

# UNIVERSITE DE SAAD DAHLAB BLIDA

Faculté Des Sciences Agro -Vétérinaires  
Département de Biotechnologie Végétale

## THESE DE DOCTORAT

En sciences agronomiques

Spécialité : Biotechnologies Végétales et Agroalimentaires

### ELABORATION DE FORMULATIONS ALIMENTAIRES

### DIETETIQUES ENRICHIS EN ELEMENTS NATURELS

Présentée par

**Fella BENAOUADJ**

Devant le jury :

A. Badis	Professeur	Université de Blida 1	Président
D. El Hadi	Professeur	Université de Blida 1	Examineur
S. Megateli	MCA	Université de Blida 1	Examineur
A. Mezaini	MCA	Université de Chlef	Examineur
A. Hadj-Ziane	Professeur	Université de Blida 1	Directrice de thèse

**Blida, 10 Janvier 2018**

## RESUME

La première partie du travail a pour objectif le développement d'une nouvelle formulation de margarine diététique enrichie en phytostérols, extraits de la fraction insaponifiable d'une huile d'olive.

Moyennant le plan d'expérience, le nombre d'essais a été limité à 12 expériences (avec 3 facteurs variables : huile, eau et l'émulsifiant (lécithine de soja)).

La caractérisation microbiologique (germes mésophiles, coliformes fécaux, staphylococcus aureus, levures et moisissures) a montré une salubrité de toutes les formulations.

Les caractéristiques physico-chimiques, la stabilité de pH, point de fusion, l'acidité et l'humidité ainsi que les tests organoleptiques nous ont permis d'accéder à la formule optimale.

L'analyse rhéologique de la margarine a mis en évidence un très bon étalement. La margarine présente un pourcentage élevé en acide gras saturé (53,24% du), l'acide oléique (39,730%) est l'acide gras le plus dominant.

La deuxième volet de ce présent travail a été consacré à étudier l'impact de l'incorporation de l'amidon sous forme natif et modifié sur les nouvelles propriétés du fromage fondu dans le but d'apprécier une nouvelle texture d'une part et de diminuer la teneur en matière grasse (MG) d'autre part, pour finir par la modélisation des résultats expérimentaux.

La planification expérimentale a été toujours la stratégie adaptée pour modéliser les conditions opératoires. Les facteurs variés étant la quantité de l'amidon et la teneur en matière grasse. L'extrait sec du fromage et les paramètres issus de la modélisation des résultats rhéologiques sont les réponses retenus.

Il s'est avéré d'après les résultats obtenus que le produit fini de bonne qualité sur le plan physicochimique et microbiologique. L'analyse organoleptique réalisée par un test de dégustation a montré une meilleure qualité sensorielle du fromage fondu à 2% d'amidon.

Une concentration d'amidon modifiée supérieure à 2% augmente la viscosité du fromage au repos. Le fromage d'amidon natif a une viscosité faible.

Lorsque la MG dépasse 15% et la concentration de l'amidon dépasse 2%, la viscosité de fromage augmente. En deçà de cette concentration, l'effet de la MG est négligeable, sauf dans le cas où la concentration de l'amidon est de 1% (la viscosité diminue dans ce cas).

**Mots clés :** Formulation, enrichis, margarine, fromage fondu, phytostérols et amidon.

## ABSTRACT

The aim of the first part of this study is to develop a new formula of dietary margarine enriched with phytosterols. The unsaponifiable fraction of olive oil is exploited to enriched margarine.

Using an experimental design in which the number of tests is limited to a total of 12 experiments (with 3 variable factors: oil, water and emulsifier (soy lecithin)).

The microbiological characterization (mesophilic bacteria, fecal coliform bacteria, *Staphylococcus aureus*, yeast and mold) showed a salubrity of all formulations.

The pH stability, melting point, acidity, moisture and the organoleptic tests allow us to determine the optimal formula.

The rheological analysis of margarine showed a very good spreading. The Margarine has a high percentage of saturated fatty acids (53.24%), oleic acid (39.730%) is the most present fatty acid.

The second part of this work is devoted to studying the impact of the incorporation of starch and modified starch on the new properties of melted cheese in order to obtain a new texture on the one hand and to reduce the fat content on the other hand. We finish by modeling the experimental results.

Experimental planning was always the appropriate strategy for modeling the operating conditions. Variable factors are the amount of starch and the fat content. The dry extract of the cheese and the parameters resulting from the modeling of the rheological results are the responses retained.

It was found from the results obtained that the finished product is of a good physicochemical and microbiological quality. The organoleptic analysis carried out by a tasting test showed a better sensory quality of the cheese melted at 2% of starch.

A modified starch concentration greater than 2% increases the viscosity of the cheese at rest. Non modified starch cheese has a low viscosity.

When the fat content exceeds 15% and the starch concentration exceeds 2%, the cheese viscosity increases. Below this concentration, the effect of fat content is negligible except in the case where the starch concentration is 1% (the viscosity decreases in this case).

**Keywords:** formulation, enriched, margarine, processed cheese, phytosterols and starch

## ملخص

الجزء الأول من هذه الدراسة يهدف إلى وضع صيغة جديدة لمرغرين الحمية الغنية بالفيتوستيرول هذا الأخير نتحصل عليه من خلال زيت الزيتون.

باستخدام التصميم التجريبي اين عدد الاختبارات قد يكون مقصورا على ما مجموعه 12 تجربة (مع 3 عوامل متغيرة: الزيت والمياه ومستحلب (ليستين الصويا)).

التحاليل الميكروبيولوجية (البكتيريا متوسطة الحرارة، والبكتيريا القولونية البرازية، بكتيريا العنقودية الذهبية، الخميرة والعفن) بينت سلامة جميع الصيغ هذا يعود للظروف الصحية لوحدة الانتاج وكذا المواد الاولية المستعملة.

استقرار درجة الحموضة، درجة الانصهار والحموضة والرطوبة والاختبارات الحسية تسمح لنا لتحديد الصيغة المثلى.

التحاليل الانسيابية اظهرت ان للمرغرين خاصية طلي جيدة جدا. المرغرين تحتوي على نسبة عالية من الاحماض الدهنية المشبعة (53.24%)، وحمض الأوليك (39.730%) هي الحمض الدهني الأكثر حضورا.

الجزء الثاني من هذا العمل يهدف لدراسة الآثار المترتبة على إدراج النشاء والنشاء المعدل على نسيج الجبن من أجل ايجاد وصفة جديدة من جهة ومحاولة تقليل محتوى الدهون من جهة أخرى، وننتهي بدراسة نموذجية للنتائج التحاليل التجريبية.

تم استخدام التصميم التجريبي (عامل متغير هو كمية النشاء والدهون). المادة الصلبة للجبن والنتائج المتحصل عليها من دراسة نتائج التحاليل الانسيابية هي المعايير المستقطبة.

أظهرت النتائج أن المنتج النهائي هو ذو نوعية جيدة من الناحية الفيزيائية والميكروبيولوجية. التحاليل الحسية من خلال اختبار الطعم يظهر ان الجبن المكون من 2% من النشاء هو الافضل جودة.

النشاء المعدل بتركيز اعلى من 2% يرفع اللزوجة في الراحة. الجبن مع نشاء غير معدل يظهر لزوجة اقل.

عندما تتجاوز نسبة الدهون 15 % اللزوجة تترتفع في الجبن ذو نسبة نشاء اكثر من 2%. اقل من هذا التركيز، تأثير نسبة الدهن على اللزوجة منعدم. الا حين يكون تركيز النشاء 1% ( اللزوجة تنخفض في هذه الحالة).

**الكلمات المفتاح:** صياغة، اثناء، المرغرين، الجبن المطبوخ، الفيتوستيرول، النشاء.

# Dédicace

**Je dédie ce travail a :**

Mes parents qui m'ont aidé et encouragé énormément dans mes études.

Mon cher frère Abdelrraouf qui n'a épargné aucun effort pour m'aider dans la réalisation de ce travail.

Mes frères Fayçal et Soufiane

Tous mes proches

# Remerciements

Je remercie Dieu de m'avoir donné la volonté et le courage pour réaliser ce travail.

Mes remerciements s'adressent également :

- Au Professeur A HADJ ZIANE de m'avoir encadré, soutenu et encouragé dans la réalisation et la concrétisation de cette thèse ;
- Aux membres de jury qui ont bien voulu juger ce travail: BADIS A, EL HADI D, MEGATELI S et MEZAINI A.
- A Madame M REBEHA, enseignante à l'Université de Blida 1, pour son aide et ses précieux conseils en rhéologie;
- A monsieur le responsable ainsi que tous les agents de l'unité de production bellat (Margarinerie) ;
- Au responsable et tous les ingénieurs de laboratoire de contrôle de qualité de la laiterie de Beni tamou ;
- A toute personne de laboratoire du département de chimie industrielle de l'université blida 1
- A Mademoiselle Bensalem chargé d'analyse au centre de recherche CRAPC
- A tous les dégustateurs, hommes, femmes, jeunes et vieux, d'avoir participé à l'analyse hédonique de nos échantillons ;
- Ainsi qu'à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

## TABLE DE MATIERE

<b>Introduction générale .....</b>	<b>17</b>
------------------------------------	-----------

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre 1 : Formulations alimentaires

1-1-Formulation .....	20
1-1-1-Formulation alimentaire .....	20
1-2-Margarine .....	21
1-2-1-Différents types de margarine .....	21
1-2-2-Différence entre le beurre et la margarine .....	22
1-2-3-Fabrication de la margarine .....	24
1-2-3-1-Matières premières .....	24
1-2-3-2-Etapes de fabrication .....	25
1-2-4-Texture et rhéologie .....	27
1-3- Fromage fondu .....	30
1-3-1- Fabrication du fromage fondu .....	30
1-3-1-1- Ingrédients utilisés en fabrication .....	30
1-3-1-2- Technologie de fabrication du fromage fondu .....	32
1-3-2-Valeur nutritionnelle .....	38

#### Chapitre 2 : éléments naturels

2-1-L'huile d'olive et phytostérols .....	39
2-1-1-Définition .....	39
2-1-2-Classification de l'huile d'olive .....	39
2-1-3-Composition .....	40
2-1-3-1-Fraction saponifiable .....	40
2-1-3-2-La fraction insaponifiable .....	41
2-1-4-Phytostérols .....	42
2-1-4-1- Fonction des phytostérols dans les végétaux.....	43
2-1-4-2-Effets des phytostérols .....	44
2-1-4-3-Les phytostérols dans les plantes .....	45

2-1-4-4-Les aliments enrichis en phytostérols .....	46
2-2-Amidon .....	47
2-2-1-Amidon natif .....	47
2-2-1-1-Structure chimique de l'amidon natif .....	48
2-2-1-2-Structure physique de l'amidon natif .....	49
2-2-1-3-Propriétés physiques de l'amidon .....	49
2-2-2-Amidon modifié .....	50
2-2-3>Action de la chaleur et traitement acide .....	51
2-2-4-Traitement enzymatique .....	51
2-2-5-Traitements chimiques .....	52
2-2-6-Traitements par irradiation .....	53
2-2-7-Les différents types d'amidons et leurs utilisations .....	53

### **Chapitre 3 : Plan d'expérience**

3-1-Introduction .....	55
3-2-Historique .....	55
3-3-Définition et conditions d'un plan d'expérience .....	56
3-4-Terminologie .....	56
3-4-1-Notion des facteurs et réponses .....	57
3-4-2- Notion d'espace expérimental .....	58
3-4-3-Surfaces de réponse .....	60
3-4-4- Effet d'un facteur .....	60
3-4-5- la représentation d'une étude (matrice d'expériences) .....	61
3-4-6-Types de plan d'expériences .....	62
3-4-7-Les plans de mélange ( <i>Mixture design</i> ) .....	62
3-5-Les étapes de réalisation d'un plan d'expériences .....	66
3-5-1-Etape de préformulation .....	67
3-5-2-Construction du plan et réalisation des essais .....	71
3-5-3-Interprétations des résultats .....	72

### **Chapitre 4 : Matériel et Méthodes**

<b>4-1-Magrarine .....</b>	<b>73</b>
4-1-1-Matériel .....	73
4-1-1-1-Matériel biologique .....	73
4-1-2-1-Matériel non biologique .....	73

4-1-2-Méthodes .....	74
4-1-2-1-Caractérisation de l'huile d'olive .....	74
4-1-2-2-Plans d'expérience .....	78
4-1-2-2-1-Etude de la préformulation .....	78
4-1-2-2-2-Définition des objectifs .....	78
4-1-2-2-3-Définition des réponses .....	79
4-1-2-2-4-Choix d'une stratégie d'expérimentation .....	79
4-1-2-2-5-Recensement des facteurs .....	79
4-1-2-2-6-Les niveaux des Facteurs retenus .....	81
4-1-2-2-7-Modèle et plans adopté .....	82
4-1-2-2-8-Construction du plan d'expériences .....	82
4-1-2-3-Etudes préliminaires des matières premières .....	83
4-1-2-3-1-L'extraction des phytosterols .....	84
4-1-2-4-Procédure de réalisation des différentes formules de margarine ...	85
4-1-2-4-1- Préparation de la phase aqueuse .....	85
4-1-2-4-2- Préparation de la phase huileuse (phase grasse) .....	85
4-1-2-4-3- Préparation de l'émulsion .....	86
4-1-2-5-Les analyses caractéristiques de la margarine .....	86
4-1-2-5-1-Qualité physicochimique .....	87
4-1-2-5-2-Analyse rhéologique .....	89
4-1-2-5-3-Détermination de la teneur en acides gras par CPG .....	90
4-1-2-5-4-Qualité microbiologique .....	91
4-1-2-5-5-Qualité sensorielle .....	94
<b>4-2-Fromage fondu .....</b>	<b>95</b>
4-2-1-Matériel .....	95
4-2-1-1-Matériel biologique .....	95
4-2-2-Méthodes .....	95
4-2-2-1-Méthodologie expérimentale .....	95
4-2-2-2-Caractérisation de l'amidon natif et modifié .....	98
4-2-2-3--Préparation du fromage fondu à l'amidon .....	99
4-2-2-4-Analyses physico-chimiques .....	100
4-2-2-5-Etude rhéologique .....	102
4-2-2-6-Les analyses microbiologiques .....	103
4-2-2-7- Les Analyses sensorielles .....	104

## **Chapitre 5 : Résultats et discussion**

<b>5-1- Margarine.....</b>	<b>105</b>
5-1-1-Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive .....	105
5-1-1-1-Analyse de la fraction insaponifiable .....	108
5-1-2-Caractérisation physico-chimique de la margarine .....	109
5-1-3-Composition en acides gras .....	113
5-1-4-Teste rhéologique .....	115
5-1-5-Caractérisation microbiologique .....	117
5-1-6-Caractérisation sensorielle .....	118
5-1-7-Modélisation en réponse de surface .....	120
5-1-7-1-Optimisation de la formule .....	121
<b>5-2-Fromage fondu .....</b>	<b>123</b>
5-2-1-Caractérisation de l'amidon natif et modifié.....	123
5-2-2- analyses physicochimiques .....	125
5-2-3-Test rhéologiques .....	126
5-2-4-Analyses microbiologiques .....	129
5-2-5-Analyse sensorielle .....	131
5-2-6- Modélisation des réponses .....	136
5-2-6-1-Etude d'effet des différents facteurs sur les réponses étudiées ....	140
<b>Conclusion .....</b>	<b>144</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## LISTE DES ABREVIATIONS

**Abs** : absence

**AGS** : acide gras saturée

**AGMI** : acide gras monoinsaturée

**AGPI** : acide gras polyinsaturée

**°C** : degré celsius

**COI** : conseil oléicole international

**CPG** : chromatographie phase gazeuse

**DS<sub>BZ</sub>** : degré de substitution de groupe benzyle

**ES** : extrait sec

**g** : gramme

**H** : Humidité

**HPLC** : High-performance liquid chromatography

**K** : consistance

**K<sub>232</sub>** : Absorbance

**Kg** : kilogramme

**meq** : milliéquivalent

**MG** : matière grasse

**mg** : milligramme

**NF** : norme française

**pH** : potentiel hydrogène

**ug** : microgramme

**UHT** : ultrahaute température

**UV** : ultraviolet

**UI** : unité internationale

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

### Figures

**Figure 1.1** : Classification des margarines disponibles sur le marché mondial (O'Brien, 2009).

**Figure 1.2**: rôle d'un tensioactif

**Figure 1.3** : Principe de fabrication de la margarine (d'après Karleskind et al., modifié)(Kone, 2001).

**Figure 1.4** : Principales voies de fabrication de fromage fondu (**Boutonnier, 2000**).

**Figure 2.1** : les différentes structures stéroliques (**Bereau, 2001**)

**Figure 2.2** : Formes et tailles des granules d'amidon de maïs, blé, riz, pomme de terre, manioc et de pois (MEB grossissement  $\times 280$ ) d'après Atkin, Cheng, **Abeysekera et Robards (1999)**

**Figure 2.3**: Structure chimique de l'amylose

**Figure 2.4**: Structure chimique de l'amylopectine

**Figure 2.5**: Structure d'un grain d'amidon

**Figure 2.6**: Schéma présentant les différents types d'amidons en fonction des traitements

**Figure 3.1** : domaine de variation d'un facteur (**Goupy, 2006**).

**Figure 3.2**: Représentation d'un point expérimental (**Goupy, 2006**).

**Figure 3.3**: Représentation géométrique d'une expérimentation (**Goupy, 2006**).

**Figure 3.4** : Représentation d'une surface de réponse (**Goupy, 2005**).

**Figure 3.5**: effet d'un facteur (**Abdelhakim, 2008**)

**Figure 3.6**: représentation géométrique d'un mélange à trois constituants sans contraintes

**Figure 3.7**: représentation géométrique d'un mélange à trois constituants présentant des limites inférieures

**Figure 3.8**: représentation géométrique d'un mélange à trois constituants présentant des limites supérieures

**Figure 3.9**: représentation géométrique d'un mélange à trois constituants présentant des limites supérieures et inférieures

**Figure 3.10**: représentation géométrique de la sélection des points expérimentaux lors du passage d'un plan classique à un plan D- optimal

**Figure 4.1**: diagramme de Procédure de réalisation des différentes formules de margarine

**Figure 4.2** : Géométrie plan-plan.

**Figure 4.3:** Diagramme de fabrication d'un fromage fondu à l'amidon.

**Figure 5.1:** Composition en acide gras de l'huile d'olive

**Figure 5.2:** courbes de variation de pH en fonction des temps

**Figure 5.3:** histogramme de l'acidité des formules

**Figure 5.4:** histogramme de taux d'humidité des formules

**Figure 5.5:** chromatogramme des acides gras de la margarine

**Figure 5.6:** courbe d'écoulement de la margarine formule N11

**Figure 5.7:** courbe de Viscoélasticité formule N11

**Figure 5.8 :** La formule optimale de la margarine enrichie en phytostérols

**Figure 5.9:** Observation au microscope optique de grains d'amidon de maïs ( $\times 400$ ).

**Figure 5.10:** observation au microscope optique de l'amidon de maïs (Coloré par une solution d'iode) ( $\times 1000$ ).

**Figure 5.11 :** observation au microscope optique de l'amidon de maïs modifié (Coloré par une solution d'iode) ( $\times 1000$ ).

**Figure 5.12:** courbes d'écoulement de quelques formules

**Figure 5.13:** courbe d'écoulement de l'essai N° 6 (STATISTICA).

**Figure 5.14:** Evaluation organoleptique de l'échantillon E1 de fromage fondu

**Figure 5.15 :** Evaluation organoleptique de l'échantillon E2 de fromage fondu

**Figure 5.16 :** Evaluation organoleptique de l'échantillon E3 de fromage fondu

**Figure 5.17 :** Evaluation organoleptique de l'échantillon E4 de fromage fondu

**Figure 5.18 :** Evaluation organoleptique de l'échantillon E5 de fromage fondu

**Figure 5.19 :** Evaluation organoleptique de l'échantillon E6 de fromage fondu

**Figure 5.20:** Histogramme des valeurs de  $R^2$  et  $Q^2$  des réponses étudiées.

**Figure 5.21 :** Variation de l'ES en fonction de la concentration de l'amidon de type 1 et 2 avec 20% de MG.

**Figure 5.22:** Variation de la viscosité au repos du fromage en fonction de la concentration de l'amidon et du type 1 et 2 avec une MG = 20%.

**Figure 5.23:** Variation de la viscosité au repos en fonction de la concentration de la MG avec le type 1 d'amidon de concentration (3%,2%,1%).

## **Tableaux**

**Tableau 1.1:** Les avantages et les inconvénients du beurre, la margarine et la margarine fonctionnelle (Laurie et Mathilde, 2008).

**Tableau 1.2 :** Composition du fromage fondu (MEYER, 1973)

**Tableau 2.1 :** Les différentes catégories d'huile d'olive et leurs critères de qualité (COI, 2003)

**Tableau 2.2 :** Composition de l'huile d'olive en acides gras (COI, 2003).

**Tableau 2.3 :** Composition en stérols majeurs des principales huiles végétales (g/kg) (Piironen *et al*, 2000).

**Tableau 2.4 :** Composition des différents amidons exprimée en % de matière sèche (Guilbot et Mercier, 1985).

**Tableau 4.1:** caractérisation des facteurs externes et liés à la formulation

**Tableau 4.2:** valeurs théorique des facteurs

**Tableau 4.3:** les facteurs retenus et leurs niveaux

**Tableau 4.4:** les différentes formules du plan d'expérience

**Tableau 4.5 :** les ingrédients de fabrication du fromage fondu avec leur rôle.

**Tableau 4.6:** Matrice du plan d'expériences (fromage fondu)

**Tableau 5.1:** Résultats des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive.

**Tableau 5.2 :** la composition en acide gras d'huile d'olive exprimée en pourcentage.

**Tableau 5.3 :** Analyse des composés de la fraction insaponifiable (CPG-FID / CPG-SM)

**Tableau 5.4 :** Résultat de point de fusion des formules

**Tableau 5.5:** les acides gras de margarine

**Tableau 5.6:** Résultats des analyses microbiologiques

**Tableau 5.7:**Résultats des analyse sensorielle (organoléptiques)

**Tableau 5.8:** représentation des réponses retenues au niveau du plan d'expérience

**Tableau 5.9 :** viscosité de l'amidon de maïs concentration (4%).

**Tableau 5.10:** résultats des analyses physicochimiques

**Tableau 5.11:** Résultats des analyses microbiologies durant le procédé de fabrication

**Tableau 5.12:** les réponses retenues

## INTRODUCTION

Le rôle primaire de l'alimentation est de fournir des substances nutritives en quantité suffisante pour subvenir aux besoins nutritionnels d'un individu [1].

Les comportements alimentaires des consommateurs ont profondément changé au cours des deux dernières décennies. Ces changements ont contribué au développement de l'obésité des populations et à l'augmentation des maladies qui en découlent, maladies cardio-vasculaires, diabète de type II, certains types de cancer, hypertension ...etc.

Dans ce contexte, les industriels du secteur agro-alimentaire se sont retrouvés dans l'obligation de développer ce que l'on appelle aujourd'hui l'aliment fonctionnel [2].

Ce terme est référé à un aliment qui procure un bénéfice sur la santé au même titre que les nutriments. Il peut concerner n'importe quel aliment qui est enrichi ou amélioré, ainsi que les suppléments diététiques qui peuvent potentiellement avoir un effet bénéfique sur les capacités intellectuelles ou physiques ou réduisent le risque de contracter une maladie [3].

Ces dernières années ont connu des recherches intenses pour découverte de nouveaux éléments naturels. Parmi les plantes qui suscitent un intérêt de plus en plus croissant aussi bien chez les consommateurs que chez les diététiciens et les nutritionnistes, qui l'exploitent dans l'élaboration de produits alimentaires de grande valeur nutritionnelle, organoleptique et diététique [4].

Ceci a été aussi encouragé car les produits équivalents issus de synthèses chimiques présentent des inquiétudes, parmi le grand public. Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps. Il existe donc un besoin de production de substances bioactives isolées, concentrées et purifiées, pour une utilisation dans un large champ d'application (cosmétiques, pharmaceutiques, additifs nutritionnels...) [4].

Les phytostérols sont l'un des éléments naturels et font l'objet de cette présente étude, ils sont des composés végétaux retrouvés en petites quantités dans les huiles végétales, les noix, les produits céréaliers, et certains fruits et légumes. Ces composés se sont avérés très bénéfiques pour la santé, notamment au niveau cardiovasculaire, par leur capacité à abaisser le cholestérol sanguin. Leur effet bénéfique se fait sentir avec un apport d'au moins 2 grammes par jour [5].

Pour y parvenir, dans le marché mondial existe plusieurs aliments enrichis en phytosterols (les matières grasses, les produits laitiers frais et assimilés et les sauces condimentaires), la margarine est l'aliment le plus abondant.

La margarine est une émulsion initialement formulé pour remplacer et suppléer le beurre trop cher et périssable. Sous sa forme standard, elle est constituée de deux phases essentielles, l'une grasse et l'autre aqueuse et contient aussi 2 % d'auxiliaires de fabrication [6].

L'amidon aussi est un élément naturel et la substance de réserve la plus répandue chez les végétaux supérieurs. C'est un polysaccharide naturel semi cristallin qui suscite un intérêt croissant dans des applications industrielles de part ses propriétés intéressantes [7].

Les amidons (sous forme natif ou modifié) ont été employés pour l'amélioration des textures et l'esthétique des produits, la simplification de la déclaration du label ; la réduction des coûts de production ; la garantie de la consistance des produits et pour prolonger la durée de conservation [8].

La fromagerie est l'une des industries qui utilisent l'amidon comme matière première. Les spécialités fromagères sont des aliments complexes obtenus en mélangeant un ou plusieurs variétés de fromages naturels. Ils sont fabriqués à partir des matières premières laitières et non laitières au lieu du lait ; caséine ou caséinates, lactosérum, matière grasse d'origine laitière et végétale, amidons, sels de fonte, additifs [9, 10, 11].

Parmi les fromages les plus consommés dans le monde et particulièrement en Algérie, on retrouve le fromage fondu qui est l'un des spécialités fromagères les plus récentes, qui ont permis une stabilisation bien plus poussée des protéines laitières, tout en conservant plus ou moins au produit fini l'aspect d'un fromage [12].

Notre étude a pour l'objectif d'élaborer des aliments enrichis en éléments naturels de bonne qualité surtout sur le plan nutritionnel et diététique, il s'agit de la margarine et du fromage fondu. Cette étude est effectuée en deux parties :

**Première partie** / l'extraction de la fraction insaponifiable riche en phytostérols d'une huile d'olive de la région de Bejaia, cette fraction est incorporé dans la phase grasse de la margarine dans le but d'élaborer un produit diététique avec un effet positif sur l'hypercholestérolémie. Caractéristique physicochimique, microbiologique, sensorielle, rhéologique ainsi que le profile d'acides gras sont effectués.

**Deuxième partie** / ont été incorporés au fromage fondu des amidons modifiés et non modifiés dans le but d'étudier leur impact sur la texture et d'apprécier une nouvelle recette d'une part et de diminuer le taux de matière grasse d'une autre part, pour finir par les caractérisations physicochimiques microbiologiques, rhéologiques et sensorielles. Dans cette étude, le plan d'expérience a été adapté comme méthodologie de travail.

## CHAPITRE 1: FORMULATIONS ALIMENTAIRES

### 1-1-Formulation

La formulation est l'activité de conception, de mise au point et de fabrication de prototypes, pour des produits commerciaux caractérisés par leur valeur d'usage.

La formulation touche toutes les industries de transformation de la matière (industrie alimentaire, cosmétiques, peintures, pharmacie, produits phytosanitaires...), des industries de production des matières premières jusqu'aux industries qui commercialisent directement au grand public [13].

La formulation consiste à associer une série de constituants qui permettent au mélange de répondre à un cahier des charges précis, qui lui même répond à un besoin réel ou créé par le consommateur [14].

Un produit formulé est obtenu par association et mélange de diverses matières premières, d'origine synthétique ou naturelle, matières parmi lesquelles on distingue généralement :

- les matières actives qui remplissent la fonction principale recherchée
- les auxiliaires de formulation, qui assurent les fonctions secondaires, facilitent la préparation ou la mise en œuvre du produit commercial, ou prolongent sa durée de vie [13].

### 1-1-1-Formulation alimentaire

Une formulation d'aliments est un calcul qui permet de décider de la proportion de chaque ingrédient utilisé afin de composer un aliment équilibré. L'objectif général de cette formulation est de mélanger des ingrédients de qualités nutritionnelles différentes de façon à obtenir un aliment ayant de bonnes proportions sur le plan nutritif [14].

Dans un aliment, il y a des composés "bioactifs", d'une part, et la "matrice" qui les contient. Les composés "bioactifs" sont tout ceux qui peuvent stimuler un récepteur du mangeur : olfactifs, sapides, trigéminaux, de consistance, de température, visuels... [13].

### 1-2-Margarine

La margarine est une émulsion du type eau dans l'huile (E/H) qui comporte deux phases essentielles :

- Une phase continue : la phase grasse.
- Une phase dispersée : la phase aqueuse.

Elle contient aussi des additifs (lécithines, monoglycérides, sel, colorant, antioxydants, conservateurs, vitamines) répartis en partie dans la phase huileuse (solubles ou dispersées dans les corps gras) et en partie dans la phase aqueuse (solubles ou dispersés dans l'eau et/ou le lait) [15].

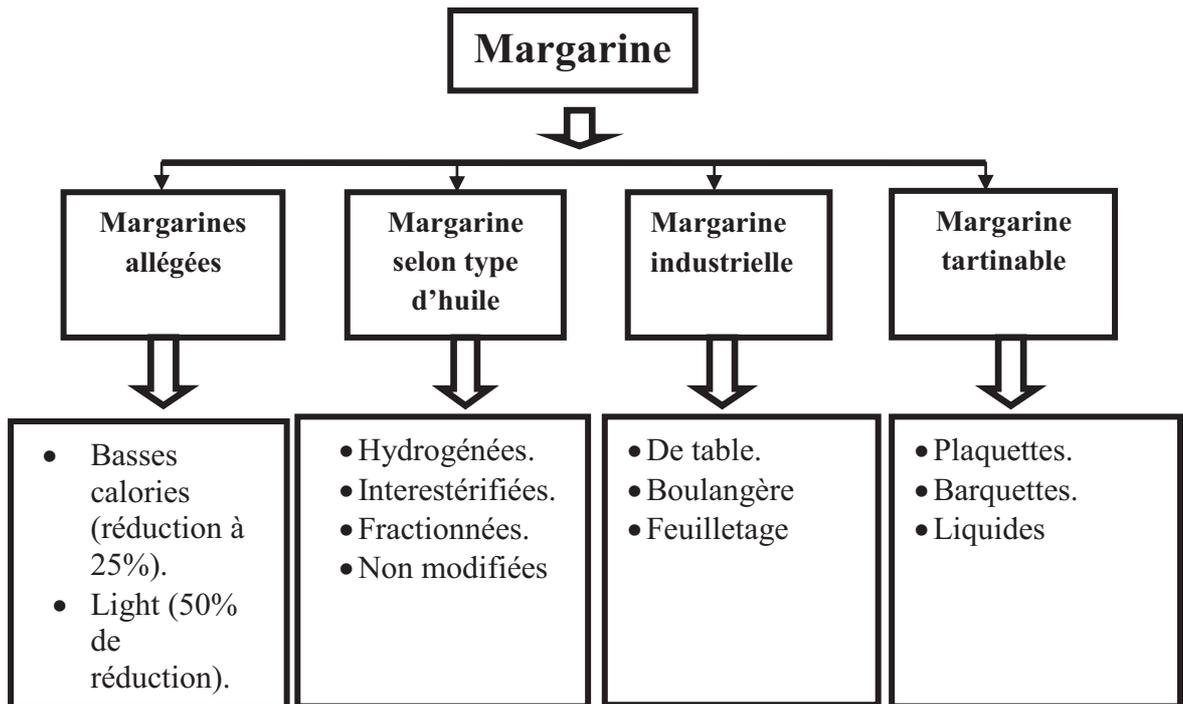
A la différence du beurre, elle n'est pas fabriquée à partir de lait. L'origine de ses acides gras est diverse, principalement végétale. La margarine était préparée au début en émulsionnant des graisses animales (suif ou saindoux) avec de l'eau et du lait ou de la crème. On utilise à l'heure actuelle une grande variété de corps gras, allant des huiles végétales plus ou moins hydrogénées. Les margarines sont actuellement préparées avec des huiles contenant principalement des acides gras en C18 ; elles consistent en un mélange de 2 ou 3 qualités d'huile partiellement hydrogénée. Au moment de la fabrication, la graisse se présente sous forme de cristaux d'une taille en général de l'ordre de 5 µm. La margarine peut être un bon compromis nutritionnel entre l'huile et le beurre pour certaines utilisations [16, 17, 18].

#### 1-2-1-Différents types de margarine

Les margarines présentent des teneurs en lipides différentes et c'est la proportion de ces derniers qui va différencier une margarine d'une autre [19].

La phase grasse représente la partie la plus importante de l'émulsion, soit 82 à 84 % dans les margarines traditionnelles d'aspect proche du beurre et 60 % seulement dans les margarines dites « allégées ».

La composition de la matière grasse (choix du mélange de corps gras, caractère hydrogéné, fractionné, ou interestérifié de toute ou partie des matières premières), est possible pour formuler une large gamme de margarines à usages spécifiques [20]. La figure ci-dessous illustre la classification des principales margarines retrouvées sur le marché mondial



**Figure 1.1 : Classification des margarines disponibles sur le marché mondial [21].**

### 1-2-2-Différence entre le beurre et la margarine

La composition du beurre et de la margarine est simple et est constituée de lipides, d'eau et de vitamines A, D et E.

Concernant les lipides, la margarine et le beurre contiennent, à des proportions différentes : des acides gras saturés, des acides gras monoinsaturés et polyinsaturés.

Ces composants lipidiques sont mentionnés sur l'emballage de la margarine. Nous pouvons y voir également la présence des graisses végétales partiellement hydrogénées et parfois des phytostérols. En revanche, l'emballage du beurre ne mentionne pas le détail des lipides et la teneur en cholestérol.

La quantité des graisses contenues dans la margarine et le beurre est identique, en revanche c'est la qualité de ces graisses qui diffère. En effet, le beurre contient des graisses animales amenées par le lait et des composés d'acides gras saturés et du cholestérol en excès pouvant entraîner des problèmes cardio-vasculaires [19].

Les margarines quant à elles contiennent des mélanges de graisses végétales et apportent donc des graisses insaturées dont certaines sont reconnues pour leurs effets bénéfiques sur la prévention des problèmes cardio-vasculaires. Toutefois, elles peuvent apporter des

graisses ou huiles partiellement hydrogénées qui, en grandes quantités, entraînent des problèmes cardio-vasculaires [19].

Il existe également sur le marché de nombreuses margarines dites fonctionnelles. La margarine fonctionnelle est une margarine dans laquelle on ajoute des ingrédients ou additifs (ingrédient fonctionnel) qui auraient des propriétés bénéfiques sur l'organisme, tels les phytostérols qui ont des effets positifs sur l'abaissement du taux de cholestérol [19].

**Laurie et Mathilde, (2008)** [19] donnent les avantages et les inconvénients du beurre, la margarine et la margarine fonctionnelle (tableau 1.1)

**Tableau 1.1:** Les avantages et les inconvénients du beurre, la margarine et la margarine fonctionnelle [19].

	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>Beurre</b>	ne contient pas d'additifs ne contient pas de colorants ne contient pas d'arômes contient des vitamines (A, D et E)	source AGT d'origine naturelle riche en AGS présence de cholestérol durée de conservation limitée à 4-5 semaines prix cher
<b>Margarine</b>	contient de nombreuses vitamines (A, D et E) source d'AGPI (ex: huile de tournesol) source d'AGMI (ex: huile de colza) source d'Omega 3 (possible rapport oméga 3 et 6 optimal) ne contient pas de cholestérol longue durée de conservation (14 semaines) prix bas	source d'AGT d'origine industrielle peut contenir de l'huile de palme et de coco (effet identique aux AGS) additifs industriels (émulsifiants, stabilisateurs, colorants, arômes) matière grasse d'assaisonnement exclusivement
<b>Margarine fonctionnelle</b>	contient de nombreuses vitamines (A, D, E, B6, B12 et acide folique) habituellement non présentes dans un corps gras. source d'Omega 3 (possible rapport oméga 3 et 6 optimal) source d'AGPI et d'AGMI ne contient pas de cholestérol longue durée de conservation (14 semaines) contient parfois des phytostérols	source d'AGT produit plus cher que le beurre ainsi que la margarine additifs industriels (émulsifiants, stabilisateurs, colorants, arômes) matière grasse d'assaisonnement exclusivement

### 1-2-3-Fabrication de la margarine

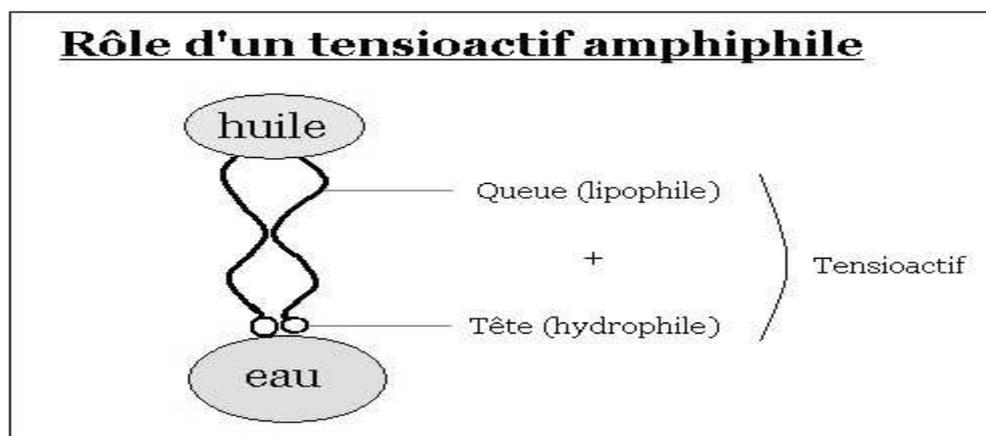
On ne peut pas parler de tradition pour la margarine. En effet, c'est un produit qui a fait son apparition beaucoup plus tardivement par rapport à l'huile ou le beurre. Son principe de fabrication est d'ailleurs basé sur celui du beurre, mais utilise des matières grasses végétales. La fabrication de la margarine repose sur l'émulsion eau dans l'huile. La phase lipidique (essentiellement constituée de matières grasses végétales) constitue la phase continue dans laquelle est incluse la phase dispersée (contenant divers additifs et ingrédients) : l'eau [22].

#### 1-2-3-1-Matières premières

Les matières premières pour la fabrication des margarines comprennent les graisses et huiles animale ou/et végétale (phase grasse), l'eau potable et/ou le lait (la phase aqueuse), les additifs et auxiliaires de fabrication [23].

- **Additifs liposolubles**

Les émulsifiants ; composés ayant des propriétés tensioactives, dues à leur caractère amphiphile : leurs structures chimiques étant composées à la fois de groupes hydrophiles et lipophiles et de ce fait pouvant se dissoudre dans les deux phases, permettant leur union sous forme d'émulsion homogène. Les émulsifiants utilisés dans les margarines sont la lécithine, les mono et diglycérides.



**Figure 1.2:** rôle d'un tensioactif

Colorant : la couleur de la margarine doit être assez voisine de celle du beurre, elle est obtenue soit par addition d'huile de palme rouge riche en caroténoïdes, soit de  $\beta$ -carotène de synthèse [24].

Antioxydant : la présence d'eau rend la margarine très sensible à l'oxydation. La meilleure protection est de maintenir le produit fini à l'abri de l'oxygène, mais on peut aussi ajouter des antioxydants via la phase grasse, qui ont pour rôle d'éviter l'apparition du rancissement en retardant l'oxydation des huiles [25,26].

- **Additifs hydrosolubles**

Le sel est, en premier lieu, ajouté pour améliorer la sapidité, mais il peut jouer un rôle protecteur, bactériostatique. Les teneurs peuvent varier de 0.1 à 1 et même 2 %. Le sel utilisé doit être de qualité alimentaire, pratiquement anhydre, avec absence de sels de magnésium, de fer et d'ions  $SO_2$  qui accélèrent l'oxydation des graisses. En solution dans l'eau, il doit donner une solution limpide et claire.

L'amidon est considéré comme étant un révélateur, à une dose de 0.2 % ; il permet de différencier la margarine du beurre, quoiqu'il existe actuellement d'autres moyens de les distinguer (CPG). Le sucre (saccharose) augmente les qualités organoleptiques, et donne la douceur aux margarines, il est utilisé dans les margarines de tables à raison de 0.2 à 0.3 % [25,26].

Arome : les margarines sont souvent aromatisées par le diacétyl arôme, naturel du beurre ou le butane Dione 1,3 de synthèse. On utilise une solution dans l'huile à 4 %. Au-delà d'une certaine limite, le goût n'est pas agréable et jugé comme artificiel.

### 1-2-3-2-Etapes de fabrication

- **Préparation de la phase grasse**

La phase huileuse renferme des huiles telles quelles, raffinées et/ou modifiées; lécithine, monoglycérides et colorants.

Les acides gras insaturés sont plus sensibles à l'oxydation (rancissement) que les acides gras saturés. En diminuant leur proportion au sein de la phase grasse, les risques de rancissement sont diminués. Il existe 3 traitements de modification des huiles végétales (Hydrogénation, Fractionnement et Interestérification) [22].

- **Préparation de la phase aqueuse**

Cette phase se compose de l'eau, lait, sel, sucre, arôme, conservateurs, correcteur de pH, etc [27].

L'eau rentrant dans la fabrication de margarine doit présenter les qualités d'une bonne eau potable, donc être hygiéniquement propre, neutre de goût et d'odorat. Elle ne devrait pas non plus contenir des sels de fer ou de manganèse, agents favorisant l'oxydation. Enfin le pH devrait être aux environs de 6. Le lait (petitlait ou lait mûré) peut substituer l'eau comme phase aqueuse [23].

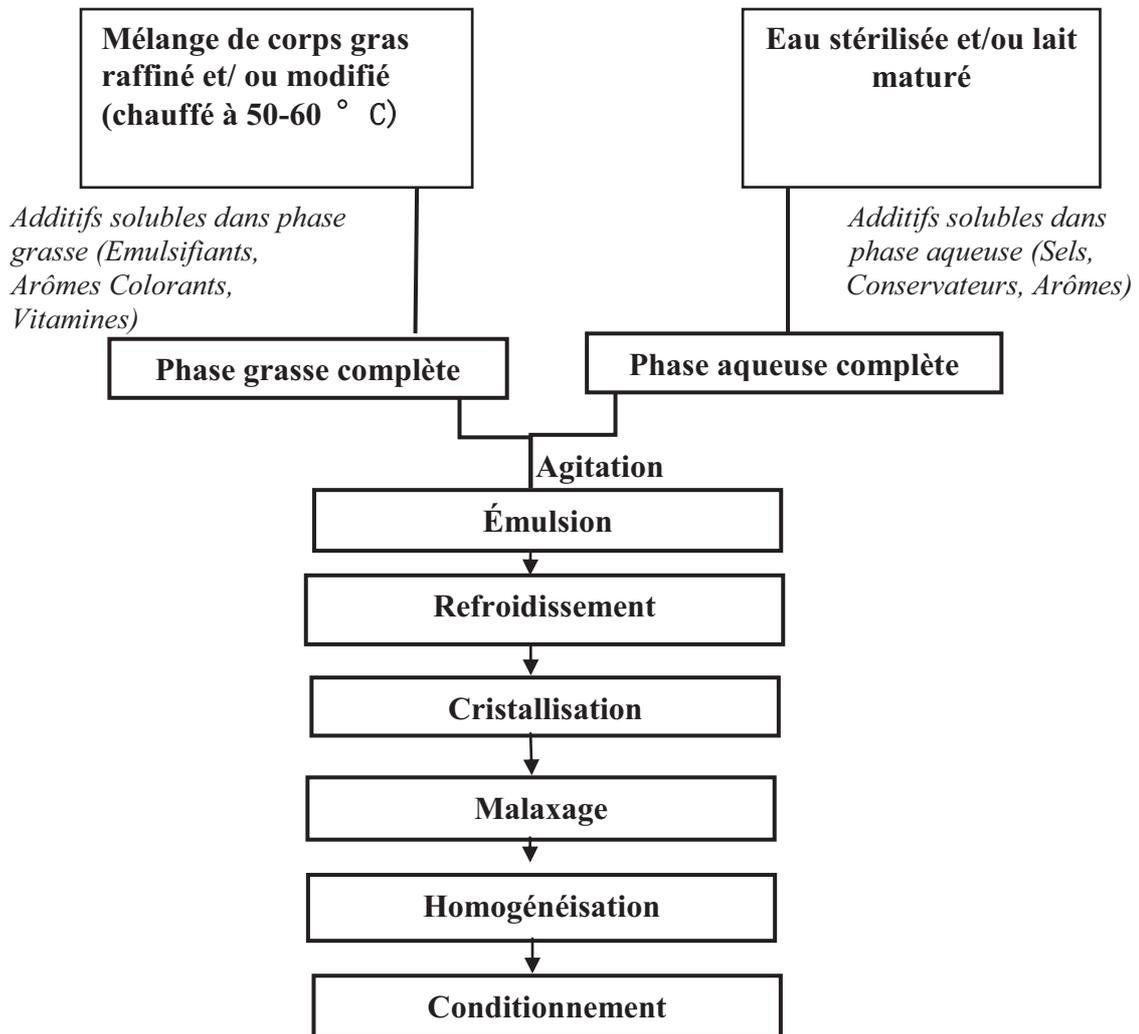
- **Préparation de l'émulsion** ; mélange des deux phases précédentes [27].
- **Refroidissement** : L'émulsion ainsi obtenue est à refroidir jusqu'à la cristallisation [23].
- **Cristallisation** : c'est une étape importante voire déterminante de la qualité des margarines et des corps gras en général. Les phénomènes de cristallisation jouent un rôle très important, car ils vont permettre la création de la structure du produit et contribuer à sa stabilisation [28].

Les paramètres du process (procédé de fabrication), tels que la température de l'émulsion, l'agitation, le débit et la température de refroidissement sont critiques. Ainsi, leurs effets sur la cristallisation et la nature cristalline des produits finis sont à prendre en considération [29].

- **Malaxage** : Pour la formation de l'émulsion fine, il faut recourir à un malaxage vigoureux, réduisant la taille des gouttelettes de l'émulsion [22].
- **Homogénéisation** : On procède à l'homogénéisation de l'émulsion afin d'assurer la stabilité.

L'homogénéisation qui, au mieux, doit se faire avec des équipements performants, est un processus au cours duquel une réduction de la taille des particules ainsi que leur fine dispersion sont assurées [23].

- **Conditionnement du produit** sous enveloppage (margarines traditionnelles) ou en pots confectionnés en différents matériaux [27].



**Figure 1.3** : Principe de fabrication de la margarine [23].

#### 1-2-4-Texture et rhéologie

- **Texture de la margarine**

**Beau (1950)** [30] cite les différents termes servant à désigner les diverses propriétés physiques de la margarine et du beurre:

Le terme structure s'applique aux éléments primaires de la matière grasse exempte d'eau et comprend notamment la forme (amorphe et cristalline) de cette matière grasse, c'est-à-dire la forme huile, gelée, cristalline, avec les différents dimensions.

