

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences biologiques
Option : Microbiologie Alimentaire et santé



Réf :

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

MASTER

Thème

**Elaboration d'une margarine enrichie en
l'huile d'olive algérienne**

Présenté par :

TRACHI Meryem et ZERGUINI Karima

Soutenu le :

Jeudi 22/06/2017

Devant le jury composé de :

Mr ABACI H.	MAA	Président
Mme LAINCER F.	MAA	Encadreur
Mlle BOKTIT N.	MAA	Examinatrice
Mr DJEMAOUNE L.	Chef du laboratoire de Microbiologie à CEVITAL	Co-promoteur

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Un remerciement exceptionnel à nos parents et à toutes nos familles pour leur soutien, leur présence et leurs encouragements

Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer nos gratitudees à M^{me} LAINCER F. notre promotrice pour son aide, ses conseils et orientations, et pour nous avoir assisté tout au long de notre travail.

Nos remerciements sont également adressés aux membres du jury le président M.ABACI H. et l'examinatrice M^{lle} BOKTIT N. pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à :

Monsieur DJEMAOUNE Lounis notre co-promoteur, chef du laboratoire de microbiologie au sein de l'entreprise «CEVITAL » pour avoir accepté de nous encadrer, nous soutenir, nous rassurer, nous diriger tout au long de ce travail et pour nous avoir fait découvrir des notions très diverses sur ce sujet, qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous adressons nos vifs et sincères remerciements à l'ensemble du personnel de CEVITAL et à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail (ZEROUAL Brahim, HADJAL Samir et ZERGUINI Moussa)

Merci à tous.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

- *A mes très chers parents qui m'ont tout donné. Pour avoir toujours été là pour moi, et pour m'avoir donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*
- *A la mémoire de mon très cher grand-père qui m'a toujours soutenu, paix à son âme.*
- *A mon frère : Syliane*
- *A mes sœurs : Widad, Souhila, Mellissa, Selma à qui je souhaite une vie pleine de bonheur, santé et réussite.*
- *A toute la famille TRACHI, mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines et à ma grand-mère*
- *A mon cher ami Adel qui m'a toujours soutenu*
- *A tous mes amis (es)*

Meryem

Dédicaces

Je dédie ce travail :

- *A mes très chers parents qui m'ont tout donné. Pour avoir toujours été là pour moi, et pour m'avoir donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*
- *A mes frères : Azzedine, Toufik, Moussa, Salim*
- *A mes sœurs : Leïla, Dalia , Malika, Habiba ainsi qu'à mes belles sœurs : Leïla, Hadia, Nessrine à qui je leur souhaite une vie pleine de bonheur, santé et réussite.*
- *A mes neveux*
- *A toute la famille ZERGUINI et FERROUKHI : mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines.*
- *A tous mes amis (es)*

Karima

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction..... 01

Synthèse bibliographique

I. Huile d'olive..... 03

I.1. Définition..... 03

I.2. Classification..... 03

I.3. Composition..... 04

I.3.1. Fraction saponifiable..... 04

I.3.2. Fraction insaponifiable..... 04

I.3.2.1. Les composés phénoliques..... 04

I.3.2.2. Les stérols..... 05

I.3.2.3. Les tocophérols..... 05

I.3.2.4. Substances aromatiques..... 05

I.3.2.5. Les hydrocarbures..... 06

I.3.2.6. Les pigments..... 06

Chlorophylles..... 06

Caroténoïdes..... 06

II. Margarine..... 07

II.1. Définition..... 07

II.2. Composition..... 07

II.2.1. Phase aqueuse..... 07

II.2.2. Phase grasse..... 08

II.3. Processus de fabrication de la margarine..... 09

II.3.1. Préparation de la phase grasse..... 09

II.3.2. Préparation de la phase aqueuse..... 09

II.3.3. Préparation de l'émulsifiant..... 09

II.3.4. Refroidissement et cristallisation..... 09

II.3.5. Stockage..... 09

Partie expérimentale

III. Matériel et méthode

III.1. Analyses effectuées sur l'huile d'olive..... 11

III.1.1. Détermination de l'acidité.....	11
III.1.2. Indice de peroxyde.....	12
III.1.3. Détermination de l'indice d'iode.....	12
III.1.4. Détermination de l'indice de réfraction.....	13
III.1.5. Détermination de la couleur.....	13
III.1.6. Absorbance spécifique dans l'ultraviolet.....	13
III.1.7. Extraction des composés phénoliques.....	13
III.1.8. Dosage des composés phénoliques.....	14
III.1.9. Dosage des pigments.....	14
III.1.10. Composition en acides gras de l'huile.....	15
a) Préparation des esters méthyliques.....	15
b) Dosage qualitatif et quantitatif.....	15
III.1.11. Détermination de l'indice d'amertume.....	15
III.1.12. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH.....	16
III.2. Fabrication des margarines.....	16
III.2.1. Composition de la formulation.....	16
III.2. Fabrication des margarines.....	16
III.2.1. Composition de la formulation.....	16
III.2.2. Préparation du blend.....	16
III.2.3. Procédé de fabrication à l'échelle laboratoire.....	17
III.3. Analyses effectuées sur les margarines produites.....	17
III.3.1. Les analyses physiques.....	18
III.3.1.1. Détermination du taux de solide par RMN.....	18
III.3.1.2. Détermination du point de fusion.....	18
III.3.1.3. Détermination de la teneur en eau.....	18
III.3.2. Analyses chimiques.....	19
III.3.2.1. Détermination de l'indice d'acide.....	19
III.3.2.2. Détermination de l'acidité.....	20
III.3.2.3. Détermination de la teneur en sel.....	20
III.3.2.4. Détermination de l'indice peroxyde.....	21
III.3.2.5. Détermination du pH de la phase aqueuse par la méthode potentiométrique....	21
IV. Analyses microbiologiques.....	22
IV.1. Préparation des échantillons pour l'analyser.....	22

IV.2. Analyses microbiologique effectuées.....	22
V. Résultats et discussions	
V.1. Indices de qualité de l'huile d'olive.....	24
V.1.1. Acidité.....	24
V.1.2. indice de peroxyde.....	24
V.1.3. L'absorbance dans l'Ultraviolet.....	25
V.2. Les indices d'identification d'huile d'olive.....	25
V.2.1. Indice d'iode.....	26
V.2.2. Indice de réfraction.....	26
V.2.3. Couleur.....	27
V.3. Composition en acides gras des huiles.....	27
V.4. Dosage des polyphénols.....	28
V.5. Dosage des pigments.....	29
V.6. Indice d'amertume.....	31
V.7. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH.....	31
V.3. les indices physiques de la margarine.....	31
V.3.1. détermination de taux solide SFC.....	31
V.3.2.Les analyses physico-chimiques de la margarine.....	33
V.3.2.1. L'humidité.....	34
V.3.2.2. Détermination de point de fusion.....	34
V.3.2.3. Détermination du pH de la phase aqueuse par la méthode	35
V.3.2.4. Détermination de l'indice de peroxyde.....	36
V.3.2.5. La teneur en sel.....	37
V.3.2.6. Détermination de l'acidité.....	38
V.4. les analyses microbiologiques.....	38
Conclusion.....	41

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

A.G.I: Acides Gras Insaturés

A.G.M.I : Acides Gras Monoinsaturés

A.G.S: Acides Gras Saturés

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés

AGT: Acides Gras *Trans*

CE : Commission Européenne

CEE : Communauté Economique Européenne

COI: Conseil Oléicole International

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

DPPH : 2,2-DiPhényl-1 PicrylHydrazyl

HO : Huile d'Olive

Ii: Indice d'iode

IP: Indice de peroxyde

ISO: International Standard Organisation

MF1 : Margarine formulation enrichie à 20% d'huile d'olive sans vitamine E

MF2 : Margarine formulation enrichie à 30% d'huile d'olive sans vitamine E

MF3 : Margarine formulation enrichie à 40% d'huile d'olive sans vitamine E

M-std : Margarine standard

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

SFC: Solid Fat Content (Teneur en solides)

UI : unité internationale

UV: Ultraviolet

Liste des Tableaux

Tableau I: Classification des huiles d'olive (COI, 2003).....3

Tableau II : Analyses microbiologique effectuées sur le produit fini.....23

Tableau III: Acidité en pourcentage d'acide oléique (%).....24

Tableau IV: Indice de peroxyde en meq d'O₂ /kg.....24

Tableau V: Valeurs d'extinction spécifique en UV à 232 et 270.....25

Tableau VI: Les indices de qualité de l'huile d'olive.....26

Tableau VII: Composition en acides gras totaux de l'échantillon étudié.....28

Tableau VIII : Résultats d'analyses microbiologiques de margarine à 20 % l'huile d'olive...36

Tableau IX: Résultats d'analyses microbiologiques de margarine à 30 % l'huile d'olive...36

Tableau X: Résultats d'analyses microbiologiques de margarine à 40 % l'huile d'olive...36

Tableau XI : résultats des analyses microbiologiques de la margarine std.....37

Liste des Figures

Figure 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques

Figure 2 : Dosage des chlorophylles et caroténoïdes

Figure 3 : Taux de solide (SFC) des différentes margarines (MF, MF2, MF3 et M std)

Figure 4: Humidité des différentes margarines (MF1, MF2, MF3 et M std)

Figure 5 : Point de fusion des différentes margarines (MF1, MF2, MF3 et M std)

Figure 6 : pH des différentes margarines (MF1, MF2, MF3 et M std)

Figure 7 : Les teneurs en sel des différentes margarines

Figure 8 : L'acidité des différentes margarines (MF1, MF2, MF3 et M std)

INTRODUCTION

Introduction

L'huile d'olive est le signe distinctif du régime méditerranéen (Moreno Esteban et Lezcano Solís, 2015). On la retrouve à travers l'histoire, depuis la civilisation grecque jusqu'à nos jours. Elle est la principale source de matières grasses du régime crétois ou du régime méditerranéen qui sont bien connus pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine. L'huile d'olive est un produit intéressant d'un point de vue nutritionnel vue sa composition en acides gras. En effet, elle est insaturée et contient une petite partie d'acides gras essentiels (Boskou et *al.*, 2006). Outre cette composition particulière en acides gras, l'huile d'olive est surtout intéressante pour ses composés minoritaires tels que les polyphénols. L'intérêt nutritionnel de ces composés phénoliques réside dans leur forte capacité antioxydante qui pourrait prévenir ou ralentir l'apparition de certaines maladies dégénératives ainsi que les maladies cardiovasculaires (Ghedira, 2008).

Dans la fraction insaponifiable de l'huile d'olive extra vierge, se trouve l'alpha-tocophérol, la forme la plus active de la vitamine E (Boskou et *al.*, 2006), l'huile d'olive est utilisée depuis des siècles dans la fabrication des cosmétiques comme une source importante de vitamine E, nécessaire au maintien de l'élasticité cutanée. Elle est fréquemment utilisée en application externe pour améliorer et entretenir l'élasticité des cheveux, ils sont ainsi moins secs et moins cassants (Bernabé et Puron, 2015). En nutrition, une consommation quotidienne de 25 g d'huile d'olive extra vierge apporte environ de 25 % en vitamine E recommandée pour l'homme. On considère que l'huile d'olive extra vierge contient environ 12mg/100g de vitamine E (Edelfelt, 2015).

Actuellement, le verger oléicole traditionnel occupe seulement 1,3% de la surface de l'Algérie. La cueillette est majoritairement destinée à la production de l'huile d'olive qui avoisine les 20 000 tonnes par an en moyenne. Une large partie de la production est destinée à l'autoconsommation. La structure variétale montre la prédominance de trois variétés produisant des huiles ayant des caractéristiques particulières: *Azeradj*, *Bouchouk* et *Chemlal* particulièrement la variété *CHEMLAL* de Kabylie (30% des superficies totales et 44% des terres destinées à l'huile d'olive (Hadjou et *al.*, 2013).

La maîtrise de l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire. Parmi ces produits alimentaires on distingue la margarine (Himed et Barkat, 2014).

La margarine est conçue pour répondre aux exigences de saveur, de plasticité et de tartinabilité en combinant un mélange d'huile avec une phase aqueuse (Carr et Vaissey-Genser, 2003). Inventée en 1869 par Mège-Mouriès, pour trouver une alternative économique au beurre. L'industrie de la margarinerie modernise l'image du produit en formulant des produits qui répondent aux désirs des consommateurs pour des produits "sains pour le cœur", avec des teneurs faibles en acides gras saturés et les acides gras trans (Morris et Vaissey-Genser, 2003). Le choix de l'huile d'olive, pour l'incorporer dans la margarine semble être une solution afin de remplacer la tocophérol synthétique, en outre sa richesse en acides gras monoinsaturés et composés phénoliques peuvent protéger la margarine de l'auto-oxydation. L'huile d'olive utilisée dans notre expérimentation est une huile commerciale de la région de Seddouk (Bejaia) et sa marque commerciale est (Blady). Le choix de cette huile est basé sur sa classification, qui la définit étant une huile d'olive extra vierge et commercialisée.

Ce travail s'est focalisé sur l'analyse de huile d'olive (blady) : détermination des indices de qualité de l'huile d'olive, composition en acides gras, dosage des composés phénoliques, indice d'amertume, évaluation de l'activité antioxydante de l'huile d'olive, et surtout sur l'élaboration d'une margarine à l'échelle laboratoire au niveau de CEVITAL, enrichie en trois pourcentage d'huile d'olive (20%, 30% et 40%) suivie d'analyses physico-chimiques et microbiologiques.

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

I. L'huile d'olive

I.1. Définition

Le conseil oléicole international (COI, 2003) définit l'huile d'olive vierge comme étant l'huile provenant uniquement du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) par des procédés mécaniques ou autres procédés physiques et dans des conditions, notamment thermiques, n'entraînant pas l'altération de l'huile, à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature.

I.2. Classification

Parmi les huiles d'olive, on distingue différentes catégories qui sont consignées dans le tableau suivant:

Tableau I: Classification des huiles d'olive (COI, 2003)

1. Huile d'olive vierge.	1.1 Huile d'olive vierge propre à la consommation.	1.1.1 Huile d'olive vierge extra.	Acidité oléique inférieure ou égale à 1% et/ou note au test organoleptique supérieure ou égale à 6,5.
		1.1.2 Huile d'olive vierge (fine).	Acidité oléique inférieure ou égale à 2% et/ou note au test organoleptique supérieure ou égale à 5,5.
		1.1.3 Huile d'olive vierge courante.	Acidité oléique inférieure ou égale à 3,3% et/ou note au test organoleptique supérieure ou égale à 3,5.
	1.2 Huile d'olive vierge lampante.	Acidité oléique supérieure à 3,3% et/ou note au test organoleptique inférieure à 3,5.	
2. Huile d'olive raffinée.			Huile obtenue à partir d'huile d'olive vierge par des méthodes de raffinage qui n'altèrent pas la structure de l'huile.
3. Huile d'olive.			Mélange d'huile raffinée et d'huile vierge pour la consommation.
4. Huile de grignons d'olive.	4.1 Huile de grignons d'olive brute		Huile obtenue à partir des grignons à des fins de consommation.
	4.2 Huile de grignons d'olive raffinée.		Huile obtenue par extraction de l'huile brute sans altérer la structure de l'huile.
	4.3 Huile de grignons d'olive.		Huile obtenue par mélange des huiles brutes et raffinées.

I.3. Composition de l'huile d'olive

La composition chimique de l'huile d'olive contient des éléments majeurs et mineurs. L'huile d'olive possède une composition nutritionnelle équilibrée en acides gras et en triglycérides (Rossi *et al.*, 2001). La fraction saponifiable est majoritaire (98%) alors que la fraction insaponifiable se retrouve en faible portion (2%). Cette dernière offre à l'huile ses propriétés sensorielles et biologiques distinctes (Pinelli *et al.*, 2003 ; Murkovic *et al.*, 2004).

I.3.1. Fraction saponifiable

La fraction saponifiable (majeure), est composée de triglycérides, diglycérides et d'acide gras libres. Les principaux acides gras présents sous forme de triglycérides dans l'huile d'olive sont l'acide oléique, l'acide linoléique, l'acide palmitique et l'acide stéarique. Les acides oléiques (C18:1) sont présents à des concentrations élevées comparant aux autres acides gras (55-83%) (Tarakowski *et al.*, 2014). Les valeurs nutritionnelles de l'huile d'olive sont liées à sa teneur élevée en acides gras monoinsaturés, principalement représentée par l'acide oléique (Servili *et al.*, 2013). Selon Veillet *et al.*, (2009), l'huile d'olive est une source importante d'acides gras essentiels qui ne peuvent pas être synthétisés par le corps humain.

I.3.2. Fraction insaponifiable

C'est la fraction non huileuse ou de composés mineurs, représente environ 1 à 1,5% du total de l'huile. Les composés mineurs de l'huile d'olive extra vierge sont les stérols, les tocophérols, le squalène et les composés phénoliques qui lui confèrent ces caractéristiques uniques sur le plan nutritionnel et organoleptique. Il s'agit de substances très hétérogènes, à faibles concentrations responsables de la couleur, du goût et l'arôme caractéristiques de l'huile d'olive (Moreno Esteban et Lezcano Solis, 2015).

