première pour l'extraction de polysaccharides (par exemple, laminarine, alginate et fucoïdane), de mannitol et de tanins. Parmi les métabolites bioactifs des algues brunes les composés phénoliques tels que les phlorotannins sont des antioxydants, et des agents de défense chimiques contre les pathogènes, les épiphytes et les brouteurs, et sont des photoprotecteurs contre le rayonnement solaire (**Demirel et al., 2012**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants et antimicrobiens en évaluant l'utilisation potentielle de l'extrait d'une algue brune de la côte de Bejaia comme additifs alimentaires pour enrichir les aliments, ainsi qu'en tant qu'antioxydant naturel et agent antimicrobien. Pour cela, nous avons entrepris d'ajouter de l'extrait d'algue *Padina pavonica* à la margarine "Fleurial". Le but est d'enrichir la margarine en substances bioactives et d'améliorer sa stabilité oxydative.

Afin de mener à terme cette étude, une synthèse bibliographique concernant les généralités sur les algues brunes ainsi que sur la margarine a été nécessaire. Cette revue de la littérature est suivie d'une partie expérimentale dont le matériel et les méthodes exploités seront présentés. Une discussions des résultats obtenus est ensuite établie et nous achevons ainsi ce travail par les principales conclusions et les perspectives envisagées.

Partie Bibliographique

I. Généralités sur les algues

Les côtes marines et océaniques possèdent les plus grandes richesses sur cette terre parmi lesquelles les algues (Zehlila, 2017). Les algues sont les végétaux les plus primitifs qui présentent un appareil végétatif peu évolué se forme de thalle sans racines, ni tiges, ni feuilles (Figure 01) (Zellal, 2012). Ce sont des organismes typiquement aquatiques, chlorophylliens, des organismes capables de photosynthèse, elles sont donc autotrophes (Roland et al., 2008). Poussant en abondance dans les eaux peu profondes, des estuaires et des marais. Elles sont réparties en trois grands groupes à savoir les algues vertes, les algues rouges et les algues brunes en fonction de leur pigmentation, ainsi que de leur caractères morphologiques et anatomiques (Manivannan et al., 2009).

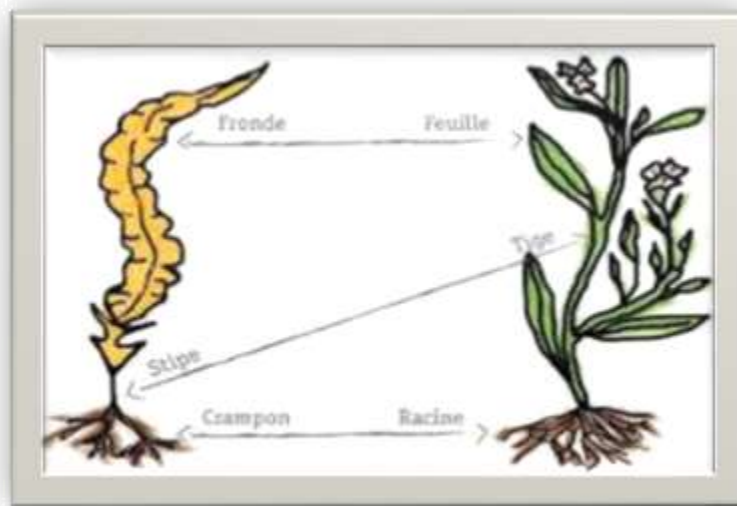


Figure 1: Morphologie comparée entre une algue et une plante (Oucif, 2018).

II. Algue brune ou Phaeophyta

Les algues brunes (Figure 2) sont des algues largement répandues à travers le monde, ceci revient à leur faculté d'adaptation via leur reproduction et leur réponse à des conditions écologiques variées (Souhaili et al., 2008). La couleur brune de ces algues résulte de la dominance du pigment xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les autres pigments (chlorophylle a et c, ainsi que le beta-carotène). Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens (Zitouni, 2015).

Les algues brunes se sont principalement diversifiées dans les mers froides et tempérées où elles forment les grandes forêts sous-marines. Dans les eaux tropicales, elles sont moins nombreuses en espèces, mais représentent les plus grands thalles et forment les populations les plus denses (Ainane, 2011).



Figure 2 : Algues brunes : (a) *Himanthalia elongata*; (b) *Laminaria digitata*; (c) *Palmariapalmata*; (d) *Codium fragile* (Suringar) (Fellous, 2019).

III. Les composants bioactifs d'algue brune

Les algues marines représentent une bonne source de métabolites bioactifs. Ces métabolites jouent un rôle important dans la défense contre les agents pathogènes. Les polyphénols tel que les phlorotannins, le fucosterol, polysaccharides, terpènes, lectines. Ce sont des métabolites abondant chez les algues brunes (Masuma et al., 2020).

III.1. Les polyphénols

Ces molécules sont des métabolites secondaires qui sont généralement impliquées dans la défense contre le rayonnement ultraviolet ou l'agression par des agents pathogènes. Ces composés peuvent être classés en différents groupes en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils contiennent et des éléments structuraux liant ces cycles entre eux. On distingue ainsi (Figure 3) les phlorotannins, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les stilbènes et les lignanes (Manach et al., 2003). Les teneurs les plus élevées sont retrouvées dans les algues brunes qui en contiennent entre 5 et 15 % du poids sec (Marfaing et al., 2007).

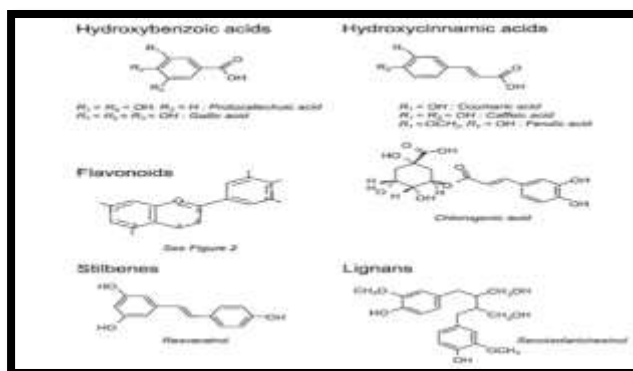


Figure 3: Structures chimiques des polyphénols (Manach et al., 2004).

III.1.1. Les Phlorotannins

Les phlorotannins sont des polyphénols présents dans les algues brunes, Ils sont essentiellement constitués de phloroglucinol (1, 3,5-trihydroxybenzène) (Figure 4) comme unités de base avec différents degrés de polymérisation (Singh et Sidana, 2013). La classification des phlorotannins est basée sur les types de liaisons entre les unités de phloroglucinol, Ils sont classé en quatre groupe, tels que ceux avec une liaison éther (fuhalols et phloréthols, une liaison phényle (fucols), des liaisons éther et phényle (fucophloroéthols) et une liaison dibenzodioxine (eckols). Dans les algues brunes, les phlorotannins sont considérées comme substances potentiellement protectrice contre les ultraviolets (Bertokat et al., 2021).

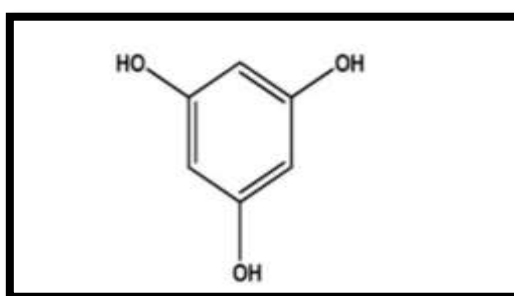


Figure 4 : Structure du phloroglucinol : de base des phlorotannins (Bertoka et al., 2021).

III.2. Fucosterol

La plupart des algues brunes contiennent du fucostérol (Figure 5) et des dérivés de Fucostérol. Ces composés bioactifs sont importants en raison des nombreux effets bénéfiques sur la santé qui leur sont associés (Masuma et al., 2020).

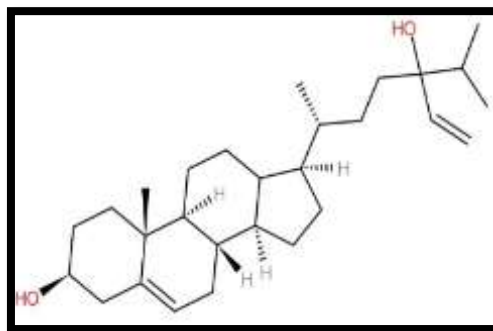


Figure 5 : Structure chimique du fucostérol (Meinita et al., 2021).

III.3. Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels à structure cyclique ou à chaîne ouverte : leur formule est $(C_5H_x)_n$ dont X varie selon le degré d'insaturation de la molécule, et n peut prendre une valeur de (1-8), sauf pour les polyterpènes il peut atteindre plus de 100 (Fettah, 2019).

La molécule de base est l'isoprène, dont la formule est C_5H_8 (Figure 6). Le terme terpénoïde désigne un groupe de substances ayant un squelette terpénique avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc). Ils sont synthétisés par les plantes, les organismes marins, les Champignons et même les animaux. Par conséquent, la classification des terpénoïdes est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène, c'est-à-dire: hémoterpènes (C_5), monoterpène (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), sesterpènes (C_{25}), triterpènes (C_{30}), tetraterpènes (C_{40}) et polyterpènes. Les terpènes sont connus pour avoir des propriétés antifongiques et antibactériennes. Le mécanisme des terpénoïdes n'est pas clair, mais il peut induire une destruction de la membrane des microorganismes par une action lipophile (Fettah, 2019).

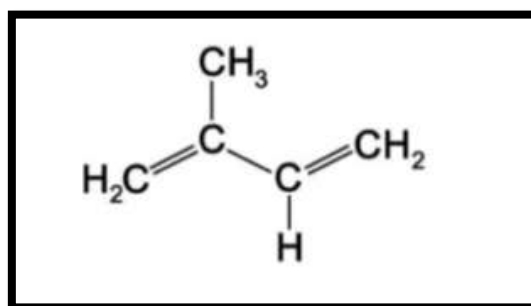


Figure 6 : Structure de la molécule d'isoprène (Fettah, 2019).

III.4. Polysaccharides

Les macro algues sont riches en polysaccharides classiques, mais aussi en un polysaccharide bien spécifique, les phycocolloïdes (18% à 45% de la masse sèche des algues brunes) (Person, 2010). Ils sont principalement localisés au niveau de la paroi et jouent un rôle dans la régulation ionique (Dantas-Santos et

al., 2012). Les polysaccharides algaux les plus importants chez les algues brunes (Phaeophyta) sont l'alginate, le fucoïdane et la laminarine (**Pujol et al., 2002**). Aujourd'hui, les polysaccharides sont devenus une source importante de composés naturels biologiquement actifs avec diverses activités biologiques. Ils présentent des activités antitumorales, anticoagulantes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes et antivirales (**Lakhdar, 2018**).

III.5. Lectines

Les lectines sont des protéines d'origine non immunitaire capables de reconnaître et d'immobiliser de manière spécifique et réversible des glycanes sans les modifier (**Peumans et Van Damme, 1995**). Lorsque les lectines sont capables d'agglutiner les érythrocytes, les cellules et les glycoconjugués, elles sont aussi appelées agglutinines. Cette propriété est due au fait que ces protéines sont généralement multivalentes, ce qui signifie qu'elles possèdent plusieurs sites de liaison aux sucres. Les lectines sont omniprésentes dans la nature et présentes dans tous les êtres vivants (**Ambrosi et al., 2003**). Les lectines d'algues reconnaissent les N-glucanes et peuvent être classées selon leurs trois types principaux : Oligomannose, complexe ou mixte / hybride, souvent caractérisée par des N-glucanes de type oligomannose et de type complexe (**Hori et al., 1990**). A ce jour, peu d'études ont porté sur les rôles endogènes des lectines d'algues. Par exemple, elles reconnaissent et aident à l'adhésion des gamètes lors de la reproduction (**Kim, 1999 ; Han et al., 2012**). Par rapport aux plantes, les lectines présentes dans les algues ont la propriété d'exercer certains effets biologiques à des concentrations beaucoup plus faibles. Elles sont donc plus actives et en raison de leur faible poids moléculaire, elles sont moins antigéniques que les lectines de haut poids moléculaire trouvées par exemple dans les plantes et les animaux (**Oliveira et al., 2002**). Les lectines d'algues ont un grand potentiel en dentisterie (**Teixeira et al., 2007**). Elles peuvent également avoir des applications thérapeutiques comme antimicrobiens (**Holanda et al., 2005**).

IV. Activités biologiques

Les algues marines vivent dans des conditions difficiles qui favorisent la formation de métabolites secondaires, ces composés ont la fonction de protection de la cellule par leurs diverses activités spécifiques. La figure 07 montre les différentes activités biologiques des algues brunes inféodée à leur composés bioactifs (**Masuma et al., 2020**).

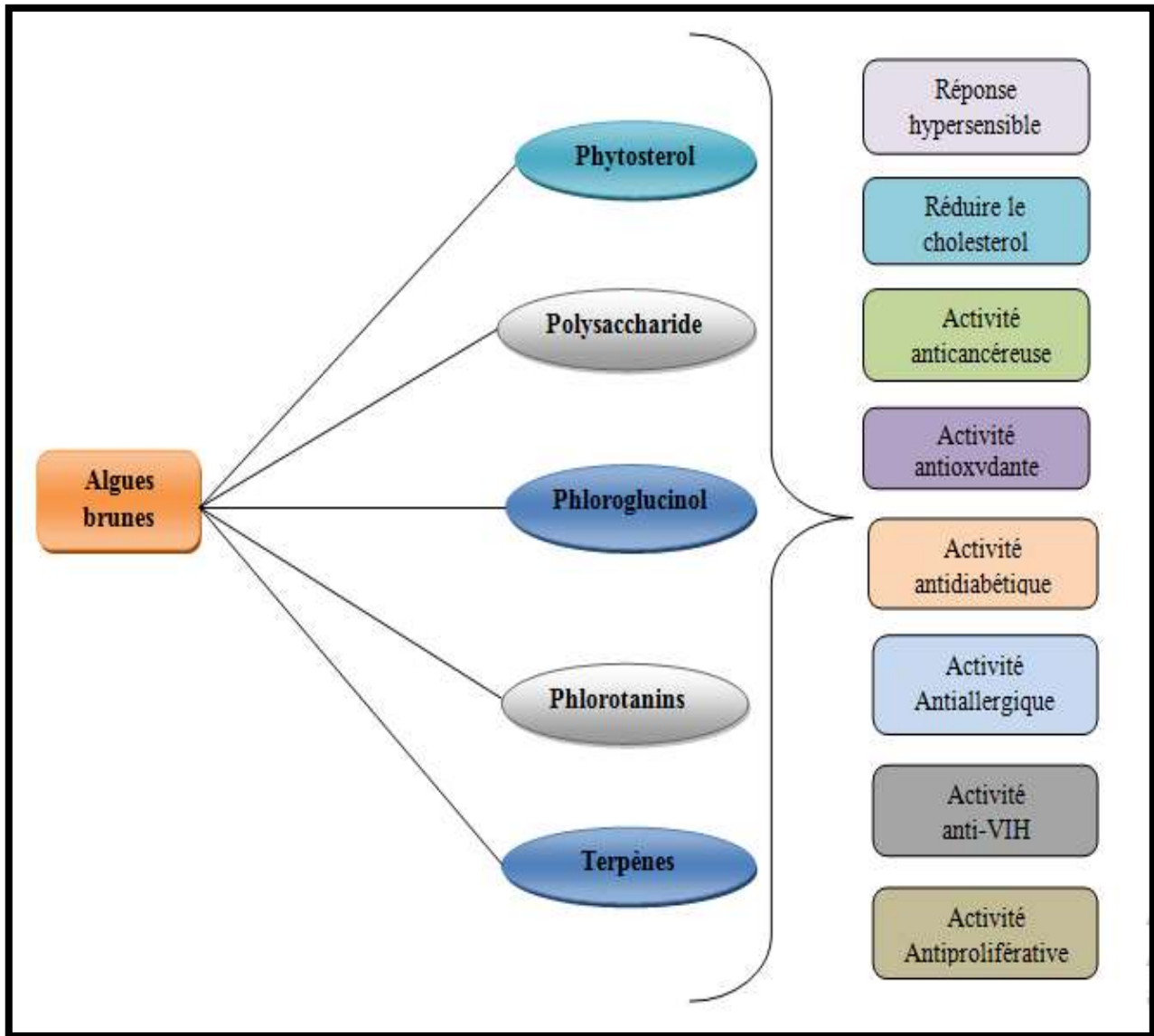


Figure 7: Diagramme schématisant les applications des algues brunes en fonction de ses composés bioactifs (Masuma *et al.*, 2020)

I. La Margarine

La Margarine a été inventée en 1869 par Mege-Mouriès, pharmacien français à la suite d'un concours organisé par Napoléon III, pour un corps gras semblables au beurre mais de prix inférieur, apte à se conserver longtemps en gardant sa valeur nutritive (**Laia et al., 2000**). A l'origine elles étaient réalisées à partir d'une émulsion de graisse de bœuf et de lait ; actuellement fabriquées à partir d'huiles végétales (**Leray, 2013**).

