

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Béjaïa  
Faculté de Technologie  
Département de Génie des procédés



# Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du diplôme Master en Génie Alimentaire

## Thème

**Enrichissement de la margarine avec des  
antioxydants naturels**

**« *Eucalyptus globulus & Laurus nobilis* »**

Réalisé par :

MADI MERIEM

MAMMASSE FAIZA

Soutenu le 04/07/2019

Devant le jury composé de :

Mme BELKACEMI	Professeur	Présidente
Mme GUEMGHAR	MCA	Examinatrice
Mr BELHAMEL K.	Professeur	Promoteur
Melle BELHAMEL C.	Doctorante	Co-Promoteur

Année universitaire : 2018-2019

# Dédicaces



Avec ma gratitude et tout mon amour, je dédie ce travail :

Aux deux être les plus chers au monde qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance qui m'ont soutenu nuit et jours durant tout mon parcours.

J'espère que par ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille, Mes très chers parents.

A mon chère frère **Hamza** et A mes chères sœurs **Houda & Ilhem** « Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Aucun signe ne pourra décrire votre implication dans mon épanouissement. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde ».

A la mémoire de mon grand- père paternelle « **El hachemi** » et ma grand -mère maternelle « **Fatma** » que dieu les accueille dans son vaste paradis.

A mes grands-parents « **Salah** » & « **Aldja** » à qui je souhaite une longue vie.

A ma très chère amie, sœur, copine **Tiziri**. Merci pour ton sincère amitié tu resteras à jamais ma préférée qui a arrivé à remplir ma vie que de joie et de bonheur.

A ma binôme **Meriem** qui m'a accompagnée durant ce travail.

A tous ceux qui me sont chère.

**FAIZA**

# Dédicaces



Tout d'abord, je consacre deux lignes pour le tout puissant

Merci Rabbi de m'avoir créé, de me donner la santé, la volonté et le courage d'arriver là où j'en suis après tant d'années d'études.

Aux trois personnes les plus chères sur terre :

- ✓ Mon cher papa, monsieur **MADI KAMEL**, tu ne pourras jamais savoir à quels points tu comptes pour moi, tu as toujours été la première personne qui m'encourage à faire ce que je veux, tu as fait de ton mieux pour que rien me manque, tu m'as comblé d'amour, tu es un père exemplaire, j'ai de la chance de t'avoir comme père, c'est grâce à toi que je suis la fille forte que je suis.
- ✓ Ma chère maman, madame **MADI SALIMA**, tu es tout mon monde, sans toi je suis personne dans la vie, tu m'as appris beaucoup de choses pour ne pas dire tout, tu es une source d'énergie, de pouvoir et de bonheur, tu es la sœur que je n'ai pas eu et la maman qui fait son devoir plus qu'il en faut, avec toi je suis en confiance totale et je crains rien.
- ✓ Mon cher et unique frère, **MADI DAOUD**, je n'ai que toi et tu n'as que moi, avant tu étais le petit frère que je protégeais et à qui je faisais attention, maintenant je sens que tu as grandi et que les rôles se sont inversés, ta présence dans ma vie est beaucoup plus importante que tu croies, que Allah te protège et qu'il réalisera tout tes rêves.

Je remercie tous mes profs de mon parcours scolaire depuis la première année primaire.

Ma sœur et mon meilleur ami **Chaima** pour les merveilleux moments passés ensemble durant ces 12 ans d'amitié.

Mon binôme **Faiza** pour sa patience durant le travail et tous les bons moments passés ensemble.

**MERIEM**

## **Remerciements**

*Tout d'abord, on aimerait remercier Dieu le tout- puissant, de nous avoir donné la force et la patience de pouvoir mener ce travail à terme.*

*On voudrait témoigner notre reconnaissance à **Mr BELHAMEL, K** pour avoir encadré ce mémoire.*

*Aussi Notre Co encadrante **Melle BELHAMEL CHIRAZ***

*On la remercie particulièrement pour*

*Ces conseils et suggestions et tout ça dans la bonne humeur.*

*On exprime ensuite nos estime et nous remerciements à :*

***Mr NABET NACIM** pour sa disponibilité, ses conseils précieux et son grand dévouement pour l'achèvement de ce mémoire.*

***M<sup>me</sup> BELKACEMI** Pour avoir accepté de présider le juré de ce mémoire, ainsi **M<sup>me</sup> GUEMGHAR** Pour nous avoir fait l'honneur de juger ce modeste travail et de nous faire ainsi bénéficier de leurs compétences et de leurs connaissances.*

*Nous remercions l'entreprise **CO.G.B** de nous avoir accueilli et mettre à notre disposition toutes les conditions nécessaires pour la réalisation de ce travail, particulièrement **Mme DJAAFRI, Mr MOUHOUBI.S, Mme ZAHIRA** et tous les membres de l'équipe du laboratoire physicochimique de **CO.G.B.***

*Nos remerciements s'adressent aussi à tous nos enseignants rencontrés tout au long de notre parcours universitaire.*

*Un grand merci à toute personne ayant contribué à l'accomplissement de ce modeste travail.*



## Liste des abréviations

---

**pH** : Potentiel d'hydrogène.

**UI** : Unité Internationale.

**AGPI**: Acide gras polyinsaturé.

**BHT** : Butyl Hydroxytoluène.

**BHA** :Butyl Hydroxy Anisole.

**m** : mètre.

**PPT** :Polyphénols totaux.

**ppm** : partie par million.

**DL<sub>50</sub>** :Dose létale qui éliminer 50% d'insectes.

**V/V** : volume/volume.

**HE** : Huile essentiel.

**F.A.O**: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

**°C** :Degré Celsius.

**UV** : Le rayonnement ultraviolet.

**rpm** : radian par minute.

**μL** : micro-litre.

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

**meq O<sub>2</sub>/kg** : milliéquivalent d'oxygène par kilogramme.

**mgEq AG /g** : milligramme équivalent d'acide gallique par gramme.

**mgEq Q /g** : milligramme équivalent de quercitrine par gramme.

**MS** : Matière sèche.

**EB** : Extrait brute.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice à 50%.

**CO.G.B** : Complexe des Corps Gras de Bejaia.

## Liste des abréviations

---

**ISO**: International Standard Organization.

**NA** : norme algérienne.

**IP** : Indice de peroxyde.

**MLC** : Margarine liquide commerciale.

**MEL** : Margarine enrichie avec l'extrait optimisé de Laurier.

**MEE** : Margarine enrichie avec l'extrait optimisé d'Eucalyptus.

**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance.

**DLC** : Date limite de consommation.

**UP 7** : Unité de production 7.

**CDH** : Conditionnement d'huile.

**SDM** : Savon de ménage.

**SDT** : Savon de toilette.

- **Figure1** : Feuilles et fleurs d'*Eucalyptus globulus*..... 4
- **Figure2** : *Laurus nobilis* feuilles et fleurs..... 8
- **Figure 3** : La composition de la margarine..... 16
- **Figure 4** : Diagramme de fabrication de la margarine..... 19
- **Figure 5** : Réduction du radical DPPH par un antioxydant..... 28
- **Figure 6** : schéma général de la méthodologie de travail à CO.GB..... 31
- **Figure 7** : Diagramme suivi de la fabrication de la margarine enrichie avec des extrais de *Laurus nobilis* et l'*Eucalyptus globulus* obtenue dans les conditions optimales..... 33
- **Figure 8** : l'étude des effets des trois paramètres sur la teneur en polyphénols de *Laurus nobilis* (standardized pareto chart for poly mg EAG / g MS)..... 39
- **Figure 9** : l'effet de l'interaction entre le solvant et le ratio sur la teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Laurus nobilis*.....39
- **Figure 10** : L'étude des effets des trois paramètres sur le pourcentage d'inhibition du radical DPPH de *Laurus nobilis* (Standardized pareto chart for DPPH µg/ml)..... 40
- **Figure 11** : l'effet de l'interaction entre le solvant et le ratio sur le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de l'extrait de *Laurus nobilis*..... 41
- **Figure 12** : l'étude des effets des trois paramètres sur la teneur en polyphénols de L'*Eucalyptus globulus* (standardized pareto chart for poly mg EAG / g MS)..... 44
- **Figure 13** : Etude des effets des trois paramètres sur le pourcentage d'inhibition du radical DPPH d'*Eucalyptus globulus* (Standardized pareto chart for DPPH µg/ml)..... 45
- **Figure 14** : Le taux d'humidité des feuilles de *Laurus nobilis* et L'*eucalyptus globulus*..... 47
- **Figure15** : Teneurs en caroténoïdes d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*.....48
- **Figure 16**: Teneurs en polyphénols totaux d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*. .... 49

- **Figure 17** : Teneurs en flavonoïdes d'Eucalyptus globulus et Laurus nobilis..... 50
- **Figure 18** : Piégeage du radical DPPH d'Eucalyptus globulus et Laurus nobilis..... 51
- **Figure 19** : Pouvoir réducteur des extraits d'Eucalyptus globulus et Laurus nobilis..... 53
- **Figure 20** : Taux d'humidité des trois margarines étudiées. .... 55
- **Figure 21** : Taux de sel (%) des trois margarines étudiées .....56
  
- **Figure 22** : Point de fusion des trois margarines étudiées.....57
- **Figure 23** : Indice de peroxyde des trois margarine étudiées..... 58
- **Figure 24** : l'acidité des trois margarines étudiées ..... 59
- **Figure 25** : Evolution de l'indice de peroxyde de la margarine au cours du stockage..... 60
- **Figure 26** : Evolution de l'acidité des margarines formulées au cours du stockage..... 61

### Liste des figures en annexe

- **Figures I** : Courbes d'étalonnage des flavonoïdes (a), des caroténoïdes (b), du pouvoir réducteur(c), et des composés phénoliques(d) ..... (Annexe I)
- **Figure II** : Organigramme des départements de production CO.G.B La belle..... (Annexe III)

- **Tableau 1** : Classification d'*Eucalyptus globulus*..... 5
- **Tableau 2** : la composition chimique des extraits d'*Eucalyptus globulus*..... 5
- **Tableau 3** : Classification botanique de *Laurus nobilis L.*..... 9
- **Tableau 4** : Teneurs des composés phénoliques de *Laurus nobilis L.*..... 12
- **Tableau 5** : Différentes types de margarine..... 17
- **Tableau 6** : Mécanismes d'oxydation des lipides..... 21
- **Tableau 7** : Caractéristiques des échantillons analysés..... 24
- **Tableau 8** : le plan d'expérience de 15 tests utilisés pour l'extraction de composés bioactifs des deux plantes étudiées..... 26
- **Tableau 9** : Plan d'expérience et résultats de réponses étudiées pour l'extrait de laurier..... 38
  
- **Tableau 10** : les conditions optimales d'extraction de *Laurus nobilis* par la méthode conventionnelle..... 42
- **Tableau 11** : Résultats prédits et expérimentaux de la teneur en polyphénols Totaux et le pourcentage d'inhibition du radical libre de *Laurus nobilis*..... 43
- **Tableau 12**: Plan d'expérience et résultats de réponses étudiées pour l'extrait d'eucalyptus *globulus*..... 44
- **Tableau 13** : les conditions optimales d'extraction de L'*Eucalyptus globulus* par la méthode conventionnelle..... 46
- **Tableau 14** : Résultats prédits et expérimentaux de la teneur en polyphénols totaux et le pourcentage d'inhibition du radical libre d'*Eucalyptus globulus*..... 46
  
- **Tableau 15** : Résultat du pH de la phase aqueuse des margarines formulées..... 54
- **Tableau 16** : Résultats de l'indice de peroxyde et d'acidité de la margarine au cours du stockage..... 60

### Liste des Tableaux en Annexe

- **Tableau I** : préparation des solutions pour le dosage des polyphénols  
totaux..... (Annexe II)
- **Tableau II** : préparation des solutions pour le dosage des flavonoïdes.... (Annexe II)
- **Tableau III** : préparation de la solution 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl  
(DPPH)..... (Annexe II)
- **Tableau IV**: Préparation des solutions pour la détermination du  
Pouvoir réducteur.....(Annexe II)
- **Tableau V** : préparation de la solution de l'iodure de potassium (KI)..... (Annexe II)

<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>

## Partie théorique

### Chapitre I : Etude bibliographique d'*Eucalyptus globulus* & *Laurus nobilis*.

I.1. <i>Eucalyptus globulus</i> .....	3
I.1.1. Etude botanique d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	3
I.1.2. Compositions chimiques.....	5
I.1.3. Propriétés pharmacologiques.....	6
I.1.4. Activité antibactérienne et antifongique.....	6
I.1.5. Activité antioxydante.....	6
I.1.6. Activité antiparasitaire .....	7
I.1.7. Activité insecticide.....	7
I.2. <i>Laurus nobilis</i> L.....	7
I.2.1. Etude botanique de <i>Laurus nobilis</i> .....	7
I.2.2. Composition chimique des feuilles du <i>Laurus nobilis</i> .....	9
I.2.3. Utilisation traditionnelle et pharmacologique du <i>Laurus nobilis</i> .....	9
I.2.4. Propriétés biologiques du <i>Laurus nobilis</i> .....	10
I.2.4.1. Activité antioxydant de l'extrait de laurier.....	10
I.2.4.2. Activité antibactérienne.....	10
I.2.4.3 Activité anticonvulsivante.....	10
I.2.5. Travaux antérieurs.....	11

## Chapitre II : Etude bibliographique sur la margarine et les antioxydants

II. Généralités sur la margarine.....	13
II.1.Historique.....	13
II.2. Définition.....	13
II.3. Composition globale des margarines.....	13
II.4. Caractéristiques des margarines.....	16
II. 5. Classification des margarines.....	17
II.6. Processus de fabrication de la margarine.....	17
II.7. Facteurs d'altération de la margarine .....	20
II.8. L'oxydation .....	20
II.8.1. Oxydation de la margarine.....	20
II.8.2.Antioxydants.....	21
II.8.3. Classe des antioxydants .....	21

## Partie pratique

## Chapitre III : Matériels & méthodes

III.1. Matériels utilisés pour réalisés ce mémoire.....	23
III.2. Produits chimiques.....	23
III.3.Matériel végétal.....	24
III.3.1. Cueillette des plantes.....	24
III.3.2. Prétraitement des échantillons.....	24
III.4. Les tests effectués sur les deux plantes étudiées....	24
III.4. 1. Taux d'humidité.....	24
III.4. 2. Dosage des caroténoïdes .....	25



III.4.3. Optimisation des conditions d'extractions des composées phénoliques.....	25
III.4.4. Dosage des antioxydants.....	27
III.4.5. Détermination de l'activité antioxydante.....	28
III.5. Elaboration industrielle de la margarine au niveau de l'unité COGB.....	30
III.5.1.Préparation de la phase grasse.....	31
III.5. 2. Préparation de la phase aqueuse.....	31
III.5. 3. Formulation de l'émulsion (margarine).....	32
III.5. 4. Méthodes d'analyses.....	34
III.5. 4.1. Analyses physico-chimiques.....	34

### Chapitre IV : Résultats & discussions

IV.1. Résultats d'optimisation de Laurier et d'Eucalyptus.....	38
IV.1.1.Laurier ( <i>Laurus nobilis</i> ) .....	38
IV.1.1.1.Optimisation de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait de <i>Laurus nobilis</i> .....	38
IV.1.1.2.Optimisation de l'effet de piégeage du radical DPPH de l'extrait de <i>Laurus nobilis</i> .....	41
IV.1.1.3. Optimisation de réponse de surface multiple (interaction entre les réponses)...	42
IV.1.2.Eucalyptus ( <i>Eucalyptus globulus</i> ).....	43
IV.2.1.1. Optimisation de la teneur en polyphénols totaux d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	43
IV.1.2.2.Optimisation de l'effet de piégeage du radical libre DPPH de l'extrait d'Eucalyptus.....	45
IV.1.2.3. Optimisation de réponse de surface multiple des extraits d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	46
IV.2. Le taux d'humidité .....	47
IV..3.Teneur en caroténoïdes.....	48

IV.4.Teneurs des antioxydants.....	48
IV.5.Activité antioxydante des extraits optimisés d' <i>Eucalyptus globulus</i> et <i>Laurus nobilis</i> .....	51
IV.6. Incorporation des extrais optimisés dans la margarine .....	53
IV.6.1.Caractéristiques physico-chimiques des margarines .....	53
IV.6.2. Suivi de l'évolution de l'indice de peroxyde et d'acidité des margarines formulées au cours du stockage.....	60
<b>Conclusions et Prescriptives .....</b>	<b>63</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>65</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Glossaires</b>	
<b>Résumé</b>	



***Introduction***

L'oxydation des lipides est la cause principale de la détérioration de la qualité dans les systèmes alimentaires, elle peut conduire à une perte importante de la qualité d'un aliment et provoquer un goût de rance ainsi que la formation de composés toxiques. Pour cette raison, des antioxydants synthétiques sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire comme inhibiteurs potentiels de l'oxydation des lipides, ces antioxydants présentent de nombreux inconvénients sur le plan économique, santé et environnemental (**Scherer et Godoy, 2009**).

En outre, ces dernières années ont connu une exploitation appréciable des plantes médicinales et alimentaires qui ont suscité un intérêt de plus en plus croissant aussi bien chez les consommateurs que chez les diététiciens et les nutritionnistes (**Pincemail et al., 2007**).

Ce Project de recherche s'inscrit dans le cadre d'une contribution à l'étude des antioxydants d'origines naturelles. En occurrence *Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis* qui sont deux plantes qui appartenant respectivement à la famille des Myrtacées et des Laureacées. Ces plantes ont aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et sont abondantes en Algérie. D'ailleurs, une attention particulière a été accordée pour ces plantes par des chercheurs et des industriels. (**yekhlefet et al., 2011**).

La richesse des deux plantes en antioxydants naturels : polyphénols, flavonoïdes et caroténoïdes, nous a conduits à la valorisation de ces plantes par incorporation dans une recette de margarine composée de 80% de matière grasse : première cible de l'oxydation (**Karleskind, 1992**). La conséquence la plus perceptible est cette apparition d'odeurs désagréables. Ces odeurs conduisent souvent au rejet du produit par le consommateur (**Prior, 2003**).

Nous sommes aussi appelés en réalisant ce travail à répondre à une problématique d'importance majeure : est-ce que les margarines élaborés enrichis par les antioxydants naturels à partir des extraits des plantes étudiées vont être conforme à la norme ISO. Par conséquent une série d'analyses physicochimiques ont été menées sur le produit fini.

Cette étude a été réalisée au sein de l'entreprise des Corps Gras de Bejaia (CO.G.B labelle) ainsi que le laboratoire des matériaux organiques de l'université A. MIRA-Bejaia.

Notre manuscrit est scindé en quatre chapitres :

La première partie a été consacrée à l'étude bibliographique qui s'étale sur deux chapitres :

- ❖ Le premier chapitre présente une description botanique générale des espèces étudiées (*Laurus nobilis* et *Eucalyptus globulus*) et leurs répartitions géographiques ainsi que leurs activités antioxydantes.
- ❖ Le deuxième chapitre donne un aperçu sur le processus de fabrication de la margarine et comporte des généralités sur l'oxydation des lipides et les antioxydants.

La seconde partie est une partie pratique qui rassemble deux chapitres :

- ❖ Le premier décrit le matériel végétal et les méthodes utilisées.
- ❖ Le deuxième chapitre résume les résultats et discussions de chaque expérimentation de notre travail.

Nous terminerons par une conclusion générale sur l'ensemble de cette étude ainsi que des perspectives ont été dégagées.



***Partie Théorique***

# *Chapitre I*

*Etude bibliographique sur*

*L'Eucalyptus globulus*

*ET*

*Laurus nobilis*

Les plantes aromatiques et médicinales peuvent être utilisées dans différents domaines (Pharmacie, parfumerie, cosmétique et agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes.

Ces plantes aromatiques sont, donc, à l'origine des produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits, résines ...etc.) qui se présentent presque toujours comme des mélanges complexes dont il convient d'analyser la composition avant leur éventuelle valorisation.

Parmi ces plantes à valeurs ajoutées, *Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis* possédant une activité pharmacologique pouvant conduire à des applications thérapeutiques, cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plus part agissent sur l'organisme humain (Fadiz, 2011).

## I.1. *Eucalyptus globulus*

### I.1.1. Etude botanique d'*Eucalyptus globulus*

#### I.1.1.1. Origine et définition

Le genre *Eucalyptus globulus* fût décrit et baptisé en 1788 par le botaniste Français Héritier, après qu'il eut examiné des échantillons d'*Eucalyptus* parmi les différentes plantes récoltées en Australie (Bingendako, 2004).

Le terme *Eucalyptus* dérive du mot grec « *Eu* » : vrai et « *Kalyptus* » : couvercle ou opercule (Boullard, 1997), allusion au couvercle du bouton floral qui couvre les étamines (Ait Youssef, 2006).

#### I.1.1.2. Description Botanique

*Eucalyptus globulus* est un arbre aromatique de 30 à 100m de haut et plus de 1.5m de diamètre (Deyson, 1978) les feuilles jeunes sont opposées, ovales, luisantes et pendantes sur les jeunes Rameaux (Boullard, 2001). Les feuilles adultes sont alternes, falciformes, épaisses et coriaces, lancéolées et aiguës, de couleur vert foncé (Bruneton, 1987).

Les boutons floraux sont blancs. Il s'épanouissant en printemps et possèdent un calice, en forme de pyramide quadrangulaire, coiffé par un couvercle formé par la corolle qui se soulève à la floraison, laissant apparaître plusieurs étamines qui se détachent à maturité (Wichtlet Anton, 2003).

Les fleurs sont blanches solitaires ou groupées par 2 ou 3 (Bosse, 2005). Elles possèdent 4 Sépales rugueux et cireux, soudés en urne (Bruneton, 2002). Les fleurs sont bisexuées et régulières. Le fruit est une capsule loculicide et anguleuse renfermant plusieurs graines (Bosse, 2005). Les graines sont exalbuminées à ovules anatropes (Bosse, 2005).





**Figure 1 :** Feuilles et fleurs d'*Eucalyptus globulus*.(www.australianseed.com)

### **I.1.1.3. Distribution géographique**

*L'Eucalyptus globulus* est originaire d'Australie et de Tasmanie, pays où il constitue la majeure partie de la flore forestière (**Aït youssef, 2006 ; Schauenberg et Paris, 1977**).

De nombreuses espèces sont acclimatées dans d'autres pays comme l'Inde, le Brésil, l'Europe et le bassin Méditerranéen (**Forrest et Moore, 2008 ; Ghedira et al., 2008**), certaines pour leur bois, d'autres pour stabiliser le sol, comme brise vent ou comme arbres d'ornement (**Balmey et Wilson, 2000**).

Le genre *Eucalyptus globulus* fait partie des genres les plus importants de la famille des Myrtacées avec environ 600 espèces (**Spichiger et al., 2002**) dont seulement 16 sont utilisées en médecine (**Ghedira et al., 2008**).

### **I.1.1.4. Historique d'*Eucalyptus* en Algérie**

Les espèces du genre *Eucalyptus* ont été introduites massivement en Algérie dès le XIX<sup>e</sup> siècle, en particulier *l'Eucalyptus globulus* qui est planté aux bordures des routes d'Algérie. Les premiers planteurs étaient des missionnaires d'origine européenne, ils l'ont exploité dans le but d'assainir les terrains marécageux où pullulaient les anophèles et les moustiques qui sont vecteurs d'une maladie parasitaire endémique : le Paludisme (**Aït Youssef, 2006**).

### **I.1.1.5. Classification d'*Eucalyptus globulus***

La classification systématique d'*E. globulus* selon (**Ghidira et al., 2008**).

**Tableau 1 :** Classification d'*Eucalyptus globulus*.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus

### I.1.2. Compositions chimiques

**Tableau 2 :** la composition chimique des extraits d'*Eucalyptus globulus*.

<i>Les composées</i>	<b>Constituants</b>	<b>Références</b>
<i>Acides phénoliques</i>	caféique, gallique, ferulique, protocatéchique, gentisique	<b>(Ghedira et al.,2008)</b>
<i>Flavonoïdes</i>	Flavones: eucalyptine, 8 déméthyeucalyptine, sidéxylique, 8-déméthylsidéroxyline. Rutine et essentiellement des dérivés de la quercetine; anthocyanosides,	<b>(Kim et al.,2001)</b>
<i>Tannins</i>	Tannin condensées proanthocyanidines et gallotannins.	<b>(Vankar et al.,2006)</b>
Divers	Cires, stérols, saponines, polysaccharides, dicétone (n-triacontane 16,18-dione) dérivés du phloroglucinol, Stéroïdes, macrocarpals, acides aminés et acides organiques.	<b>(Wichtl et Anton, 2003)</b>

### I.1.3. Propriétés pharmacologiques

- ❖ Propriétés antiseptiques : Après absorption par la peau ou après résorption intestinale, le cineole est éliminé en partie par les poumons (d'où son activité) et par les reins. L'effet antiseptique bactéricide est surtout lié à la présence du 1,8 cineole. Cet effet est supérieur à celui du 1,8 cineole utilisé seul. Une partie de cette huile est éliminée par la voie urinaire. Elle agit sur les *Escherichiae*, *Proteus*, *Saphtylococcus aureus*, etc. (Fabre et al., 1992 ; Buronso, 2008)
- ❖ Huile essentielle de l'eucalyptus est un sédatif léger du système nerveux central, mais favorise en revanche la respiration (eupnéique) (Baba, 1999).
- ❖ L'effet anti-inflammatoire a été comparé à celui de l'indométacine. Il est lié en partie à son huile essentielle, à ses acides-phénols et flavonoïdes (Batish, 2008)
- ❖ Les feuilles d'*E. Globulus* sont utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète. Cet effet a été contrôlé chez l'animal, où l'hyperglycémie est abaissée chez des souris traitées à la streptozotocine recevant 62,5 g d'eucalyptus /kg dans le régime alimentaire dilué dans 2,5 g/l d'eau physiologique. Au Maroc, la décoction des feuilles et des fleurs est utilisée contre le diabète (Arma, 2012).