Les constituants mineurs de l'huile d'olive sont des indicateurs de son authenticité (Harwood et Aparicio, 2000), de même que ses caractéristiques sensorielles (Ollivier *et al.*, 2007).

I.3.2.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont les antioxydants les plus abondants dans l'huile d'olive, les classes couramment retrouvées sont : les alcools phénoliques, les acides phénoliques, les

flavonoïdes, les lignanes et les secoiridoïdes. L'huile d'olive renferme plus de 30 composés phénoliques (Tuck et Hayball, 2002).

Les antioxydants les plus puissants sont représentés par les *ortho*-diphénols, dont les principaux sont : l'hydroxytyrosol, l'acide caféique ainsi que les dérivés de l'oléuropéine. L'hydroxytyrosol, ayant le meilleur pouvoir antioxydant (Del Carlo et al., 2004). L'huile d'olive est quasiment la seule huile contenant des quantités notables de substances phénolique naturelles, qui lui confèrent son goût si particulier à la fois amer et fruité et contribuent à la bonne stabilité de l'huile à l'autooxydation (Perrin, 1992; Ollivier et al., 2004; Tura et al., 2007).

I.3.2.2. Les stérols

Les stérols représentent les majeurs constituants de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive, environ 20% (Matos et al., 2007a).

L'huile d'olive est la seule huile végétale qui contient un taux particulièrement élevé de β -sitostérol, substance qui s'oppose à l'absorption intestinale du cholestérol (Osland, 2002). La composition stérolique est spécifique pour chaque espèce végétale. Plusieurs études ont identifiés trois principaux stérols dans les huiles d'olive: le β -sitostérol, le campestérol et le stigmastérol (Ben Temime et al, 2008).

Selon Canàbate-Díaz et al, (2007), la composition stérolique peut varier avec les conditions agronomiques ainsi que les conditions de conservation de l'huile.

I.3.2.3. Les tocophérols

Les tocophérols sont des composés importants de l'huile d'olive, en raison de leur contribution à sa stabilité oxydative et ses qualités nutritionnelles (Gimeno et al., 2002). La teneur totale en tocophérols dans les huiles d'olive est très variable (Boskou et al., 2006). On distingue quatre types de tocophérols dans l'huile d'olive : α -, β -, γ - et δ -tocophérol (Ghanbari et al., 2012). L' α -tocophérol est l'analogue ayant l'activité biologique la plus élevée, c'est l'analogue le plus dominant dans l'huile d'olive vierge (Boskou et al., 2006 ; Grigoriadou et al.,2007).

I.3.2.4. Les substances aromatiques

Il existe de nombreux éléments qui confèrent à l'huile d'olive ses caractéristiques organoleptiques. Il s'agit notamment d'hydrocarbures, d'alcools, d'aldéhydes, des cétones, d'éthers, d'esters et des furanes (Angerosa et al., 2004). Ils sont principalement générés

par la voie de lipoxygénase par oxydation des acides gras polyinsaturés (les acides linoléique et linoléique), induisant ainsi à la formation des principaux aldéhydes C 6 , alcools et esters dans l'huile d'olive (Sánchez et Harwood, 2002).

I.3.2.5. Les hydrocarbures

L'huile d'olive contient des hydrocarbures qui est le squalène (C₃₀ H₃₅) qui représente 500 à 780mg/100g d'huile d'olive (Visioli et Galli, 2002). C'est un hydrocarbure polyénique dont la teneur est plus élevée que dans n'importe quelle autre huile végétale ou animale. Le squalène est un précurseur métabolique du cholestérol et autres stérols (Samaniego-Sanchez et *al*, 2007).

I.3.2.6. Les pigments

La couleur est la caractéristique importante de l'huile d'olive vierge, elle est directement liée aux pigments chlorophylliens et les caroténoïdes (Douzane et Bellal, 2005).

➤ Les caroténoïdes

Le pigment caroténoïde surtout présent dans l'huile d'olive est le β -carotène (provitamine A) (Kataja-Tuomola, 2008). Le β -carotène présente une action antioxydante. Les facteurs biologiques et technologiques, le système d'extraction, le mode et la durée de conservation et particulièrement la maturation du fruit influent sur la composition en pigments caroténoïdes de l'huile d'olive (Criado et *al.*, 2008).

➤ Les chlorophylles

Chlorophylles sont des composés responsables de la couleur d'huile d'olive (Visioli et *al.*, 2002), la teneur varie entre 0,1 à 1 mg/100g dont 20 à 40% de pheophytine b, de chlorophylle a et b (Uzzan, 1992). Les pigments chlorophylliens dans les huiles végétales sont doués d'un pouvoir photosensibilisateur il peut aboutir à la formation d'hydroperoxydes (Judde, 2004; Ben Tekaya et Hassouna, 2005).

II. La margarine

II.1. Définition

La margarine est une émulsion de type eau dans l'huile W/O (water/oil), qui comprend deux phases essentielles :

- Une phase interne ou continue : phase grasse.
- Une phase externe ou discontinue : phase aqueuse.

La margarine contient également des additifs liposolubles répartis dans la phase grasse : lécithine, monoglycérides, colorants, arômes naturels ou synthétiques, vitamines et des additifs hydrosolubles : sel, lait, sorbate de potassium et acide citrique répartis dans la phase aqueuse (Karleskind, 1992).

II.2. Composition de la margarine

La margarine comprend deux phases aqueuse et grasse, elle contient des additifs (lécithine, mono glycérides, sel, colorant, antioxydants, conservateurs, vitamines) répartis dans la phase grasse et dans la phase aqueuse (Faur, 1992).

II.2.1. La phase aqueuse

Elle représente 16% à 18% de la composition globale de la margarine, elle comprend de l'eau et /ou du lait. Le lait développe un arôme agréable voisin de celui du beurre (Trémolieres, 1980). L'eau est le constituant le plus important de la phase aqueuse de la margarine. Elle doit être pure, et stérile (Faur, 1992).

II.2.1.1. Le sel

Il est ajouté pour améliorer la sapidité de la margarine, mais il peut jouer un rôle protecteur (bactériostatique). La teneur en sel peut varier de 0,1 à 0,2% (Faur, 1992).

II.2.1.2. Les conservateurs (l'acide sorbique "E200")

L'acide sorbique est un acide faible, il présente un bon effet fongistatique, il convient à la conservation des aliments. L'action inhibitrice est fonction de la concentration en acide, elle augmente quand le pH diminue. L'acide sorbique est fongistatique, mais s'avère parfois être bactériostatique inhibant *Escherichia coli*, il est utilisé en général avec des quantités de 0.4 à 0.8g/Kg (Faur, 1992).

II.2.1.3. Le correcteur de pH

L'acide citrique "E330" est un antioxydant puissant, il contrôle le pH de la phase aqueuse. Une valeur basse de ce dernier freine la croissance des microorganismes (Faur,

1992).

II.2.2. la phase grasse

- La phase grasse représente la partie la plus importante de l'émulsion 82 à 84%, constituée essentiellement d'un mélange d'huile et de graisses animales ou végétales en l'état et /ou modifiées (Faur, 1992).

II.2.2.1. Les antioxydants

Ce sont des substances qui prolongent la durée de la conservation des denrées alimentaires en les protégeant des altérations provoquées par l'oxydation tels que le rancissement de la matière grasse et les modifications de la couleur (Faur, 1992).

Les antioxydants utilisés sont : BHT (butyle- hydroxytoluène ou " E321"), et le BHA (butyle- hydroxy-anisol ou " E320 ") (François, 1974).

II.2.2.4. Les émulsifiants

Ce sont des substances qui sont ajoutées à une denrée alimentaire, permettent de réaliser ou de maintenir le mélange homogène de deux ou plusieurs phases non miscibles telles que l'huile et l'eau. Leur structure chimique étant composée à la fois de groupes hydrophiles et lipophiles (Faur, 1992). Les plus utilisés sont : les monoglycérides d'acide gras et la lécithine.

II.2.2.5. Agents colorants

La couleur de la margarine, assez voisine de celle du beurre est obtenue soit par addition d'huile de palme rouge, ou de β carotène. Cette couleur est en relation avec la teneur en carotène de la phase grasse (Faur, 1992).

II.2.2.6. Les arômes

Les margarines sont souvent aromatisées par le diacétyl arôme naturel ou le butanedione 1,3 de synthèse (FDA, 1993 *In Koca et al.*, 2010).

II.2.2.7. Les vitamines liposolubles

- **Vitamine A**

Leur utilisation a pour but de réduire les risques de carence en vitamine A du fait de remplacement partiel du beurre par la margarine. Dans certains pays européens la vitamine A est introduite aux 20 à 30 UI par gramme de produit (Faur, 1992).

- **Vitamine D**

L'addition de vitamine D avec une quantité de 2 à 3 UI par gramme de produit, sans oublier toutefois qu'une quantité excédentaire par rapport aux quantités nécessaires peut

conduir à des ennuis graves (Faur, 1992).

III. Processus de fabrication de la margarine (Karleskind, 1992)

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

III.1. Préparation de la phase grasse

Constituée des matières grasses de différents points de fusion soit raffinées et/ou modifiées par hydrogénation, interstérification ou fractionnement, et des ingrédients liposolubles lécithine, monoglycérides et colorants, vitamines et β carotène (Karleskind, 1992).

III.2. Préparation de la phase aqueuse

On utilise de l'eau, potable adoucie pour éliminer les ions métalliques catalyseurs d'oxydation et les substances toxiques et une pasteurisation pour éliminer les microorganismes, lait (préalablement pasteurisé), sel, sucre, arôme, conservateurs correcteur de pH...etc (Karleskind, 1992).

III.3. Préparation de l'émulsion

Les deux phases grasse et aqueuse seront mélangées dans un bac d'émulsion muni d'un agitateur et maintenu à une température de l'ordre 50 à 55°C de manière à obtenir une émulsion la plus homogène possible. De manière à lui conférer les caractéristiques rhéologiques espérées et la stabilité désirée (Karleskind, 1992).

III.4. Refroidissement et cristallisation

Le conditionnement prépare le produit à la vente, enveloppé dans un emballage adéquat répond aux exigences Codex Alimentaire OMS.

L'émulsion qui a une température de 40°C à 50°C est pompée à haute pression vers le refroidisseur tubulaire "système perfector" qui est sous forme de tube à double parois, l'émulsion circule à l'intérieur où elle est mélangée par un agitateur et l'ammoniac à une température de - 10° C à - 20° C (Karleskind, 1992).

III.5. Stockage :

Le produit va séjourner dans une chambre froide à une température 6 à 8 °C où la stabilité du produit se poursuit. (Karleskind, 1992).

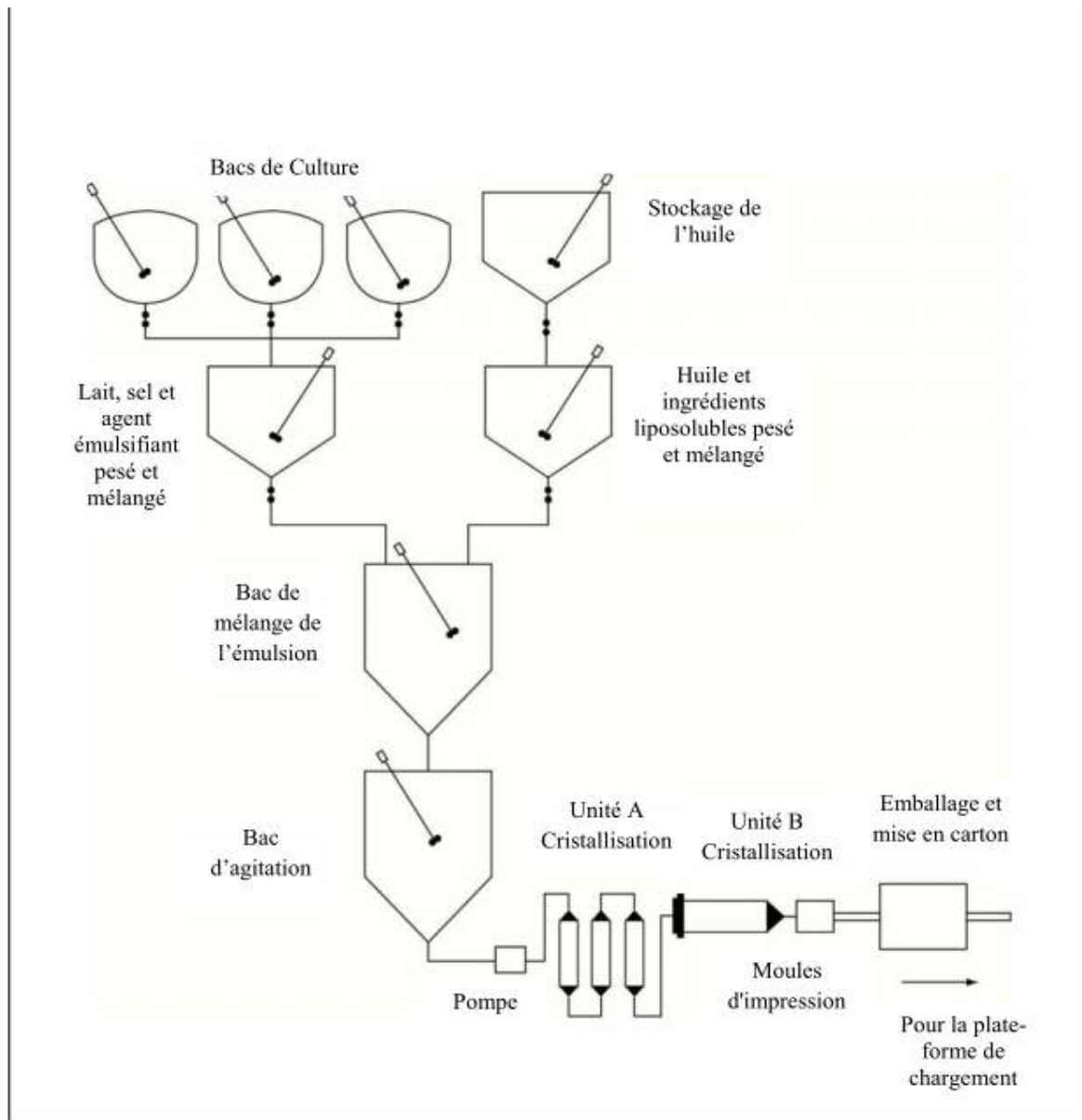


Figure 1: Diagramme de la fabrication de la margarine (Wiedermann, 1978).

MATÉRIEL ET MÉTHODE

III. Matériel et méthodes

La présente étude porte sur trois types de margarines de table (Fleurial) élaborées au niveau de l'industrie agroalimentaire « CEVITAL » :

MF1 : Margarine formulation enrichie à 20% d'huile d'olive sans vitamine E.

MF2 : Margarine formulation enrichie à 30% d'huile d'olive sans vitamine E.

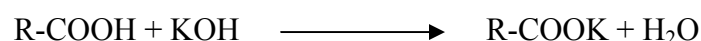
MF3 : Margarine formulation enrichie à 40% d'huile d'olive sans vitamine E.

L'huile d'olive utilisée est une huile récupérée au niveau de l'huilerie moderne (à trois phases) de Khodja située à Seddouk (Bejaia), le nom commercial de cette huile d'olive est «Blady» extraite de la variété *Chemlal*. Elle est vendue dans des flacons en verre fumés et bouchon scellé.

III.1. Analyses effectuées sur l'huile d'olive

III.1.1. Détermination de l'acidité

L'acidité qui mesure le pourcentage en acides gras libres est déterminée selon la méthode décrite dans le règlement CEE/2568/91 relatif aux caractéristiques des olives et des huiles de grignons d'olives ainsi qu'aux méthodes d'analyses y afférentes. Le principe de la méthode consiste en un titrage des acides gras libres présents par une solution d'hydroxyde de potassium selon la réaction suivante :



Un échantillon d'huile de 5 ml est solubilisé dans 20 ml d'un mélange (V/V) d'oxydediethylique-ethanol à 95%. Le mélange est titré, sous agitation, avec une solution d'hydroxyde de potassium à 0,1N jusqu'à avoir un virage de l'indicateur coloré (la phénolphthaléine), vers le rose persistant pendant au moins 10 secondes. L'acidité est exprimée en pourcentage de masse d'acide oléique, elle est égale à :

$$\text{A \% (d'acide oléique)} = (V - V_0) * (N * M / 10 * m)$$

V et V₀ : volume en ml de KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon et le blanc, respectivement ;

N : normalité de l'hydroxyde de potassium ;

M : masse molaire g/ml de l'acide oléique qui est égale à 282 g/ml ;

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

III.1.2. Indice de peroxyde :

L'indice de peroxyde représente la quantité des substances de l'échantillon exprimée en meq d'O₂ actif /Kg d'huile d'olive, qui oxydent l'iodure de potassium. Selon le règlement CEE /2568/91. La méthode consiste en un traitement d'une quantité d'huile en solution dans l'acide acétique et le chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI), le titrage d'iode libéré se fait par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré jusqu'à la décoloration. En présence d'oxygène de l'air, les acides gras insaturés entrant dans la composition des corps gras s'oxydent partiellement en donnant des peroxydes.