Le terme texture s'applique au contraire à la construction (macroscopique et microscopique) de la margarine au moyen de ses composants, autrement dit à l'ensemble des liaisons générales internes.

Le terme consistance, étant évidemment influencée par la texture sans lui être identique, comprend toutes les propriétés de la margarine telles que dureté, viscosité, plasticité, élasticité, extensibilité, résistance au brisement, à la coupe, adhérence, moulabilité, etc. C'est aussi l'ensemble des sensations résultant de la stimulation des récepteurs mécaniques et tactiles, situés essentiellement dans la cavité buccale et qui varient en fonction de la texture du produit [30, 31].

Dans les margarines tartinables, on s'intéresse surtout à la notion de tartinabilité, ou facilité de la margarine à l'étalement. Cette notion est liée à la plasticité des solides. Elle est relative à la contrainte ou pression requise pour créer une distribution homogène du produit sur une surface et est l'inverse de la notion de dureté ou de fermeté. La tartinabilité peut être évaluée par diverses méthodes physiques ou par analyses sensorielles. Les instruments pour mesurer la tartinabilité furent développés dans les années 50. On distingue deux types d'instruments. Ceux qui mesurent la force nécessaire pour « extraire » l'échantillon à travers un ou plusieurs orifices et ceux où la mesure de la force nécessaire pour étaler l'échantillon avec un couteau est nécessaire.

Dans ces deux types de techniques, l'échantillon subit une déformation rapide et brute comme c'est le cas lorsque le consommateur étale la margarine ou le beurre sur le pain [18].

- **Rhéologie**

Habituellement, le produit alimentaire est étudié surtout sous des aspects nutritionnels, d'une part et biochimiques, d'autre part, puisque la majeure partie des transformations qui se déroulent dans l'aliment au cours des opérations technologiques sont des opérations à caractère biochimique. On oublie très souvent que le produit alimentaire est aussi un matériau sur lequel il peut être intéressant de mesurer des propriétés mécaniques par des mesures rhéologiques [32].

La rhéologie, du grec rhé, couler, est la branche de la physique qui étudie la déformation et l'écoulement de la matière. Elle s'applique à tous les types de matières, des gaz aux solides. La rhéologie est une science qui n'a que 70 ans, mais son histoire remonte à très loin.

Les sciences alimentaires font appel à la rhéologie pour déterminer la consistance des différents produits. Dans ce contexte, la consistance comprend deux composantes : la viscosité (« l'épaisseur », ce qui est peu glissant) et l'élasticité (la souplesse, la rigidité). Dans la pratique, la rhéologie comprend la mesure des flux, la caractérisation de l'écoulement et la détermination de la structure de la matière [33].

Parmi les aliments consommés, on trouve les produits semi solides. Ceux-ci montrent un comportement qui va d'un solide réel (qui casse) à celui d'un liquide réel (qui coule). C'est pour cette raison qu'ils sont appelés également produits semi liquides. On a l'exemple de la margarine. La consistance d'un produit semi solide peut varier entre un solide mou (la margarine) et un liquide visqueux (yaourt). Pour cela, son comportement propre est le plus souvent très complexe, exhibant ainsi des propriétés d'un solide et d'un liquide. A cet effet, l'étude de la structure et de la composition de l'aliment en permet la détermination [34].

En rhéologie, le cisaillement d'une substance est l'élément déterminant pour connaître son écoulement et sa structure. Pour étudier la viscosité d'une matière, le cisaillement doit induire un flux stationnaire de la matière. Pour qu'il y ait écoulement, il doit y avoir réorganisation et déformation des particules et rupture des liaisons dans la structure de la matière. Un certain nombre de matières présentent des propriétés visqueuses de même qu'élastiques; c'est à dire, elles emmagasinent une partie de l'énergie de déformation dans leur structure et en perdent une partie par l'écoulement: elles sont donc viscoélastiques; il existe de nombreux exemples dans les denrées alimentaires [33].

La viscosité est un paramètre important de la qualité de la plupart des produits semi solides/liquides. La plasticité, la pseudo plasticité et la propriété de cisaillement sont des facteurs importants pour l'appréciation de la qualité de ces produits et l'étude de ces propriétés fait partie intégrante de la rhéologie [31].

Il est clair que la valeur de la contrainte de cisaillement va en général croître avec la vitesse de cisaillement, mais que le rapport entre ces deux grandeurs va dépendre des propriétés du liquide considéré. Ce rapport de la contrainte à la vitesse de cisaillement appelé coefficient de viscosité. Celui-ci étant la capacité d'un fluide à s'écouler, en mécanique des fluides [35, 36, 18].

### 1-3- Fromage fondu

La dénomination « spécialité fromagère fondue » est réservée au produit laitier, dont la teneur minimale en matière sèche est de 25 grammes pour 100 grammes de produit, préparé à partir de fromage et d'autres produits laitiers. Il est obtenu par des techniques de traitement qui incluent la fonte et conduisent à l'émulsification des matières premières et doit avoir subi, au cours de sa fabrication, une température d'au moins 70°C pendant 30 secondes ou toute autre combinaison de durée et de température d'effet équivalent [37].

#### 1-3-1- Fabrication du fromage fondu

##### 1-3-1-1-Ingrédients utilisés en fabrication

###### ➤ **Matières premières**

###### • **Matières premières laitières**

Elles représentent la majeure partie des matières premières utilisées en fonte.

###### ❖ **Les fromages**

Une sélection adaptée des fromages est primordiale pour garantir la fabrication d'un fromage fondu de qualité. Dans certains pays, la fabrication du fromage fondu est faite à partir d'une seule variété de fromage à différents degrés d'affinage. Le fromage fondu est généralement fabriqué à partir d'un mélange de différentes variétés de fromages dont les critères de sélection sont : le type, la flaveur, la maturité, la consistance, la texture et l'acidité [38].

###### ❖ **Matière grasse laitière**

L'incorporation de matière grasse laitière est fréquente pour ajuster la teneur finale en cet ingrédient dans le produit et lui conférer des qualités organoleptiques notamment aromatiques agréables. Elle se fait essentiellement sous forme de beurre, de crème, de matière grasse laitière anhydride ou autres présentations commerciales.

La qualité des matières grasses laitières mise en œuvre est importante pour éviter l'apparition de défauts liés à l'oxydation [38].

###### ❖ **Autres matières premières laitières**

En plus des fromages et beurre, d'autres matières premières laitières sont utilisées pour la fabrication du fromage fondu. On peut citer, les concentrés protéiques laitiers, les poudres de lait écrémé, lactosérum, lactose, caséines-caséinates, protéines de sérum, coprecipités, crème ...[12].

- **Matières premières non laitières**

Elles peuvent être utilisées à des fins économiques ou nutritionnelles et être source de matière grasse et/ou de protéines. Toutefois, l'utilisation de ces matières proscrit l'appellation « fromage fondu » et contraint à la dénomination « spécialité fromagère fondue [14].

Les matières grasses végétales à base de palme, coco, soja sont utilisées à des fins économiques alors que les huiles d'olive et de colza le sont à des fins nutritionnelles (équilibre d'acides gras saturés/insaturés). Les protéines végétales (classiquement les protéines de soja), peuvent être utilisées pour des raisons culturelles ou économiques mais leur flaveur particulière reste un frein à leur utilisation.

Les amidons ont été employés pour la diversification des textures, l'amélioration de l'esthétique des produits, la simplification de la déclaration du label, la réduction des coûts de production, la garantie de la consistance des produits et la prolongation de la durée de conservation [10].

D'autres matières premières non laitières peuvent être utilisées dans un but d'aromatisation (aromates, épices, fruits et légumes) dans une limite de 30% en poids du produit fini. [39].

- **Additifs**

- **Sels de fonte**

Les principaux sels utilisés pour la fabrication du fromage fondu sont les sels de l'acide phosphorique et l'acide citrique. Parmi les phosphates (sels de l'acide phosphorique), on distingue les monophosphates et les phosphates polymères ou polyphosphate. Parmi ses derniers, on rencontre 3 groupes :

- Les polyphosphates en chaînes courtes et chaînes longues ;
- Les métaphosphates cycliques et les ultrasphosphates réticulés.

Dans le groupe des polyphosphates à chaîne courte, ce sont les diphosphates et les triphosphates qui présentent un intérêt sur le plan technique.

Les citrates sont des sels de l'acide citrique. Le citrate qui présente un intérêt pour la fonte des fromages est le dihydrate-citrate trisodique car c'est celui qui convient le mieux pour la fabrication et qui est le plus stable au stockage [14].

• Les additifs technologiques majeurs utilisés sont constitués de sels de fonte (essentiellement famille des phosphates de sodium et citrate de sodium). D'autres additifs autorisés par la réglementation Européenne (directive Européenne 95/2/CE) peuvent être utilisés en tant que gélifiants, épaississants ou émulsifiants [38].

### 1-3-1-2- Technologie de fabrication du fromage fondu

Les principales étapes de fabrication du fromage fondu sont :

#### ❖ **Sélection des matières premières et contrôle de qualité**

La sélection des matières premières et en relation avec la formule du produit à fabriquer, toutes les matières premières sélectionnées feront l'objet d'un contrôle microbiologique, organoleptique et physicochimique rigoureux avant utilisation [40].

#### ❖ **Écrouûtage, découpage et broyage des fromages**

L'écrouûtage est réalisé traditionnellement par raclage ou brossage mais des techniques nouvelles apparaissent telles que les jets d'eau chaude sous pression par exemple [38].

Le broyage est une étape importante du traitement des matières premières, car il est indispensable de fragmenter finement les fromages, faciliter le mélange des différents ingrédients et réduire le temps de fonte [14].

Le broyage du beurre et du cheddar s'effectue dans un broyeur qui permet leur découpage, ce broyage grossier est généralement suivi d'un broyage plus fin lors de la cuisson dans le cuiseur.

#### ❖ **Pesage**

Une fois le broyage terminé, les différents lots de fromage sont pesés à l'aide d'une balance et mis dans le pré mélangeur avec les éventuels autres ingrédients poudreux, mais si la fonte est réalisée dans des pétrins ou cutter dans les charges sont mises dans les wagonnets et amenées au pétrin une par une. Sans pesage exact, il n'y a pas de garantie de régularité de fabrication, donc cette opération doit se faire avec exactitude [41].

#### ❖ **Choix du procédé de fabrication**

Pour la production de petits volumes, la fonte en discontinue est réalisée dans des pétrins ou cutter (l'ensemble des opérations unitaires est réalisé dans le même appareil). Les traitements de petits volumes en cutter sont réalisés à des températures inférieures à 120°C. Les traitements de type UHT permettent des traitements jusqu'à 150°C. Pour la fabrication de gros volumes, le mélange est effectué dans un prémélangeur et une précuisson peut être réalisée en cutter (entre 70°C et 95°C) suivie d'une « stérilisation » obtenue soit par

passage dans des échangeurs à surfaces raclées, soit par l'utilisation de stérilisateurs de type UHT [39].

#### ❖ **Mélange, cuisson et fonte**

Au mélange de matières premières fromagères et laitières, on ajoute de l'eau et des sels de fonte, puis on effectue un pré broyage de l'ensemble pendant quelques minutes pour obtenir un mélange prêt à être fondu [38].

La cuisson est une opération essentielle, elle permet non seulement d'obtenir une masse fondue homogène, mais aussi de favoriser l'action des sels de fonte. Les deux techniques de cuisson (petits volumes et gros volumes) sont basées sur un chauffage par injection de vapeur qui entraîne une dilution importante des matières premières, le refroidissement pouvant, quand il est réalisé par injection d'eau froide, lui aussi entraîner une dilution [39]. L'opération de fonte consiste à un broyage, malaxage, traitement thermique et épaissement éventuel d'un mélange de matières premières afin d'obtenir une pâte homogène, stable chimiquement et microbiologiquement pendant une durée pouvant aller de 3 à 12 mois [39].

Les phases de la fonte sont les suivantes :

#### ➤ **Peptisation**

Les fromages naturels sont constitués par des granules de caillé, composés de protéines et de globules gras. La zone externe du granule est composée essentiellement de substances protéiques, par contre la zone interne renferme les substances grasses. Dès la mise en contact des matières premières fromagères avec l'eau et les sels de fonte, on assiste au démarrage de l'étape de déstructuration. Cette étape va se poursuivre et s'accroître lors du traitement thermique. Les sels de fonte chélatent le calcium lié aux protéines et transforment ainsi la paracaséinate de calcium insoluble en paracaséinate de sodium soluble. Les chaînes peptidiques sont en partie déroulées et dissociées ; c'est le stade de peptisation.

Le mélange fromager est transformé en solution colloïdale homogène. Parallèlement et sous l'action de la température et de l'agitation, la matière grasse est dispersée dans la solution colloïdale et stabilisée par la formation à l'interface des gouttelettes lipidiques formées d'une membrane protéique incluant les structures précédemment peptisées [39].

#### ➤ **crémage**

L'étape de crémage se fait dans des crémeuses qui doivent être dotées de viscosimètre qui informe le patricien du moment auquel la masse doit être pompée vers les couleuses comme elle peut se dérouler dans le cuiseur pour une production des petits volumes [41].

Le crémage correspond à un épaissement du produit découlant de deux:

- **Hydratation**

La peptisation des protéines permet l'hydratation des chaînes, aboutit à un gonflement du milieu et à une augmentation de la viscosité [38].

- **Restructuration**

La formation des liaisons inter et intra-protéiques entraîne la gélification du réseau protéique, c'est-à-dire une restructuration partielle des protéines en réseaux tridimensionnel [38, 14].

### **C-Facteurs favorisant la fonte [38]**

- **Affinage des fromages**

Plus le fromage est affiné, plus les protéines sont hydrolysées, plus elles perdent leurs propriétés émulsifiantes d'où la nécessité de garder une quantité de caséines intactes.

- **pH**

Les phases de peptisation (déstructuration) et de restructuration ne sont possibles que dans une gamme de pH comprise entre 5.2 et 6.2. Vers des pH 5, la capacité émulsifiante des caséines est altérée et ne permet plus d'obtenir l'émulsion.

- **Les sels de fonte**

Une peptisation suffisante n'apparaît qu'avec la présence des polyphosphates dont le taux de polymérisation est au moins égal au tripolyphosphate dans le mélange de sels de fonte.

- **La préfonte**

Elle permet d'accélérer la cinétique de réaction et stabilise l'émulsion en favorisant les interactions protéines / lipides, elle est utilisée pour améliorer la texture et la stabilité du fromage fondu.

- **Influence des sels de fonte**

- **Le pouvoir complexant ou chélatant**

C'est l'aptitude à fixer des cations métalliques pour former des complexes solubles ; cette propriété de séquestration des polyphosphates permet de retirer un composant métallique, le calcium du système protéique.

- **Le pouvoir tampon**

La plage du pH tolérée pour le fromage fondu se situe entre 5.2 et 6.2 en dehors de laquelle les qualités de texture et de consistance ne peuvent pas être atteintes.

Les différents sels de fonte permettent, par leur pouvoir tampon, d'ajuster le pH du produit à la valeur désirée [38].

- **L'effet bactériostatique**

Contrairement aux citrates, les phosphates possèdent un effet bactériostatique qui ralentie le développement des micro-organismes. Les phosphates sont reconnus comme de bons inhibiteurs de germination des spores, la production de toxines botuliques est empêchée, probablement par abaissement de l'activité de l'eau [38, 39].

- ❖ **Homogénéisation**

L'homogénéité du mélange est fondamentale pour assurer une bonne qualité du produit fini, elle est notamment fonction du matériel, de l'intensité des forces de cisaillement générées par les systèmes d'agitation, ainsi que la durée de traitement [41].

Cette étape améliore la stabilité de l'émulsion de la matière grasse en diminuant la taille des globules gras. Elle améliore également la consistance, la structure, l'apparence et l'onctuosité des fromages fondus. L'homogénéisation n'est recommandée que pour des produits à teneur élevée en matière grasse [38].

- ❖ **Conditionnement**

Le fromage fondu est amené avec prudence par des pompes et tuyaux aux couleuses.

Les conditionneuses sont en général entièrement automatiques et produisent des emballages de différents poids et formes. En règle générale, le fromage fondu est conditionné à chaud, à la température de fonte.

La température de la pâte amenée vers les trémies des couleuses ne doit pas être inférieure à 80°C pour permettre le coulage à 71°C. Pour prévenir ainsi toute contamination et aseptiser l'emballage par la chaleur [41].

### ❖ Refroidissement

Le crémage n'est stoppé complètement que lorsque la température du fromage atteint 20°C dans la masse [39]. Le produit est refroidi à la température de 15 à 20°C. Le refroidissement doit être uniforme et relativement rapide pour obtenir une consistance régulière pour quitter rapidement la zone de température de 30 à 37°C favorable au développement des bactéries indésirables.

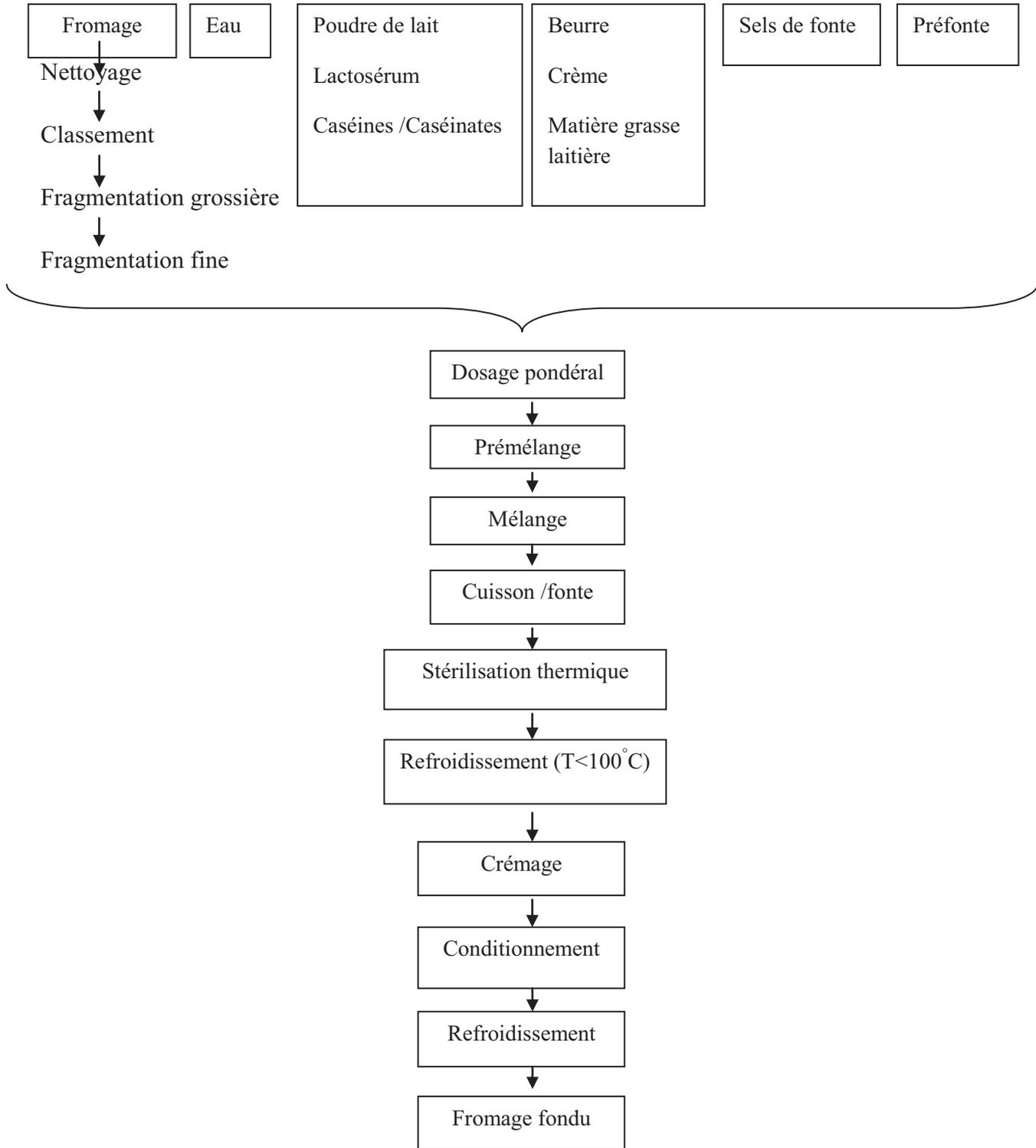
Il varie en fonction du type de produit et doit être rapide pour les fromages fondus à tartiner et lent pour les blocs. Toutefois, un refroidissement trop lent peut favoriser le développement des réactions de Maillard [38].

### ❖ Stockage

La conservation se fait dans des entrepôts dont la température se situe entre 10 et 15°C. Cette température est suffisante pour éviter la poursuite du crémage mais n'est pas assez basse pour entraîner la formation de condensats sur les emballages.

En conclusion, le respect des conditions optimales au cours des différentes étapes de fabrication permet d'obtenir un produit de bonne conservation de durée comprise généralement entre six mois et une année [39].

Les différentes étapes de fabrication de fromage fondu sont représentées dans la figure 1.4 ci après :



**Figure 1.4:** Principales voies de fabrication du fromage fondu [14].

### 1-3-2-Valeur nutritionnelle

La spécialité fromage fondu comporte toutes les caractéristiques nutritionnelles des produits laitiers qui le composent. Elle apporte à l'organisme la majorité des nutriments essentiels à un bon équilibre alimentaire (Tableau 1.2). Ne nécessitant aucune préparation, c'est un excellent moyen d'apporter à notre corps les éléments énergétiques et bâtisseurs nécessaires à son fonctionnement (lipides, glucides, protéines, minéraux, vitamines, etc.) [42].

**Tableau 1.2 :** Composition du fromage fondu [42].

Composants	Composition par 100g de fromage fondu	
	45% MG dans ES	60% MG dans ES
<b>Eau</b>	<b>51,3%</b>	<b>50,6%</b>
<b>Matière grasse</b>	<b>23,6%</b>	<b>30,4%</b>
<b>protéine</b>	<b>14,4%</b>	<b>13,2 %</b>
<b>Sodium</b>	<b>1,26 mg</b>	<b>1,01 mg</b>
<b>Potassium</b>	<b>65,0 mg</b>	<b>108 mg</b>
<b>Calcium</b>	<b>547 mg</b>	<b>355 mg</b>
<b>Phosphore</b>	<b>944 mg</b>	<b>795 mg</b>
<b>Vitamine A</b>	<b>0,30 mg</b>	<b>/</b>
<b>Vitamine D</b>	<b>3,13 µg</b>	<b>/</b>
<b>Vitamine B1</b>	<b>34,0 µg</b>	<b>40 µg</b>
<b>Vitamine B2</b>	<b>0,38 µg</b>	<b>0,35 µg</b>
<b>Vitamine B6</b>	<b>70,0 µg</b>	<b>80 µg</b>
<b>Biotine</b>	<b>3,60 µg</b>	<b>2,80 µg</b>
<b>Acide folique</b>	<b>3,46 µg</b>	<b>3,40 µg</b>
<b>vitamine B12</b>	<b>0,25 µg</b>	<b>0,25 µg</b>
<b>Vitamine C</b>	<b>Traces</b>	<b>Traces</b>
<b>Valeur énergétique (Kj/Kcal)</b>	<b>1178/282</b>	<b>1490/339</b>

## CHAPITRE 2: ELEMENTS NATURELS

### 2-1-L'huile d'olive et phytostérols

#### 2-1-1-Définition

Le terme "huile d'olive" désigne exclusivement l'huile extraite de fruit de l'olivier. L'huile d'olive est la seule matière qui n'est pas obtenue par raffinage mais seulement par des procédés mécaniques [43].

#### 2-1-2-Classification de l'huile d'olive

L'huile d'olive vierge obtenue par simple pression des fruits mûrs ou par centrifugation à froid comprend diverses appellations : vierge extra, vierge ou vierge fine, vierge courante et vierge lampante [44, 45].

La mesure de l'acidité, de l'indice de peroxyde, de l'absorbance dans l'UV de l'huile, ainsi que les caractéristiques organoleptiques caractérisent la catégorie d'appartenance. Ces mesures représentent les paramètres de qualité de l'huile d'olive vierge [46, 47]. Les différentes catégories d'huile d'olive ainsi que les limites des critères de qualité établies par le **COI (2003)** [48], sont représentées dans le tableau ci-dessous

**Tableau 2.1** : Les différentes catégories d'huile d'olive et leurs critères de qualité [48].

Huile Paramètre	Huile d'olive vierge extra	Huile d'olive vierge	Huile d'olive vierge courante	Huile d'olive vierge lampante
<b>Caractéristiques organoleptique</b> -fruité -défaut	Me>0 Me=0	Me>0 0< Me< 2,5	Me=0 2,5 Me< 6,0	Me>6,0
<b>Acidité libre (% d'acide oléique)</b>	≤0,8	≤2	≤3,3	>3,3
<b>Indice de peroxyde (meq O<sub>2</sub>/Kg)</b>	≤20	≤20	≤20	Non limité
<b>Extinction spécifique (UV)</b> -K <sub>232</sub> - K <sub>270</sub>	≤2,5 ≤0,22	≤2,6 ≤0,25	≤0,3	/ /

### 2-1-3-Composition

L'huile d'olive est constituée d'une fraction saponifiable constituée d'acides gras et de leurs dérivés, et la fraction insaponifiable qui comprend les stérols, les alcools aliphatiques, les pigments, les hydrocarbures, les composés aromatiques, les tocophérols et les composés phénoliques [49]. La composition chimique de l'huile d'olive dépend largement de la variété du fruit, des conditions agronomiques, du degré de maturité, des procédés d'extraction et des conditions de stockage [50].

#### 2-1-3-1-Fraction saponifiable

La fraction saponifiable représente environ 99 % de la composition de l'huile d'olive.

Elle se compose essentiellement de :

- **Les glycérides**

Les glycérides ou les acyl-glycérols sont représentés en majorité dans l'huile d'olive par les triglycérides (plus de 95 % des lipides totaux) et les diglycérides (environ 2,6 %) [51,52].

Les triglycérides qui s'accumulent dans les vacuoles du mésocarpe des olives, constituent pratiquement dans leur intégralité l'huile d'olive [53, 54, 55]. Les principaux triglycérides de l'huile d'olive sont : la trioléine « OOO » (40 à 60 %), la dioléopalmitine « POO » (10 à 20 %), la dioléolinoléine « OOL » (10 à 20 %), la palmitooléolinoléine « POL » (5 à 7 %) et la dioléostéarine « SOO » (3 à 7 %) [54, 56].

- **Les acides gras**

La composition en acide gras de l'huile d'olive est dominée par l'acide oléique (C18 :1), l'acide linoléique (C18 :2), l'acide palmitique (C16 :0) et l'acide stéarique (C 18 :0) [54]. L'acide oléique, présent en grande quantité, distingue l'huile d'olive des autres huiles alimentaires [57, 58]. Les principaux acides gras de l'huile d'olive sont représentés dans le tableau 2.2.

La variation de la composition en acide gras des huiles d'olive ne semble pas être seulement affectée par les facteurs pédoclimatiques [59, 60] mais aussi par plusieurs autres facteurs dont l'époque de la récolte et la variété [61, 62].

**Tableau 2.2** : Composition de l'huile d'olive en acides gras [48].

Acide gras	Symboles	Limite de variabilité (%)
Acide myristique	C14 :0	≤0,05
Acide palmitique	C16 :0	7,5-20
Acide palmitoléique	C16 :1	0,3-3,5
Acide héptadécanoïque	C17 :0	≤0,3
Acide heptadécanoïque	C17 :1	≤0,3
Acide stéarique	C18 :0	0,5-5
Acide oléique	C18 :1	55-83
Acide linoléique	C18 :2	3,5-21
Acide linoléique	C18 :3	≤ 1
Acide arachidique	C20 :0	≤ 0,6
Acide gadoléique	C20 :1	≤0,4
Acide béhénique	C22 :0	≤0,2
Acide lignocérique	C24 :0	≤0,2

### 2-1-3-2-La fraction insaponifiable

Dénommés constituants mineurs de l'huile d'olive, ils représentent environ 2% de l'huile d'olive où ils se composent de plus de 230 composés différents : **substances aromatiques, composés phénoliques, pigments (chlorophylles et caroténoïdes), Tocophérols et les stérols** [57, 63].

Ces stérols représentent les constituants majeurs de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive. Ils sont présents sous forme libre ou estérifiée avec les acides gras [64].

Les principaux stérols de l'huile d'olive sont le  $\beta$ -sitostérol, qui est le plus abondant (plus de 93%), le  $\Delta$ -5-avenastérol, le campestérol, le stigmastérol. D'autres stérols sont également présents mais en très faibles quantités, à savoir : le cholestérol, le  $\Delta$ -7-stigmastérol, le  $\Delta$ -7-avenastérol et le campestanol. Les teneurs en stérols varient en fonction de la variété et de la maturité des olives [65, 66, 67].

**Ben Tekaya et Hassouna (2005)** [68], rapportent que les stérols de l'huile d'olive, en particulier le  $\beta$ -sitostérol et le  $\Delta$ -5-avenastérol, sont doués de propriétés antioxydantes.

## 2-1-4-Phytostérols

Les phytostérols sont les analogues végétaux du cholestérol. Ils n'en diffèrent que par leurs chaînes latérales en C<sub>24</sub> (addition de groupements méthyle ou éthyle et/ou présence d'une double liaison). Ils se concentrent plus particulièrement dans les graines et fruits oléagineux, ainsi que dans les huiles qui en dérivent [69]. Plus de 40 stérols végétaux ont été identifiés, le  $\beta$ -sitostérol, le stigmastérol et le campestérol étant les plus abondants et dans une moindre mesure de l'avénastérol et du brassicastérol [70].

Figure 2.1 : les différentes structures stéroliques [71].

Nom	$\Delta$	R
Cholestanol	-	a
Ergostanol (24R)	-	e
Ergostanol (24S)	-	e
Stigmastanol (24R)	-	h
Cholestérol	5	a
Campesterol (24R)	5	e
Sitostérol (24R)	5	h
Cholesta-5,22-dièn-3 $\beta$ -ol	5	b
Brassicastérol (24S)	5	d
Stigmastérol (24S)	5	i
Desmostérol	5	c
Ergosta-5, 24(28)-dièn-3 $\beta$ -ol	5	f
Isofucostérol[24(28)Z]	5	j
Fucostérol[24(28)E]	5	j
Codistérol (24S)	5	g
Stigmasta-5, 25-dièn-3 $\beta$ -ol	5	k
Stigmasta-5, 25-trièn-3 $\beta$ -ol	5	l
Lathostérol	7	a
Ergosta 7, 22-dièn-3 $\beta$ -ol	7	e
Schottérol (24R)	7	h
Ergosta-7, 22-dièn-3 $\beta$ -ol	7	d
Spinastérol (24S)	7	i
Epistérol	7	f
Isoavénastérol [24(28)E]	7	j
Avénastérol [24(28)Z]	7	j
Stigmasta-7, 25-dièn-3 $\beta$ -ol	7	k
Stigmasta-7, 22, 25-trièn-3 $\beta$ -ol	7	l
Zymostérol	8	c
Fécostérol	8	f
Stigmasta-8, 22-dièn-3 $\beta$ -ol	8	i
Stigmasta-8, 25-dièn-3 $\beta$ -ol	8	k
Stigmasta-9(11)-èn-3 $\beta$ -ol	9(11)	h
7-Déhydrocholestérol	5,7	a
Ergostérol (24S)	5,7	d

#### 2-1-4-1- Fonction des phytostérols dans les végétaux

Les phytostérols entrent dans la composition des membranes cellulaires *in planta* (plasmalemme, membranes des mitochondries et du réticulum endoplasmique). Ils jouent un rôle important dans leur structure et leurs fonctions notamment en modifiant leurs propriétés de fluidité. En effet, le groupement hydroxyle des stérols libres est capable d'interagir spécifiquement avec les phospholipides constitutifs de la bicouche membranaire et de réguler sa perméabilité [72]. Il en est de même pour les stérylglycosides et les stérylglycosides acétylés qui sont présents dans les membranes grâce à leur groupement osidique polaire [73, 74]. Il a été montré qu'un ratio stérols/phospholipides élevé conduit à rigidifier les membranes [75, 74]. Cependant, les effets des phytostérols sur la régulation de la stabilité des membranes cellulaires varient selon la composition stérolique. Le sitostérol et le campestérol apparaissent comme les plus efficaces. Certains auteurs suggèrent que la variation de leur concentration relative, pourrait être liée à l'adaptation des plantes aux variations de températures [76].

Aussi, les stérols végétaux seraient également impliqués dans de plus larges phénomènes d'antioxydation après extraction de l'huile [77].

De par leur position au sein de la membrane, ils participent au contrôle des processus métaboliques qui sont associés aux membranes, notamment l'activité des enzymes, le transport ionique et métabolique ainsi que la transduction de signaux.

**Grandmougin-Ferjani *et al.* (1997)** [78] ont montré que les stérols végétaux stimulent l'activité ATPase membranaire des racines de maïs. Ces résultats suggèrent la présence de sites de liaison spécifiques aux stérols. Néanmoins, ces mécanismes dépendent de la composition en stérols membranaires. Dans cette fonction, une teneur plus élevée en stigmastérol stimule la pompe protonique tandis que d'autres phytostérols agissent comme des inhibiteurs.

Jusqu' aux années 90, l'importance biologique des stérols était souvent prioritairement associée à leur rôle au sein des membranes. La création de mutants déficients en segments de gènes contrôlant la biosynthèse des stérols a permis d'approcher plus finement leurs rôles dans le développement. Ainsi, la caractérisation de ces mutants a révélé le rôle déterminant des stérols dans la division et la différenciation cellulaire, et plus particulièrement dans la signalisation et/ou la régulation du développement embryonnaire et post-embryonnaire [79].

Les stérols interviennent également dans la synthèse des brassinostéroïdes, composés encore mal connus chez les végétaux, qui seraient impliqués dans la régulation de la croissance comme la majorité des hormones végétales [80, 81]. Les stérols joueraient donc un rôle au niveau de l'élongation et la différenciation cellulaire. La teneur en stérols est maximum dès la germination des graines et diminue graduellement au cours de la croissance de la plante [82].

#### 2-1-4-2-Effets des phytostérols

Les phytostérols sont des molécules d'origine végétale dont la structure est voisine de celle du cholestérol. Les phytostanols sont les dérivés saturés (ils n'ont pas de double liaison) des phytostérols. Ils se trouvent à l'état naturel dans diverses plantes et, en premier lieu, dans les huiles. Ils assurent, chez les végétaux, un rôle semblable à celui du cholestérol chez l'Homme [83].

Les phytostérols jouent un rôle très important dans l'organisme :

- **L'effet hypocholestérolémiant**

Les scientifiques s'intéressent depuis les années 50 aux effets des phytostérols sur la diminution du taux de cholestérol sanguin. Aujourd'hui, de très nombreuses études ont confirmé leur efficacité sur le taux de cholestérol total et de « mauvais cholestérol » (LDL cholestérol) chez certaines personnes ayant un taux de cholestérol trop élevé.

Grâce à leur structure proche de celle du cholestérol, les phytostérols entrent en compétition avec lui dans l'intestin et empêchent son absorption [84].

L'action bénéfique des phytostérols sur la baisse du cholestérol ne s'observe qu'entre 1,5g et 3g par jour. A ces doses, la diminution moyenne est de l'ordre de 10% du cholestérol total et du cholestérol LDL. Or, l'alimentation occidentale apporte seulement 150 mg à 400 mg de phytostérols par jour. D'où l'intérêt d'enrichir les aliments [84].

- **Phytostérols et cancer**

Bien que le principal effet biologique de la consommation de phytostérols ait été identifié comme l'inhibition de l'absorption du cholestérol, d'autres effets biologiques sont actuellement sous investigation. Des preuves naissantes leur confèreraient des effets inhibiteurs sur le développement de certaines formes de cancer.

Il serait possible que les phytostérols agissent selon des mécanismes qui comprennent l'inhibition de la production d'agent carcinogène, de la croissance de cellules cancéreuses et de métastases, de même que la promotion de l'apoptose. La plupart de ces preuves

ressortent d'études de cas-témoins ou d'études épidémiologiques menées chez l'humain qui associent les niveaux d'apport en phytostérols au développement du cancer, ainsi que d'études sur les animaux et d'études sur la culture cellulaire. De plus amples investigations sont nécessaires pour élucider les mécanismes exacts par lesquels les phytostérols joueraient un rôle actif lié au cancer [85].

Il y a eu plusieurs études sur les effets antitumoraux des phytostérols, et tout particulièrement du  $\beta$ -sitostérol. Von Holtz et son équipe ont observé sur des cellules de cancer humain de la prostate, traitées par le  $\beta$ -sitostérol, une diminution de 24 % de la croissance et une multiplication par 4 du taux d'apoptose par rapport aux mêmes cellules traitées par le cholestérol [86]. L'apoptose est le nom scientifique de ce qu'on appelle la mort cellulaire programmée, un mécanisme préventif par lequel les cellules se suicident, par exemple lorsqu'elles sont devenues cancéreuses, pour éviter des dommages à l'organisme.

Par ailleurs, il semble que le  $\beta$ -sitostérol soit efficace dans le traitement de l'hyperplasie bénigne de la prostate [87, 88]. D'autres études ont montré des effets bénéfiques du  $\beta$ -sitostérol *in vitro* sur des cellules de cancer du côlon ou du sein [89, 90]. On a, par ailleurs, montré que le  $\beta$ -sitostérol annulait les effets d'un carcinogène sur le côlon chez le rat [91]. Il n'existe que peu d'études sur les relations entre phytostérols et cancer chez l'homme. Dans un essai l'équipe des chercheurs ont mis en évidence une forte corrélation négative entre les apports totaux de phytostérols et le cancer de l'estomac [92].

#### 2-1-4-3-Les phytostérols dans les plantes

Les phytostérols (stérols végétaux) sont des composés naturellement présents en petite quantité dans la partie lipidique (grasse) des plantes. On les trouve dans les huiles végétales (de soja, maïs, tournesol, colza), les noix, les graines (sésame, tournesol), les légumes...ets.

La teneur en stérols est maximale dès la germination des graines et diminue graduellement au cours de la croissance de la plante [93]. La majorité des huiles végétales contiennent 1 à 5g de stérols/kg d'huile, soit 100 à 500mg/100g d'huile [72].

Le  $\beta$  sitostérol est le composé le plus abondant et bien que sa proportion varie selon les espèces [74].

**Tableau 2.3 :** Composition en stérols majeurs des principales huiles végétales (g/kg) [72].

Huiles	Phytostérols totaux	$\beta$ sitostérol	Campestérol	Stigmastérol	D $\delta$ avenasterol
Colza	5.13-9.79	2.84-3.58	1.56-2.48	0.02-0.04	0.13-0.19
Tournesol	3.74-7.25	4.65	0.69	0.75	0.28
Soja	2.29-4.59	1.22-2.31	0.62-0.76	0.45-0.76	/
Olive	1.44-1.50	1.18-1.21	0.05	0.01	0.17-0.18
Palme	0.71-1.17	0.72	0.23	0.04	0.02

#### 2-1-4-4-Les aliments enrichis en phytostérols

Pour obtenir l'autorisation d'ajouter des phytostérols aux aliments, il a été nécessaire de passer par la procédure du règlement « nouveaux aliments » qui s'applique aux ingrédients pour lesquels la consommation humaine est restée jusqu'ici négligeable. En effet, ces substances sont consommées habituellement à des doses faibles qu'il est nécessaire de multiplier par 10 environ pour obtenir l'action hypocholestérolémiante. Un avis favorable a été donné en l'année 2000 par le comité scientifique de l'alimentation humaine Européen pour l'enrichissement d'une matière grasse à tartiner, sous réserve d'éviter des apports supérieurs à 3g par jour.

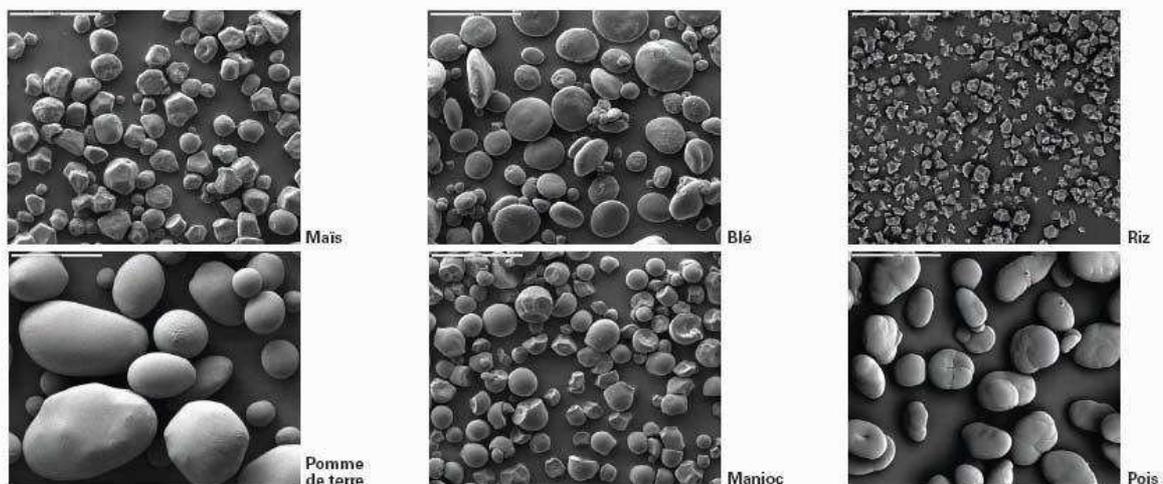
Depuis la Commission Européenne a délivré des autorisations pour des sauces salade, laits, laits fermentés, yaourts, boissons lactées, certains fromages, boissons au soja et sauces épicées, à condition que ces aliments soient conditionnés de façon à être divisés en portions apportant 3g maximum par jour.

## 2-2-Amidon

L'amidon est, après la cellulose, la principale substance glucidique synthétisée par les végétaux supérieurs à partir de l'énergie solaire. Il constitue une source énergétique indispensable à l'alimentation des êtres vivants et de l'Homme en particulier. Les sources d'amidon les plus importantes sont représentées par les céréales, les tubercules et les légumineuses. Certains fruits peuvent également être riches en amidon.

Il est sous forme de grains dont la taille, la forme et la structure cristalline dépendent de son origine botanique (figure 2.2) [94].

C'est un nutriment abondant, renouvelable, peu coûteux, qui trouve dans les aliments de multiples fonctions comme épaississant, gélifiant, liant sous sa forme d'empois d'amidon granulaire. Sous forme hydrolysée, l'amidon est utilisé comme matière sucrante, liante ; il fait partie des additifs alimentaires [95].



**Figure 2.2:** Formes et tailles des granules d'amidon de maïs, blé, riz, pomme de terre, manioc et de pois (MEB grossissement  $\times 2800$ ) d'après **Atkin et al (1999)** [96].

### 2-2-1-Amidon natif

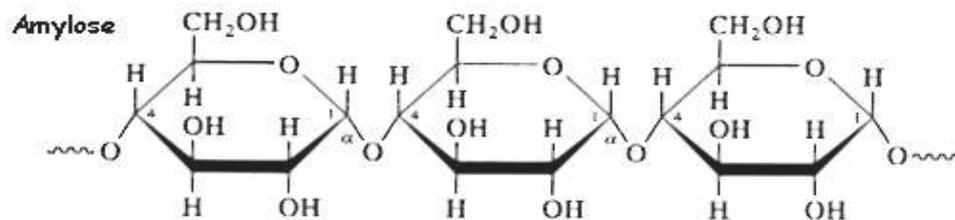
Les amidons natifs correspondent au produit brut, extrait sans modification de structure moléculaire. C'est un homopolymère de D-glucose. Les unités D-glucosyl (conformation chaise) sont liées majoritairement par des liaisons de type  $\alpha$  (1,4) (95 – 96 %) et, dans une moindre mesure, par des liaisons de type  $\alpha$  1,6 (4 – 5 %).

### 2-2-1-1-Structure chimique de l'amidon natif

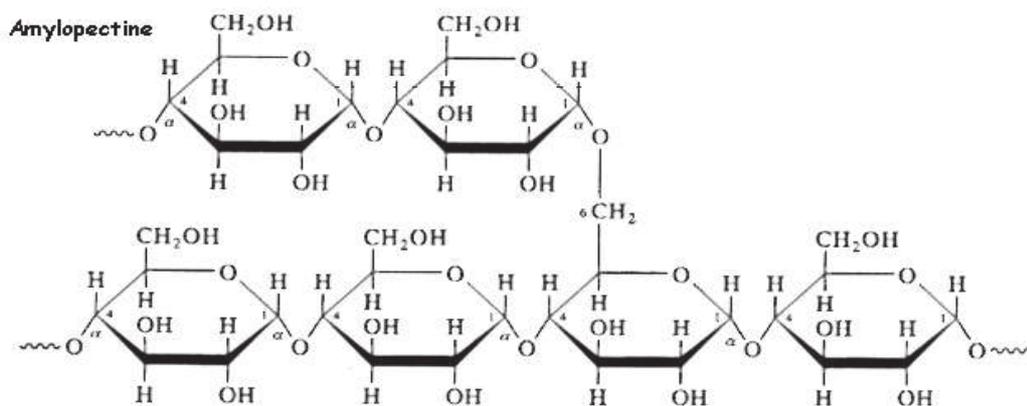
L'amidon est composé de deux polymères de structure primaire différente: l'amylose, molécule linéaire de liaison  $\alpha$ -(1-4) (figure 2.3), et l'amylopectine, molécule ramifiée ou de résidus glucopyranoses principalement reliés entre eux par des liaisons  $\alpha$ -(1-4) et par 5 à 6 % de liaisons  $\alpha$ -(1-6) (figure 2.4).

L'amidon se présente sous forme de granules de 1 à 100  $\mu\text{m}$  qui varient en taille et en forme selon leur origine botanique. Des composants mineurs (lipides, protéines, minéraux) sont présents en quantités variables en fonction de l'origine botanique et de la technologie d'extraction [97, 96].

Les constituants de l'amidon sont essentiellement représentés par des polyholosides (98 à 99%). La fraction non glucidique (1 à 2%) est donc minoritaire (tableau 2.4).