### I.1.4. Activité antibactérienne et antifongique

Djenne et al (2011) ont démontré l'efficacité de l'extrait d'*E. globulus* comme agent naturel de la conservation des aliments grâce à son effet antibactérien sur de nombreux micro-organismes, telles que les salmonelles avec des essais réussis de conservation des œufs entiers liquides. L'huile essentielle d'*E. Globulus* (100%) est également efficace contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, ainsi que sur *Candida albicans*. (Raho et Benali, 2012),

### I.1.5. Activité antioxydante

Selon l'étude menée par Mishra et al., (2010), l'extrait de *E. globulus* montre une activité antioxydante avec un pourcentage de piégeage du radical DPPH de  $79 \pm 0,82\%$  à une concentration du solvant à 80% d'éthanol.

### I.1.6. Activité antiparasitaire

De nombreuses études sur l'activité antiparasitaire des plantes d'*E. globulus* ont été réalisées. Selon, l'étude menée par **Khodadad Pirali-Kheirabadi en (2009)** contre *Rhipicephalus annulatus* où une concentration de 5% de cette huile a pu inhiber 25% de la reproduction chez ces parasites.

### I.1.7. Activité insecticide

La plante d'*Eucalyptus globulus* a prouvé son effet insecticide contre *L. longipalpis*, à 100% au stade larvaire à une concentration de 40 mg/ml (**Marciel et al., 2010**). Avec une DL<sub>50</sub> (Dose létale qui éliminer 50% d'insectes) de 2000 ppm de l'HE de *E. globulus* est trouvée contre *Aphis gossypii*.

## I.2. *Laurus nobilis* L

Consacré à Apollon et Esculape « dieux de la santé et de la médecine » chez les grecs, en couronnant les empereurs et les héros chez les romains ; le laurier noble jouit d'une place importante tant dans le domaine mythologique, culinaire et médicinale depuis l'antiquité (**Vetvicka et Matousova, 1991**).

Le laurier, ou laurier-sauce (*laurus nobilis* L.) est un arbuste ou un arbre de la famille des Lauraceae, à feuilles persistantes et coriaces (**Vetvicka et Matousova, 1991**). Etymologiquement, le nom latin *Laurus* signifiant « toujours vert » fait allusion au feuillage persistant de la plante et *nobilis* du latin « fameux » (**Pariente, 2001**). Son nom est aussi symbole du succès dans nos jours à travers le baccalauréat du latin « *Bacca Lauri* » soit baies de laurier (**Zhiri et al., 2005**).

### I.2.1. Etude botanique de *Laurus nobilis*

#### I.2.1.1. Famille des Lauracées

*Laurus nobilis*, membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces (**Barla et al., 2007**). Les feuilles sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antiques grecs et romain (**Demir et al., 2004**). Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle, en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications (**Ferreira et al., 2006**).

### I.2.1.2. Origine et distribution de la plante

Originnaire du bassin méditerranéen, *Laurus nobilis* pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment (Iserin, 2001). Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays comme plante ornementale et pour la production commerciale tels que l'Algérie, la Turquie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (Demir et al., 2004 ; Barla et al., 2007).

### I.2.1.3. Description botanique

*Laurus nobilis* est un arbuste de la famille des Lauracées à feuilles persistantes et coriaces. Il est le seul arbuste comestible de la famille des Lauracées mesurant de 2 à 6 m et jusqu'à 15 m de haut, à tige droite et grise dans sa partie basse, verte en haut. Les feuilles sont vert foncé de forme lancéolée. Les fleurs, blanchâtres groupées par 4 à 5 en petites ombelles, apparaissent en Mars - Avril (Rivera et Obon, 1995).



Figure 2 : *Laurus nobilis* feuilles et fleurs.([www.cdiseout.com](http://www.cdiseout.com))

### I.2.1.4. La place de la plante dans la classification systématique

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Quezel et Santa, 1962) synthétisée dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3 : Classification botanique de *Laurus nobilis* L. (Quezel et santa, 1962)**

Règne	Plantes
Sous Règne	Plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L

### I.2.2. Composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis*

Les feuilles du Laurier sont riches en :

- **polyphénols** : Plusieurs flavonoïdes et dérivés ont été déterminés dans les extraits du laurier comme des flavonoïdes O-glycosides ou C-glycoside, l'acide caféique, la catéchine, les cinnamtannin et certains dérivés du kaempférol.
- **alcaloïdes aporphiniques** : comme la cryptodrine ou l'actinodaphnine.
- **lactones sesquiterpéniques** : comme costunolide et zaluzanine D.
- **Huile essentielle** : elle représente 1 à 3 % du poids sec dont : 30 à 70 % de cinéol, 3% d'eugénol, ainsi que plusieurs autres composés terpéniques : linalol, géraniol, pinène, terpinène (Derwich et al., 2009; Flamini et al., 2007).

### I.2.3. Utilisation traditionnelle et pharmacologique de *Laurus nobilis*

Actuellement, cette plantes génère un réel intérêt quant à son utilisation comme plante médicinale. Les feuilles de *Laurus nobilis* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays, elles sont généralement utilisées comme épice valable en cuisine (en potages, ragoûts, sauce,...) et comme aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment des axes de recherches scientifiques intéressants (Sinic et al., 2003).

Le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion (Iserin, 2001). L'extrait aqueux des feuilles est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'anti hémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et pour le traitement du mal d'estomac (Kivçak et Mert, 2002).

#### **I.2.4. Propriétés biologiques de *Laurus nobilis***

##### **I.2.4.1. Activité antioxydante de l'extrait de laurier**

Plusieurs flavonoïdes et dérivés ont été déterminés dans les extraits de laurier comme des flavonoïdes O-glycosides ou C-glycoside, de la catéchine, et du cinnam tannin (Dall'Acqua et al., 2009). Parallèlement d'autres composés ont été isolés comme des lactones sesquiterpeneoïde des alcaloïdes isoquinolines et de la vitamine E (Wettasinghe, 2000). Des recherches faites sur les extraits aqueux et éthanolique ont montré qu'ils présentent une forte activité antioxydante en émulsion d'acide linoléique. Des différentes concentrations de ces extraits entre 20 et 60 mg ml<sup>-1</sup> ont montré entre 85 et 98,6% d'inhibition de la peroxydation lipidique de l'émulsion d'acide linoléique, quand 60 ml mg<sup>-1</sup> de BHA et de BHT, et alpha-tocophérol présentaient 77 et 96% d'inhibition de la peroxydation des lipides en émulsion d'acide linoléique, respectivement (Elmasta et al., 2006).

##### **I.2.4.2. Activité antibactérienne**

Le laurier possède des propriétés antibactériennes très efficaces concernant les staphylocoques, streptocoques et gonocoques. Des études antibactériennes ont démontré que les huiles essentielles de *laurus nobilis* sont très efficaces contre la souche *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 13 mm. L'activité antibactérienne a été principalement expliquée par la capacité des cycles aromatiques des terpènes et des groupements hydroxyphénoliques à former des liaisons hydrogènes avec les sites actifs des enzymes cibles (Derwich et al., 2009).

##### **I.2.4.3 Activité anticonvulsivante**

L'huile essentielle de *Laurus nobilis*, en particulier le méthyleugénol, et l'eugénol, ont montré un effet protecteur sur les souris contre les convulsions toniques induites par électrochoc maximal et surtout par le pentylènetétrazole (Sayyah et al., 2002)

### I.2.5. Travaux antérieurs

Nous prenons, ci-dessous, les principaux travaux relatifs à l'étude des composés phénoliques de *Laurus nobilis*

- **Ferreira et al. (2006)** ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont *Laurus nobilis*, cette espèce a montré des valeurs élevées pour l'activité antioxydante pour chacun des trois extraits et elle est plus importante pour les extraits polaires.
- Dans une autre étude, **Demo et al. (1998)** ont démontré la présence des tocophérols (vitamine E), dans les feuilles de *Laurus nobilis* obtenue dans la fraction apolaire par extraction. Dans cette étude on rapporte que le contenu tocophérol est strictement corrélé avec l'activité antioxydante de l'extrait hexane des feuilles.
- L'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* a été évaluée pour l'activité anticonvulsive contre des saisies expérimentales, l'huile a protégé des souris contre des convulsions toniques, induites par électrochoc maximal. Aux doses d'anticonvulsivant, l'huile essentielle a produit la sédation et le relâchement du cœur. Les composants responsables de cet effet peuvent être le cinéol, eugénol et le méthyle eugénol mais d'autres études sont exigées avant que toutes conclusions puissent être tirées (**Sayyah et al., 2002**)

Selon les travaux de **Mojca skerget et al., (2005)** la composition phénolique de *Laurus nobilis* ainsi que leurs teneurs sont reprise dans le tableau ci-dessous :



**Tableau 4** : Teneurs des composés phénoliques de *Laurus nobilis* L. (Mojca skerget, et al., 2005)

Composées phénoliques	Teneur
PPT	99.4g/Kg
Flavonoïdes	80.1g/Kg
Tannins condensées	29.9g/Kg
Quercetine	31.9mg/Kg
Tocophérol	48.22mg/Kg

Cependant, l'étude menée par **Yakhlef1 et al. (2011)** sur la composition phénolique de *Laurus nobilis* a révélé la présence de deux polyphénols seulement dans les extraits aqueux à s'avoir : l'acide tannique et la rutine.

Ces résultats préliminaires ont confirmé que l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Laurus nobilis* dans l'industrie alimentaire est justifiée grâce à l'odeur et l'arôme de la plante.

# *Chapitre II*

*Etude bibliographique sur*

*La margarine*

*ET*

*Les antioxydants*

## II. Généralités sur la margarine

### II.1. Historique

La margarine a été inventée en 1869 par Mege-Mourises, pharmacien français, à la suite d'un concours organisé par Napoléon III, « pour un corps gras semblable au beurre mais de prix inférieur, apte à se conserver longtemps en gardant sa valeur nutritive » (**Trémolieres, 1980**).

### II.2. Définition

La margarine est un produit aromatisé contenant 80% de matière grasse mélangée à de l'eau, enrichie avec des vitamines et d'autres ingrédients, initialement développée pour remplacer le beurre du lait (**Frank, 2002**). Selon la norme du codex, la margarine est un aliment sous la forme d'une émulsion de type eau dans l'huile, produite à partir de graisses et huiles comestibles, qui ne proviennent pas du lait (**FAO, 1981**). La margarine de table doit contenir une teneur minimale de 80% en matières grasses et 16% d'eau. Elle peut être utilisée pour la préparation culinaire, adaptée à la fabrication de gâteaux de boulangerie et préparations industrielles (**Christopher et al., 2012**). En outre, elle contient 2% d'auxiliaires de fabrication (ingrédients liposolubles et hydrosolubles) utilisés à des fins technologiques (émulsifiants), sensoriels (sucres, arômes, colorants), de conservation (correcteurs de pH, antioxydant) nutritionnels (vitamines) et de législation (révélateurs) (**Djouab, 2007**).

### II.3. Composition globale des margarines

La composition de la margarine varie beaucoup selon l'origine des graisses et le type d'huiles ainsi que l'usage auquel elles sont destinées. Des agents émulsifiants et stabilisants sont toujours ajoutés (**Alais et al., 2008**). En général, la margarine est composée de :

#### II.3.1. Phase grasse

Cette phase est constituée d'un mélange d'huiles et des ingrédients liposolubles (**Graille, 2003**).

##### II.3.1.1. Le blend ou le mélange d'huiles

Le blend est défini comme étant un mélange de graisse et d'huiles raffinées en l'état et/ou modifié par fractionnement, trans-estérification ou hydrogénation. Il représente la partie la plus importante de la margarine (80 à 82%) (**KoneIssa, 2003**).

### **II.3.1.2. Les ingrédients liposolubles**

Ils regroupent les émulsifiants, arômes, vitamines, et colorants.

#### **II.3.1.2.1. Les émulsifiants**

Les émulsifiants ont un rôle important dans la rhéologie, Ils permettent de réduire la tension entre deux liquides non-miscibles. L'émulsifiant doit aussi être plus soluble dans la phase continue que dans la phase aqueuse, sa solubilité étant reliée à sa polarité. Les émulsifiants ont un rapport hydrophile/lipophile compris entre 3,5 et 6. Le système d'émulsifiant utilisé généralement dans les margarines comprend deux types : la lécithine, les mono et diglycérides. La lécithine est habituellement ajoutée à des teneurs de 0,1 à 0,2%. Elle est connue pour son effet anti éclaboussant lors de l'émulsion. Elle permet une libération plus rapide du sel dans la bouche (**O'Brien, 2009**).

#### **II.3.1.2.2. Les arômes**

L'addition dans les margarines de parfums, d'essences, d'arômes chimiques artificiels ou autres similaires est interdite, à l'exception du di-acétyle. Ce dernier s'emploie à des doses très faibles, de l'ordre de 0,1 mg pour 100 g de produit (**O'Brien, 2009**).

#### **II.3.1.2.3. Les vitamines**

La fortification de la margarine avec de la vitamine A est obligatoire. Une margarine doit contenir pas moins 15.000 unités internationales (UI) par litre. L'utilisation de la vitamine D est facultative, mais une fois supplémentée, elle doit être présente à raison de 1500 (UI) par litre de margarine. Les antioxydants naturels présents dans les huiles végétales «tocophérols» sont des sources importantes de vitamine E (**O'Brien, 2009**).

#### **II.3.1.2.4. Les colorants**

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

### **II.3.2. La phase aqueuse**

Elle représente une teneur comprise entre 16 et 18% du produit fini. Elle est constituée généralement d'eau et/ ou de lait. Elle comprend également les ingrédients hydrosolubles comme le sel et les correcteurs de pH (**Graille, 2003**).

### **II.3.2.1. L'eau**

L'eau est le constituant le plus important de la phase aqueuse des margarines sans lait. Cette eau doit être hygiéniquement propre, neutre de goût et d'odorat. Elle ne devrait pas non plus contenir des sels de fer ou de manganèse (**O'Brien, 2009**).

### **II.3.2.2. Le lait**

Le lait de vache a été initialement utilisé dans la préparation de la margarine, mais ces derniers temps il a été remplacé par la poudre de lait à 0% de matière grasse mélangée avec de l'eau. La présence du lait apporte à la margarine une saveur et un goût agréable voisin de celui du beurre (**Lefrancq et Roudaut, 2005**).

### **II.3.2.3. Les ingrédients ajoutés dans la phase hydrosolubles**

Ils regroupent les conservateurs, le sel et les correcteurs de pH.

#### **II.3.2.3. 1. Les conservateurs**

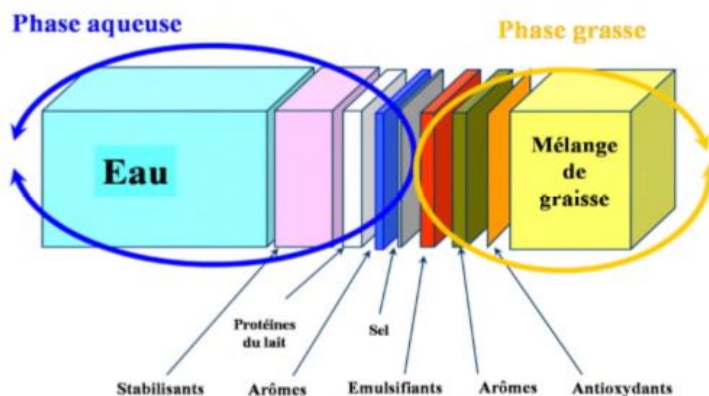
Les conservateurs de la margarine se répartissent en trois catégories : les antimicrobiens, les antioxydants et les chélateurs de métaux. Il est souvent fait recours à l'acide ascorbique ou à ses sels de sodium ou de potassium. Il présente un effet fongistatique, et parfois bactériostatique. Les quantités à incorporer sont de l'ordre de 0,5 à 1,5 % sur la base du poids du produit fini (**O'Brien, 2009**).

#### **II.3.2.3. 2. Le sel (NaCl)**

Le chlorure de sodium est ajouté à la préparation pour donner une saveur au produit fini mais également comme agent conservateur à action bactériostatique. Il est additionné à une concentration comprise entre 0,1 à 2% (**Kone Issa, 2003**).

#### **II.3.2.3. 3. Les correcteurs de pH**

Divers acides organiques tels que l'acide citrique, l'acide lactique et leurs sels de sodium, potassium et calcium sont ajoutés aux margarines avec une teneur maximale autorisée de 1g/kg. Ces acides peuvent être employés en tant que correcteur de pH ou stabilisateur de l'oxydation. Pour une bonne conservation du produit, le pH doit être maintenu entre 3 et 5,5 (**Faur, 1992**).



**Figure 3 :** La composition de la margarine (Miroslav, 2005).

## II.4. Caractéristiques des margarines

### II.4.1. Caractéristiques physiques

La margarine est caractérisée par sa plasticité, puisque elle contient une phase solide baignant dans une phase liquide.

Le point de fusion qui n'est en fait que le changement de l'état solide, doit être de l'ordre de 34 à 37°C puisque la margarine doit fondre dans la bouche. Elle peut être dure et sa dureté doit résister au travail mécanique qui sera exercé sur elle, ainsi que l'aptitude à l'étalement (François, 1974).

### II.4.2. Caractéristiques chimiques

Les caractéristiques chimiques des margarines varient selon les types de margarines, les pays producteurs, leur utilisation et les méthodes de fabrication...etc.

### II.4.3. Caractéristiques organoleptiques

Parmi l'ensemble des caractères sensoriels de la margarine : le goût, la texture, la saveur et l'arôme. La dégustation de la margarine est liée, d'une part à la flaveur propre des constituants lipophiles (matières grasses), hydrophile (lait, amidon, sel) et aux agents aromatisants (François, 1974).

#### II.4. 4. Caractéristiques nutritionnelles

Les margarines sont avant tout des corps gras alimentaires qui ont les mêmes valeurs nutritionnelles que les autres Corps Gras alimentaires. Elles apportent des éléments biologiquement liposolubles (vitamines A, D, E et des carotènes) (**Trimoliere et al., 1984**).

#### II. 5. Classification des margarines

Il existe un grand nombre de margarines, qui se différencient par la composition de la phase grasse mais aussi par le type d'ingrédients ajoutés (**Karleskind, 1992**). Les différents types de margarines sont résumés ci-dessous :

*Tableau 5 : Différentes types de margarine. (Etournaud, 2004 ; François, 1974).*

Types de la margarine	Usage
Margarine pour usage domestique	Destinée aux emplois ménagers culinaires
Margarine diététique	Fabriquées spécifiquement pour certains emplois particuliers (régimes diététique, accompagnant des traitements thérapeutiques).
Margarine pour industrie alimentaire	Les propriétés fonctionnelles recherchées sont soit l'absence d'acides gras libres et la stabilité à haute température, soit une plasticité convenable dans le cas où elle est destinée à la biscuiterie.

#### II.6. Processus de fabrication de la margarine

Selon **Aboiron et Hameury, (2004)** la fabrication de la margarine passe par les étapes suivantes :

##### II.6.1. Préparation de la phase grasse

Elle se constitue d'un mélange d'huiles raffinées et/ou inter estérifiées auxquelles sont incorporées des additifs liposolubles (colorants, émulsifiants, etc.). Ils sont mis dans des bacs chauffés à 45°C pour garder leur liquidité.

**II.6.2.Préparation de la phase aqueuse**

Elle est produite à base d'eau et/ou du lait, mélangé avec des ingrédients hydrosolubles dont on trouve l'amidon, sel, acide acétique et l'acide ascorbique.

**II.6.3.Préparation de l'émulsion**

L'émulsion est le résultat de combinaison entre la phase aqueuse et la phase grasse, qui seront par suite mélangées dans le bac d'émulsion. A l'aide d'une pompe d'émulsion, le mélange (émulsion) passe vers le pasteurisateur.

**II.6.4.Pasteurisation**

Une température oscillant entre 82 et 85°C, qui durera 3 à 4 secondes, est nécessaire.

**II.6.5.Refroidissement, cristallisation et malaxage**

Le refroidissement s'effectue par un système qui provoque un échange thermique considérable. La cristallisation est un procédé permettant d'obtenir structure et stabilité telles que souhaitées du produit, elle se fait à une température de 15 à 20°C. Le produit solide est ensuite mis dans un malaxeur où il va subir un traitement mécanique par lequel il acquerra ses propriétés, homogénéité et texture convenables.

**II.6.6.Emballage, conditionnement et stockage**

La margarine est acheminée vers l'empaqueteuse ou elle subit un moulage. Elle est conditionnée soit dans des pots ou barquettes en plastique, soit enveloppée dans un emballage adéquat et stockée à une température oscillant entre 5 à 10°C.



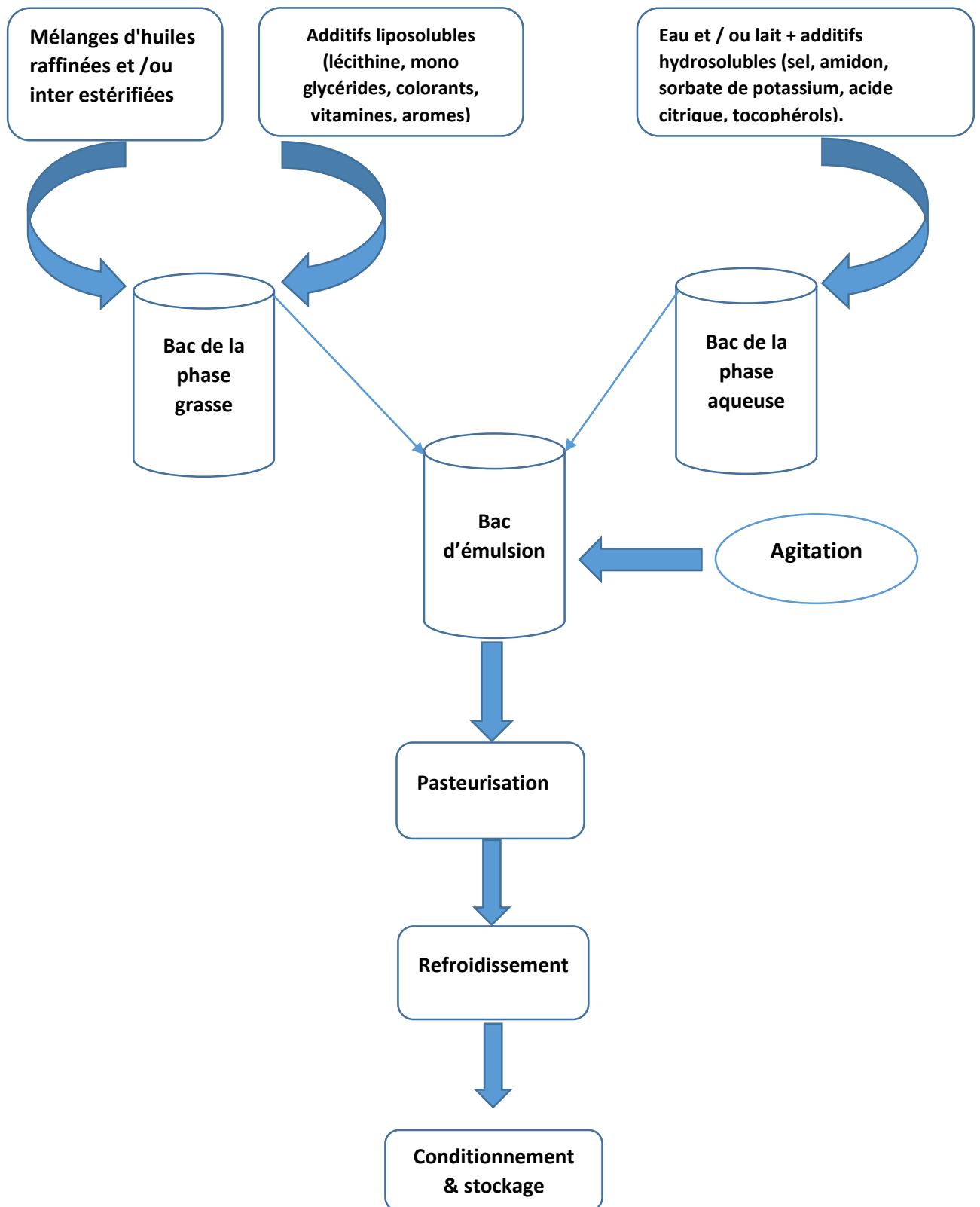


Figure 4: Diagramme de fabrication de la margarine.( Cossut et al.,2002)

## II.7. Facteurs d'altération de la margarine

Les facteurs d'altération de la margarine peuvent être d'ordre physique ou chimique et surtout bactériologique. La margarine, étant formée d'un taux élevé de matière grasse, est souvent exposée aux risques d'oxydation. Cette dernière est à l'origine de l'odeur de rance, du goût désagréable, du changement de couleur ainsi que des pertes d'activités vitaminiques et de la valeur nutritive.

