Élaboration d'une nouvelle margarine additionnée des huiles essentielles de *Citrus limon*

Louiza Himed¹ et Malika Barkat^{2,*}

¹ Laboratoire de Biotechnologie et Qualité des Aliments (BIOQUAL), Department de Technologie alimentaire, INATAA, Université Constantine 1, 25000 Constantine, Algérie

² Laboratoire de Biotechnologie et Qualité des Aliments (BIOQUAL), Department de Biotechnologie alimentaire, INATAA, Université Constantine 1, 25000 Constantine, Algérie

Reçu le 24 mai 2012 – Accepté le 23 octobre 2013

Résumé – Ce travail s'est concentré sur la valorisation des huiles essentielles de *Citrus limon*. Ces dernières ont été extraites par pression à froid et par hydrodistillation, les rendements obtenus sont équivalents, respectivement, à 1,02 % et 2,18 %. L'activité antioxydante des huiles extraites a été étudiée par le test de DPPH°, ce radical puissant a été efficacement réduit par l'HE₁, par l'HE₂ par comparaison au Tocoblend. Ces résultats ont été confirmés par le test de blanchissement du β -carotène. Les deux tests ont permis de classer les huiles essentielles de *Citrus limon* extraites parmi les antioxydants plus puissants par rapport au Tocoblend. L'essai de formulation des margarines de table additionnées d'huiles essentielles de *Citrus limon* a été expérimenté, en vue de les exploiter et de substituer un additif synthétique (le Tocoblend). Les caractéristiques physico-chimiques des margarines élaborées (gras, non gras et point de fusion) s'avèrent conformes à la recette préétablie. En outre, l'indice de peroxyde est conforme aux normes. L'analyse des acides gras a été faite par CPG, elle a montré la richesse de nos margarines en acides gras essentiels avec un rapport AGPI/AGS de 0,85. L'évaluation de la stabilité oxydative est réalisée par les tests de Rancimat et Schaal, les résultats obtenus ont montré que les margarines à huiles essentielles de *Citrus limon* étaient plus résistantes que celle au Tocoblend et que la margarine à l'HE₁ était la plus résistante vis-à-vis de l'oxydation forcée. La métrologie sensorielle a été faite par les assesseurs de la margarinerie de CEVITAL et indique que les margarines aux huiles essentielles obtenues sont considérées comme étant homogènes, de couleur, de saveur et d'odeur acceptables et appréciées.

Mots clés : Huile essentielle / *Citrus limon* / pression par froid / hydrodistillation / Tocoblend / Margarine

Abstract – Development of a new margarine added essential oils of *Citrus limon*. This work concentrated on the valorization of essential oils of *Citrus limon*. These last were extracted by cold press (HE₁) and by hydrodistillation (HE₂), the results gave outputs of 1.02% and 2.18%, respectively. The antioxidant activity of extracted oils was studied by the test of DPPH, this powerful radical was effectively reduced by the HE₁, the HE₂ that by Tocoblend. These results were confirmed by the test of whitening of β -carotene. The two tests have enable to us to classify essential oils extracted among antioxidants powerful compared to Tocoblend. The test of formulation of the margarines of table added with essential oils of *Citrus limon* was tested, in order to exploit them and to substitute a synthetic additive (Tocoblend). The physicochemical characteristics of the elaborate margarines prove to be in conformity with the preestablished receipt. Moreover, the peroxide index is in conformity with the standards. The analysis of fatty acids was made by CPG; it showed the richness of our margarines in essential fatty acids with a ratio AGI/AGS of 0.85. The evaluation of oxidative stability is carried out by the tests of Rancimat and Schaal, the results obtained reported that the margarines with essential oils were more resistant than that to Tocoblend and than that with the HE₁ was most resistant opposite forced oxidation. Sensory metrology was made by the assessors of the margarinery of CEVITAL, margarines are considered as homogeneous and their color, savour and odour are acceptable and appreciated.

Keywords: Essential oil / *Citrus limon* / cold press / hydrodistillation / Tocoblend / margarine