La margarine est une émulsion alimentaire (eau/huile) résultant de la dispersion de deux phases :

- Phase continue : phase grasse
- Phase dispersée : phase aqueuse

La composition globale de la margarine renferme une phase grasse à 80-82% de lipides, une phase aqueuse contenant 16% d'eau et/ou lait et d'additifs, obligatoire ou facultatives environs 2% (**Djouab, 2007**). La phase grasse est un mélange d'huiles, de corps gras concrets et d'additifs tels que des émulsifiants, des colorant et du diacétyl (**Jean et al., 2000**). La phase aqueuse est composée d'eau, de produits laitiers et d'additifs tels que : du sel, des agents conservateurs et agents acidifiants (**Jean et al., 2000**). La margarine est principalement utilisée comme substitut du beurre, pour Toasts, ou en remplacement de l'huile et du beurre en cuisine (**Jean et al., 2008**). Le **tableau I** illustre les différents types de margarines.

Tableau I: Les différents types de margarines

Margarine à usage domestique	Margarine diététique ou spéciale (basses calories)	Margarine enrichie en phytostérols	Margarine pour industrie alimentaire
<ul style="list-style-type: none"> • Le plus souvent préparée à partir de triacyl-glycérol riche en acides gras non saturé. • La teneur maximale en humidité est de 16% et doit être suffisamment forte pour 20 °C. • Il existe de nombreuses variétés en fonction de la teneur en acides gras polyinsaturés cela leur donne des duretés différentes (Alais et al., 1997). 	<ul style="list-style-type: none"> • Sont facilement tartinables à températures de réfrigération et à poids égale apportent moins de calories (380 Kcal /100g) ; Peut-être fabriqués à partir de matière première laitière : matière grasse butyrique ou lactosérum ultra-filtré. Peut également contenir des graisses végétales : huile de soja de Tournesol ou de colza (Alais et al., 2008). 	<ul style="list-style-type: none"> • Vise à réduire le taux de cholestérol de 15 à 20 %, ce qui équivaut à une plus grande réduction 40% de risque cardiovasculaire. Riche en certains composés (phytostérols, stérols d'origine végétale à environ 8%) (Djouab, 2007 ; Himed, 2011). 	<ul style="list-style-type: none"> • Stable à haute température (graisse de friture), ou bonne plasticité sur une large plage de température (biscuiterie et pâtisserie).Et d'acides gras libres et résistants oxydation (Alais et al., 2008).

II. L'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides dans les systèmes biologiques par l'intermédiaire de réactions radicalaires en chaîne non contrôlées aboutit à de nombreux types de lésions cellulaires. Dans les membranes, l'oxydation des lipides et les réactions des produits d'oxydation avec les autres constituants membranaires altèrent certaines fonctions biologiques cruciales telles que la perméabilité, la fluidité ou encore l'activité de récepteurs et d'enzymes. L'oxydation des lipides pose également de sérieux problèmes pour les industries agroalimentaires et cosmétiques qui utilisent de plus en plus d'acides gras polyinsaturés, tels que ceux issus de la famille Oméga 3 très sensibles à l'oxydation. Dans le domaine alimentaire et au-delà de l'altération des qualités gustatives (Rancissement) et nutritionnelles (Pertes en vitamines et acides gras essentiels), l'oxydation des lipides en composés hautement réactifs et toxiques (Lipoperoxyradicaux, malondialdéhyde...) représente un danger réel pour le consommateur (**Laguerre et al., 2007**).

II.1. Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides telle que la margarine peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs (**Eymard, 2003**) :

- L'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres.
- La photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs.
- L'oxydation enzymatique initiée par la lipoxigénase.

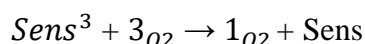
II.1.1. Auto-oxydation

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique, qui est une série de réactions radicalaires qui se déroulent en trois étapes. La première réaction génère des radicaux libres en éliminant l'hydrogène des acides gras (initiation). Ces réactions produisent alors successivement plusieurs radicaux libres (propagation), qui se combinent pour former des composés non radicalaires (terminaison) (**Frankel, 1998**).

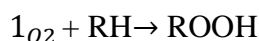
II.1.2. Photo-oxydation

La photooxydation est une voie importante pour la production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que l'hémo-protéine ou la riboflavine. Les photosensibilisateurs (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité ($Sens^3$). Ils participent à l'oxydation des lipides par deux mécanismes (**Frankel, 1998**).

Les photosensibilisateurs de type I, telle que la riboflavine, agissent comme des initiateurs de radicaux libres. A l'état de triplet, elles arrachent un atome d'hydrogène ou un électron aux molécules lipidiques, formant un radical libre capable de réagir avec l'oxygène. Selon le deuxième mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent avec l'oxygène triplet à l'état excité ($Sens^3$), et elles transfèrent de l'énergie à l'oxygène triplet pour donner de l'oxygène singulet (1_{O_2}).



L'oxygène singulet ainsi formé est très électrophile et peut réagir directement avec les acides gras insaturés pour former l'hydroperoxyde ROOH.



Une réaction en chaîne radicalaire auto-oxydante se produit alors. L'hydroperoxyde ainsi formé est différent de l'hydroperoxyde formé par auto-oxydation (**Frankel, 1998**).

II.1.3. Voie enzymatique

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés peut être enzymatique. Les deux principales enzymes impliquées sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase. La lipoxygénase catalyse l'insertion de molécules d'oxygène sur les acides gras insaturés selon des réactions stéréospécifiques et conduit à la formation d'hydroperoxydes. Elle agit exclusivement sur les acides gras non estérifiés, son activité est donc souvent associée à celle de la lipase et de la phospholipase. La cyclooxygénase est une lipoxygénase qui lie deux molécules d'oxygène au niveau des acides gras pour former des hydroperoxydes spécifiques. La cyclooxygénase catalyse la formation *in vivo* de prostaglandines et de thromboxane, tandis que la lipoxygénase catalyse la formation de leucotriènes. La cyclooxygénase catalyse la formation de prostaglandines et de thromboxane *in vivo*, tandis que la lipoxygénase catalyse la formation de leucotriènes (**Hultin, 1994**).

L'oxydation enzymatique se produit même à basse température. L'activité enzymatique est très faible pendant le stockage à l'état congelé, mais semble se rétablir et augmenter une fois que la décongélation commence et atteint des températures comprises entre 0°C et 4°C (**Frankel, 1998**).

III. Les additifs alimentaires utilisés dans les corps gras

Les additifs et auxiliaires technologiques de fabrication de la margarine comprennent (Aboke et al., 2008) :

- Agents émulsifiant : Grâce aux émulsifiants, la margarine acquiert sa consistance assez dure à température ambiante, mais assez souple pour être tartinée. Les plus couramment ajoutés sont la lécithine de soja ou les mono et diglycérides d'acides gras.
- Aromes : Afin d'améliorer les propriétés organoleptiques de la margarine, l'ajout de lait aromatisé ou de beurre est couramment utilisé pendant le processus de fabrication.
- Colorants : La couleur recherchée dans l'industrie de la margarine est celle du beurre, c'est-à-dire une couleur jaune-orange de carotène. Pour cela, on ajoute à la phase grasse des bêta-carotènes ou on utilise ceux qui sont directement contenu dans l'huile de palme.
- Sel : Le sel contribue à la protection du produit contre les dégradations microbiologiques et en même temps à améliorer la sapidité de la margarine à la consommation.
- Vitamines : L'ajout de vitamines permet de rehausser les propriétés diététiques de la margarine. On utilise surtout les vitamines liposolubles telles que la vitamine A et la vitamine D2. La teneur des huiles végétales en vitamine E est en général suffisante.
- Correcteur d'acidité : Pour une bonne conservation, l'acide citrique ou lactique sont ajoutés et de leurs sels de sodium, de potassium ou de calcium.
- Conservateurs : Le recours à l'acide sorbique est usuel, et actif contre le développement des levures et des moisissures et à un degré moindre des bactéries. Cependant, comme il ne couvre pas l'ensemble des micro-organismes et il est associé à des sels de sodium ou de potasse.

Partie pratique

Matériel & Méthodes

Le travail réalisé dans cette étude a été effectué pour sa première partie au niveau du laboratoire de Génie biologique de l'université de Bejaia, la seconde partie des travaux a été réalisée au niveau du complexe Cevital Agro – Industrie SPA, Bejaia ; pendant un mois du 05 Avril 2022 au 04 Mai 2022 (annexe 01).

Le but de notre travail est d'évaluer le potentiel de l'extrait d'algue brune *Padina pavonica* comme source naturelle d'antioxydants et antimicrobiens dans la margarine en substitution de la vitamine E (antioxydant) et du sorbate de potassium (antimicrobien) d'un côté et en l'ajoutant à la vitamine E et/ au sorbate pour une étude de synergie d'un autre côté. Pour ce faire l'étude de la stabilité oxydative ainsi que la détermination de leur qualité à travers des analyses physico-chimiques, organoleptiques et bactériologiques par rapport à une margarine de référence a été effectuée.

I. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est une algue brune appelée *Padina pavonica*. C'est une algue de la famille des Dictyocophycées, distribuée des cotes tempérées chaudes aux cotes tropicales, à des latitudes $\pm 30^\circ$ dans le monde, et poussant principalement dans la mer Méditerranée et l'océan Atlantique (Benita et al., 2018).

➤ **Classification (Cabioc'h, 2006) :**

Embranchement	Ochrophyta
Sous-embranchement	Phaeista
Super-classe	Fucistia
Classe	Phéophycées
Ordre	Dictyotales
Famille	Dictyotacées
Genre	<i>Padina</i>
Espèce	<i>Padina pavonica</i>

Cette algue a été récoltée en Mars 2022 sur le littoral de la plage dite d'El'ach El-baz, à environ 22 Km à l'ouest de la ville de Bejaia, (36° 49' 58 , 06 N , 4° 58' 05' 17' E) (Figure 08).

L'algue fraîche est rincée à l'eau douce et égouttée, puis séchée dans un environnement ventilé et à l'abri de la lumière. Après séchage, l'algue est broyée en poudre fine à l'aide d'un broyeur mécanique, puis tamisée afin d'obtenir une poudre de granulométrie inférieure à 63 μm . La poudre obtenue, a été conservée dans un flacon à fumé dans un endroit frais et sec.



Figure 8 : Photographie de *Padina pavonica* récoltée sur la plage d'El'ach El-baz, Bejaïa

II. Extraction des composés bioactifs

II.1. Procédés d'extraction

L'extraction a été effectuée en utilisant le protocole de **Cox et al. (2010)**. A cet effet, 10 g de poudre sont macérés dans 100 ml de solvant (éthanol /eau : 75/25), sous agitation à 40 °C pendant 02 heures. La solution est, par la suite centrifugée à 5000 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant est récupéré, filtré à l'aide d'un papier filtre standard (Figure 9) et évaporé à sec dans une étuve ventilée à 40 °C. L'extrait sec est ensuite conservé dans des flacons fumés à -10 °C jusqu'à son utilisation.



Figure 9: Photographie d'un surnageant filtré à l'aide d'un papier filtre standard

II.2. Détermination des taux d'extraction

Le rendement en extrait sec est déterminé par la différence entre le poids de l'extrait avant et après évaporation du solvant.

- Le rendement d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{RE \%} = (\text{P1} - \text{P0}) / \text{E} \times 100$$

P0 : poids du bécher vide (mg)

P1 : poids du bécher après évaporation (mg)

E : poids de l'échantillon (mg)

RE : Rendement d'extraction exprimé en pourcentage

III. Formulation des différentes margarines

La formulation de la margarine se compose essentiellement de deux phases selon les proportions suivantes :

80 % - 82% de la phase grasse

18% - 20% de la phase aqueuse

Dans ce travail, nous avons formulé quatre margarines :

- **Préparation 01** : 50 ppm d'extrait d'algue, 100 ppm de vitamine E (sans sorbate de potassium).
- **Préparation 02** : 50 ppm d'extrait d'algue, sorbate de potassium (sans vitamine E).
- **Préparation 03** : 50 ppm d'extrait d'algue, 100 ppm de vitamine E et sorbate de potassium.
- **Préparation** : 50 ppm d'extrait d'algue seulement.

III.1. Préparation de la phase grasse

C'est un mélange constitué de trois huiles végétales : l'huile de tournesol et l'huile interstérifiée comme l'huile fluide, huile de palme comme l'huile concrète (Figure 10 a.). La phase grasse est la même pour les quatre préparations de la margarine, sauf l'addition de ingrédient liposoluble telle que la vitamine E comme un antioxydant pour les préparations 01 – 03 en quantité requise par la recette.

III.2. Préparation de la phase aqueuse

Dans un bêcher, nous avons préparé pour chaque margarine sa phase aqueuse (Figure 10 b.), qui se compose d'un mélange d'eau et de lait écrémé pasteurisé avec des ingrédients hydrosolubles préalablement pesés telle que : acide acétique comme correcteur de pH, la solution d'extrait d'algue comme antioxydant et antimicrobienne et le sorbate de potassium comme un antifongique (Pour les préparations 02-03).

III.3. Émulsification

L'émulsifiant, qui sert à mélanger les deux phases hétérogènes, a été ajouté d'abord à la phase grasse sur une plaque chauffante à une température de 60-65 °C pendant 10-15 min et sous agitation par une batteur électrique. Lorsque l'émulsifiant se dissout complètement, on ajoute la phase aqueuse avec la diminution de la température environ 40 °C et sous agitation jusqu'à obtention d'une émulsion eau /huile stable (homogène) (Figure 10c.).

III.4. Refroidissement et cristallisation

Cette étape s'effectue à l'aide d'une sorbetière glacée (-15 °C), où l'on y verse l'émulsion obtenue. Cette dernière est mélangée avec une cuillère jusqu'à ce qu'elle commence à se cristalliser (Figure 10 d.), puis la margarine est raclée manuellement.

III.5. Malaxage

Ce traitement sert à homogénéiser et obtenir la consistance recherchée pour le produit finale (une plasticité et une texture convenable). Le malaxage se fait manuellement en mouvements circulaires sans arrêt, à l'aide d'une spatule jusqu'à acquérir la structure et la stabilité voulue du produit.

III.6. Conditionnement et stockage

La margarine est versée dans son emballage : pots en plastique fermé hermétiquement. Les pots de margarine sont conservés au réfrigérateur à 6,8 °C, à l'abri de la lumière et sans brusques variations de température.