Un échantillon de 2 g d'huile est introduit dans une fiole à col rodé, 10 ml de chloroforme sont ajoutés, sous agitation, afin de dissoudre l'huile, suite à 15 ml d'acide acétique glacial et 1 ml d'iodure de potassium saturé sont ajoutés, la fiole est bouchée rapidement, sous agitation vigoureuse pendant 1 minute et laissée à l'obscurité pendant 5 min à température ambiante. 75 ml d'eau distillée sont ensuite ajoutés ainsi que quelques gouttes d'empois d'amidon, le tout est titré avec le thiosulfate de sodium (Na₂ S₂ O₃) à 0,01N sous agitation vigoureuse. L'indice de peroxyde est donné par l'expression ci-après :

$$IP = N (V-V_0) * 1000/m \text{ (meq d'O}_2 \text{ /Kg d'HO)}$$

N: normalité Na₂S₂O₃;

V, V₀: volume en ml de Na₂S₂O₃ nécessaire pour le titrage de l'échantillon et de l'essai à blanc, respectivement ;

m: masse en gramme de la prise d'essai.

III.1.3. Détermination de l'indice d'iode (NE.1.2.96, 1988)

Il correspond à la masse d'halogène exprimée en gramme, calculée en I₂ fixé sur les doubles liaisons de 100 g d'huile d'olive. On dispose de solvant tétrachlorure de carbone CC14 et de réactif Wijis. Dans un ballon un échantillon (huile) est mis en solution dans 25 ml de solvant et 20 ml de réactif de Wijis. Le ballon est ensuite bouché, mélangé et laissé à l'obscurité pendant 30 min d'incubation, 3g de KI dissout dans 20 ml d'eau distillée sont

rajoutés et le tout est bien mélangé. Quelques gouttes d'une solution d'amidon sont additionnées et titrage au thiosulfate de sodium à 0,1N.

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

$$I_i = (V_0 - V_x) * N * 12.96 / m$$

V_0 (ml) : Essai à blanc ; V_x (ml) : Essai échantillon

N (mole / l) : Normalité ; m (g) : prise d'essai.

III.1.4. Détermination de l'indice de réfraction (ISO 6320,2000)

L'indice de réfraction d'une substance est le rapport de la vitesse de la lumière à une longueur d'onde définie dans le vide à sa vitesse dans la substance, il varie avec la longueur d'onde de la lumière incidente et avec la température. Son principe consiste à mesurer à l'aide d'un réfractomètre convenable, l'indice de réfraction de l'échantillon liquide ou solide à une température constante. Quelques gouttes d'huile à analyser sont déposées entre les deux prismes du réfractomètre, la valeur de l'indice de réfraction est lue directement sur le réfractomètre.

III.1.5. Détermination de la couleur (ISO 15305 1ère édition, 1998)

La couleur d'un aliment est souvent liée à sa maturité, à la mise en œuvre appropriée ou défectueuse d'un traitement technologique, à de mauvaises conditions d'entreposage ou un début de détérioration. Pour cette détermination un colorimètre électronique « Lovibond » est utilisé. L'échantillon d'huile à analyser est versé dans une cellule en verre de cinq et ¼ pouces (1 pouce = 2,54 cm). La valeur de la couleur est directement lue sur l'appareil. Les résultats sont déterminés en unités jaune(J) et rouge (R).

III.1.6. Absorbance spécifique dans l'Ultraviolet

Les absorbances à 232 nm et 270 nm d'un corps gras renseignent sur son degré d'oxydation. Le coefficient d'absorption est déterminée selon la méthode décrite par COI (1996).

Après filtration des échantillons d'huiles à travers le sulfate de sodium anhydre, une masse de 0,25g est introduite dans une fiole de 25ml et le cyclohexane est ajoutée jusqu'au trait de jauge. L'absorbance est mesurée à deux longueurs d'ondes 232 nm et 270 nm.

III.1.7. Extraction des composés phénoliques

L'extraction des composés phénoliques est réalisée suivant le protocole de Tsimidou et collaborateurs (1992) modifié. Cinquante grammes d'huile sont dissout dans 50 ml d'hexane, cette solution est introduite dans une ampoule à décanter ou 30 ml du mélange méthanol/eau (80/20) sont ajoutés, le mélange est agité vigoureusement durant 5 min puis laissé décanter, la phase polaire (phase méthanolique) contenant les composés phénoliques est récupérée, tandis que la phase apolaire subit une 2ème et une 3ème extraction pour récupérer la fraction phénolique restante. Chaque fraction polaire récupérée subit un lavage avec 50 ml d'hexane.

III.1.8. Dosage des composés phénoliques

L'estimation de la teneur en composés phénoliques a été réalisée selon la méthode au Folin-Ciocalteu (diffèrent du composé utilisé pour le dosage des protéines) utilisée par Favati et collaborateurs (1994).

Dans des fioles de 20 ml, sont mélangés 2 ml d'extrait méthanolique, 5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min, 4 ml de solution de carbonate de sodium (10%) sont ajoutés, ensuite ajustés à 20 ml avec de l'eau distillée. Après 90 min d'incubation à l'obscurité, le mélange est filtré et l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 765 nm.

La concentration en composés phénoliques des extraits de l'huile est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les concentrations en polyphénols totaux des extraits méthanoliques d'huile d'olive sont exprimées en mg d'E.A.G./Kg.

III.1.9. Dosage des pigments

Le protocole suivi pour le dosage des fractions chlorophylliennes et des caroténoïdes est celui de Minguez-Mosquera et collaborateurs (1991). Un échantillon de 7,5g d'huile d'olive est ajusté à 25ml avec le cyclohexane. Le maximum d'absorption à 670 nm renseigne sur la fraction chlorophyllienne et à 470 nm sur les caroténoïdes.

La valeur du coefficient d'absorption spécifique est $E_0 = 613 \text{ l.g}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ pour la phéophytine comme composant majeur des chlorophylles, et $E_0 = 2000$ pour la lutéine comme caroténoïde majeur. Ainsi le contenu en pigments est déterminé selon les deux équations suivantes :

$$\text{Chlorophylle (mg.kg}^{-1}\text{)} = A_{670} * 10^6 / 613 * 100 * T$$

$$\text{Caroténoïdes (mg.kg}^{-1}\text{)} = A_{470} * 10^6 / 2000 * 100 * T$$

III.1.10. Composition en acides gras des huiles

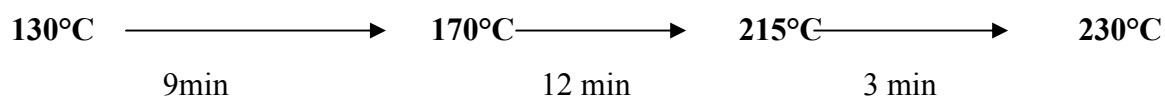
a) Préparation des esters méthyliques

Les esters méthyliques sont préparés suivant la méthode E.C. (2002). Une aliquote de 0,5gd'huile est dissoute dans 5ml d'hexane pour chromatographie, à laquelle sont ajoutés 0,5 ml d'une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium (2 N). Le tout est agité pendant 30 secondes, puis centrifugé à 3000 tours/min pendant 5 minutes. 2 gouttes du surnageant sont prélevées et mélangées avec 1ml d'hexane.

b) Dosage qualitatif et quantitatif

Un volume de 1 μl des esters méthyliques est injecté sur une colonne chromatographique en phase gazeuse de type Chrompack C 9002 dont les conditions d'analyse sont décrites ci après :

- Injecteur : SPLIT 1/100 ;
- Colonne capillaire DB 23 : (longueur : 30, diamètre intérieur : 0,32 mm et épaisseur : 0.25 μm);
- Gaz vecteur : Hydrogène ;
- Détecteur : FID ;
- Températures : (injecteur : 250 °C, détecteur : 250 °C et le four : 200°C) ;
- Débit: 0.5 cm/min ;
- Programme (gradient de température).



Les acides gras sont identifiés en fonction de leur temps de rétention au niveau de la colonne par comparaison à des acides gras étalons. La quantité de chaque acide gras est donnée en % d'acide gras totaux.

III.1.11. Détermination de l'indice d'amertume

Le protocole de Gutiérrez Rosales *et al.*, (1992) a été adopté pour déterminer l'indice d'amertume (K225). Ce dernier est évalué par extraction des composés amers d'un échantillon de 1 g d'huile filtrée, dissout dans 4ml d'hexane puis passé à travers une colonne C18 préalablement activée avec 6ml de méthanol et 10ml d'hexane. La colonne est ensuite lavée avec 10 ml d'hexane pour éliminer toutes traces de gras et la fraction polaire retenue est diluée avec 25ml de méthanol à 95%. L'absorbance est mesurée à 225 nm contre un blanc qui est le méthanol.

III.1.12. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH

L'évaluation de l'activité antiradicalaire des d'huiles est déterminée selon le protocole décrit par Ramadan et Moersel, (2006). Cette méthode tire profit de la décoloration de la solution contenant le radical DPPH lors de sa réduction par les antioxydants.

Un volume de 3,9 ml de la solution DPPH (2,2-diphényl-1-pecrylhydrazyle) préparée dans du toluène (10⁻⁴M) est additionnée d'un volume de solution d'huile diluée dans du toluène à différentes concentrations (0,05 – 0,8 g/ml). Le mélange est agité pendant 10 secondes au vortex et l'absorbance est lue après 60 min à 515 nm.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé par la formule suivante :

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

Ac : Absorbance du dpph;

Ae : Absorbance de l'échantillon.

III.2. Fabrication des margarines

III.2.1. Composition de la formulation

La formulation des trois margarines à tartiner est confectionnée à base d'un mélange de graisses végétales (coprah et soja) et de trois huiles qui sont : l'huile de tournesol, l'huile

de palme et l'huile d'olive. L'huile d'olive est utilisée à trois pourcentages différents (20%, 30%, 40% de la masse totale du mélange utilisé). Le blend des trois margarines précédentes est additionné d'additifs liposolubles et hydrosolubles.

III.2.2. Préparation du blend

La formulation de cette recette répond au profil type d'une margarine à tartiner, de composition globale 82% de matière grasse et 18% de la phase aqueuse, les constituants des deux phases sont comme suit :

- La phase grasse est constituée du blend d'huiles citées ci-dessus avec des dosages différents d'huile d'olive (20%, 30%, 40%) et des émulsifiants de type acide mono-lactique et lécithine de soja pour les trois formulations.
- La phase aqueuse est constituée d'eau osmosée traitée aux ultraviolets, du lait à 0% en matières grasses et d'additifs hydrosolubles : un exhausteur de goût (sel), un conservateur qui est le sorbate de potassium (E202) et un correcteur de pH qui est l'acide lactique.

III.2.3. Procédé de fabrication à l'échelle laboratoire

Préparation de la phase grasse

Le blend des trois margarines est préparé dans trois récipients en Inox. D'abord, une masse d'émulsifiant est pesée dans un récipient vide, après chauffage, les huiles végétales sont ajoutées dans chaque récipient. L'homogénéisation est réalisée à l'aide d'un agitateur magnétique.

Préparation de la phase aqueuse

La phase aqueuse des trois margarines est préparée dans trois bechers en respectant les mêmes quantités de chaque ingrédient pour les trois formulations. Ces constituants sont : l'eau ; poudre de lait à 0% en matières grasses ; sorbate de potassium (E202); acide lactique et sel.

Les deux phases (aqueuse et grasse) de chaque formulation (MF1, MF2, MF3) sont mélangées en versant doucement la phase aqueuse sur la phase grasse sous agitation pendant 5 min avec chauffage.

- ❖ Les récipients contenant le produit fini (MF1, MF2 et MF3) sont refroidis avec de l'eau glacée sous agitation manuelle jusqu'à obtention d'un produit visqueux.
- ❖ La margarine est par la suite versée dans des barquettes de 500g en plastique et mise au réfrigérateur pendant quelques minutes pour solidification.
- ❖ Le stockage est réalisé à l'air libre au niveau du laboratoire de physico-chimie.

III.3. Analyses effectuées sur les margarines produites

L'analyse des caractéristiques physico-chimiques présente un rôle très important dans le contrôle de qualité de la margarine, d'où la nécessité qu'elle soit exercée à la fois au cours de la fabrication et sur le produit fini.

III.3.1. Analyses physiques

III.3.1.1. Détermination du taux de solide par RMN (teneur en corps solides) (NF EN ISO 8292 T60-250.1995)

La détermination de la teneur en corps gras solides est effectuée à l'aide d'un spectromètre de résonance magnétique nucléaire (RMN) pulsée basse résolution, de type (mini spec mq 20, Germany). L'échantillon est tempéré dans un état stable à une température spécifique et ensuite chauffé et stabilisé à la température de mesure. Les températures de mesure sont : 10, 20, 30, 40°C. Après équilibrage de l'appareil, un champ magnétique est appliqué sur la phase liquide uniquement. Les corps gras solides sont calculés en référence à un échantillon étalon constitué entièrement de corps gras liquides. La méthode directe consiste à faire préparer des tubes d'échantillons d'huiles bien mélangés après avoir fait fondre la margarine. Ces tubes doivent être remplis à hauteur de 3cm ensuite essuyés. Après, on procède à des incubations de: 0°C/20min, 10°C/20min, 20°C/20min, 30°C/20min, 40°C/20min. En faisant la lecture à chaque température. Les résultats sont donnés par le logiciel de l'appareil en pourcentage de solides.

III.3.1.2. Détermination du point de fusion (NE.1.2.91/1988)

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.

Après avoir fait fondre une quantité de margarine on obtient un blend qui est filtré, on immerge deux tubes capillaires dans l'échantillon de margarine à une profondeur de 1cm. On fait refroidir pendant 8 à 10min, puis on chauffe lentement au bain marie. La température à

laquelle les colonnes de l'échantillon commencent à remonter est considérée comme un point de fusion. La valeur moyenne des températures des trois tubes est considérée comme le point de fusion de l'échantillon exprimé en degré Celsius.

III.3.1.3. Détermination de la teneur en eau (taux d'humidité) (NE.1.2- 47-1985)

C'est la perte de masse subie par le produit après chauffage à $103 \pm 2^\circ\text{C}$, dans des conditions spécifiées, exprimée en pourcentage.

Après avoir pesé 2g de chaque échantillon de margarine dans la capsule, on la fait chauffer au bain-marie ou sur plaque chauffante, en élevant la température du produit d'environ $10^\circ\text{C}/\text{min}$, jusqu'à 90°C . Puis, on réduit la vitesse d'élévation de la température en observant la vitesse de dégagement des bulles de vapeur qui se détachent du fond de la capsule, et on laisse la température monter jusqu'à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ (ne pas dépasser 105°C). On poursuit l'agitation en raclant le fond de la capsule jusqu'au moment où tout dégagement de bulles a cessé. Pour s'assurer que toute l'eau s'est évaporée, il faut répéter plusieurs fois le chauffage, en refroidissant à 90°C entre les périodes de chauffage. On laisse ensuite refroidir la capsule dans le dessiccateur. Après refroidissement le bécher contenant l'échantillon (p_2) est pesé. Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{(m_0 + m_1) - m_2}{m_1} * 100$$

H (%) : Humidité en pourcentage massique;

m_0 : Masse, en grammes, de la capsule avec le thermomètre ;

m_1 : Masse, en grammes, de la prise d'essai ;

m_2 : Masse, en grammes, de la capsule avec l'échantillon après chauffage.

III.3.2. Analyses chimiques

III.3.2.1. Détermination de l'indice d'acide (NE.1.2.97/88)

- **Définition**

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres d'un gramme de matière grasse.

Après avoir pris 10g de la margarine dans une fiole conique. 50ml d'un mélange, préalablement préparé, d'éthanol et d'oxyde diéthylique sont ajoutés pour dissoudre la

matière grasse. Puis, titrer, en agitant, avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium jusqu'au virage de l'indicateur coloré (coloration rose pâle, du phénolphthaléine, persistante pendant au moins 10sec). Deux déterminations sont effectuées sur le même échantillon préparé. Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$I_a = V * T * 56,1/m$$

I_a : Indice d'acide ;

V : Volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée pour la titration ;

T : Concentration exacte, en mol/l, de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée ;

56,1 : Masse molaire, exprimée en g/mol, de l'hydroxyde de potassium ;

m : Masse, en grammes, de la prise d'essai.

Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations.

III.3.2.2. Détermination de l'acidité(NE.1.2.97/88)

- **Définition**

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres exprimé, selon la nature du ceps gras, en acide oléique.

Le principe et le mode opératoire sont identiques à ceux de l'indice d'acide.

- **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$A (\%) = \frac{N * V * \text{Eq.g'd'acide oléique}}{m} * 100$$

$A (\%)$: Acidité exprimée en pourcentage ;

V : Volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée;

N : Normalité de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée;

Eq.g : Equivalentes grammes de l'acide oléique (282g/mol);

m : Masse, en grammes, de la prise d'essai.