* Correspondance : barkat.inataa@yahoo.fr

1 Introduction

Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences en sécurité alimentaire. Parmi ces produits alimentaires, la margarine, émulsion plastique constituée essentiellement de deux phases grasse et aqueuse, contient en outre 2 % d'additifs hydro et liposolubles. Sa composition est représentée à 82 % par un mélange d'huiles : première cible de l'oxydation (Karleskind, 1992). L'oxydation des lipides est une cause majeure de dégradation de la margarine lors de sa fabrication et de sa conservation. La conséquence la plus perceptible de celle-ci est l'apparition d'odeurs désagréables. Ces odeurs conduisent souvent au rejet du produit par le consommateur (Prior, 2003). Ainsi, pour garantir une durée de conservation prolongée, les antioxydants sont-ils largement utilisés. Vu l'importante capacité de production et la diversification des produits alimentaires, l'utilisation des antioxydants ne cesse d'augmenter. Ainsi, les substances naturelles douées d'activité antioxydante présenteraient-elles un intérêt socioéconomique sans équivoque. La possibilité d'utilisation des huiles essentielles, en tant qu'antioxydants, dépend de la facilité de leur incorporation dans la matrice alimentaire et de leur efficacité à faible dose. Elles ne doivent pas être toxiques et n'entraîner ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirables. Elles doivent être résistantes aux processus technologiques et stables dans le produit fini. Dans ce contexte s'inscrit ce présent travail dont les principaux objectifs sont de valoriser les écorces (zeste) du citron par l'utilisation de leurs huiles essentielles comme additif alimentaire naturel dans la margarine de table en substitution à l'additif synthétique (le Tocoblend), de diversifier les différents types de margarine de table existants sur le marché et d'utiliser un additif ou antioxydant alimentaire recherché par le consommateur d'une part et produit facilement et localement, donc moins coûteux d'autre part.

2 Matériel et méthodes

2.1 Huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles à partir du zeste de citron frais est effectuée par deux procédés : pression à froid et hydrodistillation, respectivement codées HE₁ et HE₂. La mise en évidence du pouvoir antioxydant des huiles essentielles extraites (HE₁ et HE₂) a été réalisée par deux tests chimiques : la mesure de l'activité de balayage d'un radical libre puissant DPPH° (2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl) (Mansouri *et al.*, 2005), et la dégradation du β -carotène en présence de l'acide linoléique (Kartal *et al.*, 2007).

L'activité antiradicalaire, réalisée par la méthode de DPPH°, est estimée selon la formule suivante : $AAR\% = [(Abs_{517} \text{ contrôle négatif} - Abs_{517} \text{ échantillon}) / Abs_{517} \text{ contrôle négatif}] \times 100$ (AAR% : activité antiradicalaire ; Abs₅₁₇ : absorbance lue à 517 nm).

L'activité antioxydante relative des échantillons (AAR), déterminée par le test de blanchissement du β -carotène, est calculée selon l'équation suivante :

$$AAR = Abs_{t=48 \text{ h}}(\text{échantillon}) / Abs_{t=48 \text{ h}}(\text{Tocoblend})$$

(AAR : activité antioxydante relative ; Abs_{t=48 h} : absorbance lue à 490 nm après 48 h).

2.2 Formulation de la margarine

La fabrication des margarines est réalisée dans une chaîne pilote au niveau de la margarinerie CEVITAL située dans la région de Bejaïa, Algérie. Après dosage des deux phases et leurs ingrédients, des opérations d'émulsification, de cristallisation, de pasteurisation (chauffage à 80 °C pendant 3 à 4 s sous pression de vapeur de 3 bars) et de refroidissement (45 °C par la circulation d'eau afin d'éviter un choc thermique) sont réalisées. L'émulsion cristallisée est acheminée par la trémie jusqu'au malaxeur. Cet appareil va désaérer et malaxer le mélange en lui donnant consistance, souplesse et homogénéité. Les margarines ainsi produites ont une température de 20,8 °C et sont conditionnées dans des barquettes en plastique et stockées au réfrigérateur à une température de 4 °C.

2.3 Caractérisation physico-chimique des margarines élaborées

La teneur en eau et des matières volatiles est déterminée selon la méthode de Wolff (1968). Les deux parties, grasse et non grasse, sont séparées grâce à une extraction par solvants et leur masse est calculée après séchage à l'étuve réglée à 105 °C (Wolff, 1968). La teneur en acides gras a été déterminée par CPG (NF EN ISO 5508, 1995). Le pH est déterminé directement sur la phase aqueuse, après sa séparation du produit, à l'aide d'un pH-mètre (AFNOR, 1982). L'indice de peroxyde a été déterminé selon la méthode proposée par AOCS (1997). Le taux de solide SFC (*solid fat content*) est évalué par la méthode de Wolff (1968). Il est exprimé en pourcentage et constitue une caractéristique physique importante influençant beaucoup les propriétés technologiques et sensorielles des corps gras : la texture.

La stabilité oxydative de la margarine est évaluée par le test de Rancimat (ISO 6886, 2006) et le test de Schaal (méthode à l'étuve) (Anwar *et al.*, 2006).