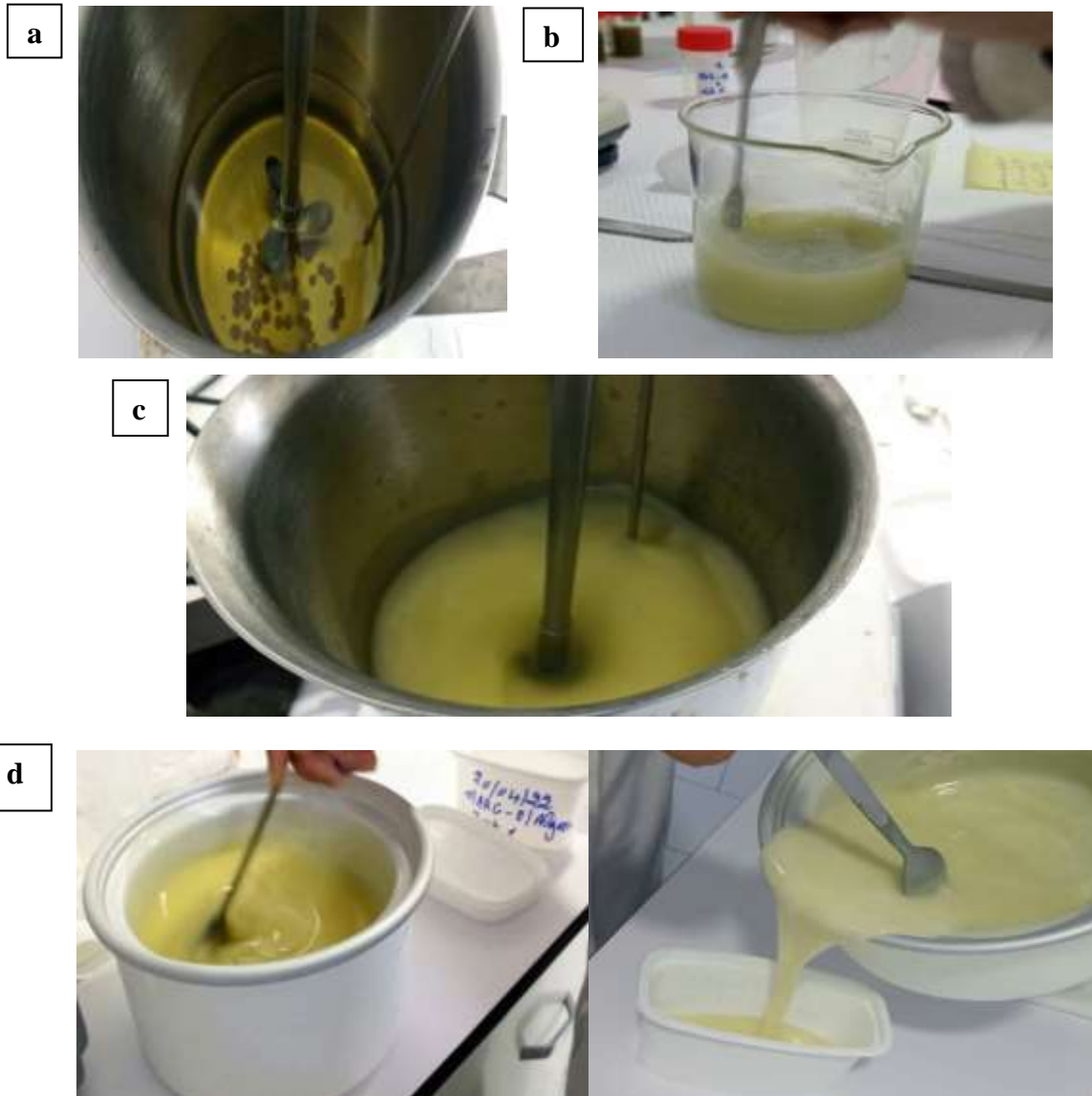


Figure 10: Procédé de la formulation de la margarine à l'échelle laboratoire; **a:** Préparation de la phase grasse, **b:** Préparation de la phase aqueuse, **c:** Emulsification, **d:** Refroidissement, cristallisation et malaxage du produit fini

IV. Analyses effectuées sur les extraits

IV.1. Dosage des composés phénoliques

La détermination du taux de polyphénols totaux a été effectuée par le réactif de Folin – Ciocalteu en 1965 par Singleton et Rossi. Depuis lors, son utilisation a été largement utilisée pour la caractérisation des sources les plus diverses d'extraits végétaux (**Boizot et Charpentier, 2006**). Le principe de la méthode repose sur le fait que le réactif de Folin –Ciocalteu est un acide de couleur jaune, composé d'hétérocycles : mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) (**Ribéreau Gayon, 1968**). La réduction des hétérocycles induit la formation d'un complexe de molybdène (MO_8O_{23}) – tungstène (W_8O_{23}) de couleur bleue stable qui absorbe fortement à la longueur d'onde de 760 nm. La couleur produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents. Le dosage des polyphénols totaux (PT) est effectué par la comparaison de l'absorbance obtenue à celle d'un étalon d'acide gallique de concentration connue (**Vermerris et Nicholson, 2007**). La méthode utilisée est celle décrite par **Koşar et al. (2005)**.

A 1200 µl d'eau distillée, sont ajoutés 20 µl d'extrait, puis 100 µl d'une solution de Folin Ciocalteu. Après une minute, 300 µl d'une solution de carbonate de sodium à 20 %, puis 380 µl d'eau distillée y sont additionnés. Ce mélange est laissé à l'obscurité et à température ambiante pendant deux heures.

Des mesures d'absorbance sont enregistrées à 760nm en utilisant un Spectrophotomètre. Une courbe d'étalonnage sont réalisées avec des solutions d'acide gallique (dans une gamme de concentration de 0,03125 à 2 mg / ml). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g).

IV. 2 Activité antiradicalaire : test de piégeage du radical libre DPPH

Le 1,1-diphényl-2-picryl hydrazyl (DPPH) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme de radical libre et de la simplicité de l'analyse (**O'Sullivan et al., 2011**). A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons (Figure 11) cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (**Masuda et al., 1999**).

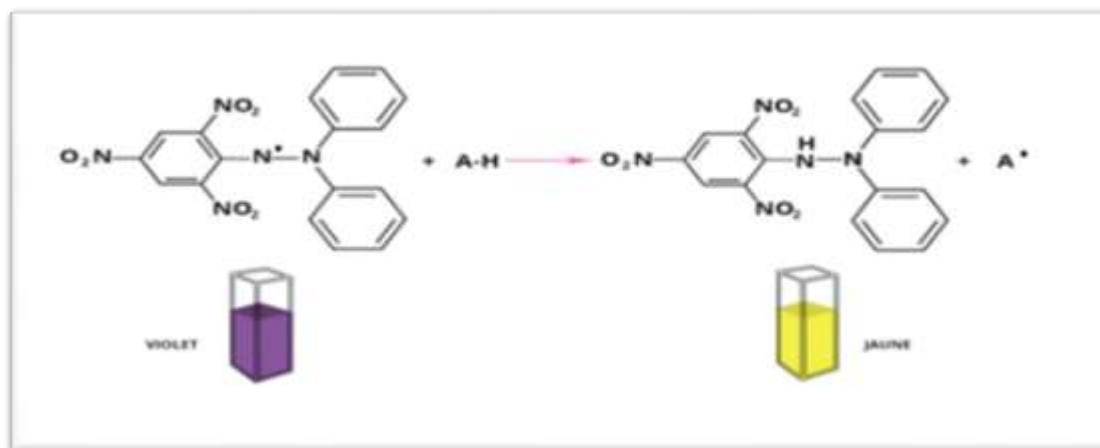


Figure 11: Principe du dosage de la capacité de piégeage des radicaux DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995).

Différentes concentrations d'extrait (30 ; 15 ; 7,5 ; 5 ; 3,75) mg/ml ont été préparées et 75 μ l de chaque concentrations ont été mélangés avec un volume de 2975 μ l de solution de DPPH. Les mélanges sont ensuite agités et laissés à l'obscurité à température ambiante pendant quatre heures (4 H). La mesure de l'absorbance des solutions obtenues a été effectuée à 517 nm.

Une courbe d'étalonnage du DPPH est réalisée, les valeurs obtenues sont utilisées pour estimer la concentration d'extrait nécessaire pour accomplir une réduction de 50% de la concentration initiale de DPPH (IC₅₀) correspondante en extrapolant grâce à la courbe de réduction effectué par les absorbances des mélanges entre les différentes concentrations d'extrait et la solution de DPPH.

La capacité à piéger les radicaux libres a été exprimée par la valeur IC₅₀, qui représente la concentration requise pour piéger 50 % du radical libre DPPH.

- ✓ Le test à blanc a été représenté par une solution d'extrait de méthanol sans le radical libre DPPH ; et le protocole expérimental a été appliqué dans les mêmes conditions que les échantillons.

V. Contrôle de qualité de la margarine

V.1. Contrôle physico-chimique

V.1.1. Détermination de l'acidité (ISO 3960, 2007)

L'acidité est le pourcentage d'acide gras libre dans la matière grasse (huile), elle est exprimée en pourcentage d'acide oléique.

➤ **Principe**

Le principe est de neutraliser d'abord la solution acide puis de neutraliser uniquement les acides gras libres par une solution chaude de NaOH en présence de phénolphaléine, cette dernière se caractérisant par un changement de couleur.

75 ml d'une solution d'alcool neutralisé sont additionnés à 10 g de la phase grasse à analyser dissoute sur une plaque chauffante (pendant quelques minutes), puis un titrage des acides gras libres est effectué en utilisant de la phénolphaléine comme indicateur coloré et du NaOH 0,1N jusqu'à observation d'une coloration rose persistante. La chute de la burette est notée.

□ **Expression des résultats :**

$$\text{Acidité \%} = M \times N \times V / P \times 10$$

M : masse molaire d'acide oléique = 282 g / mol

N : normalité de NaOH à 0,1N

P : poids de la prise d'essai.

V : volume de NaOH utilisé pour le titrage.

V.1.2. Détermination du Point de fusion (ISO 6321, 2002)

Température à laquelle une colonne de graisse placée dans un tube capillaire commence à se déplacer dans les conditions opératoires spécifiées.

➤ **Principe**

La détermination du point de fusion basé sur le passage de la matière grasse de l'état solide à l'état liquide sous l'action d'une certaine température. La température maintenue correspond au point de fusion de la margarine exprimée en Degrés Celsius (°C).

Une quantité d'échantillon de margarine est fondu dans une étuve à 105 °C puis filtrée sur un papier filtre contenant du sulfate de sodium (absorbe l'humidité). Deux tubes capillaires en verre sont introduits sur une hauteur de 1 cm dans la phase grasse de l'échantillon, préalablement filtrée. Ensuite refroidir au congélateur (pendant quelques minutes). Les deux capillaires sont fixés avec une pince en bois et suspendus sur un bécher afin qu'ils soient immergés dans l'eau froid ; puis chauffés sur une plaque chauffante ; Un

thermomètre est introduit à l'intérieur du milieu. Le but est de noter la température à laquelle le corps gras commence à remonter dans les tubes.

V.1.3. Détermination du taux de solide SFC par RMN (Solid Fat Content)

➤ Principe

Le taux de solide SFC est évalué par la méthode de **Wolf (1968)** il est exprimé en pourcentage et constitue une caractéristique physique importante influençant beaucoup les propriétés technologiques et sensorielles des corps gras : la texture (**Himed et al., 2013**).

Une quantité d'échantillon de margarine est fondue dans une étuve à 105 °C puis filtrée sur un papier filtre contenant du sulfate de sodium. Deux cuves propres et sèches sont remplies à hauteur de 2 cm par la phase grasse de l'échantillon, préalablement filtré. Elles sont ensuite placées dans un bain-marie pendant 5 à 10 min à 70 °C ; 20 min à 60 °C ; 60 min à 0 °C respectivement. Puis placées dans l'appareil de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN). La première valeur est lue en % à 5 °C. Les cuves sont ensuite chauffées au bain-marie pendant 30 min à 10 °C (2^{ème} lecture), puis 30 min à 15 °C (3^{ème} lecture) ; 30 min à 20 °C (4^{ème} lecture) ; 30 min à 25 °C (5^{ème} lecture) ; 30 min à 30 °C ; 30 min à 35 °C (6^{ème} lecture) ; 30 min à 40 °C (7^{ème} lecture). Les valeurs de SFC sont ainsi notées chaque 30 min à des températures différentes.

□ Expression des résultats :

La courbe de SFC (%) est tracée en fonction de la température (°C).

V.1.4. Détermination du potentiel hydrogène (pH) (ISO 662,1998)

C'est la différence de potentiel entre deux électrodes immergées dans la phase aqueuse de la margarine à la température de mesure.

La détermination du potentiel hydrogène est réalisée à l'aide d'un pH mètre qui mesure la différence de potentiel entre une électrode de verre et une électrode de référence.

V.1.5. Détermination de la teneur en eau (Humidité) (NE 1. 2647. 1985)

Consiste à éliminer l'eau dans une étuve isothermique, à une température de $103 \pm 2^\circ\text{C}$ dans les conditions spécifiques, La teneur en eau est exprimée en pourcentage.

➤ Principe (ISO 662, 1998)

Le principe est basé sur la détermination du poids d'un échantillon avant et après séchage, et toute différence en poids indique la présence d'eau. Dans un bécher préalablement taré, une prise d'essai de 2 g de margarine est mise dans une étuve. Des mesures de poids sont effectuées régulièrement jusqu'à obtention d'un poids constant.

□ **Expression des résultats :**

La teneur en eau est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Humidité \%} = [(M0 - M1) - M2 / M1] \times 100$$

H % : Humidité exprimé en pourcentage massique

M0 : Poids du bêcher vide en gramme (g)

M1 : Poids de la prise d'essai en gramme (g)

M2 : Poids du bêcher contenant l'échantillon après chauffage en gramme (g)

V.1.6. Détermination de l'indice de peroxyde (ISO 3960, 2007)

C'est la quantité de produit présente dans l'échantillon de margarine exprimée en milliéquivalent gramme d'oxygène actif par Kilogramme de corps gras oxydant l'iodure de potassium. Cet indice permet de suivre l'état de conservation ou d'avancement de l'oxydation d'une margarine.

➤ **Principe**

Le principe repose sur le traitement d'un échantillon en solution dans l'acide acétique et le chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI), le titrage d'iode libre se fait par une solution de thiosulfate de sodium, en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré. Pour cela 5 g de la phase grasse de la margarine sont pesés dans un Erlen-meyer, 12 ml de chloroforme, 18ml d'acide acétique et 1 ml d'iodure de potassium y sont ajoutés, le mélange est agité et mis à l'abri de la lumière pendant une minute. Après incubation, 75 ml d'eau distillée sont ajoutés sous agitation, puis de quelques gouttes d'empois d'amidons. Le mélange est titré par du thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) à 0,01 N.

□ **Expression des résultats :**

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

$$\text{IP (méqO}_2 \text{ / Kg MG)} = N \times (V1 - V2) \times 1000 / P$$

IP : Indice de peroxyde exprimé en milliéquivalent gramme d'oxygène actif par Kilogramme de matière grasse

V0 : Volume de la solution de thiosulfate de sodium pour l'essai à blanc en ml

V1 : Volume de thiosulfate de sodium utilisé en ml

N : La normalité de la solution de thiosulfate de sodium à 0,01 N

P : Prise d'essai en gramme

V.1.7. Détermination du taux de sel (NE.1.2.429, 1989)

C'est la quantité de sels contenus dans une prise d'essai de margarine, il est exprimé en pourcentage de chlorure de sodium.