III.3.2.3. Détermination de la teneur en sel (taux de sel) (NE.1.2.429/89)

C'est la quantité de sels présent dans l'échantillon de margarine (ou la phase aqueuse), sous forme de chlorure de sodium. Le principe consiste au titrage des chlorures avec une solution de nitrate d'argent (AgNO_3) en présence de chromate de potassium comme indicateur coloré.

Selon la méthode de Mohr, 5g de l'échantillon sont pesés dans un erlen Meyer. Puis, 100ml d'eau distillée sont ajoutés sur plaque chauffante jusqu'à ébullition. Le mélange est maintenu sous agitation jusqu'à dissolution complète de l'échantillon, Ensuite, refroidissement et ajout de quelques gouttes de chromate de potassium puis mélanger en agitant. Tout en continuant d'agiter, titrer avec la solution de nitrate d'argent jusqu'au virage de l'indicateur coloré (du jaune au rouge brique persistant pendant 30sec). La teneur en chlorure de sodium (exprimée en pourcentage massique) est donné par la formule suivante :

$$\text{NaCl (\%)} = \frac{\text{N} \cdot \text{V} \cdot \text{Eq.gNaCl}}{\text{P}} \cdot 100$$

NaCl (%) : Taux de sel exprimé en pourcentage ;

V (ml) : Volume, en millilitre, de la solution de AgNO_3 utilisée pour le titrage ;

N : Normalité de la solution de nitrate d'argent ;

Eq.g(NaCl) : équivalent gramme d'NaCl (0,1 N)

P : prise d'essai en grammes.

III.3.2.4. Détermination de l'indice de peroxyde (NE.1.2.98.88)

C'est la quantité de produit présent dans l'échantillon, exprimée en milliéquivalents grammes d'oxygène actif par 1000g de corps gras, oxydant l'iodure de potassium.

Le principe consiste en la détermination du degré d'oxydation du corps gras en titrant l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'amidon comme indicateur coloré.

Après avoir pesé 5g de chaque échantillon de notre margarine (20%,30%,40%) dans un flacon, 18 ml d'acide acétique et 12 ml de chloroforme sont ajoutés tout en agitant quelques minutes puis 0.5ml de la solution d'iodure de potassium (KI) sont ajoutés à l'aide d'une pipette. Le flacon est agité pendant 1 min, puis laissé à l'obscurité pendant 1min. Ensuite, 75ml d'eau distillée et quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur coloré sont ajoutés. Puis titrer, en agitant, avec la solution de thiosulfate de sodium à 0,01N, jusqu'à

disparition de la couleur bleue. EtNaS₂O₃ ajouté jusqu'à disparition de virage de couleur transparente du surnageant. Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$IP = V (\text{chute}) * 2$$

IP : indice de peroxyde

III.3.2.5. Détermination du pH de la phase aqueuse (NE.1.4.08/89)

Le pH de la phase aqueuse de la margarine est la différence de potentiel, à la température de mesure, entre deux électrodes immergées dans la phase aqueuse, exprimée en unité de pH.

Après étalonnage du pH-mètre par une solution de KI (3mol/l), les électrodes sont introduits dans la phase aqueuse à la température de mesure. Lorsque la lecture devient constante, lire la valeur de pH indiquée par le pH-mètre à 0,01unités de pH près, sur l'échelle de l'instrument. Les résultats sont exprimés par les valeurs lues du pH.

III.3.3. Analyses microbiologiques

III.3.3.1. Préparation des échantillons pour l'analyse

Dans un flacon stérile préalablement taré, on pèse la prise d'essai d'une masse de 40g, prélevée aseptiquement à partir de l'échantillon à contrôler, à l'aide d'une spatule stérile on ajoute 34 ml du diluant (Solution Ringer 1/4) et on place les flacons au bain marie.

Le réglage à $45 \pm 1^\circ\text{C}$ s'effectue jusqu'à fusion complète du produit. Ce temps ne doit excéder 20 min. On agite jusqu'à l'obtention d'une émulsion homogène, et on laisse reposer à température ambiante, afin d'obtenir une séparation de la phase grasse et de la phase aqueuse. Les examens et les tests effectués sont résumés dans (annexe 4).

III.3.3.2. Analyses microbiologiques effectuées

Tableau III : Analyses microbiologiques effectuées sur le produit fini

Germe recherchés	Milieu utilisés	Méthode	Incubation	lecture
Flore total (ISO 4833/2003)	PCA	Ensemencement en masse	30°C/72 h	Comptage des colonies et calcul de nombre N

Coliforme fécaux (ISO 7251/2005)	Bouillon lauryl	Sur milieu liquide	37°C/24h ±2h	Observation du tube (présence ou absence de trouble) et annotation de gaz éventuel dégagé dans la cloche de durham
Staphylococcus aureus (ISO 6881/2003)	Baird parker	Ensemencement en surface	37°C/24h et 48h	Comptage des colonies noires et grises brillantes
Levures et moisissure (ISO 21522/2008)	Dichloran	Ensemencement en masse	25°C/4 a 5 jours	Comptage des colonies levures : colonies brillantes Moisissures : talle étendus, plats avec fructification coloré et des formes sporulés
Salmonella (ISO 6579/2002)	Eau péptonée tamponnée	Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide	37/18h± 2h°C ± 1°C	Présence ou absence des colonies (colonie spécifique à centre noire)
	Bouillon RVS	Enrichissement sélectif sur milieu liquide	41.5°C/24 h	
	Bouillon MKTTn		37°C/24 h	
	Gélose XLD	Isolement et identification (Ensemencement en surface)	37°C/24 h	

RÉSULTATS ET DISCUSSION

V. Résultats et discussions

V.1. Indices de qualité de l'huile d'olive

V.1.1. Acidité

L'acidité, critère de qualité important, permet de classer l'huile en différentes catégories en fonction de leurs teneurs en acides gras libres.

Selon les résultats inscrits dans le tableau III, l'huile étudiée « Blady » se caractérise par une faible acidité (0.2 %), elle reste néanmoins inférieure à la limite établie par le COI (2003) qui est de 0,8% pour l'huile d'olive extra vierge. Selon El Antari et collaborateurs (2000), dans les conditions où les olives sont récoltées à la main et transformées directement sans procéder au stockage, l'acidité de l'huile ne devrait guère dépasser 0,5 %, ce qui est le cas de notre huile étudiée.

Tableau III : acidité en pourcentage d'acide oléique (%)

	Huile étudiée « Blady »	COI
Acidité (en % d'acide oléique)	0,2	≤ 0,8

V.1.2. Indice de peroxyde :

L'indice de peroxyde est utilisé pour évaluer l'état d'oxydation de l'huile. Il détermine la quantité d'hydroperoxydes présents dans l'huile d'olive, ce qui permet de mesurer l'autooxydation des lipides (Haddada *et al.*, 2008).

Les résultats de l'indice de peroxyde sont présentés dans le tableau IV:

Tableau IV: Indice de peroxyde en meq d'O₂ /kg

	Huile étudiée « Blady »	COI
Indice de peroxyde (en meq d'O₂ /kg)	7	≤ 20

Les résultats consignés dans le tableau IV montrent que la valeur d'indice de peroxyde obtenue pour l'huile étudiée « Blady » répond aux normes du COI (2003) qui recommande un indice de peroxyde inférieur à 20 meq d'O₂ /kg pour une huile d'olive extra vierge. De même, cette valeur est proche de la variété *Chemlal* récoltée à différents stades de maturité (3,2 à 9

meq O₂/kg) (Bengana et al., 2013) et des variétés algériennes (entre 3,25 à 8,7 meq O₂/kg) (Laribi et al., 2011).

V.1.3. L'absorbance dans l'Ultraviolet :

La formation des hydroperoxydes qui absorbent au voisinage de 232nm est causée par l'oxydation des corps gras. Si ce phénomène se poursuit, des produits secondaires d'oxydation se forment, en particulier des cétones insaturés qui absorbent au voisinage de 270nm (Perrin, 1996). Cette oxydation peut être liée à plusieurs facteurs dont les principaux sont les conditions de stockage de l'huile, l'exposition à l'oxygène, la récolte tardive des olives et l'attaque par les insectes. Tamendjari et collaborateurs (2004) ont rapporté que l'attaque des olives par la mouche *B. oleae* accélère les processus d'hydrolyse et de l'oxydation accompagné par l'augmentation de l'absorbance dans l'UV.

Selon la norme fixée par COI (2003) pour la classification d'une huile d'olive extra vierge et à partir des résultats présentés dans le tableau V, on constate que l'échantillon d'huile d'olive étudié possède des valeurs d'absorbance K₂₃₂ et K₂₇₀ conformes aux normes. Ces valeurs sont très proches de la moyenne des valeurs décelées par Tanouti et al., (2011) et celles de Laribi et collaborateurs (2011).

Tableau V: Valeurs d'extinction spécifique en UV à 232 et 270.

	Huile étudiée « Blady »	COI
K₂₃₂ (nm)	1,745	2,5
K₂₇₀ (nm)	0,162	0,22

Plus le coefficient d'absorption à 232 est élevé, plus l'huile d'olive est peroxydée. Ainsi, plus le coefficient d'absorption à 270 est élevé, plus elle présente un taux élevé en produits d'oxydation secondaire, donc elle a une faible aptitude à la conservation (Wolff, 1968).

En rassemblant les résultats obtenus pour les trois tests essentiels de classification d'une huile d'olive décrite par COI (acidité, indice de peroxyde et des coefficients d'absorption spécifique dans l'UV K₂₃₂ K₂₇₀), notre huile d'olive peut être classée dans la catégorie « extra vierge ».

V.2. Les indices d'identification d'huile d'olive

Les résultats des indices d'identification de l'huile d'olive étudiée sont représentés dans le tableau VI:

Tableau VI: Les indices de qualité de l'huile d'olive

Paramètres d'identification	Huile étudiée « Blady »	Codex Stan 33-1981
Indice d'iode (g d'I ₂ /100 g d'huile)	83	75-94
Indice de réfraction	1,4618	1,4677 à 1,4705
Couleur (unité)	Rouge 3,8	-
	Jaune 72,9	-

V.2.1. Indice d'iode

L'évolution de l'indice d'iode est une bonne mesure de la stabilité des huiles à l'oxydation. L'indice d'iode est une appréciation de l'insaturation des acides gras et de leurs esters (Naudet, 1988).

D'après les résultats obtenus dans le tableau VI, on constate que notre huile présente un indice d'iode conforme à la norme établie par le Codex Stan 33-1981 qui est de 75 à 94 g d'I₂/100 g d'huile, pour une huile d'olive vierge.

Nos résultats sont ainsi similaires à ceux obtenus par Bengana *et al.* (2013), qui varient entre (82 et 88 g d'I₂/100 g d'huile) et de ceux rapportés par Méndez et Falqué, (2007) pour les huiles d'olives espagnoles commerciales, qui varient entre 77,50 à 87,93 g d'I₂/100 g d'huile. Bengana, (2013) ont démontré que l'indice d'iode augmente durant la maturation, cet indice suit une tendance similaire à celle des acides gras insaturés, en particulier l'acide linoléique.

V.2.2. Indice de réfraction

Selon les résultats de l'indice de réfraction de l'huile d'olive étudiée qui sont représentés dans le tableau VI, on note que la valeur obtenue (1,4618) est légèrement inférieure aux valeurs de la norme de Codex 33-1981 (1,4677 à 1,4705) pour une huile d'olive vierge. Ainsi, cette valeur est inférieure aux indices de réfraction enregistrés pour l'ensemble des huiles d'olives tunisiennes qui présentent des valeurs entre 1,469 et 1,470 (Ben Tekaya et Hassouna, 2005) ; Tanilgan *et al.*, 2007 ; Ogutcu *et al.*, 2008) ont rapporté des indices de réfraction de 1,467 à 1,469 pour des variétés turques. Les mêmes indices ont été notés par Rahmani et Csallany, (1998) sur des huiles de la variété *Picholine* marocaine.

V.2.3. Couleur

La composition de l'huile d'olive en pigments lui confère sa couleur qui demeure un paramètre de qualité (Beltran *et al.*, 2005).

D'après les résultats de la couleur de l'huile d'olive étudiée qui sont représentés dans le tableau VI, on remarque que le nombre d'unités jaunes (72,9 unités) est significativement important que celui d'unités rouges (3,8 unités). Giuliani et *al.*, (2011) rapportent que plus le stade de maturité avance, les huiles obtenues sont d'une couleur dorée pour atteindre une coloration jaunâtre, cela est expliqué par la transformation des chlorophylles a et b en phéophytines a et b, au fur et à mesure que le stade de maturité augmente (Gandul-Rojas et *al.*, 2000).

Les chlorophylles et les phéophytines ont des effets pro-oxydants en présence de la lumière (Giuliani et *al.*, 2011), mais les phéophytines ont l'action pro-oxydante la plus élevée (Rahmani et Csallany, 1998).

V.3. Composition en acides gras des huiles

La composition en acides gras de l'huile d'olive joue un rôle important dans sa qualité nutritionnelle et organoleptique (Tanouti et *al.*, 2011) et sa grande stabilité (Krichene et *al.*, 2010). Divers facteurs tels que le degré de maturité des olives, le climat, la variété ont une incidence sur le profil de composition en acides gras de l'huile d'olive (Garcia et *al.*, 2001; Judde, 2004).

L'analyse de la composition en acides gras démontré sur le chromatogramme (annexe 3) Présente des teneurs en différents acides gras conformes aux normes établies par le COI (2003) pour la catégorie d'huile extra vierge.

Tableau VII: Composition en acides gras totaux de l'échantillon étudié.

Acides gras	Acides gras (%)	Norme COI (%)
Acide palmitique (C16 :0)	10.40	7.5-20
Acide stéarique (C18 :0)	2.72	0.5-5
Acide oléique (C18 :1)	70.94	55-83
Acide linoléique (C18 :2)	9.80	3.5-21
Acide linoléique (C18 :3)	0.94	≤1
AG saturés (AGS)	13.12	-
AG insaturés (AGIS)	81.68	-
AG polyinsaturés	10.74	-
C18:1 /C18 :2	7.23	-
AGMI /AGPI	6.61	-

Selon les résultats mentionnés dans le tableau VII, on remarque que les acides gras majoritaires sont l'acide oléique, l'acide palmitique et linoléique, tandis que l'acide stéarique et linoléique sont minoritaires.

En général, l'acide gras majoritaire dans l'huile d'olive est l'acide oléique, la valeur enregistrée pour l'huile étudiée est de 70,94%, sachant que les acides gras monoinsaturés ont une grande importance en raison de leurs implications nutritionnelles et leurs effets sur la stabilité oxydative des huiles (Abaza *et al.*, 2002). Cette valeur est proche des teneurs obtenues pour les variétés tunisiennes (Oueslati *et al.*, 2009) et de celles enregistrées pour les huiles espagnoles (Fuentes de Mendoza *et al.*, 2013).

Ainsi, on note une prédominance nette d'acides gras insaturés (81,68%) par rapport aux acides gras saturés (13,12%). D'après Gutierrez *et al.* (1999), au cours de la maturation des olives, l'acide oléique est transformé en acide linoléique par l'enzyme « oléate désaturase », ça peut expliquer l'augmentation du pourcentage de l'acide linoléique par rapport aux autres acides gras polyinsaturés. Le rapport acide oléique/acide linoléique est utilisé comme paramètre de stabilité, plusieurs études ont montré qu'un rapport élevé engendre une stabilité oxydative importante (Haddada *et al.*, 2008). Le rapport C18 :1/C18 :2 obtenue est de 7,23.

Pour l'huile étudiée, le rapport AGMI/AGPI est de 6,61. Parmi les huiles végétales consommées, l'huile d'olive est celle qui présente le rapport acides gras monoinsaturés/acides gras polyinsaturés le plus important, ce qui lui confère une grande stabilité à l'auto-oxydation (Ryan *et al.*, 1998).

V.4. Dosage des polyphénols

Les composés phénoliques jouent un rôle important, comme antioxydants, ils contribuent à la bonne stabilité de l'huile d'olive (SIFI *et al.*, 2001).

D'après Tsimidou (1998), la teneur en polyphénols est classée comme suit :

- Huile à faible teneur en polyphénols totaux 50-200 mg/kg ;
- Huile à teneur moyenne en polyphénols totaux 200-500 mg/kg ;
- Huile à teneur élevée en polyphénols totaux 500-1000mg/kg.