3 Résultats et discussion

3.1 Rendement d'extraction en huiles essentielles

Le rendement moyen en HE₁ est moins important que le rendement moyen en HE₂. Ils équivalent respectivement à 1,02 % ± 0,04 % et 2,18 % ± 0,05 %. Au seuil $\alpha = 0,05$, les deux rendements présentent une différence significative, ce qui implique que le mode d'extraction a un impact sur le rendement. Donc du point de vue quantitatif, il est intéressant de procéder à l'extraction des huiles essentielles de citron par hydrodistillation.

3.2 Effet Scavenger du radical DPPH°

Le Tableau 1 représente les concentrations efficaces du substrat qui causent la perte de 50 % de l'activité de DPPH°

Tableau 1. Concentration efficace (EC50) et puissance antiradicalaire (ARP) des huiles extraites (HE₁, HE₂) et du Tocoblend.

Echantillon	Test au DPPH°	Test de blanchissement du β -carotène		
	EC 50 (g/l)	ARP	EC 50 (g/l)	ARP
Tocoblend	0,0082 $\pm$ 0,0004	121,95 $\pm$ 0,80	0,0065 $\pm$ 0,0052	153,84 $\pm$ 0,09
HE ₁	0,0044 $\pm$ 0,0007	227,27 $\pm$ 1,73	0,0031 $\pm$ 0,0302	322,58 $\pm$ 0,02
HE ₂	0,0054 $\pm$ 0,0005	185,18 $\pm$ 0,75	0,0047 $\pm$ 0,0012	212,76 $\pm$ 0,00

Tableau 2. Caractéristiques physico-chimiques des margarines élaborées.

Paramètres	Margarine au Tocoblend	Margarine à HE ₁	Margarine à HE ₂
Teneur en eau et en matières volatiles (%)	15,72 $\pm$ 0,15	15,98 $\pm$ 0,10	16,02 $\pm$ 0,10
Teneur en non gras (%)	21,83 $\pm$ 0,05	21,70 $\pm$ 0,13	22,09 $\pm$ 1,01
Teneur en gras (%)	78,17 $\pm$ 1,27	78,30 $\pm$ 0,06	77,91 $\pm$ 0,01
pH	4,70 $\pm$ 0,00	4,80 $\pm$ 0,00	5,00 $\pm$ 0,00
Indice de peroxyde (meq/kg)	1,97 $\pm$ 0,02	1,89 $\pm$ 1,12	1,92 $\pm$ 1,14
Point de fusion (°C)	37,00 $\pm$ 0,00	37,20 $\pm$ 0,00	37,00 $\pm$ 0,00

ainsi que l'activité antioxydante relative. Il démontre que les huiles essentielles obtenues sont des excellents antioxydants naturels. Elles possèdent des capacités de neutralisation de DPPH° puissantes à de faibles doses en les comparant à celle du Tocoblend. En suivant l'EC50, la capacité de balayage de radical libre DPPH° est classée dans l'ordre : HE₁ > HE₂ > Tocoblend.

3.3 Test de blanchissement du β -carotène

Un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire (Liyana-Pathirana *et al.*, 2006). Selon plusieurs auteurs, le test d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique couplée à celle du β -carotène, paraît très utile comme un modèle mimétique de la peroxydation des lipides dans les membranes biologiques (Ferreria *et al.*, 2006). Les résultats signalés dans le Tableau 1 confirment les résultats précédents du test de neutralisation de DPPH° concernant le classement de la capacité d'inhibition de l'oxydation (HE₁ > HE₂ > Tocoblend).

3.4 Caractéristiques physicochimiques des margarines élaborées

Les résultats de la caractérisation physico-chimique des margarines élaborées (margarine avec le Tocoblend et margarines à huiles essentielles de *Citrus limon* HE₁ et HE₂) sont représentés dans le Tableau 2. La composition en matière grasse et en eau des margarines élaborées correspondent aux critères fixés en amont de leur fabrication, critères de type margarine à tartiner. L'indice de peroxyde rend compte de l'altération des corps gras par oxydation, inconvénient majeur touchant essentiellement les acides gras insaturés (AGI). Nos produits présentent un indice de peroxyde moyen de 1,90 $\pm$ 1,13 méqO₂/kg, valeur inférieure à 5 méq/kg, maximum requis par les normes (Karleskind, 1992). Le point de fusion moyen obtenu est de 37 °C, correspond à celui choisi

Fig. 1. Composition en acides gras de la margarine à l'HE₁.

pour la recette retenue. Il doit être fixé de manière à ce que la margarine soit fondante dans la bouche mais aussi plastique à température ambiante pour supporter le travail mécanique lors de la tartinabilité.