**Figure 2.3:** Structure chimique de l'amylose



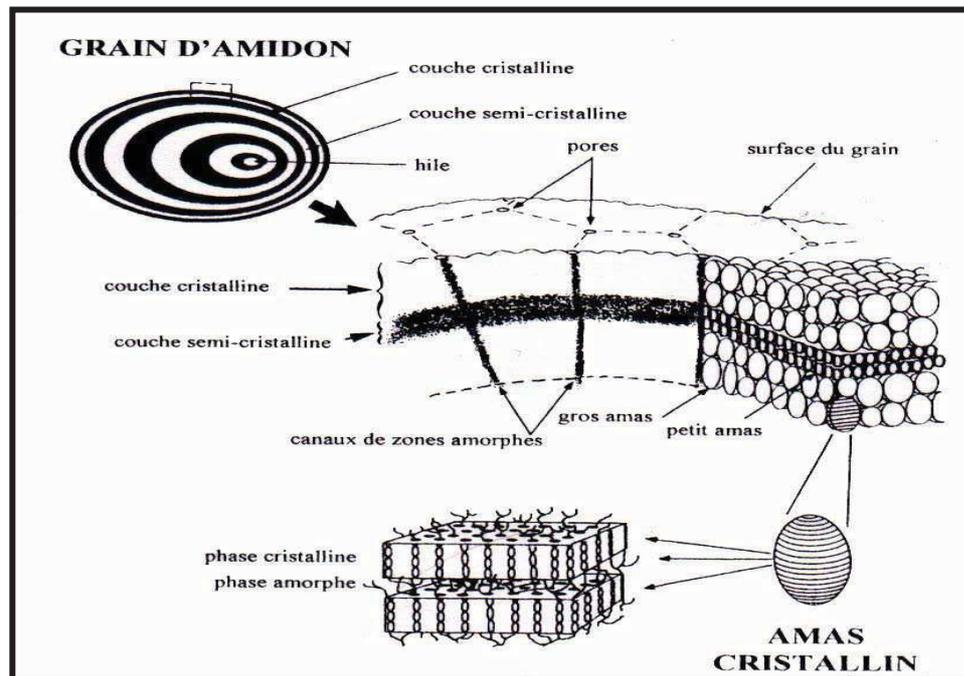
**Figure 2.4:** Structure chimique de l'amylopectine

**Tableau 2.4** : Composition des différents amidons exprimée en % de matière sèche [98].

Amidon	Amylose	Lipide	Protéine	Minéraux	Phosphore
Mais standard	26-28	0,63	0,3	0,1	0,015
Mais cireux	<1	0,23	0,1	0,1	0,003
Amylomais	52-80	1,11	0,5	0,2	0,03
Blé	26-27	0,24	0,33	0,3	0,05
Pomme de terre	19-23	0,09	0,05	0,3	0,04
Pois lisse	33-35	0,19	0,18	0,05	0,04

### 2-2-1-2-Structure physique de l'amidon natif

Il se présente sous la forme de grains formés de zones concentrique alternativement claires et sombres, entourant un centre plus foncé appelé « hile ». La grosseur, la forme et la structure des ces graines sont variables avec la plante dont provient l'amidon. Il n'existe donc pas un seul mais plusieurs amidons ayant des propriétés voisines, mais légèrement différentes selon leur origine (figure 2.5) [99].

**Figure 2.5:** Structure d'un grain d'amidon

### 2-2-1-3-Propriétés physiques de l'amidon

L'amidon a, comme tout produit, des propriétés physiques qui lui sont propres [100]. , et peut être influencées par divers paramètres :

**La température** : l'amidon est insoluble dans l'eau. Il forme, en revanche à chaud (70°C) une solution colloïdale qui épaissit en donnant un gel communément appelé empois.

**Température de gélification** : la gélification commence graduellement à partir de 50°C mais est effective ensuite à une température dépendante de l'agitation moléculaire, de la grosseur des grains, de la nature de l'amidon, de l'eau employée et de la concentration en amidon.

**Effet stabilisant**: l'épaississement ayant lieu à une température inférieure à celle de la coagulation du jaune d'oeuf, les crèmes aux oeufs contenant de l'amidon peuvent être portées à ébullition. Les amidons sont influencés par trois types d'action : thermique, chimique, enzymatique [100].

- **Action thermique** : elle change la couleur et le goût de l'amidon par dextrinisation.
- **Actions chimique et enzymatique** : les acides entraînent une hydrolyse partielle de l'amidon qui conduit à la formation de dextrans. Le gel formé est moins épais. Cette hydrolyse est accélérée par une augmentation de température. L'amidon peut subir aussi l'action des enzymes végétales, animales (amylase) ou microbiennes.

On constate que les amidons natifs ont déjà beaucoup d'influence sur la texture cependant leur fragilité face à certains paramètres comme la température ont conduit à recourir d'amidons modifiés.

Les traitements précédemment décrits mènent à la formation de corps plus simples comme des dextrans (D-glucose) et des maltoses. Les traitements de ces corps simples par ces mêmes traitements peuvent conduire à la formation d'amidons modifiés.

### 2-2-2-Amidon modifié

Les modifications de l'amidon ont été développées pour « corriger » les défauts des amidons natifs, c'est-à-dire pour les adapter aux besoins des industriels de l'alimentation et aux exigences des consommateurs.

Deux grands types de réaction peuvent être distingués :

- réactions qui modifient la masse moléculaire du polymère : réactions de dégradation et réactions de réticulation.
- réactions qui modifient les propriétés (sans modification majeure de leur masse moléculaire) : réactions de stabilisation et réactions de fonctionnalisation [101].

Il existe différentes technologies qui permettent d'obtenir des amidons modifiés en changeant la structure de base d'une molécule d'amidon.

Les amidons modifiés sont des substances obtenues au moyen d'un ou plusieurs traitements chimiques d'amidon alimentaire. Ils peuvent avoir été soumis à un traitement physique ou enzymatique, et peuvent être blanchis ou fluidifiés par traitement acide ou alcalin.

#### 2-2-3-Action de la chaleur et traitement acide

L'action conjuguée de l'acidité et de la température (>100°C) permet une hydrolyse efficace. La coupure des chaînes d'amidon se fait au hasard, d'où une action liquéfiante entraînant une diminution brutale de la viscosité.

Ces deux technologies permettent aux amidons d'être solubles dans l'eau froide, et d'obtenir des préparations dont l'épaississement reste modéré.

#### 2-2-4-Traitement enzymatique

Il permet une plus large diversité dans la composition glucidique. L'amidon est hydrolysé par différentes espèces d'amylase (L'alpha amylase, La bêta amylase, L'amylo 1-6 glucuronidase)

Les grains d'amidon sont répartis en trois classes selon leur sensibilité aux attaques enzymatiques :

- facilement attaqués (manioc).
- ceux qui résistants (maïs riche en amylose, pomme de terre).
- sensibilité est intermédiaire (maïs, orge et tapioca).

Les différences sont dues à la plus ou moins grande compaction des chaînes de l'amidon, qui détermine la capacité de diffusion des enzymes à l'intérieur du grain d'amidon. Cela est en accord avec le fait que l'amidon solubilisé est toujours plus sensible aux enzymes que l'amidon natif. En effet, lorsque l'amidon est solubilisé, les molécules d'amylose et d'amylopectine sont dispersées dans le solvant et donc accessibles aux enzymes. En revanche, dans l'amidon natif, ces molécules sont "organisées", compactes et donc difficilement accessibles aux enzymes [99].

### 2-2-5-Traitements chimiques

Les amidons natifs supportent mal les températures élevées, les cuissons prolongées, l'appertisation. Ils peuvent aussi à la longue, dans un milieu légèrement acide, perdre leur pouvoir de liaison. De plus, le phénomène de rétrogradation, traduisant l'expulsion d'une molécule d'eau, est d'autant plus rapide que la température est basse, ce qui rend ces amidons peu utiles dans la fabrication des produits surgelés [99].

Afin de palier à ces inconvénients, on utilise les «amidons modifiés» qui peuvent se présenter [102].

- Sous la forme réticulée, par des ponts créés entre les molécules afin de renforcer les ponts hydrogènes déjà présents. Ils sont très adaptés :

- Aux aliments qui subissent des cuissons à température élevée car les liaisons chimiques sont plus stables que les liaisons hydrogènes.

- Aux aliments qui subissent des forces de cisaillement car la réticulation diminue leur fragilité.

- Aux aliments acides dans lesquels les amidons natifs ont une forte tendance à s'hydrolyser.

- Sous la forme stabilisée, par réaction des groupes hydroxyles de l'amidon avec des agents monofonctionnels pour introduire des groupes de substitution.

- \_ Le but de ce traitement est de stabiliser l'amylose contre la rétrogradation et d'éviter l'association intermoléculaire des fractions d'amylopectine.

- \_ Il s'agit d'amidons tels que l'acétate d'amidon, les monophosphates, les éthers d'hydroxypropyle.

- \_ Ils se trouvent dans les aliments subissant un long stockage à basse température car le greffage d'hydroxyle augmente les phénomènes de répulsion entre les chaînes et minimise le phénomène de rétrogradation décrit précédemment.

- Sous la forme oxydée, comme les amidons blanchis. Ils sont traités avec une faible quantité d'agent oxydant. Ce traitement est directement dirigé vers le blanchiment des impuretés colorées associées à l'amidon. Il consiste en l'ajout d'hypochlorite de sodium. Ces amidons offrent une large variété de fluidité : plus le taux d'hypochlorite augmente, plus la fluidité augmente.

- Sous la forme spécifique, portant des charges ou non. Ces amidons sont fabriqués pour des usages bien précis, les plus importants sont : les amidons anioniques, cationiques,

bipolaires et fluidifiés. Les deux premiers concernent le secteur de la papeterie ; en revanche, les deux derniers interviennent dans l'industrie agroalimentaire.

Le bipolaire permet de jouer un rôle stabilisant d'émulsion, en diminuant dans les produits alimentaires le relargage des matières grasses. Les fluidifiés sont recherchés pour la fabrication de confiseries gélifiées.

Les traitements cités précédemment sont les plus utilisés. Cependant, il existe d'autres techniques moins connues telles que la technique par irradiation.

#### 2-2-6-Traitements par irradiation

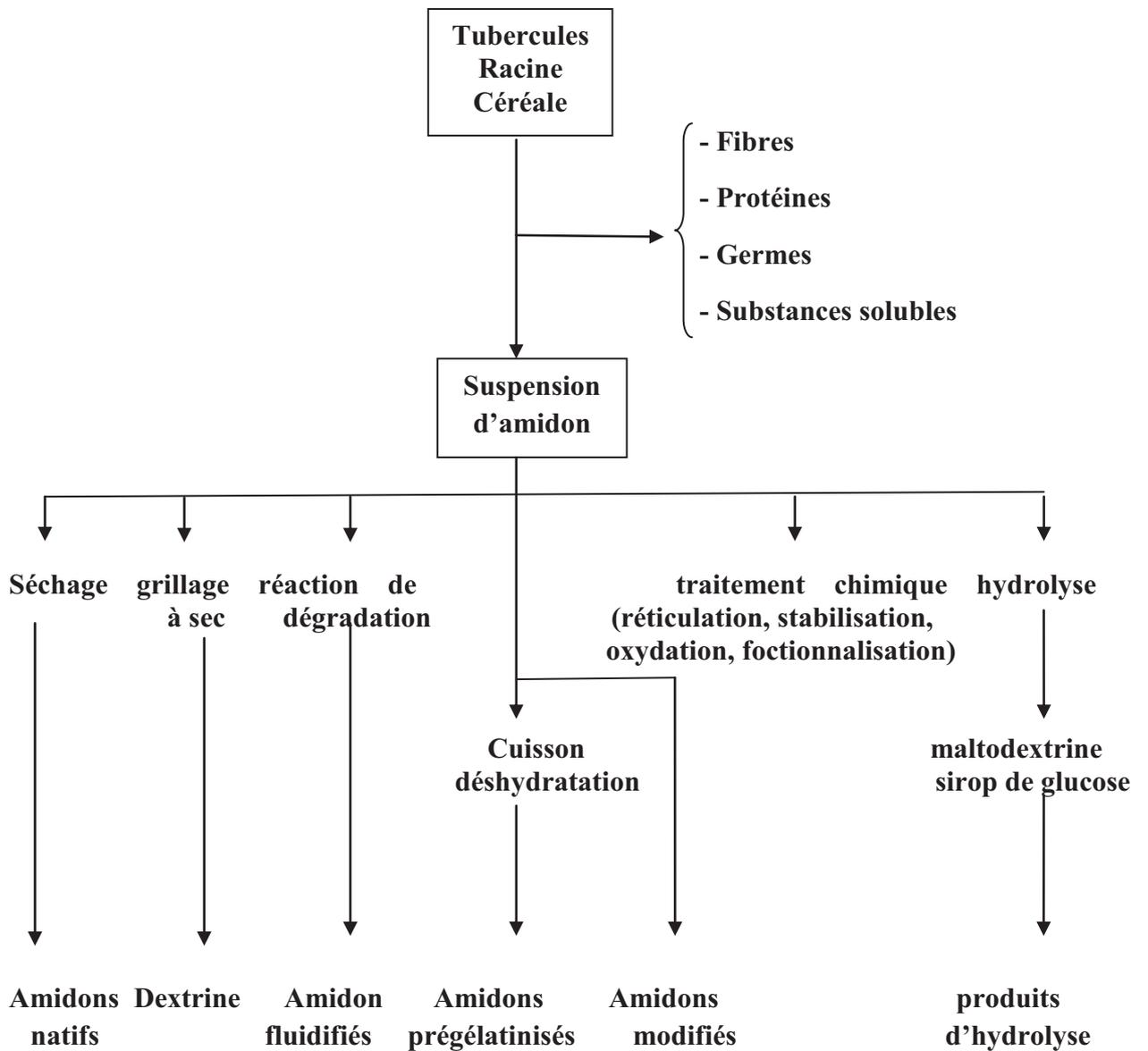
Cette technique très récente [103] permet la production d'amidons modifiés, par traitement aux rayons gamma. L'utilisation de cette méthode est couplée à l'action de peroxydes inorganiques. Ces deux éléments sont indissociables, l'absence d'un de ces deux éléments diminue la viscosité mais ne la stabilise pas. Par exemple, la combinaison d'ammonium et de rayons gamma a montré que la viscosité diminuait et était stabilisée.

#### 2-2-7-Les différents types d'amidons et leurs utilisations

Après extraction, la suspension d'amidon peut être séchée, précuite ou soumise à des traitements chimiques, ce qui aboutit à différents types d'amidons (figure 2.6). Ces amidons ont des utilisations multiples. Leur choix prend en compte la compatibilité avec le milieu, les traitements thermiques et mécaniques, les propriétés recherchées, mais aussi la législation en vigueur [104].

C'est ainsi que les amidons réticulés sont utilisés dans les sauces épaisses telles que le *ketchup*. Le niveau d'épaississement souhaité est obtenu en jouant sur le degré de réticulation en fonction du pH, des contraintes de process (traitement thermique et cisaillement). Dans le cas des sauces émulsionnées, l'octényle succinate d'amidon est utilisé pour ses propriétés hydrophiles et hydrophobes. Les amidons natifs (féculé de pommes) sont utilisés en charcuterie, les amidons réticulés aussi pour améliorer la texture, la rétention d'eau et la stabilité du produit fini. L'amidon pré-gélatinisé est utilisé dans les produits tels que les *snacks* extrudés pour favoriser l'expansion, la conservation de la forme et la croustillance. L'amidon pré-gélatinisé sert aussi dans les préparations instantanées. L'amidon fluidifié pour sa part est plus sollicité en confiserie pour assurer la texture de la gomme et sa stabilité [105].

La figure ci-dessous illustre les différents procédés utilisés industriellement pour préparer les multi types de structures d'amidons modifié



**Figure 2.6:** Schéma présentant les différents types d'amidons en fonction des traitements

## CHAPITRE 3 : PLAN D'EXPERIENCE

### 3-1-Introduction

La démarche d'assurance qualité fait appel à la prévention et au progrès permanent dans les domaines de l'organisation de la qualité, de l'obtention des performances du produit et de la maîtrise des processus associés aux procédés industriels.

Le plan d'expériences peut aider à la conception et à l'industrialisation du produit, ainsi qu'à la résolution des problèmes complexes d'optimisation (réglages) lors de la production du produit. Il s'intègre donc parfaitement dans la démarche qualité.

Le recours au plan d'expériences dans les différentes étapes industrielles de conception et de validation du produit permet l'obtention des résultats avec un maximum de rigueur et beaucoup plus rapidement qu'avec les méthodes traditionnelles, donc avec une efficacité économique certaine [106].

### 3-2-Historique

Réaliser des expériences afin d'étudier et de comprendre un phénomène est une démarche qui remonte à la nuit des temps. Ses travaux concernent surtout l'agronomie et la mise en œuvre des méthodes "modernes" de culture, basées plus sur l'expérimentation que sur des préjugés ou l'habitude.

Les méthodes rigoureuses d'expérimentation, utilisant des plans d'expérience, ont débuté avec les travaux de Sir Ronald Fisher (1890-1962). Ce brillant mathématicien, s'est intéressé aux techniques d'expérimentation suite à son emploi, en 1919, à la "Rothamsted Expérimentale Station", centre de recherche agronomique situé au nord de Londres. Il a cherché alors à augmenter les rendements agricoles en combinant divers types d'engrais, de variétés végétales, de méthodes de cultures, de types de sols, etc... Face à l'impossibilité de réaliser la totalité des expériences l'a amené à proposer des configurations expérimentales basées sur des modèles statistiques rigoureux.

Dès les années 50, les travaux de Box et de ses collaborateurs (principalement sur les surfaces de réponse) ont entraîné un bon nombre d'applications pratiques. Mais ce sont certainement les travaux de G. Taguchi qui ont permis une vaste diffusion des plans d'expérience, notamment dans le milieu industriel. Ce chercheur a eu l'idée de réaliser des

tables de configurations expérimentales de référence facilement utilisables par des non-spécialistes.

Il a de plus inclus l'expérimentation au sein d'une démarche plus large de "qualité totale" amenant à la conception de produits fiables et de bonne qualité. Ses idées ont été mises en œuvre dans plusieurs d'industries dès les années 70 [107].

### 3-3-Définition et conditions d'un plan d'expérience

Les plans d'expérience constituent essentiellement une stratégie de planification d'expériences afin d'obtenir des conclusions solides et adéquats de manière efficace et économique. La méthodologie des plans d'expériences se base sur le fait qu'une expérience convenablement organisée, conduira fréquemment à une analyse et à une interprétation statistique relativement simple des résultats [108]. Il doit minimiser le nombre des essais sans toutefois sacrifier la qualité.

La théorie des plans d'expériences assure les conditions pour lesquelles on obtient la meilleure précision possible avec le minimum d'essais. On a donc le maximum d'efficacité avec le minimum d'expériences et par conséquent le coût minimum [109].

Pour appliquer la méthode avec succès, deux conditions s'imposent :

#### ➤ **Condition 1**

La valeur que prend chaque variable doit être connue sans erreur, or dans un travail d'expérimentation on ne peut nier la présence d'erreur. Donc pour satisfaire cette condition on doit s'assurer que l'erreur induite sur la valeur de la variable soit très petite, voire négligeable devant la variation de cette même variable lorsqu'elle change de valeur [110].

#### ➤ **Condition 2**

La réponse doit être *homoscédastique*. Cela signifie que l'erreur de mesure doit être la même sur tout le domaine expérimental. Pour cela il appartient à l'expérimentateur de garder les mêmes gestes, le même matériel et la même cadence lors de toute la campagne d'expérimentation [110].

### 3-4-Terminologie

Le scientifique est souvent amené à comprendre comment réagit un système en fonction des facteurs susceptibles de le modifier. Pour visualiser cette évolution, il mesure une réponse et va ensuite essayer d'établir des relations de cause à effet entre les réponses et les facteurs.

La grandeur d'intérêt, qui est généralement notée  $y$ , porte le nom de *réponse*. Les variables qui peuvent modifier la réponse sont appelées *facteurs*  $X$  [109].

### 3-4-1-Notion des facteurs et réponses

La grandeur d'intérêt, qui est généralement notée  $y$ , porte le nom de *réponse*. Les variables qui peuvent modifier la réponse sont appelées *facteurs*  $X$  [109].

- **Facteurs**

Nous appellerons facteur toute série d'éléments de même nature qui peuvent être comparés au cours d'une expérience [111].

Ces facteurs sont obligatoirement contrôlables, susceptible d'influer sur la réponse observée. Il existe deux types des facteurs :

- ✓ **Facteurs qualitatifs**

Un facteur qualitatif prend ou on lui attribue des modalités ( $m_i$ ) qui sont soit non numériques (couleurs, descriptions,...), soit numériques et discrètes (appréciations, dosage...). Le nombre et le choix des modalités d'un facteur qualitatif sont laissés à l'expérimentateur. Ces facteurs sont destinés à l'étude des effets qui s'effectue lorsqu'il y a nécessité de faire un choix (à cause des limites économiques) entre les différents facteurs. Il faudra donc justifier le nombre le choix des modalités en fonction des besoins d'information recherchée en terme d'effet des facteurs [108].

- ✓ **Facteurs quantitatifs**

Un facteur quantitatif prend des valeurs continues ou discrètes niveaux. Le choix du nombre de niveaux et la valeur prise  $U_i$  par chaque facteur à chacun des niveaux est défini par le plan d'expériences choisi et l'étendue de ces facteurs. L'étendue de variation de ces facteurs est matérialisé à partir de deux limites  $U_{min}$  et  $U_{max}$  à l'intérieur desquelles on définira les niveaux  $U_i$  imposés par le plan d'expériences. Il est important de s'informer sur la difficulté de réglage de ces facteurs dans les plages données et intéressant de savoir s'il est possible de faire des expériences en dehors du domaine expérimental [108].

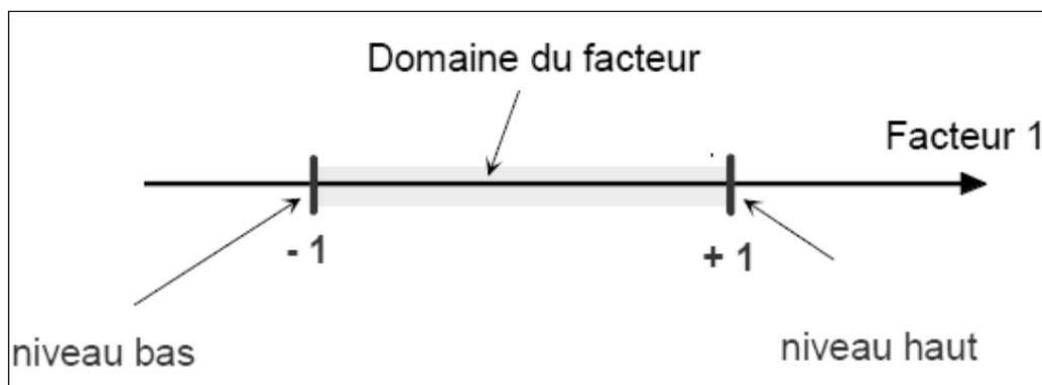
- **Réponse**

On qualifie de réponse la grandeur qui est observée pour chaque expérience réalisée. On supposera toujours ici que cette grandeur est numérique et qu'une seule réponse `a la fois est observée. Il appartient aux spécialistes du phénomène étudié de cerner au mieux ce qui les intéresse et de fournir le type de réponse étudié ainsi que l'objectif souhaité vis-à-vis de celle-ci. Cet objectif est dans la plupart des cas une recherche d'extremum. Par exemple

pour l'étude de l'acidité d'un jus de fruit il est possible de mesurer son pH afin de quantifier ce problème. L'objectif souhaité est alors la minimisation de la réponse [107].

### 3-4-2- Notion d'espace expérimental

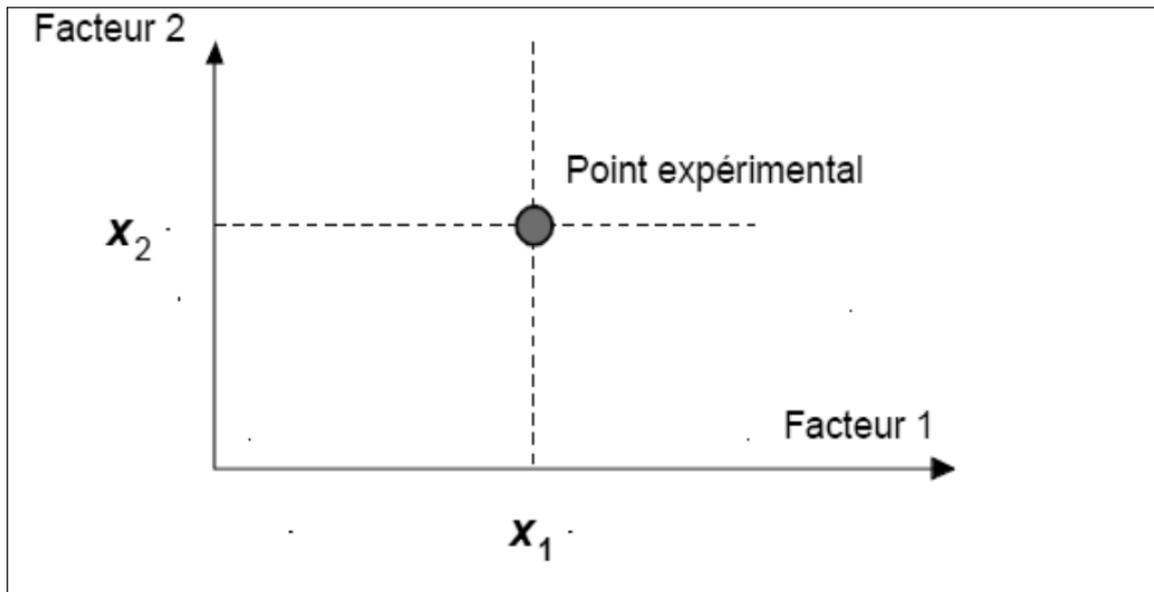
Considérons un ensemble de  $m$  facteurs quantitatifs utilisés afin d'expliquer au mieux un phénomène complexe. Le  $i$ -ème facteur (pour  $1 \leq i \leq m$ ) est alors le plus souvent à valeurs dans un intervalle de la forme  $[-1, +1]$  ou  $-1$  et  $+1$  sont respectivement ses niveaux bas et haut. En pratique ces intervalles simplifient la plage de variations autorisée pour le facteur (figure 3.1) [107].



**Figure 3.1** : domaine de variation d'un facteur [109].

S'il y a un second facteur, il est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. On définit, comme pour le premier facteur, son niveau haut, son niveau bas et son domaine de variation. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier. On obtient ainsi un repère Cartésien qui définit un espace euclidien à deux dimensions. Cet espace est appelé **l'espace expérimental** [109].

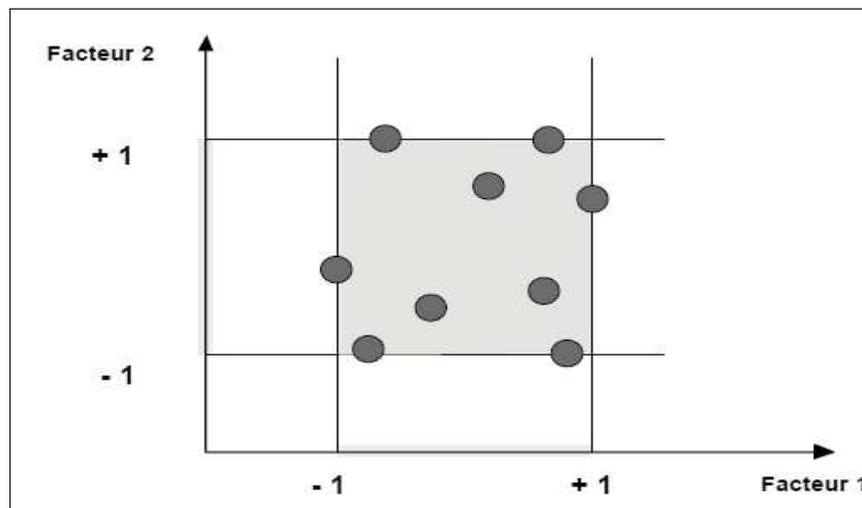
Le niveau  $x_1$  du facteur 1 et le niveau  $x_2$  du facteur 2 peuvent être considérés comme les coordonnées d'un point de l'espace expérimental (Figure 3.2). Une expérience donnée est alors représentée par un point dans ce système d'axes. Un plan d'expériences est représenté par un ensemble de points expérimentaux [109].



**Figure 3.2:** Représentation d'un point expérimental dans un espace expérimental [109].

Le regroupement des domaines des facteurs définit le «**domaine d'étude**». Qui est la zone de l'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour faire ses essais. Une étude, c'est-à-dire plusieurs expériences bien définies, est représentée par des points répartis dans le domaine (Figure 3.3).

Cette façon de représenter une expérimentation par des points dans un espace Cartésien est une représentation géométrique de l'étude [109].



**Figure 3.3:** Représentation géométrique d'une expérimentation [109].

Les définitions qui ont été données s'appliquent bien aux variables continues. Mais il existe d'autres types de variables ; discrètes comme par exemple des personnes.

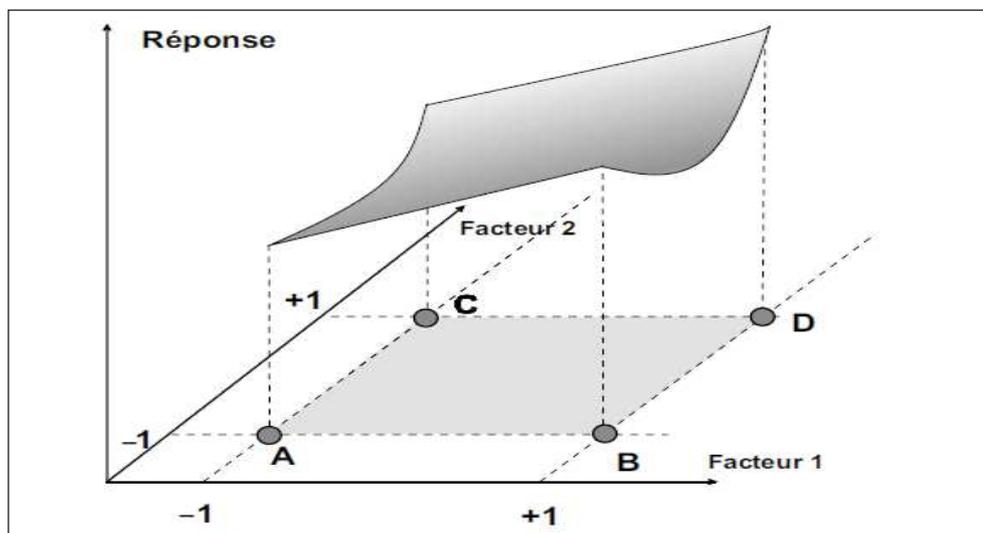
On peut encore parler d'espace expérimental mais il n'aura pas les mêmes propriétés que l'espace des variables continues. Il y a également les grandeurs ordonnables comme, par exemple, des distances qui peuvent être courtes, moyennes et longues. Là aussi, la notion d'espace expérimental existe toujours mais cet espace possède des propriétés différentes des deux premiers [109].

### 3-4-3-Surfaces de réponse

À chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. À l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localise sur une surface appelée *surface de réponse* (figure 3.4).

En général, on ne connaît que quelques réponses, celles qui correspondent aux points expérimentaux retenus par l'expérimentateur. On interpole à l'aide d'un modèle mathématique, les réponses inconnues pour obtenir la surface de réponse.

Les points d'expériences retenus par la théorie des plans d'expériences assurent la meilleure précision possible sur la forme et la position de la surface de réponse [109].



**Figure3.4:** Représentation d'une surface de réponse [109].

### 3-4-4- Effet d'un facteur

L'effet d'un facteur  $[X_i]$  est la comparaison entre les valeurs prises par la réponse  $[Y]$  lorsque ce dernier passe du niveau (-1) au niveau (+1).

Il est caractérisé par une constante notée «  $A_i$  » qui sera :

- ✓ Positive si cette variation du facteur est favorable à l'accroissement de la réponse (Fig.3.5a).
- ✓ Négative si elle est favorable à la diminution de la valeur de la réponse (Fig.3.5b)
- ✓ Nulle si elle est sans influence sur le système (Fig. 3.5c).

Cette constante intervient dans le modèle mathématique décrivant cette réponse [112].

$$Y = A_0 + \sum_{i=1}^k A_i \cdot X_i$$

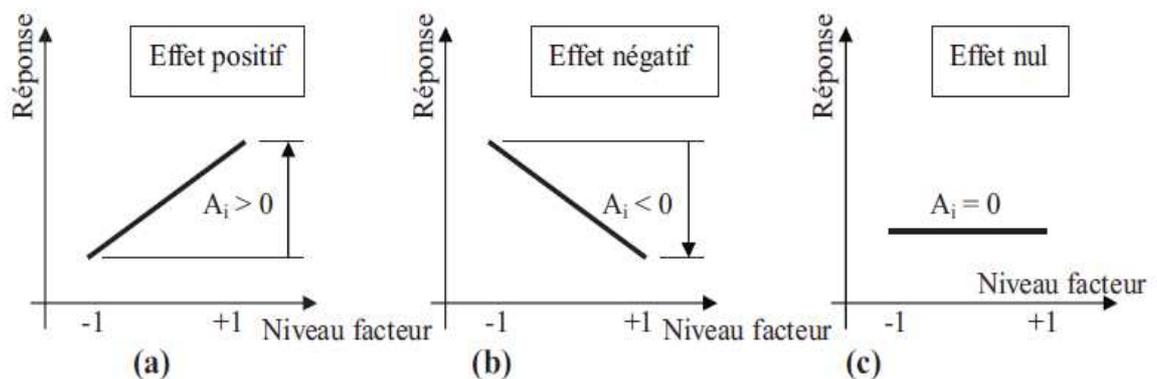
Y : Réponse prédite par le modèle.

$A_0$  : Constante du modèle elle répond à la moyenne des résultats de mesure.

$X_i$  : Facteur « i ».

$A_i$  : Effet du facteur « i ».

k : Nombre de facteurs étudiés



**Figure 3.5:** effet d'un facteur [112].

#### 3-4-5- la représentation d'une étude (matrice d'expériences)

Les représentations géométriques sont commodes mais dès que le nombre de facteurs est supérieur à trois, elles ne peuvent plus être employées. Pour les espaces multidimensionnels, on adopte une représentation en forme de tableau (matrice d'expérience).

Ce dernier comprend trois colonnes, la première identifie les essais, les colonnes suivantes indiquent les coordonnées des points d'expériences.

Les représentations géométriques et les représentations par tableaux (matrice d'expérience) sont équivalentes.

Les matrices d'expérience présentent l'avantage de pouvoir être utilisées quel que soit le nombre de facteurs, c'est-à-dire le nombre de dimensions de l'espace expérimental [109].

### 3-4-6-Types de plans d'expériences

Afin de subvenir aux besoins que peut rencontrer l'expérimentateur pour mener à bien son étude, différents types de plans d'expériences peuvent être utilisés :

- Plans factoriels complets
- Plans centrés composites
- Plans fractionnaires
- Plans de mélanges

Chaque plan possède des particularités qui lui sont propres.

### 3-4-7-Les plans de mélange (*Mixture design*)

Les plans de mélange sont des plans particuliers adaptés aux facteurs dépendants. Ils sont surtout utilisés pour étudier l'influence des proportions des constituants d'un produit sur une réponse donnée. La somme des proportions d'un mélange est toujours égale à 100%.

Le pourcentage du dernier constituant est imposé par les pourcentages des premiers composés. C'est la raison pour laquelle les plans de mélanges sont traités à part. Ils sont aussi caractérisés par de nombreuses contraintes qui peuvent peser sur le choix des proportions des constituants. Par exemple, la concentration d'un produit doit être au moins de x pourcent ou cette concentration ne peut excéder une valeur donnée. En fonction de ces contraintes la planification de l'étude est modifiée et elle doit être adaptée à chaque cas.

#### **a) Contrainte fondamentale des mélanges :**

Si l'on note par  $x_i$  la teneur en constituant  $i$  dans le mélange à «  $k$  » constituants, la somme des teneurs de tous les constituants du mélange satisfait la relation :

$$\sum_{i=1}^{i=k} X_i = 100\%$$

Si, au lieu d'utiliser les pourcentages, on ramène la somme des teneurs des différents constituants à l'unité on a :

$$\sum_{i=1}^{i=k} X_i = 1$$

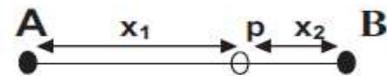
Cette relation s'appelle la contrainte fondamentale des mélanges. Les représentations géométriques des plans de mélange sont différentes de celle utilisées pour les plans d'expériences classiques et les modèles mathématiques sont eux aussi profondément modifiés.

**b) représentation géométrique des mélanges :**

• **Mélange binaire : (k=2)**

Segment de droite

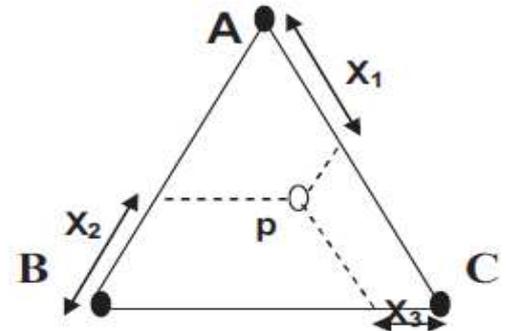
$$X_1 + X_2 = 1$$



• **Mélange ternaire : (k=3)**

Triangle équilatéral

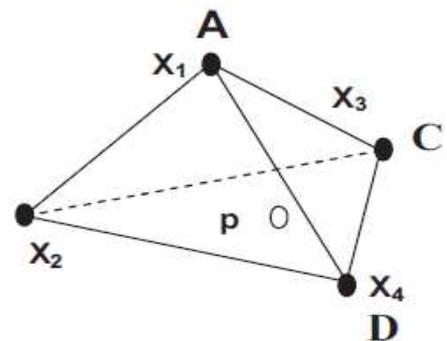
$$X_1 + X_2 + X_3 = 1$$



• **Mélange à quatre constituants : (k=4)**

Tétraèdre

$$X_1 + X_2 + X_3 + X_4 = 1$$



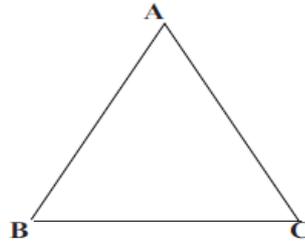
**C) types de plans de mélanges :**

Suivant les contraintes pouvant caractériser la quantité minimale et maximale de chaque constituant, nous pouvons observer quatre types de mélange.

• **Plan de mélange sans contrainte:**

Ce sont des plans de mélange dont les constituants n'ont aucune contrainte particulière. Ils se traitent de façon directe

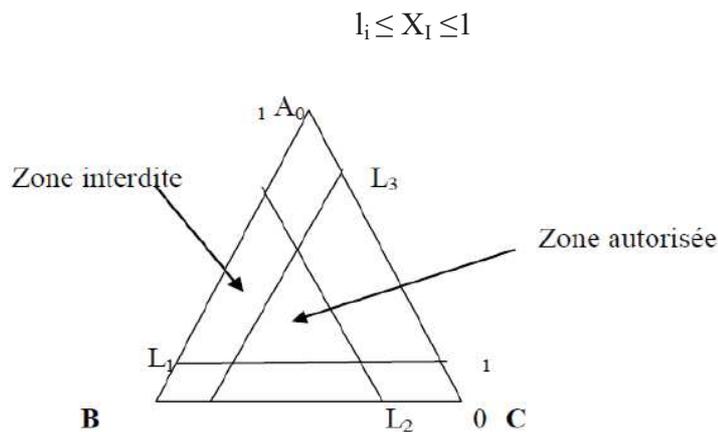
$$0 \leq X_i \leq 1$$



**Figure 3.6:** représentation géométrique d'un mélange à trois constituants sans contraintes

- **Plan de mélange présentant des limites inférieures:**

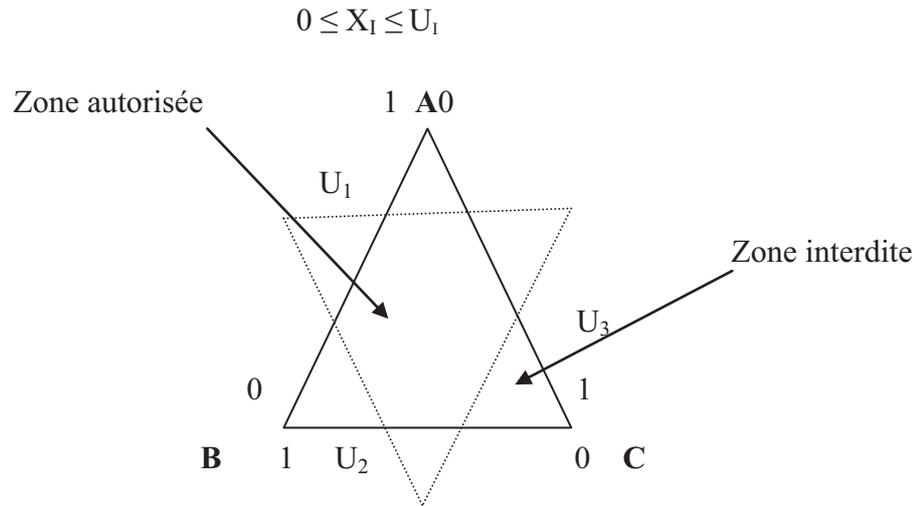
La concentration d'un ou de plusieurs constituants ne peut pas être inférieure à une valeur donnée. Dans ce cas le domaine d'étude est réduit mais la forme du domaine reste la même : un triangle équilatéral. La position des points d'expériences se réduit des plans de mélanges classiques précédents.



**Figure 3.7:** représentation géométrique d'un mélange à trois constituants présentant des limites inférieures

- **Plan de mélange présentant des limites supérieures:**

La concentration d'un ou plusieurs constituants ne peut pas être supérieure à une valeur donnée. Dans ce cas, le domaine d'étude est réduit mais la forme du domaine est complètement modifiée, ce n'est plus un triangle, c'est un polygone. Pour les plans ayant plus de trois facteurs, le domaine d'étude est un hyperpolyèdre.

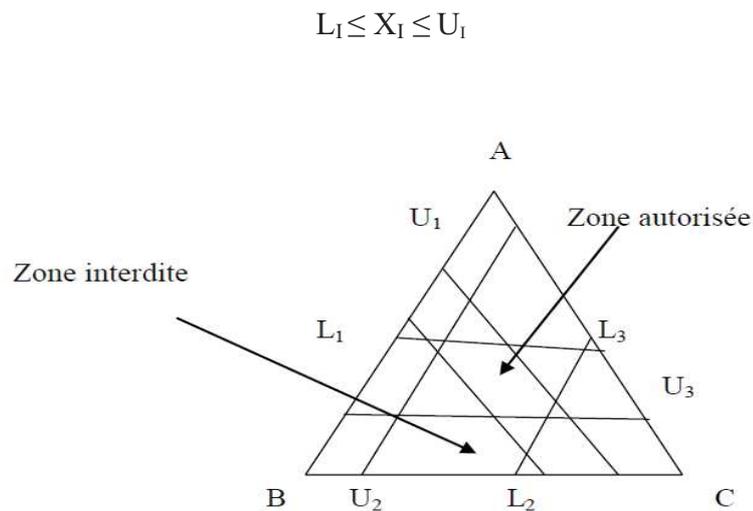


**Figure 3.8:** représentation géométrique d'un mélange à trois constituants présentant des limites supérieures

- **Plan de mélange présentant des limites inférieures et supérieures:**

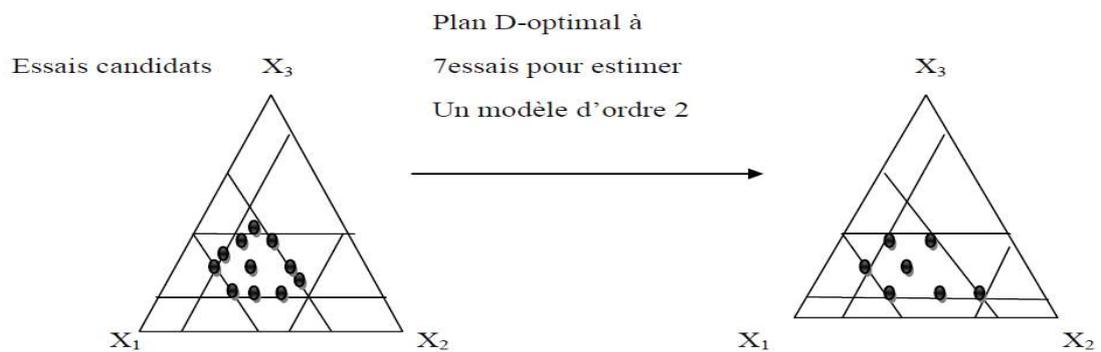
Les proportions d'un ou de plusieurs constituants peuvent être soumises à des contraintes inférieures et supérieures. Pour un composant, le triangle des compositions est divisé en trois zones : la zone interdite par la limite basse, la zone interdite par la limite haute et entre les deux, la zone autorisée.

Chaque composant peut avoir des limites hautes et basses. Un exemple est illustré représentant ainsi un plan de mélange à trois composants, la forme initiale du triangle équilatéral n'est pas conservée.



**Figure 3.9:** représentation géométrique d'un mélange à trois constituants présentant des limites supérieures et inférieures

C'est le cas le plus souvent rencontré et le plus difficile à traiter. Pour trouver le meilleur emplacement des points expérimentaux, il faut disposer d'un grand nombre de points d'expériences sur le domaine d'étude. Ceci engendre automatiquement un nombre trop élevé d'essais. Pour pallier à ce problème, des plans nommés D-optimaux ont été mis au point permettant ainsi de conserver pour un modèle donné, les meilleurs points d'expériences et de diminuer de ce fait le nombre d'essais. Le choix de l'emplacement des meilleurs points expérimentaux nécessite par ailleurs un logiciel de plans d'expériences qui effectue le calcul grâce à un algorithme d'échange des plans D- optimaux.



**Figure 3.10:** représentation géométrique de la sélection des points expérimentaux lors du passage d'un plan classique à un plan D- optimal

Le principe général de construction des matrices d'expérience D-optimales par l'algorithme d'échanges est que pour un nombre d'expériences  $N$  fixé, une première matrice d'expériences est construite en choisissant aléatoirement  $N$  mélanges dans l'ensemble des points candidats. Puis, certaines de ces expériences choisies sont successivement échangées avec des expériences non choisies de façon à améliorer le critère de qualité (le déterminant de la matrice d'information). Lorsque aucun échange n'améliore ce critère, l'algorithme est répété sur d'autres solutions initiales aléatoires. La solution finale, la meilleure de ces différents essais est considérée comme la solution D-optimale.

### 3-5-Les étapes de réalisation d'un plan d'expériences

En général, cette méthode est constituée de 3 grandes étapes:

- *Etape de préformulation*
- *Construction du plan d'expérience et réalisation des essais.*

➤ *Interprétation des résultats.*

L'étape de préformulation est considérée comme étant l'étape clé de notre étude, puisqu'elle conditionne dans une grande mesure la réussite de la campagne expérimentale. Il s'agit d'une étude préliminaire permettant de définir les objectifs, les facteurs ainsi que les réponses voulant être mis en évidence par notre étude. Cette phase est composée de plusieurs sous étapes, ces dernières sont détaillées ci-dessous:

3-5-1-Etape de préformulation

**a) Observation des faits**

Le travail appelé par cette étape consistera à documenter de façon objective l'ensemble des questions appropriées et exhaustives bien connues des animateurs des groupes de résolution de problèmes avec le Q.Q.O.Q.C.P. : Qui (est concerné)?, (De) Quoi (s'agit-il ?), Où (ça se manifeste), Quand (ça se manifeste), Comment (ça se manifeste), Pourquoi (ça se manifeste) en s'efforçant :

- D'identifier les faits objectifs, et de préférence documentés associés au "ressenti" du problème, c'est la réponse au Quoi,
- D'identifier les faits réellement gênants et importants sans se polariser sur les faits secondaires,
- De décrire de façon succincte et documentée les faits relatés [113].

**b) La formulation du problème [114]**

Elle consiste à exploiter toutes les informations recueillies sur le problème pendant l'investigation préalable.

Elle appelle successivement :

- La définition des objectifs et des contraintes de l'étude,
- La définition des réponses,
- Le choix de la stratégie d'expérimentation,
- Le recensement et l'hierarchisation des facteurs,
- Le choix du domaine expérimental et des niveaux,
- Le recensement d'éventuelles interactions
- La détermination du type de modèle et de plan.