Selon **(Clements et Decker, 2000)**, L'oxydation est due à plusieurs facteurs :

- ❖ La lumière, en particulier les rayons UV qui exercent une action catalytique.
- ❖ La température élevée et la durée de stockage.
- ❖ L'exposition de la margarine à l'oxygène atmosphérique.
- ❖ La présence de certains agents pro-oxydants comme les métaux (Fe, Cu, Mn,...) favorise la réaction d'oxydation.

L'altération microbiologique est généralement causée par introduction de l'atmosphère ambiante, par l'appareillage de traitement insuffisamment stérilisé, les emballages, les contacts humains, les insectes et les constituants de la phase aqueuse (eau, lait) **(Himed, 2011)**.

## II.8. L'oxydation

### II.8.1. Oxydation de la margarine

La cause majeure de dégradation de la margarine lors de sa fabrication et aussi pendant sa conservation est l'oxydation des lipides, elle affecte les acides gras insaturés présents. Les recommandations nutritionnelles conseillent d'augmenter la part relative des acides gras polyinsaturés (AGPI) dans la ration en raison notamment de leur rôle dans la prévention de pathologies du système cardiovasculaire et de l'obésité **(Martin et Andriantsitohaina, 2002)**. Cette oxydation est généralement influencée par les antioxydants, ces derniers sont à proprement parler des inhibiteurs de l'oxydation **(Holasova et al., 1993)**.

L'oxydation des lipides peut s'effectuer par différents mécanisme (**Tableau N°6**).

**Tableau 6 : Mécanismes d'oxydation des lipides. (Holasoava et al., 1993).**

Type d'oxydation	Catalyseur	Agent oxydant	Prévention
<b>Auto-oxydation</b> (lipides insaturés)	Métaux lourds, radicaux libres	Oxygène libre	Antioxydants
<b>Oxydation enzymatique</b> (lipides polyinsaturés)	L'oxygénases	Oxygène triplet	Inactivation des enzymes
<b>Oxydation due à l'oxygène singulier</b> (lipides insaturés)	Molécules photosensibles	Oxygène singulier	Piégeurs d'oxygène singulier

### II.8.2. Antioxydants

Un antioxydant se définit toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, prévient ou retarde de manière significative l'oxydation de ce substrat (**Berger, 2006 ; Li et al., 2006**).

### II.8.3. Classe des antioxydants

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

#### II.8.3.1. Antioxydants naturels

##### II.8.3.1.1. Composés phénoliques

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

### II.8.3.1.2. Vitamine E

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

### II.8.3.1.3. Caroténoïdes

Les caroténoïdes se retrouvent dans les fruits et légumes colorés (**Rock et al., 1998 ; Paiva et Russell, 1999**). L'action antioxydante des caroténoïdes est basée sur la capacité à neutraliser les radicaux libres (**Sies et Stahl, 1995**). Selon leurs compositions chimiques, les caroténoïdes sont classés en deux groupes : les carotènes et les xanthophylles (**Delia et al., 2001**).

### II.8.3.2 Antioxydants synthétiques

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

# ***Partie Pratique***



## ***Matériel et Méthodes***

**III.1. Matériels utilisés pour réaliser ce mémoire**

- ✓ Balance de précision (OHAUS Pioneer)
- ✓ Centrifuge (hettichzentrifugen EBA 20) ;
- ✓ Spatule ;
- ✓ Bain marie ; RE
- ✓ Spectrophotomètre à UV (Evolution 600 UV-VIS, Thermo scientifique)
- ✓ Etuve
- ✓ Bêchers, Eprouvette graduée, Pipette graduée, Erlenmeyer
- ✓ Tubes à essais ;
- ✓ Pissette ;
- ✓ Micropipettes de 1000µl, 100µl, 50µl ;
- ✓ Plaque chauffante ;
- ✓ Agitateur ;
- ✓ Mortier ;
- ✓ Réfrigérateur et Congélateur ;
- ✓ Entonnoirs ;

**III.2. Produits chimiques**

- ✓ Méthanol, Ethanol, Eau distillée ;
- ✓ Standards (acide gallique, acide ascorbique, bêta-carotène, quercétine,)
- ✓ DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) ;
- ✓ Tampon phosphate ;
- ✓ Chlorure d'aluminium( $\text{AlCl}_3$ ) ;
- ✓ Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ;
- ✓ Ferricyanure de potassium ( $\text{K}_3\text{FeCN}_6$ ) ;
- ✓ Acide trichloracétique (TCA) ;
- ✓ Chlorure ferrique( $\text{FeCl}_3$ ) ;
- ✓ Ferrozine, Chlorure de fer ( $\text{FeCl}_2$ ).

### III.3. Matériel végétal

#### III.3.1. Cueillette des plantes

*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis* ont été récoltées dans les wilayas de Béjaia et Jijel.

Tableau 7: Caractéristiques des échantillons analysés.

Nom scientifique	Date de récolte	Lieu de récolte	Partie étudiée
<i>Eucalyptus globulus</i>	Avril 2018	Commune Derguina wilaya de BEJAIA	Feuilles
<i>Laurus nobilis</i>	Mars 2018	Ziamma mensouria wilaya de DJIJEL	Feuilles

#### III.3.2. Prétraitement des échantillons

##### III.3.2.1 Nettoyage, séchage et broyage

Les feuilles des deux plantes étudiées sont débarrassées de la poussière déposée et des autres organes (tige, portions mortes ou altérées,...etc.). Les feuilles sélectionnées sont ensuite séchées à l'air libre pendant 48h et puis sont placées à l'étuve à 40°C jusqu'à la stabilisation du poids. Les feuilles séchées ont été broyées séparément à l'aide d'un broyeur électrique.

##### III.3.2.2 Tamisage et conservation

La poudre obtenue des feuilles des deux plantes étudiées a été tamisée à l'aide d'un tamiseur manuelle d'une granulométrie de 0.33mm pour obtenir une poudre, Cette dernière est conservée dans des flacons en verre, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

### III.4. Les tests effectués sur les deux plantes étudiés

#### III.4. 1. Taux d'humidité

Le taux d'humidité des feuilles fraîches du *Laurus nobilis* et *Eucalyptus globulus* ont été mesurés par humidimètre. Un gramme des feuilles fraîches a été introduit à l'intérieur du humidimètre, la teneur (% d'humidité) est donnée directement une fois le poids de l'échantillon est stabilisé.



### III.4. 2. Dosage des caroténoïdes

Les teneurs en caroténoïdes des trois plantes étudiées ont été déterminées avec la méthode décrite par **Saa-kiss et al.(2005)**.

#### a. Mode opératoire

1 g de poudre de chaque plante a été mis dans un bécher de 50 ml couvert d'aluminium, et extrait avec un volume total de 20 ml du mélange n-hexane: acetone: ethanol (2:1:1) (v/v/v) à l'abri de la lumière, le mélange a été agité pendant 10 min. Le surnageant a été récupéré dans un bécher de 50 ml et la procédure a été répétée deux fois. Les extraits hexaniques ont été rassemblés et mis dans une ampoule à décanter. Un volume d'hydroxyde de sodium (KOH) à 10% préparé dans l'éthanol a été ajouté afin de décanter les chlorophylles (**Cui et al., 2004**), puis le mélange a été lavé avec de l'eau distillée. La couche hexanique a été récupérée, filtrée à travers un papier filtre et l'absorbance de l'extrait jaune a été déterminée à 450 nm.

Les résultats ont été exprimés en mg  $\beta$ -carotène/100 g MS, avec l'utilisation de la courbe d'étalonnage préparée avec le  $\beta$ -carotène comme standard (**AnnexeI**).

### III.4. 3. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques

L'optimisation des conditions optimales d'extraction de la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits des deux plantes, un plan d'expérience de 15 tests est réalisé à l'aide d'un logiciel statgraphics centrion XVI (stat point technologies, USA). L'optimisation des conditions d'extraction est réalisée avec la méthode de surface de réponse (RSM) et le plan mathématique de Box-Behnken.

**Tableau 8:** le plan d'expérience de 15 tests utilisés pour l'extraction de composés bioactifs des deux plantes étudiées

Tests	Concentration (g/15mL)	Solvant (EtOH%)	Temps (min)
<b>1</b>	1	0	75
<b>2</b>	2	50	120
<b>3</b>	1	100	75
<b>4</b>	2	100	75
<b>5</b>	1,5	0	30
<b>6<sup>a</sup></b>	<b>1,5</b>	<b>50</b>	<b>75</b>
<b>7</b>	1,5	100	120
<b>8<sup>a</sup></b>	<b>1,5</b>	<b>50</b>	<b>75</b>
<b>9</b>	1	50	30
<b>10</b>	2	0	75
<b>11</b>	1,5	100	30
<b>12</b>	2	50	30
<b>13</b>	1,5	0	120
<b>14</b>	1	50	120
<b>15<sup>a</sup></b>	<b>1,5</b>	<b>50</b>	<b>75</b>

**a** : points centraux.

La méthodologie de la réponse multi surface nous permet d'étudier la relation des réponses et les conditions d'extraction. Les trois variables indépendantes sont choisies afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols totaux et l'activité antioxydants. Ces paramètres sont le temps d'extraction (30-120 min), composition du solvant (0-100%) et le ratio (1-2 gramme) les 15 combinaisons ont été réalisées en respectant les conditions

d'extraction. Par la suite les extraits sont centrifugés à 5000 rpm pendant 10 min et filtré, est mise dans des tubes à essais puis conserver au réfrigérateur pour des analyses ultérieurs.

Les extraits optimisés obtenus ont été utilisés pour la détermination des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes, ainsi que différentes activités antioxydantes sont déterminés.

L'extraction des composés phénolique à partir de *Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis* a été effectué par la méthode d'extraction solide liquide.

### III.4.4 Dosage des antioxydants

#### III.4. 4. 1. Dosage des composés phénoliques totaux

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif du Folin – Ciocalteu, le mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) sont réduit lors de l'oxydation des polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $MO_8O_{23}$ ). La coloration bleue est proportionnelle au taux de composés phénoliques (**Riberaux- Gayon, 1968**).

##### a. Mode opératoire

Les teneurs en composés phénoliques totaux des extraits des deux plantes étudiées ont été déterminées selon la méthode décrite par **Djeridane et al., (2006)** avec l'utilisation du réactif du Folin-Ciocalteu. 20  $\mu$ L de chaque extrait sont ajouté à 50  $\mu$ L du Folin-Ciocalteu et 1200  $\mu$ L d'eau distillée. Les solutions obtenues ont été mélangées à température ambiante pendant 1 min, puis 300  $\mu$ L de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) à 20% (**Annexe II**) et 380  $\mu$ L d'eau distillée ont été ajoutés. Le mélange final est homogénéisé, puis incubé pendant deux heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée à 760 nm en utilisant un spectrophotomètre (Evolution 600 UV-VIS, Thermo scientifique)

Une courbe d'étalonnage a été préparée avec l'acide gallique (**Annexe I**) afin de déterminer les teneurs en composés phénoliques dans les extraits. Les résultats sont exprimés en mg équivalents d'acide gallique/g de matière sèche (mg EAG/g MS).

#### III.4. 4.2. Dosages des flavonoïdes

La formation des complexes jaunâtres lors de l'ajout de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) est due à la fixation des ions d'aluminium ( $Al^{3+}$ ) sur les atomes d'oxygène présents sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (**Riberau-Gayon, 1968**).

### a. Mode opératoire

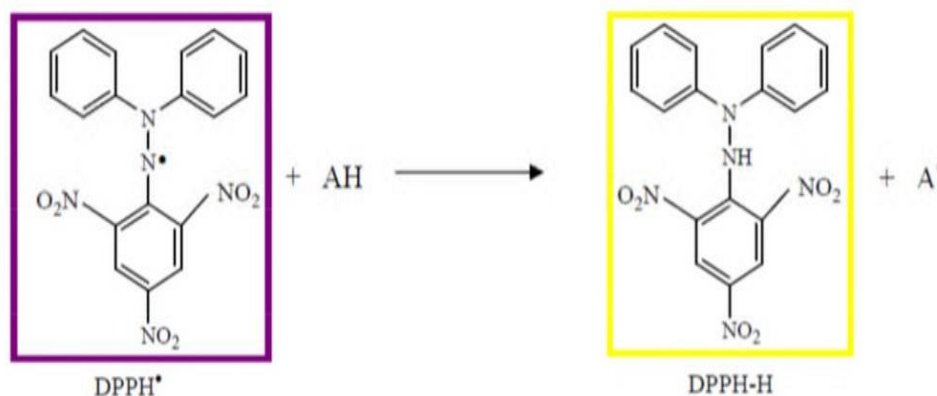
Le dosage des flavonoïdes est effectué par les extraits des feuilles des plantes obtenus dans les conditions optimales selon la méthode décrite **Djeridane et al.,(2006)**. Avec quelques modifications. Initialement 1000  $\mu\text{L}$  d'extrait ont été mélangés avec 1000  $\mu\text{L}$  d'une solution  $\text{AlCl}_3$  (2%) (**Annexe II**).Le mélange est homogénéisé, puis incubé pendant 15 minutes dans l'obscurité à température ambiante. Le témoin est préparé avec 1000ul éthanol +1000ul  $\text{AlCl}_3$ , l'absorbance de tous les extraits a été mesurée au spectrophotomètre UV-visible à 430 nm.

La courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration en quercétine a été réalisée (**AnnexeI**), et les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EqQ/g MS).

### III.4.5.Détermination de l'activité antioxydants

#### III.4. 5. 1.Test de DPPH

La méthode de DPPH $\cdot$  est basée sur la mesure spectrophotométrie de changement de la concentration du radical DPPH résultant de la réaction de DPPH $\cdot$  avec un antioxydant, au cours de la réaction, les antioxydants (donneurs de H) réagissent avec le DPPH $\cdot$ , qui sera réduit au DPPH-H (2,2-diphényl-1- picrylhydrazyl) (**figure 6**). Par conséquent, la couleur de la solution change allant du violet au jaune pâle l'absorbance diminue, en passant de la forme radical DPPH à la forme DPPH-H. Le degré de décoloration indique le potentiel de l'activité antioxydant des extraits en termes de capacité de donneur d'hydrogène (**Brand-Williams et al, 1995**).



**Figure 5 : Réduction du radical DPPH par un antioxydant (Endo et al., 2006).**

### a. Mode opératoire

La méthode utilisée est celle de **Brand et al. (1995)** avec quelques modifications.

50 µL d'échantillon ont été additionnés à 1450 µL de la solution méthanolique du DPPH• (6 10<sup>-5</sup> M) (**annexe II**). 50 µL de méthanol ont été additionnés avec 1450 µL du DPPH pour la préparation du témoin, après 30 minutes d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre UV visible à 516 nm. Ainsi, L'activité antioxydant est exprimée en pourcentage d'inhibition de radical DPPH., et calculée à partir de l'équation suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{AbsTémoin} - \text{Abs échantillon})}{(\text{AbsTémoin})} * 100$$

Inhibition % : Pourcentage d'inhibition des radicaux libres.

Abs Témoin : Absorbance du Témoin.

Abs échantillon : Absorbance de la solution contenant l'échantillon.

### III.4. 5.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur nous renseigne sur la capacité des antioxydants à réduire le fer ferrique « Fe<sup>3+</sup> » du complexe ferricyanure de potassium en fer ferreux « Fe<sup>2+</sup> ». Cette réduction se traduit par une coloration bleue vert mesuré à 700 nm (**Oyaizu, 1986**).

### a. Mode opératoire

Le dosage du pouvoir réducteur est effectué selon la méthode décrite par **Oyaizu. (1986)**.

500 µl d'extrait obtenus dans les conditions optimal, 1.25 mL d'un tampon phosphate à (pH 6,6 ; 0,2 M) et 1.25 mL de ferricyanure de potassium [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>] à 1% (**Annexe II**) ont été introduits dans un tube à essai. Le mélange a été mis au bain marie à 50°C pendant 20 minutes puis 2,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 10% (**Annexe II**) ont été additionnés et mélangés. 1,25 mL du surnageant ont été prélevés, additionnés de 1,25 mL d'eau distillée et 0,25 mL de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à (0.1%) (**Annexe II**).

Le même protocole est suivi pour la préparation du témoin (500 µl de méthanol au lieu de l'extrait) enfin une lecture à 700 nm a été faite à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis

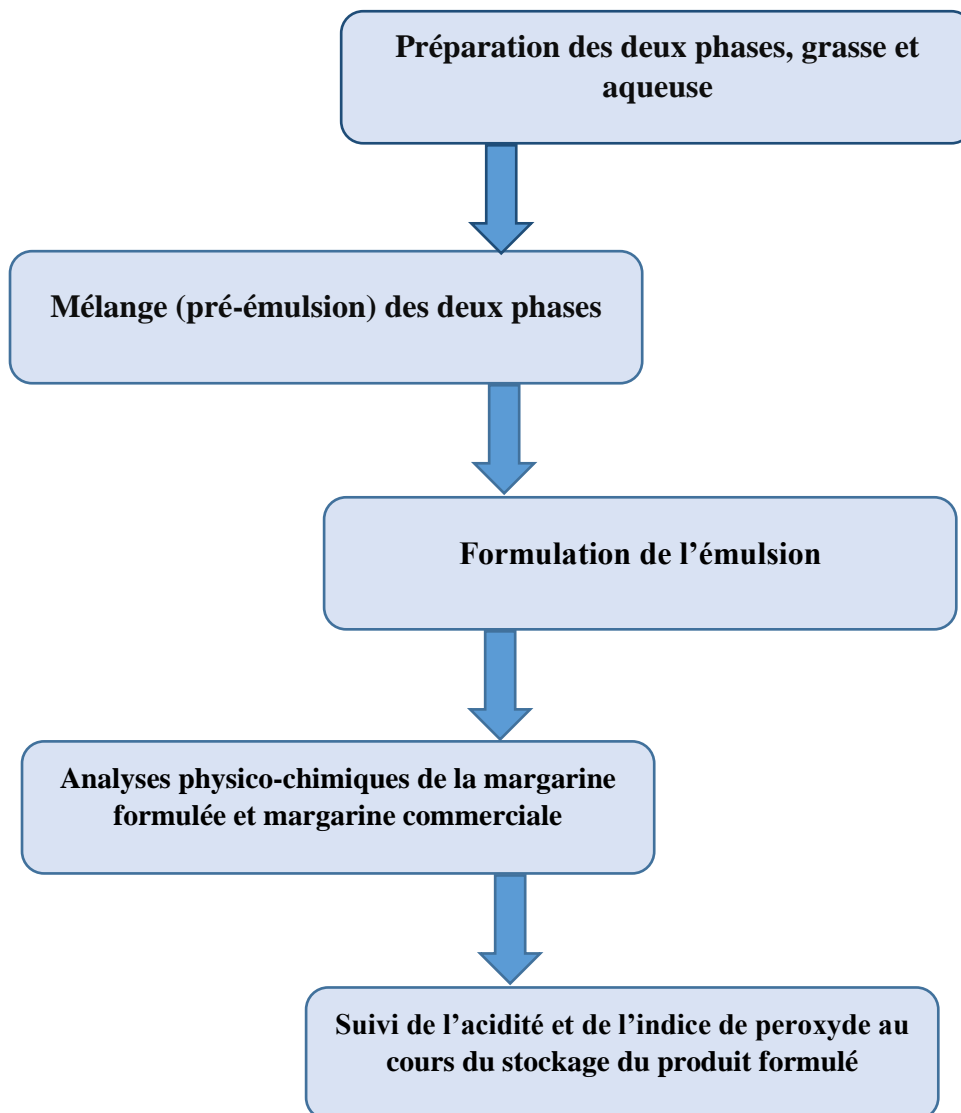
La courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration en acide ascorbique a été réalisée (**Annexe I**), et les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EqAA/g MS).

### **III.5. Elaboration industrielle de la margarine au niveau de l'unité COGB**

L'objectif de cette étude consiste à élaborer deux margarines, la première enrichie avec *Laurus nobilis* et la seconde avec l'*Eucalyptus globulus* ensuite les comparés à une margarine commerciale MC« labelle ». (**Annexe III**).

Cette présente étude effectuée au complexe COGB Labelle vise à formuler la margarine à l'échelle traditionnelle. Elle sert essentiellement à cuire et rôtir des aliments. Elle est préparée à base d'huile de soja raffiné. Après élaboration de la margarine au niveau du laboratoire, nous avons procédé aux différents tests physico-chimiques au sein du même laboratoire afin de vérifier leurs conformités aux normes. Le produit élaboré a été également comparé à une margarine commerciale.

L'ensemble des étapes d'élaboration et d'analyse du produit sont résumées dans la (**figure 6**).



*Figure 6 : schéma général de la méthodologie de travail à CO.GB*

### III.5.1. Préparation de la phase grasse

La phase grasse est constituée du mélange d'huiles végétales et des additifs liposolubles suivants : émulsifiants (mono et di glycérides et lécithine de soja), un colorant naturel ( $\beta$ carotène) et l'arôme du beurre artificiel (Di-acétyl) et de la vitamine A.

### III.5. 2. Préparation de la phase aqueuse

La phase aqueuse est constituée d'eau osmosée, et d'additifs hydrosolubles : un exhausteur de gout (NaCl), le sorbate de potassium, l'acide citrique et l'extrait sec des deux plantes étudiés.

### **III.5. 3. Formulation de l'émulsion (margarine)**

La margarine a été formulée à l'échelle laboratoire au complexe COGB Labelle Bejaia. Les étapes suivies sont :

#### **III.5. 3. 1. Préparation de l'émulsion**

Cette étape consiste à mélanger les deux phases et les malaxer pendant environ 2 minutes à l'aide d'un agitateur en hélice afin de créer l'émulsion.

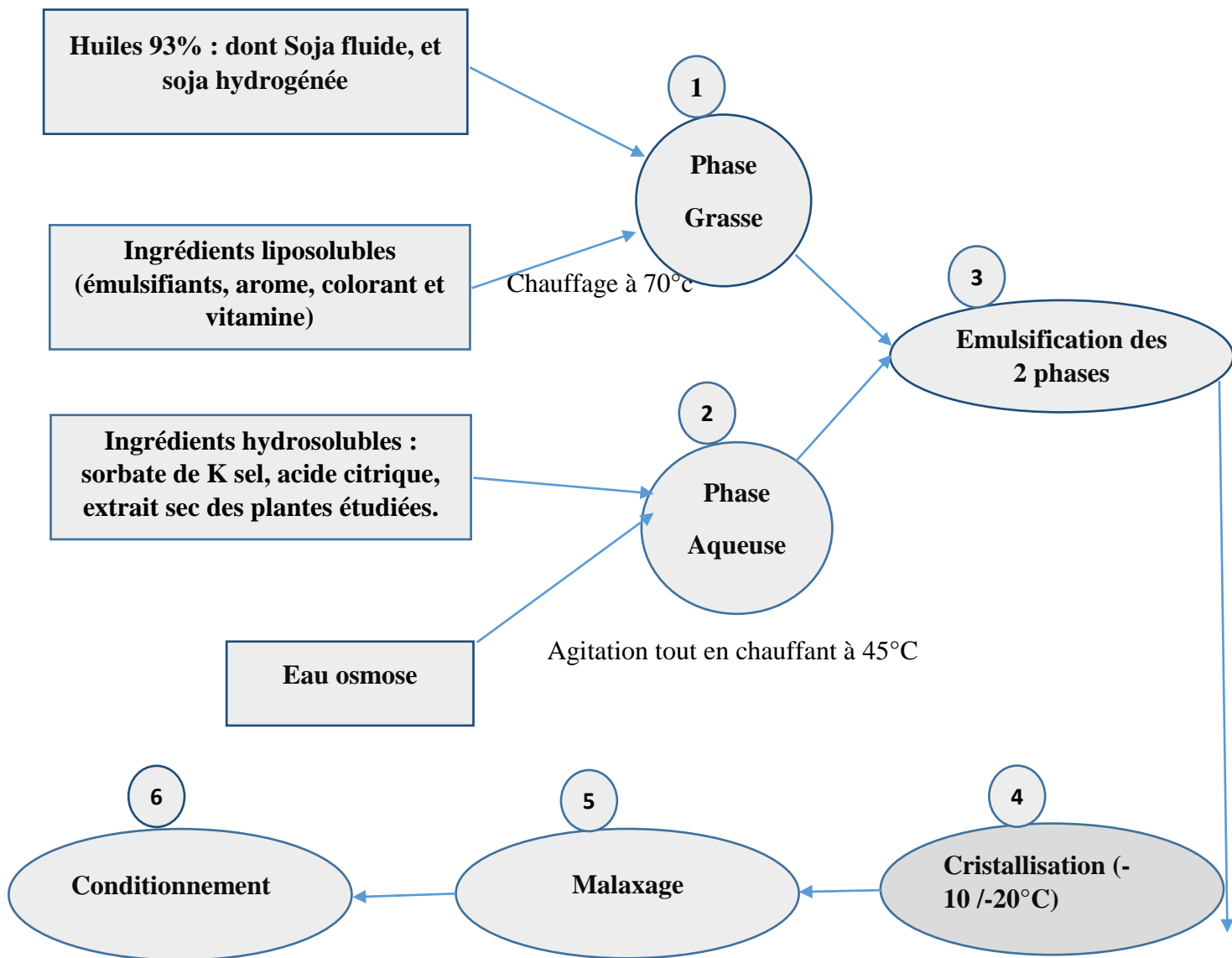
#### **III.5. 3. 2. Cristallisation et mise au repos**

Le mélange est mis au congélateur, la température est comprises entre (-10 et -20 °C), dans un plat en inox pendant 30 minutes. Ce dernier permis la cristallisation du produit. La pâte récupérée sera mise au repos pendant 15min pour la dernière étape de la cristallisation.