3.5 Composition en acides gras des margarines élaborées

La Figure 1 représente la composition en acides gras de l'une des trois margarines élaborées : la margarine à huile essentielle de *Citrus limon* extraite par expression à froid ; cela est justifié par la différence significative entre leurs compositions chimiques. La composition en acide gras reflète la teneur en acides gras des huiles végétales utilisées (huile de tournesol, huile de palme, huile de palme hydrogénée et huile de coprah hydrogénée). La présence des acides caprylique, caprique, laurique et myristique à des teneurs de 0,39, 0,37, 5,12 et 2,26 % respectivement proviennent de l'huile de coprah. L'acide palmitique présente une teneur de 24,96 %, celle-ci provient de l'huile de palme entrant dans la recette de notre margarine. L'huile de palme renferme des teneurs importantes en acides stéarique, oléique, linoléique, et des traces de l'acide linoléique. L'acide oléique s'avère avec une teneur importante (25,47 %) dans notre margarine. La margarine ainsi analysée (à HE₁) contient 56,57 % d'acides gras insaturés (AGI) dont 25,47 % sont des acides gras monoinsaturés (AGMI) et 31,10 % sont des acides gras polyinsaturés (AGPI). Cette composition apporte les acides gras essentiels (AGE). Le rapport AGI/AGPI de notre margarine est de 0,85,

Fig. 2. Indice SFC de la margarine témoin et des margarines aux huiles essentielles de *Citrus limon* (HE₁, HE₂).

il est toutefois conforme aux recommandations des nutritionnistes qui est de l'ordre de 0,80 (Karleskind, 1992).

3.6 Analyse de la texture par RMN (SFC)

L'indice SFC se rapporte au pourcentage des matières grasses qui sont solides à des températures différentes. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure 2. Le SFC est un facteur essentiel à déterminer, car il est responsable de plusieurs caractéristiques du produit, y compris son aspect général, l'exsudation d'huile et les propriétés organoleptiques (Noor Lida *et al.*, 2002). Pour les margarines à tartiner, le SFC ne doit pas dépasser 40 % à 5 °C et pas plus de 6 % à 37 °C (De Greyt et Huyghebaert, 1993) ou pas plus de 32 % à 10 °C (Charteris et Keogh, 1991). Les margarines élaborées sont plastiques et faciles à tartiner. À 37 °C, l'indice de SFC est inférieur à 6 % et donc les margarines fondent facilement dans la bouche. Aussi, il faut noter qu'à 95 % il n'y a aucune différence significative entre ces margarines concernant ce paramètre, indicateur de texture, et cela pour les différentes températures.

3.7 Stabilité oxydative de la margarine

Les courbes mentionnées dans la Figure 3 représentent les résultats de la stabilité à l'oxydation des margarines au Tocoblend, à l'huile essentielle de *Citrus limon* par le test de Rancimat. À partir des courbes de conductivité obtenues, le temps d'induction des margarines au Tocoblend, à l'HE₁ et à l'HE₂ est respectivement équivalent à 3,76 h, 6,42 h et 6,31 h. La margarine à l'HE₁ a présenté la meilleure résistance à l'oxydation forcée par rapport aux deux autres. La margarine à l'HE₂ a mieux résisté que celle au Tocoblend. Aussi, il faut noter qu'il y a une différence significative entre les temps d'induction des deux huiles et celui du Tocoblend. Par ailleurs, aucune différence significative entre les temps d'induction des deux huiles n'a été constatée. Le Tableau 3 représente le facteur de protection (Fp = activité antioxydante relative) du Tocoblend et des huiles essentielles HE₁ et HE₂ sachant que la période d'induction de la margarine sans Tocoblend et sans huiles essentielles est de 2,05 h. Par comparaison de l'efficacité de résistance à l'oxydation forcée et de l'activité antioxydante relative, nous pouvons mettre en ordre croissant l'effet antioxydant de nos huiles et du Tocoblend additionnés aux margarines comme suit : HE₁ > HE₂ > Tocoblend.

Tableau 3. Facteurs de protection (Fp) du Tocoblend et des huiles essentielles (HE₁ et HE₂).