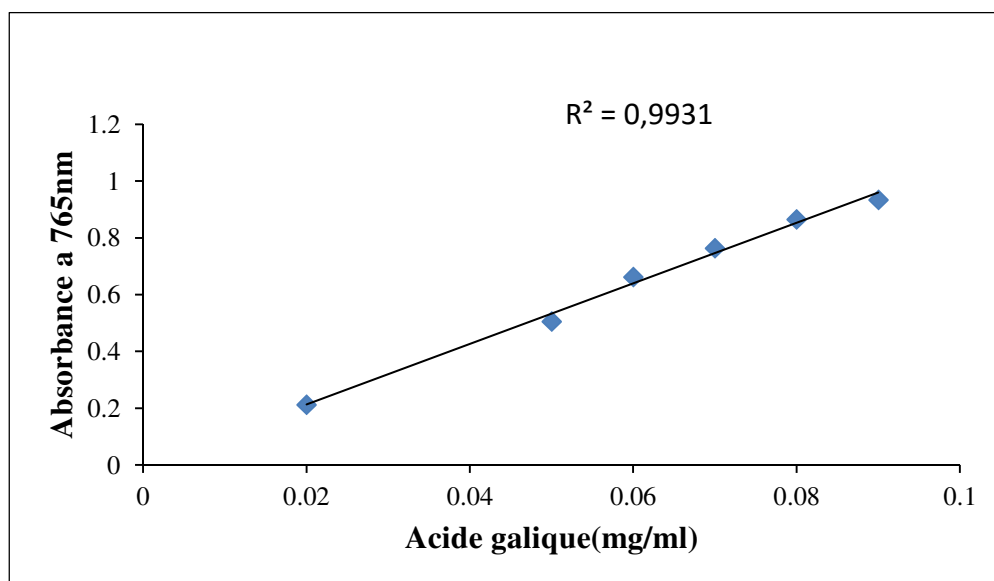


Figure 1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques.

Selon cette classification et selon les résultats obtenus pour la teneur en polyphénols de notre huile étudiée qui est d'une moyenne de 535,81 mg/kg est classée parmi les huiles à teneur élevée en polyphénols totaux 500-1000mg/kg.

La concentration en polyphénols totaux dépend du système enzymatique spécifique pour chaque variété. D'après Artajo, (2006), une corrélation positive est observée entre l'activité enzymatique de la L-phénylalanine ammonia lyase (PAL) et le taux de polyphénols présents dans l'huile d'olive, ce qui démontre que cette enzyme conditionne les teneurs des huiles d'olives en composés phénoliques.

Plusieurs auteurs ont mis en évidence d'autres paramètres qui peuvent influencer la teneur en polyphénols, à savoir l'état sanitaire des olives (Gomez-Caravaca *et al.*, 2008), les paramètres d'extraction (Servili *et al.*, 2013) et le stockage de l'huile d'olive (Brenes *et al.*, 2007).

V.5. Dosage des pigments

Selon les résultats représentés dans l'histogramme de la figure 2, on note que l'huile étudiée montre des faibles teneurs en pigments chlorophylliens (3,393mg/kg comparant à ceux retrouvés par Morello *et al.* (2004) (14 mg/kg), ainsi que ceux retrouvés par Bengana *et al.* 2013, qui varient entre 13 et 22 mg/kg. La teneur en caroténoïdes de notre huile est de 2.80 mg/kg est légèrement supérieure aux résultats apportés par Bengana *et al.* (2013) qui varient

entre 1,2 à 1,5 mg/Kg, mais très proche de la moyenne trouvée par Tanouti *et al.* (2011) (2,76 mg/Kg).

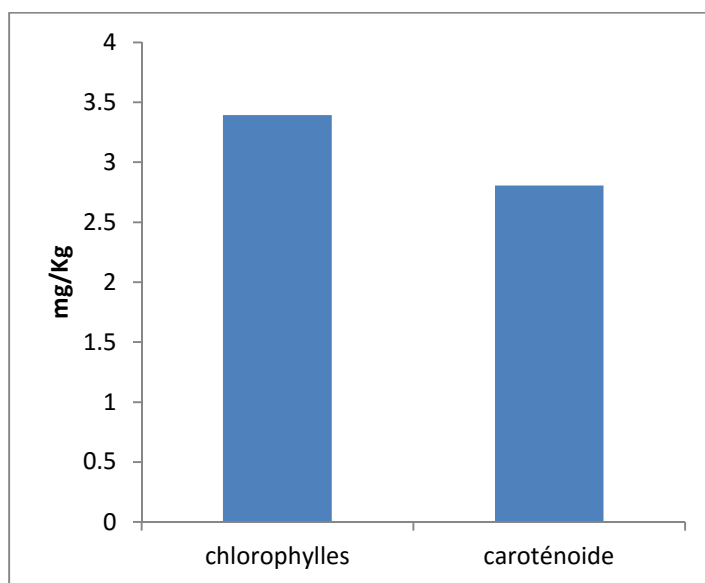


Figure 2 : Dosage des chlorophylles et caroténoïdes

La récolte des olives à un stade de maturité tardive est une pratique courante en Algérie. D'après Bengana *et al.* (2013), le stade de maturité est une étape clé qui détermine la concentration en chlorophylles, en effet ils ont constaté qu'à des stades prématurés la teneur en chlorophylles est relativement élevée et leur dégradation durant ces périodes est faible, tandis que des pertes remarquables ont été enregistrées à des stades plus avancés avec une chute de 22 mg/Kg à 13mg/Kg.

La diminution en pigments chlorophylliens durant la maturation peut être expliquée par la transformation des chlorophylles (a) et chlorophylles (b) en phéophytine (a) et phéophytine (b) respectivement (Bengana *et al.*, 2013), ce qui induit un passage de la coloration de l'huile d'olive du vert à une coloration jaunâtre (Giuliani *et al.*, 2011).

D'autre part, les faibles taux en caroténoïdes enregistrés par notre huile, peuvent être dus à leur oxydation pendant le processus de maturation, ainsi qu'à leur rôle protecteur contre la photooxydation en désactivant l'oxygène singulet (Perrin, 1992).

Le profil de l'huile d'olive en pigments chlorophylliens est affecté par les facteurs agronomiques, les caractéristiques de la région de la provenance des olives (sol, température, humidité), leurs variétés et leurs stade de maturité et les techniques agronomique adoptées (Cerretani *et al.*, 2008 ; Baccouri *et al.*, 2008).

En plus de la couleur, les chlorophylles et les caroténoïdes jouent un rôle important dans l'huile d'olive vierge en raison de leur nature anti-oxydante à l'obscurité et pro-oxydante à la lumière (Criado *et al.*, 2008 ; Oueslati *et al.*, 2009 ; Dabbou *et al.*, 2010).

V.6. Indice d'amertume

L'amertume est considérée comme un attribut positif à des intensités tolérables dans l'huile d'olive vierge (Inarejos-Garcia *et al.*, 2010).

L'indice d'amertume enregistré pour notre échantillon est de 1,07. Les valeurs d'intensités d'amertume enregistrées suivent le même ordre que celui des teneurs en polyphénols totaux.

L'accumulation des phénols à caractère amer dans l'olive est un mécanisme de défense contre les phytopathogènes (Amiot *et al.*, 1989). En effet, l'olivier est considéré comme un hôte approprié pour la mouche de l'olive (Nardi *et al.*, 2010). De plus les facteurs environnementaux et agricoles ont une grande influence sur l'amertume (Gomez-Rico *et al.*, 2009).

V.7. Activité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH

Pour évaluer la capacité antiradicalaire de l'huile contre le radical DPPH, l'échantillon d'huile d'olive est directement dilué dans du toluène. Cette procédure permet la contribution des antioxydants présents à l'activité antioxydante. L'huile étudiée a une aptitude à piéger le radical DPPH, et présente un pourcentage de 45,62%.

L'activité antiradicalaire pourrait être interprétée par la composition et le contenu en antioxydants, par la diversité structurale des composés phénoliques présents dans l'huile ainsi que par la différence dans la cinétique du potentiel antioxydant (Ramadan et Moersel, 2006; Tuberoso *et al.*, 2007). En outre, un effet synergique entre les antioxydants, fait que l'activité antioxydante est dépendante non seulement de la concentration, mais aussi de la structure et l'interaction entre antioxydants (Pellegrini et Battino, 2006).

V. 3. Les analyses effectuées sur la margarine

V.3.1. Détermination du taux de solide par RMN (teneur en corps gras solides)

L'indice SFC se rapporte au pourcentage des matières grasses qui sont solides à des températures différentes. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 3. Le SFC est un facteur essentiel à déterminer, car il est responsable de plusieurs caractéristiques du produit, y

compris son aspect général, l'exsudation d'huile et les propriétés organoleptiques (Nor Aini et Miskandar, 2007).

Pour les margarines à tartiner, le SFC ne doit pas dépasser 40 % à 5 °C et pas plus de 6 % à 37°C (De Greyt et Huyghebaert, 1993) ou pas plus de 32 % à 10°C (Charteris et Keogh, 1991). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure suivante:

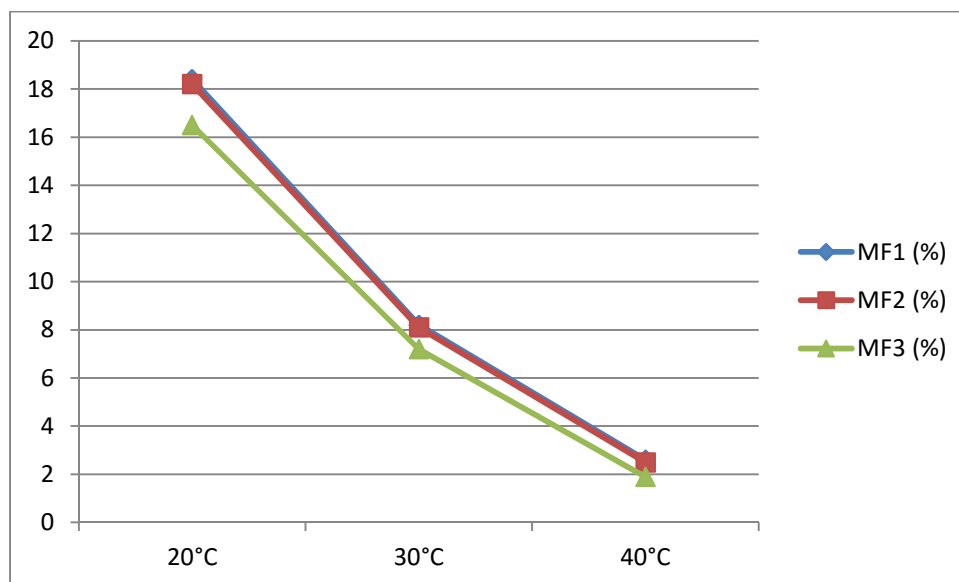


Figure 3: Taux de solide (SFC) des différentes margarines (MF1, MF2, MF3)

On remarque qu'il y'a une différence du taux SFC à 20°C, 30°C et 40°C entre les échantillons étudiés (MF1, MF2 et MF3) dans les trois différentes températures. On remarque que plus le volume en huile additionnée est élevé plus le taux des solide est faible, en effet l'huile d'olive renferme un taux faible en acides gras polyinsaturés et riche en acides gras monoinsaturés.

Les résultats obtenus par RMN, nous permettent de conclure que les trois margarines sont d'une nature plastique et faciles à tartiner. A 37°C, l'indice de SFC est inférieur à 6%, ce qui indique que nos margarines fondent facilement (De Greyt et Huyghebaert, 1993).

L'information obtenue à partir des courbes de solide (SFC) permet de prévoir la compatibilité du corps gras, ainsi que les caractéristiques finales du produit fini. Les taux de solides à diverses températures fournissent de bonnes indications du comportement général du corps gras.

D'après l'allure des courbes, on remarque une diminution du solide en allant des basses températures (20°C) vers les hautes températures (40°C), tendant même à zéro dans le cas des trois margarines. La fermeté de la margarine est généralement augmentée par le processus

d'hydrogénation, car celui-ci est responsable de la formation d'AGS à partir des AGI et des AGT. Ces derniers contribuent énormément aux propriétés fonctionnelles des huiles hydrogénées. Cependant, ceux-ci sont considérés comme étant un facteur de risque potentiel dans les maladies cardiovasculaires. Ainsi, le contenu en AGT dans les margarines tend à être abaissé grâce à de nouvelles alternatives à l'hydrogénation des huiles (Idris et Dian, 2005).

L'une des options disponibles est l'utilisation de l'huile de palme (de nature semi-solide) et de ses fractions dans les formulations de margarines. Elles présentent des avantages d'utilisations liés à la stabilité thermique et oxydative importantes ainsi que la plasticité. L'autre option étant l'inter estérification. Ainsi, pour améliorer leurs propriétés de fusion, ces huiles peuvent être inter estérifiées avec des huiles et des graisses végétales contenant des acides gras à chaînes courtes. (Karabulut et *al.*, 2004 ; Idris et Dian, 2005).

D'après Ribeiro et *al.* (2009b) et Karleskind et Wolff, (1992) la quantité de solide présente à différentes températures au cours de la cristallisation et aussi inversement au cours de la fusion est sans doute un paramètre primordial à considérer et va de suite spécifier la phase grasse. Le SFC est responsable de plusieurs caractéristiques propres aux margarines incluant leur aspect et apparence, tendance à la tartinabilité, exsudation de l'huile et les propriétés organoleptiques :

le SFC à 0, 5 et 10°C contrôle le comportement à la tartinabilité (sa facilité à être tartiné à la température du réfrigérateur) en relation avec le procédé et les conditions de fabrication.

A 15 et 20°C le SFC est un facteur important pour le procédé, la dureté du produit final et l'exsudation huileuse.

A 20 et 25°C, il est lié à la stabilité de la margarine.

A 30 et 35°C, il est lié à la texture (tenue lors de certaines utilisations) et aux propriétés de libération de l'arôme et de la saveur dans la bouche (appréciation orale du produit).

V.3.2. Les analyses physico-chimiques de la margarine

V.3.2.1. l'humidité en % :

L'humidité varie selon les conditions et la période de stockage. L'augmentation de la teneur en eau favorise le développement des microorganismes, l'hydrolyse enzymatique et l'oxydation de la margarine. La diminution de la teneur en eau influe sur l'homogénéité de la margarine c'est à dire la bonne dispersion de l'eau dans la phase grasse.

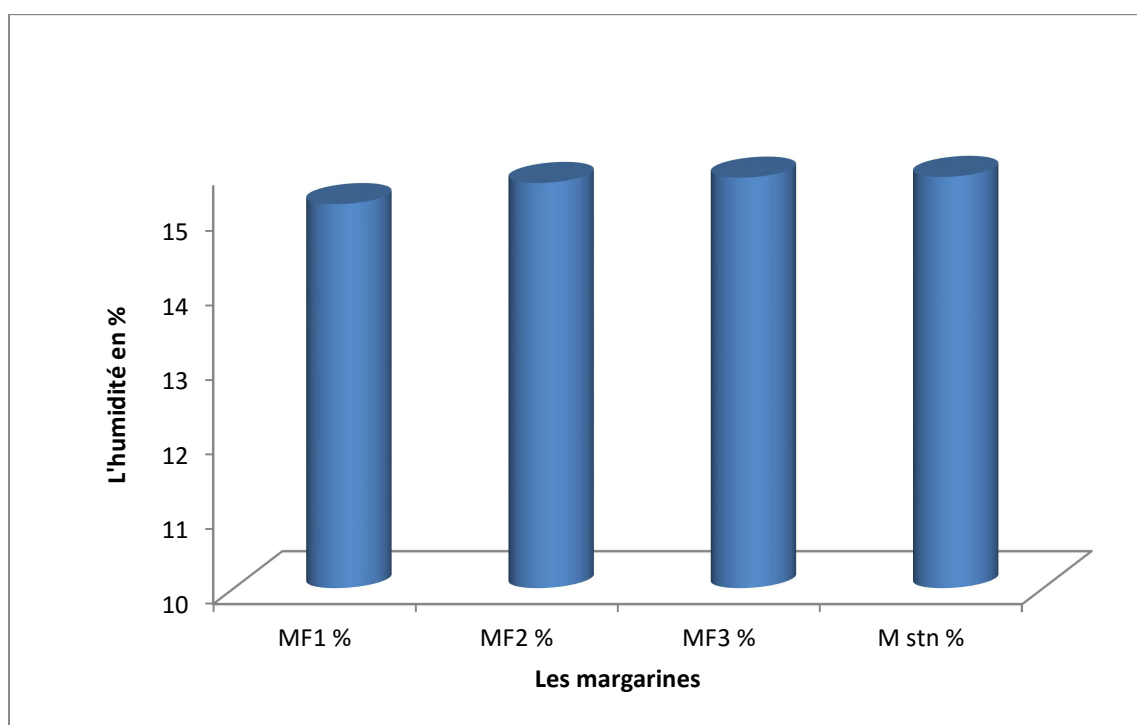


Figure 4: Humidité des différentes margarines (MF1, MF2, MF3 et M std)

Les résultats de l'humidité pour les trois margarines MF1, MF2, MF3 sont présentés dans la figure 4. Les valeurs de la teneur en eau (humidité) pour les trois margarines (MF1, MF2, MF3), sont d'ordre de 15,15%, 15,43%, 15,05%. Ceci est compatible avec la formulation initiale de trois margarines qui contiennent 82% de phase grasse et 18% de phase aqueuse.

La margarine standard son humidité est de 15,51% compatible aussi à sa formulation initiale (80% phase grasse et 18%). À partir de ces résultats que on a obtenue on remarque que le pourcentage de la teneur en eau (humidité) presque le même pour les trois margarines et la margarine standard, cela est due aux conditions de production (la quantité de l'eau, l'air).

Les pourcentages de la teneur en eau (humidité) des trois margarines qu'on a obtenu sont inférieurs à 16 %, donc notre margarine est conforme aux normes.