#### **III.5. 3. 3. Malaxage et conditionnement**

La pâte sera malaxée à l'aide d'un agitateur (2000tours/min) pour environs une trentaine de minutes. Enfin le produit fini est conditionné dans des bouteilles en plastique. Les différentes étapes de la formulation de notre margarine sont élucidées dans la (**figure 7**).





*Figure 7 : Diagramme suivi de la fabrication de la margarine enrichie avec des extraits de Laurus nobilis et l'Eucalyptus globulus obtenus dans les conditions optimales*

### III.5. 4. Méthodes d'analyses

La margarine liquide formulée comparée à celle d'une margarine commerciale a subi plusieurs analyses à savoir :

- ❖ Les analyses physicochimiques ;
- ❖ Le suivi de l'évolution du produit fini au cours du stockage (margarine formulé uniquement) ;

#### III.5. 4.1. Analyses physicochimiques

#### III.5. 4.2. Détermination du pH de la phase aqueuse

C'est la mesure du potentiel d'hydrogène entre les deux électrodes. Cette dernière est effectuée à l'aide d'un pH-mètre muni d'une électrode en verre.

##### a. Mode opératoire

La méthode utilisée pour la détermination du pH de la phase aqueuse est celle **d'ISO7238 (2004)**. Etalonner le pH mètre avec une solution tampon à pH=7, ensuite introduire l'électrode dans la phase aqueuse à une température de 20 °C et enfin lire la valeur numérique sur le pH mètre.

#### III.5. 4.3. Le taux d'humidité

La détermination de la teneur en eau consiste en une évaporation de l'eau ainsi que les matières volatiles de la margarine sous l'effet de la chaleur (plaque chauffante).

##### a. Mode opératoire

La méthode de détermination de l'humidité de la margarine utilisée est celle **d'ISO 662 (1998)**. Peser le bécher avec la prise d'essai (p1) puis déposer le bécher contenant la margarine sur une plaque chauffante, tout en agitant soigneusement et enfin peser le bécher après refroidissement, soit un poids (p2).

##### b. Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée par la formule suivante :

$$H (\%) = \left( \frac{P1 - P2}{P1} \right) \times 100 - 1.5$$

Dont :

H% : Humidité exprimée en pourcentage massique ;

P1: poids du bêcher contenant l'échantillon avant chauffage ;

P2: poids du bêcher contenant l'échantillon après chauffage ;

1.5 : rapport entre le test à froid et à chaud.

#### III.5. 4.4. Teneur en sel (chlorure de sodium)

Le principe de dosage des sels consiste en un titrage des chlorures avec des nitrates d'argent (0,171N) en présence de chlorure de chromate de potassium comme indicateur coloré.

La méthode suivie pour la détermination du taux de sel est celle décrite dans **ISO 15648 (2004)**.

Peser 5g de margarine dans un Erlenmeyer et ajouter 100 ml d'eau distillée préalablement chauffée en agitant jusqu'à la dissolution de la margarine, laisser refroidir puis ajouter quelques gouttes de chromates de potassium, Titrer avec la solution de Nitrate d'argent jusqu'au virage de la couleur vers le rouge brique.

##### a. Expression des résultats

La teneur en sel est déterminée par la formule suivante :

Dont :

$$\text{NaCl (\%)} = \frac{V \times 58.5 \times N}{10P}$$

V : Le volume correspondant à la chute de la burette ;

58.5 : La masse molaire du Na Cl (g/mol) ;

N : La normalité de l'AgNO<sub>3</sub> (0.0365) ;

P : La prise d'essai ;

#### III.5. 4.5. Détermination du point de fusion

Il est basé sur le passage de la matière grasse de l'état solide à l'état liquide sous l'effet de la chaleur, à une certaine température (maximum 37°C pour une margarine solide).

### a. Mode opératoire

Selon **NA 2208 (1991)**, la méthode conçue pour la détermination du point de fusion est : Introduire la margarine à une hauteur de 1cm dans un tube capillaire en verre puis le mettre au réfrigérateur pendant 8 à 10 minutes en fixant le tube capillaire et le thermomètre avec une pince, cette dernière est suspendue sur les côtés du bécher et le tube capillaire est immergé dans l'eau, ensuite le milieu est chauffé lentement (0,5°C/min) sur une plaque chauffante, enfin noter la température à laquelle la margarine remonte sur les colonnes du tube qui correspond au point de fusion de la margarine.

### III.5. 4.6. L'indice de peroxyde

Il consiste en un traitement d'une quantité du corps gras en solution dans un mélange d'acide acétique et de chloroforme, suivie de l'addition d'une solution d'iodure de potassium (KI). En présence d'oxygène à liaison peroxyde, la solution libère de l'iode. Le titrage d'iode libéré se fait par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré.

#### a. Mode opératoire

La méthode employée pour déterminer l'indice de peroxyde de notre margarine liquide est celui de **l'ISO 3960 (2007)**. 2g de margarine ont été pesés dans un ballon séché et à l'abri de l'air, ajouter un mélange de chloroforme/acide acétique (10/15, V/V), puis l'iodure de potassium saturé (KI)(**Annexe II**), agiter le mélange pendant une minute et à mettre à l'abri de la lumière pendant 5 minutes, ensuite, ajouter 75 ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon (indicateur coloré), titrer à l'aide de la solution de thiosulfate de sodium à 0,01N et enfin lire sur la burette le niveau de la chute correspondante.

#### b. Expression des résultats

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

$$IP \text{ (meq O}_2\text{/kg)} = N \times (V1 - V0) \times 1000/P$$

Dont :

IP : Indice de peroxyde exprimé en milliéquivalent gramme par kilogramme ;

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

V1 : volume de thiosulfate de sodium pour l'échantillon en ml ;

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium 0.002N ;

P : prise d'essai en gramme ;

### III.5. 4.7. Acidité

Il repose sur le traitement d'une prise d'essai de la margarine par un mélange d'éthanol et d'oxyde diéthylique, puis titrage d'acides gras libres présents à l'aide d'une solution éthanoïque d'hydroxyde de sodium.

#### a. Mode opératoire

Les étapes de détermination de l'acidité de la margarine suivant le protocole cité par **ISO 660(2009)**. Peser 10g de margarine dans un bécher puis ajouter 50 ml d'éthanol neutralisé ainsi que quelques gouttes d'indicateur coloré (phénolphtaléine) puis titrer avec NaOH jusqu'à apparition d'une coloration rose pale.

#### b. Expression des résultats

L'acidité du corps gras (margarine) est déterminée comme suit :

Où :

$$A (\%) = \frac{N \times V \times M}{10P}$$

A : acidité exprimée en %.

N : normalité du NaOH utilisé (0.1 N).

V (ml) : volume du NaOH utilisé.

M : poids moléculaire de l'acide oléique (282 g/mole).

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

***Résultats et***



***Discussion***

## IV.1. Résultats d'optimisation de Laurier et d'Eucalyptus

### IV.1.1. Laurier (*Laurus nobilis*)

#### IV.1.1.1. Optimisation de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Laurus nobilis*

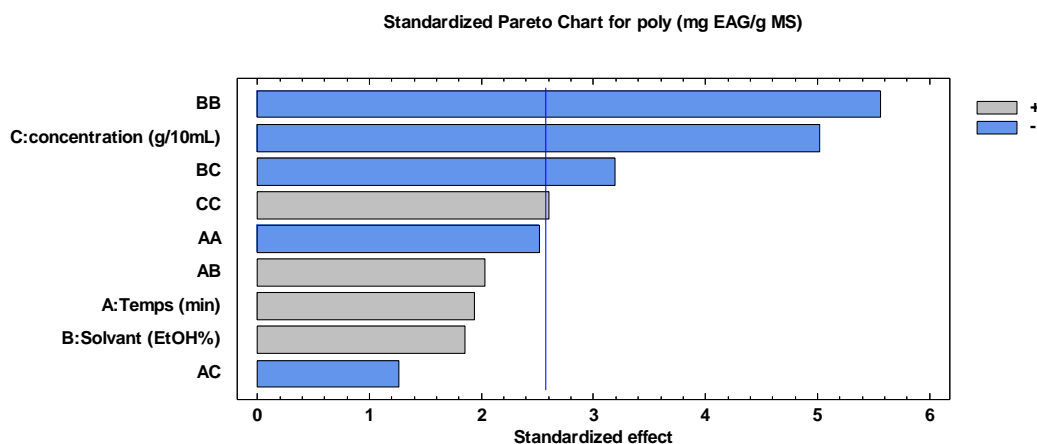
La teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Laurus nobilis* est influencée par l'effet quadratique du solvant (EtOH %), et le ratio. Par contre, l'effet quadratique du ratio montre une très faible influence.

La plus forte teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Laurus nobilis* est obtenue à un temps d'extraction de 120 minute, à une concentration de solvant (EtOH %) de 50% et un ratio de 1, avec une valeur de 85,59 mg EAG/g MS. Par contre, la plus faible teneur en polyphénols totaux est obtenue avec les conditions suivantes : un temps d'extraction de 120 min, 0% EtOH et un ratio de 1,5 avec une valeur de 29,14 mg EAG/g MS (**Tableau 9**). Statistiquement, seulement la variable ratio (concentration de la poudre) qui possède un effet significatif négatif puissant sur la teneur en polyphénols totaux. Alors que, les deux variables le temps d'extraction et la concentration du solvant (EtOH %) n'ont pas d'effet sur la teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Laurus nobilis*. Ainsi il existe une interaction significative négative entre le ratio et le solvant (**Figure 8**).

**Tableau 9** : Plan d'expérience et résultats de réponses étudiées pour l'extrait de *Laurus nobilis*

Tests	Temps (min)	EtOH (%)	Ratio (poudre/solvant) (g/15mL)	TPT (mg EAG/g MS)	DPPH (%)
1	75	0	1	53.94	<b>62.96</b>
2	120	50	2	57.42	82.05
3	75	100	1	75.61	78.99
4	75	100	2	38.37	80.2
5	30	0	1.5	39.81	77.07
<b>6<sup>a</sup></b>	75	50	1.5	61.16	82.69
7	120	100	1.5	51.91	79.42
<b>8<sup>a</sup></b>	75	50	1.5	68.61	86.11
9	30	50	1	63.76	78.56
10	75	0	2	52.88	85.19
11	30	100	1.5	39.56	<b>87.46</b>
12	30	50	2	49.92	<b>87.75</b>
13	120	0	1.5	<b>29.14</b>	78.77
14	120	50	1	<b>85.59</b>	79.99
<b>15<sup>a</sup></b>	75	50	1.5	61.96	83.62

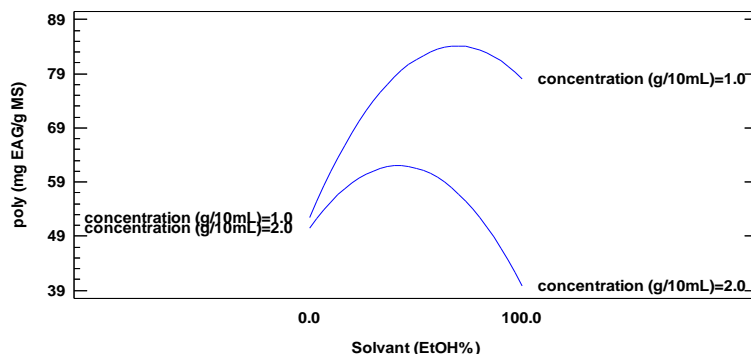
a: points centraux



**Figure 8** : L'étude des effets des trois paramètres sur la teneur en polyphénols de *Laurus nobilis* (standardized pareto chart for poly mg EAG / g MS).

En effet, lorsque le ratio est de 1 l'augmentation de la concentration du solvant de 0 à 70% (EtOH) environ permet d'avoir la meilleure teneur en polyphénols, au-delà de ce pourcentage la teneur en polyphénols totaux diminue. Par contre, lorsque le ratio est de 2 on constate que la teneur en polyphénols totaux est inférieure à celle obtenue dans le cas du ratio 1g. A environ 50% en éthanol la teneur en polyphénols est maximale, au-delà de ce pourcentage la teneur en polyphénols diminue jusqu'à atteindre une valeur de 39 mg EAG/g MS à 100% en éthanol (**Figure 9**).

Le model ( $R^2 = 94,94\%$ ) propose les conditions optimales suivantes : un temps d'extraction de 106,5 min, un pourcentage en éthanol de 76% et un ratio de 1 afin d'optimiser la teneur en polyphénols totaux à une valeur de 87,51 mg EAG/g MS.



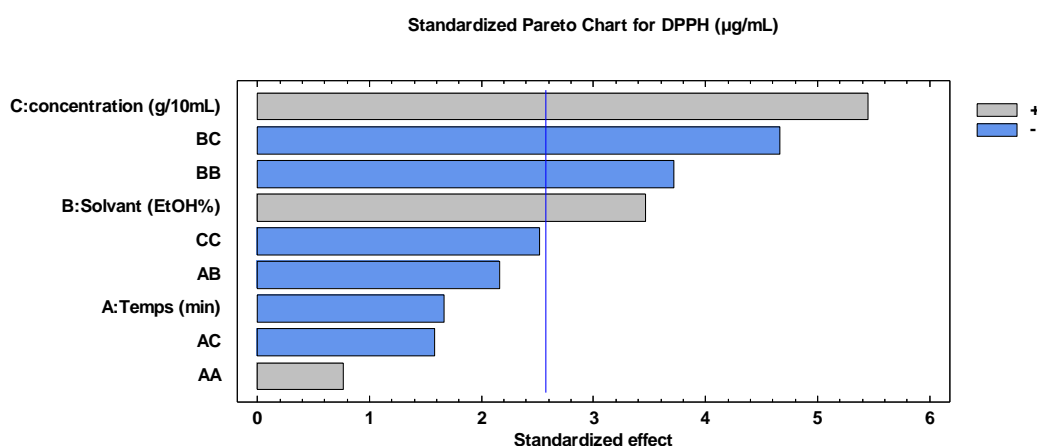
**Figure 9** : Effet de l'interaction entre le solvant et le ratio sur la teneur en polyphénols totaux de l'extrait de *Laurus nobilis*.



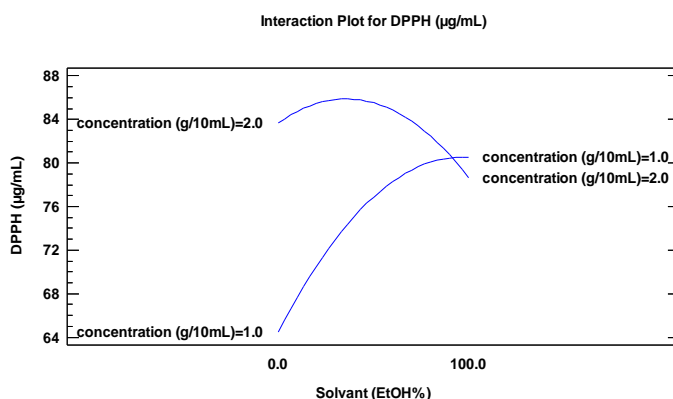
La teneur en composées phénoliques obtenus dans cette étude est de  $83,26 \pm 5,30$  mg EAG/g MS. Cette teneur est beaucoup plus importante que celle trouvée par **Diana et al. (2013)** qui ont rapporté dans leurs études une teneur de polyphénols totaux de *Laurus nobilis* de  $3.52 \pm 0.52$  à  $17.32 \pm 1.52$  mg EAG/g MS.

La différence des résultats pourrait être expliquée par la méthode d'extraction utilisée (ultrason bath model 2510 BRANSON), la concentration d'éthanol 35% et le temps d'extraction 40 minutes.

De plus **Aysegu et Esra (2008)** ont trouvé une teneur en composées phénoliques de  $34.05 \pm 1.27$  mg EAG/g MS, la méthode de préparation de leurs extraits est comme suite : 0.5g/ 10ml, une heure du temps d'extraction et le solvant utilisé c'est le méthanol. Ces résultats sont inférieurs à ceux trouvés dans notre étude, la différence pourrait s'expliquer par le type du solvant utilisé dans leurs études qui permet d'extraire des composés phénoliques moyennement polaire, on peut déduire que *Laurus nobilis* est riche en composés polaires.



**Figure 10 :** Etude des effets des trois paramètres sur le pourcentage d'inhibition du radical DPPH de *Laurus nobilis* (Standardized pareto chart for DPPH  $\mu\text{g/ml}$ ).



**Figure 11 :** Effet de l'interaction entre le solvant et le ratio sur le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de l'extrait de *Laurus nobilis*.

#### IV.1.1.2. Optimisation de l'effet de piégeage du radical DPPH de l'extrait de *Laurus nobilis*

Le ratio et le solvant d'extraction possèdent un bon effet sur l'activité antioxydante estimée par le test de DPPH. Par contre, la variable temps d'extraction à une faible influence. Les plus forts effets de piégeage du radical libre DPPH sont obtenus dans les conditions de 30 minute, 50% EtOH et un ratio de 2 et à 30 minute, 100 % EtOH et un ratio de 1,5 avec un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de 87%. Alors que, le plus faible effet de piégeage du radical libre DPPH de l'extrait de *Laurus nobilis* est obtenu à 75 minute, 0% EtOH et un ratio de 1 avec un pourcentage d'inhibition de 62,96% (**Tableau 9**).

Statistiquement, la variable ratio possède le plus fort effet significatif positif sur l'activité antioxydante suivie par la variable indépendante concentration du solvant (EtOH%). Lorsque les deux variables ratio et la concentration du solvant (EtOH%) augmentent l'effet de piégeage du radical libre DPPH augmente. D'autre part, l'effet quadratique du solvant possède un effet significatif négatif sur l'activité antioxydante (**Figure 10**). Ainsi il existe une interaction entre le ratio et la concentration du solvant.

Lorsque le ratio est de 1, l'effet du piégeage du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration du solvant. Par contre lorsque le ratio est de 2, à 0 % en éthanol on obtient la plus forte activité antioxydante (85 %) en augmentant la concentration du solvant l'effet du piégeage du

radical DPPH de l'extrait de *Laurus nobilis* diminue jusqu'à atteindre une valeur de 80% voir (**Figure 11**).

L'activité de *Laurus nobilis* rapportée dans cette étude à piéger les radicaux libres DPPH est de  $69.09\% \pm 1.5$ , cette valeur est faible par rapport à celle obtenue par **Diana et al. (2013)** qui ont démontré un taux de  $90.73 \pm 49\%$ , une autre étude rapporte que la capacité de piégeage du radical libre DPPH (IC50) est de  $0.758 \pm 0.009$  ug/ml, cette dernière nous renseigne sur l'efficacité de l'extrait de *Laurus nobilis* pour inhiber le radical DPPH, plus la concentration inhibitrice est faible plus l'efficacité de l'extrait de *Laurus nobilis* est grande (**Aysegu et Esra, 2008**).

#### IV.1.1.3. Optimisation de réponse de surface multiple (interaction entre les réponses)

Au niveau du **Tableau 11** sont regroupés les résultats prédits et les résultats expérimentaux des réponses étudiées obtenus dans les conditions optimales d'extraction de l'extrait de *Laurus nobilis* par la méthode conventionnelle qui sont : un temps d'extraction de 120 min, un pourcentage en éthanol de 80% et un ratio de 1 (**Tableau 10**). Le modèle propose un facteur de désirabilité de 0,83% avec une teneur en polyphénols totaux de 85,59 mg EAG/g MS et un effet de piégeage du radical libre DPPH de 80%. Les résultats expérimentaux obtenus (teneur en polyphénols et l'activité antioxydant) sont proches à ceux prédits par le logiciel.

**Tableau 10** : les conditions optimales d'extraction de *Laurus nobilis* par la méthode conventionnelle.

Variables	Optimum
Temps (min)	120.0
Solvant (Et OH%)	79.7318
Concentration (g/15 ml)	1.01896

**Tableau 11** : Résultats prédits et expérimentaux de la teneur en polyphénols totaux et le pourcentage d'inhibition du radical libre de *Laurus nobilis*.

Réponses	Optimum prédites par le logiciel	Optimum expérimental
Poly (mg EAG/g MS)	85.59	84.67
DPPH (%)	80.183	69.09

#### IV.1.2. Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*)

##### IV.2.1.1. Optimisation de la teneur en polyphénols totaux d'*Eucalyptus globulus*.

Les trois variables indépendantes : le temps d'extraction, le pourcentage en éthanol (EtOH%) et le ratio ont une faible influence sur la teneur en polyphénols totaux de l'extrait d'*Eucalyptus globulus* obtenu par la méthode conventionnelle. La plus forte teneur en polyphénols totaux de l'extrait d'*Eucalyptus globulus* est obtenue dans les conditions d'extraction suivantes : un temps d'extraction de 75 min, une concentration de solvant de 100% et un ratio de 2, avec une teneur de 105,27 mg EAG/g MS. Par contre, la plus faible teneur en polyphénols totaux est obtenue avec un temps d'extraction de 30 min, 100% d'éthanol et un ratio de 1,5 avec une teneur de 30,61 mg EAG/g MS (**Tableau 12**).

L'étude statistique montre que les trois variables indépendantes étudiées (temps d'extraction, concentration en solvant et le ratio) n'ont aucun effet significatif sur la teneur en polyphénols totaux de l'extrait d'*Eucalyptus globulus* (**Figure 12**). Les conditions optimales proposées par le modèle ( $R^2 = 75,25\%$ ) sont de 77 min, 17 % en éthanol et un ratio de 1, afin d'optimiser la teneur en polyphénols à une teneur de 103,63 mg EAG/g MS.

Tableau 12 : Plan d'expérience et résultats de réponses étudiées pour l'extrait d'*Eucalyptus globulus*.

Tests	Temps (min)	% EtOH	Ratio (poudre/solvant) (g/15ml)	TPT (mg EAG/g MS)	%DPPH
1	75	0	1	80.49	72.63
2	120	50	2	82.96	65.47
3	75	100	1	42.76	62.16
4	75	100	2	105.27	55.13
5	30	0	1.5	82.16	58.79
6 <sup>a</sup>	75	50	1.5	91.26	80.56
7	120	100	1.5	35.06	61.74
8 <sup>a</sup>	75	50	1.5	94.06	82.74
9	30	50	1	84.31	81.7
10	75	0	2	62.03	80.66
11	30	100	1.5	30.61	82.48
12	30	50	2	75.53	79.47
13	120	0	1.5	77.11	78.9
14	120	50	1	93.69	60.24
15 <sup>a</sup>	75	50	1.5	91.51	83.51

a: points centraux

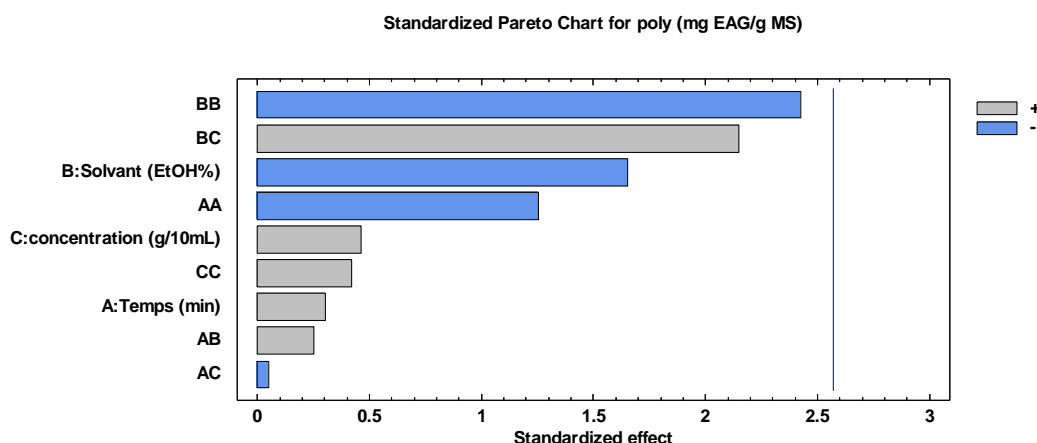
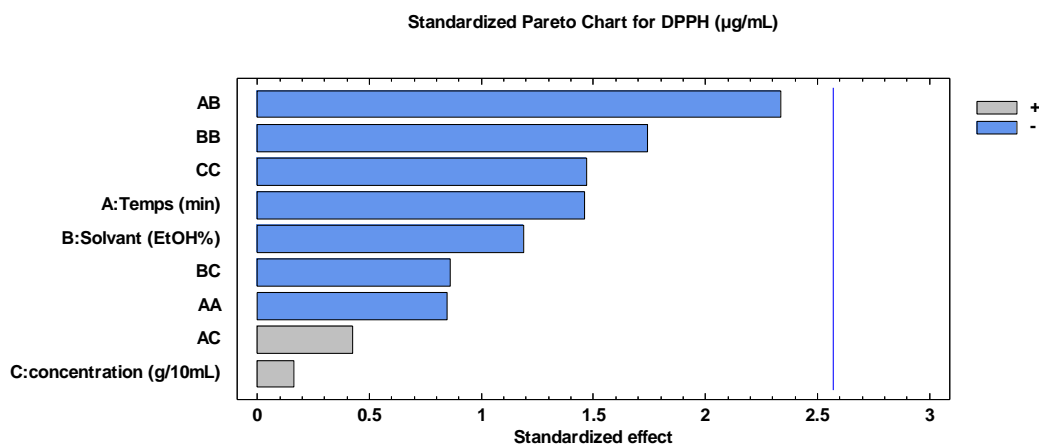


Figure 12 : Etude des effets des trois paramètres sur la teneur en polyphénols d'*Eucalyptus globulus* (standardized pareto chart for poly mg EAG / g MS).