➤ **Principe**

Le principe est basé sur la formation d'un précipité de chlorure d'argent de l'échantillon par l'ajout de nitrate d'argent (AgNO_3). Le chromate de potassium ajouté forme un complexe de coloration rouge brique en présence de nitrate d'argent en fin de réaction.

□ **Expression des résultats :**

Le pourcentage de sel est donné par la formule suivante :

$$\text{Ts}\% = (\text{N.Vagno3} \times \text{Meq-g Nacl} / 1000 \times \text{Pe}) \times 100$$

Ts %: $(\text{N.VagNO}_3 \times \text{Meq-gNacl} / 1000 \times \text{Pe}) \times 100$

Ts : Taux de sel

VagNO₃ : volume de nitrate d'argent

N : Normalité (0,1 N)

Pe : Masse de la prise d'essai en gramme

VI. Evaluation de la stabilité oxydative de la margarine par le test Rancimat

Le test au Rancimat a été reconnu comme une méthode officielle à l'échelle internationale (Norme ISO 6886) et par de nombreux pays tels que les Etat-Unis d'Amérique, le Japon et la Suisse. Ce test est très utilisé pour évaluer la stabilité oxydative des matières grasses (**Rahmani, 2007**).

➤ **Principe**

Le principe du test repose sur le vieillissement prématuré des graisses par décomposition thermique sous bullage intensif d'air. Les acides organiques, produits de dégradation de cette oxydation poussée, sont

entraînés par un courant d'air et recueillis dans une cellule de mesure remplie d'eau déminéralisée ou distillée dans laquelle est immergée une électrode de mesure de la conductivité. Cette dernière est reliée à un dispositif de mesure et d'enregistrement. Le temps d'induction est déterminé par un conductimètre. Cela correspond au temps de résistance des graisses au stress oxydatif.

L'échantillon à analyser est chauffé à une température de 98 °C et un débit pour 10L/h, 60 ml d'eau distillée sont versés dans la cellule de mesure. Trois grammes d'échantillon (3 g) sont introduits dans des flacons d'oxydation à l'air. Par la suite un démarrage de l'enregistreur automatique des données est effectué, les mesurages sont arrêtés une fois le signal atteint 100% de l'échelle de l'enregistreur, à la fin les valeurs obtenues sont enregistrées sur l'ordinateur à l'aide d'un logiciel.

VII. Contrôle microbiologique

Le risque de contamination microbienne de la margarine provient principalement de la phase aqueuse, cette étape est plus sensible à la contamination. Ainsi le lait, malgré sa pasteurisation peut être utilisé comme milieu pour l'introduction accidentelle de microorganismes. L'huile constituant un milieu peu propice au développement bactérien (**Karleskined, 1992**).

Afin de s'assurer de la qualité bactériologique du produit fini : margarine à base d'extrait d'algue *Padina pavonica* ; cinq espèces de bactéries pouvant altérer la qualité de la margarine sont régulièrement dénombrées.

▪ Préparation de la solution mère

Dans un Erlenmeyer stérile préalablement taré, une masse de 40 grammes de l'échantillon à examiner sont prélevées de manière aseptique à l'aide d'une spatule stérile ; Puis 34 ml de diluant Ringer y sont additionnés. L'Erlenmeyer est ensuite placé au bain-marie, réglé à 45 °C jusqu'à ce que le produit soit fondu. Après agitation et repos une bonne séparation de la phase grasse et de la phase aqueuse est obtenue.

VII .1. Dénombrement des germes aérobies

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale reste la meilleure méthode estimation des indices de salubrité et de qualité des aliments dans les contrôles industriels (**Bonnefoy et al., 2002**).

1 ml de la solution mère (phase aqueuse) est introduit aseptiquement dans deux boîtes de Pétri stériles auxquelles un volume de 12 à 15 ml d'agar surfondu (PCA) à 45 °C a été ajouté. Deux boîtes sont utilisées comme témoins, une pour la gélose PCA (Plate Count Agar) et l'autre pour le diluant Ranger. Les boîtes sont incubées à l'étuve à 30 °C pendant 72 heures (h).

La lecture des résultats se fait par le comptage des colonies.

VII. 2. Dénombrement des levures et moisissures

Le dénombrement des levures et moisissures est effectué sur le milieu de culture YGC (Yeast, Glucose, Chloramphénicol). 1ml de la solution mère (phase aqueuse) sont introduit dans deux boites de Pétri stériles auxquelles un volume de 15 ml de gélose YGC surfondue y sont versés. Une boite témoin a été préparée pour contrôler sa stérilité. Après homogénéisation et solidification, les boites ainsiensemencées ont été incubées à 25 °C pendant 5 jours.

La lecture des résultats se fait en comptant les colonies qui apparaissent rondes, opaques et parfois colorées.

VII .3. Recherche des coliformes fécaux

La recherche des coliformes fécaux est effectuée sur un milieu solide VRBL (Violet Red Bile Lactose Agar).1ml de chaque solution mère (phase aqueuse) déposée dans deux boites de Pétri stérile, ensuite 15ml de gélose VRBL en surfusion y sont ajoutée. Le contenu est homogénéisé et laissé solidifier. Une boite témoin de milieu pour contrôler sa stérilité est réalisée. Après solidification une deuxième couche de milieu de culture est ajoutée (ensemencement en masse : double couches).

Les boites préparées sont incubé à 44 °C pendant 48h.

La présence des coliformes fécaux se traduit par l'apparition des colonies bombées et rouge foncées par la réduction du lactose.

VII.4. Recherche des staphylocoques

Le développement des staphylocoques se fait sur le milieu Chapman. On prend deux boites de Pétri stérille, on coule dans chacune de ces boites environ 15ml de milieu de culture Chapman avec une boite témoin de ce dernier. Après qu'ils soient complètement solidifiés, trois gouttes de chaque solution mère sont versées en surface des boites contenant la gélose, puis l'ensemencer avec un râteau sur tout la surface. Les boites sont incubées à 37 °C pendant 48h.

Les résultats positifs se traduiront par un changement de couleur de milieu au jaune (fermentation de mannitol).

VII .5. Recherche des salmonelles

Le principe consiste en un processus de multiplication des salmonelles dans le produit alimentaire par un pré-enrichissement puis un enrichissement. Ces opérations sont suivies de l'isolement de ces bactéries sur gélose Hecktoen (**Petranxiene et lapied, 1981**).

1- Le pré-enrichissement

25g de chaque type de margarine sont introduit dans 225ml d'eau péptonée tamponnée contenus dans des flacons fermés, ces derniers sont incubés dans un bain-marie réglé à 45 °C, jusqu'à la fusion totale de la margarine. Les solutions obtenues sont incubées à température 37 °C pendant 24h.

2- Enrichissement sélectif

L'enrichissement a été réalisé sur deux milieux sélectifs des salmonelles. 1ml des solutions de pré-enrichissement est rajouté à l'aide d'une pipette stérile dans 100ml de milieu sélénite cystine dans des flacons. Et 0,1ml des mêmes solutions est aussi rajouté à 10ml de Bouillon Rappaport-Vassiliadis Soja dans des tubes à essais. L'incubation se fait dans une étuve à 40 °C pendant 24h pour le milieu RVS et 37 °C pendant 24h pour le milieu sélénite cystine.

La croissance bactérienne se traduit par l'apparition d'un trouble dans le milieu ainsi un changement de couleur : une coloration rouge-orangée pour le milieu Sélénite cystine et une poudre jaune paille-vert pour le milieu RVS.

- Isolement sur le milieu Hecktoen

A l'aide d'une anse de platine stérile une goutte de la solution d'enrichissement est prélevée et ensemercer en striés sur gélose Hecktoen. Une boîte témoin de la gélose est réalisé. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24h.

La présence des salmonelles se traduit par des colonies de couleur bleu verdâtre avec ou sans centre noir.

Résultats et discussion

Pour extraire les composés phénoliques, nous avons réalisé une extraction par macération sur la poudre d'algues brunes : *Padina pavonica*. À cette fin, nous avons choisi comme solvant d'extraction de l'éthanol aqueux à 75 %, car il est non toxique et accepté dans le domaine agroalimentaire.

I. Taux d'extraction en composés phénoliques

La méthode d'extraction des composés phénoliques doit pouvoir maximiser l'extraction des composés phénoliques sans modification chimique (**Hayouni et al., 2007**). Après extraction par macération (extrait phénolique) ; le taux d'extraction de l'extrait macéré à 75 % d'éthanol de *Padina pavonica* a donné 5,3 %. Selon **Tierney et al. (2012)**, le taux d'extraction dépend du type de solvant et de sa polarité spécifique, du temps et de la température d'extraction, de la composition chimique de l'échantillon et de la méthode d'extraction (macération, décoction, infusion). De plus, en comparant notre étude avec une étude similaire de **Saidani, (2010)** sur la même algue brune dans les mêmes conditions, mais avec le méthanol remplacé comme solvant, nous avons constaté que notre taux d'extraction pour les extraits phénoliques (5,3 %) est supérieur à la valeur obtenue par l'étude ci-dessus (2,34%), sachant que la granulométrie de la poudre était de 63µm dans les deux études, ce qui confirme l'efficacité du solvant d'extraction utilisé. Les chercheurs utilisent divers solvants organiques pour obtenir des extraits à forte teneur en composés phénoliques, l'eau et l'éthanol sont privilégiés dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques pour des raisons économiques, toxicologiques et environnementales (**Meskini et al., 2021**).

Plusieurs facteurs peuvent affecter la teneur totale en polyphénols. Des études ont montré que les facteurs extrinsèques (tels que les facteurs géographiques et climatiques), les facteurs génétiques, la maturité des plantes et le temps de stockage ont un impact important sur la teneur en polyphénols (**Bouزيد et al., 2011**).

II. Analyses effectuées sur les extraits

II.1. Dosage des composés phénoliques

La méthode d'évaluation de la teneur en composés phénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu est largement utilisée en laboratoire et donne des résultats fiables et reproductibles. La méthode est simple à mettre en œuvre et permet de traiter un grand nombre d'échantillons avec une faible quantité d'extrait végétal. Cependant, il n'est pas spécifique aux polyphénols ; Le Folin réagit avec les acides aminés (tyrosine et tryptophane) des protéines, les sucres réducteurs tels que le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites (**Boizot et Charpentier, 2006**). La concentration en polyphénols totaux a été

déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage utilisant l'acide gallique comme témoin, et la quantité a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

La teneur en polyphénols totaux de l'extrait d'algue brune obtenue dans cette étude était de $17,48 \pm 0,1$ mg EAG/g d'extrait ; différentes études attestent de l'efficacité de l'extraction par macération, en effet la teneur en polyphénols totaux obtenus par macération est supérieurs à celles obtenues par les autres types d'extraction (Naja et al., 2012 ; Mahmoudi et al., 2013). Bien qu'en plus du type d'extraction, la teneur en polyphénols totaux dépend de la polarité du solvant utilisé. En effet les composés phénoliques ayant des polarités différentes, suggérant que les mélanges hydroalcooliques peuvent être les solvants les plus appropriés pour leur extraction, de plus, ces mélanges peuvent être utilisés dans des applications alimentaires (Medina-Torres et al., 2017).

II.2. Activité antiradicalaire : (Piégeage du radical libre DPPH)

L'activité antioxydante de l'extrait d'algues brunes obtenu a été étudiée par la méthode DPPH. Ce test est largement utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant d'extraits hydrophiles d'échantillons riches en composés phénoliques (Yi-Zhong et al., 2006).

□ Evaluation du potentiel antiradicalaire : détermination de l'IC₅₀

L'activité antioxydante de l'extrait a été exprimée en IC₅₀ qui correspond à la concentration efficace de l'extrait entraînant une perte de 50% de l'activité du DPPH, et la capacité anti-radicalaire est inversement proportionnelle à l'IC₅₀ (Prakash et al., 2007). L'IC₅₀ a été obtenue à partir de l'équation d'une courbe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait. La valeur IC₅₀ déterminée graphiquement nous permet d'évaluer et de comparer l'efficacité des extraits, plus la valeur est faible, plus la capacité à capter les radicaux libres est élevée. Les résultats de ce travail montrent que l'extrait éthanolique de *Padina pavonica* a une valeur d'IC₅₀ de, ce qui reflète une bonne activité antioxydante par rapport aux résultats de la littérature (Shalaby et al., 2011 ; Bryant, 1979 ; Miranda, 1998 ; Shalaby et al., 2010).

Compte tenu de la forte activité antioxydante des composés phénoliques des algues brunes contre les radicaux libres, de nombreux chercheurs ont trouvé une forte corrélation entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante (Heo et al., 2005 ; Kang et al., 2005 ; Shibata et al., 2008) bien que la teneur en composés phénolique que nous avons obtenues ne soit pas très élevée : $17,48 \pm 0,1$ mg EAG/g pour une IC₅₀=1,56 mg/ml. En effet l'activité antioxydante est généralement liée à la quantité mais aussi et

surtout à la nature des composés phénoliques présents dans l'extrait, et de la structure de ces molécules (Belyagoubi-Benhammou, 2012).

III. Caractérisation des margarines formulées

III.1. Analyses physico-chimiques

Afin de caractériser les margarines élaborées, une analyse physico-chimique est nécessaire. A cet effet, nous avons réalisé différents tests de caractérisation sur une margarine de référence "Fleurial" additionnée de 100 ppm d' α -tocophérols et de 12,7 de sorbate de potassium, et de nos préparations de margarine aux différentes formulations. Les résultats présentés en **tableau II** les résultats illustrés sont ceux d'une seule des margarines additionnées d'extrait d'algue, c'est ce à quoi nous avons eu accès à travaillé au sein de l'entreprise.

➤ **Rappelons que :**

A l'échelle du laboratoire, cinq types de formulations différentes ont été développés dans les mêmes conditions, dont :

Préparation (1) : Vitamine E + 50 ppm d'extrait

Préparation (2) : Sorbate de potassium + 50 ppm d'extrait

Préparation (3) : Vitamine E + Sorbate de potassium + 50 ppm d'extrait

Préparation (4) : Extrait seule à 50 ppm

Préparation (5) : Margarine témoin « Fleurial » contenait 100 ppm de vitamine E + 12,5 de sorbate de potassium.

Tableau II : Résultats des analyses physico-chimiques des margarines préparées.

Analyses	Margarines additionnées d'extrait d'algue	Margarine Témoin	Normes
Point de fusion °C	34,15 °C	35-37	32 – 38
La teneur en sel (NaCl) %	0,33 %	0,25 à 0,35	0,2 – 0,4
La teneur en eau (Humidité) %	17,89 %	16 à 18 Max	Max 18
Indice de peroxyde Meq gr O ₂ /kg MG	0	< 1	Max 10

III.1.1. Point de fusion

Le point de fusion des matières grasses alimentaires est une propriété d'importance pratique. Car c'est cela qui détermine leur stabilité à une température donnée. Cependant, la longueur de la chaîne carbonée, l'insaturation des acides gras constitutifs et l'isomérisation sont les principaux facteurs qui affectent cette propriété (**Brisson, 1982**). Et selon **Dupin (1992)**, le point de fusion des graisses alimentaires ne doit pas dépasser 43°C car elles ne seront pas facilement digérées par le corps humain.

Le point de fusion de la margarine à l'extrait d'algues *Padina pavonica* s'est avéré être de 34,15°C. Cette valeur se situe entre les deux normes de l'entreprise d'un maximum de 38 et d'un minimum de 32°C, et est proche de la valeur de la margarine témoin (35-37)°C, ce qui confirme que la margarine contenant l'extrait d'algue *Padina pavonica* a aucun effet sur le point de fusion du produit (margarine).

III.1.2. Teneur en sel

Le taux de sel enregistré des margarines additionné d'extrait d'algue est égale à 0,33% (Tableau II) est dans la gamme de normalité qui situe entre 0,25 % - 0,35%. Le taux de sel n'a donc pas été affecté par l'extrait d'algue additionné.