V.3.2.2. Détermination de point de fusion

Les résultats de point de fusion pour les trois margarines (MF1, MF2 et MF3) sont présentés dans la figure 5. D'après la figure on remarque que les résultats de point de fusion des échantillons étudiés sont très proches à celui de la margarine standard (figure5), cela est dû à la même composition en matière des huiles.

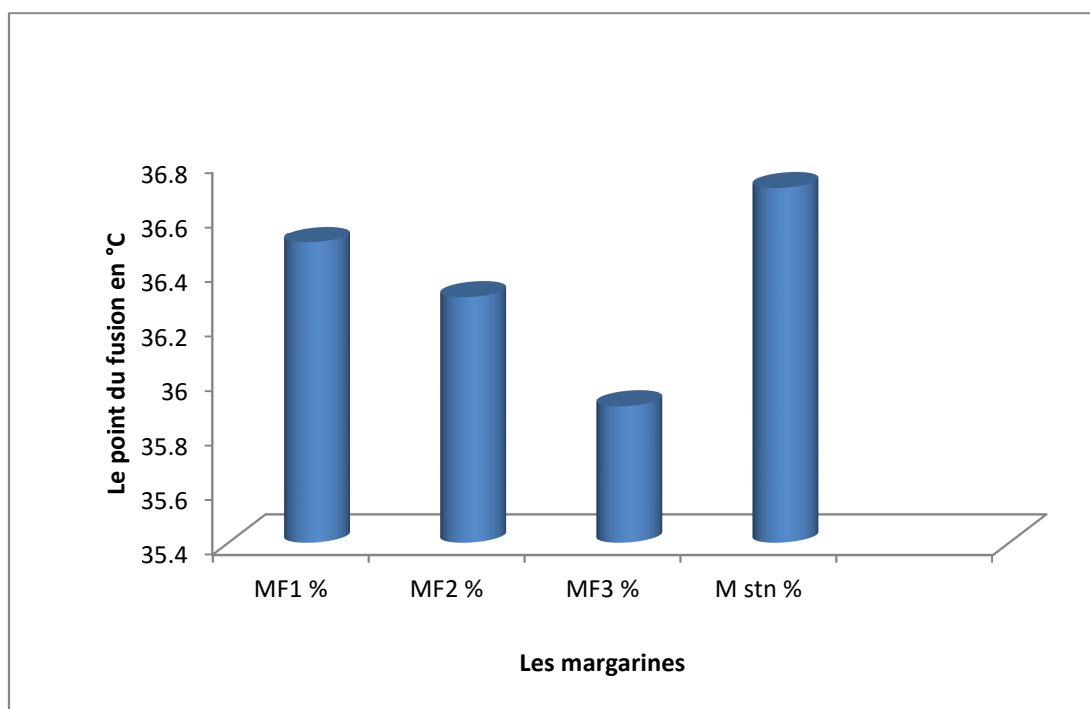


Figure 5: Points de fusion des différentes margarines (MF1, MF2, MF3 et M std)

D'après les résultats qu'on a obtenu, on remarque qu'il y a une diminution du point de fusion des trois margarines avec l'augmentation du pourcentage de l'huile d'olive, cela est dû à la richesse de l'huile d'olive en acide gras polyinsaturés.

D'après Ghotra et *al.*, (2002) les graisses et les huiles contenant des acides gras saturés à longues chaînes ont des points de fusions plus élevés que les acides gras polyinsaturés ou à courte chaînes. D'après la composition en AG des échantillons précédents, on comprend aisément les points de fusion obtenus en relation avec la composition chimique en acides gras de chaque échantillon de margarine plus on augmente le volume de huile (acides gras insaturés élevés) plus le point de fusion est élevé.

V.3.2.3. Détermination du pH de la phase aqueuse par la méthode potentiométrique :

Les pH de la phase aqueuse pour les trois margarines MF1, MF2 et MF sont d'ordre 3,89; 3,77 et 3,74 respectivement, présentés en dans la figure 6.

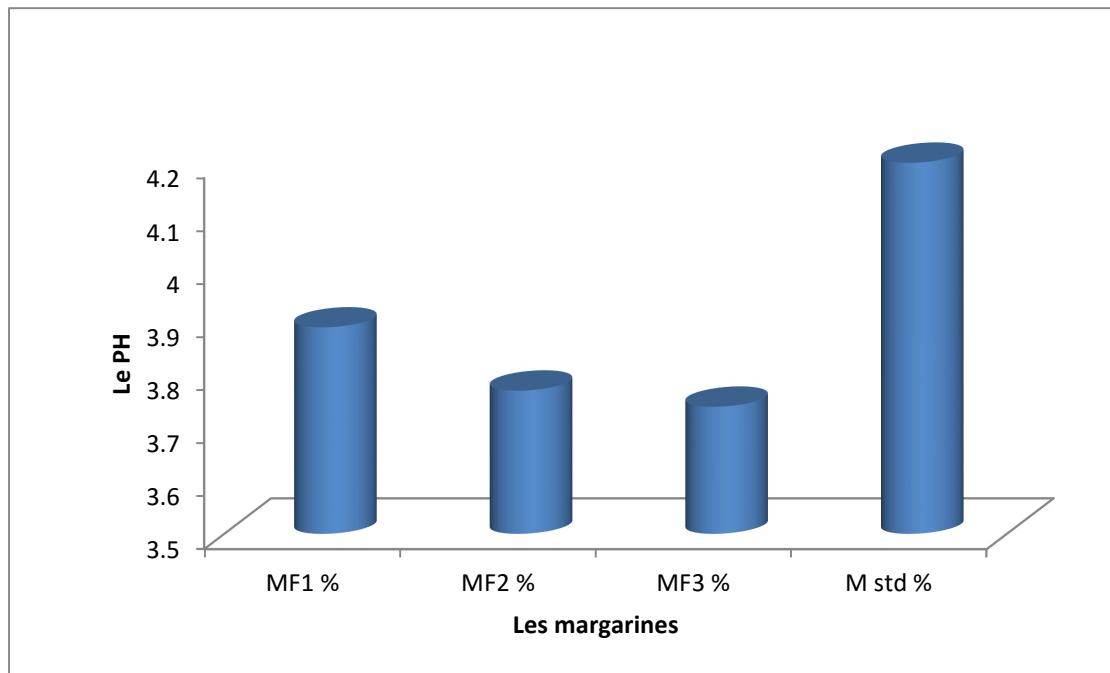


Figure 6: pH des différentes margarines (MF1, MF2, MF3 et M std)

On remarque que les résultats de pH de la phase aqueuse des margarines enrichies en l'huile d'olive et le pH de la phase aqueuse de la margarine standard (figure 6) sont différentes, le pH de nos margarines est inférieur à celui de la margarine standard, donc les émulsions de notre margarine ne sont pas stables.

D'après les résultats qu'on a obtenu dans la figure 6 on remarque qu'il y a une diminution de pH des trois margarines (MF1, MF2 et MF3) avec l'augmentation du pourcentage de l'huile d'olive cela indique que notre l'huile est acide.

D'après Karleskind et Wolff (1992), il est préférable de contrôler le pH de la phase aqueuse. Une valeur basse de ce dernier freine la croissance des microorganismes. En général on fixe le pH entre 4 et 5,5 (dans certaines margarines de feuilletage on peut avoir des valeurs de 3,0 à 3,5). Ces faibles valeurs de pH, conduisent à une sensation acide, qui peut ne pas plaire aux consommateurs.

V.3.2.4.Détermination de l'indice de peroxyde

Les premiers produits formés par oxydation sont les peroxydes ou les hydroperoxydes qui évoluent ensuite vers des structures plus stables : produits volatils et produits non volatils (Rahmani, 2007). L'indice de peroxyde est un critère très utile et d'une sensibilité satisfaisante pour apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative (Karleskind, 1992).

Les résultats de l'indice de peroxyde pour les trois margarines MF1, MF2 et MF3 sont de l'ordre de 0,34 meq d'O₂/ kg. Cet indice est inférieur par rapport aux normes fixées par NE.1.2.98.88 qui est de 10 meq O₂/Kg. Ces faibles valeurs sont une conséquence d'utilisation d'une huile d'olive Extra vierge dont l'indice de peroxyde est très faible.

V.3.2.5. La teneur en sel (taux de sel) :

Les teneurs en sel pour les trois margarines MF1, MF2 et MF3 sont représentées dans la Figure 7:

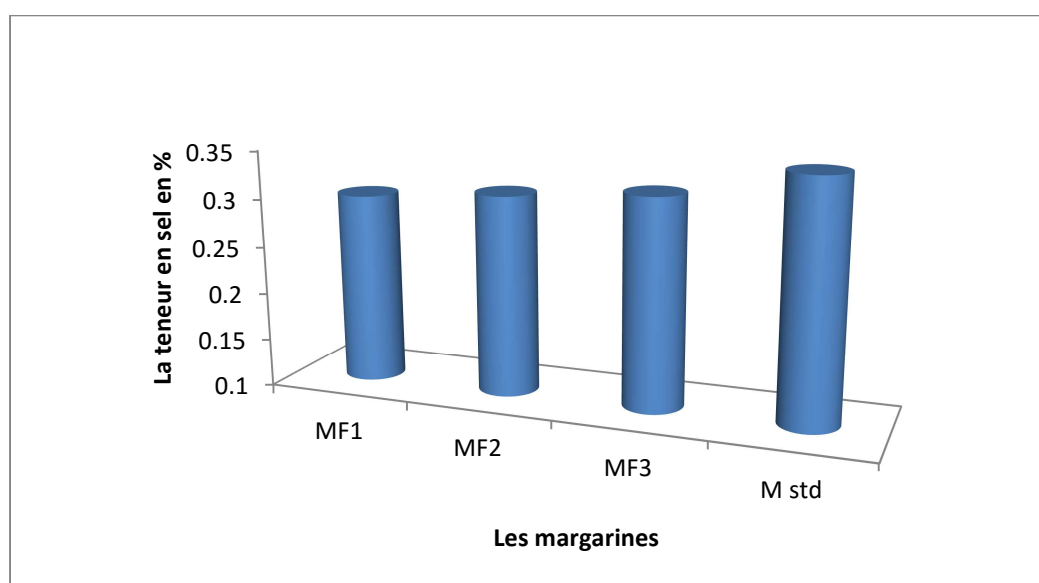


Figure 7: Les teneurs en sel des différentes margarines (MF1, MF2, MF3 et M.std)

On remarque que la teneur en sel des trois margarines étudiées MF1, MF2 et MF3 sont respectivement de 0,30 ; 0,31 et 0,32%, elles sont inférieures à celle de la margarine standard qui est de 0,35%, ça n'empêche que cette valeur est jugée conforme par rapport aux normes.

D'après Karleskind et Wolff, (1992), la teneur en sel varie suivant l'utilisation de la margarine et sa texture. Elle est de l'ordre de 0,1 à 0,3 % pour les margarines en pots (tartinable). L'addition de sel à la margarine a pour but d'améliorer la sapidité (goût) et inhiber le développement de certaines bactéries, ce qui permet le prolongement la durée de conservation.

V.3.2.6. Détermination de l'acidité (NE.1.2.97/88)

L'acidité (%) est le pourcentage d'acides gras libres exprimés conventionnellement selon la nature du corps gras en acide oléique pour la grande majorité des corps gras, ou palmitique pour l'huile de palme (Karleskind et Wolff, 1992).

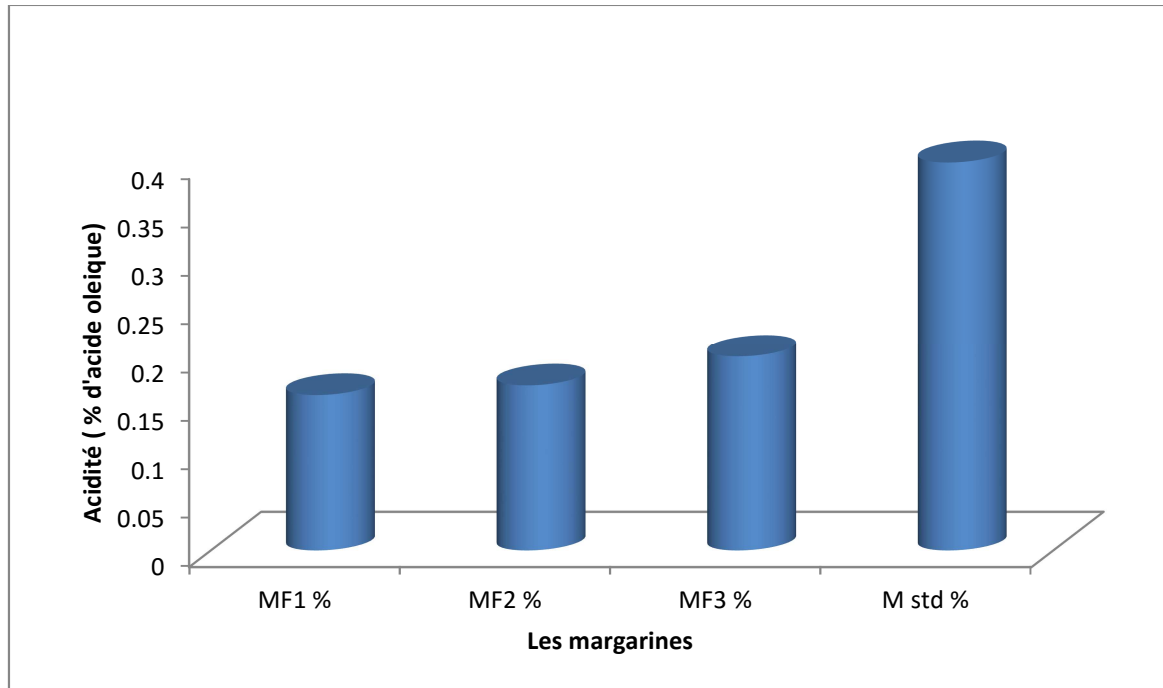


Figure 8: L'acidité des différentes margarines (MF1, MF2, MF3 et M std)

On remarque que les valeurs de l'acidité des trois margarines étudiées qui sont respectivement (0,16% ; 0,17% et 0,20%) sont supérieures à celle de la margarine standard qui est 0,10 %, n'empêche que cette valeur est jugée conforme par rapport aux normes.

V.4.Résultat et discussion de la partie microbiologique

Tableau VIII: Résultat d'analyses microbiologiques de la margarine à 20 % l'huile d'olive

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Germes aérobies	ufc/g	01	03	00	02	00	100	ISO : 4833
Coliformes fécaux	ufc/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
Staphylococcus aureus	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1
Levures	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2
Salmonella	ufc/25g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 6579

Tableau IX : Résultats d'analyses microbiologiques de la margarine à 30 % l'huile d'olive

	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Germes aérobies	ufc/g	00	00	01	00	01	100	ISO : 4833
Coliformes fécaux	ufc/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
Staphylococcus aureus	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1
Levures	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2
Salmonella	ufc/2g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 6579

Tableau X : Résultats d'analyses microbiologiques de la margarine à 40 % l'huile d'olive

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Germes aérobies	ufc/g	00	00	00	00	00	100	ISO : 4833
Coliformes fécaux	ufc/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
Staphylococcus aureus	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1

Levures	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2
Salmonella	ufc/25g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 6579

Tableau X : résultats des analyses microbiologiques de la margarine std

Germes (germes/grammes)					
Germes aérobies à 30° C		Coliformes fécaux	Staphylococcus Aureus	Levures	Salmonella
Résultats	<100	Absence	Absence	Inférieur à 1	Absence
Normes (m)	10 ²	Absence	Absence	<10	Absence

D'après les résultats obtenus (tableaux VIII, IX et X), une présence de quelques germes de la flore aérobie totale inférieure à la norme fixée (100 UFC/g) est détectée, leur présence est attribuée à plusieurs facteurs dont l'emballage ou l'air ambiant dans la salle de fabrication à l'échelle laboratoire. Cela ne pourra pas être lié à la matière première utilisée (lait, eau et ingrédients utilisés), ni au processus de fabrication.

Les coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, levures et Salmonella, se sont avérés inexistantes dans nos échantillons, cela peut être expliqué par la présence des composés phénoliques ayant une activité antibactérienne dans l'huile d'olive utilisée, à cet égard Brenes et al., (2007), rapportent que l'huile d'olive présente l'activité antibactérienne la plus élevée comparée aux autres huiles végétales (Tournesol, Corne, Soja, Cotton et Colza), cela est en relation avec la diminution des teneurs en composés phénoliques, cette activité est expliquée par la sensibilité des bactéries aux composés phénoliques, l'activité antibactérienne est plus élevée vis-à-vis des bactéries à Gram positif que les Gram négatif.

CONCLUSION

Conclusion :

Notre présente étude a pour objectif l'élaboration de trois margarines de table enrichies à 20%, 30% et 40% d'huile d'olive sans vitamine E, dans le but d'améliorer sa stabilité oxydative par l'apport d'antioxydants naturels présents dans l'huile d'olive.