La teneur en composées phénoliques obtenus dans cette étude est de  $83.26 \pm 5.30$  mg EAG/ g MS, Or que **Vazquez et al.(2008)** ont rapporté que la teneur en composées phénoliques d' *Eucalyptus globulus* de la région d'Espagne est de 11.9 ; 13.3 ; 18.1 (g EAG / 100g MS) en utilisant les solvants éthanol, méthanol et eau respectivement.

La différence des teneurs en composées phénoliques peuvent être expliqué par la région et la période de récolte de la plante.



**Figure 13 :** Etude des effets des trois paramètres sur le pourcentage d'inhibition du radical DPPH de *L'Eucalyptus globulus* (Standardized pareto chart for DPPH  $\mu\text{g/ml}$ ).

#### IV.1.2.2. Optimisation de l'effet de piégeage du radical libre DPPH de l'extrait d'Eucalyptus

Le temps d'extraction, la concentration du solvant (EtOH%) et le ratio montrent une faible influence sur l'effet de piégeage du radical libre DPPH des extraits d'*Eucalyptus globulus* obtenus avec la méthode conventionnelle. Le plus fort effet de piégeage du radical libre DPPH est obtenu à 75 min, 50% EtOH et un ratio de 1,5 avec un pourcentage d'inhibition de 83,51%. Par contre, le plus faible effet de piégeage du radical libre DPPH est obtenu à 75 min, 100% éthanol et un ratio de 2, avec un pourcentage d'inhibition de 55,13% (**Tableau 12**).

Statistiquement, les trois variables indépendantes : temps d'extraction, concentration du solvant (% EtOH) et le ratio ne montrent aucun effet significatif sur l'activité antioxydante de l'extrait d'*Eucalyptus globulus* estimée avec le test DPPH (**Figure 13**). Le modèle ( $R^2 = 75\%$ ) propose un temps d'extraction de 30 min, 73% EtOH et un ratio de 1,38 pour optimiser l'effet de piégeage du radical libre DPPH avec un pourcentage d'inhibition de 84,61%.

L'activité d'*Eucalyptus globulus* rapportée dans cette étude à piéger les radicaux libres DPPH est de  $71.26\% \pm 1.63$ . Une autre étude rapporte que la capacité de piégeage du radical libre DPPH est de 483, 490 et 920 (mg/ml) pour les différents solvants utilisés éthanol, méthanol et eau respectivement. Cette dernière nous renseigne sur l'efficacité de l'extrait d'*Eucalyptus globulus*

pour inhibé le radical DPPH, plus la concentration inhibitrice est grande plus l'efficacité de l'extrait est faible (Vazquez et al.2008).

#### IV.1.2.3. Optimisation de réponse de surface multiple des extraits d'*Eucalyptus globulus*

Au niveau du **Tableau 14** sont regroupés les résultats prédits et les résultats expérimentaux des réponses étudiées obtenus dans les conditions optimales d'extraction de l'extrait d'*Eucalyptus globulus* par la méthode conventionnelle qui sont : un temps d'extraction de 70 min, un pourcentage en éthanol de 40% et un ratio de 1.5 (**Tableau 13**). Le model propose un facteur de désirabilité de 0,90 % avec une teneur en polyphénols totaux de 93.24 mg EAG/g MS et un effet de piégeage du radical libre DPPH de 82.92%. Les résultats expérimentaux obtenus (teneur en polyphénols et l'activité antioxydante) sont proches à ceux prédits par le logiciel.

**Tableau 13** : les conditions optimales d'extraction de *L'Eucalyptus globulus* par la méthode conventionnelle.

Variables	Optimum
Temps (min)	70.9669
Solvant (Et OH%)	39.9996
Concentration (g/15 ml)	1.53429

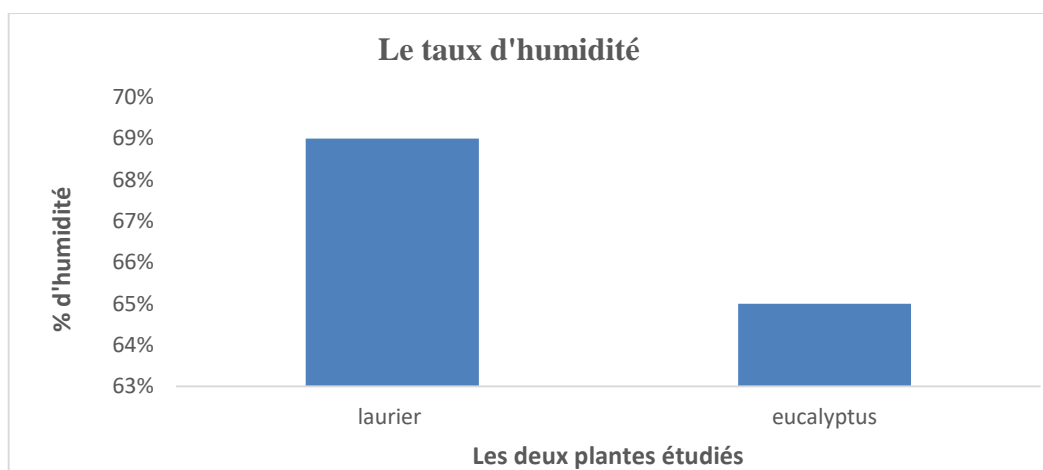
**Tableau 14** : Résultats prédits et expérimentaux de la teneur en polyphénols totaux et le pourcentage d'inhibition du radical libre de *L'Eucalyptus globulus*.

Réponses	Optimum prédites par le logiciel	Optimum expérimental
Poly (mg EAG/g MS)	93.4258	83.26
DPPH (%)	82.9227	71.26

## IV.2. Le taux d'humidité

Le test d'humidité est réalisé dans le but d'estimer la teneur en eau des feuilles des deux plantes médicinales *Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*.

Les résultats du taux d'humidité des deux plantes sont regroupés dans la figure suivante :



**Figure 14** : Le taux d'humidité des feuilles de *Laurus nobilis* et *L'Eucalyptus globulus*.

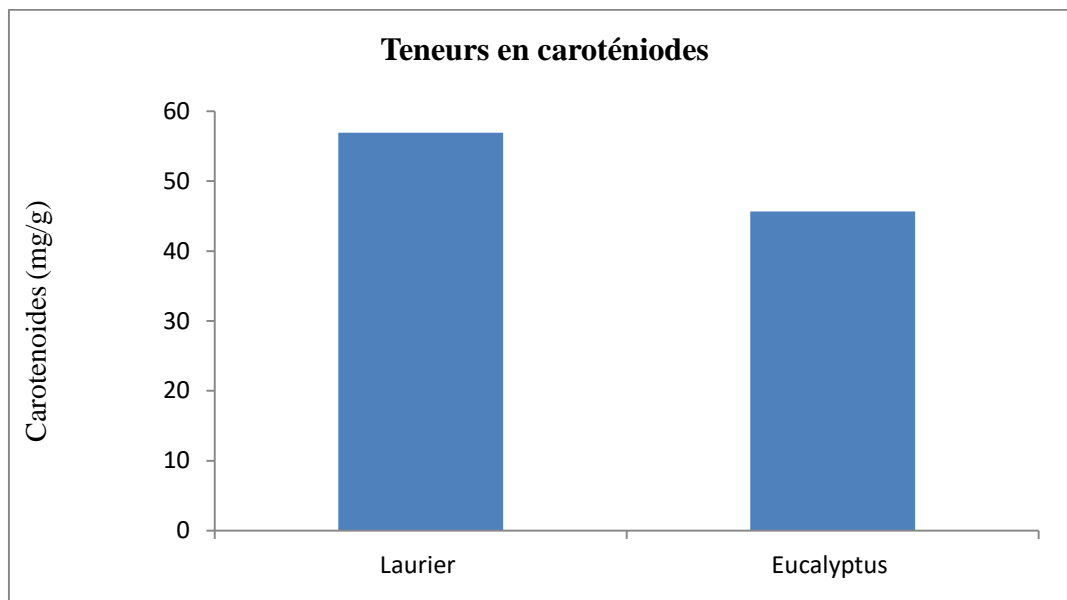
Le taux d'humidité des feuilles de *Laurus nobilis* et *L'Eucalyptus globulus* sont de 69% et 65% respectivement.

Le séchage des échantillons aussitôt après leur récolte est une étape très importante qui sert à éliminer l'eau libre afin d'assurer leur conservation dans des conditions favorables. En effet, le séchage immédiat du matériel végétal permet de garantir une bonne conservation des échantillons pendant un certain temps sans modification de leurs paramètres physicochimiques. (**Adrian et al, 1998; Nicolas et Billaud, 2006; Ribéreau-Gayon, 1968; Wichtl et Anton, 2003**). Le choix de la température 40 °C pour le séchage dans la présente étude est tiré de la littérature (**Kablan et al, 2008**). En effet, les températures très élevées peuvent engendrer la dégradation de substances thermolabiles telles que les polyphénols et les vitamines (**Wichtl et Anton, 2003**). Le temps de séchage des échantillons étudiés est de cinq jours pour les feuilles de *Laurus nobilis*, et de deux jours pour les feuilles d'*Eucalyptus globulus*.



### IV.3. Teneur en caroténoïdes

Les résultats des teneurs en caroténoïdes des extraits des deux plantes étudiées sont regroupés dans la **Figure 15**.



**Figure 15** : Teneurs en caroténoïdes d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*.

A partir de cet histogramme, on remarque que les extraits des feuilles des deux plantes possèdent une teneur en caroténoïdes qui varie de 56.93 mg/g pour *Laurus nobilis*, et de 45.65 mg/g pour *L'Eucalyptus globulus*. La teneur en caroténoïdes de *Laurus nobilis* est légèrement supérieure à celle obtenue pour *L'Eucalyptus globulus*.

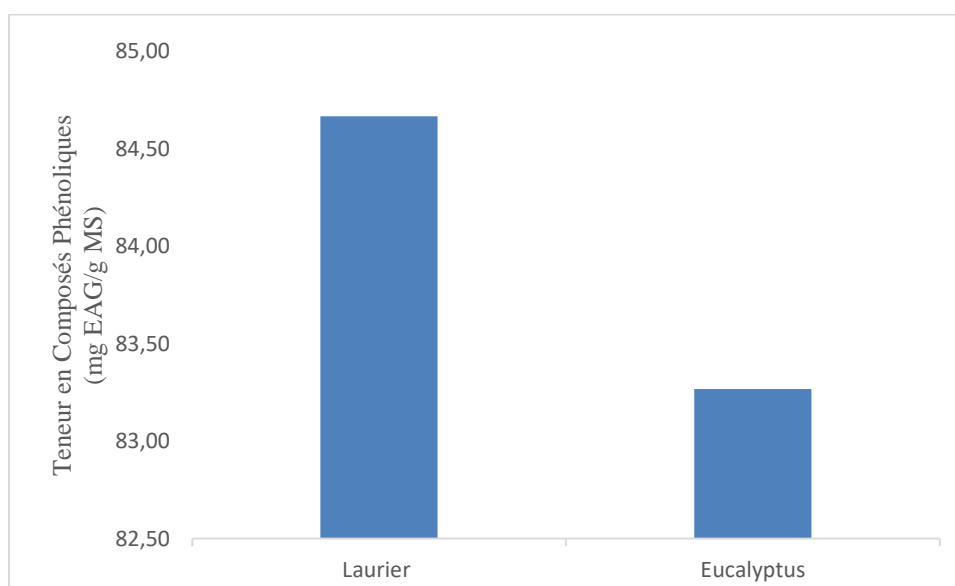
Les différences des teneurs en caroténoïdes peuvent être en relation avec les conditions climatiques et les périodes de récoltes. (Raju et al., 2007).

Aucun des travaux n'est publié sur l'aspect quantitatif des caroténoïdes des extraits des deux plantes étudiés.

### IV.4. Teneurs des antioxydants

#### IV.4.1. Teneurs en composés phénoliques

Les résultats des teneurs en composés phénoliques totaux des extraits des deux plantes étudiées sont regroupés dans la **Figure 16**.



**Figure 16 :** Teneurs en polyphénols totaux d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*.

Si on calcule le taux en phénols totaux de l'extrait brut par rapport à 1g de Poudre pour *Laurus nobilis* et 1,5g de poudre pour *Eucalyptus globulus* on obtient une concentration de  $(83,26 \pm 5,30$  mg équivalent acide gallique (EAG)/g de) pour *Eucalyptus globulus* et une concentration de  $(84,67 \pm 7,89$  mg EAG/g de poudre) pour *Laurus nobilis*.

**Kähkönen et al, (1999)** ont montré que la quantité en phénols totaux variait beaucoup dans les plantes et sont classées de 0,2 à 155,3 mg EAG/g de poudre alors, *Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis* font partie des plantes riches en polyphénols.

**Muniz et al, (2014)** ont démontré une teneur en composés phénoliques de  $10,23 \pm 1,59$  mg EAG/g MS, leurs étude est basé sur l'extraction sous chaleur-reflux dans un bain-marie maintenu à 60°C, 10g de *Laurus nobilis* et 40 ml d'éthanol (0%,35% et 70% d'éthanol) et extraits à des durées différents (0, 2, 4, 6 et 8h).

**Atoui et ses collaborateurs (2005)** ont trouvé une teneur de  $113 \pm 1,33$  mg EAG / g MS dans les feuilles d'*Eucalyptus globulus*, de plus **Amakura et al., (2009)** ont utilisé la méthode de Folin – Ciocalteu pour évaluer la quantité de polyphénols totaux dans les extraits des feuilles d'*Eucalyptus globulus*, ces auteurs ont détecté une teneur de 29 mg EAG/ g d'extrait pour le *Eucalyptus*.

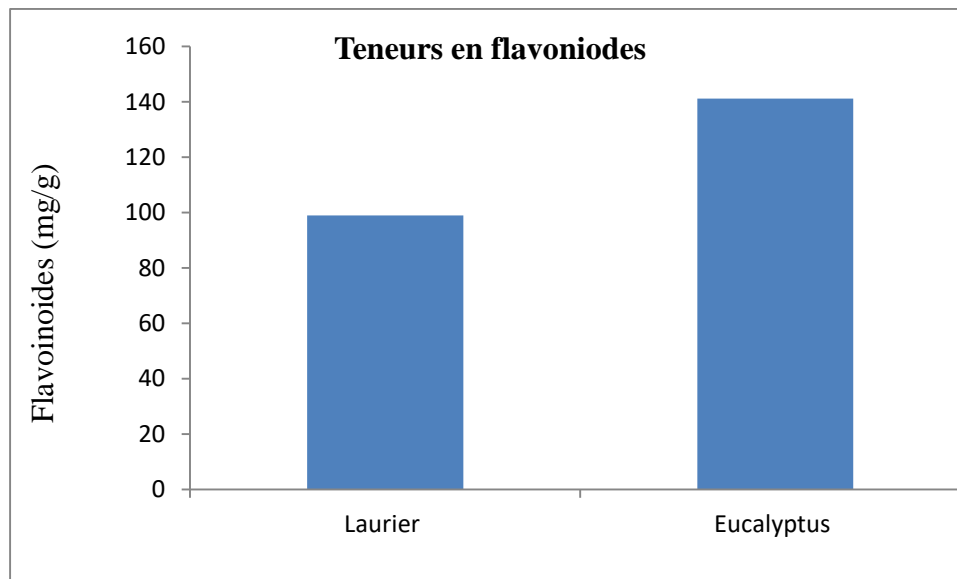
Nous faisons remarquer également que le taux en phénols totaux dans l'extrait Éthanolique est dans l'intervalle des résultats rapporté par les chercheurs cité ci-dessus.

Cela pourrait être expliqué par le fait que les composés phénoliques n'ont pas été entièrement révélés par le réactif du Folin-Ciocalteu dans l'extrait éthanolique, elles s'avèrent peu spécifique car beaucoup de composés réducteurs non phénoliques peuvent interférer, tels que les caroténoïdes et quelque sucres (Singleton et Rossi, 1965 ; Cicco et al., 2009).

Plusieurs auteurs rapportent que la teneur en polyphénols varie avec la variation de plusieurs paramètres tels que la méthode d'extraction, la nature du solvant, la situation géographique, la granulométrie, le temps et la température d'extraction (Chun et al, 2005).

#### IV. 4.2. Teneurs en flavonoïdes

Le contenu en flavonoïdes des extraits optimisés des feuilles de *Eucalyptus globulus* et de *Laurus nobilis*, exprimé en mg équivalent quercétine (EQ)/ g d'extrait, figure dans l'histogramme suivant (Figure 17).



**Figure 17** : Teneurs en flavonoïdes d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*.

Une vue d'ensemble de cette représentation graphique, nous montre que les deux plantes présentent des teneurs élevées en flavonoïdes, avec un taux légèrement supérieur pour *Eucalyptus globulus* (141,23±2 ,45mg EQ/MS) et (98,98 ±3,57 mg EQ/g MS) pour *Laurus nobilis*.

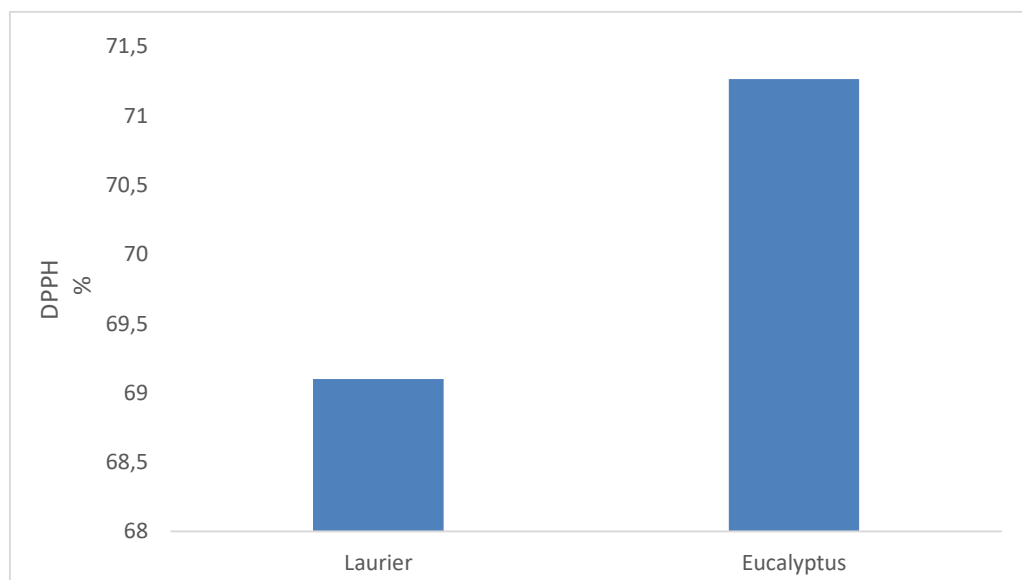
**Slimani.S, (2009)** montre que l'extrait des feuilles d'*Eucalyptus globulus* possède une teneur faible ( $1,16 \pm 0,03$  mg EQ/ g EB) qui correspond à un taux de 31 % de flavonoïdes totaux. Dans une autre étude **Mojca et al, (2005)** ont trouvé que l'extrait de *Laurus nobilis* possède une teneur de 0,0801 mg EQ/g EB.

Ces différences de résultats pourraient s'expliquer par la différence de la méthode d'extraction utilisée, la nature du solvant, l'espèce étudiée et la différence des conditions climatiques qui peuvent jouer un rôle dans la synthèse de ces métabolites secondaires (**Rodreiguez- Meizoso et al., 2006**).

#### IV.5. Activité antioxydante des extraits optimisés d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*

##### IV.5.1. Test de DPPH

Les résultats de piégeage du radical DPPH des extraits des plantes étudiées sont regroupés dans la **Figure 18**.



**Figure 18:** Piégeage du radical DPPH d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*

A partir de cette figure, nous constatons que les extraits des feuilles d'*Eucalyptus globulus* ont dévoilé une activité scavenging du radical DPPH· supérieur à celle des feuilles de *Laurus nobilis*.

L'inhibition du radical DPPH• par les extraits des feuilles des deux plantes montre que les extraits éthanoliques ont exhibé les pourcentages d'inhibition importants avec un taux de  $71,26\% \pm 1.63$  pour *Eucalyptus globulus* et de  $69,09\% \pm 1.50$  pour *Laurus nobilis*, étant donné que ce sont les extraits bruts, donc ils contiennent la totalité des composés phénoliques riches en groupement OH donneur d'électrons et d'hydrogènes.

L'activité anti-radicalaire des deux plantes varie proportionnellement à leurs concentration de  $69,09\%$  avec une concentration de  $1g/ 15ml$  pour *Laurus nobilis* et de  $71,26\%$  avec une concentration de  $1,5g/ 15ml$  pour *Eucalyptus globulus*.

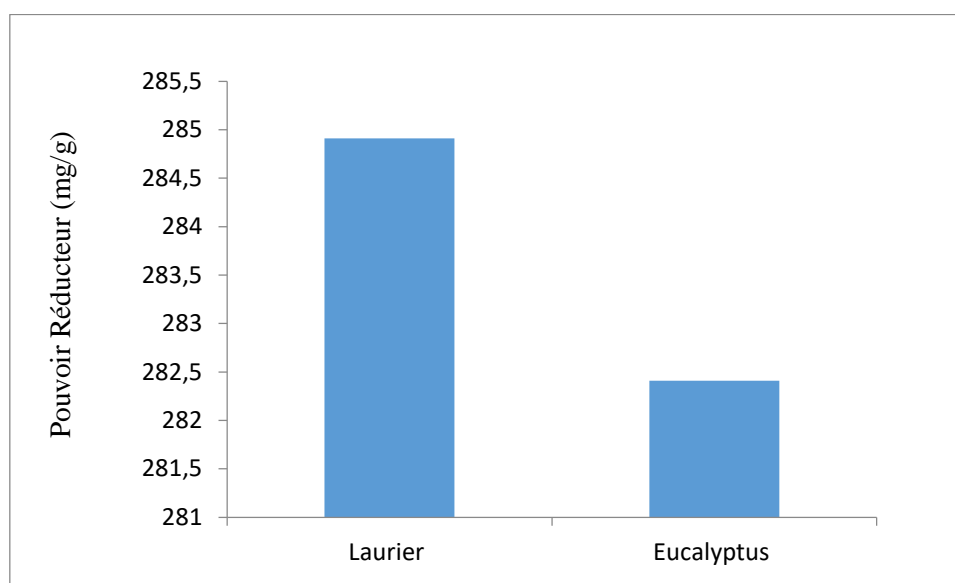
Ces résultats sont en très bonne corrélation avec les travaux de (**Gülçin et al, 2003 ; Kumaran and Karunakaran, 2007 ; Wang et al, 2007**) qui ont constatés que l'activité anti radicalaire est proportionnelle à la concentration des extrais d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*.

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH de l'extrait *Laurus nobilis* rapportée par **Mojca et al, (2005)** est de  $99.7\%$ , la différence pourrait être expliqué donc par la méthode de préparation des extraits. La méthode d'extraction utilisée (bain à Ultra Sound), le ratio ( $0.1g/ 100ml$ ), Le temps d'extraction (2h), Le solvant d'extraction (méthanol) et la température d'extraction ( $40^{\circ}C$ ).

#### IV.5.2. Pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur met en évidence la capacité d'une molécule à réduire un oxydant en lui cédant un électron, permettant ainsi de bien apprécier l'activité antioxydante de l'extrait testé.

Les résultats obtenus sont récapitulés dans la **Figure 19**.