La détermination de taux de sel dans la margarine est très important, dont il améliore les caractéristiques organoleptiques (le goût et la saveur) et également un rôle bactériostatique (inhibe le développement de certaines bactéries) (**Djouab, 2007**).

III.1.3. La teneur en humidité

Le résultats obtenu de la teneur en eau pour la margarine étudiée est de 17,89 % (Tableau II) celui-ci répond au norme de l'entreprise, et appartient à l'intervalle de confiance qui se situe entre 16 et 18 %. Cette valeur est compatible avec la formulation initiale de la margarine qui contient 82 % de la phase grasse et 18 % de la phase aqueuse (**Graille, 2003**).

La détermination du taux d'humidité est très importante, car il peut influencer la qualité de la margarine, dont un excès d'eau peut entraîner une détérioration rapide du produit (**Chikhoun, 2011**).

III.1.4. Taux de solide SFC (Solid Fat Content)

Les résultats du taux de solide (SFC) aux différentes températures de la margarine préparée sont représentés dans la figure n° 12 ci-dessous :

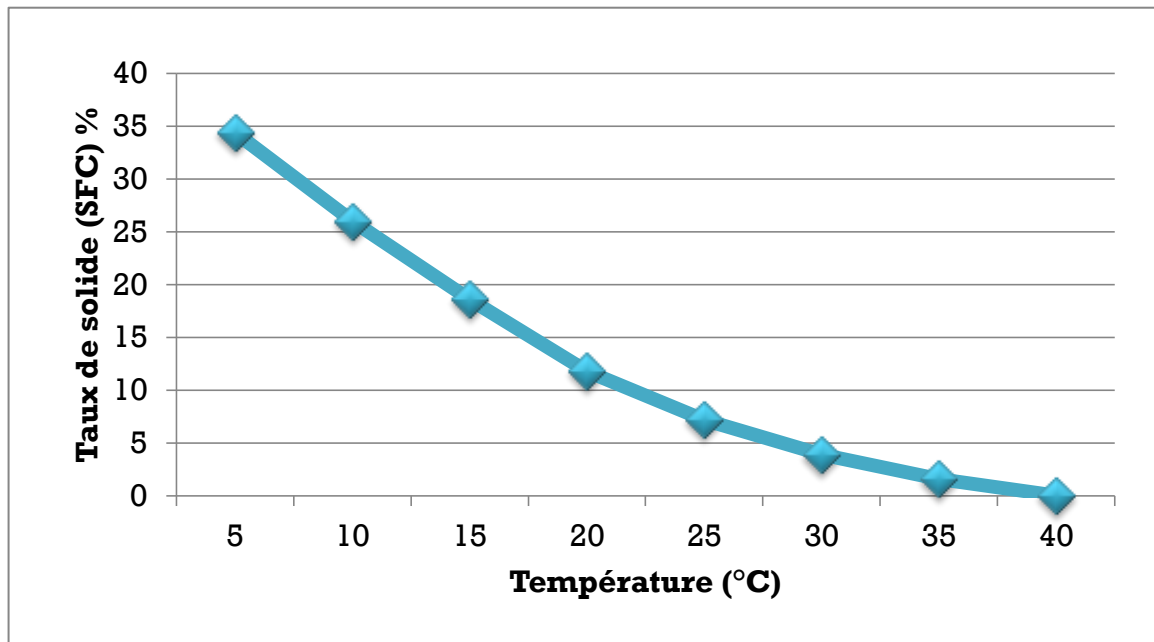


Figure 12: Taux de solide (SFC) de la margarine additionnée d'extrait d'algue.

Le SFC est un facteur important à déterminer car il indique plusieurs propriétés du produit, notamment son aspect général, son exsudation d'huile et ses propriétés organoleptiques (**Lida et al., 2002**).

Sur la base des résultats obtenus par rapport aux normes appliquées dans l'industrie, nous pouvons dire que l'extrait d'algue ajouté à la margarine élaborée n'affecte pas la performance de la margarine.

III.1.5. Potentiel d'Hydrogène (pH)

Les résultats de mesures du pH de nos échantillons sont représentés dans la figure n° 13 ci-dessous :

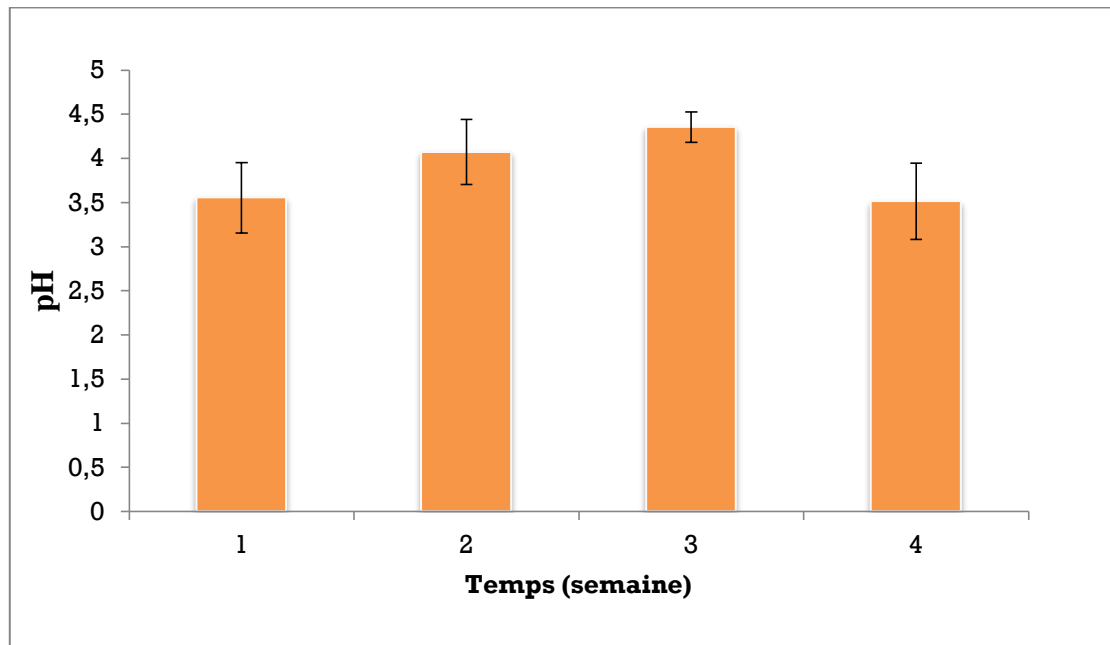


Figure 13 : Potentiel d'Hydrogène (pH) de diverses formulations préparées.

Sur la base des mesures de pH de nos échantillons, après quatre semaines de stockage, nous avons remarqué que la formulation (1) et la formulation (4) (figure 02) avaient des valeurs proches, conformes aux normes de l'entreprise et aux margarines de référence (3.5- 5.5), comme pour la formulation (2) et la formulation (3) (figure 02) la valeur du pH a augmenté, ce qui est relativement proche, également en ligne avec la margarine de référence et aux normes de l'entreprise.

Classé parmi les indicateurs de qualité de la margarine ; le pH est mesuré sur la phase aqueuse, contrôlé à différentes étapes de la préparation et de la transformation pour assurer la sécurité, et améliorer la production et la qualité. Un pH acide retarde généralement la croissance des micro-organismes contaminants et limite l'hydrolyse (**Faur, 1992**).

III.1.6. L'acidité

Les résultats d'acidité de nos échantillons sont représentés dans la figure ci-dessous :

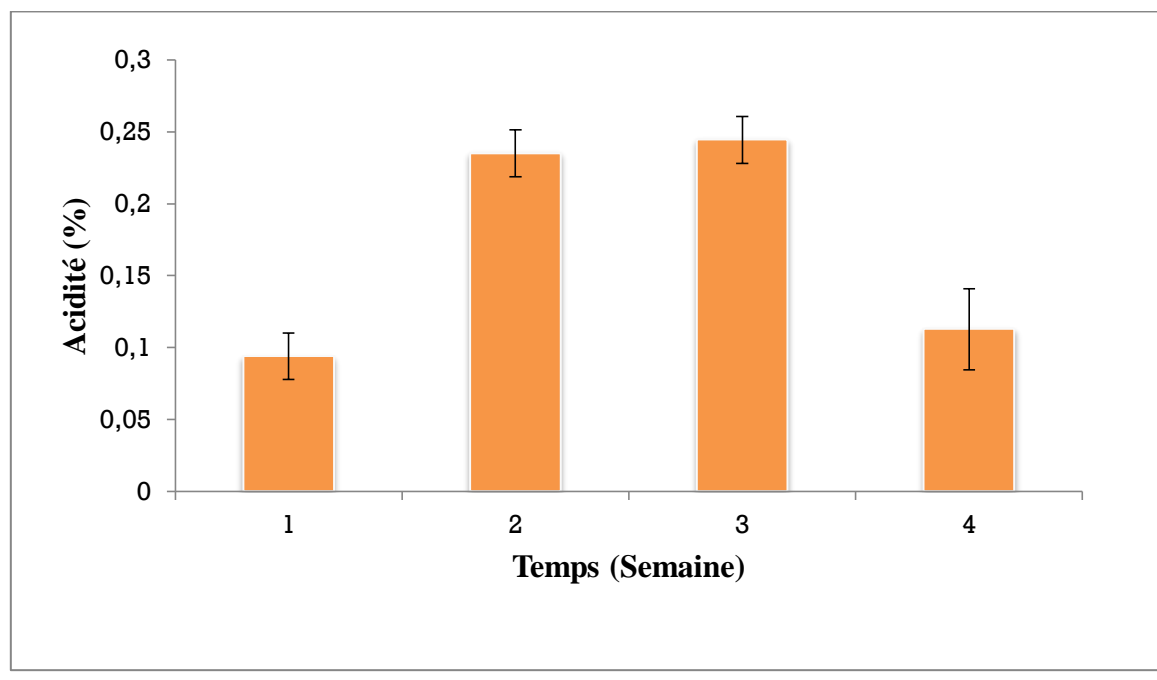


Figure 14 : Teneur en acidité de diverses formulations préparées.

L'acidité est un indicateur de la qualité et de la stabilité du produit. Elle détermine le taux d'acides gras libres présents dans les graisses. Ces acides gras libres favorisent les réactions oxydatives qui conduisent à la détérioration du corps gras (**Vierling, 2003**).

D'après les mesures d'acidité de nos échantillons sous différents ingrédients, après 4 semaines de stockage, nous avons remarqué que les formule (1) et formule (4) (figure 14) ont des valeurs proches ainsi que formule (2) et formule (3) (figure 14) la valeur d'acidité augmente, ce qui est relativement proche. Selon **Karleskind et Wolff (1992)**, si l'acidité est inférieure à 0,2%, les corps gras ne sont pas affectés par l'hydrolyse ; les valeurs obtenues sont cohérentes avec les valeurs des auteurs.

III.1.7. Indice de peroxyde

D'après les résultats de l'indice de peroxyde (IP) des quatre différentes formulations après quatre semaines de stockage, nous remarquons que les valeurs enregistrées sont nulles et sont largement inférieures par rapport à la norme de l'entreprise qui exige une valeur maximale de 10 méq gramme d'oxygène par kg de matière grasse ; ainsi que par rapport à la margarine de référence qui exige une valeur de < 1 méq gr O₂ / kg; Cela peut être dû au fait que l'extrait phénolique à 50 ppm ont une bonne capacité antioxydante car ils ont tous réduit les valeurs de l'indice peroxyde du mélange.

L'oxydation des lipides est la principale cause de leur détérioration. Les hydroperoxydes résultants sont les principaux produits de cette réaction, ils n'ont ni goût ni odeur, mais se décomposent rapidement pour former des aldéhydes, qui ont un goût et une odeur très désagréables. La concentration en peroxyde, communément exprimée en indice de peroxyde, est une mesure de l'oxydation précoce ou du rancissement. L'indice de peroxyde est l'un des tests chimiques les plus couramment utilisés pour déterminer la qualité des huiles et des graisses (O'Brien, 2004).

III.2 Stabilité oxydative de la margarine

III.2.1. Test de Rancimat

Parmi les méthodes d'accélération oxydative pour déterminer la stabilité oxydative figure le test Rancimat (Moser, 2009). Ce test prédit la stabilité oxydative d'une huile et donc sa durée de conservation (Hidalgo et al., 2006).

Les résultats sont présentés sous forme de graphiques (Figures 15, 16, 17, 18, 19) montrant le temps d'induction en fonction de la conductivité des échantillons de margarine.

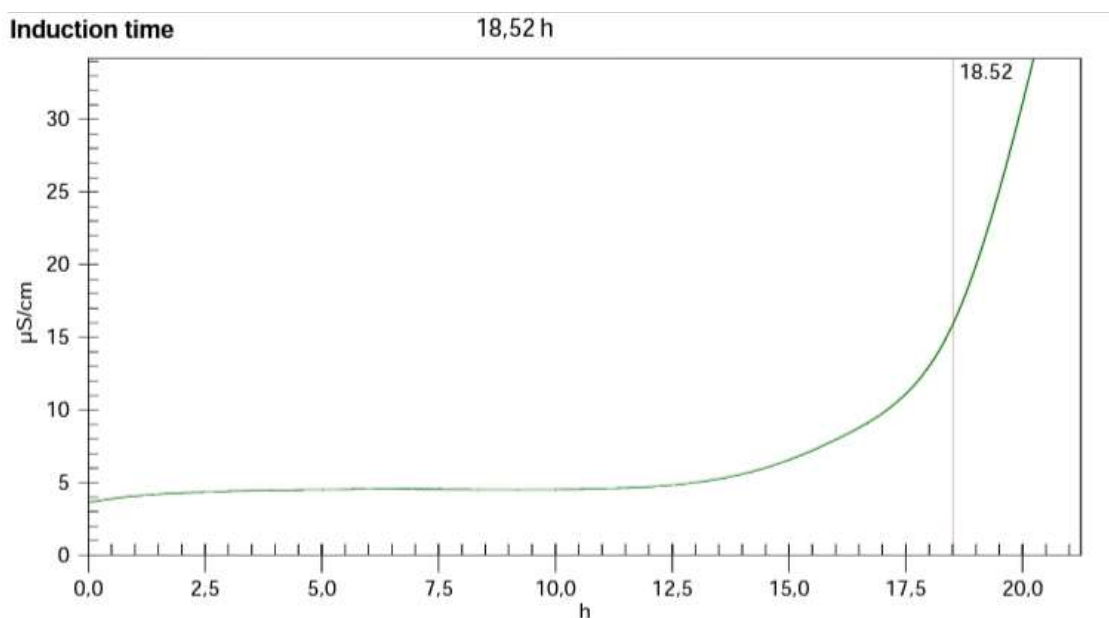


Figure 15: Courbe de la stabilité oxydative du test Rancimat de la margarine témoin.