Il faut préciser qu'au cours de la formalisation, il peut y avoir encore des questions sans réponse et des choix à faire.

Par exemple, avant d'arriver à une formalisation définitive, il peut s'avérer nécessaire de réaliser des essais préliminaires afin de caractériser la variabilité de la réponse, de vérifier

le choix d'un facteur, d'affiner le domaine expérimental à retenir ou de définir le nombre de modalités à donner à un facteur.

Il peut arriver aussi que l'étude soit orientée vers une autre méthode que les plans d'expériences, parce que le plan n'est pas envisageable ou parce que le problème peut être résolu plus efficacement autrement.

La formalisation du problème se fera donc nécessairement de manière itérative.

- ***Définition des objectifs et des contraintes de l'étude***

A partir de l'observation des faits et des attentes exprimées, on doit préciser

- ✓ le thème de l'étude (résumé en une phrase courte).
- ✓ les objectifs à atteindre en termes non ambigus, sans référence à d'éventuelles solutions, et de préférence quantifiées.
- ✓ Les raisons de l'étude afin de s'assurer de leur caractère prioritaire.
- ✓ Les limites de l'étude pour les remises en question et la recherche de solutions.
- ✓ Les contraintes associées à la réalisation des objectifs telles que délai, planning de mise à disposition des moyens d'essais, coûts.

- *Définition des réponses:*

Il s'agit de décliner les objectifs de l'étude :

- En grandeurs à optimiser, si le but final est d'assurer une conformité à des spécifications,
- En grandeurs à modéliser, dans le cas où seul le comportement d'un phénomène ou d'un système est à étudier.

Pour la mise au point de produits ou de procédés, il est souhaitable que les grandeurs retenues soient en rapport direct avec les cibles caractérisant la conformité recherchée. A chacune de ces grandeurs pourront ensuite être associées une ou plusieurs réponses:

- Dans le cas où la dispersion est négligeable, on retiendra de préférence comme réponse la valeur moyenne de cette grandeur, mesurée sur un échantillon d'objets réalisés,
- Dans le cas contraire, on prendra, non seulement la valeur moyenne, mais aussi l'écart type de la distribution de celle-ci.

Si la grandeur est qualitative, ses attributs étant par exemple "bon - pas bon", la réponse pourra être le pourcentage de "bon" ou de "pas bon" observé sur un échantillon d'objets répondant à une même définition.

Chaque grandeur caractérisant l'objectif est ainsi associée à une réponse qui fera l'objet d'une modélisation en vue de la recherche d'une solution.

Si les réponses sont multiples, on pourra ultérieurement les regrouper, lors de l'analyse du plan d'expériences, en une ou deux réponses principales en utilisant une fonction désirabilité afin de faciliter l'optimisation globale.

Les réponses définies doivent donc satisfaire aux conditions suivantes :

- Etre caractéristiques de l'objectif de l'étude,
- Etre quantitatives,
- Etre économiques, faciles et rapides à mesurer.

- *Choix de la stratégie d'expérimentation:*

Ce choix de la stratégie d'expérimentation permettra de définir:

- La quantité de facteurs à retenir,
- Le type de modélisation des réponses étudiées,
- Le type de plan d'expériences à construire pour estimer les coefficients des modèles à partir des résultats d'essais,
- La séquentialité à prévoir pour l'enchaînement logique des essais et des analyses statistiques.

Il existe en fait plusieurs stratégies, les plus importantes sont : **la stratégie Q**, **stratégie P** Pour choisir un des deux types, il est nécessaire d'avoir une connaissance préalable du phénomène étudié, et en particulier de savoir si les facteurs sur lesquels on est susceptibles d'agir sont nombreux ou non, et si leur influence est certaine ou non. Pour différencier entre les deux stratégies, il est essentiel de définir chacune d'elles :

- **La stratégie Q:** Cette stratégie est qualifiée aussi de screening, débroussaillage ou encore criblage. Elle s'applique surtout pour identifier les facteurs influents et ceux qui ne le sont pas, et si besoin, pour hiérarchiser les facteurs selon l'importance de leur effets moyens.
- **La stratégie P:** Cette stratégie dite d'optimisation ou méthodologie de surface de réponses permet de déterminer les valeurs des facteurs influents correspondant à une réponse particulière au système. On ne tient compte que des facteurs ayant une influence certaine. On n'aura pas recours à la hiérarchisation qui relève de la stratégie Q.

▪ **Recensement et hiérarchisation des facteurs**

On peut répartir ces facteurs en quatre classes:

1. **Les facteurs à figer d'emblée dans l'étude:** Ce sont les facteurs qui n'auront aucune influence sur les objectifs visés. Ils seront figés, lors de l'étude, à un niveau donné et précisé. Par exemple, en production, les paramètres influents sur la productivité ou le temps de cycle, telle que la vitesse d'injection, dans un processus de moulage par injection, sont difficilement remis en cause et sont donc souvent considérés comme des paramètres hors étude.

2. **Les facteurs principaux:** ce sont les facteurs recensés sur lesquels on est susceptibles d'agir pour atteindre les objectifs de l'étude.

3. **Les facteurs de bruit:** ce sont des facteurs recensés non maîtrisés, et qui sont susceptibles d'occasionner une variabilité indésirable sur les grandeurs associées aux objectifs de l'étude.

4. **Les facteurs blocs:** ce sont des facteurs liés aux moyens et aux conditions d'expérimentation qui vont varier inévitablement pendant les essais. Ils sont susceptibles de biaiser l'estimation des effets des facteurs étudiés. Les facteurs blocs susceptibles d'avoir un effet sur la réponse devront nécessairement être retenus dans le plan d'expérimentation. Ils peuvent être de type espace ou de type temps.

- **Choix du domaine expérimental et des nombres des niveaux**

Il faut définir le domaine de variation ainsi que les niveaux correspondants des facteurs quantitatifs retenus. Pour les facteurs à figer, il faudra préciser le niveau constant qui devra leur être attribué. Pour les autres facteurs, le domaine sera défini par ses bornes.

- **Existence ou non d'interactions entre les facteurs**

A ce niveau, on s'interrogera toujours sur l'existence d'interactions très fortes. En général, c'est une question extrêmement difficile, notamment dans le domaine des processus de production. L'interaction est un phénomène complexe et difficile à pressentir. Les réponses recueillies à ce sujet doivent être toujours examinées avec suspicion.

- **Détermination du type de modèle**

Dans la majorité des plans d'expériences, le modèle est à la base de la construction de la matrice d'expériences. La démarche des plans d'expériences impose le choix, avant les essais, de ce modèle mathématique nommé aussi modèle a priori ou modèle postulé. Les deux modèles mathématiques très utilisés sont ceux du premier et second degré.

- **Modèle du premier degré**

On suppose dans ce cas que les variations de la réponse sont proportionnelles aux teneurs des constituants du mélange. Les interactions entre facteurs sont négligées. Pour un mélange de trois constituants, le modèle peut s'écrire de la manière suivante :

$$y = A_0 + A_1X_1 + A_2X_2 + A_3X_3$$

Où :

Y est la réponse au point de composition choisi;

$x_1, x_2, x_3$  sont les teneurs respectives des produits A,B et C;

$a_0, a_1, a_2$  et  $a_3$  sont les coefficients inconnus que l'on cherche à déterminer.

- ***Le modèle du second degré***

Le modèle mathématique du second degré est utilisé dans le cas où on tient compte des interactions entre les facteurs. D'une façon générale, ce modèle comprend les termes du premier degré, les termes rectangles et les termes carrés. Pour un mélange de 3 facteurs, le modèle peut s'écrire de la façon suivante:

$$y = A_0 + A_1X_1 + A_2X_2 + A_3X_3 + A_{12}X_1X_2 + A_{23}X_2X_3 + A_{11}X_1^2 + A_{22}X_2^2 + A_{33}X_3^2$$

L'écriture de la forme générale du modèle permet de définir le nombre de coefficients à estimer.

### 3-5-2-Construction du plan et réalisation des essais

La construction du plan d'expériences s'effectue à l'aide d'un logiciel nommé MODDE 6.0. Il s'agit d'un logiciel très spécifique fonctionnant sous Windows permettant de définir des plans d'expériences, de les analyser et de les optimiser. Le logiciel est conçu pour les techniciens et les ingénieurs de tous les secteurs de l'industrie.

L'expérimentateur mène les expériences en respectant le plan d'expérimentation engendré par le logiciel. Cette étape est très importante, puisque c'est de la bonne réalisation des expériences que l'on pourra tirer les informations capitales qui seront exploitées par la suite. Il est recommandé d'avancer progressivement et de réorienter voire d'affiner les études en fonction des premiers essais réalisés.

Ainsi, une première ébauche permettra de mieux choisir les nouvelles orientations à prendre pour préciser les seuls points intéressants de l'étude et pour abandonner ceux qui ne le sont pas. C'est pour cela qu'il est préconisé de procéder de manière progressive. Il est également conseillé de randomiser l'ordre des essais car si le processus subit une dérive, en n'effectuant pas les essais de manière aléatoire, on va amplifier aux effets des facteurs les effets des dérives.

Cette randomisation consiste à tirer au hasard l'ordre des essais pour supprimer l'influence des facteurs perturbateurs non identifiés pouvant être corrélés avec l'ordre des essais.

### 3-5-3-Interprétations des résultats

Le calcul des coefficients inconnus du modèle se fait à l'aide des résultats d'expériences obtenues. La méthode de calcul est basée sur la régression dite PLS (partial least squares) en employant le critère d'optimisation des moindres carrés. La régression linéaire classique fournit en fait une seule solution souvent basée sur le critère des moindres carrés. Lorsqu'il y a beaucoup de variables, on risque d'obtenir un modèle surparamétré, c'est-à-dire modélisant les erreurs.

Pour éviter ce problème, la régression PLS a été introduite car étant séquentielle, elle permet d'arrêter le processus de régression avant de modéliser l'erreur [115].

La régression PLS est une technique récente qui généralise et combine les caractéristiques de l'analyse sur composantes principales et de la régression multiple. Elle est particulièrement utile quand on a besoin de prédire un ensemble de variables dépendantes à partir d'un ensemble très grand de variables explicatives qui peuvent être très fortement corrélées entre elles.

La qualité du modèle, par rapport à sa représentativité et sa puissance de prédiction, est liée respectivement au coefficient de détermination expliquant la variance,  $R^2$ , et au coefficient de prédiction  $Q^2$ . Les expressions mathématiques de ces deux coefficients sont :

$$R^2 = \frac{\sum (y_i - \bar{y})^2 - \sum e_i^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \quad 0 \leq R^2 \leq 1$$

$$Q^2 = \frac{\sum (y_i - \bar{y})^2 - \sum \left[ \frac{y_i - \hat{y}_i}{1 - h_i} \right]^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \quad 0 \leq Q^2 \leq 1$$

Avec :

$y_i$  : Réponse ( caractéristique) mesurée au point  $i$  ;

$\bar{y}$  : Moyenne de l'ensemble des réponses  $y_i$  mesurées;

$e_i$  : Résidu au point  $i$ ;

$\hat{y}_i$  : Réponse prédite par le modèle au point  $i$ ;

$h_i$  : La variance de prédiction au point  $i$ .

## **CHAPITRE 4: MATERIEL ET METHODES**

### 4-1-Margarine

Introduction :

Ce chapitre présente les différentes étapes de préparation de la margarine depuis les matières premières jusqu'au produit fini. La valorisation de l'huile d'olive par extraction des matières actives (en particulier les phytostérols) a fait aussi l'objet d'une description détaillée dans cette partie.

#### 4-1-1-Matériel:

##### 4-1-1-1-Matériel biologique:

- **Huile d'olive :**

Utiliser pour l'extraction des phytosterols, les échantillons d'huile d'olive de variété *Chemlal* sont collectés à partir d'unités d'extraction localisées dans plusieurs régions oléicoles de la wilaya de Bejaia ( Tazmelte, Sidiaiche).

Chaque échantillon est prélevé à partir d'un échantillon global par homogénéisation et réduction de la masse appropriée qui est représentative du lot. Les échantillons d'huile d'olive sont mis dans des flacons en verre foncé propres et secs d'une taille minimale de 250ml muni de bouchon, et placé à l'abri de la lumière selon la norme AFNOR T60-280 (1987).

Les échantillons par suit sont réunis et destinée à l'analyse au laboratoire.

- **Mélange des huiles:**

C'est un mélange composé de : huile de palme, huile de soja, huile de noix de coco. Ce mélange est obtenu a partir de l'unité de transformation des huiles «Cevital» dans des citernes menu d'une chaudière assuré une température de 55°C .Les huiles de mélange sont des huiles tel que et transformées par interestérisation.

Ce mélange est de qualité microbiologique et physicochimique assurée par l'unité bellat

#### 4-1--2-1-Matériel non biologique

Au coure de notre travaille on utilise plusieurs matériels : appareils (CPG, HPLC, Rhéomètre, pHmètre, centrifugeuse ...) et verreries tous sa on a détaillé dans l'annexe.

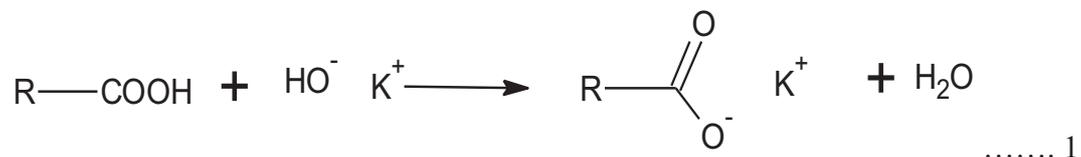
#### 4-1-2-Méthodes :

##### 4-1-2-1-Caractérisation de l'huile d'olive

###### **a. Acidité libre**

Elle correspond à la teneur en acides gras (exprimée en acide oléique) présent dans l'huile d'olive et représente un paramètre important dans l'évaluation de sa qualité. Elle est mesurée selon la norme AFNOR (1984).

Le principe repose sur la neutralisation des acides gras à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium de normalité 0,5mole/L selon la réaction suivante :



###### ❖ Mode opératoire :

L'analyse a été effectuée sur l'échantillon filtré. 6g d'huile d'olive a été dissoute dans 100ml du mélange éthanol/toluène (V/V), puis titré, en agitant, avec la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 0,1N en présence de 0,3ml de la solution de phénophtaléine à 1% dans l'éthanol, jusqu'au virage de l'indicateur (coloration rose).

L'acidité, exprimée en pourcentage est égale à :

$$\text{Acidité}(\%) = \frac{V \times C \times M}{10 \times m} \quad \dots\dots\dots 2$$

Où :

V : le volume en ml de la solution titrée de KOH utilisé.

C : la concentration exacte, en moles /litre, de la solution titrée de KOH utilisé.

M : le poids molaire, en g/mole, de l'acide oléique (282g/mol).

m : la prise d'essai en grammes.

### **b. Indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde à été déterminé suivant la norme NF60-220.

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de milliéquivalents d'oxygène contenus dans un kilogramme de produit et d'oxydant d'iodure de potassium avec libération d'iode.

#### ❖ Principe

Le principe consiste à traiter une prise d'essai dissoute dans une solution d'acide acétique et de chloroforme avec une solution d'iodure de potassium. L'iode libéré est par la suite titré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon comme indicateur.

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

$$IP = (V_2 - V_1) * N * 100 / m \dots\dots\dots 3$$

Où :

$V_1$  : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en ml.

$V_2$  : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé en ml.

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium (0.01N).

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

#### ❖ Mode opératoire

Dans un flacon de 250 ml, on introduit 2g d'huile d'olive que l'on dissous dans 10ml de chloroforme et 15ml d'acide acétique. On ajoute 1ml de la solution d'iodure de potassium, on bouche aussitôt le flacon. On agite pendant une minute et on laisse pendant 5 minutes à l'abri de la lumière puis on ajoute 75ml d'eau distillée.

Enfin, Titrer en agitant vigoureusement et en présence d'empois d'amidon comme indicateur jusqu' à disparation de la couleur. L'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium 0.01N.

Effectuer sans le corps gras un essai à blanc.

### c. **Indice de réfraction** (Selon la méthode ISO 6320-1995)

L'indice de réfraction est le rapport de vitesse de la lumière à une longueur d'onde définie dans le vide et sa vitesse dans l'huile.

#### ❖ Principe

Mesure à l'aide d'un réfractomètre convenable de l'indice de réfraction de l'huile d'olive à une température constante de 20°C.

#### ❖ Mode opératoire

On mesure l'indice de réfraction à une température de +20°C à laquelle, l'huile d'olive est complètement liquide. La lecture fait à 0.0001 (prés en valeur absolue) et on note la température du prisme de l'appareil. Deux déterminations sont effectuées sur le même échantillon.

#### ❖ Expression des résultats

L'indice de réfraction  $N_D^t$  à la température de référence est égale à :

$$N_D^t = N_D^{t_1} + (t_1 - t) F \dots \dots \dots 4$$

Où :

$t_1$  : la température de mesure, en degrés Celsius.

$t$  : la température de référence, en degrés Celsius, évaluée à 20°C pour l'huile d'olive et qui fait partie des corps gras complètement liquides à cette température.

$F$  : est un facteur de correction égal à 0.00035 pour  $t=20^\circ\text{C}$ .

### d. **Indice de saponification**

La détermination de l'indice de saponification est réalisée en utilisant la méthode (ISO 3657-1988).

L'indice de saponification est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour saponifier un gramme d'huile.

4 à 5g d'échantillons sont pesés puis mis en solution dans 50ml de KOH alcoolique dans un ballon Büchi de 250ml. Un réfrigérant est ensuite placé sur le ballon et l'échantillon est alors chauffé à 80° C pendant 1h 30mn pour être sûr que la saponification soit complète

Après refroidissement du récipient, l'échantillon est titré avec du HCl 0,5N jusqu'à disparition complète de la couleur rose. Le blanc est juste composé de 50ml de KOH alcoolique.

L'indice de saponification est calculé selon l'équation :

$$\text{Indice de saponification} = \frac{V-v}{m} \cdot N \cdot 56,1 \dots\dots\dots 5$$

Où

V est le volume d'HCl 0,5N requis pour titrer le blanc,

v est le volume d'HCl 0,5N requis pour titrer l'échantillon,

N est la normalité de la solution d'HCl,

m est la prise d'essai en grammes.

**e. Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras (CPG) :**

Les huiles sont principalement composées de triglycérides - triesters d'acides gras du glycérol. Ces molécules sont difficiles à analyser tel quel en chromatographie gazeuse. Pour se faire, il faut d'abord détruire les liaisons ester glycérol - acide gras et à synthétiser des esters de méthanol et des acides gras (ces esters, étant plus volatils, sont plus faciles à analyser que les acides gras « libres »).

La préparation des esters méthyliques est effectuée selon le protocole suivant (norme officielle AOCS Ce 2-66):

Les triglycérides sont attaqués par de la soude et les acides gras libérés sont estérifiés par le méthanol sous catalyse acide. Environ 3 gouttes d'huile sont reprises par 1ml d'heptane dans un tube et le contenu est agité pendant deux secondes tout en maintenant le tube bouché. 0,2ml de NaOH méthanolique (2mol/l) est ajoutée et le tube est agité vigoureusement pendant 10 secondes, ensuite placé dans un bain marie à 50° C pendant 20 secondes tout en continuant de maintenir le bouchon fermé. Après ce délai, le tube est agité encore une fois pendant 10 secondes puis 0,4ml d'HCl méthanolique (1mol/l) est ajouté suivi d'une agitation. Après décantation, la phase organique contenant les esters méthyliques est recueillie et diluée 10 fois dans de l'heptane.

Les esters méthyliques obtenus, sont séparés et quantifiés par chromatographie en phase

gazeuse (Chrompack CP 9001) sur une colonne suffisamment polaire pour séparer les molécules aussi bien en fonction de leur taille que de leur degré d'insaturation. Les conditions opératoires sont :

- Détecteur : FID
- Injecteur : SPLIT 1/100
- Colonne capillaire DB 23 (50% cyanopropyl), longueur 30m, diamètre intérieur 0,32mm, Epaisseur 0.25 $\mu$ m
- Gaz vecteur : azote
- Température de l'injecteur : 250°C, Température de détecteur : 280°C, Température du four : 200°C

#### 4-1-2-2-Plans d'expérience

A fin de pouvoir établir une formulation diététique de margarine enrichie en phytostérols, il s'avère indispensable de suivre la méthode des plans d'expériences qui permet de structurer les démarches expérimentales entreprises et donner la crédibilité aux informations et résultats prélevés.

#### 4-1-2-2-1-Etude de la préformulation

L'étape de préformulation est plus que nécessaire, puisqu'elle permet de définir les facteurs les plus importants, qui sont susceptibles d'influencer sur les différentes propriétés rhéologiques, physico-chimiques et organoleptiques. Ces facteurs sont liés aux variables de formulation, à savoir, les éléments constitutants de la margarine et aux variables du procédé. Le but de cette phase de travail, est de faire ressortir les principaux ingrédients, susceptibles d'avoir un effet significatif sur les réponses choisies.

#### 4-1-2-2-2- Objectifs

L'objectif de notre travail consiste à mettre au point une nouvelle formule de margarine qui a un effet anti-hypercholestérolémie et destinée à une population spécifique (margarine de régime).

Cette margarine faite à base de mélange des huiles végétales riche en acides gras insaturés et enrichi par des phytostérols extraites à partir de l'huile d'olive. Cette margarine aura donc un effet positif sur le taux de cholestérol sanguin grâce à son apport en phytostérols et un meilleur apport nutritionnel en acides gras insaturés.

Parmi nos objectifs est que la teneur en huile de notre margarine soit réduite pour quelle soit non seulement diététique mais aussi allégée en matière grasse.

Il est évident que notre margarine soit avant tout stable du point de vue rhéologique et microbiologique tout au long de la période de stockage. Notre margarine doit aussi avoir de bonnes propriétés sensorielles sans pour autant négliger l'aspect technico-économique à savoir le prix.

#### 4-1-2-2-3- Réponses

Afin d'évaluer l'influence des facteurs sélectionnés sur l'optimisation de la formulation de la margarine, plusieurs réponses expérimentales ont été retenues :

- La mesure de la valeur du pH en fonction du temps (stabilité du potentiel hydrogène)
- La mesure de l'acidité
- Point de fusion
- humidité
- Comportement rhéologique
- Aspects organoleptiques

#### 4-1-2-2-4-Choix d'une stratégie d'expérimentation

Dans notre étude le nombre de facteurs est faible et quantitatifs, on cherche à ce stade du travail à optimiser la formule. La stratégie adoptée sera donc celle de l'optimisation des réponses engendrant ainsi l'utilisation de la méthodologie des surfaces de réponses (MSR). Cette stratégie permet de déterminer les valeurs des facteurs influents correspondant à une réponse particulière au système. On ne tient compte que des facteurs ayant une influence certaine.

#### 4-1-2-2-5-Recensement des facteurs

Selon le processus de fabrication employé à la margarinerie Bellat, on peut distinguer deux catégories des facteurs :

##### **• Facteurs externes à la formulation (lié au process)**

1. Méthode de transformation de la phase huileuse (hydrogénisation, interestérification, fractionnement)
2. Vitesse et temps d'agitation lors du mélange d'ingrédients

3. Température de refroidissement pour la cristallisation
4. Température de stockage
5. Température de la cuve de préparation

• **Facteurs internes à la formulation (composants)**

1. Mélange des huiles végétales (huile de palme, huile de soja et huile de noix de coco).
2. Eau.
3. Additifs liposolubles (phytostérols, vitamine, colorant et l'arome).
4. Additifs hydrosolubles (émulsifiant, sel, conservateur, acidifiant et l'antioxydant)

Dans cette présentation, on caractérise les facteurs de formulation et du processus de fabrication en tenant compte des caractéristiques usuellement appliquées et qui sont regroupées dans le tableau suivant.

**Tableau 4.1:** caractérisation des facteurs externes et liés à la formulation

Facteurs	Maitrisabilité	Influence	Rôle
Mélange des huiles végétales Arome de beurre Colorant Phytostérols Eau Emulsifiants Sel Conservateurs Acidifiant Antioxydant	oui	Certaine	Principale Figé Figé Figé Principale Principale Figé Figé Figé Figé
Vitesse et temps d'agitation Température de refroidissement Conditionnement du produit fini Température de stockage Température de cuve préparation	oui	certaine	Figé Figé Figé Figé Figé

Les facteurs retenus sont ceux liés à la composition de la margarine (facteurs internes à la formulation). Ils sont considérés comme étant des facteurs clé de la formulation. Les autres qui sont lié au processus de fabrication sont à éliminer de notre étude, ce sont des facteurs maitrisables et n'ont pas d'influence directe sur l'objectif recherché.

Les facteurs sélectionnés sont donc : mélange des huiles végétales, arôme de beurre, colorant, vitamine A, D et E, Phytostérols, eau, émulsifiants, sel, conservateurs, acidifiant et antioxydant. Il est à noter que certains facteurs (voir tableau) sont à figer. Bien qu'ils soient importants dans la formule ces facteurs ne possèdent pas d'influence directe sur l'objectif déterminé.

#### 4-1-2-2-6-Les niveaux des Facteurs retenus

Une recherche bibliographique nous permet d'établir les niveaux des facteurs ou les quantités minimales et maximales qu'on pourrait ajouter à notre formulation d'une margarine allégée. Les niveaux des facteurs sont précisés au niveau du tableau suivant :

**Tableau 4.2** : valeurs théorique des facteurs

<b>Facteur</b>	<b>Niveaux (%)</b>
Mélange des huiles	≤80
Eau	Quantité satisfaisante
Emulsifiant E471	0,05-1,5
Sel	0,5-2
Conservateur E202 Sorbate de potassium	≤2
Acidifiant E 330 Acide citrique	Quantité satisfaisante
Arôme de beurre	Quantité satisfaisante
Colorant E160	≤3,5
Antioxydant	≤2
Vitamine	A : 25UI/ g PF D : 1UI/g PF

L'ensemble des facteurs forment un mélange qui est représenté soit par la valeur 1 quand on parle de fractions ou par 100% lorsqu'il s'agit de pourcentage. Les facteurs donc sont dépendants dans le sens où l'ajout des n-1 facteurs vont conditionner la quantité du dernier facteur à additionner. Le dernier facteur qui sera sujet à ces modifications est l'eau.

**Tableau 4.3:** les facteurs retenus et leurs niveaux

<b>Facteur</b> \ <b>Quantité</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>
<b>Huiles</b>	52	60
<b>Eau</b>	38	42
<b>Emulsifiant</b>	0,5	1,5
<b>Phytostérols</b>	2,5	2,5
<b>Additives liposolubles</b>	1	1
<b>Additives hydrosolubles</b>	1	1

#### 4-1-2-2-7-Modèle et plans adopté

Dans ce plan, le modèle mathématique qui semble correspondre à notre objectif est celui du second degré. Il s'agit d'un modèle non linéaire (interactions) à trois facteurs qui sont: l'huiles, l'eau et l'émulsifiant. On ne tient compte en fait que des facteurs qui varient dans le plan de mélange. Donc le modèle peut s'écrire de la façon suivante :

$$y = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 x_3 + a_4 x_1 x_2 + a_5 x_1 x_3 + a_6 x_2 x_3 + a_7 x_1^2 + a_8 x_2^2 + a_9 x_3^2$$

D'où:

Y : est désigné come étant la réponse.

x1, x2, x3: sont les teneurs respectives des trois facteurs : l'huile, l'eau et l'émulsifiant

a<sub>0</sub>, a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>, a<sub>3</sub>, a<sub>4</sub>, a<sub>5</sub>, a<sub>6</sub>, a<sub>7</sub>, a<sub>8</sub>, a<sub>9</sub> : représentent des coefficients constants et inconnus.

Le plan D-optimale est le plan adopté a cause de l'existence des contraintes (limite supérieures et inférieures) qui interdisent l'accès à certaine régions du domaine d'étude.

#### 4-1-2-2-8-Construction du plan d'expériences

Les facteurs et les niveaux retenus sont introduits dans le logiciel MODDE6, pour éviter en fait les calculs matriciels fastidieux et compliqués. L'introduction des facteurs avec leurs niveaux a donné les différentes formules illustrées dans le tableau (4.4). Le nombre total des essais à formuler avec un plan classique a été estimé à 1024 essais. L'utilisation du

plan D-optimal a permis de diminuer le nombre et réduire à 12 essais. De ce fait, le modèle à utilisé sera un modèle quadratique de degré 2.

**Tableau 4.4:** les différentes formules du plan d'expérience

<b>N EXP</b>	<b>Huile</b>	<b>Eau</b>	<b>Emulsifiant</b>	<b>Phytoster</b>	<b>Additifs liposolubles</b>	<b>Additifs hydrosolubles</b>
<b>1</b>	<b>0,6000</b>	<b>0,3300</b>	<b>0,0050</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>2</b>	<b>0,5400</b>	<b>0,3800</b>	<b>0,0150</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>3</b>	<b>0,6000</b>	<b>0,3200</b>	<b>0,0150</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>4</b>	<b>0,5500</b>	<b>0,3800</b>	<b>0,0050</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>5</b>	<b>0,6000</b>	<b>0,3266</b>	<b>0,0083</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>6</b>	<b>0,6000</b>	<b>0,3233</b>	<b>0,0116</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>7</b>	<b>0,5666</b>	<b>0,3633</b>	<b>0,0050</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>8</b>	<b>0,5800</b>	<b>0,3400</b>	<b>0,0150</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>9</b>	<b>0,5433</b>	<b>0,3800</b>	<b>0,0116</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>10</b>	<b>0,5466</b>	<b>0,3800</b>	<b>0,0083</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>11</b>	<b>0,5725</b>	<b>0,3525</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>
<b>12</b>	<b>0,5725</b>	<b>0,3525</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0250</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,0100</b>

#### 4-1-2-3-Etudes préliminaires des matières premières

Avant de commencer à formuler il convient tout d'abord de faire des analyses physicochimiques et microbiologiques de la matière première utilisé dans la formulation tel que : l'eau, le mélange des huiles (assurés par l'unité) pour le but d'évaluer la qualité et d'assurer l'innocuité et la propreté biologique de nos produits formulés.

La formulation fait a base des phytosterols, ces derniers sont obtenus a partir d'huile d'olive vierge de la wilaya de Bejaia.

#### 4-1-2-3-1-L'extraction des phytosterols

##### **Préparation de l'insaponifiable: (COI/T.20/Doc. n° 11/Rév.2 2001)**

Peser  $20 \pm 0,1$  g d'huile dans un ballon de 250 ml, ajouter 1 ml de la solution étalon de cholesta-3,5-diène (cholestanol) (20 ug) et 75 ml de potasse alcoolique à 10 %, connecter au réfrigérant à reflux et chauffer jusqu'à légère ébullition pendant 30 minutes. Retirer le ballon contenant l'échantillon et laisser refroidir légèrement. Ajouter 100 ml d'eau, puis transférer la solution dans une ampoule à décanter à l'aide de 100 ml d'hexane. Agiter énergiquement le mélange pendant 30 secondes et laisser décanter.

Remarque : S'il y a formation d'émulsions, attendre un instant, car elles disparaissent rapidement. En cas de persistance, ajouter de petites quantités d'éthanol.

Soutirer la phase aqueuse inférieure dans une deuxième ampoule à décanter et extraire de nouveau à l'aide de 100 ml d'hexane. Soutirer de nouveau la phase aqueuse inférieure et laver les extraits d'hexane (réunis dans une autre ampoule à décanter) à trois reprises chaque fois avec un mélange de 100 ml d'éthanol-eau (1:1) jusqu'à neutralité du pH.

L'insaponifiable est évaporé à sec à l'aide de l'évaporateur puis repris dans 1 mL du mélange de solvant suivant : hexane/Ter-butyle méthyle éther à (90/10, v/v). 100  $\mu$ L du mélange obtenu sont prélevés pour le dosage des phytostérols et autres composants de l'insaponifiable. 3,8  $\mu$ g du standard de quantification (38  $\mu$ L d'une solution à 0,1 mg/mL), le 5alpha cholestane sont ajoutés dans les 100  $\mu$ L.

- **Silylation de la fraction insaponifiable (dérivés triméthyl-silylés (TMS))**

Les dérivés triméthylsilylés (TMS) ont été obtenus selon la méthode décrite par **(Park et Addis, 1985)**. Il s'agit de l'introduction d'un groupement TMS par substitution d'un hydrogène actif. L'action du réactif de silylation, Bis (triméthylsilyl) trifluoroacétamide (BSTFA) ; est facilitée par la pyridine et l'addition d'un catalyseur le triméthylchlorosilane (TMCS). Le mélange est laissé à 60 °C pendant 30 min puis évaporé sous azote et 500  $\mu$ L d'hexane sont alors ajoutés pour l'analyse en CPG.

- **Analyse de la fraction insaponifiable silylé, par CPG- FID et CPG-SM**

Les TMS sont analysés par CPG sur un chromatographe (Hewlett Packard HP 4890A) équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (CPG-FID) et d'un injecteur de type split/spiltless dont les conditions opératoires suivantes :

-colonne Rxi™ 5MS (RESTEK) de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film (95 % diméthyle/5 % diphényle polysiloxane) ;

-les températures du détecteur et de l'injecteur sont de 300 °C ;

-le gaz vecteur est l'hélium à une pression de 150 Kpa. Système d'acquisition : Galaxie (Varian). Les différents composés ont été quantifiés par rapport au 5alpha cholestane.

L'identification des composés a été réalisée par CPG couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) en utilisant un chromatographe de type AGILENT 6890 A équipé d'un détecteur de masse (MSD 5973N) et un injecteur de type split/spiltless 7673A (Agilent), les conditions opératoires sont :

– Colonne DB5 MS chez J and W (122-5532) de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film (95 % diméthyle/5 % diphényle polysiloxane) ;

-les températures de l'injecteur et de la ligne de transfert sont de 300 °C ; le gaz vecteur est l'hélium à une pression de 150 Kpa.

– Condition de masse : impacte électronique (70eV), mode SCAN de 50-500 uma.

– Système d'acquisition : Chemstation (Agilent).

#### 4-1-2-4-Procédure de réalisation des différentes formules de margarine

La formulation est faite au niveau de l'unité bellat (SARL Mitidja) Créée en 2002. Cette unité offre une gamme riche de produits. Elle se positionne dans le segment de la fabrication de la margarine de table, de la margarine allégée et le smen végétal.

Avant tout, on effectué un pesage de tous les ingrédients des différents essais pour le but de faciliter les étapes de formulation :

##### 4-1-2-4-1- Préparation de la phase aqueuse :

L'eau traitée dans la quelle on additionne les additives hydrosolubles :

- Sel.
- conservateur : E202 (sorbate).
- acidifiant : E330 (acide citrique).

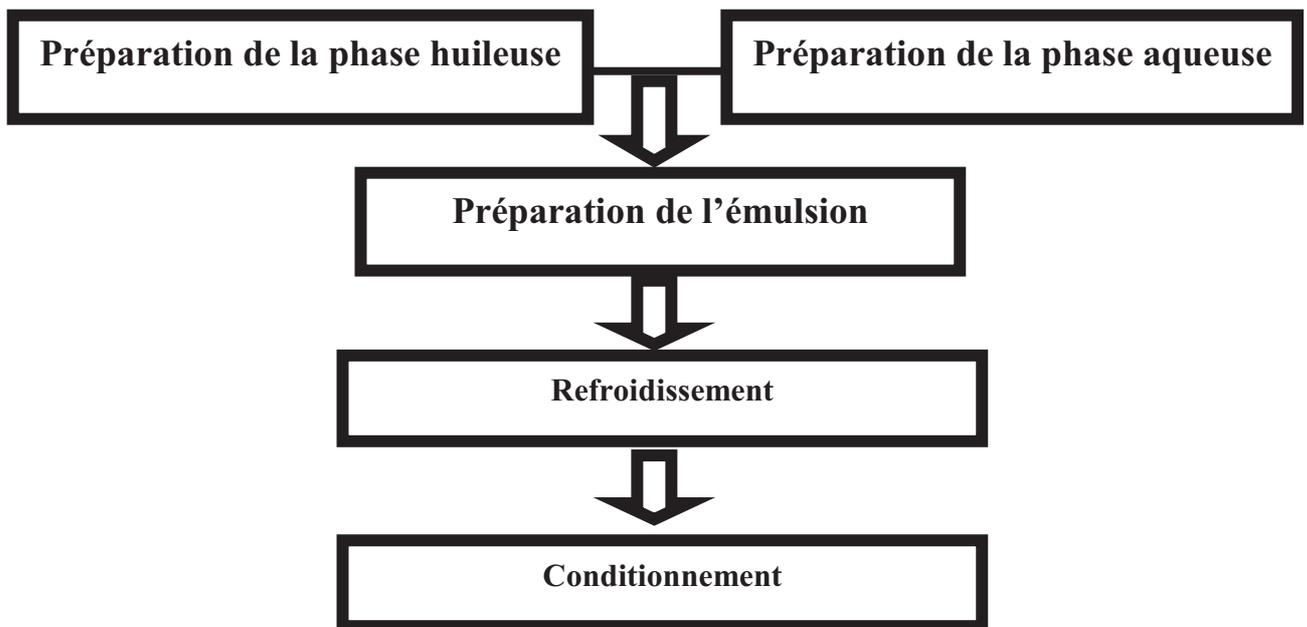
##### 4-1-2-4-2- Préparation de la phase huileuse (phase grasse) :

Le mélange des trois huiles: huile de palme, huile de soja, huile de noix de coco. Ce sont des huiles présentes tel que et transformées par interestérification, la température de mélange est de 55°C.

Dans le mélange on ajoute les additives liposolubles qui sont : émulsifiant (E422 [di-mono-triesters de glycerol d'acide gras]+E322 [lécithine de soja : c'est stabilisant en plus]), colorant (E160a : Beta carotène), arôme de beurre, vitamine (A, D et E), antioxydant (E307  $\alpha$  tocophérols) ainsi que la fraction insaponifiable de l'huile d'olive riche en phytostérols.

#### 4-1-2-4-3- Préparation de l'émulsion

On mélange la phase huileuse et la phase aqueuse, sous forte agitation, pour assurer une bonne émulsification de la préparation. Le mélange devient homogène, en fin on met le mélange dans un réfrigérateur pour diminuer la température et réaliser le malaxage. Les étapes de préparation de notre margarine diététique sont résumées dans le diagramme suivant.



**Figure 4.1** : diagramme de Procédure de réalisation des différentes formules de margarine

#### 4-1-2-5-Les analyses des caractéristiques de la margarine :

Afin de contrôler les formules et d'assurer la qualité. Nous avons effectué cette caractérisation en termes : qualité microbiologique, propriétés organoleptiques, qualité physicochimique (pH, humidité, point de fusion et l'acidité), teste rhéologique, CPG des acides gras).

#### 4-1-2-5-1-Qualité physicochimique :

##### **a. Détermination de la teneur en eau**

###### ❖ Principe

Le principe est basé sur la perte à l'étuve à 103°C de la margarine, mélangée avec du sable.

###### ❖ Mode opératoire

- On pèse 5g de margarine dans une capsule contenant 20g de sable purifié.
- Introduire la capsule et son contenu dans une étuve réglée à 105°C pendant 30mn.
- on laisse la capsule refroidir dans un dessiccateur puis on la pèse.
- on répète l'opération (séchage, refroidissement et peser) jusqu' à obtention d'un poids constant.
- La perte à l'étuve est terminée quand la diminution de poids ne dépasse pas 0.05% par demi-heure de chauffage.

###### ❖ Expression des résultats

$$\text{Eau (\%)} = \frac{P_1}{P_2} * 100 \dots\dots\dots 6$$

Où :

P<sub>1</sub> : perte de poids (g)

P<sub>2</sub> : poids de la prise d'essai (g).

##### **b. Détermination du pH (AFNOR ,1982)**

Le pH est déterminé directement sur la phase aqueuse après sa séparation de la margarine, à l'aide d'un pH-mètre. On mesure le pH chaque jour pour évaluer la stabilité du produit.

##### **c. Détermination du point de fusion (AFNOR ,1996)**

###### ❖ Définition

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

###### ❖ Principe

Il est basé sur le passage de la matière grasse de l'état solide à l'état liquide sous l'effet de la chaleur à une certaine température.

❖ Mode opératoire

- On trempe deux tubes capillaires dans le fluide gras jusqu' à ce qu'ils se remplissent à une hauteur de 1cm.
- On refroidit le tube capillaire et son contenu au congélateur pendant 5mn à 8mn.
- En suite on fixe à un thermomètre de manière à ce que la partie basse des tubes soit au niveau que le fond de la boule du mercure du thermomètre à l'aide d'un élastique.
- Avant que le fluide se fige, on fait plonger le tout dans un bain à une hauteur de 3 cm au dessous de la surface.
- Le point de fusion est atteint lorsque la température est suffisante pour que la graisse monte dans les tubes.

❖ Expression des résultats

La valeur moyenne des deux tubes est considérée comme le point de fusion.

**d. Détermination de l'acidité (NF T 60-204/1989).**

L'acidité est le pourcentage d'acides gras libres exprimés conventionnellement selon la nature du corps, en acide oléique de poids moléculaire 282 g/mol.

❖ Principe :

On met en solution d'une prise d'essai dans l'éthanol chaud, puis on titre des acides gras libres présents à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium.

❖ Mode opératoire

On pèse à 0.01g près 5 g de margarine, la dissoudre dans environ 100ml d'éthanol chaud. Titrer en agitant énergiquement, avec la solution d'hydroxyde de potassium à 0.1mol/l jusqu' au virage de l'indicateur (coloration rose de phénophtaléine persistant au moins 10s).

❖ Expression des résultats

L'acidité exprimée en pourcentage d'acide oléique est donnée par la formule suivante :

$$A = \frac{V * C * 282}{10 * m} \dots\dots\dots 7$$

Où :

V : volume en millilitres de la solution titrée d'hydroxyde de potassium utilisée.

C : Concentration en mole par litres, de la solution titrée d'hydroxyde de potassium 0.1N.

M : Masse en gramme de la prise d'essai.

282 : Masse molaire en g/mole de l'acide oléique.

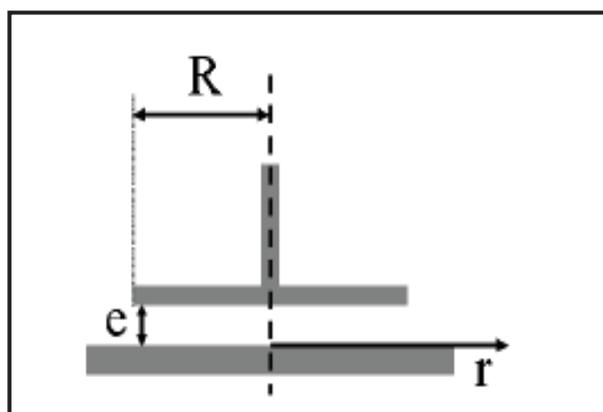
#### 4-1-2-5-2-Analyse rhéologique

Un rhéomètre est un appareil de laboratoire capable de faire des mesures relatives à la rhéologie (du grec rheo, couler et logos, étude) d'un fluide. Il applique un cisaillement à l'échantillon. Généralement de faible dimension caractéristique (très faible inertie mécanique du rotor), il permet d'étudier fondamentalement les propriétés rhéologiques d'un liquide, d'une suspension d'une pâte, etc., en réponse à une force appliquée.

A la différence d'un viscosimètre, un rhéomètre est un dispositif capable de mesurer la courbe d'écoulement.

Dans un rhéomètre plan-plan, le fluide est entre deux disques circulaires de rayon  $R$  coaxiaux séparés par un entrefer ( $e$ ) comme présenté sur la figure (4.2). Leur surface peut être lisse ou rugueuse (permet d'éviter le glissement aux parois). Le disque inférieur est fixe, l'écoulement dans cette géométrie est généré par la rotation du cylindre supérieur.

Calculer les propriétés d'écoulement d'un liquide avec ce type de géométrie est compliqué car contraintes et taux de cisaillement dépendent de la distance à l'axe de rotation.



**Figure 4.2 :** Géométrie plan-plan.

Le rhéomètre MCR 302 (Anton Paar GmbH, Graz, Autriche) est utilisé pour mesurer le comportement de viscosité et viscoélasticité de la margarine.

Le rhéomètre menu d'un écran couleur sur le quel toute les propriétés physiques (la force normale, température et l'entrefer) sont présentées de façon claire et accessible.

On a choisi un Système de mesure plateau-plateau (PP25) avec une distance entre les plateaux de 1mm.

L'échantillon a été placé soigneusement avec une spatule en acier à base plate pour minimiser la déformation. La température de mesures est fixée à 20C°.

#### 4-1-2-5-3-Détermination de la teneur en acides gras par CPG (NF EN ISO 5508, 1995)

##### ❖ Principe

La chromatographie directe des corps gras n'est pas toujours possible en raison de :

- leurs températures d'ébullition trop élevées ;
- leurs instabilités thermiques.

La transformation chimique des acides gras constituant le corps gras en esters méthyliques permet d'abaisser leurs températures d'ébullition et d'obtenir des dérivés thermostables.

##### ❖ Mode opératoire

#### **Obtention des esters méthyliques par la méthode directe (NF EN ISO 5509, 2000)**

- on pèse 5 g de corps gras ;
- Dissoudre dans 5ml d'hexane ;
- on ajoute 0,5ml de solution KOH méthanolique (1,3g dans 10ml de méthanol) ;
- Agitation pendant 30 secondes ;
- Faire la centrifugation à 3000 trs/min pendant 5minutes ;
- on prélève avec une pipette Pasteur 1 à 2 gouttes de surnageant ;
- on ajoute 1ml d'hexane puis injecter.

#### **Conditions d'injection :**

##### **Injecteur**

Température :250°C

Mode d'injection : Split 1;20.

Volume injecté : 0.2 µl

##### **Colonne**

Type : DN-WAX MS Polaire /Dimensions : long 30 m \* D int 0.25 mm \* épaisseur film 0.25 µm

Température du four : 40°C pendant 4 min, 10°C/min jusqu'à 180°C, isotherme pendant 10 min, 1°C/min jusqu'à 240°C ; isotherme pendant 2 min /Durée d'analyse : 90 min

Gaz vecteur : Hélium pureté : N 6 /Débit GV : 0.4 ml/min

#### **Détecteur de masse**

Mode d'analyse : Scan TIC (de 15 à 550)

Délai du solvant : 3 min

Température de l'interface : 250 °c

Type d'ionisation : Impact électronique

Intensité du filament : 70 év

Type de l'analyseur de masse : Master TOF Mass

Température de la source : 200 °c

#### ❖ Expression des résultats

Les acides gras sont identifiés par leurs temps de rétention par rapport à un chromatogramme de référence d'un mélange standard d'esters méthyliques de composition et concentration connues.

#### 4-1-2-5-4-Qualité microbiologique

La composition des formules peut fournir un milieu favorable au développement de colonies de levures, de moisissures ou de germes bactériens.

D'une façon générale, l'objectif du contrôle microbiologique est de garantir une sécurité hygiénique et organoleptique déterminées, dans la mesure où elles dépendent des microorganismes. Les dénombrements des diverses microflore de contamination de nos douze essais de margarine ont été effectués au sein du laboratoire de microbiologie de l'unité Bellat.