**Figure 19** : Pouvoir réducteur des extraits d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis*.

A partir de cet histogramme, on remarque que les extraits des feuilles des deux plantes possèdent un pouvoir réducteur qui varie de  $(284,91 \pm 5,2 \text{ mg/g})$  pour *Eucalyptus globulus*, et de  $(282,41 \pm 2,37 \text{ mg/g})$  pour *Laurus nobilis* et que le pouvoir réducteur de *Laurus nobilis* est légèrement supérieur à celui obtenu par *Eucalyptus globulus*.

Ces résultats suggèrent que les extraits des plantes étudiées sont capables de libérer des électrons et par conséquent ils réagissent avec les radicaux libres et les convertissent en radicaux stables et inactifs. Le fort pouvoir réducteur de *Laurus nobilis* et de *Eucalyptus globulus* pourrait être expliqué par leur forte teneur en composés phénoliques qui est de 84,67 et 83,26 mg EAG/g MS, respectivement. Le pouvoir réducteur peut être influencé par les températures utilisées durant l'extraction et par la période de récolte. En effet, **Kim et al. (2006)** ont rapporté que l'utilisation de hautes températures durant l'extraction augmente la libération des antioxydants. Par ailleurs, **(Gardeli et al., 2008)** rapportent que le pouvoir antioxydant des plantes varie également selon la saison de récolte.

## IV.6. Incorporation des extraits optimisés dans la margarine

### IV.6.1. Caractéristiques physico-chimiques des margarines

#### IV.6.1.1. Détermination du pH de la phase aqueuse

Le résultat du pH de la phase aqueuse est donné dans le tableau :

**Tableau 15** : Résultats du pH de la phase aqueuse des margarines formulées.

La phase aqueuse	pH de la phase aqueuse essais à blanc	pH de la phase aqueuse enrichie avec Laurier	pH de la phase aqueuse enrichie avec Eucalyptus	La norme
pH	4.59	4.57	4.57	4-5.5

Le pH de la phase aqueuse des deux margarines formulées est de l'ordre de 4,57.

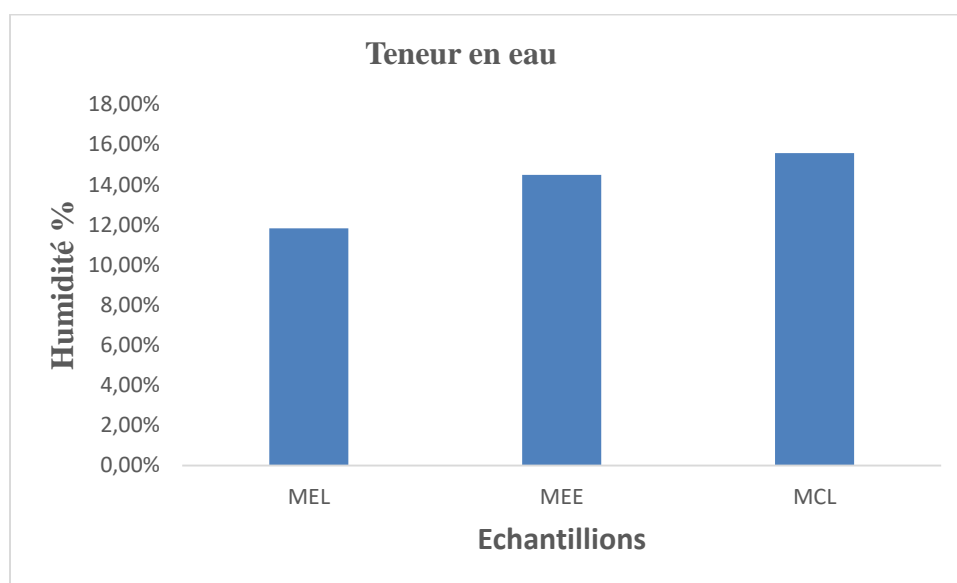
Nous remarquons que le pH de la phase aqueuse de la margarine se situe entre les deux valeurs minimale et maximale de la norme recommandée, ce qui donne une fraîcheur particulière à la margarine.

Le pH est l'un des principaux obstacles que la flore microbienne doit franchir pour assurer sa multiplication. Il est conseillé de contrôler le pH de la phase aqueuse, une valeur basse de ce dernier freine les microorganismes. En général on fixe le pH entre 4,0 et 5,5. Tandis qu'une faible valeur de pH, conduit à une sensation acide. Cette dernière peut être refusée par les consommateurs (**Karleskind et Wolff., 1992**).

#### IV.6.1.2 Teneur en eau (Humidité)

La détermination du taux de l'humidité est un paramètre très important qui influence la qualité de la margarine. Un excès d'eau peut entraîner une détérioration rapide du produit, une date limite de consommation (DLC) courte, et favorise la prolifération des microorganismes et ainsi nuire à la qualité hygiénique et sanitaire du produit fini (**Chikhouné, 2011**).

Les résultats du taux d'humidité des trois margarines ; formulées et commerciale sont illustrés dans la **Figure 20**.



MEL : margarine enrichie avec l'extrait optimisé de *Laurus nobilis*.

MEE : margarine enrichie avec l'extrait optimisé d'*Eucalyptus globulus*.

MCL : margarine commercial « labelle ».

**Figure 20** : Taux d'humidité des trois margarines étudiées.

On remarque que la teneur en eau de la MEL est de l'ordre de 11.83%, de 14.50% pour la MEE et de 15.58% pour la margarine commercial « labelle ».

La margarine est une émulsion de type eau dans l'huile qui comprend deux phases, la phase grasse (80% minimum) et la phase aqueuse (16 % maximum) (**Graille, 2003**).

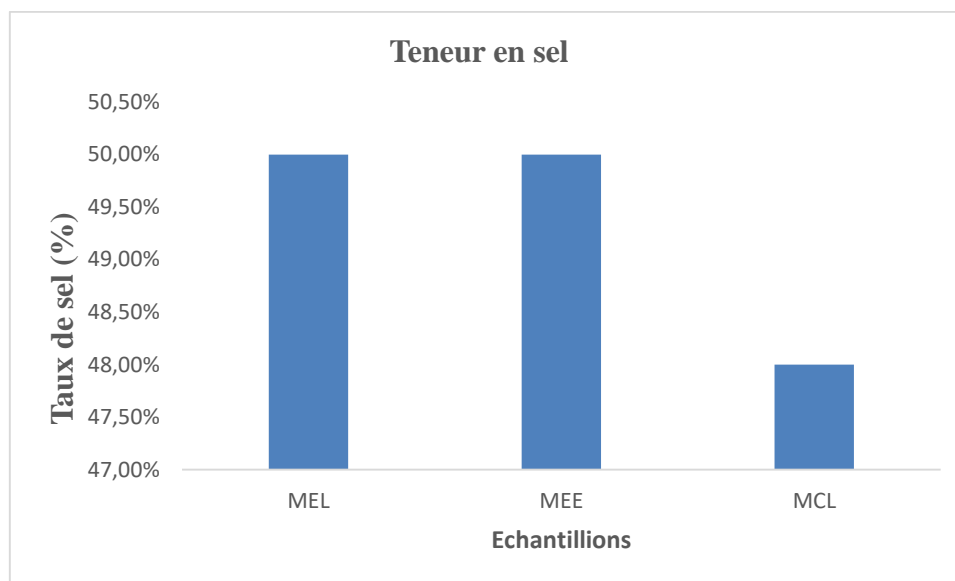
Les résultats obtenus sont très proches et compatibles à la teneur fixée en amont de la formulation initiale qui contient 16% de la phase aqueuse et elle répond à la définition de la margarine donnée par **Graille. (2003)**.

#### IV.6.1.3. Teneur en sel

L'addition du sel à la margarine a pour but d'améliorer la sapidité et d'inhiber le développement de certaines bactéries, ce qui permet de prolonger la durée de conservation.

Les résultats du taux de sel des margarines étudiées sont représentés dans la figure ci-dessous





MEL : margarine enrichie avec l'extrait optimisé de *Laurus nobilis*.

MEE : margarine enrichie avec l'extrait optimisé d'*Eucalyptus globulus*.

MCL : margarine commercial « labelle ».

**Figure 21 :** Taux de sel (%) des trois margarines étudiées.

En remarque que la teneur moyenne en sel est quasi égale pour les deux margarines enrichie avec les extraits optimisés de *Laurus nolilis* et *Eucalyptus globulus* avec un pourcentage de 0.50%, tant dis que la margarine commercial « labelle » contient une teneur de 0.48%.

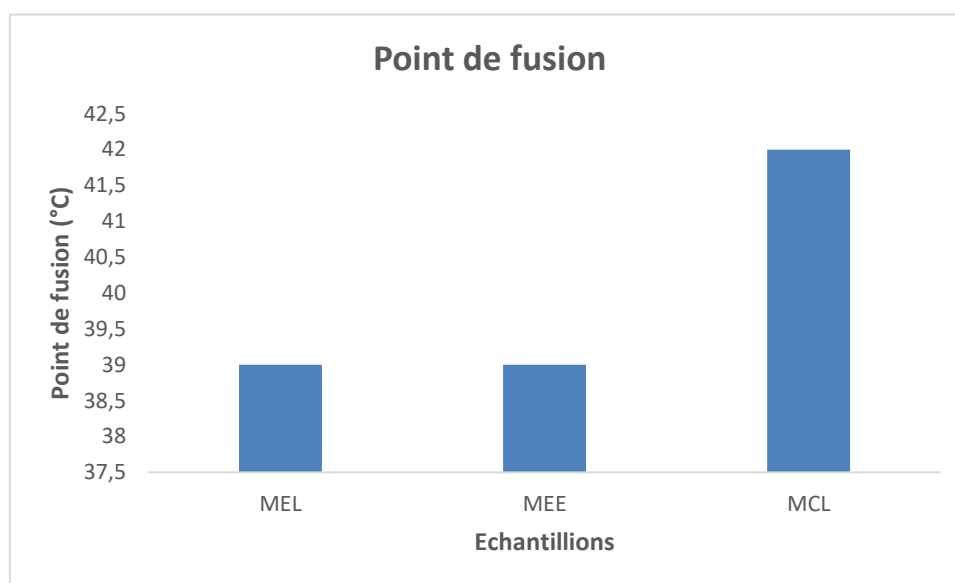
Ces valeurs serait proche des normes recommandées qui se situent aux alentours de 0,4 à 0,8%.

D'après **Faur.(1992)**, **Karleskind et Wolff (1992)** la teneur en sel varie suivant l'utilisation de la margarine et sa texture : 0,11à 0,3% pour les margarines en pots (tartinables), 0,4 à 0,8% pour les margarines enveloppées (cuisine) et 0,8 à 2% pour les margarines utilisées en pâtisserie. Le sel joue un rôle très important dans la stabilisation de l'émulsion (**FraschMelnik et al, 2010**).

#### IV.6.1.4. Détermination du point de fusion

Selon **Laventurier.(2013)** la notion de point de fusion fournit une indication plus restrictive, ne donnant que l'information de la température de fusion totale des triglycérides : son intérêt principal sera d'apprécier le fondu en bouche du mélange utilisé.

Les résultats de la détermination des points de fusions des trois margarines étudiées sont illustrés dans la figure 22.



MEL : margarine enrichie avec l'extrait optimisé de *Laurus nobilis*.

MEE : margarine enrichie avec l'extrait optimisé d'*Eucalyptus globulus*.

MCL : margarine commercial « labelle »

**Figure 22** : Point de fusion des trois margarines étudiées.

Les résultats du point de fusion des échantillons étudiés, montrent que MCL possède le point de fusion le plus élevé (42°C), suivi par les deux margarines enrichie avec l'extrait optimisé d'*Eucalyptus globulus* et *Laurus nobilis* (39°C), ayant le même point de fusion.

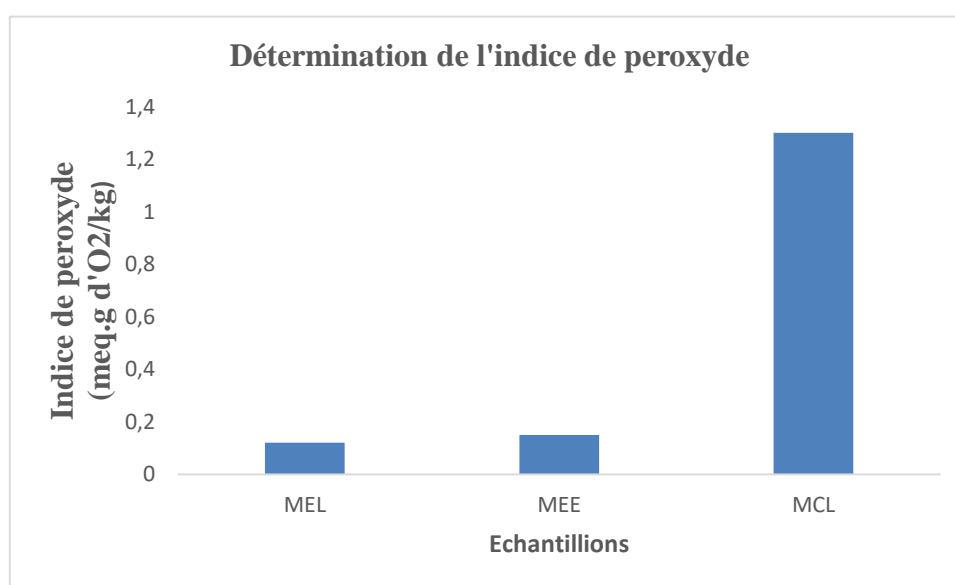
Nos résultats sont supérieurs à ceux donnés par **(Himed, 2013)** et **Karabulut et Turan (2006)** qui sont de l'ordre de 37°C, 31.2 à 34.5°C respectivement.

Cette différence est due à la composition de la phase grasse des margarines étudiées, le point de fusion d'une graisse alimentaire ne doit pas dépasser 43°C (Dupin et al, 1992).

#### IV.6.1.5. Détermination de l'indice de peroxyde

Selon Delacharleri et al, (2008), l'indice de peroxyde permet essentiellement de prévoir le comportement futur d'une matière grasse, puisqu'il mesure la qualité de composés intermédiaires de la réaction d'oxydation ; parmi lesquels des molécules volatiles responsables aux odeurs indésirables.

Les résultats d'analyse de l'indice de peroxyde (IP) des margarines sont illustrés dans la **Figure 23**.



MEL : margarine enrichie avec l'extrait optimisé de *Laurus nobilis*.

MEE : margarine enrichie avec l'extrait optimisé d'*Eucalyptus globulus*.

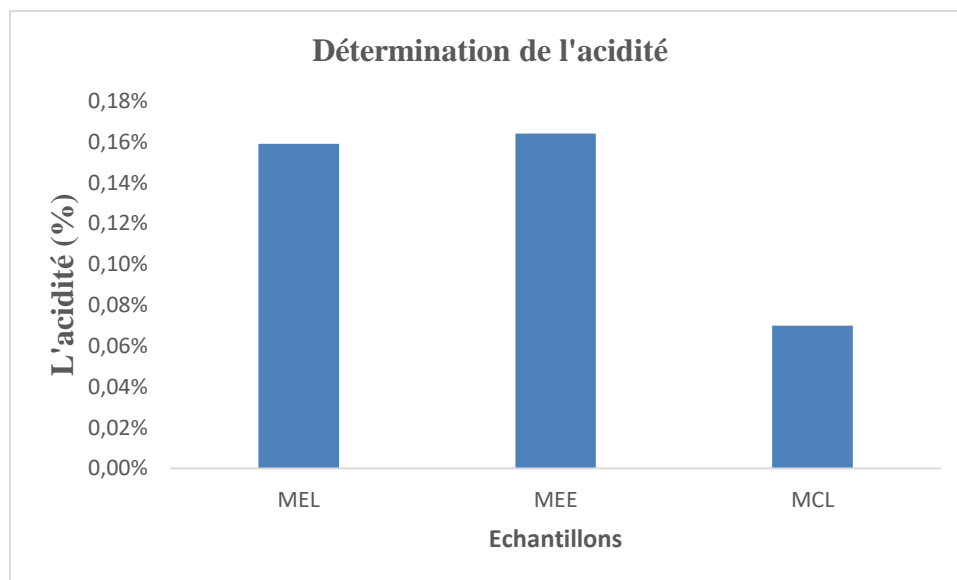
MCL : margarine commercial « labelle ».

**Figure 23** : Indice de peroxyde des trois margarines étudiées.

Les résultats de l'indice de peroxyde des échantillons étudiés (**Figure 23**) montrent que la margarine commercial « labelle » possède l'indice de peroxyde le plus élevé 1.3 meq.g d'O<sub>2</sub>/kg , suivi par MEL et MEE données par l'ordre suivant 0.12 et 0.15 meq-g d'O<sub>2</sub>/kg. Ces valeurs sont inférieures à la norme ISO qui exige une valeur de 10 meq d'oxygène actif par Kg de matière grasse.

#### IV.6.1.6. Acidité

Les résultats d'analyse d'acidité des trois margarines sont illustrés dans la **figure 24**.



MEL : margarine enrichie avec l'extrait optimisé de *Laurus nobilis*.

MEE : margarine enrichie avec l'extrait optimisé d'*Eucalyptus globulus*

MCL : margarine commercial « labelle »

**Figure 24** : l'acidité des trois margarines étudiées.

D'après la **figure 24** les indices d'acides obtenus pour les deux types de margarine (MEL & MEE) ont la même valeur 0.16%. Par contre l'indice d'acide obtenu pour la margarine commercial « labelle » est d'ordre de 0.07%.

Ces résultats reste inférieur et conforme à la norme ISO ( $\leq 0,2$ ) ce qui confirme la bonne qualité des huiles utilisées dans la formulation de la phase grasse de ces margarines.

D'après **Karleskind et Wolff.(1992)** un corps gras est à l'abri de l'altération par hydrolyse, si son acidité est  $\leq 0,2\%$ .

**IV.6.2. Suivi de l'évolution de l'indice de peroxyde et d'acidité des margarines formulées au cours du stockage**

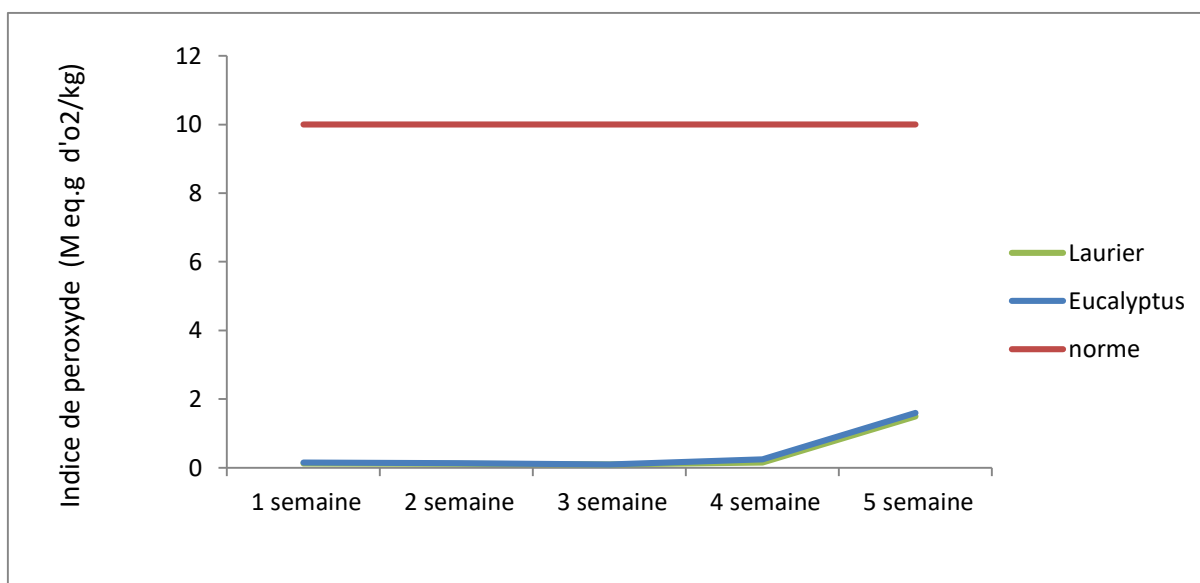
Les résultats de l'évolution de l'indice de peroxyde et d'acidité des trois margarines étudiées sont illustrés dans le tableau 16.

**Tableau 16 :** Résultats de l'indice de peroxyde et d'acidité de la margarine au cours du stockage.

Paramètre	IP (meq.g d'O <sub>2</sub> /kg)		% d'acidité	
	Laurier	Eucalyptus	Laurier	Eucalyptus
1 <sup>ère</sup> semaine	0.120	0.150	0.159	0.164
2 <sup>ème</sup> semaine	0.115	0.135	0.160	0.165
3 <sup>ème</sup> semaine	0.100	0.100	0.172	0.177
4 <sup>ème</sup> semaine	0.155	0.250	0.180	0.184
5 <sup>ème</sup> semaine	1,5	1,6	0,185	0,191

**IV.6.2.1. Suivi de l'évolution de l'indice de peroxyde**

Les résultats du suivi de l'évolution de l'indice de peroxyde de la margarine produite au laboratoire pendant 5 semaines de stockage à 4°C sont représentés dans la **figure 25**.



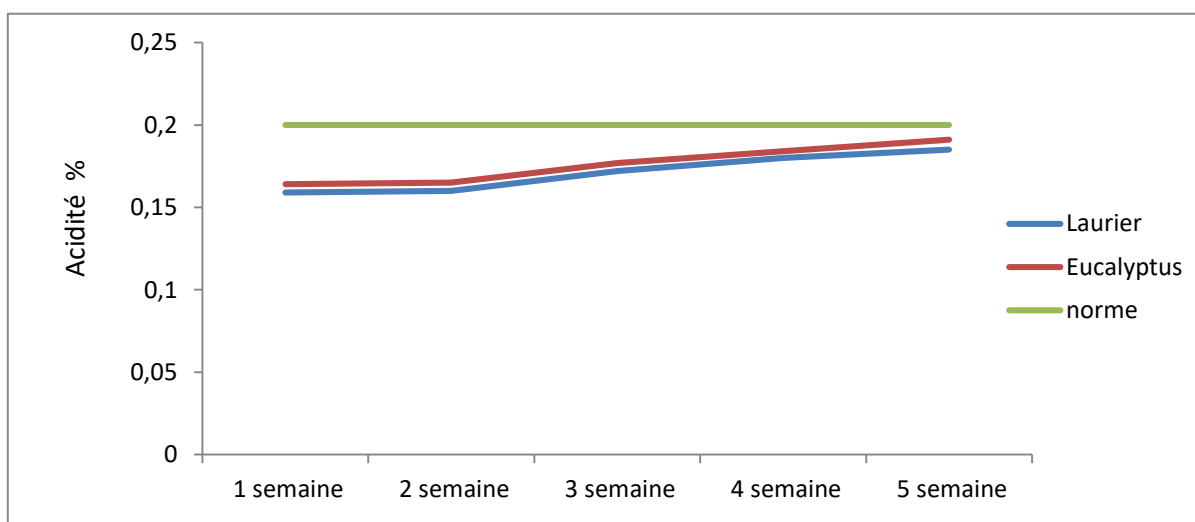
**Figure 25 :** Evolution de l'indice de peroxyde de la margarine au cours du stockage.

Les résultats de la figure 25 montrent une légère stabilité de l'indice de peroxyde pendant les 4 premières semaines de stockage. Cette période dite «une stabilité oxydative» est une phase dans laquelle la margarine est stable et aucune oxydation ne se produit. Par la suite, une augmentation graduelle de l'IP est observée à partir de la 4ème semaine pour atteindre les 1,5 meq.g d'O<sub>2</sub>/kg pour la margarine enrichie avec l'extrait optimisé de *Laurus nobilis* et 1.6 meq.g d'O<sub>2</sub>/kg pour la margarine enrichie avec l'extrait optimisé d'*Eucalyptus globulus* à la fin de la période de stockage. Cette phase correspond peut être à la phase de l'oxydation active, ou la formation des hydro peroxydes est accélérer. La formation des peroxydes à partir des acides gras insaturés dépendrait de leur libération lors de l'hydrolyse, ceux qui explique l'augmentation de cet indice.

A l'issu de ces résultats, nous remarquons que l'indice de peroxyde reste loin du seuil limite d'altération (10meq.g d'O<sub>2</sub>/kg).Ceci pourrait être expliqué par le bon respect des bonnes pratiques de fabrication et de conservation.

#### IV.6.2.2. Suivi de l'évolution de l'acidité

Les résultats du suivi de l'évolution de l'acidité de la margarine produite au laboratoire pendant 5 semaines de stockage à 4°C sont représentés dans la figure 26.



**Figure 26 :** Evolution de l'acidité des margarines formulées au cours du stockage.

D'après le graphe de la figure 26, nous remarquons une stabilité de pourcentage d'acidité des deux margarines formulées durant les deux premières semaines, une augmentation graduelle est observée pendant les trois dernières semaines jusqu'à atteindre la valeur de 0.185 % pour la margarine enrichie

avec l'extrait optimisé de *Laurus nobilis* et 0.191% pour la margarine enrichie avec l'extrait optimisé d'*Eucalyptus globulus*.