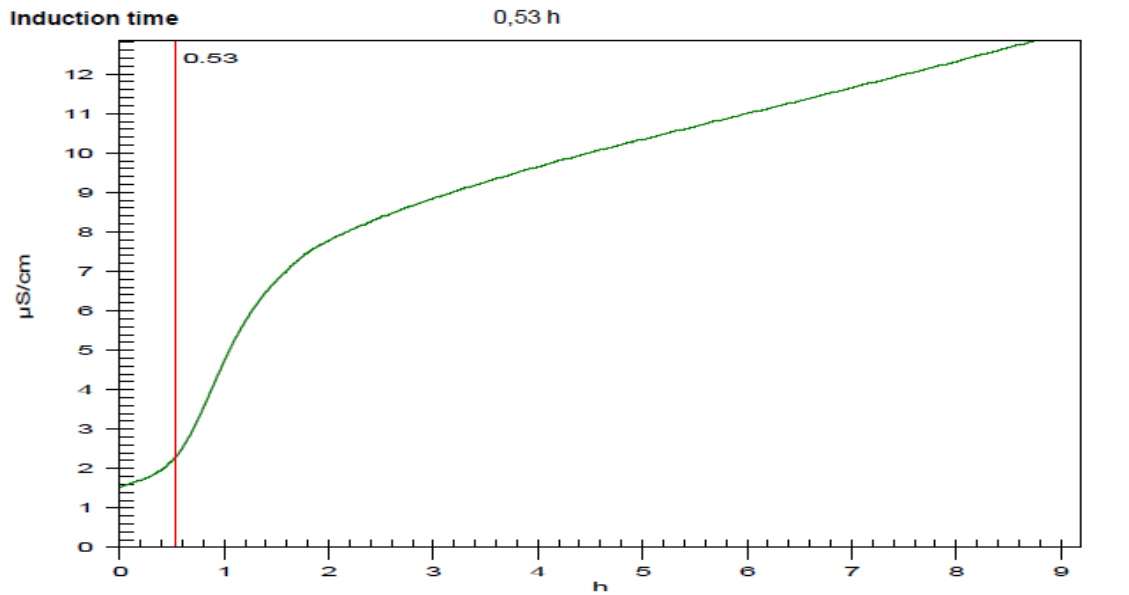


Figure 16 : Courbe de la stabilité oxydative Du test Rancimat de la margarine d'extrait d'algue à 50 ppm avec Vit E.

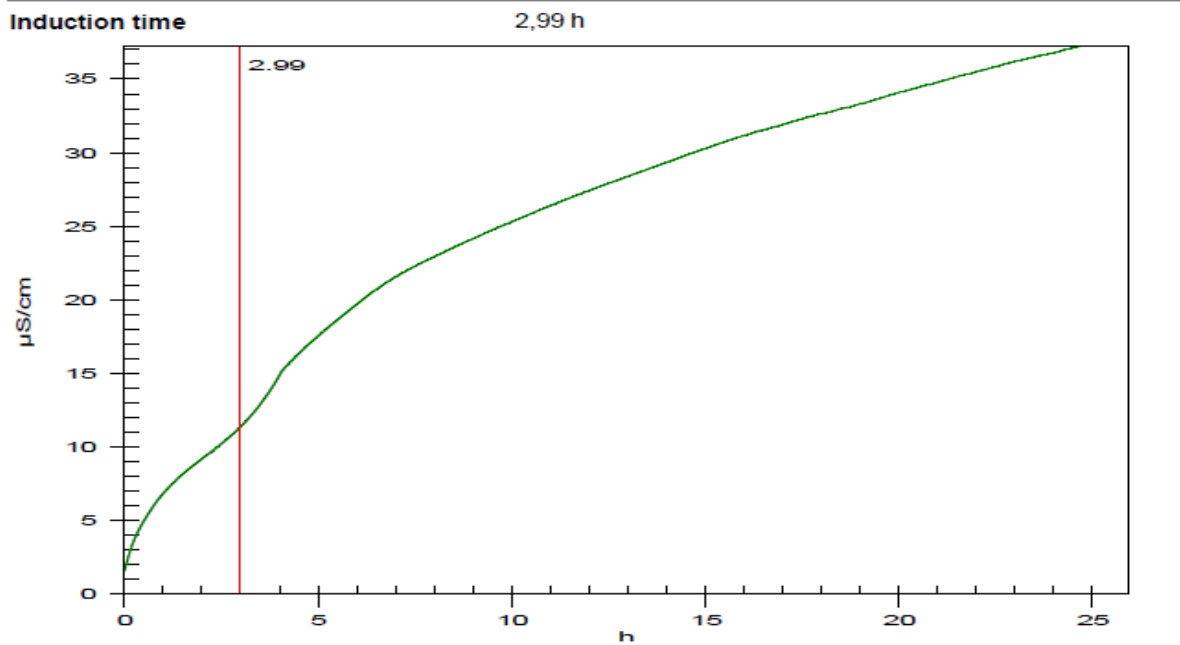


Figure 17 : Courbe de la stabilité oxydative du test Rancimat de la margarine d'extrait d'algue à 50 ppm avec Sorbate de potassium.

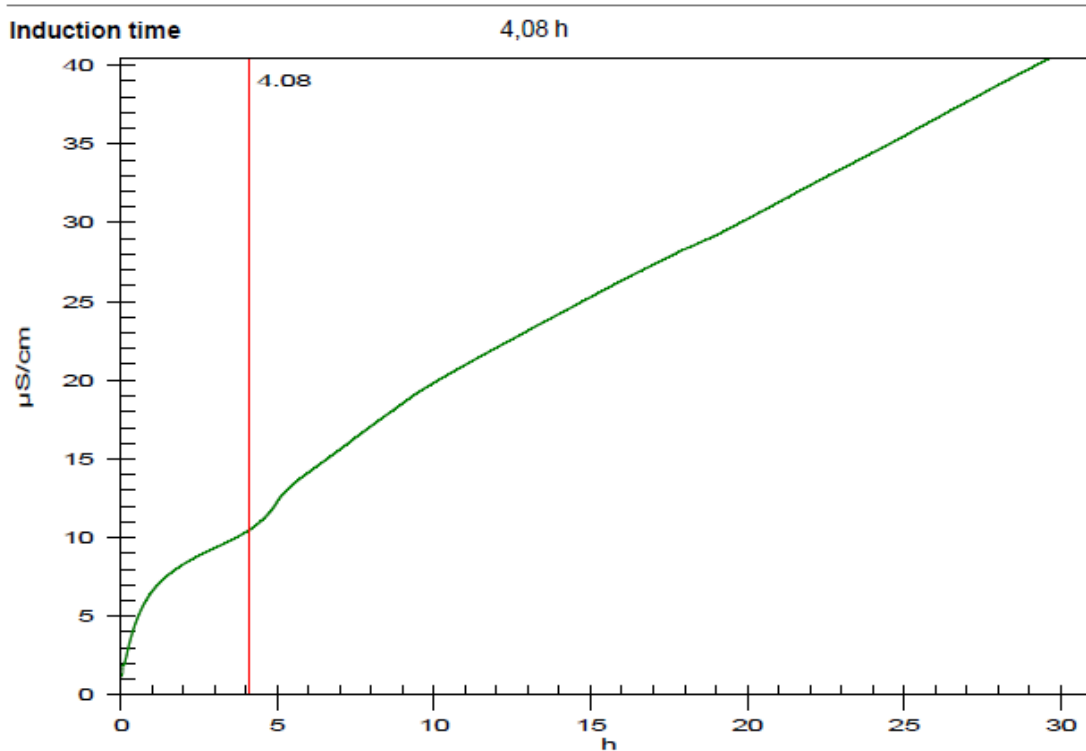


Figure 18 : Courbe de la stabilité oxydative du test Rancimat de la margarine d'extrait d'algue à 50 ppm avec Vit E et Sorbate de potassium.

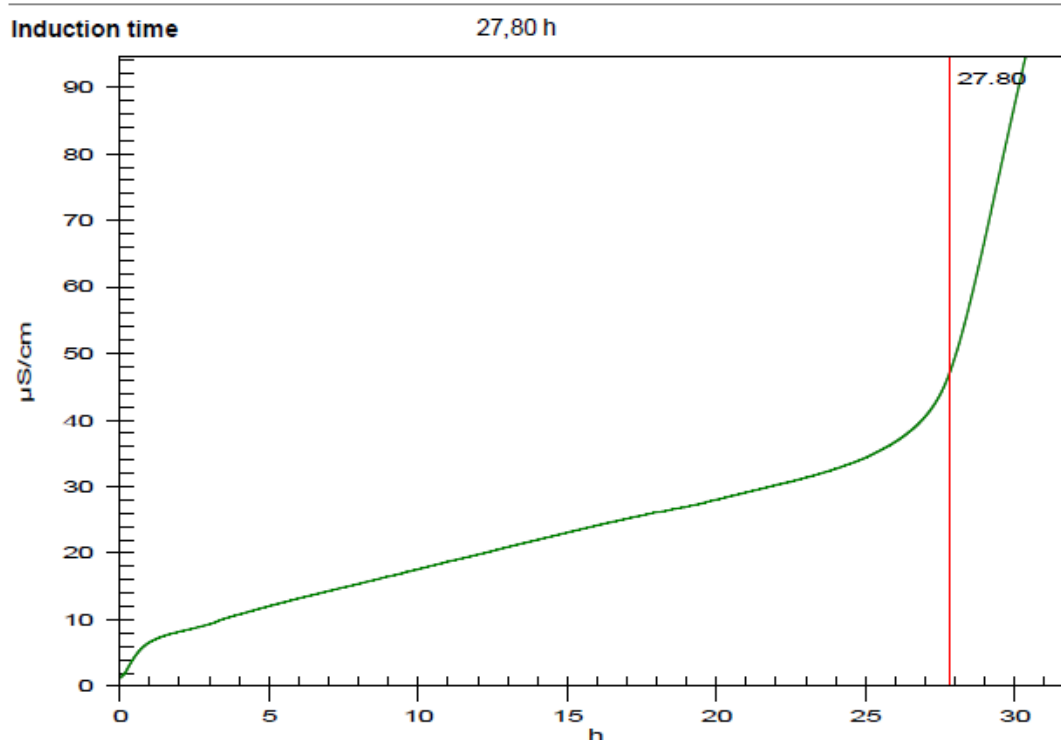


Figure 19 : Courbe de la stabilité oxydative du tets Rancimat de la margarine d'extrait d'algue à 50 ppm.

Le temps d'induction (TI) est déterminé par le point d'inflexion de la courbe de conductivité. En règle générale, la diminution du taux d'induction est due au fait que les produits de dégradation volatils sont piégés dans l'eau distillée, entraînant une augmentation de la conductivité (Arain et al., 2009). Nous avons constaté que les valeurs TI varient d'un échantillon à l'autre, et elles sont représentées sur l'histogramme ci-dessous :

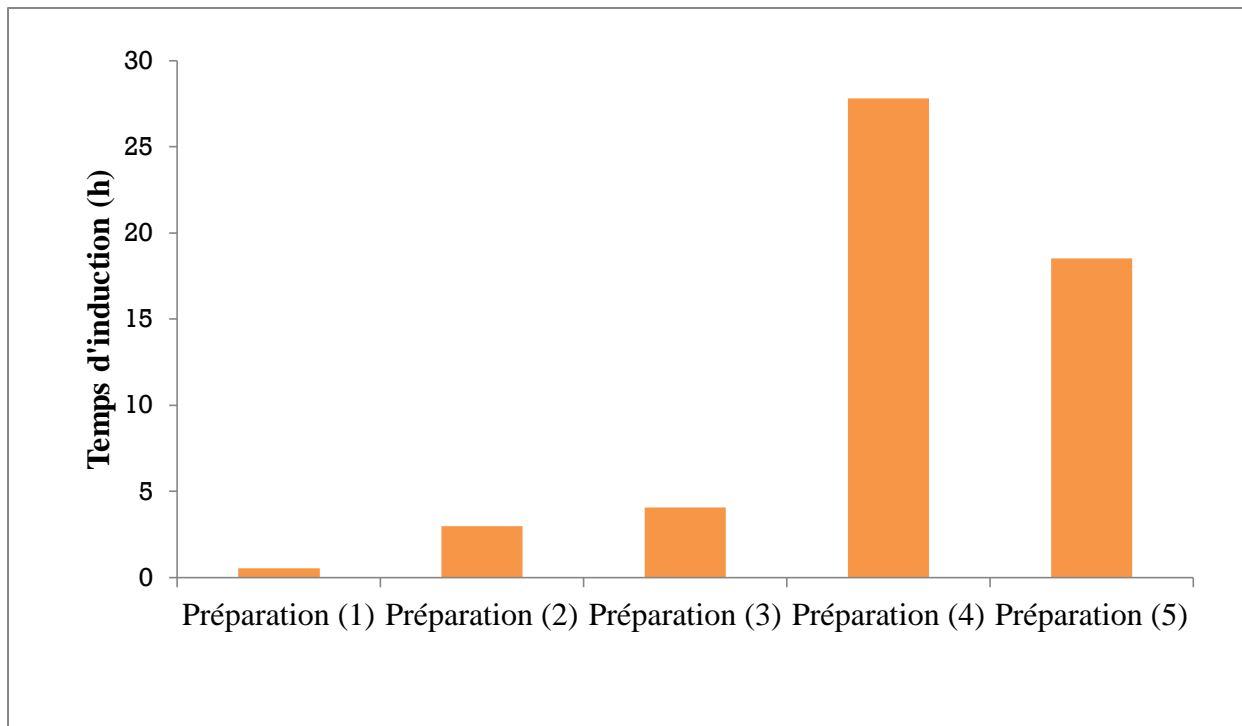


Figure 20 : Temps d'induction exprimés en (h) des échantillons de margarine.

Dans cette étude, nous avons enregistré le temps d'induction le plus élevé dans la préparation (4) additionnée de 50 ppm d'extrait seule de *Pavonica pavonica* (27,80 heures), suivi de la préparation (5) à 18,52 heures (Témoin). Notons que les temps d'induction pour les préparations (3) à trois composants (Extrait + vitamine E + sorbate de potassium), et pour la préparation (2) (extrait + sorbate sans vitamine E) sont de de 4,08 heures être spectivement. Le temps d'induction le plus court a été obtenu par la préparation (1) (extrait + margarine E sans sorbate) avec 0,53 heures

La margarine possédant l'extrait seul sans sorbate et sans vitamine E c'est avérée être la meilleure margarine en terme de stabilité oxydative, elle est même plus stable que la margarine témoin dont le temps d'induction est de 18, 52h. Ces résultats s'expliquent par l'abondance de l'extrait ajouté en substances antioxydantes notamment en phlorotannins, caroténoïdes et polysaccharides sulfatés. Cependant nous avons

observé qu'il n'y avait pas de synergie entre notre extrait et la vitamine E ni avec le sorbate, et qu'au contraire un effet prooxydant a été établi en les mélangeant.

L'oxydation des lipides dans les aliments est un problème de plus en plus émergent dans l'industrie alimentaire. En particulier, elle tend à raccourcir la durée de conservation du produit, réduisant son appétence, sa fonctionnalité et sa qualité nutritionnelle (**Hidalgo et al., 2006**). Les mesures de la stabilité oxydative peuvent être évaluées par la méthode d'accélération oxydative. Certains paramètres peuvent entraîner une augmentation de la température, de la pression et/ou du débit d'air (oxygène) à travers l'échantillon.

IV. Analyse microbiologique :

Pour assurer la qualité bactériologique au produit fini, cinq germes susceptibles d'infecter la qualité de la margarine, sont régulièrement recherchés, les résultats microbiologiques des quatre échantillons de la margarine sont regroupés dans le tableau III suivant :

Tableau III: Résultats des analyses microbiologiques effectués sur les différentes margarines formulées.

	Margarine 01	Margarine 02	Margarine 03	Margarine 04	Normes
Germes aérobies mésophiles	Absence	Absence	Absence	1UFC /ml	10-1000 UFC /ml
Les levures et moisissures	1UFC /ml	Absence	Absence	Absence	10-100 UFC /ml
Coliformes fécaux	Absence	Absence	Absence	Absence	4-40 UFC /ml
Staphylocoques	Absence	Absence	Absence	Absence	10-100 UFC /ml
Salmonelles	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence dans 25g

Les résultats obtenus sont conformes aux normes du journal officiel de la république algérienne N°39/2017.

Ces résultats obtenus pour les margarines préparées témoignent du respect des pratiques d'hygiène durant la préparation des margarines.