#### ➤ **Préparation de la solution mère et des dilutions décimales (NF V08-010)**

Introduire aseptiquement à l'aide d'une spatule stérile, 25g de margarine dans un flacon stérile contenant au préalable 225ml de TSE. Cette suspension constitue la solution mère (la dilution  $10^{-1}$ ). Le flacon est par la suite porté au bain-marie, à 45°C. Après agitation et repos, on obtient la séparation des deux phases grasse et aqueuse. Les prélèvements s'effectuent sur la phase aqueuse à partir de laquelle des dilutions au dixième ( $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ) sont réalisées.

➤ **Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) (NF V08-051).**

❖ Mode opératoire

A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , on porte aseptiquement 1ml de chaque dilution dans une boîte de pétri préparée à cet usage. On Complète ensuite avec environ 201ml de gélose PCA en sur fusion. Faire ensuite des mouvements circulaires de va et vient en forme de « 8 », on laisse solidifier puis incubé à 30°C pendant 72h.

❖ Lecture

Les colonies des GAMT se présentent sous forme lenticulaire. On dénombre les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies, le nombre trouvé sera multiplié par l'inverse de sa dilution. Le résultat final sera exprimé en germes/g de produit analysé.

➤ **Dénombrement des levures et moisissures (NF V-08 059)**

❖ Mode opératoire

On utilise le milieu OGA en boîtes de Pétriensemencées à l'aide de quatre gouttes de chaque dilution à analyser qu'on étale à la surface de la gélose, les boîtes renversées sont incubées à 20-25°C pendant 5 jours.

❖ Lecture

Les levures se présentent sous forme de colonies lisses, rondes ; les moisissures sont sous forme de colonies filamenteuses. Le résultat final sera exprimé en germes/g de produit analysé.

➤ **Recherche et dénombrement des coliformes totaux, coliformes fécaux et d'E. coli (NF V08-050).**

• **Recherche des coliformes totaux**

❖ Mode opératoire

On introduit 1ml de chaque dilution dans trois tubes de bouillon lactose bilié au vert brillant (BLBVB) réparti à raison de 10ml par tube muni d'une cloche de Durham pour déceler le dégagement éventuel de gaz dans le milieu. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 48h.

❖ Lecture

Les tubes présentant à la fois un dégagement gazeux occupant au moins 1/10 du volume éventuel de la cloche de Durham et un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu BLBVB du vert au jaune sont considérés comme positifs. L'exploitation des résultats s'effectue par la méthode du NPP (nombre le plus probable) qui se réfère à la table de Mac-Grady. Le résultat final sera exprimé en germes par gramme de produit analysé.

• **Recherche des coliformes fécaux et d'E. coli**❖ Mode opératoire

Les tubes de VBL trouvés positifs dans le test précédent feront l'objet d'un repiquage à la fois dans d'autres tubes de VBL munis d'une cloche de Durham et dans des tubes d'eau péptonée exempte d'indole EPEI, l'incubation se fait à 44°C pendant 48h.

❖ Lecture

Les essais présentant à la fois un dégagement gazeux dans les tubes VBL et un anneau rouge en surface dans le tube EPEI après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de KOVACS seront considérés comme positifs. L'exploitation des résultats s'effectue par la méthode du NPP qui se réfère à la table de Mac-Grady, le résultat final sera exprimé en germes/g de produit analysé.

➤ **Recherche des Staphylococcus aureus (NF V 08-057-1)**

La recherche des Staphylococcus comporte une méthode de Baird Parker.

❖ Mode opératoire

A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  on porte 1ml de chaque dilution réparti en surface à raison de 3 fractions sensiblement égales dans trois boîtes contenant le milieu de Baird Parker puis on étale. Incubation à 37°C pendant 24 à 48 h.

❖ Lecture

Seront considérées comme positives, les boîtes contenant des colonies caractéristiques à savoir des colonies noires, brillantes, convexes entourées d'une zone de transparence qui

peut être translucide. Le nombre de colonies trouvé sera multiplié par l'inverse de sa dilution. Le résultat final sera exprimé en germes/g de produit analysé.

#### 4-1-2-5-5-Qualité sensorielle

L'analyse sensorielle a pour but d'évoquer, mesurer, analyser et interpréter les caractéristiques d'un produit telles qu'elles sont perçues par les organes de sens. A côté de cette analyse qui a un caractère analytique, il existe des épreuves à caractère hédonique dont la vocation est d'évaluer l'acceptabilité des produits et cerner les attentes des consommateurs. Ces dernières épreuves font appel à un panel de consommateurs. L'analyse sensorielle s'intéresse au produit pour lui-même, alors que l'analyse hédonique s'intéresse à la manière dont un produit est accepté par un groupe cible de consommateurs.

L'analyse sensorielle a été effectuée au sein du laboratoire de la margarinerie de l'entreprise Bellat, à température de 20°C (sous climatisation). Un groupe de 16 personnes ont pris part à cette analyse sensorielle hédonique et les sujets sont constitués par le personnel de la margarinerie (des ingénieurs de laboratoire, des spécialistes de marketing et des simples travailleurs).

Les échantillons de margarines numérotés de 1 à 12 sont présentés simultanément aux sujets avec comme accompagnement du pain coupé en rondelles fines et des morceaux de pommes sont mis à disposition des sujets. L'analyse s'est déroulée comme suit : on demande à chaque sujet de remplir une fiche d'analyse sensorielle, contenant toutes les informations relatives aux paramètres de dégustation (voir annexe). Après chaque dégustation des échantillons numérotés de margarine, il est demandé aux sujets de prendre un morceau de pomme pour enlever le goût du précédent échantillon.

Nous avons réalisé les épreuves à caractère hédonique en utilisant une échelle de notation linéaire structurée (de 1 à 10) pour évaluer les intensités des perceptions des margarines. une liste de 6 attributs a été construite sont des attributs de texture, d'aspect, de couleur, d'odeur et de facilité à tartiner et fondant en bouche.

## 4-2-Fromage fondu

### **Introduction :**

Cette partie d'étude a été réalisée à la laiterie de Beni Tamou à Blida durant une période de trois mois au niveau de la chaîne de fabrication et le laboratoire d'analyse physicochimique et microbiologique de l'entreprise.

La fabrication d'un fromage fondu enrichi en amidon modifié pour le but de diminuer le taux de matière gras et d'améliorer la texture.

### 4-2-1-Matériel

#### 4-2-1-1-Matériel biologique :

Le matériel biologique comporte les différentes matières premières utilisées et le produit fini (fromage fondu à l'amidon modifié) : L'eau, Cheddar, Beurre, Amidon modifié et non modifié, Poudre de lait, Caséine.

### 4-2-2-Méthodes

#### 4-2-2-1-Méthodologie expérimentale :

La démarche adoptée dans ce travail est basée sur la planification expérimentale. Le recours à cette méthode des plans d'expériences permet d'obtenir des modèles prévisionnels des réponses étudiées, avec un minimum d'essais et un maximum de crédibilité.

Compte tenu de l'objectif visé par ce travail, à savoir la détermination des effets des facteurs, la stratégie la plus adéquate repose sur une modélisation en surface de réponse par un modèle d'ordre 2 tenant compte des interactions doubles :

$$y = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 x_3 + a_{22} x_2^2 + a_{33} x_3^2 + a_{12} x_1 x_2 + a_{13} x_1 x_3 + a_{23} x_2 x_3 \dots\dots\dots 8$$

Où : y et la réponse et  $x_1, x_2, x_3$  sont des facteurs.

Le tableau suivant représente les différents facteurs pouvant influencer la formulation, à savoir les ingrédients ainsi que les conditions du procédé.

**Tableau 4.5** : les ingrédients de fabrication du fromage fondu avec leur rôle.

<b>Ingrédients</b>	<b>Rôle</b>
<b>Cheddar</b>	Utilisé comme matière grasse, pour garantir la fabrication d'un fromage fondu de qualité.
<b>Beurre</b>	pour ajuster la teneur finale en cet ingrédient dans le produit et lui conférer des qualités organoleptiques.
<b>Poudre de lait</b>	Présente un intérêt particulier et apportent des constituants notamment protéiques.
<b>Sel de fonte KASOMEL2200</b>	Sont essentiellement les sels de sodium de l'acide phosphorique et l'acide citrique. Sont rôle est la stabilisation pendant le stockage.
<b>Nisine</b>	Conservateur.
<b>Sel</b>	Donne le goût salé au fromage fondu
<b>Préfonte</b>	Pour le crémage de la pâte, la préfonte transmet fortement des modifications de la structure au fromage.
<b>Amidon</b>	Donne la texture au fromage fondu, l'amélioration de l'esthétique des produits, et pour prolonger la durée de conservation.
<b>L'eau</b>	Permet de solubiliser les protéines et d'émulsionner par conséquent la matière grasse.
<b>La température</b>	
<b>La vitesse d'agitation</b>	

Parmi ces facteurs, on distingue :

**Les facteurs figés** : ce sont les facteurs auxquels on ne peut pas apporter des modifications, parmi lesquels on a :

l'eau : généralement c'est une qsp la quantité de fromage finale,

sels : leur modification risque d'altérer le goût du fromage,

nisine : on en met juste ce qu'il faut pour protéger contre les contaminations microbiennes,

la poudre de lait : .....

et les conditions du process : la température, la vitesse de l'agitation,...

### **Les facteurs retenus :**

-La concentration et le type de l'amidon pour voir leur impact sur la consistance du fromage ;

-ainsi que la quantité de la matière grasse en vue de la diminuer pour obtenir un fromage le moins gras possible tout en respectant les normes. La composition en matière grasse est conditionnée par les deux ingrédients cheddar et le beurre. Malheureusement, on ne pouvait pas maîtriser ces deux ingrédients séparément à cause des contraintes posées par l'entreprise. A savoir que l'apport de l'un et de l'autre sur la consistance et la qualité du produit final est différent, ce qui nous a obligé à ignorer l'effet du rapport cheddar/ beurre. Au fait, ce dernier représente un facteur bruit.

### **Les facteurs bruits :**

- Le rapport cheddar / beurre,

- et la préfonte : la préfonte représente les restes des fromages non conforme que l'entreprise nous obligeait à en mettre dans notre formule. La qualité de cette préfonte n'est pas toujours la même et donc son impact sur les propriétés du produit final est considérable.

Malgré ces facteurs bruits qui nous ont été imposés, on a comme même poursuivi notre démarche et réalisé notre plan d'expériences.

### **Définition des facteurs :**

- $X_1$  : est un facteur qualitatif, il correspond au type d'amidon. Le type 1 est l'amidon modifié, le type 2 est l'amidon de maïs non modifié.
- $X_2$  : correspond à la concentration de l'amidon de maïs variant dans le domaine [1% - 3%].
- $X_3$  : correspond à la concentration de la MG comprise entre [10% - 20%].

Le tableau 4.6 présente la matrice expérimentale de type D-optimal proposée par le logiciel Modde6, contenant les essais expérimentaux à réaliser afin de pouvoir modéliser par la suite. Cette matrice comporte 16 essais plus trois répétitions au centre pour le calcul statistique des erreurs.

**Tableau 4.6:** Matrice du plan d'expériences (fromage fondu)

N° de l'essai	Type de l'amidon	C <sub>amidon</sub> (%)	MG (%)
1	01,00	01,00	10,00
2	01,00	03,00	10,00
3	01,00	01,00	20,00
4	01,00	03,00	20,00
5	01,00	01,00	13,33
6	01,00	03,00	13,33
7	01,00	01,66	10,00
8	01,00	02,33	20,00
9	02,00	01,00	10,00
10	02,00	03,00	10,00
11	02,00	01,00	20,00
12	02,00	03,00	20,00
13	02,00	01,00	16,66
14	02,00	03,00	16,66
15	02,00	02,33	10,00
16	02,00	01,66	20,00
17	02,00	02,00	15,00
18	02,00	02,00	15,00
19	02,00	02,00	15,00

#### 4-2-2-2-Caractérisation de l'amidon natif et modifié

Au cours de cette étape de notre étude, nous avons utilisé l'amidon de maïs natif et modifié. La modification de l'amidon a été réalisée en parallèle dans un projet faisant objectif des axes de recherche de l'équipe du laboratoire (ref magister de Hamidi) La caractérisation s'est limitée à la détermination de certains paramètres, à savoir :

##### **a. Viscosités :**

Les dispersions d'amidon de maïs (4%) (Natif et Modifié) dans de l'eau ont été chauffées dans un bain d'eau bouillante pendant 30 min. Après refroidissement à la température

ambiante pendant 24 h, la viscosité de l'amidon a été déterminée par (AND VibroViscosimeter SV10).

**b. Observations par microscope optique :**

La microscopie optique a été utilisée pour caractériser les amidons natifs et modifié à l'égard de l'apparence, la forme et la taille des granules.

Pour examen au microscope optique, 0.5% d'amidon en suspension dans de l'eau distillée a été préparée juste avant la mesure.

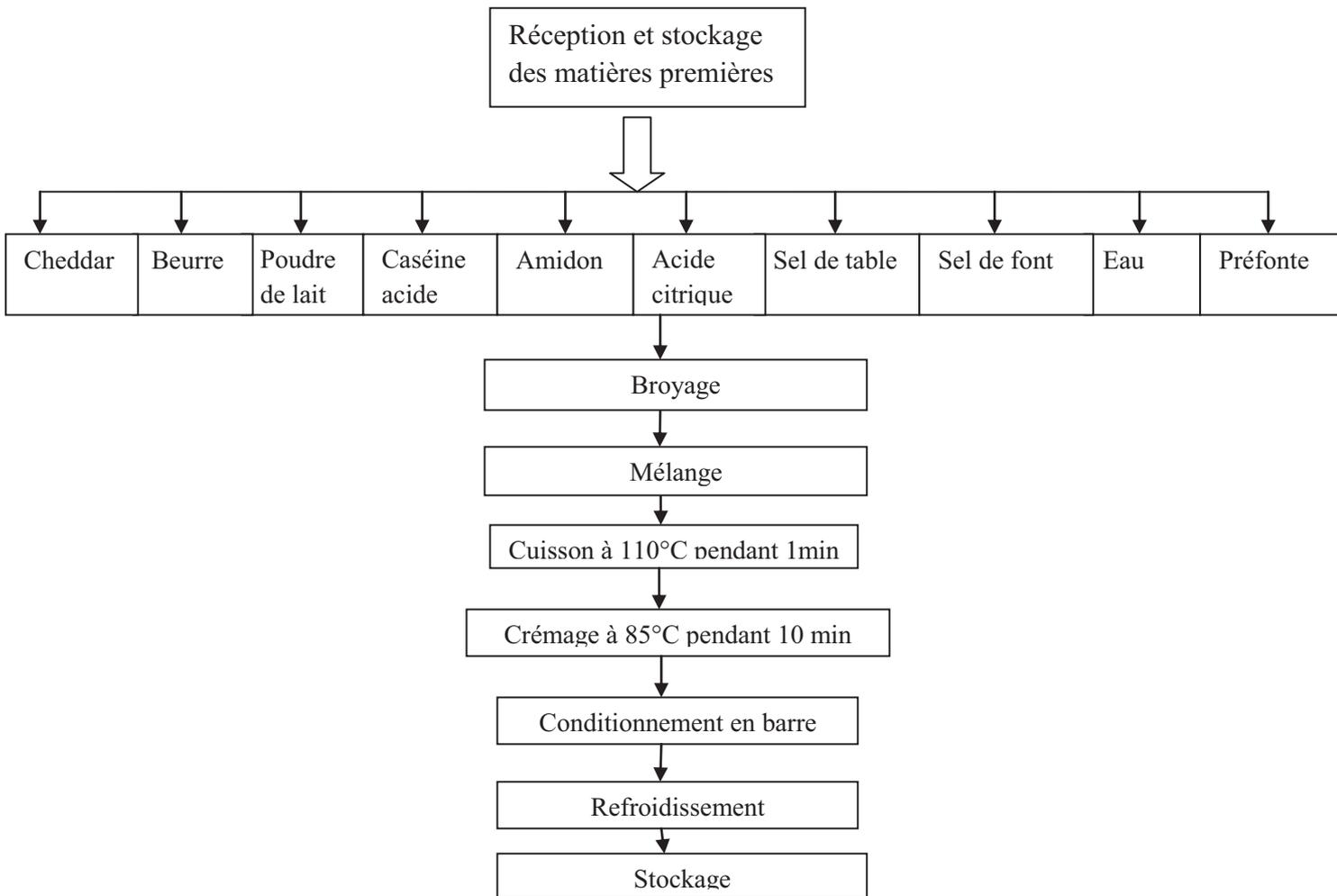
Les amidons de maïs (natif et modifiée) ont été colorés 15 min à 25 ° C par mise en suspension ~ 10,0 mg d'amidon dans 1,0 ml d'iode et une solution d'iodure de potassium (0,313 g d'iode et 7,5 g d'iodure de potassium dans 500 ml de glycérol à 50%).

Un microscope optique a été utilisé pour examiner la morphologie et la distribution de taille des granules d'amidon de maïs. Le grossissement est de 400 × et de 1000 ×, i.e (40 × 10) et (100 × 10).

4-2-2-3-Préparation du fromage fondu à l'amidon :

La préparation de la nouvelle recette du fromage fondu à l'amidon (modifié et non modifié) est faite dans un cuiseur électrique de type Stephan « SIMATIC PANEL » à température réglable de 110°C. 19 barres de 100 g de fromage fondu ont été préparées.

La figure ci-dessous illustre le diagramme de fabrication de notre produit :



**Figure 4.3:** Diagramme de fabrication d'un fromage fondu au amidon .

#### 4-2-2-4-Analyses physico-chimiques

##### **a. Mesure du pH (AFNOR, 1986)**

Les mesures du pH ont été réalisées avec un pH-mètre (JENWAY 3510) en introduisant directement la sonde dans un échantillon de la pâte de fromage à un température de 20 à 25 °C.

### **b. Détermination de l'extrait sec total « EST »**

L'extrait sec est la proportion de matière sèche entre dans la composition des aliments et qui subissent après une dessiccation totale à l'étuve (103 pendant plusieurs heures). Sert à définir légalement différents types de fromage.

#### ❖ Principe

Il repose sur l'évaporation de l'eau contenue dans l'échantillon à analyser sous l'effet d'une source de chaleur durant le processus d'incinération.

#### ❖ Mode opératoire

Dans une capsule d'aluminium séchée et tarée, on pèse  $3g \pm 0,2g$  de produit à analyser, après étalement sur toute la surface de la capsule, celle-ci est placée dans l'étuve à  $103^{\circ}C$  pendant 5h. Nous avons effectué au moins deux mesures sur le même échantillon.

#### ❖ Expression des résultats :

La teneur en extrait sec est donnée par la relation suivante :

$$ES \text{ en } \% = \frac{(m_2 - m_0) \times 10}{(m_1 - m_0)} \dots\dots\dots 9$$

$m_0$  : masse de la coupelle d'aluminium

$m_1$  : masse de la coupelle d'aluminium + produit

$m_2$  : masse de la coupelle d'aluminium + produit sèche.

### **c. Détermination de la matière grasse « MG » (NF 04-287,2002)**

La MG proprement dite, ou lipides neutres, constituée de la glycérine ou acylglycérols est très prédominante de l'ordre de 98%, elle est solide à la température ambiante.

#### ❖ Principe

Le principe est basé sur la dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique, la séparation de la matière grasse dans butyromètre se fait par la centrifugation, la séparation étant favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool amylique. L'obtention de la teneur en matière grasse se fait par lecture directe sur l'échelle du butyromètre.

❖ Mode opératoire

Nous avons introduit 10 ml d'acide sulfurique dans le butyromètre auquel 3g de produit à analyser sont ajoutés, par la suite, on agite le butyromètre avec précaution. Puis mettre le butyromètre dans un bain marie pendant 45 min. Nous avons ajouté l'acide sulfurique jusqu'à atteindre 40% du butyromètre et 1 ml d'alcool iso-amylique. Remettre dans le bain marie pendant 5 min après une bonne agitation. Puis centrifuger 10 min. Remettre dans le bain marie pendant 5 min et faire la lecture.

❖ Expression des résultats :

On fait la lecture rapidement, le résultat est exprimé en pourcentage massique.

$$\text{MG \%} = (A-B) \times 100 \dots\dots\dots 10$$

MG : matière grasse.

A : la valeur de MG lue sur l'extrémité supérieur de butyromètre.

B : la valeur de MG lue sur l'extrémité inférieur de butyromètre.

**d. Détermination de l'humidité « H » :**

La teneur en eau, appelée aussi taux d'humidité exprime le pourcentage d'eau en masse dans produit, elle est déterminée par l'équation suivante :

$$\text{H\%} = 100 - \text{EST \%} \dots\dots\dots 11$$

4-2-2-5-Etude rhéologique

La mesure des propriétés rhéologiques des produits alimentaires permet de prévoir leur comportement mécanique au cours des différentes étapes de l'élaboration de l'aliment, comme par exemple la fabrication du chocolat. Les propriétés rhéologiques sont également à l'origine des comportements perçus lors de l'évaluation sensorielle de la texture.

Le rhéomètre utilisé à cet effet est un «Anton Paar MCR 302 », muni d'un logiciel pour le traitement des résultats. L'objectif de ce test est de caractériser le comportement rhéologique des fluides, lorsqu'elles sont soumises sous écoulement variable. Pour cela, on a fait varié la vitesse de cisaillement de  $10^{-3}$  à  $10^3 \text{ s}^{-1}$ .

#### 4-2-2-6-Les analyses microbiologiques

##### ➤ **Coliformes totaux et Coliformes fécaux**

Les coliformes totaux et fécaux sont recherchés et dénombrés afin de déterminer une contamination d'origine fécale. Les Coliformes sont des bacilles à gram<sup>-</sup>, non sporulés, oxydase négative, aérobies ou anaérobies facultatifs, qui se multiplient en présence de sels biliaries, fermentent le lactose avec production d'acides et de gaz à une température de 35 à 37 °C. Parmi les coliformes ayant la même propriété à 44 °C celui de Escherichia coli qui produit de l'indole à 44 °C.

##### ➤ **Les Staphylococcus**

Les Staphylococcus sont des coques Gram positif (G<sup>+</sup>) regroupés en amas, immobiles, anaérobies, facultatifs, non sporulés catalase positif capable de fermenter le glucose.

Les méthodes de recherche des coliformes et des staphylococcus ont été détaillées dans le chapitre précédent.

##### ➤ **Dénombrement des spores anaérobies gazogènes (SAG) par la technique du nombre le plus probable NPP**

###### ➤ Principe

Ensemencement de 3 tubes par dilution décimale, ceci pour 3 dilutions décimales successives, d'un milieu semi-solide non sélectif RCM (Reinforced Clostridial Medium) de Hirsch et Grinsted, ajout d'un bouchon d'agar pour obtenir les conditions d'anaérobiose.

Mise en évidence de la production de gaz et obtention d'un coefficient NPP par calcul du nombre de tubes positifs et comparaison avec la table NPP. Les résultats sont exprimés en nombre des spores anaérobies gazogènes par gramme du produit.

#### **Mode opératoire / méthode de dénombrement**

##### **\* Epreuve thermique**

Réaliser une épreuve thermique à 80°C pendant 10 minutes effectives.

##### **\* Ensemencement et incubation des milieux**

Trois tubes par dilution et 3 dilutions successives

- Transférer 1 ml de la dilution primaire dans 3 tubes de milieu désaéré, faire de même avec les 2 dilutions suivantes ;

- Mélanger soigneusement l'inoculum et le milieu sans introduire d'air ;
- Refroidir rapidement jusqu'à semi-solidification ;
- Ajouter un bouchon de 3 ml de la solution d'agar maintenue à  $46 \pm 1^\circ\text{C}$  (environ 1,5 cm)
- Refroidir de nouveau jusqu'à solidification du bouchon d'agar ;
- Incuber les tubes à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 5 jours ( $120 \text{ h} \pm 4 \text{ h}$ ).

**\* Lectures des tubes et expression des résultats**

- Noter comme positif les tubes présentant une production de gaz (soulèvement du bouchon, décollement de la paroi des tubes, fissures de la gélose...);
- Calculer le nombre de tubes positifs par dilution et utiliser ce nombre pour lire le coefficient sur la table NPP ;
- Seuls, les coefficients appartenant aux catégories 1 et 2 sont acceptables ;
- Exprimer le résultat en nombre de spores par gramme de produit en tenant compte du facteur de la 1ère dilution.

4-2-2-7- Les Analyses sensorielles

Les caractéristiques sensorielles d'un aliment sont des critères importants de l'acceptabilité de l'aliment par le consommateur (**Eck et Gillis, 1997**).

La dégustation, consiste à percevoir, analyser, et juger les caractères organoleptiques.

➤ **Test hédonique**

Nous avons fait les analyses de la qualité sensorielle de produit fini (Fromage fondu) par la réalisation d'un test de dégustation qui cherche à priser les préférences ou les rejets entraînés par propriétés organoleptiques, caractérisé par l'expression (évaluation hédonique).

Les produits ont été dégustés par des consommateurs en nombre de 10 personnes, qui sont des adultes de la Wilaya de Blida.

Le barème de dégustation est de 1 à 4 respectivement, très bon, bon, passable, médiocre, les notes sont distribuées selon l'importance et l'intensité des différents caractères : le goût, la couleur, la texture, et l'odeur suivant la fiche de dégustation qui est présentée en annexe.

## **Chapitre 5: RESULTATS ET DISCUSSION**

### 5-1-Margarine

#### 5-1-1-Caractérisation physico-chimique de l'huile d'olive

Les résultats des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive, obtenues lors de nos expériences sont récapitulés dans le tableau (5.1).

**Tableau 5.1:** Résultats des caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive.

<b>Caractérisation physico-chimique</b>	<b>Valeurs</b>	<b>Norme internationales COI</b>
<b>Acidité libre (%)</b>	1.88	$\leq 2$
<b>Indice de saponification</b>	189.34	184-196
<b>Indice de réfraction 20°C</b>	1.4671	1.4677-1.4705
<b>Indice de peroxyde</b>	11.40	$\leq 20$

- **Acidité**

Les résultats montrent que le pourcentage d'acidité de l'huile d'olive étudiée est de 1.88. Cette valeur reste dans les limites établies par le conseil oléicole international [117], et permet de classer l'huile d'olive objet de notre étude dans la catégorie des huiles d'olive vierge.

L'acidité rend compte de l'altération hydrolytique et concerne principalement la matière première. Elle se développe avec des fruits blessés à la suite de mauvaises conditions de stockage des olives, éventuellement avec des huiles mal préparées [118].

**Martinez (1973)** [119] a montré que les olives à un stade avancé de maturation, donnent des huiles à des niveaux plus élevés de l'acidité libre car elles subissent une augmentation de l'activité enzymatique, en particulier par les enzymes lipolytiques présentes naturellement dans les fruits d'olive.

L'augmentation de l'acidité durant la maturation résulte d'une part de l'hydrolyse des triglycérides provoquée par l'action des enzymes libérées lors de la maturation des fruits et d'autre part de la biosynthèse des acides organiques [120, 121].

- **Indice de saponification**

La détermination de l'indice de saponification est importante car il permet de caractériser le poids moléculaire et la longueur moyenne des chaînes grasses auxquelles il est inversement proportionnel (plus le poids moléculaire PM de la longueur moyenne d'acides gras est élevée, plus l'indice saponification est faible) [122].

Le résultat propre à l'indice de saponification de l'huile d'olive est de 189.34. Cette valeur est située dans l'intervalle de la norme du codex alimentaire (1989) qui fixe entre 184 et 196 pour l'huile d'olive vierge.

- **Indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde constitue l'un des critères de qualité de l'huile d'olive. Il détermine les hydroperoxydes et constitue un moyen direct pour la mesure de l'autooxydation lipidique [54].

L'huile analysée montre un indice de peroxyde de 11,4 meq O<sub>2</sub>/Kg. La valeur atteinte est inférieure à la norme commerciale du COI, (2003) (20 meq O<sub>2</sub>/Kg) des huiles d'olives De catégorie extra-vierge.

- **Indice de réfraction**

La valeur de l'indice de réfraction détermine le degré d'insaturations des acides gras entrant dans la composition des matières grasses. L'indice de réfraction mesuré pour l'échantillon de l'huile d'olive étudiée est de 1.4671. Ce résultat est confirmé à la norme internationale [123].

D'après **Torres et Maestri (2006)** [124], les méthodes d'extraction, l'origine géographique et les facteurs climatiques influencent les caractéristiques chimiques des huiles. En revanche,

**Kiritsakis (1998)** [125], estiment que le lieu de culture n'a aucune influence significative sur ces

paramètres analytiques (acidité, indice de peroxyde...) qui sont fondamentalement affectés par des facteurs endommageant les fruits tels que l'attaque par les parasites (mouches) ou

l'emploi de systèmes impropres pour la récolte ainsi que le transport et le stockage des olives.

Il a été montré que les valeurs des paramètres analytiques augmentaient de 9 à 12% après 6 mois et de 18 à 23% après 12 mois de stockage des échantillons d'huiles d'olive vierges [126].

- **La composition en acides gras de l'huile d'olive**

**Tableau 5.2** : la composition en acide gras d'huile d'olive exprimée en pourcentage

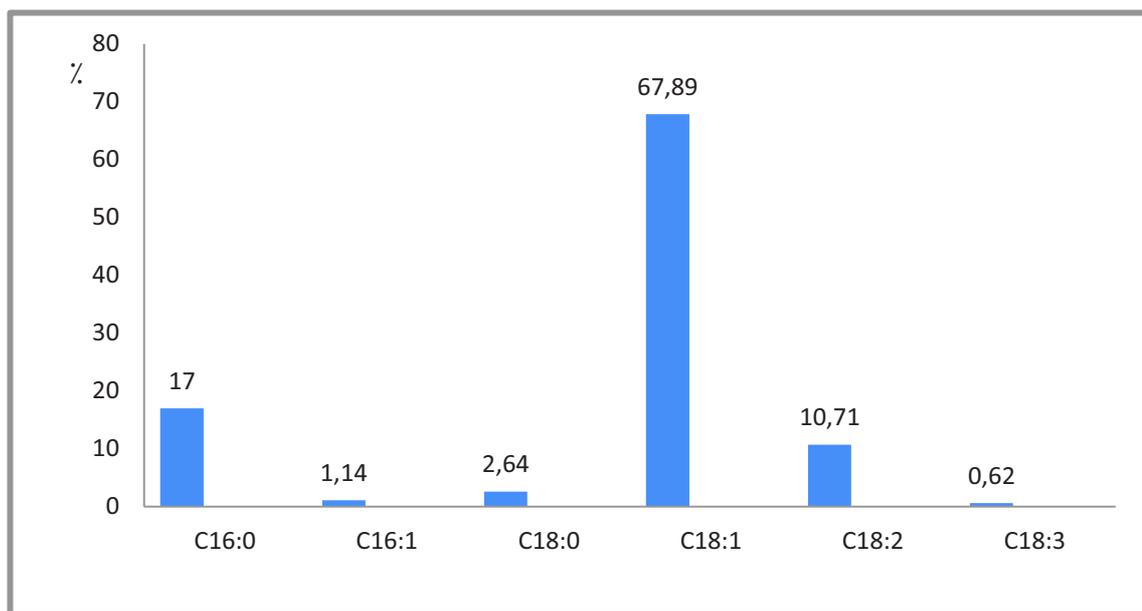
Acides gras	%
Acide palmitique (C16 :0)	17
Acide palmitolique (C16 :1)	1,14
Acide stéarique (C18 :0)	2,64
Acide oléique (C18 :1)	67,89
Acide linoléique (C18 :2)	10,71
Acide linoléique (C18 :3)	0,62

Les résultats montrent que l'acide gras majoritaire est l'acide oléique (67,89 %), suivi de l'acide palmitique (17 %) et de l'acide linoléique (10,71 %). Les résultats de cette intégration sont présentés dans le (tableau 5.2) et illustrés dans la figure (5.1)

Les acides gras majoritaires sont l'acide oléique, palmitique, linoléique et stéarique comme repérés sur la (figure 5.1). Un bon rapport entre acide oléique et acide linoléique a également été trouvé (rapport recommandé supérieur à 7), or ce rapport a déjà été corrélé à une longue durée de vie de l'huile d'olive [127].

La composition en acides gras est un autre aspect essentiel de l'évaluation qualitative des huiles d'olive. En effet, ce paramètre revêt une grande importance pour le classement de l'huile d'olive et par conséquent pour sa commercialisation, c'est également l'un des moyens utilisés pour s'assurer de l'adultération de l'huile d'olive et de détecter s'il y a lieu, les fraudes des huiles commercialisées [127].

La teneur en acides gras de l'huile d'olive varie en fonction de la zone de production, l'altitude, le climat, la variété et le stade de maturation du fruit [128, 129].



**Figure 5.1 : Composition en acide gras de l'huile d'olive**

#### 5-1-1-1-Analyse de la fraction insaponifiable

**Tableau 5.3 : Analyse des composés de la fraction insaponifiable (CPG-FID / CPG-SM)**

Composants	Stérols				Stérol méthylé	Alcools triterpénique	
	$\beta$ sitostérol	$\Delta 5$ avenastérol	compestérol	stigmastérol	citrostadienol	cycloartenol	24 méthylène cycloartanol
%	64,8	12,4	1,8	0,4	5,3	4,2	10,5

Le tableau (5.3) présente la composition en pourcentage des différents composants de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive étudié.

La chromatographie a identifié sept composants:

- stérols :  $\beta$  sitostérol, delta 5 avenastérol, campesterol et stigmastérol ;
- alcools triterpéniques : 24-méthylène cycloartanol et cycloartenol ;
- 4-méthyle stérol : citrostadienol.

Les résultats montrent que le  $\beta$  sitostérol est le stérol dominant (64,8%) suivi par le delta 5 avenastérol (12,4%) et enfin le campestérol (1,8%) et le stigmastérol (0,4%) en plus faible quantité. On remarque également la présence du stérol méthylé (le citrostadiénol) avec une teneur de 5,3%. Deux alcools triterpéniques, le 24-méthylène cycloartanol (10,9%) et le cycloartenol (4,2%).

Les résultats obtenus des stérols sont comparables aux normes du Conseil Oléicole International applicables aux huiles d'olive (COI, 2006).

Les normes signalés par le COI sont : le cholestérol ( $\leq 0,5\%$ ), le brassicastérol ( $\leq 0,1\%$ ), le campestérol ( $\leq 4\%$ ), le stigmastérol ( $<$  campestérol pour les huiles comestibles) et le  $\Delta 7$ -stigmastérol ( $\leq 0,5\%$ ).

La somme [ $\beta$  sitostérol +  $\Delta 5$ -avenastérol +  $\Delta 5,23$ -stigmastadiénol + clérostérol + sitostanol +  $\Delta 5,24$  stigmastadiénol] doit être égale ou supérieure à 93 % des stérols totaux.

Dans notre huile on a détecté quatre stérols, la somme de sitostérol et  $\Delta 5$ -avenastérol est de 77,2 %, cette teneur est inférieure par rapport au norme du COI (non conforme) ; alors que les quantités de campestérol (taux compris entre 1 et 2 %) et de stigmastérol (inférieur au campestérol) sont en conformité avec les caractéristiques normatives des huiles d'olive.

Ces résultats sont très proche a celles démontré par **Mezghache et al., 2010 ; Rivera Del Alamo et al., 2004 ; Ben Temime et al., 2008 ; Pardo et al., 2007** [130, 131, 132, 133].

Les stérols végétaux appelés phytostérols occupent la plus grande partie de la matière insaponifiable des huiles constituants non glycéridique, ils représentent en poids environ 50% de l'insaponifiable.

Le patrimoine en phytostérols de l'huile d'olive est singulier .En effet, c'est la seule huile qui contient un taux particulièrement élevé de  $\beta$ -sitostérol, substance qui s'oppose à l'absorption intestinale du cholestérol [134].

La composition stérolique peut varier avec les conditions agronomiques et l'état de conservation de l'huile [135].

### 5-1-2-Caractérisation physico-chimique de la margarine

Une caractérisation physicochimique est effectué sur les différentes formules de margarine afin de garantir une qualité satisfaisante et d'optimiser les résultats.

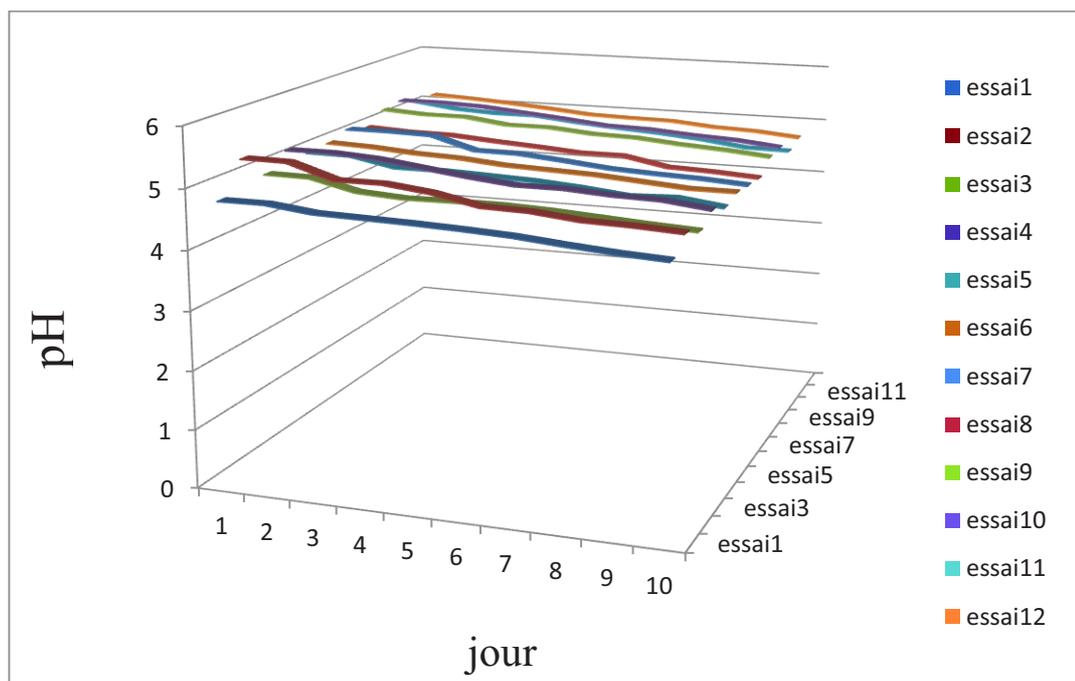
- **Potentiel hydrogène (pH):**

D'après **Karleskind et Wolff (1992)** [28], il est préférable de contrôler le pH de la phase

Aqueuse. Les résultats d'analyse de la variation du pH montrent une gamme de pH pour toutes les formulations entre 5,3 à 4,4, on remarque donc qu'il n'y a pas de changement significatif du pH pour les douze formulations. À partir de ces valeurs observées, le pH augmenté avec l'augmentation de la teneur en phase huileuse (huile) néanmoins la valeur du pH ne varie pas énormément au fil du temps.

Les courbes obtenues (figure 5.2) présentent un profil de variation homogène ainsi qu'un écart très étroit ceci témoigne de la bonne stabilité.

Une valeur basse de pH freine la croissance des microorganismes. En général on fixe le pH entre 4,0 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 peut pas plaire aux consommateurs.

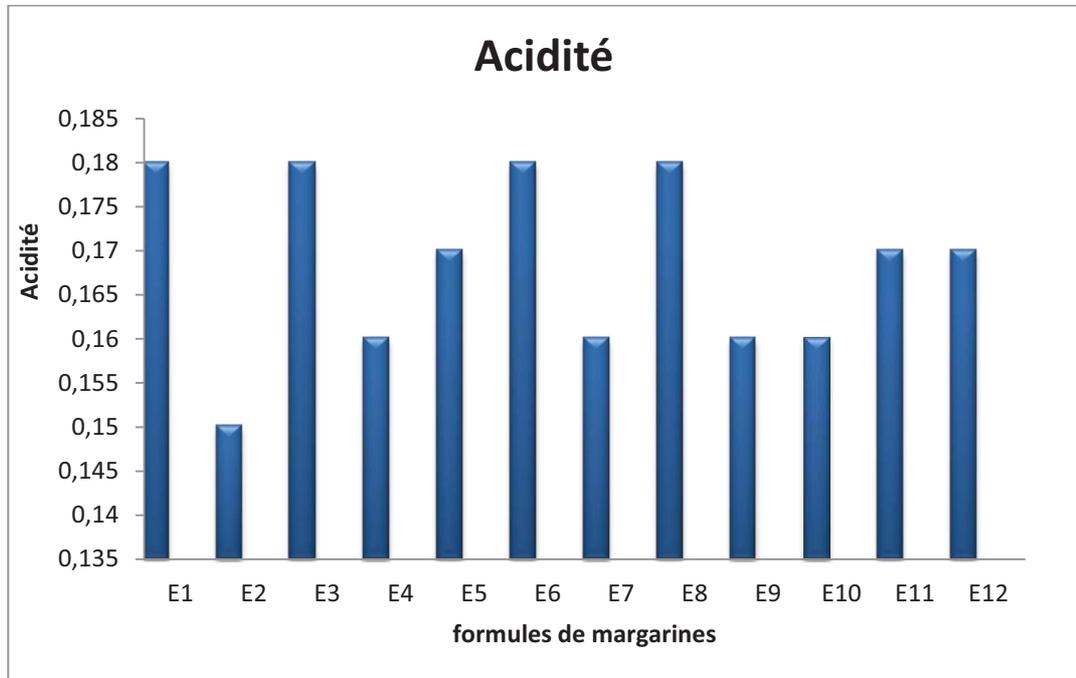


**Figure 5.2: courbes de variation de pH en fonction des temps**

- **Acidité :**

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, ou laurique pour les graisses lauriques (coprah, palmiste) [28].

Les résultats représentés dans la figure (5.3) montrent une acidité entre 0,15 et 0,18% des douze formulations, ces résultats sont dans les normes car ils sont inférieurs à 0,2 % [28].



**Figure 5.3: histogramme de l'acidité des formules**

- **Point de fusion :**

Le point de fusion des corps gras alimentaire est une propriété d'une grande importance sur le plan pratique, puisque c'est lui qui détermine leur consistance à une température donnée [136].

Le point de fusion des corps gras dépend du mélange des triacylglycérols qu'ils contiennent [137].

Les douze formulations représentent des points de fusion entre 36°C et 40°C (tableau 5.4). On remarque que l'essai N4 possède le point de fusion le moins élevé est la quantité d'eau la plus élevée.

Selon **Dupin et Cuq (1992)** [137] le point de fusion ne doit pas être supérieur à 43 °C pour une graisse à caractère alimentaire car elle serait mal digérée.

**Zhang et al. (2005)** [138] expliquent que l'estimation du point de fusion donne une idée sur le comportement rhéologique et n'est pas fonction de la cristallinité, car celle-ci peut

être influencée par les additifs. Il est toutefois fortement dépendant de la composition du corps gras en acides gras et triglycérides.

Etant un pays chaud, Le point de fusion de la margarine doit être fixé de manière à ce qu'elle soit fondante dans la bouche mais aussi plastique à température ambiante pour supporter le travail mécanique lors de la tartinabilité.

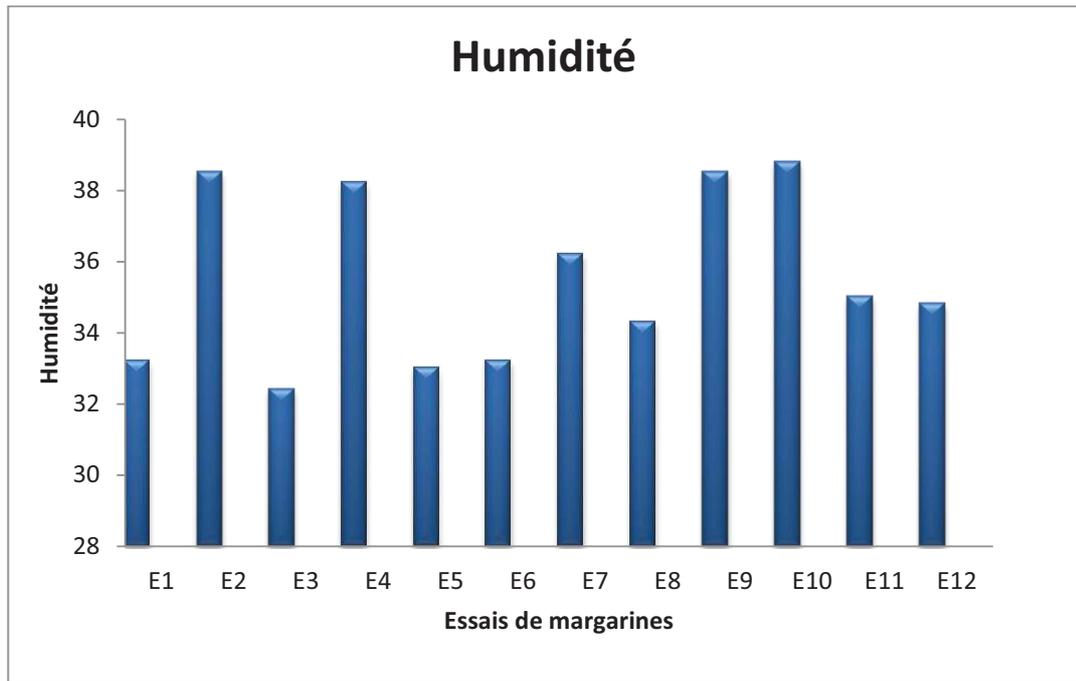
**Tableau 5.4** : Résultat de point de fusion des formules

<b>Formules</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>	<b>E3</b>	<b>E4</b>	<b>E5</b>	<b>E6</b>	<b>E7</b>	<b>E8</b>	<b>E9</b>	<b>E10</b>	<b>E11</b>	<b>E12</b>
<b>Point de fusion</b>	<b>38</b>	<b>39</b>	<b>40</b>	<b>36</b>	<b>39</b>	<b>40</b>	<b>38</b>	<b>37</b>	<b>39</b>	<b>38</b>	<b>38</b>	<b>37</b>

- **Humidité :**

La teneur en eau (ou humidité ou titre en eau) est la quantité d'eau perdue par l'aliment lorsqu'on le place en équilibre avec une pression de vapeur d'eau nulle. On exprime la mesure en g d'eau pour 100 g d'aliment sec [139].

Les résultats sont compatibles avec la formulation initiale des douze margarines qui contiennent entre 32% et 38% de phase aqueuse, dont l'eau et les composés hydrosolubles. Cependant les essais 2, 4, 9 et 10 sont les plus riches en eau (figure 5.4).



**Figure 5.4: histogramme de taux d'humidité des formules**

### 5-1-3-Composition en acides gras

Le tableau (5.5) montré les teneurs en acides gras de la margarine formulée.

La margarine présente un niveau plus élevé en acide gras saturé (53,24%) dans la quelle la plus abondant sont l'acide stéarique (12,590%) et l'acide palmitique (10,44%).

L'acide palmitique provient généralement de l'huile de palme entrant dans la recette de notre margarine.

Les acides gras insaturés sont de 46,73% représenté par deux acides gras monoinsaturés qui sont l'acide oléique (39,730%) et l'acide palmitoleique (0,678%) et un acide gras polyinsaturé : Acide  $\alpha$ -linoléique (oméga 3) (6,325%).

L'acide oléique s'avère l'acide gras prédominant dans notre margarine (39,730%), des récentes études ont démontré que les régimes alimentaires riche en acide oléique sont associés à une diminution de LDL-Cholestérol dans le plasma sanguin et peuvent réduire donc, l'incidence des maladies cardiovasculaires [141]. L'acide oléique résiste mieux à l'oxydation lors de stockage à température ambiante et aux températures élevées de cuisson [142].