Les facteurs susceptibles d'influencer l'acidité de la margarine sont divers : la durée de stockage, l'exposition à l'air, la lumière et à la température. L'exposition à l'air de la margarine formulée, et les changements de température ont influencé sur l'acidité de ce produit. L'acidité nous renseigne aussi sur la bonne qualité et la fraîcheur d'une matière grasse. Si le produit dépasse un certain seuil, il s'altère rapidement et change de goût.

***Conclusion***



L'objectif du présent travail est la détermination des teneurs en antioxydants (polyphénols totaux, flavonoïdes et caroténoïdes) et la mesure de l'activité antioxydants (pouvoir réducteur, activité anti-radicalaire) des extraits optimisés des deux plantes : Laurier et l'Eucalyptus en utilisant la méthode conventionnelle. Ceci dans l'intention de les valoriser par la possibilité de leur incorporation lors d'élaboration d'une margarine.

Les conditions optimales d'extractions de l'extrait de *Laurus nobilis* sont : un temps d'extraction de 120 min, un pourcentage en éthanol de 80% (EtOH) et un ratio de 1g/15ml. Les divers tests de dosage ont permis de déterminer la présence de substance antioxydants telles que les composés phénolique totaux ( $84,67 \pm 89$  mg EAG/g MS), les flavonoïdes ( $98,98 \pm 3,57$  mg EQ/MS) et les caroténoïdes ( $56,93$  mg /g). Cependant, les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydants ont montrées une bonne capacité à neutralisé le radical DPPH avec un pourcentage d'inhibition de ( $69,09 \pm 1,50$  %) et une forte teneur du pouvoir réducteur estimé à ( $282,41 \pm 2,37$  mg/g).

En revanche, Les conditions optimales d'extractions de l'extrait d'*Eucalyptus globulus* sont : un temps d'extraction de 80 min, un pourcentage en éthanol de 40% (EtOH) et un ratio de 1,5g/15ml. Les divers tests de dosage ont déterminés la présence de substance antioxydants telles que les composés phénolique totaux ( $83,26 \pm 5.3$  mg EAG/g MS), les flavonoïdes ( $141,23 \pm 2,45$  mg EQ/MS) et les caroténoïdes ( $45,65$  mg /g). Cependant, les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydants ont montrées une bonne capacité neutralisatrice du radical DPPH avec un pourcentage d'inhibition de ( $71,26 \pm 1,63$  %) et une forte teneur du pouvoir réducteur estimé à ( $284,91 \pm 5,2$  mg/g).

En outre, les résultats du taux d'humidité obtenue pour les feuilles séchées de Laurier et Eucalyptus sont de 69% et 65% respectivement.

Ainsi, notre étude réalisée sur les extraits des feuilles des plantes, nous a permis d'émettre les résultats suivants :

- ❖ L'évaluation du contenu en phénols totaux en adoptant la méthode de Folin-ciocalteu a révélé des teneurs similaires et importantes en composées phénoliques pour les deux plantes.
- ❖ Les résultats des dosages des composées phénoliques montrent une teneur plus élevé en flavonoïdes d'Eucalyptus que celle de laurier.

- ❖ Laurier est plus riche en caroténoïdes que l'Eucalyptus.
- ❖ En ce qui concerne les activités anti-radicalaires, les extraits des feuilles de Laurier et d'Eucalyptus ont prouvé une forte activité scavenging du radical DPPH.
- ❖ La mesure du pouvoir réducteur a montré que les extraits des feuilles de Laurier et d'Eucalyptus possèdent des capacités réductrices appréciables.
- ❖ Le taux d'humidité observé pour les feuilles des deux plantes est élevé avec un pourcentage qui est presque égale.

Les extraits secs des échantillons d'*Eucalyptus globulus* et de *Laurus nobilis* ont été utilisées dans le but de l'enrichissement de la margarine au sein de la société des corps gras de Bejaia « CO.G.B ».

Les analyses physico-chimiques effectuées sur les margarines élaborées (pH, teneur en eau, teneur en sel, point de fusion, acidité et indice de peroxyde) s'avèrent conformes à la recette préétablie et aussi aux normes internes et réglementaires.

Le suivi de l'évolution de l'acidité et l'indice de peroxyde des margarines formulée au cours de 5 semaines à 4°C, a révélé une légère variation des deux paramètres suivis mais restent toujours inférieurs aux normes, ce qui permet de déduire que les margarines élaborée avec les extraits secs sont de bonne qualité.

Dans la perspective de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait intéressant de :

- ✓ Elargir l'échantillonnage pour l'ensemble du territoire national et analyser l'impact de l'origine géographique sur la composition en antioxydant et activités biologique.
- ✓ Evaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques des autres parties de ces espèces (Tiges, racines et fleurs).
- ✓ Orienter la recherche scientifique sur d'autres espèces de Laurier et d'Eucalyptus afin d'évaluer leurs potentiels antioxydants.
- ✓ Identification des molécules responsables du potentiel antioxydant par HPLC.
- ✓ Tester d'autres activités biologiques des différents extraits tels que l'activité antimicrobienne.
- ✓ Faire des analyses microbiologiques et sensorielles de la margarine enrichie en extrait de laurier et l'eucalyptus.
- ✓ Poursuivre l'étude durant toute la durée de consommation jusqu'à la DLC (6 mois) pour vérifier la stabilité de la margarine lors de sa conservation.
- ✓ Réaliser des tests rhéologiques nécessaires pour l'appréciation de la texture.



***Références  
Bibliographiques***

### A

- ❖ **Aboiron, J., Hameury, E., (2004).** *Additifs alimentaires. Les lécithines.* Edition paris (France) pp : 2-6.
- ❖ **Adrian, J., Potus J., Poiffait, A., et Dauvillier, P. (1998).** Méthodes physicochimiques générales. In « *Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires* », Ed.TEC&Doc, ISBN : 2-7430-0270-0. pp : 29-145.
- ❖ **Aït youssef, M. (2006).** Eucalyptus globulus L. In « *Plante Médicinale de Kabylie* », Ed.Paris .pp: 126-130.
- ❖ **Alais, C., Linden, G., et Miclo, L (2008).** *Biochimie alimentaire.* Ed : 6. Dunod, Paris. pp: 241-250.
- ❖ **Amakura, Y., Yoshimura, M., Sugimoto, N., Yamazaki, T., et Yoshida, T. (2009).** *Marker constituents of the natural antioxidant Eucalyptus leaf extract for evaluation of food additives.* Journal of Bioscience, Biotechnologie, Biochemistry. 73. pp: 1060 - 1065.
- ❖ **Arma,R. (2012).***Medicinal plants and their traditional uses in kabylia*, January 2015 Issue.«<http://www.robinarma.com.P119>» (accessed 15.05.2019).
- ❖ **Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., et Kefalas, P. (2005).** *Tea and herbal infusions,Their antioxidant activityand phenolic profile.* Journal of Food Chemistry, 89.pp: 27–36.
- ❖ **Aysegu, I., et Esra, A. (2008).** *Antioxidant capacity and total phenolic content of selected plants from Turkey.* International Journal of Food Science and Technology, 43, 2038–2046.

### B

- ❖ **Balmey, M., et Wilson, G. (2000).** *Les guides du naturaliste .Toutes les fleurs deMéditerranée : les fleurs, les graminées, les arbres et arbustes,* Ed. Lausanne Paris, ISBN : 2-60-301179-0. pp: 151-152
- ❖ **Barla, A., Topçu, G., Öksüz, S., Tümen, G., Kingston, D.G.I., (2007).** *Identification of cytotoxic sesquiterpènes from Laurus nobilis L.,* Journal of Food chemistry, 104, 1487-1484.
- ❖ **Barus, C. (2008).** *Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leurs associations en milieu homogène et biphasique, application aux produits dermo-*

- cosmétique*. Thèse de doctorat et de génie des procédés et d'environnement. Université de Toulouse, 19p.
- ❖ **Bellebcir, L. (2008)**. *Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversités chez les céréales*, mémoire de magister de Biodiversité et production végétale. Université Mentouri de Canstantine, Faculté de biologie, 26-28p.
  - ❖ **Berger, M.M. (2006)**. *Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances*. Journal de Nutrition clinique et métabolisme, 20, 48-53.
  - ❖ **Bigendako, J. M. (2004)**. *Identification et zonage des Eucalyptus globulus au Rwanda*. pp : 1-2. « <http://pdf.usaid.gov> » (accessed 23.04.2019).
  - ❖ **Bosse, J. (2005)**. *Larousse des arbres, dictionnaire des arbres et des arbustes* .Ed. Larousse. pp : 171.
  - ❖ **Boullard, B. (1997)**. *Dictionnaire plantes et des champignons*. Ed.: Editions ESTEM, ISBN: 2909455998. pp: 309-310.
  - ❖ **Boullard, B. (2001)**. *plantes médicinales du monde, Réalités et croyances*. Estem éditions. pp : 636.
  - ❖ **Brand-Williams., Cuvelier, M.E., et Berset, C. (1995)**. *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. Journal of LWT-Food Science and Technology, 28, 25–30.
  - ❖ **Bruneton, J. (1987)**. *Elément de photochimie et de pharmacognosie. Paris, Technique et documents*. Ed. Lavoisier. pp : 228-584.
  - ❖ **Bruneton, J. (2002)** : *pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 3 édition. PP :526.

### C

- ❖ **Chikhoun, A., (2011)**. *Texture d'une margarine nouvellement formulée et effet des huiles incorporées* .mémoire de magister en science alimentaire .Université Mentouri Constantine, 84p.
- ❖ **Christopher, G.J., Baker,M.D., et Ranken, R.C., (2012)**. *Kill food industries manual* In : Blakie Academic & Professional. Journal of Springer Science+Business Media New York, 3p.
- ❖ **Chun, S.S., Vatter, D.A., Lin, Y.T., et Shetty, K. (2005)**. *Phenolic antioxidants from clonal oregano (Origanum vulgare) with antimicrobial activity against Helicobacter pylori*. Journal of Process Biochemistry, 40, 809-816.

- ❖ **Cicco, N.T., Lanorte, M., Paraggio, M., Viggiano, M., et Lattanzio, V. (2009).** *A reproducible, rapid and inexpensive Folin-Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts.* Journal of Microchemical , 91 (1): 107-110.
- ❖ **Clements, D. J., et Decker, E. A. (2000).** *Lipid oxidation in oil-in water emulsions, impact of molecular environment of chemical reactions in heterogeneous food systems.* In : Journal of Food Sciences. pp : 1270-1281.
- ❖ **Cortel, D., et Sgaragli, G. (1984).** *2-t-Butyl-4-Methoxypheno (BHA) actuated toxicity in rodents, influence of the administration rout.* Pharmacological Research communications,38,243-246.
- ❖ **Cossut, J., Defrenne, B., Desmedt, C., Ferroul, S., Garnet, S., Humbert, S., Roelstraete, L., Vanuxeem, M., et Vidal D. (2002).** *Les corps gras: entre tradition et modernité.* Université de Lille, faculté des Sciences et Technologies.140p.
- ❖ **Couplan, F. (1998).** *Guide nutritionnel des plantes sauvages et cultivées .* Edition : Delachaux et Niestlè SA, Lausanne. Paris, pp : 228-230.
- ❖ **Cui, K., Luo, X., Xu, K., et VenMurthy, M.R. (2004).** *Role of oxidative stress in neurodegeneration: recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants.* Journal of Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry, 28, 771-799.
- ❖ **Cutary, J.P., et Robin, J.M. (2000).** *Phytothérapie et aromathérapie buccodentaires.* Journal of EMC-Dentistrie 1 (2004) 179-192.

### D

- ❖ **DallAcqua, S., Cervellati, S., Speroni, E., Costa, S., Guerra, M.C, Stella, L., Greco, E., et Gabbriella, I. (2009).** *Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of Laurus nobilis L. Leaf Infusion.* Journal of Medicinal Food,12(4): 869- 876.
- ❖ **D.B. Muñoz-Márquez, R.,Rodríguez, N.,Balagurusamy, M.L., Carrillo, R.,Belmares, J.C., Contreras, G., Nevárez, V., et C.N. Aguilar. (2014).** *Phenolic content and antioxidant capacity of extracts of Laurus nobilis L., Coriandrum sativum L. and Amaranthus hybridus L.,* CyTA - Journal of Food, 12:3, 271-276.
- ❖ **Delacharlerie, S., Debiourge, S., Chene, C., Sindic, M.,et Deroanne, C. (2008) :** *HACCP Organoleptique guide pratique.* Passage des déportés-B-5030 Ed. Gembloux (Belgique). pp : 3233.
- ❖ **Delia, B., et Rodriguez -Amaya, P.D. (2001).** *A guide to carotenoid analysis in foods.* Printed in the united states of Americ. ISBN 1-57881-072-8.

## Références bibliographiques

---

- ❖ **Demir, V., Guhan, T., Yagcioglu, A.K., et Ddegirmencioglu, A. (2004).** *Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves.* Journal of Biosystems Engineering. 88 (3): 325-335.
- ❖ **Demo, A., Petrakis, C., Kefalas, P.,et Bosliou, D. (1998).** *Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plans leave.* Journal of Food Research international. 31 (5): 351-354.
- ❖ **Derwiche, E., Zineb, B., et Abdellatif, B. (2009).** *Chemical Composition and Antibacterial Activity of Leaves Essential Oil of Laurus nobilis from Morocco.* Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 3(4): 3818-3824.
- ❖ **Deyson, G., (1978).** *Cours de botanique générale.*4 série. Tome I, Organisation et classification des plantes vasculaires, deuxième partie .pp :380-381.
- ❖ **Diana, B., Muniz-Marquez., Guillermo, C., Martinez-Avila., Jorge, E., Wong-Paz., RuthBelmares-Cerda., Raul Rodriguez-Herrera.et T Cristobal N.A. (2013).** *Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Laurus nobilis L. and their antioxidant activity.* Journal of Ultrasonics Sonochemistry (2013), pp: 6-8.
- ❖ **Djenane, D., Lefsih, K., Yangüela, J., et Roncalés, P. (2011).** *Composition chimique et activité anti-Salmonella enteritidisCECT 4300 des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, de Lavandula angustifolia et de Saturejahortensis.* Journal de Springer-Verlag France. 9: 343–353.
- ❖ **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., et Vidal, N. (2006).** *Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds.* Journal of Food Chemistry, 97, 654-660.
- ❖ **Djouab, A. (2007).** *Préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de dattes des variétés sèches.* Mémoire de Magister en Génie Alimentaire. Université de M'hamedBougara - Boumerdes. Algérie.40p.
- ❖ **Dupin, H., Cuq, J.L., Malewiak, M.I., LeynaudRouaud, C., et Berthier, A.M. (1992).** *Alimentation et nutrition humaines.* Ed : ESF. 1533p.

### E

- ❖ **Elmasta, M., Gülçin, I., Iildak, O., Kufreviolu, O.I., Baoglu, K., et Aboul-Enein, H.Y. (2006).** *Radical Scavenging Activity and Antioxidant Capacity of Bay Leaf Extracts.* Journal of the Iranian Chemical Society, Vol. 3, No. 3, September 2006, pp: 258266.
- ❖ **Endo, T., Fukunaga, T., Yoshimura, T., et Esumi, K. (2006).** *Scavenging DPPH radicals catalysed by binary noble metal-dendrimer nanocomposites.* Journal of colloid and interface Science, 302, pp: 516-21.
- ❖ **Etournaud, A., Aubort, J-D., Auderset, P., et Buxtorf, U-P. (1992).** *Colorants pour denrées alimentaires et cosmétiques.* In «Manuel suisse des denrées alimentaires». MSDA. 33p.

### F

- ❖ **Fabre, M.C., Genin, A., Merigoux, J., et Moget, E. (1992).** *Herboristerie familiale, des recettes simples avec des plantes simples pour résoudre les problèmes simples.* Ed : Tech et Doc, 45p.
- ❖ **Fadi, Z. (2011).** *The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal rosmarinus officinalis.* Thèse de doctorat en pharmacie. Université Mohammed VRABAT. 45p.
- ❖ **FAO, OMS., (1981).** *Le rôle des graisses et huiles alimentaires en nutrition humaine.* Food & Agriculture Organisation.
- ❖ **Faur, L. (1992).** *Transformation des corps gras à des fins alimentaires.* in «Manuel des corps gras ». Tec et doc-Lavoisier, Paris. pp : 938, 948, 950, 954, 980, 984. ISBN : 2-85206-662-9. 85206 662 9. p 290-297.
- ❖ **Ferreira A., Proença C., Serralheiro M.L.M., et Araújo, M.E.M. (2006).** *The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal.* Journal of Ethnopharmacology, 108, 31-37.
- ❖ **Flamini, G., Tebano, M., Cioni, P.L., Ceccarini, L., Ricci, A.S., and Longo, I. (2007).** *Comparison between the conventional method of extraction of essential oil of Laurus nobilis L. and a novel method, which uses microwaves, applied in situ, without resorting to an oven.* Journal of Chromatogr, 1143, 36-40.
- ❖ **Forrest, M., and Moore, T. (2008).** *Eucalyptus gunnii A possible source of bioenergy.* Journal of Biomass and Bioenergy, 32, pp: 978 – 980.
- ❖ **François, R. (1974).** *Margarine* In «Les industries des corps gras». Tec et Doc-Lavoisier, Paris, pp. 290-291.



- ❖ **Frank, D.G. (2002).** *Vegetable oils in food technology: Composition, properties and Uses.* Blackwell publishing CRC Press. pp: 67-68.
- ❖ **Frasch-Melnik, S., Norton, I.T et Spyropoulos, F. (2010).** *Fat crystal- stabilized w/o emulsions for controlled 1 salt release.* Journal of Food Engineering. pp: 1-14.

### G

- ❖ **Gardeli, C., Papageorgiou, V., Mallouchos, A., Theodosis, K., et Komaitis, M. (2008).** *Essential oil composition of Pistacia lentiscus L. and Myrtuscommunis L: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts.* Journal of Food Chemistry, 107, 1120-1130.
- ❖ **Ghedira, K.,Goetz, P., et Lejeune, R.(2008).** *Eucalyptus globulus*, monographie médicalisé Phytothérapie, 6, pp : 197-200.
- ❖ **Graille, J. (2003).** *Lipides et corps gras alimentaires .*Tec et Doc, Lavoisier, Paris. ISSN : 0243-5624. ISBN: 2-7430-0594-7. pp: 1-183.
- ❖ **Gulcin, I., Berashvili D.,et Gepdiremen, A. (2005).** *Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins.* Journal of Enthopharmacology, pp: 287-293.
- ❖ **Gülçin, I.,Oktay, M.,Kreççi, E., et KüfrevioğÖ. I. (2003).** *Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise seed extracts.* Journal of Food Chemistry, 83, pp : 371-382.
- ❖ **Guy, J. (1994).** *Antioxydants et vieillissement.* Edition Paris (France). ISBN : 2-7420-0055.

### H

- ❖ **Hadj-Salem, J. (2009).** *Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques des flavonoïdes de Nitraria Reusa et synthèse de divers acyles de ces molécules par voie enzymatique,* Journal of Food Chemistry, pp : 19-23.
- ❖ **Himed, L. (2011).** *Evaluation de l'activité antioxydant des huiles essentielles de citrus limon : applications à la margarine,* Thèse de doctorat, Faculté des Science Alimentaires. Institue INATTA, Université de Constantine 98p.
- ❖ **HOLASOVA, M., PARIZKOVA, H., KOPECKY, A., BLATTNA, J., WINTEROVA, L., et MRAZEK, M., (1993).** *Contribution à l'étude de l'auto-oxydation des graisses et des huiles servant à la fabrication de la margarine.* Le Lait, INRA Editions, 1933, 13 (130), pp.1201-1214.

### I

- ❖ **Iserin, P. (2001).** *Encyclopédie des plantes médicinales*. 2<sup>ème</sup> Edition la rousse. Londres pp143 et 225-226.
- ❖ **ISO 15648. (2004)** (IDF 179. 2004). *Beurre-Détermination de la teneur en sel Méthode potentiométrique* (Ed : 1). International Standard Organisation, Genève, Suisse.pp.1-7.
- ❖ **ISO 3960. (2007).** *Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice de peroxyde - Détermination avec point d'arrêt iodométrique* (Ed : 4). International Standard Organisation. Genève, Suisse.pp.1-10.
- ❖ **ISO 660. (2009).** *Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité* (Ed : 2). International Standard Organisation. Genève, Suisse.pp.1-9.
- ❖ **ISO 662. (1998).** *Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles* (Ed : 2). International Standard Organisation. Genève, Suisse.
- ❖ **ISO 7238. (2004)** (IDF 104. 2004). *Butter - Determination of pH of the serum Potentiometric method* (Ed: 2). International Standard Organisation. Genève, Suisse.pp.1-5.

### K

- ❖ **Kablan, B. J., Adiko,M., et Abrogoua. (2008).** *Evaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de Kalanchoecrenata et de Manoteslongiflora utilisées dans les ophtalmies en Côte d'Ivoire*. Phytothérapie, 6, pp: 282–288.
- ❖ **Kahkonen, M.P., Hopia, I., Vuorela, J., Rauha,J.P ., Pihlaja,K., Kujala,S.I., et Heunonen,M. (1999).** *Antioxydant activity of plant extracts containing phenolic compound*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47, 3954-3962.
- ❖ **Karabulut, I., etTuran, S. (2006).** *Some properties of margarines and shortening marketed in Turkey*. Journal of Food Composition Analysis, 19, 55-58.
- ❖ **Karleskind, A., et Wolff, J.P. (1992).** *Manuel des corps gras*. Ed : Tech et Doc. 1579p.
- ❖ **Karleskind, A. (1992).** *Manuel des Corps Gras*. Ed: Tech & Doc, Paris.1579 p
- ❖ **Karleskind, A. (1992).** *transformation des corps gras à des fins alimentaires* .manuel des corps gras, pp : 212-232.
- ❖ **Karleskind, A. (1996).** *Oils and fats manual: a comprehensive treatise: properties, production, applications*. Volumes 1 & 2. Paris: Lavoisier Publishing.

- ❖ **Khodadad, P.K., Mehdi, Razzaghi-Abyaneh et Halajian A. (2009).** *Acaricidal effect of Pelargonium roseum and Eucalyptus globules essential oils against adult stage of Rhipicephalus (Boophilus) annulatus in vitro.* Journal of Veterinary Parasitology, 162, pp : 346–349.
- ❖ **Kim, J.P., Lee, I.K., Yun, B.S., Chung S.H., Shim G.S., Koshino, H., and Yoo, I.D.(2001).** *Ellagic acid rhamnosides from the stem bark of Eucalyptus globulus.* Journal of Phytochemistry, 57, pp : 587-591.
- ❖ **Kim, S.Y., Jeong, S.M., Park, W.P., Nam, K.C., Ahn, D.U., & Lee, S.C. (2006).** *Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts.* Journal of Food Chemistry, 97, 472–479.
- ❖ **Kivçak, B. et Mert, T. (2002).** *Preliminary evaluation of cytotoxic proprieties of Laurus nobilis leaf extracts.* Journal of Fitoterapia, 73, 242-243.
- ❖ **Kohen, R. et Nyska, A. (2002).** *Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reaction and methods for their quantification.* Journal of Toxicolo pathol, 30, 620-650.
- ❖ **Kone Issa, B. (2003).** *La margarine.* Volume1. Edition : BETJ. Micoule, pp : 8.
- ❖ **Kumaran A. and Karunakaran R. J. (2007).** *In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India.* LWT, 40, pp: 344-352.

### L

- ❖ **Lambert, J. (2005).** *Les huiles végétales : 2000 plantes oléagineuses répertoriées.* Institut français des huiles végétales pures, ISBN : 2-916150-01-3, pp : 23-26.
- ❖ **Laventurier, M. (2013).** *Impact des formulations de margarines sur le procès en boulangerie et pâtisserie artisanales et industrielles.* Journal fonctionnalité des huiles. pp : 160-164.
- ❖ **Lefrancq, È., et Roudaut, H. (2005).** *Alimentation théorique Biosciences et techniques.* Sciences des aliments. Edition : Doin, 303p.
- ❖ **Li, Y., Cao, Z., et Zhu, H. (2006).** *Up regulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress.* Pharmacological research, 53, 6-15.
- ❖ **Luterotti, S., Bicanic, D., et Pojzgaj, R. (2006).** *New simple spectrophotometric assay of total carotenes in margarines.* Journal of Analytica Chimica Acta, pp. 466–473.

### M

- ❖ **Maciel, M.V., Morais, S.M., Bevilaqua, C.M.L., Silva, R.A., Barros, R.S., Sousa, R.N., Sousa, L.C., Brito, E.S., Souza-Neto, M.A. (2010).** *Chemical composition of Eucalyptus spp. essential oils and their insecticidal effects on Lutzomyia longipalpis.* Journal of Veterinary Parasitology, 167, pp :1-7.
- ❖ **Martin, S., et Andriantsitohaina, R., (2002).** *Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium, Annales de Cardiologie et d'Angéiologie.* Journal Elsevier, pp. 304-315.
- ❖ **Miroslav, B. (2005).** *Ingredients for margarine and spreads.* Application Specialist DANISCOA/S.  
«<http://www.bing.com/search?FORM=SK2MDF&PC=SK2M&q=buchmet+M>»(accessed 25.03.2019)
- ❖ **Mishra, A.K., Sahu, N., Mishra, A., Ashoke, K., Ghosh, J.S., et Chattopadhyay, P. (2010)** *Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of essential oil of Eucalyptus leaf Pharmacognosy.* Microchemical Journal , 16, P25-28.
- ❖ **Mojca, Škerget., Petra, Kotnik., Majda, Hadolin., Andreja, RižnerHraš., Marjana, Simonič., and Željko, Knez., (2005).** Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Journal microchemical, 89, 191-198.