Aucune apparition des autres germes recherchés dans les mêmes échantillons malgré l'absence de sorbate de potassium peut-être expliqué par l'éventuel effet bactériostatiques de l'extrait d'algue additionné.

A la lumière de ces résultats, et d'après la comparaison entre elles et les normes, on peut conclure que la margarine préparée est de bonne qualité microbiologique et de ce fait l'utilisation de l'extrait d'algue en substitution au sorbate de potassium est une bonne alternative aux additifs chimiques.

Conclusion

Conclusion

Ce travail est axé sur la substitution des antioxydants et antimicrobiens chimiques additionnés dans la margarine par un extrait de l'algue brune *Padina pavonica*. Une extraction par macération a été effectuée à partir de *Padina pavonica*, en utilisant de l'éthanol à 75%. Cinq préparations différentes de margarine ont été élaborées ; dans la première préparation : la vitamine E + Extrait à 50ppm et la seconde préparation : Sorbate de potassium + Extrait à 50 ppm, 3^{ème} préparation : Vitamine E+ Sorbate de potassium+Extrait à 50 ppm, 4^{ème} préparation : Extrait seule à 50 ppm, et enfin la margarine témoin « Fleurial » a été préparée avec les ingrédients habituels (100 ppm de vitamine E et 12,5 ppm de sorbate de potassium).

Une analyse préalable des extraits son été effectuée (Dosage des polyphénols totaux, test de l'activité antioxydante (DPPH). Puis les caractéristiques physico-chimiques des mélanges ont été effectués (Margarine / Extrait) à savoir l'acidité libre, Point de fusion, teneur en sel, teneur en eau, Indice de peroxyde, Potentiel d'Hydrogène, Taux de solide et Rancimat).

L'extraction à l'éthanol à 75% a abouti à un bon rendement en composés bioactifs à savoir 5,3%. La teneur en polyphénols totaux de l'extrait était de $17,48 \pm 0,1$ qui représente une teneur moyenne en comparant à des études préalables.

L'évaluation de l'activité antioxydante a démontré que l'extrait phénolique a exhibé une bonne activité de piégeage du radical DPPH avec un IC_{50} de 1,56 mg / ml ce qui est un bon résultat par rapport à la teneur moyenne en composés.

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur le mélanges (margarine / Extrait) révèlent une conformité par rapport aux normes fixées par le codex alimentaire et aux margarines de références ; sauf que les teneurs en sel légèrement élevées par rapport aux margarines de références, probablement à cause de la richesse de l'extrait en oligoéléments comme le sodium et le chlorure, mais cela n'influence pas également sur le gout des margarines et nous démontre que l'ajout de notre extrait n'influe pas sur ces paramètres .

L'indice de peroxyde et la stabilité oxydative évaluée par le test ranimât, révèlent que la margarine enrichie avec l'extraits phénoliques sans sorbate et sans vitamine E présente une meilleure résistance à l'oxydation (Indice de peroxyde : 0 Meq gr O₂ /kg MG, le Rancimat : 27, 80 H) par rapport à la margarine témoin, en effet celle-ci présente un Rancimat de 18, 52 H. Cependant les margarines où un essai de

synergie entre le sorbate et l'extrait et entre la vitamine E et l'extrait ou encore les 3 a montré un effet pro-oxydant. Une synergie entre ces composés n'est donc pas établie.

D'après les résultats des analyses microbiologiques savoir : germes aérobies totaux, levures et moisissures, *Staphylococcus aureus*, coliformes fécaux et salmonelles) l'absence de tout germe pathogène ou d'altération a été observé pour toutes les margarines élaborées. L'extrait d'algue brune additionné possède donc un bon effet inhibiteur vis-à-vis des microorganismes.

Enfin, l'élargissement du spectre d'étude a d'autres produits alimentaires et la formulation d'autres mélanges, pourrait révéler des résultats prometteurs pour l'alimentation et la santé humaine.

Références bibliographique

Références bibliographique

A

- **Aboke C., Benarou A., Dolez M., Guillet K., Jamet E., Moreau A., Moutouvirin A., Poirier M., Ranga P. (2008).** Le beurre et la margarine : Rapport de rhéologie. Ecole Supérieure de Microbiologie et Sécurité Alimentaire de Brest (ESMISAB). Université de Bretagne Occidentale. 105p.
- **Achat S. (2013).** « Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques ». Thèse EN CO-TUTELLE. Université A. Mira-Bejaia, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 1-3p.
- **Ainane T. (2011).** Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités Pharmacologiques et Applications environnementales, Cas des algues brunes *Cystoseira tamarixifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. Thèse de Doctorat en chimie. Université Hassan II-Casablanca, faculté des Science Ben M'Sik Casablanca. 162p.
- **Alias C., Linden G. (1997).** Abrégé de biochimie alimentaire. Edition : Elsevier Masson. 248p.
- **Alias C., Linden G., Miclo L. (2008).** Biochimie alimentaire. Edition : DUNOD. 272p.
- **Ambrosio, A. L., Sanz, L., Séánchez, E., Wolfenstein-Todel, C., Calvete, J. J. (2003).** Isolation of two novel mannan-and L-fucose-binding lectins from the green alga *Enteromorpha prolifera*: biochemical characterisation of EPL-2. Archives of Biochemistry and Biophysics. 415(2): 245-250p.
- **Arain, S., Sherazi, S.T.H., Bhangar, M.I., Farah, N., Talpur, F.N., 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. National Cental of Excellence in Analytical Chemistry, University of Sindh, Jamshoro 76080, Pakistan. 484: 1-3p.

B

- **Bakkalbasi, E., Ercran, R., Yilmaz, O.M. (2018).** Phenolic acid contents and antioxidant activities of wheat milling fractions and the effect of flour extraction rate on antioxidant activity of bread, Journal of Food biochemistry. 42(6): i-iiip.
- **Bertoka, F.S.P.N., Sohn J.H., Kim, J. S., Choi J. S. (2021).** Effects of Phlorotannins on Organismes : Focus on the Safety, Toxicity, and Availability of Phlorotannins. Edition : *foods*. 2p.

- **Benita, H., Dubinsky, Z., Iluz, D. (2018).** *Padina pavonica* : Morphology and Calcification Functions and Mechanism. American Journal of Plant Sciences. 9 : 1156 – 1158p.
- **Beyagoubi-Benhammou N. (2012).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaid faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Tlemcen. 109p.
- **Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C., Ayachi, A. (2011).** Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Aubepinemonogyne*. Lebanese Science Journal. 12 : 59-69p.
- **Boizot, N., Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés Phénoliques des organes d'une arbre forestier. INRA – Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières. Laboratoire d'Analyses Biochimiques. 79-82p.
- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berst, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT- Food Science and Technology. 28(1) : 25-30p.
- **Brisson G. (1982).** In « Lipides et nutrition humaine ». Edition : Les presses de l'université Laval. Masson. Canada : 10-12p.

C

- **Cabioc'h J., Floch J.Y., Le Toquino A., Boudouresque C.F., Meinesa A., Verlaque M. (2006).** Guide des algues des mers d'europe, manche, atlantique, mediterranee, Les guides du naturaliste. Edition : Delachaux & Niestle. 272p.
- **Cai, Y.Z., Mei, S., Jie, X., Luo, Q., Corke, H. (2006).** Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci.* 78(25) : 2872-2888p.
- **Chikhoun A. (2011).** Texture d'une margarine nouvellement formulée et effet des huiles incorporées (Hydrogénées et interestérifiées). Mémoire de Magister en sciences alimentaires. Université Mentouri, faculté des sciences biologiques. 48p.

D

- **Dantas-Santos, N., Gomes, D. L., Costa, L. S., Cordeiro, S. L., Costa, M. S. S. P., Trindade, E. S., Rocha, H. A. O. (2004).** Fresh water plants synthesize sulfated polysaccharides: heterogalactans

from water hyacinth (*Eicchorniacrassipes*). International journal of molecular science. 13(1) : 961-976p.

- **Deglène-Benbrahim., Marc., Francoise., Davin., Andre., Laurence., Ferrand., Carine., Baccaunaud., Michel., Fritsch., Pierre. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments, Med Sci (Paris). 20(4) : 458-463p.
- **Demirel, Z., Yildirim, Z.D., Tuney, I., Kesici, K., Sukatar, A. (2012).** Analyse biochimique de quelques algues brunes de la mer Egée. *Botanica Serbica*. 36: 91- 95p.
- **Djouab A. (2007).** Préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de dattes des variétés sèches. Mémoires de Magister. Université M'hamed Bougara-Boumerdes, faculté des Sciences de l'Ingénieur. 67-68p.
- **Dupin H., Cuq J.L., Malewiak M.I., Leynaud-Rouaud C., Berthier A.M. (1992).** Alimentation et nutrition humaines. Edition : ESF. Paris : 1410-1438p.

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 (*Trachurustrachurus*) : choix des procédés. Thèse de Doctorat en Génie des procédés. Université de Nantes Ecole Doctorale Mécanique, Thermique et Génie Civil de Nantes, faculté Génie des procédés. 29p.

F

- **Faur, L. (1992).** Margarine technology. Oils and fats Manual Karleskind, A. Lavoisier Publishing, Paris. 2: 938-987p.
- **Fettah A. (2019).** Etude phytochimique et evaluation de l'activité biologique (antioxydante-antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce Thymoides de la région Beni Souik, Biskra. Thèse de Doctorat en Chimie. Université Mouhamed Khider Biskra, faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie. 22p.
- **Frankel, E. N. (1998).** Lipid oxidation. The Oily Press, Dundee, Scotland. 10: 10p.

G

- **Graille J. (2003).** Lipides et corps gras alimentaires. Edition: Lavoisier. Paris : 469p.

H

- **Han, J. W., Klochkova, T. A., Shim, J. B., Yoon, K., Kim, H. G. (2012).** Isolation and Characterisation of a sex-specific lectin in a marine red alga, *Aglaothamnion oosumiense* Esler. *Applied and Environmental Microbiology*. 78(20): 7283-7289p.
- **Hayouni, E., Abedrabba, M., Bouix, M., Hamdi, M. (2007).** The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*. 105 : 1126-1130p.
- **Himed L. (2018).** Evaluation de l'activité biologique des huiles essentielles du citron (*Citrus limon*): encapsulations et application comme agent conservateur à la margarine allégée. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Frères Mentouri de Constantine 1 Institut de la Nutrition, de l'alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires I. N. A. T. T. A, faculté des Sciences Alimentaires. 21-22p.
- **Hidalgo, F.J., Leon, M.M., Zamora, R. (2006).** Antioxidative Activity of Amino hydrogenated soybean, rapeseed and sunflower oils. *Food Chemistry*. 102: 827-833p.
- **Holanda, M. L., Melo, V. M. M., Silva, L. M. C.M., Amorim, R. C. N., Pereira, M. G., Benevides, N. M. B. (2005).** Differential activity of a lectin from *Solieria filiformis* against human pathogenic bacteria. *Brazilian Journal Medical and Biological Research*. 38(12): 1769-1773p.
- **Hori, K ; Miyasubara, K ; Ito, K. (1990).** Some common properties of lectins from marine algae. *Hydrobiologia*. 204-205: 516-566p.
- **Hultin, H. O. (1994).** Oxidation of lipids in seafoods. *Sesfoods : chemistry, processing technology and quality*. 49-74p.

J

- **Jean, K., François, M. (2008).** De Mege-Mouriès aux margarines aujourd'hui. *Journal nourrir les hommes*. 6p.
- **Jean, K., François, M. (2000).** De Mege-Mouriès aux margarines d'aujourd'hui. *L'actualité Chimique*. 10p.

K

- **Kang, K.A., Lee, K.H., Chae, S., Zhang, R., Jung, M.S., Ham, Y.M., Baik, J.S., Lee, N.H., Hyun, J.W. (2006).** Cytoprotective effect of phloroglucinol on oxidative stress induced cell damage via catalase activation. *J. Cell. Biochem*. 97: 609–620p.

- **Karleskind A., Wolf J.P. (1992).** Manuel des coprs gras. Edition : Tech et Doc. 1579p.
- **Kim, S. H; Kim, G. H. (1999).** Cell-cell recognition during fertilization in the redalga, *Agla othamnion oosumiense* (Ceramiaceae, Rhodophyta). *Hydrobiologia*. 399: 81-89p.
- **Koşar, M., Dorman, H.J.D., Hiltunen, R. (2005).** Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. *Food Chem*. 91: 525-533p. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.029>
- **Kumar, C.S., Ganesan, P., Bhaskar, N. (2008).** Activités antioxydantes in vitro de trois algues brunes sélectionnées. *Chimie alimentaire*. 107 : 707-713p.

L

- **Laguerre, M., Lopez-Giraldo, L. J., Lecomte, J., Pina, M., Villeneuve, P. (2007).** Outils d'évaluation *in vitro* de la capacité antioxydante. *OCL*. 14(5): 278p.
- **Laia, O.M., Ghazalia, H.M., France, C., Chong, C.L. (2000).** Physical and textural properties of an experimental table margarine prepared from lipas-catalyses transesterified palm stearin, palm Kernel Olean mixture during storage. *Food egemisty*. (71): 173-179p.
- **Leray, C. (2013).** Les lipids «Nutrition et santé ». Edition : Tec & Do, Lavoisier, Paris. 33p.

M

- **Manivannan, K., Thirumaran, G., Karthikai Devi, G., Anantharaman and T, Balasubramanian, P. (2009).** Proximate Composition of Different Group of Seaweeds from Vedalai Coastal Waters (Gulf of Mannar): Southeast Coast of India. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 4(2): 72p.
- **Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2004).** Polyphénols: sources alimentaires et biodisponibilité. *The American journal of clinical nutrition*. 79(5) : 727-747p.
- **Marfaing, H., Lerat, Y. (2007).** Les algues ont-elles une place en nutrition ? *Phytothérapie*. 5(1): 2-5p.
- **Masuma M.H., Illa C.P. (2020).** A review on phytoconstituents of marine brown algae. Edition: *Springer Open*. 3p.
- **Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différents partis de la fleur d'artichaut (*Cynara Scolymus L.*). *Revue (Nature et Technologie) B-science Agronomique et Biologique*. 9: 35-40p.

- **Masuda, T., Yonemori, S., Oyama, Y., Takeda, Y., Tanaka, T., Andoh, T., Shinohara, A., Nakata, M. (1999).** Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *J. Agric. Food Chem.* 47: 1749 – 1754p.
- **Meinita M.D.N., Tirtawijaya D.H.G., Negara B.F.S.P., Sohn J., Kim J., Choi J. (2021).** Fucosterol of Marine Macroalgae: Bioactivity, Safety and Toxicity on Organism. Edition : *marine drugs*. 6p.
- **Meskini, E., Msatfa, Z. (2021).** La datte externe et la croissance économique au Maroc : une investigation empirique via ARDL. *Revue Internationale des Sciences de Gestion.* 4(1) : 600-608p.
- **Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sanchez-Contreras, A., Pacheco, N. (2017).** Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy.* 7(3): 47p.
- **Miranda, E. (1998).** « Sacerdozi a Napoli in età romana », dans Coll., *I cultidella Campaniaantica, Roma.* 231-238p.

N

- **Noor Lida, H.M.D., Sundrama, K., Siewa, W.L., Aminahb, A., Matoub, S. (2002).** TAG Composition and Solid Fat Content of Palm Oil, Sunflower Oil, and Palm Kernel Olein Blends Before and After Chemical Interesterification. Paper no. J1070 in *JAOCS* 79. 53-74p.