D'après les résultats des tests de classification de l'huile d'olive (Acidité, Indice de peroxyde et l'absorbance aux UV), notre huile d'olive est classée dans la catégorie « extra vierge ». Sa composition en acides gras correspond parfaitement aux normes établies par le COI (2003) pour l'huile d'olive extra vierge, notant que l'acide oléique est le plus dominant (70,94%). Cette analyse des acides gras par CPG a révélé la présence des acides gras essentiels avec un rapport AGI/AGPI de 6.61, il est toutefois conforme aux recommandations des nutritionnistes.

Le dosage des polyphénols indique que l'huile d'olive étudiée est classée parmi les variétés à teneur élevée en polyphénols totaux 500-1000mg/kg, ce qui est peut-être la cause du goût amer de cette huile. Ainsi sa stabilité antioxydante.

L'essai de formulation des margarines de table additionnées d'huile d'olive a été expérimenté en vue d'étudier l'effet antioxydant de ce dernier. Les indices de caractérisation des margarines élaborées s'avèrent conformes à la recette préétablie. En outre, l'indice de degré d'altération par oxydation (indice de peroxyde) est conforme aux normes.

Les analyses microbiologiques des trois margarines MF1, MF2 et MF3 sont avérés exempte de germes pathogènes, aucune présence de coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, levures et Salmonella n'a été détectée.

Il est intéressant d'approfondir notre travail pour une meilleure évaluation de la qualité de l'huile d'olive par les analyses suivantes :

- L'identification des différents composés phénoliques ;
- Le dosage des tocophérols et leur identification ;
- L'étalement de ce travail à d'autres variétés cultivées dans notre pays ;
- Etude de l'activité antioxydante de l'huile d'olive.

REFFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

A

- Abaza L., Msalem M., Daoud D. and Zarrouk M. (2002).** Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. *Oléagineux Corps gras Lipides*, 9 (2): 9-174.
- Amiot M.J., Fleuriet A. and Macheix J.J. (1989).** Accumulation of oleuropein derivatives during olive maturation. *Phytochemistry*, 23: 67-69.
- Angerosa F., Servili M., Selvaggini R., Taticchi A., Esposto S., Montedoro G.F. (2004).** Volatile compounds in virgin olive oil: occurrence and their relationship with the quality. *J. Chromatogr. A* 1054, 17-31
- Artajo L.S., Romero M.P. And Motilva M.J. (2006).** Transfer of phenolic compounds during olive oil extraction in relation to ripening stage of the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 518-527.

B

- Baccouri O, Guerfel M, Baccouri B, Cerretani L, Bendini A, Lercker G, Zarrouk M. et Daoud Ben Miled D. (2008).** Chemical composition and oxidativestability of Tunisian monovarietalvirgin olive oilswith regard to fruit ripening. *Food Chemistry*. 109, 743-754.
- Beltran G., Aguilera M.P., Del Rio C., Sanchez S. and Martinez L. (2005).** Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry*, 89: 207-215.
- Ben Tekaya I. and Hassouna M. (2005).** Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux Corps gras Lipides*, 12 (5-6): 447-453.
- Ben Temime S., Manai H., Methenni K., Baccouri B., Abaza L., Daoud D., Sanchez Casas J., Bueno E.O. and Zarrouk M. (2008).** Sterolic composition of Chetouivirgin olive oil: Influence of geographicalorigin. *Food Chemistry*, 110: 368-374.
- Bengana M, Bakhouch A, Lozano-Sanchez J, Amir Y, Youyou A, Segura-Carretero, A et Fernandez-Gutiérrez A. (2013).** Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil. *Food Research International*. 54, 1868-1875.
- Bernabé B.V.,Purón M.E.C. (2015).** L'huile d'olive vierge contre le vieillissement. P.40.
- Boskou D., Blekas G. et Tsimidou M. (2006).** Olive Oil Composition in Olive Oil, Chemistry and Technology, Boskou, D. Ed, The American OilChemists' Society, pp. 41.
- Brenes M, Medina E, Romero C et De Castro A. (2007).** Antimicrobial activity of olive oil. *AGRO*

FOOD INDUSTRY HI TECH. 18, 6.

C

C.E.E. 2568/91. Communauté Economique Européenne. Règlement (CEE) N°2568/91 de la commission du 11 juillet 1991. Relatif aux caractéristiques des huiles d'olive et des huiles de grignons d'olive ainsi qu'aux méthodes d'analyse y afférentes : 27-30.

C.O.I. (1996). Analyse spectrophotométrique dans l'ultraviolet. Conseil Oléicole International/ T20/ Doc 19 6 juin 1996, Madrid. Espagne.

C.O.I. (2003). Classification des huiles d'olive. Normes internationales applicables à l'huile d'olive et à l'huile de grignon d'olive. Conseil Oléicole International.

Canabate-Diaz A., Segura B., Carretero A., Ferná'Ndez-Gutierrez A., Belmonte Vega B.A., Garrido Frenich B., Martinez Vidal J.L., Duran Martos J. (2007). Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS Food Chemistry 102, 593–598.

Carr RA et Vaissey-Genser M. (2003). Margarine/Methods of manufacture. In: Encyclopaedia of Food Science and Nutrition. Academic Press, Amsterdam, pp. 3709–3714.

Cerretani L, Motilva MJ, Romero MP, Bendini A. et Lercker G. (2008). Pigment profile and chromatic parameters of monovarietal virgin olive oils from different Italian cultivars. European Food Research and Technology. 226, 1251-1258.

Chateris W et Keogh K. (1991). Fats and oil in table spread. Lipid Technology. 3, 16-22.

Criado MN, Romero, MP, Casanovas M. et Motilva, MJ. (2008). Pigment profile and colour of monovarietal virgin olive oils from Arbequina cultivar obtained during two consecutive crop seasons. Food Chemistry. 110, 873-880.

D

Dabbou S, Brahmi F, Taamali A, Issaoui M, Ouni Y, Braham M, Zarrouk M. et Hammami M. (2010). Extra virgin olive oil components and oxidative stability from olives grown in Tunisia. Journal of the American Oil Chemists' Society. 87, 1199-1209.

De Greyt WO et Huyghebaert A. (1993). Food and nonfood applications of milk fat. Lipid Technol. 5, 138-140.

Del Carlo M, Sacchetti G, Di Mattia C, Compagnone D, Mastrocola D, Liberatore L et Cichelli A. (2004). Contribution of the phenolic fraction to the antioxidant activity and oxidative stability of olive oil. Journal of agricultural and food chemistry. 52, 4072-4079.

Douzane M. and Bellal M. M. (2005). Contribution à la caractérisation des huiles de quelques variétés population d'olive algériennes : étude de quelques composés mineurs de la fraction insaponifiable. *Olivae*, 103: 33-41.

E

E.C. (2002). Régulation n°796 of 6 May (2006). On changes EC- Regulation. 2568/91. Official J.L.128/815/05/02. 2002. Bruxelles (Belgium).

Edelfelt E.G. (2015) ; Huile d'olive vierge et sport. P.30.

El Antari A., Hilal A., Boulouha. and El Moudni A. (2000). Etude de l'influence de la variété, de l'environnement et des techniques culturales sur les caractéristiques des fruits et la composition chimiques de l'huile d'olive vierge extra au Maroc. *Olivae*, 80: 29-36.

F

Faur L. (1992). Margarine technology. *Oils and Fats Manual* Karleskind, A. Vol. II, Lavoisier Publishing, Paris: 938-987.

Favati F, Caporale G et Bertuccioli M. (1994). Rapiddetermination of phenol content in extra virgin olive oil. *Grasas y Aceites*. 45, 68-70.

FDA (Food and Drug Administration). (1993). Code of federal regulations, 21CFR101.67, 58 FR 2455. Citéin: **Koca N, Kocaoglu-Vurma NA, Harper WJ et Rodriguez-Saona LE. (2010).** Application of temperature-controlled attenuated total reflectance-mid- infrared (ATR-MIR) spectroscopy for rapid estimation of butter adulteration *Food Chemistry*. 121, 778–782.

François. Rouger (1974). *Industrie des corps gras*. Ed : Tec et Doc. Lavoisier. p (32-51), p(283-291). ISBN : 2.88020.007.5.

Frasch-Melnik, S, Norton IT et Spyropoulos F. (2010). Fat-crystal stabilised w/o emulsions for controlled salt release. *Journal of food engineering*. 98, 437-442.

Fuentes de Mendoza M, De Miguel Gordillo C, Marin Exposito J, Sanchez Casas J, Martinez Cano M, Martin Vertedor D. et Franco Baltasar MN. (2013). Chemical composition of virgin olive oils according to the ripening in olives. *Food Chemistry*. 141, 2575-2581.

G

Gandul-Rojas B., M. Roca-L. Cepero and M.I. Mínguez-Mosquera. (2000). Use of Chlorophyll and Carotenoid Pigment Composition to Determine Authenticity of Virgin Olive Oil. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 77: 853-858.

Garcia J M., Yousfi K., Mateos R., Olmo M. and Cert A. (2001). Reduction of bitterness by heating of olive (*Olea europaea*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9): 4231- 4235.

Ghanbari R, Anwar F, Alkharfy, KM, Gilani AH, et Saari N. (2012). Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea L.*)—a review. *International journal of molecular sciences*. 13, 3291-3340.

Ghedira K. (2008). Pharmacognosie. P. 85.

Ghotra B.S., Dyal S.D. et Narine S.S. (2002). Lipidshortenings: a review. Food Research International. 35: 1015-1048.

Gimeno E, Castellote AI, Lamuela-Raventos RM, De la Torre MC et Lopez-Sabater M C. (2002). The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. Food Chemistry. 78, 207-211.

Giuliani A, Cerretani L et Cichelli A. (2011). Chlorophylls in olive and in olive oil: Chemistry and occurrences. Critical reviews in food science and nutrition. 51, 678-690.

Gomez-Caravaca A.M., Cerretani L., Bendini A., Seguera-Carretero A., Fernandez- Gutierrez A., Del Carlo M., Compagnone D. and Cechelli A. 2008. Effect of fly attack (*Bactrocera oleae*) on the phenolic profile and selected chemical parameters of olive oil. Journal of Agricultural Food Chemistry, 56: 4577-4583.

Gomez-Rico A., Salvador M. D. and Fregapane G. (2009). Virgin olive oil and olive fruit minor constituents as affected by irrigation management based on SWP and TDF as compared to ETc in medium-density young olive orchards (*Olea europaea* L. cv. Cornicabra and Morisca). Food Research International, 42: 1067-1076.

Grigoriadou D., Androulaki A., Psomiadou E. and Tsimidou M.Z. (2007). Solid phase extraction in the analysis of squalene and tocophérols in olive oil. Food Chemistry, 105: 675-680.

Guaraldo Gonçalves LA. (2009b). Influence of chemical interesterification on thermal emulsions for controlled salt release. Journal of food engineering. 98, 437-442.

Gutierrez Rosales F., Perdiguero S., Gutiérrez R., Olías J.M. (1992). Evaluation of the Bitter Taste in Virgin Olive Oil. Journal of American Oil Chemist's Society, 69 (4), 394-395. hydrogenation. Asia Pacific journal of clinical nutrition. 14, 387-395.

Gutierrez F, Jimenez B, Ruiz A et Albi MA. (1999). Effect of Olive Ripeness on the Oxidative Stability of Virgin Olive Oil Extracted from the Varieties Picual and Hojiblanca and on the Different Components Involved. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47, 121-127.

H

Haddada FM, Krichène D, Manai H, Oueslati I, Daoud D et Zarrouk M. (2008). Analytical evaluation of six monovarietal virgin olive oils from Northern Tunisia. European Journal of Lipid Science and Technology. 110, 905-913.

Hadjou L, Lamani O, Cheriet F. (2013). Labellisation des huiles d'olive algériennes : contraintes et opportunités du processus?. pp. 36.

Harwood J.L., Aparicio R. (2000). Handbook of olive oil: analysis and properties. Gaithersburg,

Maryland, USA: Aspen publications, Inc. p. 620.

Himed L., Barkat M. (2014). Élaboration d'une nouvelle margarine additionnée des huiles essentielles de Citrus limon.p1.

I

Idris NA, Dian M et Hab NL. (2005). Interesterified palm products as alternatives to hydrogenation. Asia Pacific journal of clinical nutrition. 14, 387-395.

Inarejos-García AM, Santacatterina M, Salvador MD, Fregapane G et GómezAlonso, S. (2010). PDO virgin olive oilquality—Minor components and organoleptic evaluation. Food research international. 43, 2138-2146.

ISO (1998). Méthode ISO 15305. Corps gras d'origines animale et végétale détermination de la couleur. Ed.1.

ISO. (2000). Méthode ISO 6320. Corps gras d'origines animale et végétale détermination de l'indice de réfraction. Ed: 4.

ISO. (2002). Méthode ISO. 6579. Microbiologie des aliments - Méthode horizontale pour la recherche des salmonella sp. Ed: 3.

ISO. (2003). Méthode ISO 4833. Microbiologie des aliments -Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes- Technique de comptage des colonies à 30 °C. Ed: 3

ISO. (2003). Méthode ISO. 6888-1. Microbiologie des aliments-Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (Staphylococcus aureus et autres espèces). Ed:3.

ISO. (2005). Méthode ISO 7251 (E). Microbiologie des aliments Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement d'Escherichia coli présumés. Ed: 3

ISO. (2006). Méthode ISO 6886:2006 (F). Corps gras d'origines animale et végétale – détermination de la stabilité à l'oxydation (essai d'oxydation accéléré). Ed: 2.

ISO. (2008). Méthode ISO 21527. Microbiologie des aliments -- Méthode horizontale pour le dénombrement des levures et moisissures - Technique par comptage des colonies dans les produits à activité d'eau inférieure ou égale à 0.95. Ed: 3.

J

Judde A. (2004). Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications?. Oléagineux Corps gras Lipides. 11(6): 414-418.

K

Karabulut I, Turan S et Ergin G. (2004). Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *European Food Research and Technology*. 218, 224-229.

Karleskind A et Wolff J.P. (1992). Manuel des corps gras. Ed : Tech et Doc.pp : 1579.

Karleskind A. (1992). Manuel des Corps Gras. Ed,Tech&Doc,Paris,Tome I et Tome II.pp :1579.

Kataja-Tuomola M., Sundell J.R. (2008). Effect of alpha-Tocopherol and betacarotene supplementation on the incidence of type 2 diabetes., *Diabetologia*. Jan; 51(1):4753.

Krichene D, Allalout A, Mancebo-Campos V, Salvador MD, Zarrouk M et Fregapane G. (2010). Stability of virgin olive oil and behaviour of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. *Food Chemistry*. 121, 171-177.

L

Laribi R, Laincer F, Tamendjari A, Rovellini P, Venturini S, Keciri S et Arrar L. (2011). Caracterisation de dix varietes d'huile d'olive algerienne, etude du profil en composés phénoliques par HPLC. *la rivista italiana delle sostanze grasse*. 88, 161-171.

M

Matos L.C., Cunha S.C., Amaral J. S., Pereira J. A., Andrade P.B., Seabra R.M. and Oliveira B.P.P. 2007. Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrancosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices. *Food Chemistry*, 102: 406-414.

Méndez AI et Falqué E. (2007). Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil. *Food Control*. 18, 521-529.

Minguez-Mosquera MI., Rejano L., Gandul B, Higinio A. et Carido J. (1991). Color pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of American OilChemist's Society*. 68, 332-336.

Morello JR, Motilva MJ, Tovar MJ et Romero MP. (2004). Changes in commercial virgin olive oil (cv Arbequina) duringstorage, withspecialempphasis on the phenolic fraction. *Food Chemistry*. 85, 357-364.

Moreno Esteban B, Lezcano Solis A. (2015). L'huile d'olive, pierre angulaire du régime alimentaire méditerranéen. P. 121.

Morris DH et Vaissey-Genser M. (2003). Margarine/Dietary importance. In: *Encyclopaedia of Food Science and Nutrition*. Academic Press, Amsterdam, pp. 3719–3725.

Murkovic M., Lechner S., Pietzka A., Bratacos M. and Katzogiannos E. (2004). Analysis of minor components in olive oil. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 61: 155- 160.

N

Nardi F., Carapelli A., Boore J.L., Roderick G.K., Dallai R., Frati F. (2010). Domestication of olive flythrough a multi-regional host shift to cultivated olives: Comparative dating using complete mitochondrial genomes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* doi:10.1016/j.ympev.2010.08.008.

Naudet M. (1988). Corps gras. Dans : *Techniques de l'ingénieur, traité de Génie des procédés*. K 3301.

Nor Aini I. et Miskandar M.S. (2007). Utilization of palm oil and palm products in shortenings and margarines. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 109. 422-432.

O

Ogutcu M, Mendeş M et Yılmaz E. (2008). Sensorial and physico-chemical characterization of virgin olive oilsproduced in Canakkale. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 85, 441-456.

Ollivier D., Boubault E., Pinatel C., Souillol S., Guérère M . and Artaud J. (2004). Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. *Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique (2ème Semestre)*, 965:169-196.

Osland R.E., (2002). Phytosterols in human nutrition. *Annual Review of Nutrition* 22, 533-549.

Oueslati I, Anniva C, Daoud D, Tsimidou MZ et Zarrouk M. (2009). Virgin olive oil (VOO) production in Tunisia: The commercial potential of the major olive varietiesfrom the arid Tataouine zone. *Food Chemistry.* 112, 733-741.