### N

- ❖ **NA 2208. (1991).** *Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination du point de fusion en tube capillaire ouvert .* Ed : 1. Norme Algérienne.
- ❖ **Nicolas, J., et Billaud, C. (2006).** *Brunissement enzymatique-Prévention.* In «*Les polyphénols en agroalimentaire* Ed : Lavoisier, ISBN : 2-7430-0805-9, pp : 173-196.

### O

- ❖ **O'Brien, R.D. (2009).** *Fats and oils: formulating and processing for applications.* Ed: CRC Press, CRC Press, Taylor et Francis Group, Boca Raton London New York. 744p.
- ❖ **Oyaizu, M. (1986).** *Studies on products of the browning reaction. Antioxidative activities of browning reaction products prepared from glucosamine.* Japanese Journal of Nutrition, 44, 307-315.

### P

- ❖ **Paiva, S., et Russell, M. (1999).** *β carotene and other carotenoids as antioxidants*. Journal of the American college of nutrition.18:426-433.
- ❖ **Pariente, L. (2001).** Dictionnaire des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2ème Ed Académie nationale de pharmacie. Paris. 1643p.
- ❖ **Pincemail, J., Degruene, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N., Defraigne J O. (2007).** *Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs*. Journal of Nutrition clinique et métabolisme, 21(2), pp : 66 -75.
- ❖ **Prior, E. (2003).** *Usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire*. Graille Journal. Edition. Lipides et corps gras alimentaires, p87147.

### Q

- ❖ **Quezel, P., et Santa, S. (1962).** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Ed C.N.R.S. Tome I. 565 p.

### R

- ❖ **Raho, B., Ghalem, M., et Benali, M. (2008).** *Antibacterial activity of leaf essential oils of Eucalyptus globulus and Eucalyptus camaldulensis*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2(10). pp. 211-215, ISSN 1996-0816.
- ❖ **Raju, M., Varakumar, S., Lakshminarayana, R., Krishnakantha, T.P., and Baskaran, V. (2007).** *Carotenoid composition and vitamin A activity of medicinally important green leafy vegetables*. Journal of Food Chemistry 101: 1598–1605.
- ❖ **Ribéreau-Gayon, P. (1968).** *Notion générale sur les composés phénoliques*. « Les composés phénoliques des végétaux ». paris, Ed.:Dunod, pp: 1-27.
- ❖ **Rivera, D., et Obon, C. (1995).** *The ethnopharmacology of Maderia and Porto Santo Islands. A review*. Journal of Ethnopharmacology,46, 73-93.
- ❖ **Rock, C.L., Lovallo, J.L., Emenhier, C., Ruffin, M.T., Flatt, S.W. et Schwartz, S .J. (1998).** *Bio- availability of βcarotene is lower in raw than in processed carrots and spinach in women*. Journal of Nutrition,128,913-916.
- ❖ **Rodriguez-Meizoso, I., Marin, F.R., Herrero, M., Senorans, F.J., Reglero, G., et Cifuentes, A. (2006).** *Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant*

*activity from oregano*. Chemical and functional characterization. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41, 1560-1565.

### S

- ❖ **Saa-kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M.M., et Toth-Markus, M. (2005).** *Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables*. Journal of Food Research International, 38, 1023-1029.
- ❖ **Sayyah, M., Valizadeh, J., et Kamalinejad, M. (2002).** *Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of Laurus nobilis against pentylenetetrazole*. Journal of Phytomedicine, 9, pp: 212-216.
- ❖ **Scalbert, A. (2003).** *Les polyphénols végétaux : des molécules aux atouts multiples*. Laboratoire des Maladies Métabolique et Micronutrimet. INRA, Clermont –Ferrand, pp : 28-29.
- ❖ **Schauenbeg, P., et Paris, F. (1977).** *Guide des plantes médicinales Analyse, description et utilisation de 400 plantes*. ISBN: 2-603-00001-2, pp: 330.
- ❖ **Scherer, R., and Godoy, H.T. (2009).** *Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl methode* . Journal of Food Chemistry, 112(3), pp : 654-658.
- ❖ **Sies, H., et Stahl, W. (1995).** *Vitamins E and C,  $\beta$ -carotène, and other carotinoide as antioxidants*. American Journal of Clinical Nutrition, 62, pp: 1315-1321.
- ❖ **Simic, M., Kundakovic, T., et Kovacevic, N., (2003).** *Preliminary assay on the antioxidative activity of Laurus nobilis extracts*. Journal of Fitoterapia. 74 : 613-616.
- ❖ **Singleton, V.L., and Rossi, J.A. (1965).** *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-Phosphotungstic acid reagents*. American Journal of Enology and Viticulture, 16, pp: 144-158.
- ❖ **Slimani, S. (2009).** *Activité antioxydant et antibactérienne des extraits phénoliques d'une plante médicinale Eucalyptus globulus*. thèse de doctorat en Sciences Alimentaires. Université Abderrahamane Mira bejaia. 75p.
- ❖ **Spichiger, R.E., Savolainen, V.V., Figeat, M., et Jeanmonod, D. (2002).** *Botanique systématique des plantes à fleurs*. Une approche phylogénétique nouvelles des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. ISBN: 2-88074-502-0, pp: 288.

### T

- ❖ **Tremolière, J., et Dupain, H. (1984).** *Manuel de l'alimentation humaine*. Tec & doc, Lavoisier, Paris. Tome 1, tome 2. p 95, 125- 140.

- ❖ **Trémolieres, (1980).***Manuel d'alimentation humaine*. Les bases de l'alimentation Ed. ESF.545pp.

### V

- ❖ **Vankar, P.S., Tiwari, V., and Srivastava, J. (2006).** *Extracts of stem bark of Eucalyptus globules as food dye with antioxidant properties*. Electronic Journal of Environmental, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 5, pp: 1664-1668.
- ❖ **Vazquez,V., Fontenla, E., Santos, J., Freire,M.S., Gonza,J., Ivarez, Lez-A., and Antorrena, G. (2008).***Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (Castanea sativa) shell and eucalyptus (Eucalyptus globulus) bark extracts*. Journal of Industrial crops and products,28, 279–285.
- ❖ **Vetvicka, V., et Matousova, V., (1991).** *Arbres et Arbustes: 256 illustrations en couleurs*. Ed GRÜND. 112.

### W

- ❖ **Wang, J., Yuan, X., Jin, Z., Tian, Y., and Song, H. (2007).** *Free radical and reactive oxygens pecies scavenging activities of peanut skins extract*. Journal of Food Chemistry, 104, pp: 242-250.
- ❖ **Wettasinghe, M., Shahidi, F.,** scavenging of reactive-oxygen sepcies and DPPH free radicls by extracts of borage and evening primrose meals. Journal of Food Chemistry. 70 (2000) 17-26.
- ❖ **Wichtl M. et Anton R. (2003).** *Plantes thérapeutiques*. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Ed : 2<sup>ème</sup> TEC& DOC, ISBN: 2-7430-0631-5, pp: 200-201.

### Y

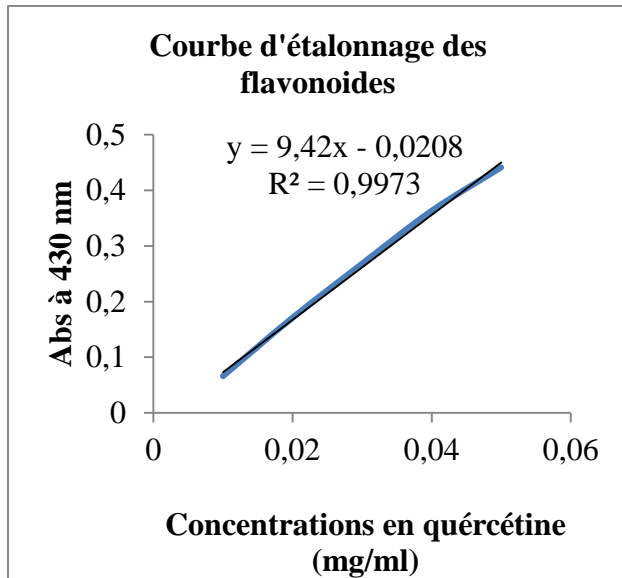
- ❖ **Yakhlef, G., Laroui1, S., Hambaba, L., Aberkane, M.C., Ayachi, A. (2011).** *Évaluation de l'activité antimicrobienne de Thymus vulgaris et de Laurus nobilis, plantes utilisées en médecine traditionnelle*, Journal of microchemical (9), 209-218.

### Z

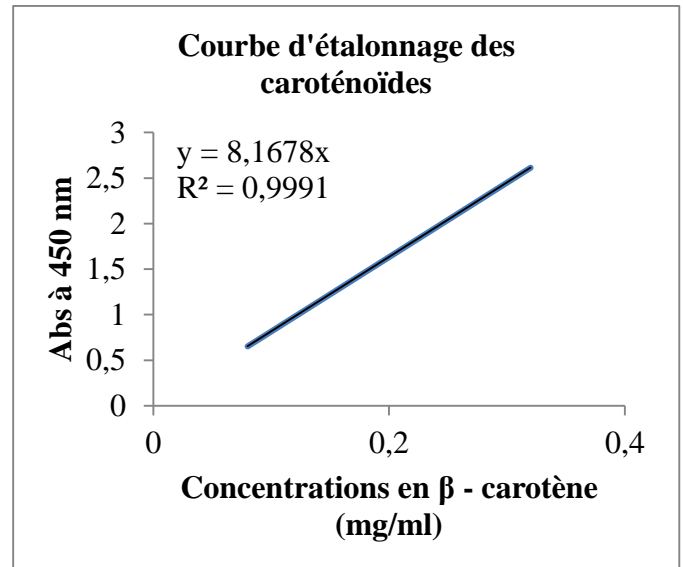
- ❖ **Zeghad, N. (2009).** *Etudes du contenu polyphénoliques de deux plantes médicinales d'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarius officinales) et évaluation de leurs activités antibactériennes* .Thèse de Doctorat. Université Mantouri-Constantine. 56p.
- ❖ **Zhiri, A., Baudoux, D., Breda, M.L. (2005).** *Huile essentielles chémiotypées et leurs synergies*. Ed. Inspir développement. pp : 46

# ***Annexes***

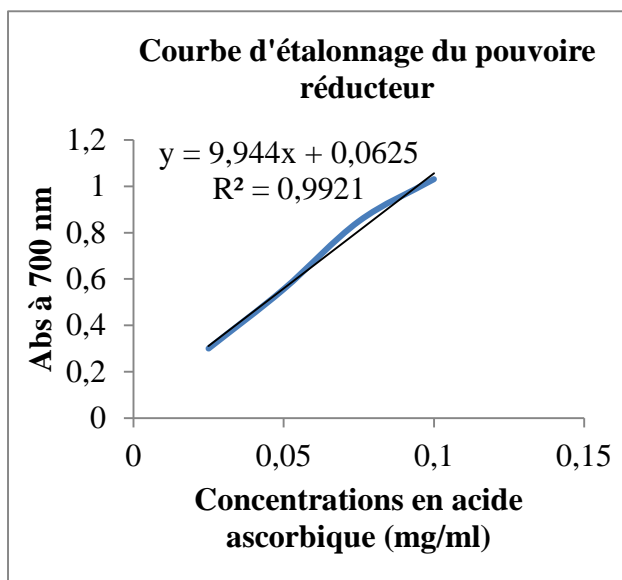




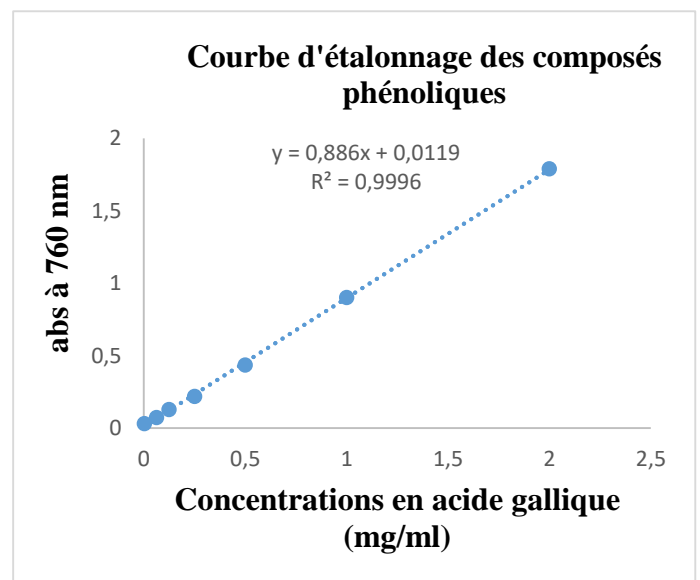
Courbe d'étalonnage des flavonoïdes (a).



Courbe d'étalonnage des caroténoïdes (b).



Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur (c)



Courbe d'étalonnage des composés phénoliques (d).

**Figures I :** Courbes d'étalonnage des flavonoïdes (a), des caroténoïdes (b), du pouvoir réducteur(c) et des composés phénoliques(d).

## Préparation des solutions

### 1- Dosage des composés phénoliques

Tableau I : Préparation des solutions pour le dosage des polyphénols totaux.

Solutions	Préparation des solutions
Solution de Carbonates de Sodium (20%)	20 g de $\text{Na}_2\text{CO}_3$ sont dissoutes dans 100 ml d'eau distillée.

Tableau II : Préparation des solutions pour le dosage des flavonoïdes.

Solutions	Préparation des solutions
Solution d' $\text{AlCl}_3$ (2%)	2g d' $\text{AlCl}_3$ sont dissoutes dans 100ml de méthanol 96%.

### 2- Activité antioxydante

Tableau III : Préparation de la solution 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Solutions	Préparation des solutions
DPPH ( $6.10^{-4}$ M)	0.0018g sont dissous dans 50ml de méthanol.

**Tableau IV : Préparation des solutions pour la détermination du Pouvoir réducteur.**

<b>Solutions</b>	<b>Préparation des solutions</b>
Ferricyanure de K (1%)	1g de Ferricyanure de K dans 100ml d'eau distillée.
Solution de trichloracétique TCA (10%)	10g de TCA dans 100ml d'eau distillée.
Chlorure ferrique $\text{FeCl}_3$ (0,1%)	0,1g de $\text{FeCl}_3$ dans 100ml d'eau distillée.

### 3- Indice de peroxyde

**Tableau V : Préparation de la solution de l'iodure de potassium (KI).**

<b>Solutions</b>	<b>Préparation des solutions</b>
l'iodure de potassium (KI)	15 g de KI dans 100ml d'eau distillée.

### I. Présentation de l'organisme d'accueil

#### I.1. Historique et implantation géographique

Le complexe CO.G.B est implanté dans la zone industrielle de Bejaia. Il s'étend sur une surface de 108,800 m<sup>2</sup> dont 56,500 m<sup>2</sup> sont couvertes.

Lancé au début du XXème siècle sous le nom de S.I.A.N (Société Industrielle de l'Afrique du Nord), l'entreprise démarre par l'extraction de l'huile du grignon d'olive et la fabrication du savon.

C'est en 1940 qu'a démarré le raffinage de l'huile de colza et de l'huile de tournesol. De 1953 à 1967, la société se lance dans la fabrication du savon de ménage, de toilette ainsi que de leur conditionnement.

En 1982, fut créé l'E.N.C.G (Entreprise Nationale des Corps Gras) avec l'unité de production N°07 qui démarrera en 1988.

Le C.O.G.B est née après la restructuration du complexe en 1997 et deux ans plus tard l'unité de fabrication de la margarine a été lancée.

En 2006, avec la privatisation partielle de CO.G.B, 70% passent sous la gestion de «labelle » SPA et 30% restent étatiques.

L'organigramme de l'unité est illustré dans la **figure II**.

#### I.2. Production de l'unité

Le complexe COGB Labelle est conçu pour :

- ❖ La production de l'huile raffinée ;
- ❖ La fabrication de savon de ménage ;
- ❖ La fabrication de savon de toilette ;
- ❖ La production de glycérine pharmaceutique ;
- ❖ La production d'acides gras distillés ;
- ❖ **La fabrication de la margarine.**

#### I.3. Présentation du service de contrôle de qualité

Le service de contrôle de qualité a pour objectif d'améliorer la qualité des produits fabriqués au sein de cette unité. A cet effet, des analyses physico-chimiques sont effectuées sur les matières premières et auxiliaires, sur les produits en cours de fabrication ainsi que les produits finis. Il est composé de 3 laboratoires :

- ❖ Laboratoire des huiles et margarines,
- ❖ Laboratoire de traitement des eaux,
- ❖ Laboratoire de savon.

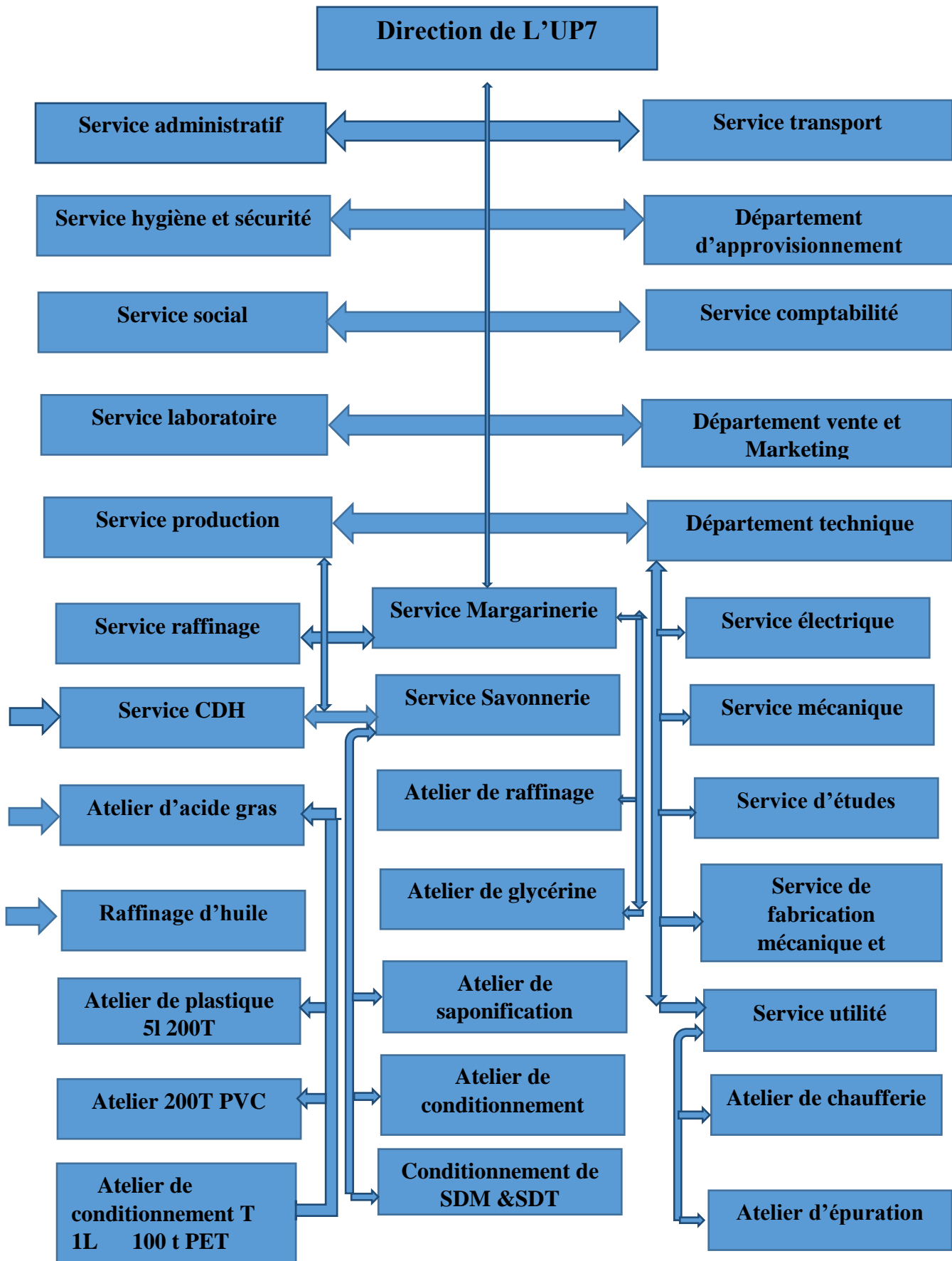


Figure II : Organigramme des départements de production CO.G.B Labelle

**Antioxydant** : agent qui ralentit la dégradation des aliments et de certains matériaux ou composés organiques, due aux effets de l'oxydation.

**Arbre** : Plante ligneuse, à tige ou tronc unique et droit dont la taille est d'au moins 5 à 7 m de hauteur, peut être considérable à l'âge adulte, non rameaux à la base, ne porte pas de branche qu'à partir d'une certaine hauteur au-dessus du sol. Les branches se divisent en rameaux sur lesquels s'attachent les feuilles.

**Arbustes** : Végétal ligneux dont la taille est inférieure à 7 m, produisant un grand rameaux grêles mais présentant, par ailleurs, tous les caractères d'arbre. Les arbustes peuvent être à feuilles caduques ou à feuilles persistantes.

**Cardiovasculaire** : tout ce qui concerne à la fois le cœur et les vaisseaux.

**Feuille** : C'est l'organe principal de la photosynthèse, de la respiration de la transpiration des plantes à son niveau se font les échanges entre le végétal et l'atmosphère.

**Flavonoïde** : Les flavonoïdes sont des composés qui possèdent de fortes propriétés antioxydants.

**Fruit** : Ovaire mûr (habituellement après fécondation) et toute autre structure qui lui est étroitement associée.

**Graine** : Ovule fécondé par le pollen et renfermant l'embryon et ses réserves.

**Ombelle** : type d'inflorescence où les pédoncules (rameaux) partent du même point et sont de longueurs sensiblement égales.

**Oxydation** : réaction au cours laquelle une molécule perd électron

**Réduction** : réaction inverse de l'oxydation, au cours laquelle une molécule réductrice cède des électrons à une molécule oxydante.

**Scavenger** : Terme anglo-saxon signifiant piègeur.

**Vitamine** : substance azoté indispensable, en dose infinitésimales au métabolisme de l'organisme.

## Résumé

La margarine est connue pour sa sensibilité à l'auto-oxydation à cause de la présence des acides gras insaturés, catalysés par la lumière, température et les traces de métaux lourds. Afin de minimiser cette oxydation, l'ajout d'antioxydants est nécessaire. A cette fin, nous avons incorporé des extraits optimisés de *Laurus nobilis* et d'*Eucalyptus globulus* comme antioxydants naturels. Dans ce modeste travail, nous avons procédé à l'extraction des antioxydants par la méthode conventionnelle et d'évaluer l'activité antioxydants de deux plantes : *Laurus nobilis* et d'*Eucalyptus globulus*. La caractérisation phytochimiques de ces dernières ont montré que les extraits optimisés sont riches en polyphénols totaux, flavonoïdes, caroténoïdes. L'activité antioxydante a été réalisée par deux méthodes activités anti-radicalaire et le pouvoir réducteur. Les extraits des deux plantes ont montré un fort pouvoir réducteur et une bonne activité anti-radicalaire. Les margarines incorporées aux extraits optimisés de laurier et l'eucalyptus ont indiqués des caractéristiques physico-chimiques conformes aux normes internes de l'entreprise « CO.G.B ».

*Mots clés : Eucalyptus globulus, Laurus nobilis, optimisation d'extraction, activité antioxydant, antioxydants ,incorporation, margarine, analyse physico-chimique.*

## Summary

Margarine is known for its sensitivity to auto-oxidation due to the presence of unsaturated fatty acids, catalyzed by light, temperature and traces of heavy metals. In order to minimize this oxidation, the addition of antioxidants is required. To this end, we have incorporated optimized extracts of *Laurus nobilis* and *Eucalyptus globulus* as natural antioxidants. In this modest work, we proceeded to extract the antioxidants by the conventional method and to evaluate the antioxidant activity of two plants: *Laurus nobilis* and *Eucalyptus globulus*. Phytochemical characterisation of the latter showed that the optimised extracts are rich in total polyphenols, flavonoids, carotenoids. The antioxidant activity was carried out by two methods anti-radical activities and reducing power. Extracts from both plants showed strong reducing power and good anti-radical activity. The margarines incorporated in the optimized extracts of laurel and eucalyptus indicated physico-chemical characteristics in accordance with the internal standards of the company «CO.G.B».

*Keywords: Eucalyptus globulus, Laurus nobilis, extraction optimization, antioxidant activity, incorporation, margarine, physico-chemical analysis.*