O

- **O'Brien R.D. (2004).** *Fats and oils: formulating and processing for applications.* Edition: CRC Press, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton London New York. 744p.
- **Oliveira, S. R. M., Nascimento, A. E., Lima, M. E., Leite, Y. F. M. M., Benevides, N. (2002).** Purification and characterisation of a lectin from the red marine alga *Pterocladia capillacea* (SG Gmel.) Santel. & Hommers. *Brazilian Journal of Botany.* 25(4): 397-403p.
- **O'Sullivan, A.M., O'Callaghan, Y.C., O'Grady, M.N., Queguineur, B., Hanniffy, D., Troy, D.J., Kerry, J.P., O'Brien, N.M. (2011).** In vitro and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the west coast of Ireland. *Food Chem.* 126 : 1064–1070p.

- **Oucif H. (2018).** Valorisation des algues de la cote Ouest algérienne : potentiel antioxydant et hormonal. Thèse de Doctorat en Biotechnologie. Université Oran 1, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 7p.

P

- **Person J. (2010).** Livre turquoise : Algues, filière du future. Edition : *Adebiotech-Romainville*. 163p.
- **Petranxiene D ; Lapied L. (1981).** Qualité bactériologique « analyses et tests ». Edition : TEC et Doc Lavoisier. 226p.
- **Penchev P.I. (2010).** *Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*. Thèse l'obtention du doctorat de l'université de toulouse.
- **Prakash, D., Singh, B.N., Upadhyay, G. (2007).** Antioxidant and free radical scavenging activities of phenols from onion (*Allium cepa*). *Food Chemistry*. 102(4) : 1389-1393p.

R

- **Ribereau-Gayon P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. Editions : Dunod, Paris. 254p.
- **Roland J., El Maarouf-Bouteau H., Bouteau F. (2008).** Atlas Biologie Végétale 1. Organisation des plantes sans fleurs, algues et champignons. Edition : DUNOD. 12p.
- **Roland, J., El Maarouf-Bouteau, H., Bouteau, F. (2008).** Atlas Biologie Végétale 1. Organisation des plantes sans fleurs, algues et champignons. Edition : DUNOD. 12p.

S

- **Saidani K. (2010).** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne et de l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de quatre algues marines : *Cystoseira tamariscifolia*, *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoideset*, *Uliva lactuca* de la cote de béjaia. Thèse de Magister en Microbiologie Appliquée. Université de Bejaia, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 38-43p.
- **Shalabyet Shanab Sanaa M.M. (2011).** Comparoson of dpph and abts assays for determining antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis* a. biochemistry department, faculty of agriculture, cairo university, giza, Egypt. 12613: 562p.

- **Shalaby, E.A., Shanab, S.M.M., Singh, V. (2010).** Salt stress enhancement of antioxidant and antiviral efficiency of *Spirulina platensis*. Journal of medicinal plants research. 4(24): 2622-2632p. <http://www.academicjournals.org/jmpr>
- **Souhaili, Z., Mohammad, H., Habti, N., Mohamed, H. (2008).** Effet l'étal de l'extrait aqueux de l'algue brune marine (*Cystoseira tamarixifolia*) sur la souris et sur les cellules tumorales du myélome murin. Afrique Science. 04(3): 580-590p.

T

- **Teixeira, E. H., Napimoga, M. H., Carneiro, V. A., Oliveira, T. M. D., Nascimento, K. S., Nagaro, C. S., Souza, J. B., Havt, A., Pinto, V. P. T., Gonçalves, R. B., Farias, W. R. L., Saker-Sampaio, S., Sampaio, A. H., Cavada, B. S. (2007).** In vitro inhibition of oral streptococci bindind to the acquired pellicle by algal Lectins. Journal of Applied Microbiology. 103: 1001-1006p.
- **Tierney, M.S., Smyth, T.J., Hayes, M., Soler-Vila, A., Croft, A.K., Brunton, N. (2013).** Influence of pressurised liquid extraction and solid-liquid extraction methods on the phenolic content and antioxidant activities of I rishmacro algae. International journal of food sciences & technology. 48(4): 860-869p.

V

- **Vermerris, W., Nicholson, R. (2007).** Phenolic Compound Biochemistry. Springer Science & Business Media. 267p.
- **Vierling E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit. Edition : dion, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine. 270p.
- **Villière, A., Genot, C. (2005).** Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides en émulsions. OCL – Oilseeds and Fats, Crops and Lipids – March. 13(2-3): 152-159p.

W

- **Wang, Y.Z., Fu, S.G., Wang, S.Y., Yang, D.J., Wu, Y.H.S., Chen, Y.C. (2018).** Effects of a natural antioxidant, polyphenol-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract, on lipid stability of plant-derived omega-3 fatty-acid rich oil, *LWT-Food Science and Technology*. 89: 210-216p.

- **Wijsekara, I., Pangestutia, R., Kima, S.K. (2011).** Activités et potentiel biologiques avantages pour la santé des polysaccharides sulfatés dérivés d'algues marines, *Polymères glucidiques*. 84 : 14543-14563p.

Z

- **Zehlila A. (2017).** Caractérisation structurale et fonctionnelle de métabolites de l'algue verte *Ulva rigida* au moyen d'une approche protéomique. Thèse de Doctorat en Science Biologique. Université Tunis el Manar, faculté des sciences de tunis. 163p.
- **Zellal A. (2012).** La croissance et le développement d'une Rhodophyte Agarophyte, *Gelidium sesquipedale* de la cote de Mostaganem (ouest algérien) : Etude préliminaire. Mémoire de Magister en Biotechnologie. Université d'Oran, faculté des Sciences. 8p.
- **Zirouti H. (2015).** Valorisation nutritionnelle d'algues marines du littoral Algérien chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires. Thèse de Doctorat en Biotechnologie microbiennes, Génomes et Environnement. Université des Frères Mentouri Constantine, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. 141p.

Annexes

Annexe 01 : Présentation du groupe Cevital

Cevital est une société par actions créée par des fonds privés en Mai 1998 par l'entrepreneur Issad Rebrab, c'est le premier groupe privé algérien présent également à l'international et la troisième entreprise algérienne par le chiffre d'affaires. Ce groupe est le leader de l'agroalimentaire en Afrique. (Journal, Le Monde, 6 juin 2016) Implantée à l'extrême Est du port de Bejaia, il est constitué de plusieurs unités de production, équipées de la dernière technologie et poursuit son développement par divers projets en cours de réalisation.

a) Les produits Cevital Le Complexe Agro-alimentaire est composé de plusieurs unités de Production :

1. Huiles Végétales Connues sous les appellations suivantes :

Fleurial plus : 100% tournesol sans cholestérol, riche en vitamine (A, D, E).

Elio et Fridor: ce sont des huiles 100% végétales sans cholestérol, contiennent de la vitamine E. Elles sont issues essentiellement de la graine de Tournesol, Soja et de Palme, conditionnées dans des bouteilles de diverses contenances allant de (1 à 5 litres), après qu'elles aient subi plusieurs étapes de raffinage et d'analyse. Cevital produit en moyenne 2300 tonnes d'huile par jours, une partie est destinée à l'exportation vers le Maghreb et le moyen orient.

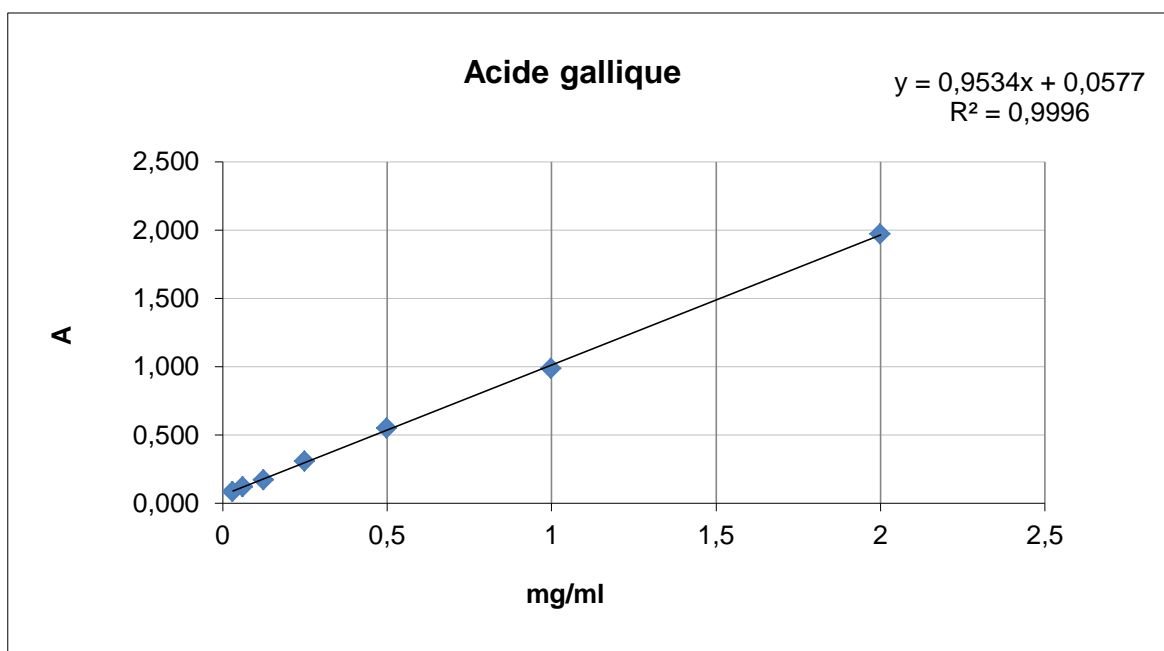
2. Boissons Eau minérale « Lalla Khedidja », jus de fruits et sodas.

3. Sucre blanc et sucre liquide : Il est issu du raffinage du sucre roux de canne riche en Saccharose. Le sucre raffiné est conditionné dans des sachets de 1 Kg, 5Kg et 50Kg et aussi commercialisé en morceau dans des boîtes de 1kg. Cevital produit aussi du sucre liquide pour les besoins de l'industrie agroalimentaire et plus précisément pour les producteurs des boissons gazeuses. Ils ont lancé la production de sucre en l'an 2009 avec une capacité de production de 1600 tonnes/ jours, avec les extensions, elle s'est élevée à 6500 tonnes/ jours et une exportation pour les plus grandes entreprises telle que Coca Cola et Ferrero Rocher.

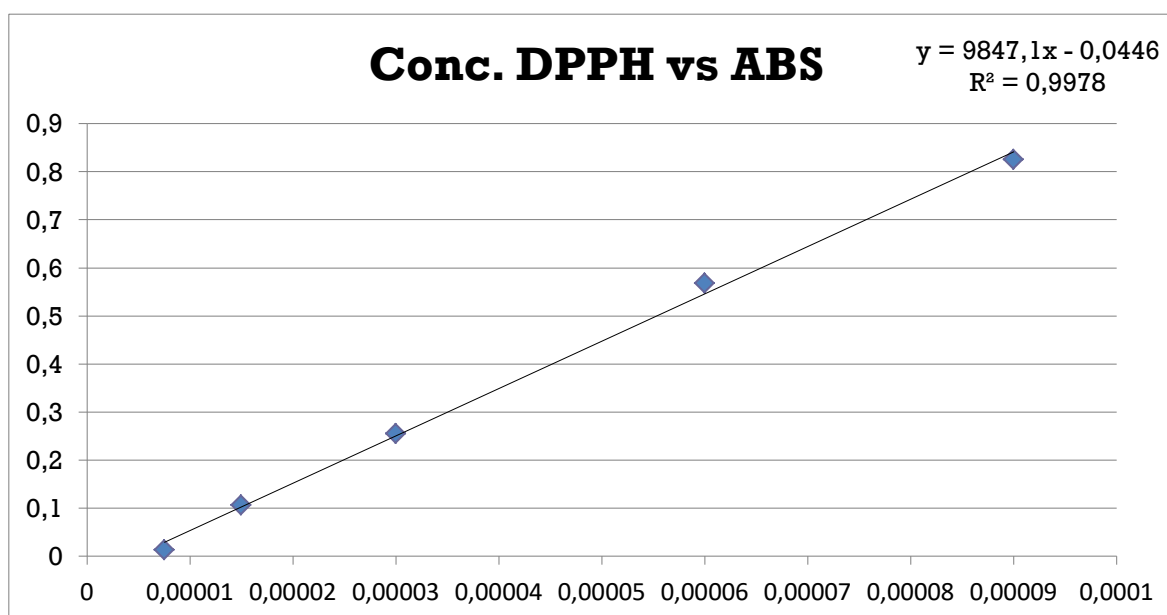
4. Silos portuaires : Cevital produit 219 000 tonnes de silos par an et exporte en moyenne 25 000 tonnes/an.

5. Margarinerie et graisses végétales : Cevital produit une gamme variée de margarine riche en vitamines A, D, E. Certaines margarines sont destinées à la consommation directe telle que « Matina, Rania, le beurre gourmand et Fleurial », d'autres sont spécialement produites pour les besoins de la pâtisserie moderne ou traditionnelle, à l'exemple de la « parisienne » et MEDINA « SMEN ». L'usine produit 600 tonnes/jour et exporte une partie de cette production vers l'Europe, le Maghreb et le Moyen-Orient.

Annexe 02 : courbes d'étalonnage



Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.



Courbe d'étalonnage pour le dosage du DPPH de l'extrait phénolique

Résumé

Ce travail s'est axé sur l'essai de formulation de margarines de table « Fleurial » additionnées d'extrait d'algue brune, dans le but de l'exploiter et de le substituer aux additifs synthétiques ajoutés aux margarines. L'extraction par macération à l'éthanol (75 %) a abouti à un rendement de 5,3%. L'activité antioxydante de l'extrait évaluée par le test de réduction du DPPH a révélé un IC_{50} de 1,56 mg/ml. Les caractéristiques physico-chimiques des margarines élaborées (acidité libre, point de fusion, teneur en sel (NaCl), teneur en eau (humidité), indice de peroxyde, potentiel d'Hydrogène (pH), taux de solide SFC) s'avèrent être conformes à la recette préétablie et aux normes en vigueur. Néanmoins, une légère augmentation de la teneur en sel a été détectée, qui est directement liée aux caractéristiques intrinsèques de l'algue brune *Padina pavonica*. L'étude de la stabilité oxydative sur les quatre formulations de margarine élaborées, a démontré que les essais de synergie entre l'extrait, le sorbate et la vitamine E ont mené à un effet peroxydant. Cependant, les margarines additionnées d'extrait d'algue seul à (50 ppm) étaient plus résistantes à l'oxydation avec un Rancimat de 27,80 h par rapport à la margarine témoin « Fleurial 500 g » additionnée de α -tocophérol à 100 ppm dont le Rancimat est de 18,52 h.

Mot clés : *Padina pavonica* ; Extraction par macération ; Activité antioxydante ; Stabilité oxydative ; Margarine.

Abstract

This work focused on the formulation essay of table margarines "Fleurial" added with brown seaweed extract, in order to exploit it and to substitute it to synthetic additives added to margarines. Extraction by ethanol maceration (75%) resulted in a yield of 5.3%. The antioxidant activity of the extract evaluated by the DPPH reduction test revealed an EC50 of 1.56 mg /ml. The physico-chemical characteristics of the elaborated margarines (free acidity, melting point, salt content (NaCl), water content (moisture), peroxide value, Hydrogen potential (pH), SFC solid content) proved to be in accordance with the pre-established recipe and the standards. However, a slight increase in salt content was detected, which is directly related to the intrinsic characteristics of the brown algae *Padina pavonica*. The study of oxidative stability on the four formulations of margarine developed, has demonstrated that the synergy tests between extract, sorbate and vitamin E led to a prooxidant effect. However, the margarines supplemented with seaweed extract alone (50 ppm) had a higher resistance to oxidation with a Rancima of 27.80 h compared to the control margarine "Fleurial 500 g" supplemented with α -tocopherol at 100 ppm with a Rancima of 18.52 h.

Key words: *Padina pavonica*; Maceration extraction; Antioxidant activity; Oxidative stability; Margarine.