Aucun acides gras trans (AGT) a été détectés dans l'échantillon.

La présence de l'acide caproïque, acide caprylique, acide caprique, acide laurique et l'acide myristique a des teneurs de 0,878%, 7,87%, 7,35%, 9,06% et 5,055% respectivement proviennent des huiles de noix de coco et de palme qui sont présente dans notre recette.

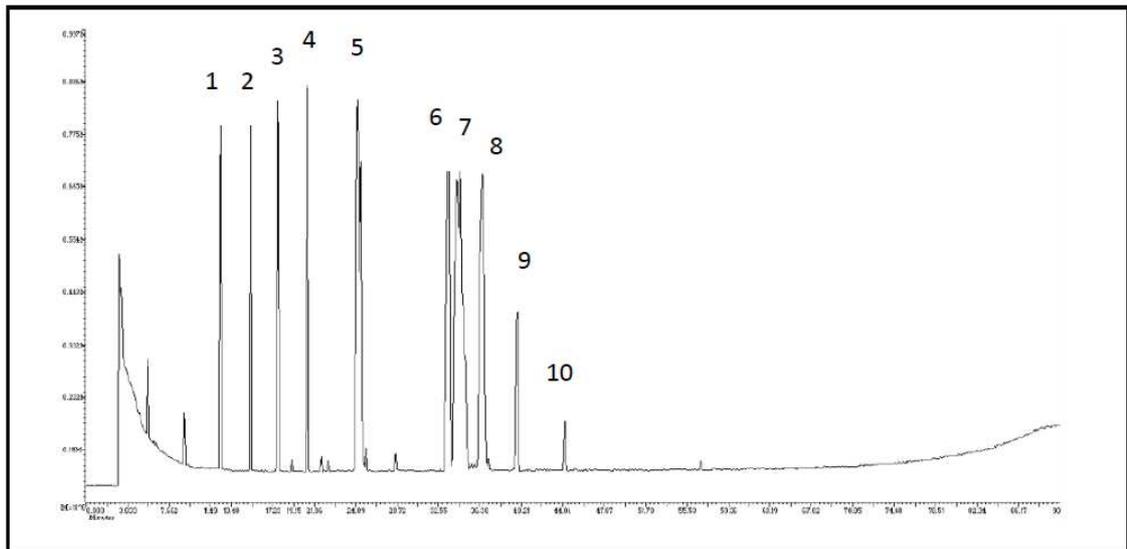
Il faut noter que l'acide caproïque n'est présent que dans l'huile de coco [140].

L'huile de soja et l'huile de palme renferment des teneurs importantes en acides oléique, acide stéarique et une teneur moins en acide linoléique.

Nos résultats sont très proches de celle présentée par **Kandhro *et al*** (2008) [143] qu'ont étudiés la composition en AG et en AGT par GC/MS de 10 margarines du Pakistan.

**Tableau 5.5:** les acides gras de margarine

Formule d'AG		Nom commun	Teneur en %en agt
1	C6 :0	Acide caproïque	0,878
2	C8 :0	Acide caprylique	7,87
3	C10 :0	Acide caprique	7,35
4	C12 :0	Acide laurique	9,06
5	C14 :0	Acide myristique	5,055
6	C16 :0	Acide palmitique	10,44
7	C16 :1	Acide palmitoleique	0,678
8	C18 :0	Acide stéarique	12,590
9	C18 :1	Acide oléique	39,730
10	C18 :3	Acide $\alpha$ -linoléique	6,325



**Figure 5.5 : chromatogramme des acides gras de la margarine**

#### 5-1-4-Teste rhéologique

Certains paramètres qualitatifs importants de la margarine, telles que la consistance ou l'étalement, sont étroitement associées à ses propriétés d'écoulement.

Une connaissance Parfaite des propriétés d'écoulement nous permet de choisir la technologie optimale et de préserver la qualité des produits stables [144].

L'analyse rhéologique a été traitée expérimentalement selon deux types d'expériences : une analyse de la viscoélasticité en régime linéaire et une analyse sous écoulement en dehors du régime linéaire.

Aussi, le test de la viscoélasticité nous renseigne sur l'état structural de l'échantillon en évaluant notamment sa rigidité.

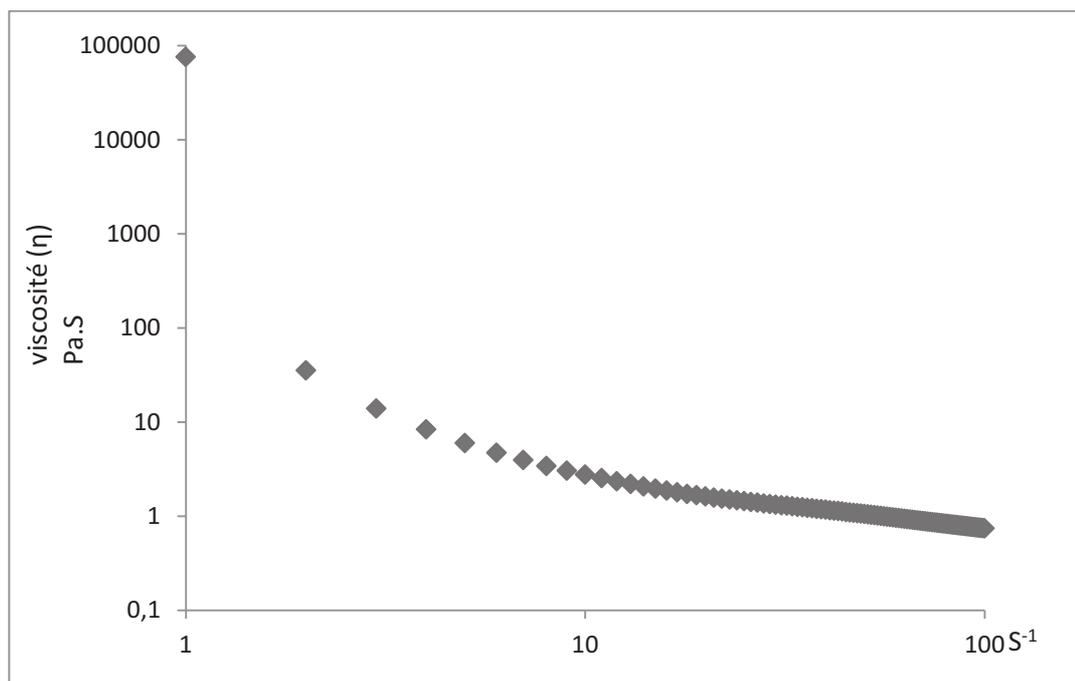
Pour ce qui est des expériences sous écoulement, hors régime linéaire, les déformations sont trop fortes pour que le système puisse conserver sa structure microscopique initiale. Le cisaillement provoque des phénomènes de rupture des liens physiques dont les cinétiques gouvernent l'évolution de la structure globale du système. Ce test est nécessaire pour faire ressortir des informations concernant la viscosité et sa variation au cisaillement.

- **Courbe d'écoulement**

La courbe d'écoulement (figure 5.6) montre que la viscosité diminue en fonction de taux de cisaillement de 76500 vers 35,6 et jusqu'à 0,74 (Formule N11) avec un taux de cisaillement maximal.

Ce la indique que la margarine étudié est un fluides pseudo-plastiques au la viscosité diminue quand la contrainte de cisaillement croît. Ce phénomène s'explique par des modifications de la structure du fluide entre les états de repos et d'écoulement. Au repos, l'ordre interne irrégulier de ces fluides provoque une résistance interne importante ce qui implique une viscosité élevée. À la suite de l'augmentation de la contrainte de cisaillement, les particules en suspension se positionnent dans le sens de l'écoulement, d'où un meilleur glissement et donc une baisse de la viscosité.

Plusieurs études ont montré l'existence d'une forte corrélation négative entre la propagation et la viscosité des matériaux élastomères [145, 146].



**Figure 5.6: courbe d'écoulement de la margarine Formule N11**

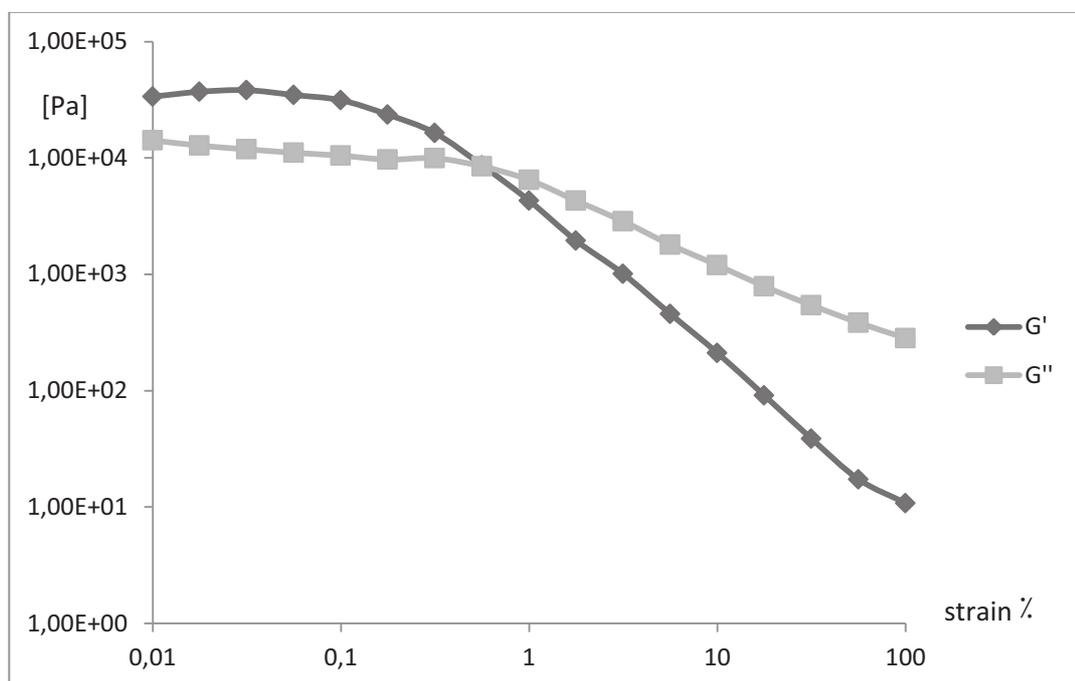
- **Viscoélasticité**

La courbe de viscoélasticité (figure 5.7) représente que la margarine a un comportement visqueuse ( $G'$  toujours supérieur à  $G''$ ) jusqu'à une certaine contrainte de cisaillement ou

le comportement est change et la margarine devient élastique ( $G''$  toujours supérieur a  $G'$ ).

Un fluide viscoélastique (comme la margarine) est un fluide qui possède à la fois des propriétés de viscosité et d'élasticité [32].

Il est possible d'expliquer qualitativement ce comportement en supposant que ce dernier présente au repos une structure tridimensionnelle rigide susceptible de résister à des contraintes inférieures à le seuil de plasticité ou la contrainte critique. Dès que l'on dépasse cette contrainte, la structure se détruit et le comportement du fluide devient newtonien [32].



**Figure 5.7: courbe de Viscoélasticité- Formule N11**

#### 5-1-5-Characterisation microbiologique

Les aliments peuvent être les vecteurs ou de véritables milieux de culture de microorganismes. Ils sont alors potentiellement capables de provoquer diverses affections chez le consommateur dont la gravité dépend d'abord de la nature et du nombre de microorganismes et/ou de la toxicité de leurs produits d'excrétion [147].

Le risque de contamination microbiologique de margarine vient principalement de la phase aqueuse. Cette phase est plus susceptible à la contamination microbienne que la phase d'huile [148].

Les bactéries, les levures et les moisissures peuvent détériorer la qualité de la margarine en libérant parmi, d'autres, les acides gras libres, les aldéhydes et cétones qui peuvent causer des odeurs désagréables [15].

Les cinq germes peuvent infecter la qualité de la margarine et sont régulièrement recherchés. Selon les données obtenues, coliformes fécales, streptocoques sulfato-réducteurs, S. aureus et Salmonella et les moisissures étaient absents ; les bactéries aérobies, les levures étaient moins que 10 CFU/g (tableau 5.6).

Ceci indique que la production de margarine a été réalisée dans des conditions contrôlées et donc leur qualité hygiénique est garantie par le respect prédéterminé des critères de qualité [148].

**Tableau 5.6:** Résultats des analyses microbiologiques

Formules Grmes	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	normes CFU/g
Germes AMT	8	6	7	10	5	10	10	10	6	8	8	10	10 <sup>2</sup>
Coliformes F	Abs	absence											
S Aureus	Abs	≤10											
C sulfatoréducteur	Abs	<10											
Levures	5	0	4	0	2	0	0	2	0	0	0	0	≤10
Moisissurs	Abs	absence											

#### 5-1-6-Characterisation sensorielle

Après avoir sélectionné pour chaque produit les termes de tartinabilité, texture, aspect, couleur et odeur que nous avons trouvé les plus pertinents et les plus appropriés à la description des produits. L'intensité de ces descripteurs ont été notés selon une échelle de notation structurée de 0 à 10.

Les analyses sensorielles visent à assurer la satisfaction du consommateur tout en minimisant les pertes pour le fabricant et le revendeur. L'analyse sensorielle (ou évaluation sensorielle) est un passage obligé pour les fabricants. Elle intervient de la conception à la consommation d'un produit alimentaire industriel [149].

La tartinabilité est l'attribut le plus important pour les margarines de table. Pour le consommateur, c'est la facilité avec laquelle la margarine peut être appliquée sur une couche mince et uniforme de pain [29].

Selon les résultats (tableau 5.7) les formules 6, 7, 9 et 12 sont les plus faciles à tartiner alors que celle n° 2 est la plus difficile.

L'évaluation de la texture est basée sur la consistance qu'est la mesure de la douceur, de la régularité et de l'état plastique de la margarine (elle peut se qualifier de très douce, douce, moyennement douce, ferme, dure et fragile) ; ainsi que sur la structure (varie de lisse à farineuse, granulaire et grumeleuse) [29].

L'uniformité et la texture de la margarine dépendent principalement du processus et des huiles utilisées dans sa fabrication [29].

Les formules 10 et 6 sont les plus lisses, et 2 et 3 présentent une structure farineuse.

La surface de margarine doit être jaune et présenter une certaine brillance, c'est le cas de la plus part des formules.

La margarine de table (tartiné) doit être fondante en bouche c'est-à-dire la facilité avec laquelle le produit fond en totalité dans la cavité buccale. L'essai n° 9 est la margarine qui fond la plus très vite en bouche.

**Tableau 5.7:**Résultats des analyse sensorielle (organoléptiques)

<b>Formules</b> <b>attributs</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>	<b>E3</b>	<b>E4</b>	<b>E5</b>	<b>E6</b>	<b>E7</b>	<b>E8</b>	<b>E9</b>	<b>E10</b>	<b>E11</b>	<b>E12</b>
<b>Tartinabilité</b>	8,57	6	6,14	8,57	7,14	9,28	9,42	8,57	9,42	8,71	8,71	9,57
<b>Doux</b>	8,14	4,14	4,42	7,42	6,71	8,57	6,28	8,85	9,28	6,85	8,57	7,57
<b>Cremeux</b>	7,57	4,71	4,71	6,28	7,71	8,57	6,85	7,57	7,71	7,85	7,57	8,28
<b>Aspect</b>	4,6	6,34	7,98	8,3	7,05	8	7,88	8,7	8,28	5,3	8,57	8,85
<b>Odeur</b>	5,45	6,8	7,98	8,44	6,7	8,78	8,57	9,22	7,85	6,9	8,4	8,57
<b>Coulour</b>	5	5,75	8,42	8,57	6,67	8,57	8,14	8,57	8,71	6,72	8,57	8,57
<b>Fondant</b>	3,42	3	3,14	4,57	5,71	6,42	7,85	8,14	9,42	7,42	7,14	7,42

#### 5-1-7-Modélisation en réponse de surface

Données d'information recueillie a été analysée par MODDE afin de trouver une relation entre les variables d'entrée  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ , qui représente la teneur de l'huile, l'émulsifiant (lécithine de soja), et l'eau, respectivement, et les variables de sortie, c'est à dire les réponses retenus (tableau 5.8) : tartinabilité, aspect, humidité, point de fusion et l'acidité.

Les modèles mathématiques obtenus peuvent donc être écrite comme suit:

$$\text{Tartinabilité} = 9,55837 - 0,0506019X_1 - 0,456223X_2 + 0,122373X_3 + 0,107862X_1X_2 + 0,26888X_1X_3 - 0,0450006X_2X_3 - 0,272428X_1^2 - 0,544777X_2^2 - 0,253486X_3^2$$

$$\text{Aspect} = 8,5399 - 0,113886X_1 + 0,553935X_2 + 0,0241988X_3 + 0,340381X_1X_2 + 0,342163X_1X_3 - 0,309129X_2X_3 - 0,414007X_1^2 - 0,247283X_2^2 - 0,226174X_3^2$$

$$\text{Humidité} = 35,1117 - 1,19795X_1 - 0,123005X_2 + 1,20015X_3 + 0,0246118X_1X_2 - 0,16479X_1X_3 - 0,0203776X_2X_3 + 0,136889X_1^2 - 0,0352703X_2^2 + 0,173714X_3^2$$

$$\text{Point de fusion} = 37,6254 + 0,211624X_1 + 0,370191X_2 - 0,267396X_3 - 0,0528906X_1X_2 - 0,364597X_1X_3 + 0,0902799X_2X_3 + 0,338454X_1^2 - 0,333646X_2^2 + 0,332523X_3^2$$

$$\text{Acidité} = 0,170262 + 0,00442033X_1 + 0,00103905X_2 - 0,00452148X_3 + 0,000697149X_1X_2 + 0,00074044X_1X_3 - 0,000676374X_2X_3 - 0,000882852X_1^2 - 0,000125698X_2^2 - 0,000486596X_3^2$$

où:

$X_1$  représente la teneur en huile,  $X_2$  représente la teneur en émulsifiant (lécithine de soja),  $X_3$  représente la teneur en eau.

#### 5-1-7-1-Optimisation de la formule

Selon l'objectif de notre étude, nous avons proposé de maximiser les deux premières réponses à savoir la tartinabilité et l'aspect et d'éliminer les autres réponses. La formulation optimale peut être obtenue en dérivation de l'équation de modèle pour trouver les valeurs de niveaux de facteur x.

Le résultat de l'optimisation donne la composition de la formule suivante: 56,87% d'huile, 1,06% d'émulsifiant (lécithine de soja), 34,57% d'eau, 2,5% de phytosterols, 2% additives liposolubles et 2% additives hydrosolubles (figure 5.8).

Cette formule a ainsi une tartinabilité de 9,42/ 10 et un aspect de 8,63 / 10 avec une point de fusion de 37,73.

**Tableau 5.8:** représentation des réponses retenues au niveau du plan d'expérience

Numéro d'essai	Tartinabilité	Aspect	Humidité	Point de fusion	Acidité
1	8,57	4,6	33,2	38	0,18
2	6	6,34	38,5	39	0,15
3	6,14	7,98	32,4	40	0,18
4	8,57	8,3	38,2	36	0,16
5	7,14	7,05	33	39	0,17
6	9,28	8	33,2	40	0,18
7	9,42	7,88	36,2	38	0,16
8	8,57	8,7	34,4	37	0,18
9	9,42	8,28	38,5	39	0,16
10	8,71	5,3	38,8	38	0,16
11	8,71	8,34	35	38	0,17
12	9,57	8,85	34,8	37	0,17



**Figure 5.8 : La formule optimale de la margarine enrichie en phytostérols**

## 5-2-Fromage fondu

Les fromages ont la capacité de satisfaire une large diversité de demandes nutritionnelles et sensorielles et d'usages divers. Des modulations de formulation par ajout d'ingrédients, d'additif ou d'auxiliaires jusqu'à des variations de procédés, de nombreuses techniques sont apparues pour répondre plus en plus aux besoins nutritionnelles et sensorielles ainsi qu'aux contraintes économiques.

### 5-2-1-Caractérisation de l'amidon natif et modifié

- **viscosité de la pâte :**

Les viscosités de l'amidon avant et après modification ont été déterminées et sont représentées sur le tableau ci-après :

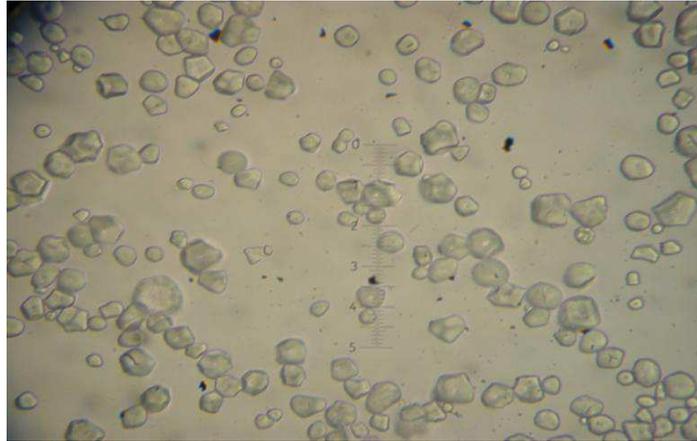
**Tableau 5.9:** viscosité de l'amidon de maïs concentration (4%).

Amidon	Amidon de maïs Natif	Amidon de maïs modifiée ( $DS_{BZ} = 0.136$ )
<b>Viscosité (mPa.s)</b>	107	5.33

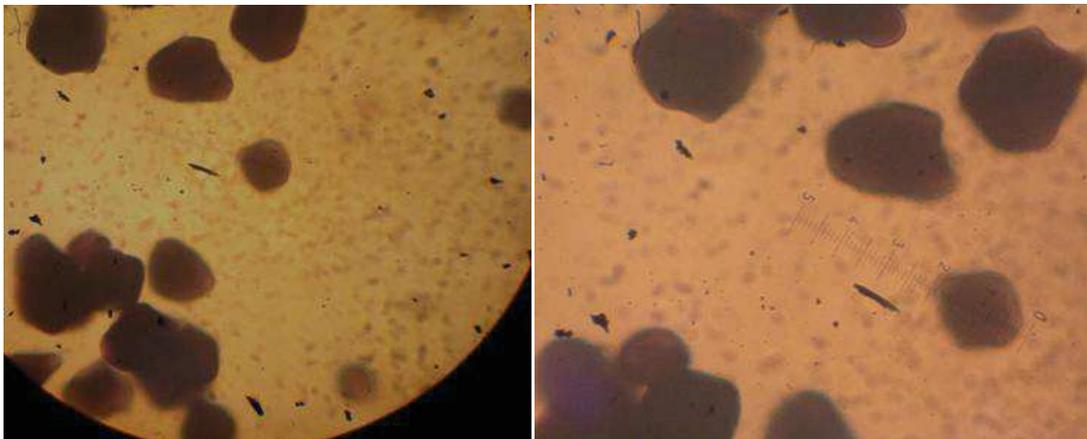
La viscosité diminuée avec des amidons benzyliques (modifié). Les interactions et l'enchevêtrement intermoléculaires des molécules lixiviées et des granules gonflés d'amylose jouent des rôles importants dans le développement de la viscosité pendant la gélatinisation. Les molécules d'amidon ayant des groupes benzyliques pourraient avoir moins de tendance de s'associer, et le degré d'interactions intermoléculaires serait ainsi moins. Par conséquent la viscosité résultante de la pâte d'amidon a diminué par benzylation (modification) bien que la température de gélatinisation est basse

- **Observation microscopique par microscope optique :**

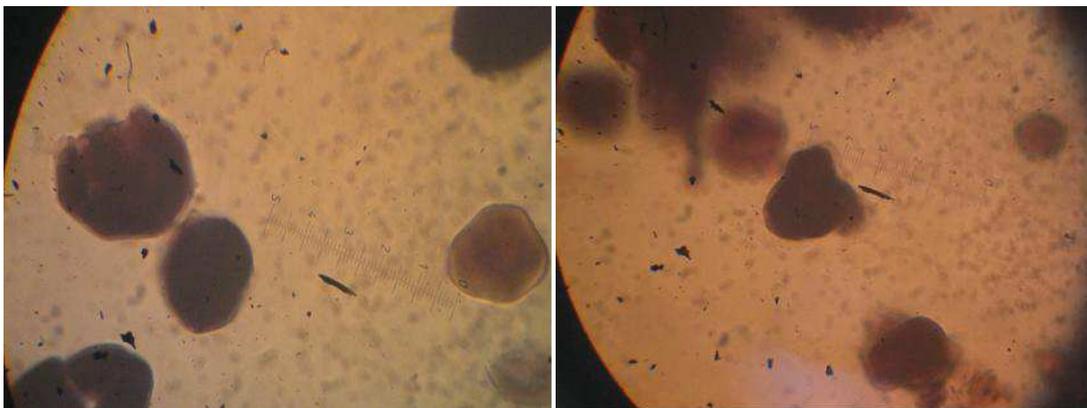
Des observations au microscope optique a permis de visualiser les morphologies des grains, ces dernières sont illustrées sur les figures ci-après :



**Figure 5.9:** Observation au microscope optique de grains d'amidon de maïs ( $\times 400$ ).



**Figure 5.10:** observation au microscope optique de l'amidon de maïs (Coloré par une solution d'iode) ( $\times 1000$ ).



**Figure 5.11 :** observation au microscope optique de l'amidon de maïs modifié (Coloré par une solution d'iode) ( $\times 1000$ ).

La diversité dans la forme et la taille des grains d'amidon utilisant la microscopie optique pourrait être un outil utile dans l'identification des différentes espèces d'amidon. Dans la présente étude, L'amidon de maïs présente des granules polyédriques avec une taille de 3,6 à 25  $\mu\text{m}$  [150]. Après modification (greffage des groupes benzyle substitué) il y'a une certaine déstructuration dans la forme des particules.

La couleur de l'amidon de maïs (natif et modifié) coloré par l'iode était de couleur brun clair.

En dehors de la forme et de la taille des granules, autre caractéristique considéré dans l'identification des espèces d'amidon était la position du hile qui est souvent décrit comme le noyau autour duquel le granule a augmenté. La série de stries concentriques autour du hile ont également été observées. Le hile a été vu au centre de granulés sous la forme de deux points ou courte ligne dans l'amidon de maïs figure (5.9).

#### 5-2-2- analyses physicochimiques de fromage fondu

Le tableau ci-dessous présente les résultats de la caractérisation physicochimique (pH, taux de matière gras, extrait sec et l'humidité) des différentes formules du fromage fondu enrichi en amidon.

**Tableau 5.10:** résultats des analyses physicochimiques

	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13	E14	E15	E16	E17	E18	E19
<b>pH</b>	5,76	5,85	5,66	5,69	5,65	5,58	5,75	5,57	5,7	5,61	5,6	5,55	5,7	5,68	5,8	5,8	5,48	5,5	5,51
<b>MG %</b>	15	14,9	14,27	14,26	15,2	14,12	15,5	14,13	15	14,31	14,51	15,5	14,5	14,01	15,1	15	14,56	14,55	14,53
<b>ES %</b>	38,8	37,3	43,22	34,01	41,2	36,1	41,1	32,85	40,3	39,2	32,85	35,31	40,1	36,2	38	38,5	34,55	34,5	34,53
<b>H %</b>	61,2	62,7	56,78	65,99	58,8	63,9	58,9	67,15	59,7	60,8	55,8	64,69	59,9	63,8	62	61,5	65,45	65,5	65,47

#### • pH

Les valeurs de pH (tableau 5.10) des dix neuf essais sont comprises entre 5,48 et 5,85. On remarque donc qu'il n'y a pas de changement significatif du pH pour les essais. Ces

valeurs sont conformes à la norme AFNOR et sont très proches de ceux apportés par **Chemache (2011)** [151].

- **Matière grasse**

-On remarque que les valeurs de MG de ces essais sont comprises dans l'intervalle de (14,01 à 15,5%). ces valeurs ne sont pas conformes aux normes AFNOR même avec les normes de l'entreprise qui sont de valeur 15,5 %. Ce résultat est prévu puisque la quantité de la MG représenté un facteur qu'on avait modifié dans le plan expérimental afin de voir son effet sur la structure et la stabilité du fromage formulé.

on peut expliquer la baisse de la teneur en matière grasse par l'effet des traitements thermiques, des sels de fonte qui ont un rôle émulsifiant et d'homogénéisation ; qui engendrent une réduction des la taille des globules gras jusqu'à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre [152, 153, 154, 155, 156]. Mais aussi une destruction de leur membrane qui est remplacée par la membrane des micelles de caséine et de submicelles [157, 158] pour former des particules dites pseudo-protéines qui interagissent avec les micelles de caséine et deviennent par la suite une partie intégrale de la pâte et par conséquent échappent à la quantification [159, 158].

- **Extrait sec**

- les valeurs de ES des essais sont comprises entre **32,85% et 44,2%** et de l'humidité sont entre **55,8 et 67,15**. Ces valeur ont une forte influence sur Les propriétés fonctionnelles des fromages [160].

### 5-2-3-Test rhéologiques :

La courbe de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement obtenue à l'issu du test rhéologique réalisé sur les différents essais, est tracées sur la figure (5.12), en échelle double logarithmique. Cette courbe montre l'existence de trois régions distinctes.

- (1) Première région newtonienne avec une valeur constante de la viscosité pour un taux de cisaillement nul ( zero shear viscosity  $\eta_0$ ). Dans cette zone, où le comportement est supposé newtonien, on distingue deux phénomènes antagonistes qui coexistent, générant ainsi un comportement newtonien avec  $\eta_0 = \text{constante}$ .

- Une déstructuration partielle de la structure due à la présence de force de cisaillement de répulsion sous un très faible cisaillement ( $\dot{\gamma}$  très petit).
- Une réorganisation partielle de la structure des macromolécules due aux forces d'attraction de Van Der Waals.

la valeur limite de cette zone correspond à une vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma} = 0,01\text{s}^{-1}$

- (2) Région correspondant à un comportement rhéofluidifiant, où  $\eta = f(\dot{\gamma})$ . Dans la deuxième zone de moyen et fort cisaillement, lorsque la vitesse de déformation de cisaillement augmente, l'étalement et la dispersion des macromolécules dominent leur re-enchevêtrement.
- (3) Seconde région newtonienne avec une valeur constante de la viscosité pour un taux de cisaillement infini (infinite-shear viscosity  $\eta_\infty$ ). Le cisaillement est si grand ( $\dot{\gamma} > 1000 \text{ s}^{-1}$ ) que toutes les macromolécules sont orientées et dispersées. Leur résistance à l'écoulement est réduite au minimum et ne peut encore diminuer. La viscosité qui en résulte est constante,  $\eta_\infty = \text{const}$ .

A l'issue de cette étude le modèle rhéologique le plus représentatif est celui de Carreau. Ce choix est justifié par le coefficient de corrélation  $R^2$ , des ajustements de toutes les courbes des essais, qui sont très proche de la valeur 1. Le modèle Carreau s'écrit comme suit :

$$\frac{\eta - \eta_\infty}{\eta_0 - \eta_\infty} = \frac{1}{(1 + (K\dot{\gamma})^2)^P} \dots\dots\dots 12$$

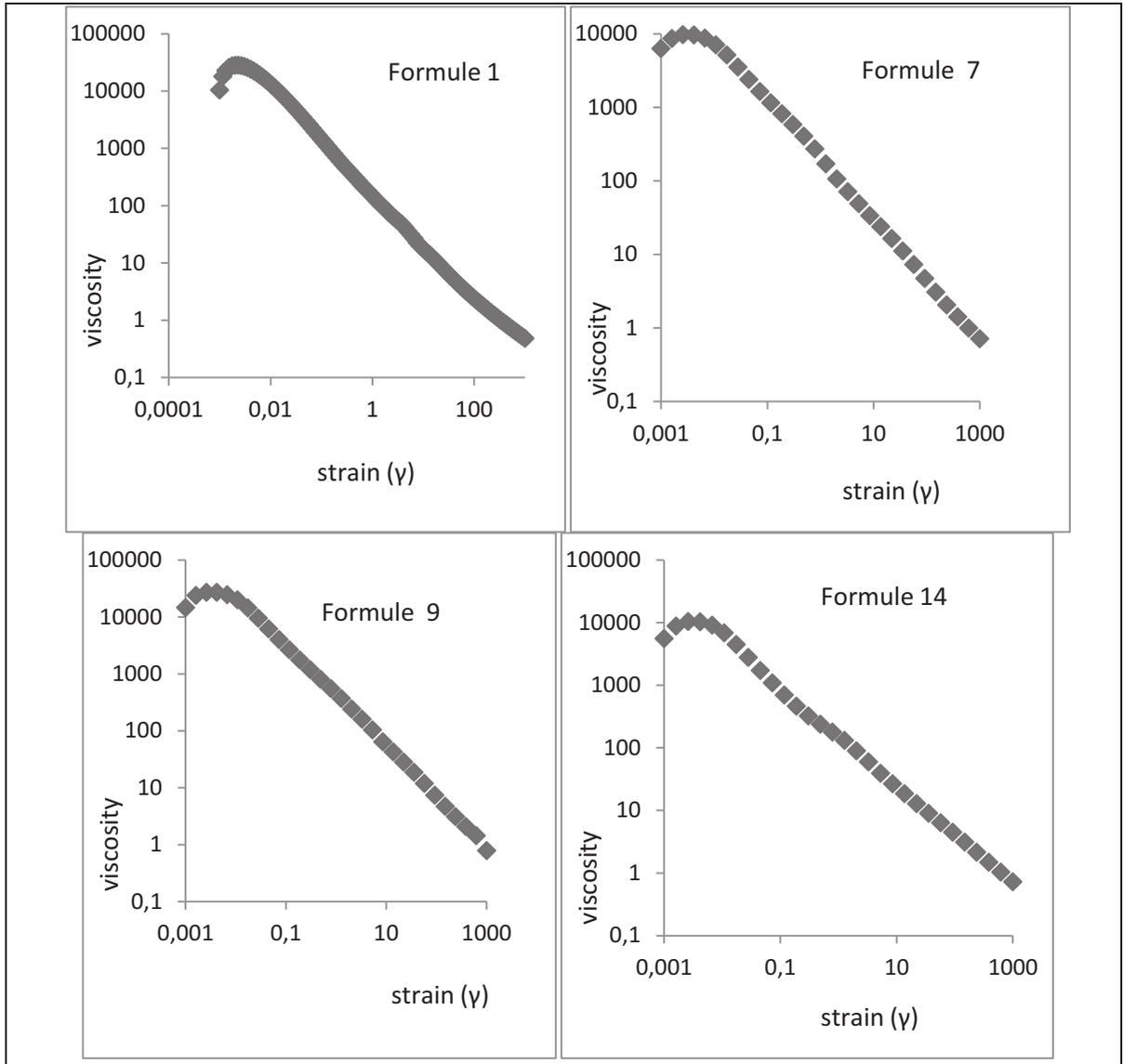
avec  $\eta_0$ : viscosité à  $\dot{\gamma} \rightarrow 0$  [Pa.s].

$\eta_\infty$ : viscosité à  $\dot{\gamma} \rightarrow \infty$  [Pa.s].

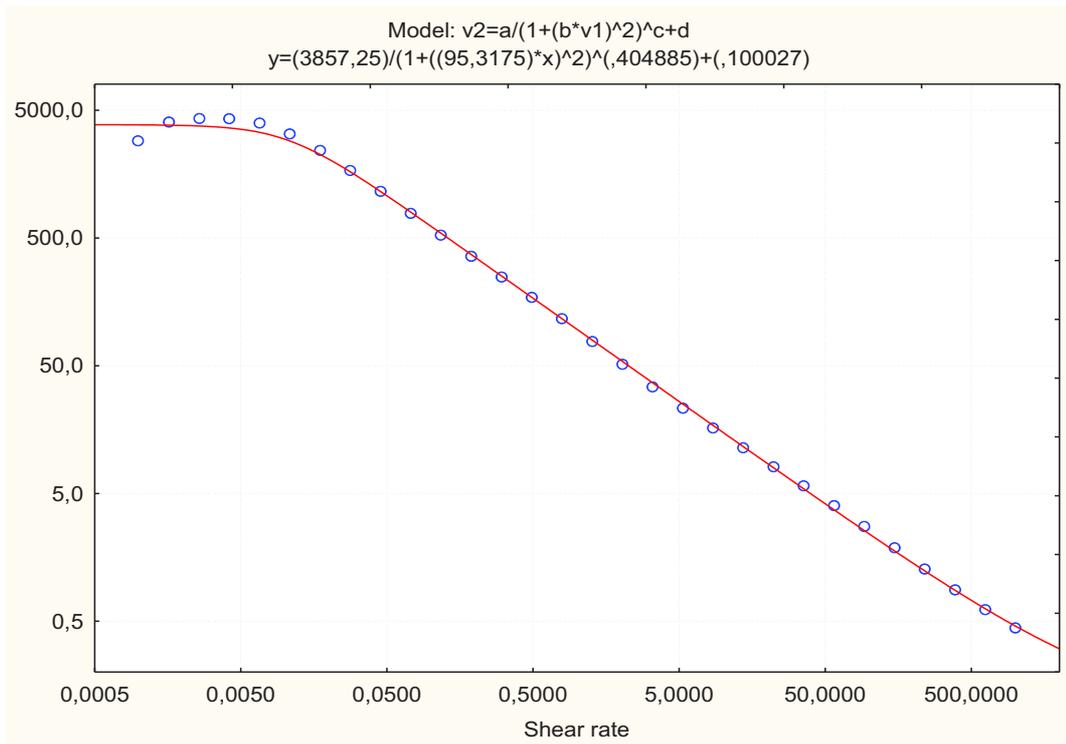
K : constante de Carreau.

P : exposant de Carreau.

Une deuxième modélisation a été faite avec le logiciel « STATISTICA » afin de s'assurer de la qualité des résultats. La figure (5.13) montre bien l'ajustement du modèle de Carreau à nos résultats.



**Figure 5.12: courbes d'écoulement de quelques formules**



**Figure 5.13: courbe d’écoulement de l’essai N° 6 (STATISTICA).**

Les propriétés rhéologiques varient largement selon les types de fromage et elles peuvent changer visiblement pendant l'affinage. Ils dépendent de la composition, notamment du taux d'eau, de matière grasse et de sel ; Elle dépend aussi du pH, de la dégradation de la protéine et des facteurs de l'environnement comme la température [161].

5-2-4-Analyses microbiologiques

Le fromage, produit final caractérisé par une teneur relativement importante en eau, un pH légèrement acide et une activité de l'eau (AE) élevée et conditionné dans des emballages fermés hermétiquement, présente des risques d'activité et de prolifération microbiennes.

Le tableau ci-dessous représente les résultats des analyses microbiologiques durant le procédé de fabrication.

**Tableau 5.11: Résultats des analyses microbiologiques durant le procédé de fabrication**

	<b>Coliformes totaux / g</b>	<b>Coliformes fécaux/ g</b>	<b>Staphylocoques / g</b>	<b>SAG</b>
<b>Produit fini</b>	Abs	Abs	Abs	Abs

Abs : absence

Les microorganismes occupent une place essentielle dans le domaine des produits laitiers et leur importance se situe à trois niveaux : l'élaboration, l'altération et l'hygiène des produits.

Le fromage et les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui, en se multipliant dans le milieu, provoquent des transformations nuisibles à la qualité des produits par la dégradation de leurs constituants (protéine, lipides, lactose) et/ou libération à leur sein des composés indésirables. Ces dégradations peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures et se traduisent par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture.

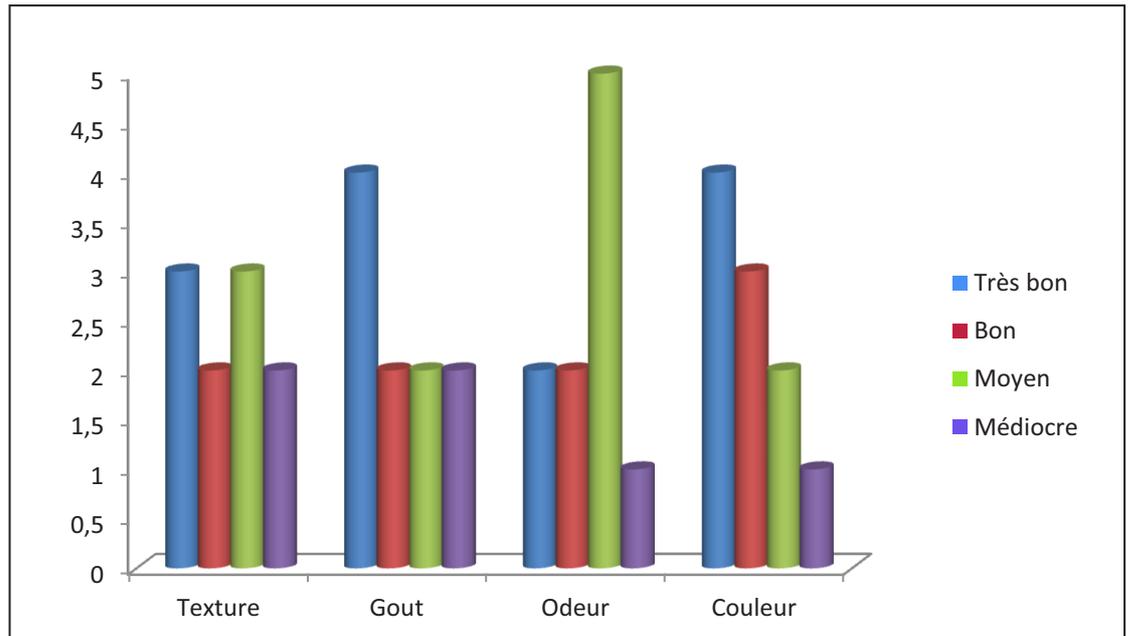
Les résultats des analyses microbiologiques de fromage montrent l'absence totale des coliformes totaux et les germes pathogènes (staphylocoques) ce qui indique une bonne hygiène et le bon respect des conditions de préparation et de stockage.

Les résultats des analyses microbiologiques ont révélé que les spécialités fromagères présentaient une bonne qualité microbiologique grâce à l'application et à l'efficacité des traitements thermiques (cuisson et traitement UHT).

### 5-2-5-Analyse sensorielle

Nous avons évalué la qualité organoleptique du fromage fondu formulé à base d'amidon natif et amidon modifié à différentes concentrations (1%, 2%, 3%) par une dégustation (test hédonique). Les résultats d'analyses organoleptiques sont représentés dans les figures 5.14, 5.15, 5.16, 5.17, 5.18, et 5.19 :

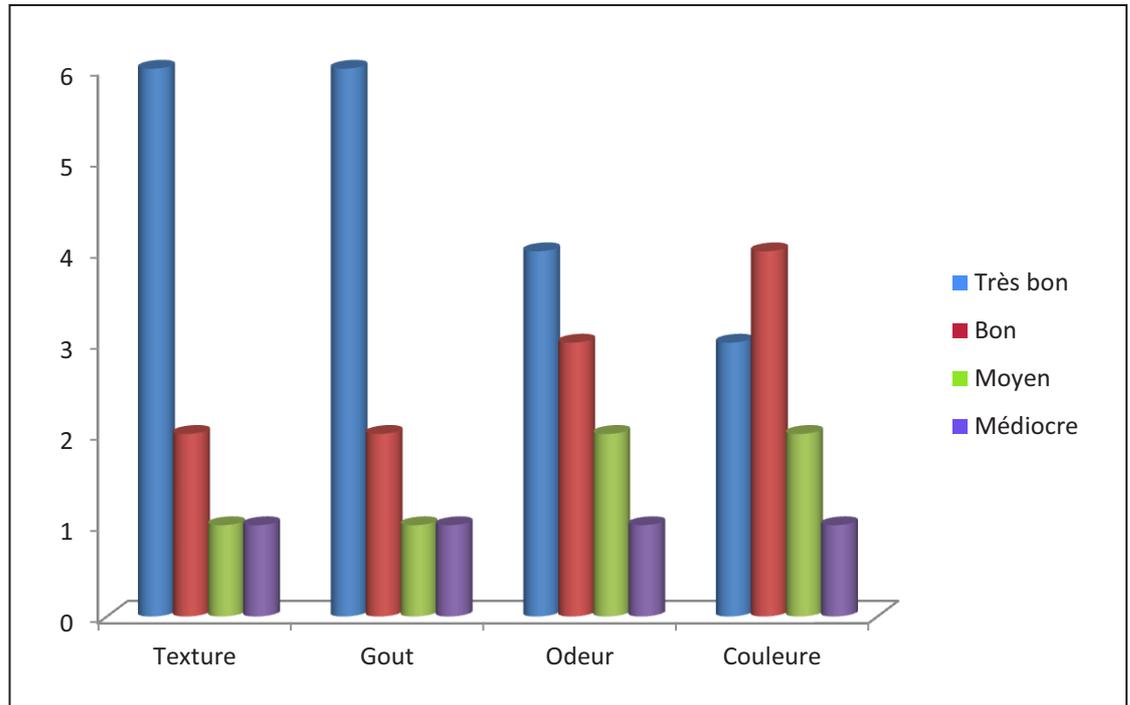
#### a) E1 : Fromage fondu à 1% d'amidon modifié



**Figure 5.14 : Evaluation organoleptique de l'échantillon E1 de fromage fondu**

Il en ressort que l'échantillon E1 constitue un fromage fondu avec 1% d'amidon modifié, portant les caractéristiques suivantes : L'échantillon très bon goût avec une bonne couleur et une odeur et texture moyennes d'après le test hédonique des consommateurs.

**b) E2 : Fromage fondu à 2% d'amidon modifié**

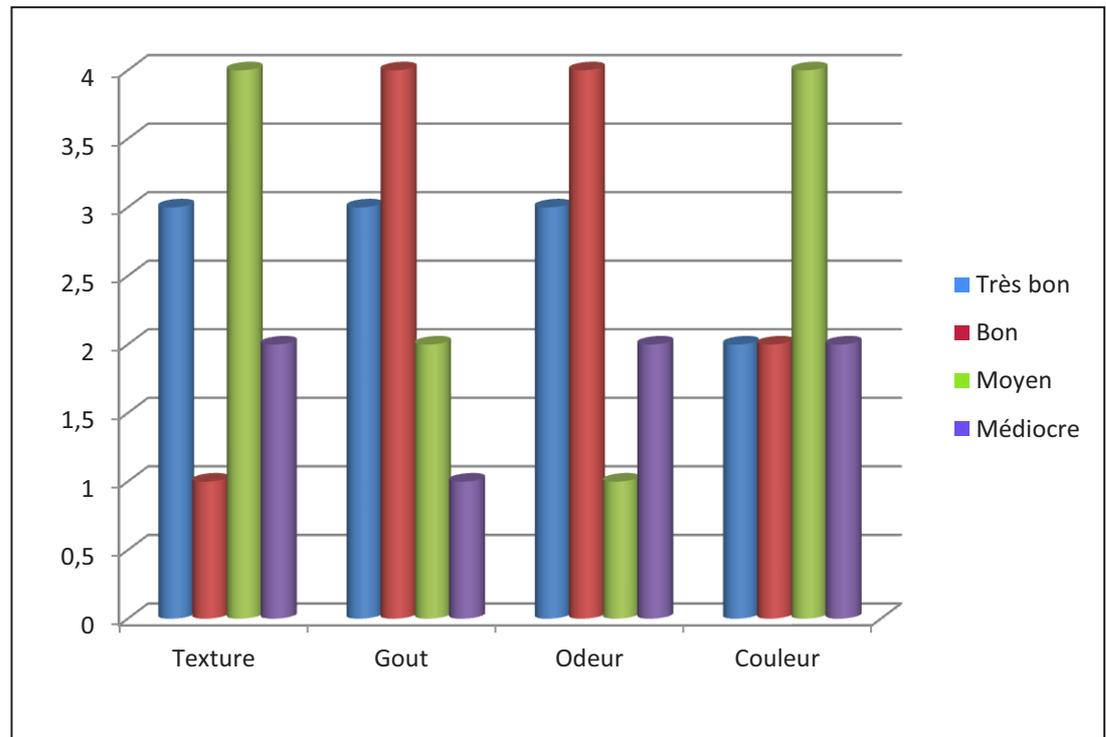


**Figure 5.15 : Evaluation organoleptique de l'échantillon E2 de fromage fondu**

Les résultats de la figure 5.16 montrent que l'échantillon E2 présente une très bonne texture, gout, et odeur vue à la quantité d'amidon et présentant une belle couleur, conséquence de la bonne qualité d'amidon.