P

Pellegrini N. and Battino M. (2006). Total antioxydant capacity of olive oil. *In Olive Oil and Health.* Ed J.L Quiles, M. C. Ramirez Tortoza and P Yaqcob. CAB International. Pp63-71.

Perrin J.L. (1992). Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. *Etude et Recherche.* 4, 25-31.

Perrin, J. (1996). Détermination de l'altération. In : KARLESKIND Alain. *Manuel des corps gras.* Technique et Documentation Ed. Lavoisier. Tome II,p. 1198-1218.ISBN : 2-85206-662-9.

Pinelli P., Galardia C., Mulinaccia N., Vincieria F.F., Cimatob A. and Romania A. (2003). Minor polar compound and fatty acid analyses in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. *Food Chemistry,* 80: 331-336.

R

Rahmani M. (2007). Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides. *Les technologies de laboratoire.* 2, 18-21.

Rahmani M. and Csallany S.A. (1998). Role of Minor Constituents in the Photooxidation of Virgin Olive Oil. *Journal of American Oil Chemist's Society,* 75 (7): 837-843.

Ramadan M.F. and Moersel J.T. (2006). Screening of the antiradical action of vegetable oils. *Journal*

of Food Composition and Analysis, 19: 838-842.

Ribeiro APB, Basso RC, Grimaldi R, Gioielli LA, dos Santos AO, Cardoso LP et Guaraldo Gonçalves LA. (2009b). Influence of chemical interesterification on thermal behavior, microstructure, polymorphism and crystallization properties of canola oil and fully hydrogenated cottonseed oil blends. Food research international. 42, 1153-1162.

Rossi M, Gianazza M, Alamprese C et Stanga F. (2001). The effect of bleaching and physical refining on color and minor components of palm oil. Journal of the American Oil Chemists' Society. 78, 1051-1055.

Ryan D, Robards K. et Lavee S. (1998). Assessment of quality in olive oil. *Olivae* 72, 23.

S

Samaniego Sanchez C, Troncoso Gonzalez AM, García-Parrilla MC, Quesada Granados JJ, López García de la Serrana H et Lopez Martínez MC. (2007). Different radical scavenging tests in virgin olive oil and their relation to the total phenol content. *Analyticachimica acta*. 593, 103-107.

Sanchez J. and Harwood J.L. (2002). Biosynthesis of triacylglycerols and volatiles in olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 564-573.

Servili M, Sordini B, Esposto S, Urbani S, Veneziani G, Di Maio I, Selvaggini R et Taticchi A. (2013). Biological Activities of Phenolic Compounds of Extra Virgin Olive Oil. *Antioxidants*. 3, 1-23.

Sifi, S ; Ben Hamida, J et AMAMOU, T. (2001). Impact du système de trituration des olives sur la qualité d'huile d'olive obtenue. *Olivae*, N°84, p.33-38.

T

Tamendjari A, Bellal MM, Laribi R et Angerosa F. (2004). Impact de l'attaque de *Bactrocera oleae* et du stockage des olives de la variété Chemlal sur la qualité de l'huile. *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 81, 23-27.

Tanilgan K., Özcan M.M. and Ünver A. (2007). Physical and chemical characteristics of five Turkish olive (*Olea europaea* L.) varieties and their oils. *Grasas y Aceites*, 58 (2): 142-147.

Tanouti K, Serghini-Caid H, Chaieb E, Benali A, Harkous M et Elamrani A. (2011). Amélioration qualitative d'huiles d'olive produites dans le Maroc oriental. *Technologies de Laboratoire*. 6, 1-12.

Tarakowski R, Malanowski A, Kościeszka R et Siegoczyński RM. (2014). VIS spectroscopy and pressure induced phase transitions—Chasing the olive oils quality. *Journal of Food Engineering*. 122, 28-32.

Tsimidou M. (1998). Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. *Journal of Food Science*. 10, 99-112.

Tsimidou M., Papadopoulos G and Boskou D. (1992). Phenolic compounds and stability of virgin

olive oil-Part I. Food Chemistry, 45:141-144.

Tuberoso C.I.G., Kowalczyk A., Sarritzu E. And Cabras P. (2007). Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. Food Chemistry, 103: 1494-1501.

Tuck KL et Hayball PJ. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. The Journal of nutritional biochemistry. 13, 636-644.

Tura D., Gigliotti C., Pedo S., Failla O., Bassi D. et Serraiocco A. (2007). Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europae L.*) and correlations with oxidative stability. Scientia Horticulturae.112, 108–119.

U

Uzzan, A. (1992).«Olive et huile d'olive». In «Manuel des corps gras » karleskind, A. Tome I , Ed : Lavoisier, Paris, 221-228.

V

Veillet S, Tomao V, Bornard I, Ruiz K et Chemat F. (2009). Chemical changes in virgin olive oils as a function of crushing systems: Stone mill and hammer crusher. Comptes Rendus Chimie. 12, 895-904.

Visioli F., Poli A. and Galli C. (2002). Antioxidand and other biological activities of phenols from olives and olive oil. Medicinal Research Reviews, 22 (1): 65-75.

W

Wiedermann LH. (1978). Margarine and margarine oil, formulation and control. Journal of the American Oil Chemists' Society. 55, 823-829.

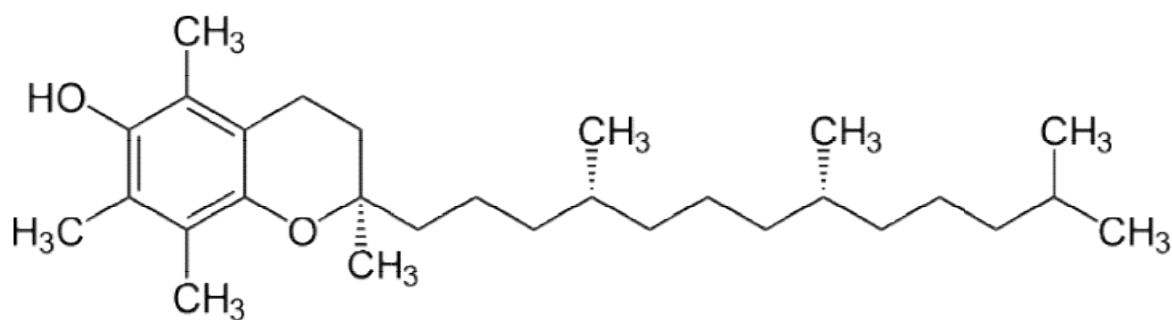
Wolff J-P. (1968). Manuel d'analyse des corps gras. Edit. Azoulay,paris.

Wolff J-P. (1992). Manuel d'analyse des corps gras. Edit. Azoulay,paris.

ANNEXES

Tableau I : Les principaux acides gras présents dans l'huile d'olive (Roehly, 2000).

Acides gras	Longueur de la chaîne et nombre d'insaturation	Teneur en %
Acide oléique	C18 : 1	55 – 83
Acide linoléique	C18 : 2	3,5 – 21
Acide palmitique	C16 : 0	7,5 – 20
Acide stéarique	C18 : 0	0,5 – 5
Acide palmitoléique	C16 : 1	0,3 – 3,5
Acide linoléique	C18 : 3	≤0,9
Acide Arachidique	C20 : 0	≤0,6
Acide gadoleique	C20 : 1	≤0,4
Acide heptadécanoïque	C17 : 0	≤0,3
Acide héptadécénoïque	C17 : 1	≤0,3
Acide béhenique	C22 : 0	≤0,2
Acide lignocérique	C24 : 0	≤0,2
Acide myristique	C14 : 0	≤0,05



Nom	R1	R2	R3
α - tocophérol	Me	Me	Me
B- tocophérol	Me	H	Me
γ - tocophérol	H	Me	Me
δ - tocophérol	H	H	Me

Structure chimique des tocophérols (Sbeik , Boukhchine, Kamel.H, (2007)

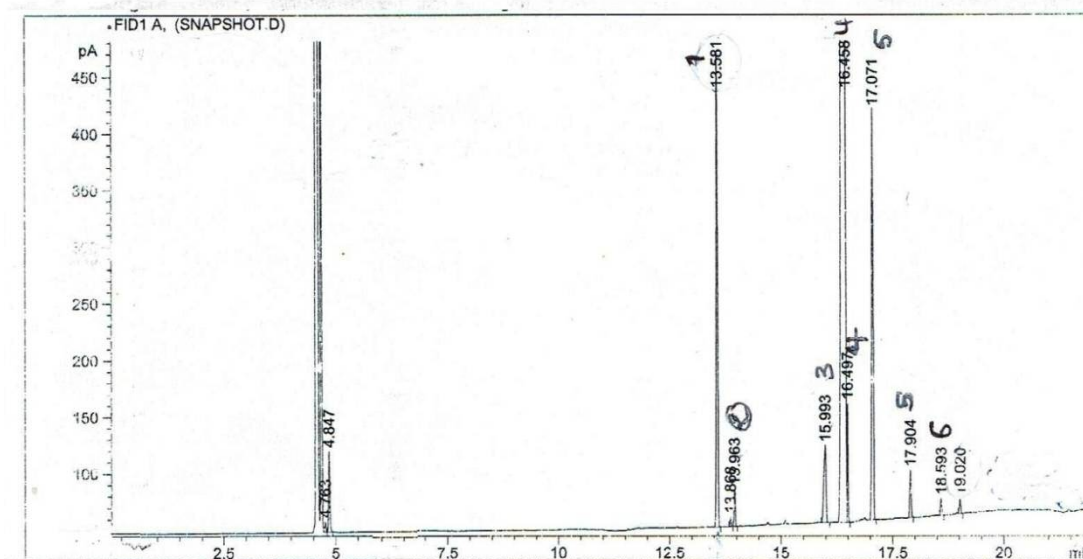


Figure 1 : Chromatogramme type des esters, méthyliques des acides gras de l'huile d'olive

1 : acide palmitique (C 16 :0), 3 : acide stéarique (C18 :0), 4 : acide oléique (C 18 :1)

2 : acide palmitoléique (C 16 :1), 5 : acide linoléique (C 18 :2), 6 : acide linoléique (C18 :3)

Tableau : la Composition des milieux de culture

Milieu PCA (Plate Count Agar).	Tryptone 5,0 g. Extrait de levure 2,5 g. Glucose 1,0 g. Agar agar bactériologique 12,0 g
Bouillon laurylsulfate-Tryptose	Tryptose .20 g. Lactose .5 g .Phosphate dipotassique .2,75 g Phosphate monopotassique .2,75 g .Chlorure de sodium .5, g. Laurylsulfate de sodium .0, 10 g
Baird-Parker	Tryptone 10,0 g .Extrait de viande 5,0 g. Extrait autolytique de levure 1,0 g. Pyruvate de sodium 10,0 g .Glycine 12,0 g. Chlorure de lithium 5,0 g .Agar agar bactériologique 15,0 g. Emulsion de jaune d'oeufs 47,0 ml Telurite de potassium à 3,5% 3,0 ml
Gélose au Dichloran-Glycérol (DG 18)	Tryptone 5,0 g .Glucose 10,0 g .Phosphate monopotassique 1,0 g Sulfate de magnésium, 0,5 g. Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline) 2,0 mg. Chloramphénicol 0,1 g. Glycérol 220g .Agar agar bactériologique 13,0 g
RAPPAPORTV-ASSILIADIS SOJA (RVS)	Peptone papainique de soja .4, 50 g. Chlorure de sodium .7, 20 g. Phosphate monopotassique .1, 26 g .Phosphate dipotassique 0,18g Chlorure de magnésium anhydre .13, 40 g. Vert malachite (oxalate) 36, 0 mg
Bouillon de MÜLLERKAUFFMAN N au Tétrathionate-Novobiocine (MKTTn)	Tryptone .8, 6 g. Extrait de viande .4, 3 g .Sels biliaries.4, 78 g Chlorure de sodium.2, 6 g. Carbonate de calcium .38, 7 g Thiosulfate de sodium anhydre.30, 45 g .Vert brillant.9, 6 mg
(Xylose-Lysine-Désoxycholate) XLD	Extrait autolytique de levure.3, 0 g .L-Lysine.5, 0 g. Lactose .7, 5 g Saccharose .7, 5 g. Xylose .3, 5 g. Désoxycholate de sodium.2, 5 g. Chlorure de sodium.5, 0 g .Thiosulfate de sodium.6, 8 g. Citrate ferrique ammoniacal .0, 8 g .Rouge de phénol.80, 0 mg. Agar agar bactériologique.13, 5 g
Solution de RINGER au ¼	Chlorure de sodium .2, 250 g .Chlorure de potassium.0, 105 g. Chlorure de calcium.0, 120 g .Hydrogénocarbonate de sodium.0, 050 g

Tableau : les caractéristiques de huile de palme

Huile de palme			
Acidité (% d'acide palmitique)	0,30		Max
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg huile)	10		Max
Matières volatiles à 105 °C %	0,2		Max
Impuretés insolubles %	0,05		Max
Indice de refraction (n _d 50 °C)	1,449	-	1,455
Indice de Saponification (mg KOH / g d'huile)	190	-	209
Indice d'iode	50	-	55
Point de fusion (°C)	36	-	40
Couleur Lovibond 5p 1/4 Jaune	30		Max
Rouge	3,0		Max
Odeur et saveur	Caractéristiques au produit		
SFC %			
	5 °C		63 ± 4
	10 °C		57 ± 4
	15 °C		44 ± 4
	20 °C		31 ± 4
	25 °C		20 ± 4
	30 °C		11 ± 4
	35 °C		6 ± 4
	40 °C		3 Max

Tableau : caractéristique de huile estérifiée

Huile estérifiée			
Acidité (% d'acide palmitique)	0,30		Max
Indice de peroxyde (meq O ₂ / kg huile)	10		Max
Matières volatiles à 105 °C %	0,2		Max
Impuretés insolubles %	0,05		Max
Indice de refraction (n, 50 °C)	1,449	-	1,454
Indice de Saponification (mg KOH / g d'huile)	190	-	220
Indice d'iode	39		Max
Point de fusion (°C)	38	-	42
Couleur Lovibond 5p 1/4			
Jaune	30		Max
Rouge	3,0		Max
Odeur et saveur	Caractéristiques au produit		
SFC %			
	5 °C		76 ± 4
	10 °C		73 ± 4
	15 °C		66 ± 4
	20 °C		48 ± 4
	25 °C		41 ± 4
	30 °C		22 ± 4
	35 °C		11 ± 4
	40 °C		4 ± 4

Résumé

Le présent travail porte sur la formulation de trois margarines de table enrichies en l'huile d'olive à 20%, 30% et 40 %, sans vitamine E, et sans pasteurisation dans le but de l'estimation de leur qualité et stabilité oxydatives. Les tests de qualification de l'huile d'olive ont déterminé l'appartenance de l'huile étudiée à la catégorie des huiles extra vierges. La chromatographie en phase gazeuse de l'huile d'olive a révélé la dominance de l'acide oléique, comme un élément majeur de la composition d'acides gras (70,94%). Les teneurs en polyphénols est de 535,80 mg/kg, ce qui nous renseigne sur sa catégorie à teneur élevée en polyphénols totaux. La teneur en pigments relativement faible est de 3,393 mg/kg pour la chlorophylle et 2,805 mg/kg pour les caroténoïdes. Trois margarines à tartiner enrichies en l'huile d'olive, ont été élaborées. L'analyse des trois margarines obtenues présente, les caractéristiques physico-chimiques suivantes : pH de 3,89/ 3,77/ 3,74 respectivement pour les trois formulations (MF1/ MF2/ MF3), l'indice de peroxyde est de 0,34 meq d'O₂/kg pour les trois formulations, un point de fusion de 36,5°C (MF1), 36,3°C (MF2) et 35.9°C (MF3). Les analyses microbiologiques ont confirmé l'absence de pathogènes grâce à l'effet anti-microbien de l'huile d'olive.

Mots clés: huile d'olive, margarine, stabilité oxydative, vitamine E, acide oléique.

Abstract

The present work deals with the formulation of three table margarines enriched with 20%, 30% and 40% olive oil, without vitamin E, and without pasteurization in order to estimate their oxidative quality and stability. The qualification tests of olive oil have determined the belonging of the oil studied to the category of extra virgin oils. Gas chromatography of olive oil revealed the dominance of oleic acid as a major component of the fatty acid composition (70.94%). The polyphenol contents are 535.80 mg / kg, which gives us information about its category with a high content of total polyphenols. The relatively low pigment content is 3.393 mg / kg for chlorophyll and 2.805 mg / kg for carotenoids. Three spreads margarines enriched with olive oil have been developed. Analysis of the three margarines obtained had the following physicochemical characteristics: pH of 3.89 / 3.77 / 3.74 for the three formulations (MF1 / MF2 / MF3), the peroxide value was 0,34 meq O₂ / kg for the three formulations, a melting point of 36.5 ° C (MF1), 36.3 ° C (MF2) and 35.9 ° C (MF3) Lack of pathogens due to the antimicrobial effect of olive oil.

Key words: Olive oil, margarine, polyphenol, oxidative stability, vitamin E, oleic acid.