Les consommateurs le jugent de bonne qualité.

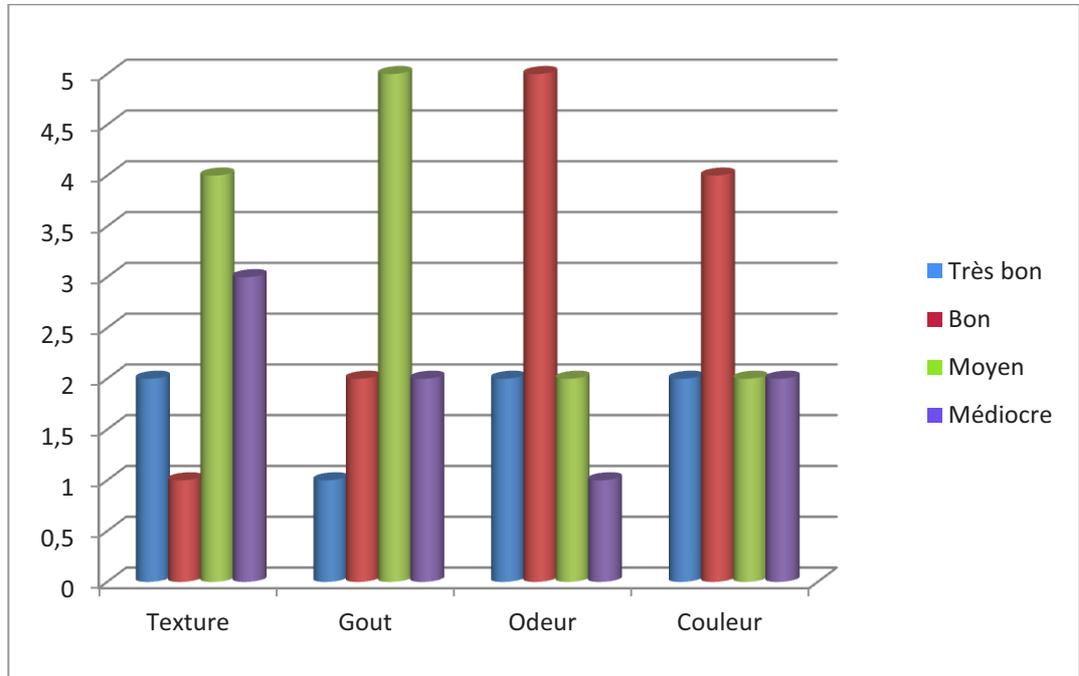
**C) E3 : Fromage fondu à 3% d'amidon modifié**



**Figure 5.16: Evaluation organoleptique de l'échantillon E3 de fromage fondu**

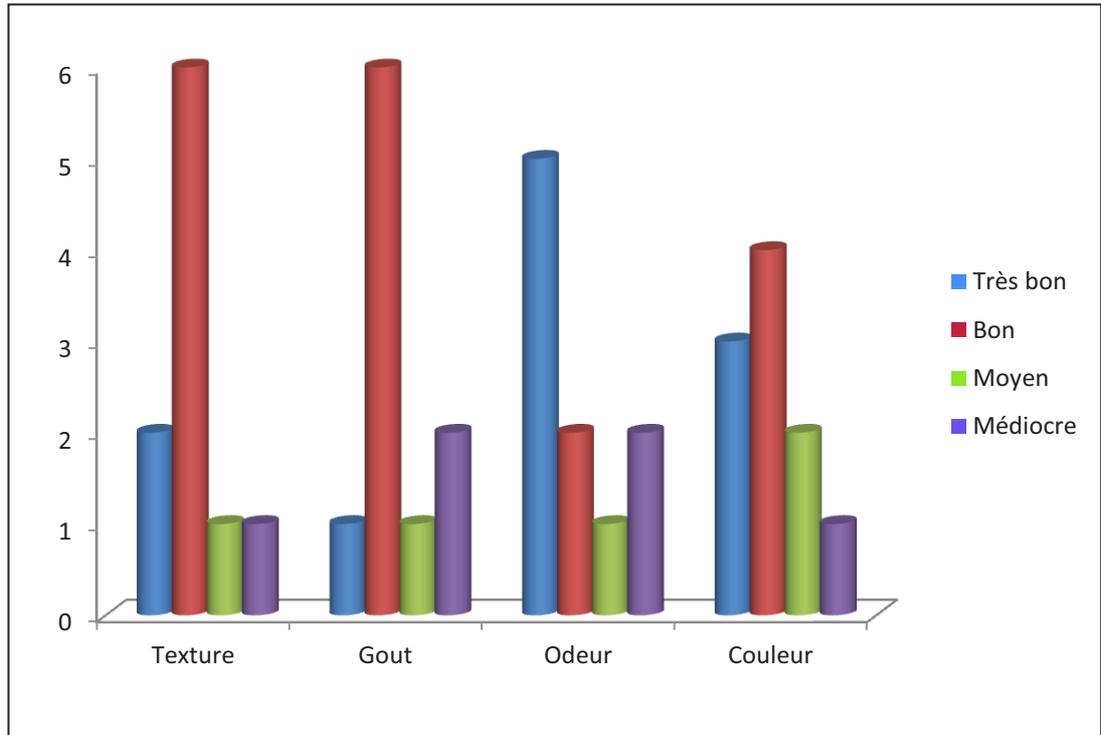
L'échantillon E3 a été jugé par une moyenne texture et couleur due à la quantité d'amidon ajoutée, et présentant un bon goût et une bonne odeur.

D'après ces résultats, les consommateurs ont une préférence pour le fromage fondu à 2% d'amidon modifié, ce qui fait que ce dernier apporte une meilleure qualité du produit sur le plan dégustation et nutritif.

**E4 : Fromage fondu à 1% d'amidon non modifié****Figure 5.17: Evaluation organoleptique de l'échantillon E4 de fromage fondu**

L'échantillon présente de bonnes odeur et couleur avec un goût et texture moyens. Ceci est probablement dû à la quantité d'eau élevée et la faible quantité d'amidon.

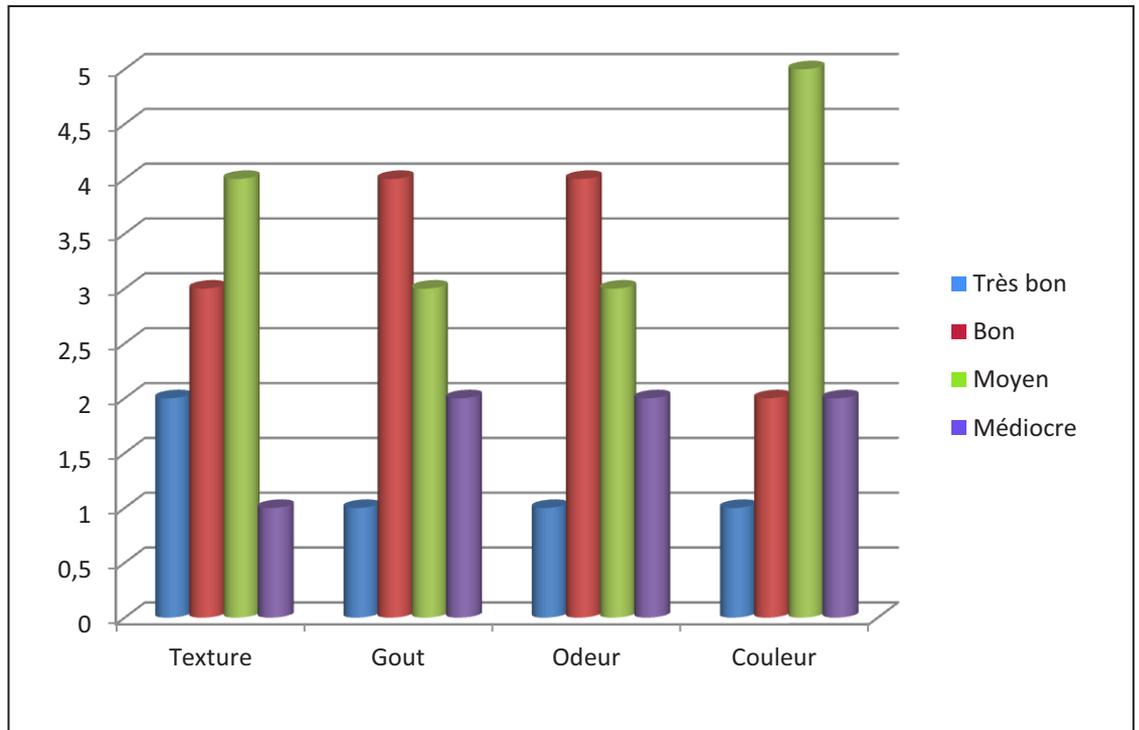
c) E5 : Fromage fondu à 2% d'amidon non modifié



**Figure 5.18 : Evaluation organoleptique de l'échantillon E5 de fromage fondu**

Les résultats représentés sur la figure ci-dessus montrent que l'échantillon E5 présente une bonne texture, goût, et couleur et de odeur très bonne due probablement à la qualité et la quantité d'amidon ajoutées. Les consommateurs le jugent de bonne qualité.

**d) E6 : Fromage fondu à 3% d'amidon non modifié**



**Figure 5.19 : Evaluation organoleptique de l'échantillon E6 de fromage fondu**

Cet échantillon a été jugé comme étant de bons goût et odeur avec une texture et couleur moyennes. Il semble que la quantité d'amidon élevée est à l'origine de ces résultats.

Les consommateurs ont une préférence du fromage fondu à 2% d'amidon non modifié. Finalement est d'après tous les résultats des échantillons du 1 à 6, on conclue que les deux échantillons E2 et E5 sont les meilleurs propriétés texturales et sensorielles.

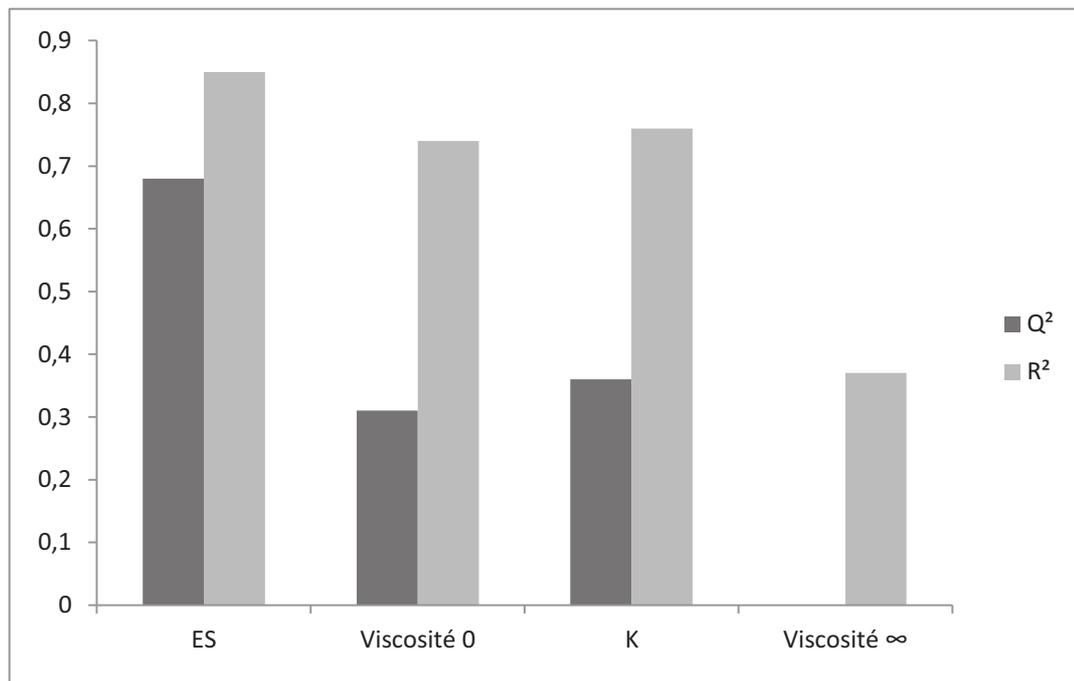
5-2-6- Modélisation des réponses

Les réponses retenues pour cette étude sont l'extrait sec (ES) du fromage et les paramètres issus de la modélisation des résultats rhéologiques (Tableau 5.12).

**Tableau 5.12:** les réponses retenues

<b>Essai</b>	<b>E.S</b>	<b><math>\eta_0</math></b>	<b>K</b>	<b><math>\eta_\infty</math></b>
<b>1</b>	38.8	20763.7	152	0.34
<b>02</b>	37.3	23572	65	0.13
<b>03</b>	43.22	52188.4	161.3	0.45
<b>04</b>	34.01	56951	42.7	0.005
<b>05</b>	41.2	65727	170.3	0.001
<b>06</b>	36.1	3857.25	95.3	0.1
<b>07</b>	41.1	8352.98	87	0.03
<b>08</b>	32.85	6769.82	77	0.04
<b>09</b>	40.3	21377.9	81	0.001
<b>10</b>	39.2	60023.3	72.2	0.01
<b>11</b>	44.2	2617.06	72.2	0.18
<b>12</b>	35.31	15159.2	80	0.18
<b>13</b>	40.1	3034.63	82	0.18
<b>14</b>	36.2	9301.85	179.9	0.15
<b>15</b>	38	4311.93	62.2	0.13
<b>16</b>	38.5	4360.88	104.67	0.001
<b>17</b>	34.55	3339.29	90.9	0.11
<b>18</b>	34.5	3500	92	0.11
<b>19</b>	34.53	3450	94	0.11

Le calcul des paramètres des modèles polynomiaux de surface de réponses s'effectue par la méthode (PLS), en utilisant les valeurs expérimentales des réponses en fonction des différents facteurs. Les valeurs de  $R^2$  et  $Q^2$  en fonction des réponses (ES,  $\eta_0$ , K et  $\eta_\infty$ ), qui traduisent la qualité statistique de la modélisation sont montrées sur l'histogramme suivant (Figure 5.20).



**Figure 5.20: Histogramme des valeurs de  $R^2$  et  $Q^2$  des réponses étudiées.**

Au regard des valeurs de ces deux coefficients, on peut dire que le modèle de l'ES obtenu est prédictif à cause des valeurs relativement élevés de  $R^2$  et  $Q^2$ . Par contre, les modèles des paramètres rhéologiques ne sont pas prédictifs. Au fait, le comportement rhéologique de notre fromage n'est pas conditionné uniquement par les facteurs retenus, la présence des facteurs bruits (le rapport beurre/ cheddar et la préfonte) influent sensiblement sur la viscosité et la consistance du produit fini, c'est la raison pour laquelle que les résultats de la modélisation ne sont pas satisfaisants. Malgré cela, on va comme même présenter ces résultats et s'efforcer à étudier les effets des facteurs retenus, essentiellement celui de l'amidon.

### Résultats de la modélisation :

- Pour l'Extrait Sec ES :

Type 1 de l'amidon :

$$ES = 35,06 - 0,01X_1 - 1,98X_2 - 0,19X_3 + 1,54X_2^2 + 1,38X_3^2 - 0,43X_1X_2 - 0,59X_1X_3 - 1,32X_2X_3$$

Type 2 de l'amidon:

$$ES = 35,06 + 0,01X_1 - 1,98X_2 - 0,19X_3 + 1,54X_2^2 + 1,38X_3^2 + 0,43X_1X_2 + 0,59X_1X_3 - 1,32X_2X_3$$

- Pour la viscosité à cisaillement nul  $\eta_0$  :

Type 1 de l'amidon:

$$\eta_0 = 3,55 + 0,18X_1 + 0,04X_2 - 0,01X_3 + 0,33X_2^2 + 0,16X_3^2 - 0,16X_1X_2 + 0,11X_1X_3 + 0,06X_2X_3$$

Type 2 de l'amidon :

$$\eta_0 = 3,55 - 0,18X_1 + 0,04X_2 - 0,01X_3 + 0,33X_2^2 + 0,16X_3^2 + 0,16X_1X_2 - 0,11X_1X_3 + 0,06X_2X_3$$

- Pour K :

Type 1 de l'amidon :

$$K = 104,21 + 6,99X_1 - 8,97X_2 + 6,30X_3 + 14,03X_2^2 - 20,97X_3^2 - 26,18X_1X_2 - 4,11X_1X_3 + 0,45X_2X_3$$

Type 2 de l'amidon:

$$K = 104,21 - 6,99X_1 - 8,97X_2 + 6,30X_3 + 14,03X_2^2 - 20,97X_3^2 + 26,18X_1X_2 + 4,11X_1X_3 + 0,45X_2X_3$$

- Pour la viscosité à cisaillement infini  $\eta_\infty$ :

Type 1 de l'amidon :

$$\eta_\infty = 0,07 + 0,01X_1 - 0,03X_2 + 0,02X_3 + 0,05X_2^2 - 0,01X_3^2 - 0,04X_1X_2 - 0,003X_1X_3 - 0,02X_2X_3$$

Type 2 de l'amidon:

$$\eta_\infty = 0,07 - 0,01X_1 - 0,03X_2 + 0,02X_3 + 0,05X_2^2 - 0,01X_3^2 + 0,04X_1X_2 + 0,003X_1X_3 - 0,02X_2X_3$$

### 5-2-6-1-Etude d'effet des différents facteurs sur les réponses étudiées

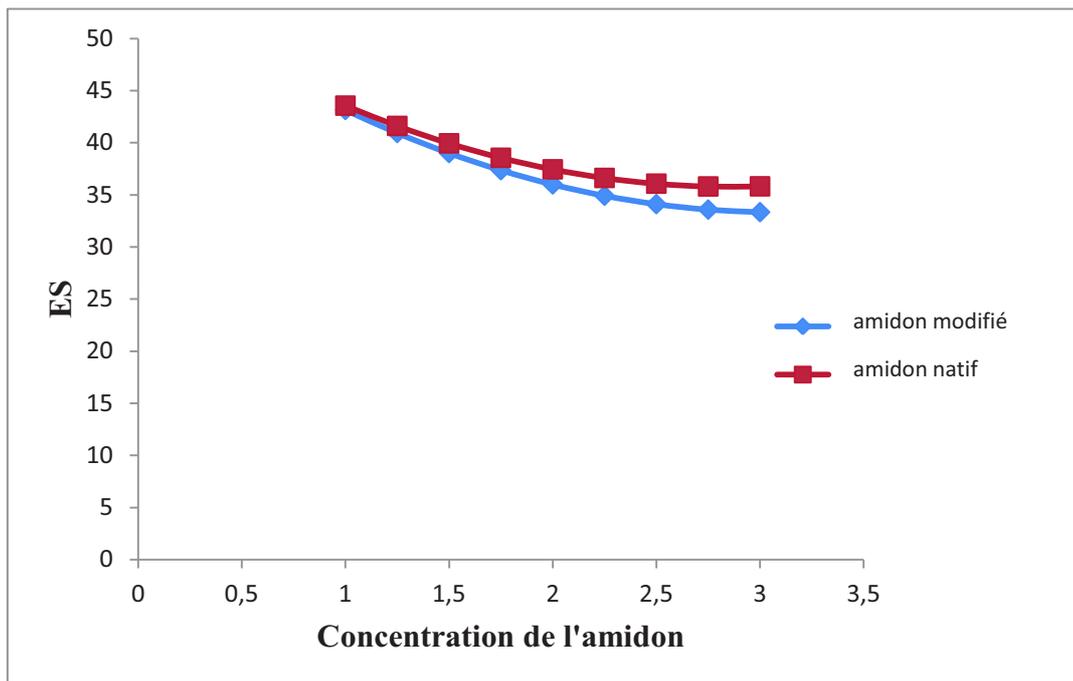
Au terme de la modélisation en surface de réponse, on se propose de déterminer l'effet de chaque facteur sur les caractéristiques rhéologique et l'extrait sec du fromage formulé. A cet effet, on fixe deux facteurs puis on varie le troisième facteur dans le domaine d'étude.

#### ✓ **Effet de la concentration et du type de l'amidon sur l'extrait sec :**

L'extrait sec total ou matières sèches totales est l'ensemble de toutes les substances qui, dans des conditions physiques déterminées, ne se volatilisent pas.

Au vu de la figure (5.21), le premier constat à faire est que le type de l'amidon n'a pas d'effet notable sur l'extrait sec du fromage. D'ailleurs les deux modèles obtenus de l'extrait sec en fonction du type de l'amidon sont quasiment identique. On remarque par contre que l'augmentation de la concentration de l'amidon fait diminuer l'ES de façon significative. Cette diminution est due à l'injection de l'eau froide dans le mélangeur qui est la cause principale de l'augmentation du taux d'humidité dans le mélange et par conséquent de la diminution de l'extrait sec. Durant les étapes de fabrication du fromage, l'amidon contenu dans la formule subissait des traitements hydrothermiques [151].

En présence d'une teneur en eau, accompagnée par un traitement thermique le gonflement des granules d'amidon réticulé intervient et leur volume augmente en raison de l'absorption de l'eau ce qui provoque une augmentation de taux d'humidité et une diminution de l'extrait sec [151].



**Figure 5.21 : Variation de l'ES en fonction de la concentration de l'amidon modifié et natif avec 20% de MG.**

✓ **Effet de la concentration et du type de l'amidon sur les paramètres rhéologiques :**

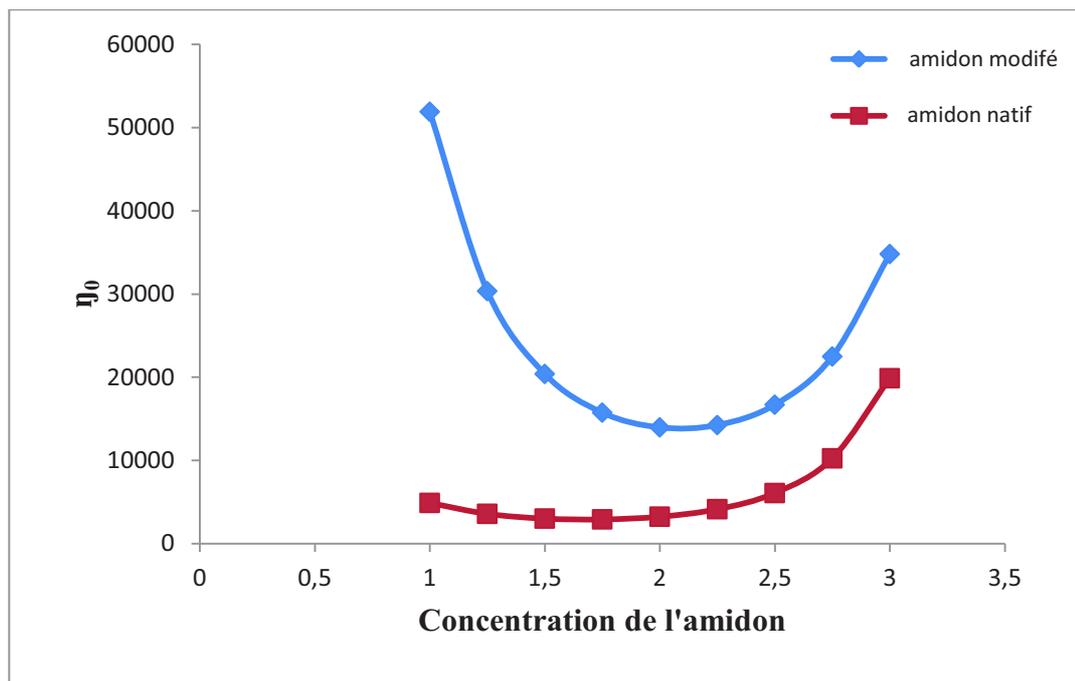
L'intérêt des mesures rhéologiques des fromages est de déterminer la qualité du corps et la texture de celles-ci. Les mesures rhéologiques sont aussi un moyen pour étudier la structure en fonction des compositions, des techniques de fabrications et des conditions de stockage [162].

Les paramètres rhéologiques retenus sont très importants, ils expriment la viscosité, l'élasticité et l'adhésivité du fromage lorsqu'il est au repos, traduit par  $\eta_0$  et pendant son utilisation (tartinage) traduit par  $\eta_\infty$ .

Les courbes d'effet tracées sur la figure (5.22) montrent que le type de l'amidon n'agit pas de la même manière sur la viscosité du produit. L'amidon modifié fait diminuer la viscosité au repos, ceci peut être dû à la présence d'interactions ségrégatives entre l'amidon et les lipides ou éventuellement les protéines du lait. Au-delà d'une certaine concentration, la viscosité augmente du fait de la gélification du système, L'addition de

l'amidon modifié a donné lieu à la structure plus rigide avec des molécules fortement liées [163]. Par contre, avec l'amidon non modifié, ces interactions ne se font pas sentir.

A noter également que les viscosités du fromage fait avec l'amidon modifié sont nettement supérieures que celles du fromage préparé avec de l'amidon natif. A savoir que l'amidon modifié est gélatinisé et donc il forme un gel. Le même résultat est constaté par **Chemache (2011)** [151].



**Figure 5.22: Variation de la viscosité au repos du fromage en fonction de la concentration de l'amidon modifié et natif avec une MG = 20%.**

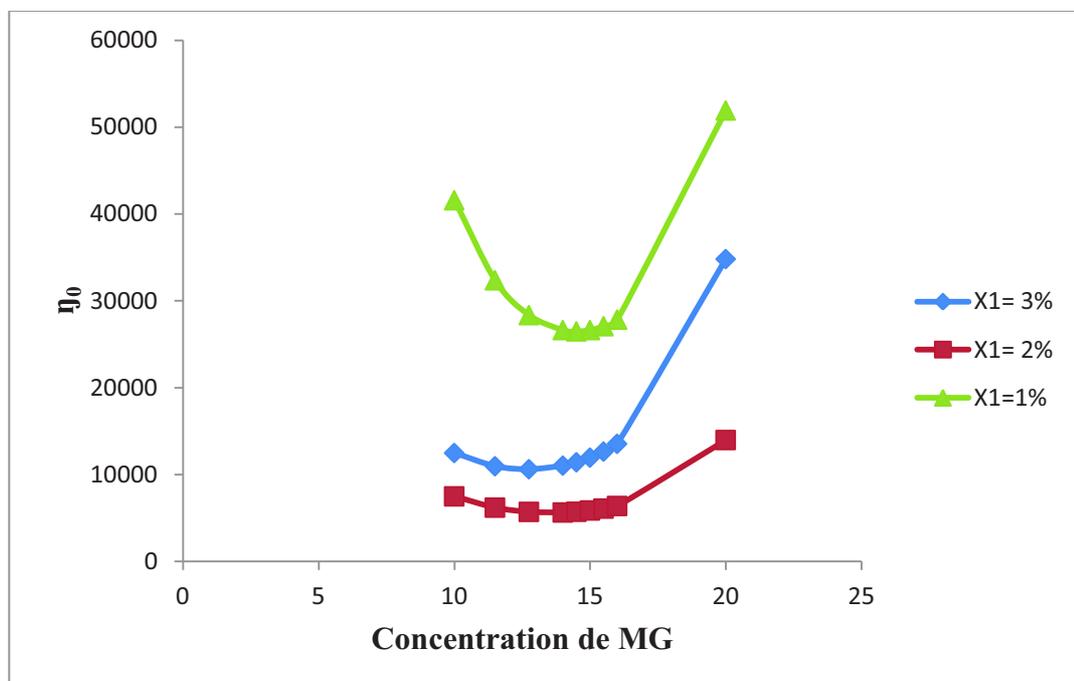
✓ **Effet de la concentration de la matière grasse sur les paramètres rhéologiques :**

Dans le but d'étudier l'effet de la concentration en matière grasse sur la viscosité au repos, les courbes ci-dessous (Figure 5.23) ont été tracées. Lorsque la MG dépasse 15%, à savoir que cette concentration est celle imposée par les normes de l'entreprise, la viscosité augmente quand la concentration de l'amidon dépasse 2%. En deçà de cette concentration, l'effet de la MG est négligeable, sauf dans le cas où la concentration de l'amidon est de 1% où la viscosité diminue. Cela rejoint les explications déjà proposées sur les interactions

ségrégatives entre l'amidon et les lipides. Les grasse fondue en partie remplit les espaces dans la matrice de caséine et d'amidon ce qui augmente l'élasticité de fromage [163].

D'ailleurs, d'après **Marshall (1990)** [164] la matière grasse ne contribue pas aux propriétés rhéologiques aux grandes déformations et aux vitesses de déformations relativement élevées. Mais aux petites déformations et aux vitesses de déformations faibles, celle-ci forme des inclusions élastiques qui contribuent aux propriétés rhéologiques.

**Warner (1981)** [165] a montré qu'aux fortes concentrations, le glycérol augmenterait la viscosité de la phase aqueuse ; il manifesterait un effet plastifiant comparable à celui de l'eau.



**Figure 5.23: Variation de la viscosité au repos en fonction de la concentration de la MG avec l'amidon modifié de concentration (3%,2%,1%).**

Lorsque le fromage est tartiné, le cisaillement est infiniment grand, d'où l'intérêt de la détermination de la viscosité à cisaillement infini. Ce paramètre nous donne une idée sur la structure du fromage qui ne doit pas être très rigide, pour faciliter l'étalement et aussi ne doit pas être trop liquide pour permettre l'adhésion.

## CONCLUSION GENERALE

Les aliments fonctionnels, ont marqué dans ces dernières années un succès et une croissance rapide dans les pays développés avec une moindre tendance dans les pays arabes et africains ou ces aliments n'ont pas connu un essor considérable.

Le présent travail a consisté en l'élaboration de deux formulations alimentaires à savoir la margarine et le fromage fondu, enrichis en éléments naturels ; les phytostérols et l'amidon respectivement pour les deux préparations

La stratégie des plans d'expérience à été adoptée comme méthodologie pour réaliser nos expériences. La caractérisation par évaluation des paramètres physicochimiques, microbiologiques, organoleptiques et rhéologiques a permis d'évaluer les qualités des deux formulations

Dans une première étape, la variété d'huile d'olive de la région de Bédjaia a été utilisée par valorisation de ses extraits insaponifiables riches en phytostérols pour incorporation dans la formulation d'une margarine diététique.

Les résultats d'analyse physico-chimique de l'huile d'olive étudiée ont révélé que :

- ❖ L'acidité (1.88), l'indice de saponification (189.34), l'indice de réfraction (1.4671) et l'indice de peroxyde (11.40) de cette variété sont très proches de celles de l'huile d'olive vierge et par conséquent lui confèrent une qualité très appréciée.
- ❖ L'extraction par solvants de la partie insaponifiable a montré que l'hexane est un bon solvant, ceci est justifié par le rendement important en produit récupéré après évaporation complète du solvant.

La stabilité de la margarine a été assurée par un agent émulsifiant naturel ; la lécithine de soja. La teneur totale en matières grasses dans nos formules n'a pas dépassé les 60%.

Les résultats de l'analyse physico-chimique de notre margarine ont montré:

- ❖ Une bonne stabilité avec un écart type de variation de pH ne dépassant pas 0,66.
- ❖ Une teneur en eau (entre 32 et 38%) et un point de fusion (entre 36 et 40°C). Valeurs conformes à la recette préétablie.

Les résultats de l'analyse microbiologique obtenus ont mis en évidence l'absence totale des moisissures, des coliformes totaux et coliformes fécaux, ainsi que les staphylococcus

aureus, ce qui confirme la prise en charge des mesures d'hygiène dans la production ainsi que la pureté de matière première utilisée.

L'analyse sensorielle de la margarine a révélée:

- ❖ Une très bonne tartinabilité notamment pour les formules 6, 7, 9 et 12, cet attribut est très important pour les margarines de table.
- ❖ Toutes les formules ont présenté une couleur et odeur agréables. La texture de la est basée sur la consistance justifiée par la douceur et la plasticité .
- ❖ La margarine de table (tartinable) doit être fondante en bouche. L'essai 9 est la margarine qui fond le plus très vite en bouche.

L'analyse rhéologique indique que la margarine étudiée (les différentes formules) est un fluide pseudo-plastique ou la viscosité diminue quand la contrainte de cisaillement croît. Ce phénomène s'explique par des modifications de la structure du fluide entre les états de repos et d'écoulement,

Ces résultats nous ont permis d'établir la composition de la formule optimale: 56,87% d'huile, 1,06% d'émulsifiant (lécithine de soja), 34,57% d'eau, 2,5% de phytosterols, 2% additifs liposolubles et 2% additifs hydrosolubles. Cette formule présente une tartinabilité de 9,42/ 10 et un aspect de 8,63 / 10 avec une point de fusion de 37,73.

L'objectif de la deuxième partie de cette étude est de formuler un fromage fondu enrichi en amidon de façon à améliorer la texture et réduire le maximum possible l'utilisation de la matière grasse afin d'aboutir à un fromage fondu connu par diététique.

L'ajout de l'amidon en tant qu'agent texturant s'explique par sa grande valeur nutritive et ses fortes teneurs en glucides. L'amidon a été incorporé à différentes concentrations : 1, 2, et 3% avec deux états de structure ; à l'état natif et modifié.

Le plan d'expériences a été aussi adopté afin de déceler les effets de quelques facteurs rentrant dans la formulation du fromage, à savoir, le type de l'amidon, sa concentration et la concentration de la MG sur la qualité du produit fini.

Les analyses physicochimiques des formules du fromage : pH (entre 5,48 et 5,8), extrait sec totale (entre 32,85% et 32,85%), matière grasse (entre 14,01% et 15,5%), humidité (entre 55,8% et 67,15%), ont montré une bonne conformité avec la norme AFNOR (1986).

Les analyses microbiologiques ont révélé une absence totale des germes d'altération et de germes pathogènes, ce qui témoigne que les matières premières sont de bonne qualité et que le produit est fabriqué dans le respect des bonnes pratiques d'hygiène et de sécurité alimentaire.

D'après les analyses organoleptiques sur le produit, les dégustateurs ont une préférence envers de fromage fondu avec une teneur en amidon de 2% jugé par son bon goût et sa texture douce en bouche.

Les analyses rhéologiques ont démontré que le modèle rhéologique le plus représentatif de cette étude est celui de Carreau. Ce choix est justifié par le coefficient de corrélation  $R^2$ , des ajustements de toutes les courbes des essais, qui sont très proches de la valeur 1.

L'étude d'effet des différents facteurs sur les réponses étudiées a révèle que :

- ❖ L'amidon modifié a une concentration supérieure à 2% fait augmenter la viscosité au repos . Le fromage avec l'amidon natif présente une viscosité moins élevée
- ❖ Lorsque la MG dépasse 15%, la viscosité augmente quand la concentration de l'amidon dépasse 2%. En deçà de cette concentration, l'effet de la MG est négligeable, sauf dans le cas où la concentration de l'amidon est de 1% , la viscosité diminue-

Il faut noter que nos résultats statistiques du plan d'expérience réalisés n'étaient pas très satisfaisants, cela peut être dû aux facteurs bruits qu'on n'a pas pu contrôler et qui étaient exigés par l'entreprise, à savoir, le rapport cheddar/ beurre et la préfonte. Quelques interprétations ont été apportées selon les moyens disponibles.

Ce travail est très loin d'être achevé et de nombreuses perspectives sont envisageables pour sa poursuite. L'étude pourrait s'orienter vers:

- ✓ La recherche d'une source de phytosterols moins couteuse que l'huile d'olive utilisée dans notre étude
- ✓ Étude clinique de l'effet de la margarine enrichie en phytostérols nouvellement formulé sur le taux de cholestérol sanguin
- ✓ Une étude plus profonde sur l'effet de l'amidon modifié par différentes méthodes sur les caractéristiques finales du produit fini
- ✓ Etude de l'effet de l'amidon sur différentes variétés de fromage

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1-Ashwell, M.** (2001) Functional foods: a simple scheme for establishing the scientific basis for all claims. *Public Health Nutrition*, 4:859-863.
- 2-Doyon, M. Jullien, C. Labrecque J.** (2011) mesure des propensions individuelles a payer les aliments fonctionnels. *Revue française d'économie*, 3 Volume XXVI. PP 95-119
- 3-Sanders ME.**(1998) Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria, *Dairy and Food Culture Technologies*, 341-347.
- 4-Penchev P.I** (2010) Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs, these de doctorat en génie chimique.
- 5-Dja, J.** (2008). Effect of plant sterols in combination with other cholesterol-lowering foods. *Metabolism Clinical and Experimental* 2008;57:130-139
- 6-Djouab, A.** (2007) préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de datte des variétés sèches. Mémoire de magister. Université de Boumerdese . PP 37-43
- 7-Bahrani S.A .** (2012) Modification des propriétés physico-chimiques de l'amidon par procédés hydrothermiques : Contribution a l'étude des transferts couples chaleur-masse. Autre. Université de La Rochelle, France. PP : 1-200.
- 8-Taggart P., Mitchell J.R.** (2009) Starch. In: Phillips G.O., Williams P.A. *Handbook of Hydrocolloids*. Second edition, Woodhead Publishing Limited. PP: 108-141.
- 9-Caric M.,** (2000) Processed cheese. In, **FRANCIS F.J.**, *Encyclopedia of Food Science and Technology*, 2nd ed , ed., John Wiley and Sons, New York. p. 1973–1987.
- 10-Fox P.F., Guinee T.P., Cogan T.M., Mcsweeney P.L.H.** (2000) *Fundamentals of cheese science*. Maryland : Aspen Publishers Inc. PP: 429–451.
- 11-Huang V.T., Panda F.A., Smith E.B.,** ( 2010) Cheese composition and related methods United states patent, US 7807207 B2, 12 p.
- 12-Boutonnier J.L.** (2002) Fabrication du fromage fondu. *Techniques de l'Ingénieur, traité Agroalimentaire*, F 6 310 , PP 1, 5 – 12,14.
- 13-This H.** (2008) Groupe INRA/AgroParisTech de gastronomie moléculaire, PP 1-11
- 14- Anonyme** (2017) formulation et alimentation, PP 1-25
- 15-Karleskind, A.** (1992) *Manual fats* (vol. 1). Ed Tech and Doc (1st ed.): PP 65-617.
- 16-Cheftel, J.C. et Cheftel H.** (1977). In : « Oxydation des lipides ». Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. 1 : PP 303-331.

**17-Bauer, M.** (2004). Cristallisation et polymorphisme Applications. Dans : Techniques de l'ingénieur, traité de Génie des procédés. AF 3 642. P 16.

**18-Aboke, C., Benarou, A., Dolez, M., Guillet, K., Jamet, E., Moreau, A., Moutouvirin, A., Poirier, M. et Ranga, P.** (2008) Le beurre et la margarine : Rapport de rhéologie. Ecole Supérieure de Microbiologie et Sécurité Alimentaire de Brest (ESMISAB), Université de Bretagne Occidentale. P 105.

**19-Laurie, B., et Mathilde, R.** (2008) **La margarine est-elle une bonne alternative au beurre,** haute école de santé Genève Filière Nutrition et diététique ; PP 1-5

**20-Pagès-Xatart-Parès X.** (2008). Technologies des corps gras (huiles et graisses végétales). Dans : Techniques de l'ingénieur, traité de Génie des procédés. F 6 070. PP 19-18.

**21-O'Brien R.D.** (2009). *Fats and oils: formulating and processing for applications.* Ed: CRC Press, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton London New York. P 744.

**22-Cossut, J. Humbert, S. Defrenne, B. Roelstraete, L. Desmedt, C. Vanuxeem, M. Ferroul, S. Vidal, D. Garnet, S.** (2002) "Les Corps Gras : Entre Tradition et Modernité" Gestion de la Qualité Nutritionnelle et Marketing des Produits Alimentaires, PP 1-111.

**23-Kone, S.** (2001) "Fabrication artisanale de margarine" gate Information Service, P 1-5 Ajouté

**24-Luterotti S., Bicanic D. et Pojzgaj R.,** (2006) New simple spectrophotometric assay of total carotenes in margarines. *Analytica Chimica Acta*, PP 466–473.

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

**26-Faur L.** (1996) Margarine technology. *Oils and Fats Manual* Karleskind, A. Vol. 2, Lovoisier Publishing, Paris : PP 938-987.

**27-Himed, L.** (2011) "Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Citrus limon* : application à lamargarine"Technologie Alimentaire, mémoire de magistère, PP 1-55

**28-Karleskind, A. and Wolff J.P.** (1992) *Fats Manual.* Ed : Tech et Doc. P 1579.

**29-Miskandar, M.S., Che Man, Y., Affandi Yusoff, M.S. and Abd Rahman, R.** (2005) Quality of margarine: fats selection and processing parameters. *Asia Pac J Clin Nutr*, 14 (4) : PP 387-395.

**30-Beau, M.** (1950). Les études rhéologiques sur le beurre. Le Lait : Revue générale sur les questions laitières. 299. PP 593-608.

**31-Bourne, M.** (2002) In: Texture, viscosity and food. Food texture and viscosity: concept and measurement. Ed: Food Science and Technology, International Series. PP 1-27.

**32-Scher, J.** (2010) Rhéologie, texture et texturation des produits alimentaires. Dans : Techniques de l'Ingénieur, Traité de Génie des procédés. F 3 300.P 11.

**33-Vignola, C.** (2002). Transformation du lait. Science et technologie du lait, Process international polytechnique, Montréal. P 600 .

**34-Terpestra, M.E.J.** (2008) Oral texture perception of semisolid foods in relation to physicochemical properties. Université de Wageningen, The Netherlands.

**35-Couarraze, G., Grossiord, J.L.** (1983) Initiation à la rhéologie. Ed: Tech et Doc. PP 27-28.

**36-Grossiord, J.L. et Quemada, D.** (2001) In : « Des concepts aux outils ». Comprendre la rhéologie de la circulation du sang à la prise du béton. Ed : EDP Sciences. PP 9-31.

**37-Jorf** (JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE), 2007. Décret n. 2007- 628 du 27 avril 2007 relatif aux fromages et spécialités fromagères, P10.

**38-Eck A. et Gillis F.** (1997) Le fromage: de la science à l'assurance qualité.

**39-Gaucheron N.** (2004) Fondements physicochimiques de la technologie laitière. P 7.

**40-Berger W., Klostermeyer H., Merkenich K., Uhlmann G.** (1993) Processed cheese manufacture. Ladenburg : BK Ladenburg GmbH. PP : 28-160.

**41-Kasomel N.** (1990) Du fromage au fromage fondu.

**42-Meyer A.** (1973) Processed Cheese Manufacture, Food Trade Press Ltd., London, P 201.

**43-Benhayoun, G. et Lazzeri, Y. (2007)** Condition pour relever les défis de la mondialisation : Amélioration de la qualité et de la compétitivité. In : « L'olivier en méditerranée du symbole de l'économie ».Ed :L'harmattan. ISBN 229603635x. PP 1-135

**44-Perrin J.L.** 1992. Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. Etude et recherche, 4 : PP 25-31.

- 45-Lerma-Garcia, M.J., Herrero-Martinez, J.M., Ramis-Ramos, G. and Simo-Alfonso.** (2008) evaluation of the quality of olive oil using fatty acid profiles by direct infusion electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*, 107: PP 1307-1313.
- 46-Christopoulous, E., Lazaraki, M. and Alexiou, F.** (1995) La qualité de l'huile d'olive vierge grecque : critères chimiques et organoleptiques. *Olivae*, 56: PP 54-59.
- 47-Fedeli, E.** (1999) Qualité (stockage, conservation et conditionnement de l'huile), réglementation et contrôle. Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oleotechnique. Florence, Conseil Oleicole International, PP 1-20.
- 48-COI.** (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.
- 49-Berra, B.** (1998) Les composants mineurs de l'huile d'olive: aspects biochimiques et nutritionnels. *Olivae*, 73: PP 29-30.
- 50-Dugo, G., Lo Turco, V., Pollicino, D., Mavrogeni, E. and Pipitone, F.** (2004) Caractérisation d'huiles d'olive vierges siciliennes. Variation qualitative des huiles des fruits des cultivars « *Biancolilla* , *Nocellara del Belice* , *Cerasuola* , *Tonda Iblea* et *Crastu* » en fonction des techniques et de l'époque de récolte des olives. *Olivae*, 101: PP 44-52.
- 51-Naudet, M.** (1992) Acides gras. In : Manuel des corps gras. Lavoisier, ed. Technique et Documents, PP 65-78.
- 52-Zarrouk, M., Marzouk, B., Ben Miled Daoud, D. and Chérif, A.** (1996) Accumulation de la matière grasse de l'olive et l'effet du sel sur sa composition. *Olivae*, 61 : PP 41-45.
- 53-Çavusoglo, A. and Ohtar, A.** (1994) Les effets des facteurs agronomiques et des conditions de stockage avant la mouture sur la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 52 : PP18-24.
- 54-Ryan, D., Robardas, K. and Lavee, S.** (1998) Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72 : PP 26-38.
- 55-Sanchez Casas, J.J., De Miguel Gordillo, C. and Marin Exposito, J.** (1999) La qualité del'huile d'olive provenant de variétés cultivées en Estrémadure en fonction de la composition et de la maturation de l'olive. *Olivae*, 75 : PP 31-36.
- 56-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). PP 9-174.
- 57-Visioli, F. and Galli, C.** (1998) Olive Oil Phenols and their Potential Effects on Human Health. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46: PP 4292-4296.
- 58-Ait Yacine, Z., Serhrouchni, M. and Hilali, S.** (2002) Evolution de la composition acide de l'huile d'olive à différents stades de la maturité des olives. Cas du Périmètre du Tadla- Maroc. *Olivae*, 94:PP 51-53.

- 59-Stefanouadaki, E., Kotsifaki, F. and Koutsaftakis, A. (1999)** Classification of virgin olive oils of the two major cretan cultivars based on their fatty acid composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76 (5): PP 623-626.
- 60-D'Imperio, M., Dugo, G., Alfa, M., Mannina, L. and Segre, A.L. (2007)** Statistical analysis on Sicilian olive oils. *Food Chemistry*, 102: PP 956– 965.
- 61-Inglesse, P. (1994)** L'influence de la variété sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. *Olivae*, 54 : PP 42-44.
- 62-Boskou, D., Blekas, G. et Tsimidou, M. (2006)** Olive Oil Composition in Olive Oil, Chemistry and Technology, Boskou, D., Ed., The American Oil Chemists' Society, PP 41-72.
- 63-Ramírez-Tortosa M.C., Granados S. and Quiles J.L. (2006)** Chemical Composition, Types and Characteristics of Olive Oil in Olive Oil and Health. CABI Publishing, PP 45-62.
- 64-Phillips K.M., Ruggio D. M., Toivo J. I., Swank M. A. and Simpkins A.H. (2002)** Free and Esterified Sterol Composition of Edible Oils and Fats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15:PP 123–142.
- 65-Uzzan A. (1992)** Olive et huile d'olive. In : Manuel des corps gras. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, PP 221-229.
- 66-Ajana H., El Antari A. and Hafidi A. (1998)** Fatty acids and sterols evolution during.
- 67-Pardo J.E., Cuesta M.A. and Alvarruiz A. (2007)** Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin "Aceite Campo de Montiel"(Ciudad Real, Spain).*Food Chemistry*, 100: PP 977–984.
- 68-Ben Tekaya I. and Hassouna M. (2005)** Étude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux Corps gras Lipides*, 12 (5-6) : PP 447-453.
- 69-Moreau R.A., Hicks ,R., Kevin, B. (2004)** "The in vitro Hydrolysis of Phytosterol Conjugates in Food Matrices by Mammalian Digestive Enzymes" *Biology Journals* 39, P 8.
- 70-Patterson, C.A. (2008)** "Phytostérols et stanols Complémentaires à une saine alimentation" la qualité est dans notre nature, PP 1-4.
- 71-Bereau, D. (2001)** Huiles et fractions insaponifiables de huit espèces de palmiers amazoniens. Mémoire de doctorat: Sciences des agroressources; P 71.

- 72-Piironen V., Lindsay D.G., Miettinen T.A., Toivo J., et Lampi A.M.** (2000) Review. Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, PP 939-966.
- 73-Benvenis P.** (1985) Sterol Biosynthesis. *Annual Reviews of Physiology*, 37, PP 275-308.
- 74-Roche, J. (2005)** "Composition de la graine de tournesol (*Helianthus annuus* L.) sous l'effet conjugué des contraintes agri-environnementales et des potentiels variétaux" Sciences des Agroressources, PP 1-210
- 75-Itzhaki H., Borochoy A., et Mayak S.** (1990) Age-related in petal membranes from attached and detached rose flowers. *Plant Physiology*, 94, PP 1233-1236.
- 76-Palta J.P., Whitaker B.D., et Weiss L.S.** (1993) Plasma membrane lipids associated with genetic variability in freezing tolerance and cold acclimation of solanum species. *Plant Physiology*, 103, PP 793-803.
- 77- Abidi S.L.** (2001) Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. *Journal of Chromatography*, 935, PP 173-201
- 78-Grandmougin-Ferjani A., Schuler-Muller I., et Hartmann M.A.**(1997) Sterols modulation of the plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity from corn roots reconstituted into soybean lipids. *Plant Physiology*, 113, PP 163-174
- 79-Schaller H.** (2003) The role of sterols in plant growth and development. *Progress in Lipid Research*, 42, PP 163-175.
- 80- Asami H., El Antari A., Hafidi A.**(1999) Brassinostroid biosynthesis inhibitors. Trends in plant science, 4,9, PP 348-353
- 81-Chappell J.** (2002) The genetics and molecular genetics of terpene and sterol origami. *Plant Physiology*, 5, PP 151-157.
- 82-Guo D.A., Vekatramesh M., et Nes W.D.** (1995) Developmental regulation of sterol biosynthesis in *Zea mays*. *Lipids*, 30, PP 203, 219.
- 83-Hansel B., Bruchert E. (2006)** "Stanols, stérols et cholestérol: que répondre aux patients? " lipidologie Réalités Cardiologiques N° 217 – Cahier 1.
- 84-Law M.R.** (2000) Plant sterol and stanol margarines and health. *West J Med*; 173: PP 43-7.
- 85-Dylan S., Machay M.S. (2010)** "Le rôle des phytostérols et les maladies cardiovasculaires" La Revue Whitehall-Robins- Volume 19, Numéro 1.

- 86-Von Holtz R.L., Fink C.S., Awad A.B.** (1998) beta-Sitosterol activates the sphingomyelin cycle and induces apoptosis in LNCaP human prostate cancer cells. *Nutr.Cancer*;32: PP8-12.
- 87-Klippel K.F., Hittl D.M., Schipp B. A.** (1997) multicentric, placebo-controlled, double-blind clinical trial of beta-sitosterol (phytosterol) for the treatment of benign prostatic hyperplasia. German BPH-Phyto Study group. *Br.J Urol*; 80: PP 427-32.
- 88-Wilt T.J., MacDonald R., Ishani A.** (1999) beta-sitosterol for the treatment of benign prostatic hyperplasia: a systematic review. *BJU.Int*; 83: PP976-83.
- 89-Downie A.C., Fink C.S.** (2000) Inhibition of growth and stimulation of apoptosis by beta-sitosterol treatment of MDA-MB-231 human breast cancer cells in culture. *Int.J Mol.Med*; 5: PP 541-5.
- 90-Awad A.B., von Holtz R.L., Cone J.P., Fink C.S., Chen Y.C.** (1998) beta-Sitosterol inhibits growth of HT-29 human colon cancer cells by activating the sphingomyelin cycle. *Anticancer Res*; 18: PP 471-3.
- 91-Raicht R.F., Cohen B.I., Fazzini E.P., Sarwal A.N., Takahashi M.** (1980) Protective effect of plant sterols against chemically induced colon tumors in rats. *Cancer Res*; 40: PP 403-5.
- 92-De Stefani E., Boffetta P., Ronco A.L.** (2000) Plant sterols and risk of stomach cancer: a case-control study in Uruguay . *Nutr.Cancer*; 37: PP 140-4
- 93-Guo D.A., Vekatramesh M., et Nes W.D.** (1995) Developmental regulation of sterol biosynthesis in *Zea mays*. *Lipids*, 30, PP 203, 219.
- 94-Buleon A., Colonna P., Planchot V. & Ball S.** (1998) Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules* 23: PP 85–112.
- 95-Singh J., Kaur L. & Mccarthy O.J.** (2007) Factors influencing the physicochemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food application-A review. *Food Hydrocolloids*. 21: PP 1-22.
- 96-Atkin N.J., Cheng S.L., Abeysekera R.M. & Robards A.W.** (1999) Localisation of amylose and amylopectin in starch granules using enzyme-gold labelling. *Starch/Stärke*, 51: PP 163-172.
- 97-Arvisenet G.** (2001) Influence des interactions physico-chimiques entre amidons et composés d'arôme sur la libération des arômes et les propriétés rhéologiques dans des matrices aqueuses complexes - . Thèse de l'université de Bourgogne, Enesad, Ensba.
- 98-Guilbot A., Mercier C.** (1985) Starch, in *The polysaccharides*, Volume3, Edited by Gerald O.Aspinal, New York, Academic Press.

- 99-Leveque E., Haye B., Belarbi A.** (2000) L'amidon et ses dérivés, applications industrielles, Collection Bio Campus, Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS.
- 100-Regiant, A.M., Frollini, E., Marson, G.A., El Seoud O.A.** (1998) Second International Symposium on Natural Polymers and composites, PP 235-239.
- 101-Wurzburg O.B.** (1986) Modified starches: properties and uses. CRC Press, Inc.
- 102-Kelmn, D., Heinz, T., Phillip, B., Wagenknecht, W.** (1997) Acta Polymer 48, PP 277 – 297.
- 103-Multon J.L.** (2002) Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires, à l'exclusion des produits utilisés au niveau de l'agriculture et de l'élevage : pesticides, hormones, etc. 3ième édition, Collection Sciences et techniques agro- alimentaires, Edition Tec&doc. P 44.
- 104-Doublier J.L.** (2001) Caractérisation des empois, gels d'amidon et milieux complexes. *Formation Adria* des 21 et 22 mars 2001 à Nantes (France).
- 105-Chene C.** (2004) Les amidons 2ème partie. *Journal de l'adrianor, Agro-Jonction* N°35.
- 106-Chauveau J.C. et Chassaing J.P.** (2013) Introduction a la méthode des plans d'expériences par la méthode Taguchi. Compléments au cours d'asservissement.
- 107-Tinsson, W.** (2010) *Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques*, Mathématiques et Applications 67, DOI 10.1007/978-3-642-11472-4 1,c\_ Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- 108-Karam S.(2004)** Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt. Mémoire de doctorat; Université de Limoges, PP 5-15.
- 109-Goupy J.** (2005) Introduction aux plans d'expériences avec applications. 5 eme édition dunod, London ; PP 1-18.
- 110-Sier.** (1993) Informations et techniques. n°6.
- 111-Rabta B. et Bareche A.** (2000) Les plans d'expériences Exposé de statistique.
- 112-Abdelhakim.K** (2008) « détermination de modèles prédictifs des caractéristiques essentielles du béton de la région de m'sila (Plans d'expériences) ». Mémoire de magister spécialité : génie civil. Université de m'sila . P114.
- 113-Chauvel, A.M.** (1992) Résoudre un problème-Méthodes et outils pour une meilleur qualité.

**114-Schimmerling, P., Sisson, J.C., Zaidi, A.** (1998) Pratique des plans d'expériences, Technique et documentation.

**115-Tenenhaus, M.** (1998) La régression PLS. Théorie et pratique, 254 pages Paris. ISBN 2-7108-0735.

**116-COI. (1981)** Caractéristiques de la composition des huiles d'olives .T. 15 / Doc n°23.Madrid

**117-COI /T.** (2011) Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et aux l'huiles de grignons d'olive : 15/NC n° 3/Rev. 6.

**118-Mordrer F ., Oustille J.C. et Lacoste F.** (1997) Contrôle de qualité. Méthode physicochimique d'analyse des huiles d'olive. OCI. Vol N°4. P 365.

**119-Martinez Suarez, J.** (1973) Receintes estudios de la almazara experimental del instituo de la grasa. Riv. Ital. Dell Sost. Gr, 50 : PP 325-330.

**120-Salvador, M.D., Aranda, F. and Fregapane, G.** (2001) Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality: A study of four successive crop seasons. Food Chemistry, 73: PP 45-53.

**121-Matos L. C., Pereira J. A., Andrade P. B., Seabra R. M. and Oliveira M. B. P.P.** (2007) Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal olive oils. Food Chemistry, 102: PP 976–983.

**122-Sekour, B.** (2012) Phytoprotection de l'huile d'olive vierge (H.O.V) par ajout des plantes végétales (thym, ail, romarin). Mémoire de magister : Technologie Alimentaire. Université Boumerdes ; PP 6-45.

**123-COI. (2005)** Norme commerciale applicable à l'huile d'Olive et à l'huile de grignons d'olive. COI /T. 15/NC n°2/Rev.

**124-Torres, M.M. et Maestri, D.M.** (2006) The effects of genotype and extraction methods on chemical composition of virgin olive oils from Traslasierra Valley (Córdoba, Argentina). Food Chemistry, 96: PP 507-511.

**125-Kiritsakis, A.K.** (1998) Composition of olive oil. In Olive Oil from the tree to the table. Second Edition. Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, 006611, USA. PP 113-154.

**126-Di Giovacchino, L.** (2000) Technological Aspects. In : Handbook of olive oil : Analysis and properties . Harwood, J. et Aparicio, R. Edition : An Aspen Publication, USA, PP 17-59.

- 127-Christopoulos, E. Lazareki, M. Komaitis, M. Kaselimis, K.** (2004), Effectiveness of determinations of fatty acids and triglycerides for the detection of adulteration of olive oil with vegetable oils. *Food Chem.*, 84. PP 463 – 474.
- 128-Baccouri, B. Ben Temime, S. Taamalli, W. Daoud, D. M'Sallem, M. et Zarrouk, M.** (2007) Analytical characteristics of virgin olive oils from two new varieties obtained by controlled crossing on Meski variety. *Journal of Food Lipids*, 14. PP 19-34.
- 129-Kerboua, M.** (2003) La production et la consommation d'huile d'olive à l'horizon 2010 en Algérie. *Olivea*, 99. PP 56-58.
- 130-Mezghache, M. Henchiri, C. Martine, L. Berdeaux, O. Aouf, N. Juaneda, P.** (2010) Contribution à l'étude de la fraction insaponifiable de trois huiles d'olive issues des variétés Guasto, Rougette et Blanquette plantés dans l'est algérien, *fondamental, OCL VOL. 17 N° 5 PP 337-344*
- 131-Rivera Del Alamo, RM. Fregapane, G. Aranda, F. Gomez-Alonso, S. Salvador, MD.**(2004) Sterol and alcohol composition of Cornicabra virgin olive oil : The campesterol content exceeds the upper limit of 4 % established by EU regulations. *Food Chem ; 84. PP 533-7.*
- 132-Ben Temime, S. Manai, H. Methenni, K.** (2008) Sterolic composition of Chétoui virgin olive oil: Influence of geographical origin. *Food Chem; 110. PP 368-74.*
- 133-Pardo J.E., Cuesta M.A. and Alvarruiz A.** (2007) Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin "Aceite Campo de Montiel"(Ciudad Real, Spain).*Food Chemistry, 100: PP 977–984.*
- 134-Osland, R.E.** (2002) Phytosterols in human nutrition. *Annual Review of Nutrition, 22. PP 533-549.*
- 135-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. PP 593–598.*
- 136-Germain, J. and Brisson, PH.D.** (1982) *Lipids in Human Nutrition; canada : Ed masson : PP 5-6.*
- 137-Dupin, H. and Cuq, J.L.** (1992) *Human food and nutrition; France: Ed ESF, PP 139-160.*
- 138-Zhang, H., Jacobsen, C. and Adler-Nisen, J.** (2005) Storage stability study of margarines produced from enzymatically interesterified fats compared to margarines produced by conventional methods. I. Physical properties. *Eur. J. Lipid Sci. Technol. 107: PP 530-539.*

- 139-Frénot, M., and Vierling, E.** (2001) Biochemistry of dietary foods healthy subject; France:2<sup>ème</sup> Ed doin :P 21.
- 140-Chikhoun A.** (2010) Texture of a newly formulated margarine and effect of incorporated oils (hydrogenated and interesterified), Food Technology, Magister Thesis in Food Science, P 129.
- 141-Anwar F., Hussain A.I., Iqbal S. and Bhangar M.I.** (2006) enhancement of the oxidative stability of some vegetable oils by blending with Moringa Oleifera oil. Food chemistry. Article in press.
- 142-Zidani S** (2009) valorisation des pelures de tomates séchées en vue de leur incorporation dans la margarine, mémoire de magister : option technologie alimentaire. Université de Boumerdes ; PP 15-24
- 143-Kandhro A., Sherazi S.T.H., Mahesar S.A., Bhangar M.I., Younis Talpur M. et Rauf A.** (2008) GC-MS quantification of fatty acid profile including trans FA in the locally manufactured margarines of Pakistan. Food Chemistry. 109 : PP 207–211.
- 144-Stern, P. and Cmolik, J.** (1976) study of rheological properties of margarine, Journal of the American Oil Chemists' Society ; 53: P 644.
- 145-Hegdahl, T. and Gjerdet, N.R.** (1981) Flowing of Light-Bodied Elastic Impression Materials, *Acta. Odontol. Scand*, **39** (1): PP 33–38.
- 146-Vennat,B., Gross,D. and Pourrat,A.** (1992) Procyanidin Gels Based on Cellulose and Carrageenan Derivatives, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18 (14): PP 1535–1548.
- 147-Cuq, J.L.** (2007) Food Microbiology, Science and Technology of Food Industries, 16.
- 148-Chougui, N., Djerroud, N., Naraoui, F., Hadjal, S., Aliane, K., Zeroual, B. and Larbat, R.** (2014) Physicochemical properties and storage stability of margarine containing *Opuntia ficus-indica* peel extract as antioxidant. Food Chemistry, 173: PP 382–390.
- 149-Roudaut, H. and Lefrancq, E.** (2005) theoretical Food; France : Ed doin : P 45.
- 150-Yijun sang , S.B. Seib, P. Pedersen, J. Yong-Cheng, S.** (2008) Structure and Functional Properties of Sorghum Starches Differing in Amylose Content. *Agric. Food Chem.* **56**. PP 6680–6685.
- 151-Chemache L.** (2011) Qualité de deux spécialités fromagères fabriquées et commercialisées en Algérie. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires, Université de Constantine, Algérie. PP : 1-73.

**152-Rayan A.A., Kalab M., Ernstrom C.A.** (1980) Microstructure and rheology of process cheese. *Scanning Electron Microsc.* III, PP: 635–643.

**153-Heertje I., Boskamp M.J., Van Kleef F., Gortemaker F.H.** (1981) The microstructure of processed cheese. *Neth. Milk Dairy J.* vol. 35, PP 177–179.

**154-Kimura T., Sagara Y., Tanimoto M.** (1986) Microstructure of Cream cheese observed by cryo-SEM. Effects of melting salts and shear rate of the cheese structure during processing. *Reports of Research Laboratory, Snow Brand Milk Products Co.*, n. 83, PP: 43–54.

**155-Lelievre J., Shaker R.R., Taylor M.W.** (1990) The role of homogenization in the manufacture of Halloumi and Mozzarella cheese from recombined milk. *J. Soc. Dairy Technol.* vol. 43, PP: 21–24.

**156-Tamime A.Y., Kalab M., Davies G., Younis M.F.** (1990) Microstructure and firmness of processed cheese manufactured from Cheddar cheese and skim milk powder cheese base. *Food Struct.* vol. 9. PP: 23–37.

**157-Keenan T.W., Maher I.H., Dylewski D.P.** (1988) Physical equilibria: lipid phase. In: Wong N.P., *Fundamental Dairy Chemistry*, ed., Van Nostrand Reinbold Co., New York. PP: 511–582.

**158-Michalski M.C., Cariou R., Michel F., Garnier C.** (2002) Native vs. damaged milk fat globules : membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. *J. Dairy Sci.* vol. 85, PP 2451–2461.

**159-Tunick M.H., Cooke P.H., Malin E.L., Smith P.W., Holsinger V.H.** (1997) Reorganization of casein submicelles in Mozzarella cheese during storage. *Int. Dairy J.* vol. 7. PP: 149–155.

**160-McMahon D.J., Fife R.L., Oberg C.J.** (1999) Water partitioning in Mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability. *Journal of Dairy Science*, vol. 82, n. 7. PP: 1361–1369.

**161-Walstra, Pet Peleg, M.** (1991) General considerations. *in* Rheological and fracture properties of cheese. *in* FIL-IDF N°268.

**162-Dantas Cavalcante A.B.** (1995) Influence des facteurs de composition sur les propriétés texturales d'un fromage fondu de type "requeijao". Thèse de Doctorat. Institut national polytechnique de Lorraine, France. PP: 2-120.

**163-Sołowiej B., Dylewska A., Kowalczyk D., Sujka M., Mleko T., Mleko S.** (2016) The effect of pH and modified maize starches on texture, rheological properties and meltability of acid casein processed cheese analogues *Eur Food Res Technol journal*. PP: 1-9.

- 164-Marshall, J. R.** (1990) Composition, structure, rheological properties, and sensory texture of processed cheese analogues. *Journal Sci. Food Agric.* Vol 50. P 237.
- 165-Warner D.T.** (1981) Theoretical studies of water in carbohydrates and proteins. In: Rockland L.B., Stewart G. F. *Water activity: Influences on food quality.* Ed. Academic Press, Inc., New York. P 435.
- 166-Afnor** French collection of fats norms of animal and plant origins from 1982 to 1989 (In accordance with EN and AOCS). Ed : AFNOR.
- 167-Afnor** (2004) Practice norms in food microbiology, 300.
- 168-Afnor** (1986) Contrôle de qualité de produit laitier. Ed AFNOR, Paris .PP: 222-321.
- 169-Buléon, A., Colonna, P. et Leloup, V.** (1990) Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. IAA. juin 1990, PP 515–532.
- 170-Codex alimentary. (1989)** Norme codex pour les huiles d'olive vierges et raffinées et pour l'huile de grignons d'olive raffinée. Codex STAN 33-1981 (Rév. 1-1989).
- 171-COI/T.** (2001) Méthode d'analyse détermination des stigmastadiènes adiénés dans les huiles végétales. 20/Doc. n° 11/Rév.2.
- 172-ISO 3433,** (2002) Fromages -Détermination de la teneur en matière Grasse- Méthode acidobutyrométrique, International Organization of Standardization.
- 173-ISO 5534,** (2004) Fromages et fromages fondus -Détermination de la teneur totale en matière sèche (Méthode de référence), International Organization of Standardization.
- 174-Kochhar, S.P.** (1993) Deterioration of edible oils, fats, and foodstuffs. In: Atmospheric oxidation and antioxidants Vol II. Scott G. (Ed), Elsevier Science Publishers, London, PP 71-139.
- 175-Park, S.W. Addis, P.B.** (1985) Transformation des stérols et des dérivés stérols en dérivés triméthyl-silylés (TMS). *Anal Biochem*; 149. PP 275-83.
- 176-Sołowiej B., Cheung I., Li-Chan E.** (2014) Texture, rheology and meltability of processed cheese analogues prepared using rennet or acid casein with or without added whey proteins. *Int Dairy J journal.* Vol, 37. PP:87–94.

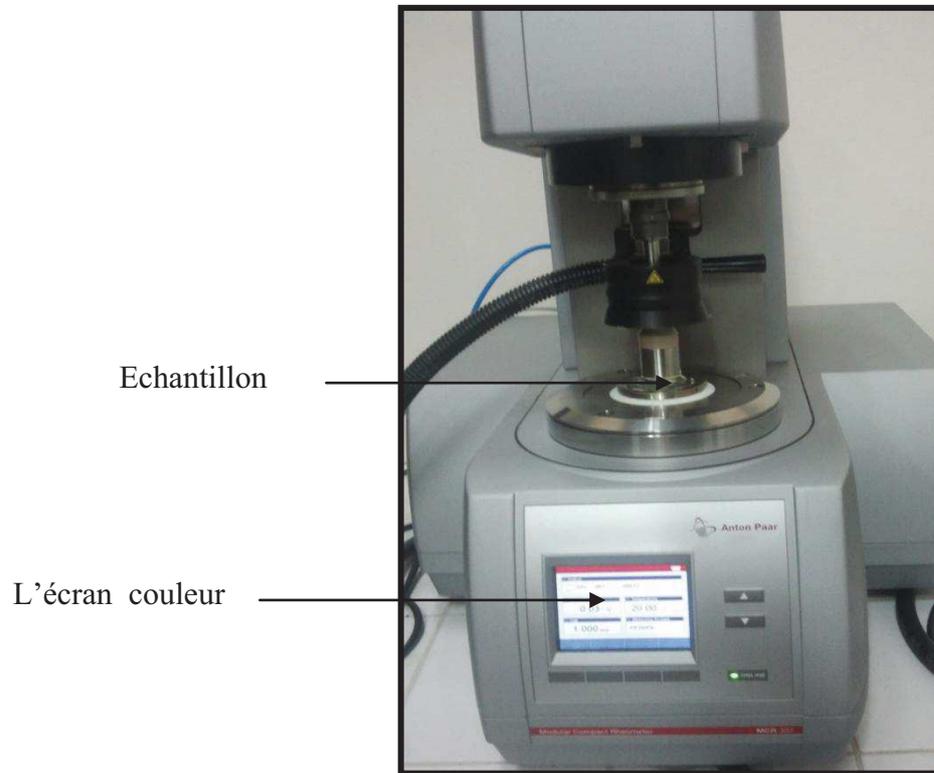
## ANNEXE

### L'extraction de la fraction insaponifiable

		
Huile + potasse alcoolique (1N)	Echantillon +100ml d'eau+ 100ml d'hexane	Lavage de l'extrait d'hexane avec un mélange de 100ml d'éthanol-eau

	
Passer la solution d'hexane à travers le sulfate de sodium anhydre	Evaporation sous vide par rotavapor

## Appareil de rhéologie



**Figure** : rhéomètre MCR 302 (Anton Paar GmbH, Graz, Autriche)

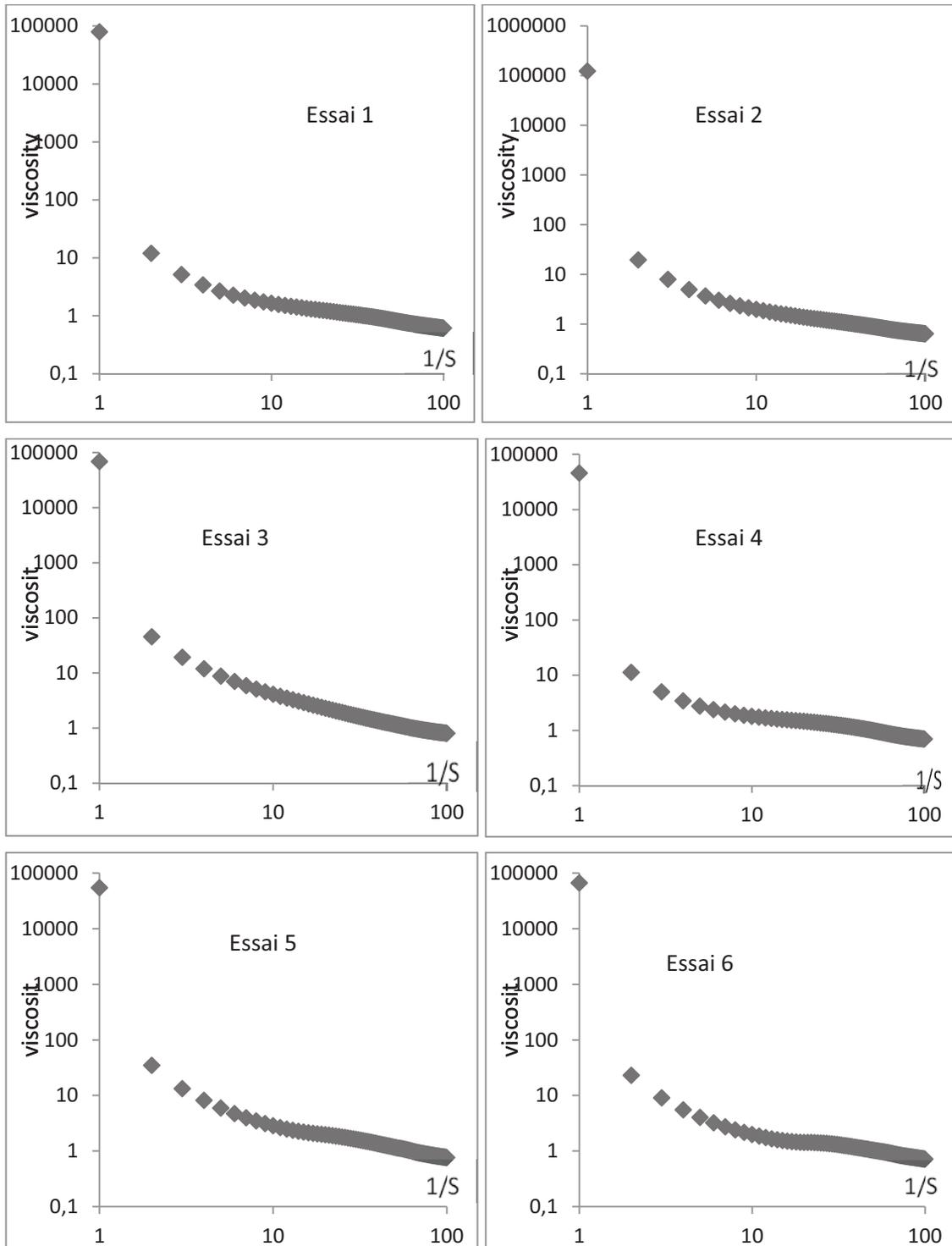
## Chromatographe phase gazeuse

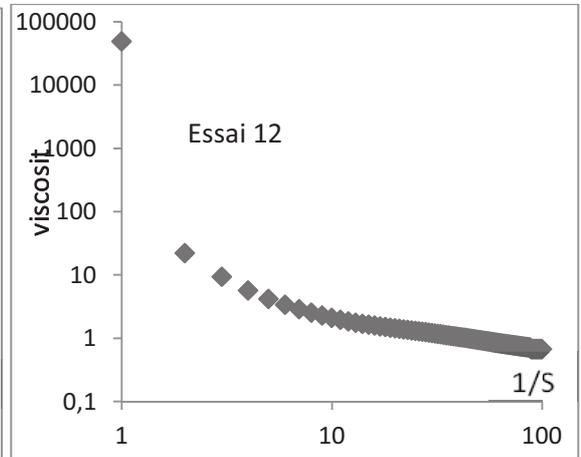
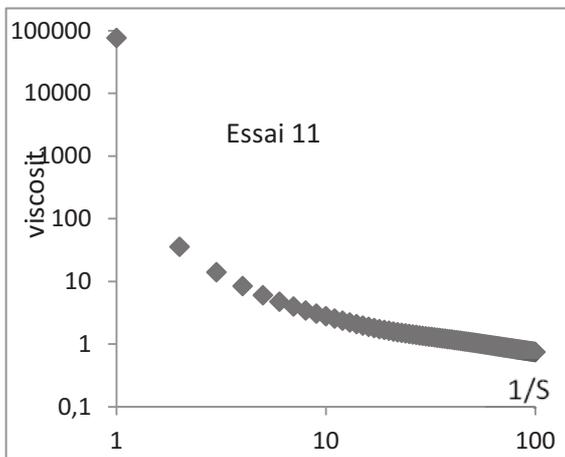
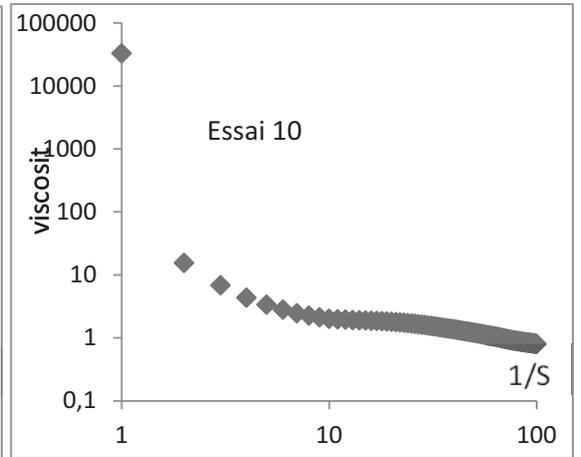
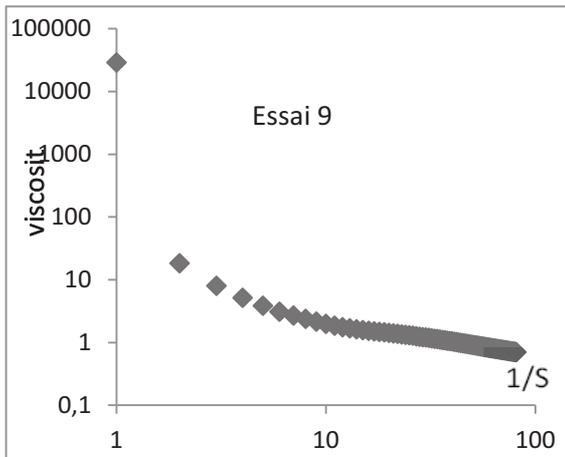
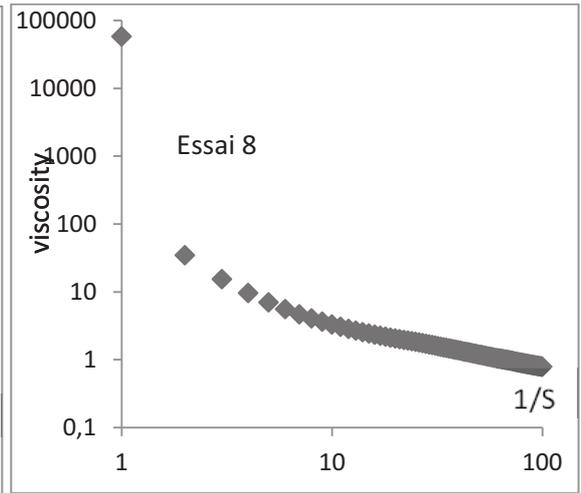
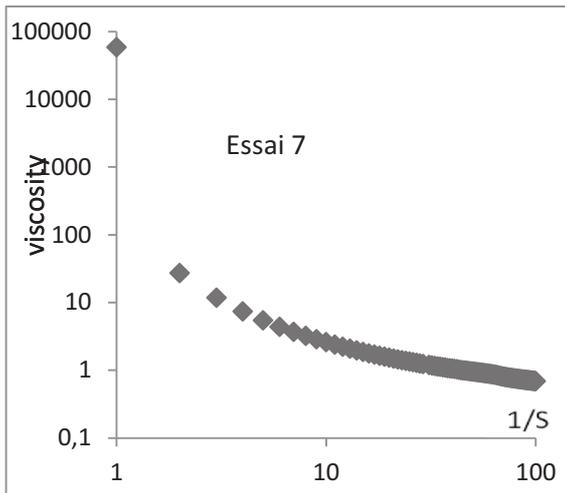


**Figure :** chromatographe phase gazeuse (DANI MASTER GC)

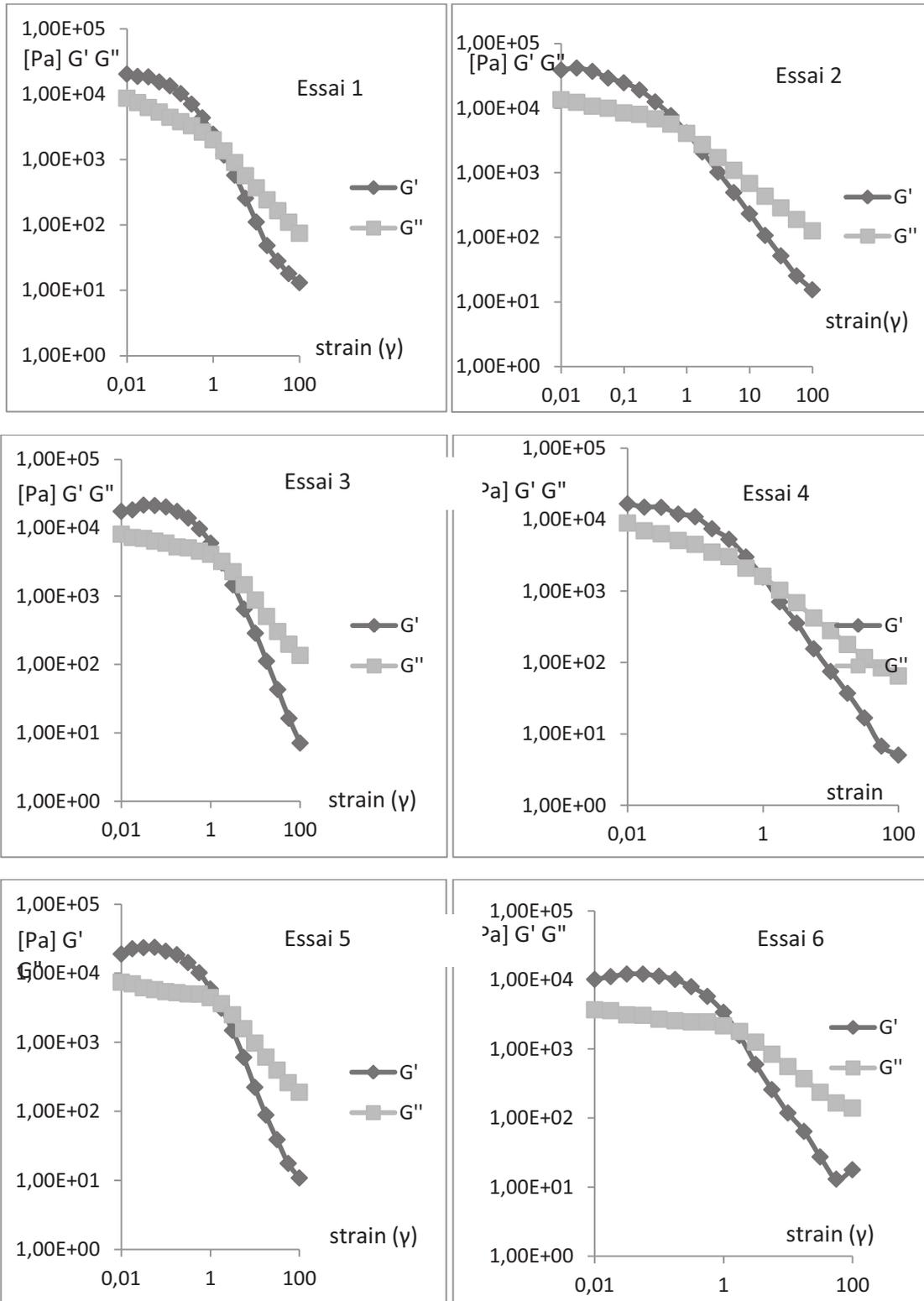
# Courbes rhéologiques margarine

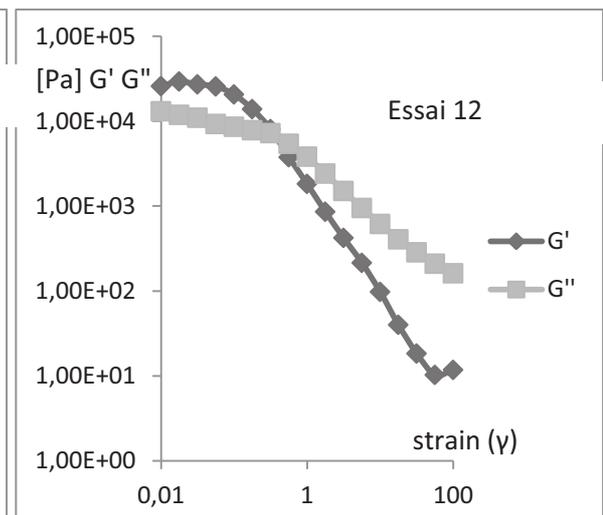
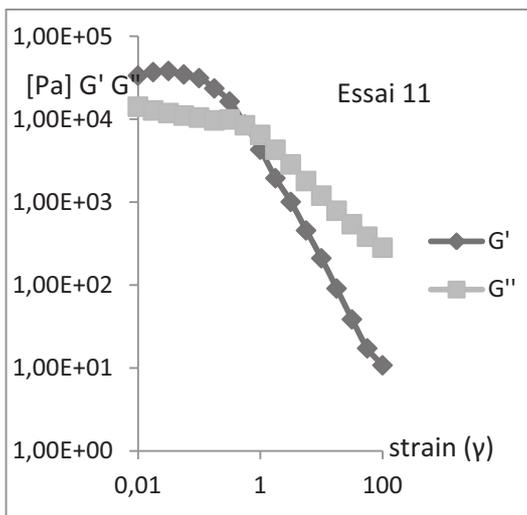
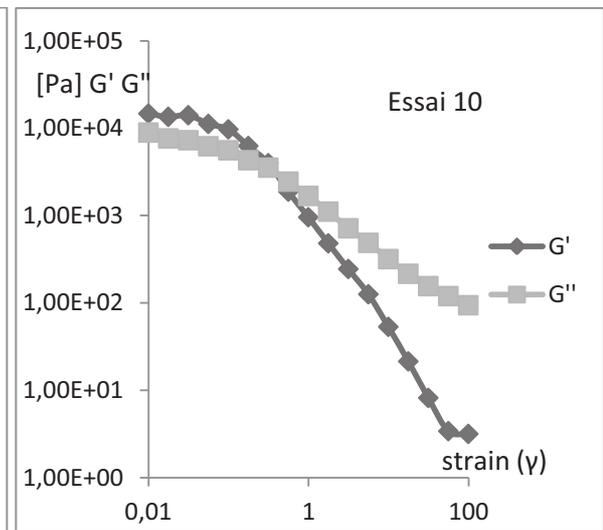
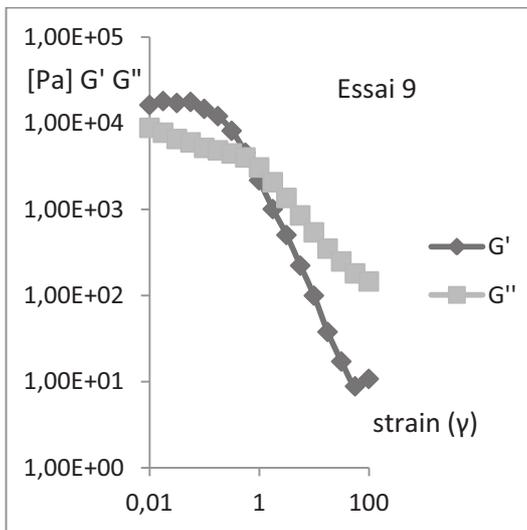
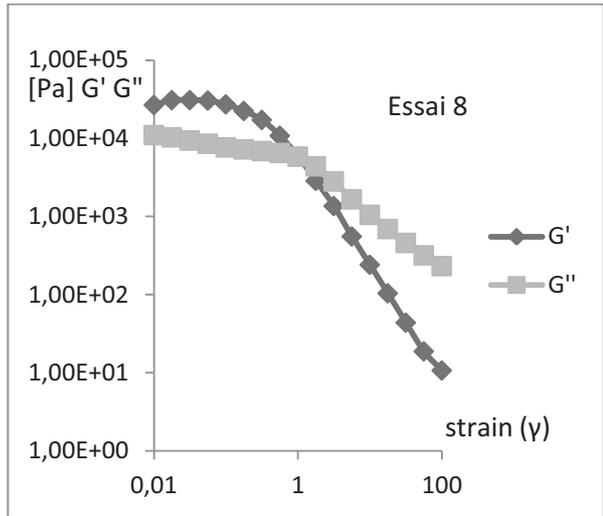
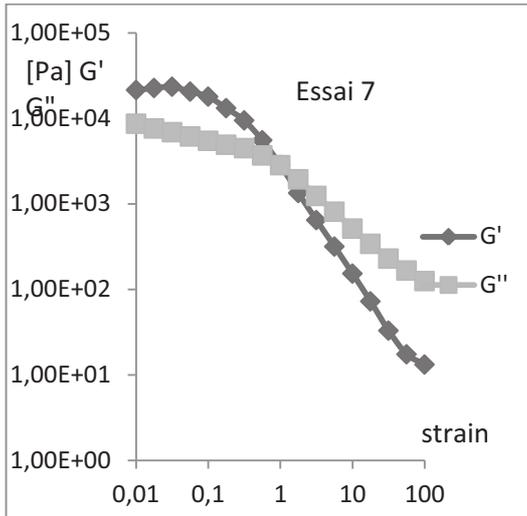
## Courbes d'écoulement



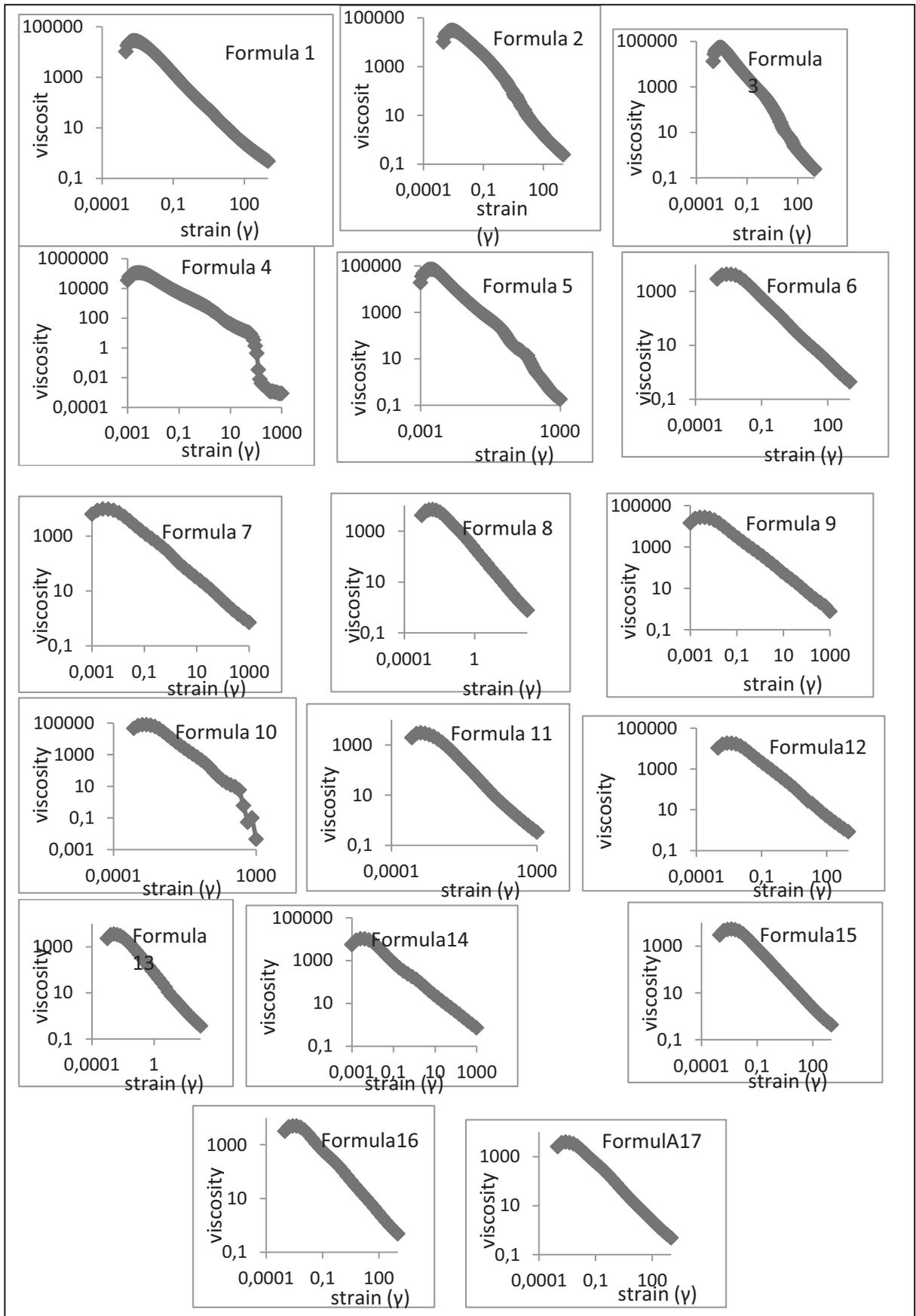


## Courbes de viscoélasticité de margarine





## Courbes d'écoulement de fromage fondu



**Tableau : définition des descripteurs de texture évalués lors de l'analyse sensorielle**

Descripteur	Définition
Tartinabilité	C'est probablement l'attribut le plus important pour les margarines de table. Pour le consommateur, la tartinabilité est la facilité avec laquelle la margarine peut être appliquée sur une couche mince et uniforme de pain
Granuleux/Farineux/lisse	$\beta'$ est la forme polymorphique désirée et recherchée dans les margarines et shortenings, car les cristaux de cette forme sont très petits et donc peuvent incorporer un large volume d'huile liquide dans le réseau cristallin ; donnant un produit lisse, continu et homogène, de surface et d'aspect brillant, contrairement à $\beta$ ; qui produit un aspect mat. $\beta'$ fournit une bonne texture à la margarine et aide à emprisonner et à maintenir l'air pendant la fouettée.
Texture et consistance	La consistance est la mesure de la douceur, de la régularité et de l'état plastique de la margarine. Elle peut se qualifier de très douce, douce, moyennement douce, ferme, dure et fragile. La texture est une mesure de la structure. Elle varie de lisse à farineuse, granulaire et grumeleuse. L'uniformité et la texture de la margarine dépendent principalement du processus et des huiles utilisées dans sa fabrication.
Séparation de la phase Huileuse	La séparation de la phase huileuse se produit quand la matrice cristalline est incapable de renfermer l'huile liquide. Ceci se produit en raison de la transformation des cristaux en forme $\beta$ . Ceux-ci ne cessent de se développer (entraînant une structure sableuse) et grandissent jusqu'à ce que le réseau ne puisse plus maintenir sa structure qui lui permet d'emprisonner l'huile liquide. Celle-ci s'exsude alors du produit.