Échantillon	PI (h)	Fp (AAR)
Tocoblend	3,76 ± 0,05	1,83 ± 0,03
HE ₁	6,42 ± 0,04	3,13 ± 0,02
HE ₂	6,31 ± 0,02	3,07 ± 0,01

La variation de l'indice de peroxyde en fonction de la durée de stockage obtenue par le test de Schaal, est illustrée par la Figure 4. L'indice de peroxyde a atteint son seuil limite d'altération (5 meq/kg) à partir de la 6^e semaine pour la margarine à huile essentielle extraite de *Citrus limon* par expression à froid, à partir de la 5^e semaine pour la margarine à l'huile essentielle extraite par hydrodistillation et seulement à partir de la 4^e semaine pour la margarine à Tocoblend. Aucune différence significative n'a été observée entre l'indice de peroxyde des trois margarines après la première semaine et entre les deux margarines à l'huile essentielle (HE₁, HE₂) après la 4^e semaine. Au-delà de ces périodes, une différence significative a été constatée. Une diminution de la teneur en peroxyde de la margarine au Tocoblend, à l'HE₂ et à l'HE₁ a été constatée respectivement à partir de la 6^e, la 8^e et la 9^e semaine. Cela peut être expliqué par la décomposition des peroxydes sous l'effet de la température en aldéhydes, cétones et acides gras à chaîne courte. Les margarines à l'huile essentielle ont mieux résisté à la peroxydation que celle au Tocoblend. La margarine à l'HE₁ est mieux protégée contre l'oxydation que celle à l'HE₂. Le classement en fonction de l'ordre d'efficacité antioxydante est comme suit : HE₁ > HE₂ > Tocoblend. Ces résultats concordent avec le classement constaté dans le test au DPPH°, dans le test de blanchissement de β -carotène et dans le test de Rancimat.

4 Conclusion

Le présent travail a pour objectif l'exploitation des écorces de *Citrus limon* (variété *Eurêka*) et leur valorisation par l'utilisation de leurs huiles essentielles à travers leur activité antioxydante et leur prix moins coûteux en les comparant à un antioxydant artificiel importé (le Tocoblend) utilisé au niveau de la marginerie de CEVITAL.

L'évaluation du rendement moyen en huiles essentielles de *Citrus limon* extraites par hydrodistillation est plus intéressante. L'activité antioxydante déterminée par le test de DPPH° et le test de blanchissement du β -carotène montre que les huiles essentielles extraites sont des excellents antioxydants naturels. L'essai de formulation des margarines de table additionnées d'huiles essentielles de *Citrus limon* a été expérimenté, en vue de substituer le Tocoblend. Les indices de caractérisation des margarines élaborées (gras, non gras et point de fusion) s'avèrent conformes à la recette préétablie. En outre, l'indice de degré d'altération par oxydation (indice de peroxyde) est conforme aux normes. L'analyse des acides gras par CPG a révélé la présence des acides gras essentiels avec un rapport AGI/AGPI de 0,85, il est toutefois conforme aux recommandations des nutritionnistes. Les résultats de l'évaluation de la stabilité oxydative par les tests de Rancimat et Schaal indiquent que les margarines à huiles essentielles de *Citrus limon* sont

Fig. 3. Courbes de conductivité de la margarine au Tocoblend (A), à l'HE₁ (B) et à l'HE₂ (C).

Fig. 4. Variation de l'indice de peroxyde en fonction du temps de stockage, des margarines au Tocoblend, à HE₁ et à HE₂.

plus résistantes que celle au Tocoblend ; la margarine à l'HE₁ est la plus résistante vis-à-vis l'oxydation forcée.

References

- AFNOR. 1982. Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits, ed. AFNOR.
- Anwar F, Jamil A, Iqbal M. 2006. Microwave roasting effects on the physiochemical composition and oxidative stability of sunflower seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 83: 777–784.
- AOCS. 1997. Official and tentative methods of the American Oil Chemists' Society.
- Chateris W, Keogh K. 1991. Fats and oil in table spread. *Lipid Technol.* 3: 16–22.
- De Greyt WO, Huyghebaert A. 1993. Food and nonfood applications of milk fat. *Lipid Technol.* 5: 138–140.
- Ferreria A, Proenca C, Serralheiro MLM, Araujo MEM. 2006. The *in vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. *J. Ethnopharmacol.* 108: 31–37.
- ISO 6886. 2006. Corps gras d'origines animale et végétale – Détermination de la stabilité à l'oxydation (essai d'oxydation accéléré, Les Normes internationales pour les entreprises les gouvernements et la société.
- Karleskind A. 1992. Manuel des Corps Gras. Paris: Tech & Doc, Tome 1 et Tome 2.
- Kartal N, Sokmen M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A. 2007. Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chem.* 100: 584–589.
- Mansouri A, Embarek G, Kokkalou E, Kefalas P. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chem.* 89: 411–420.
- NF EN ISO 5508. 1995. Corps gras d'origines animale et végétale – Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras.
- Noor Lida HMD, Sundram K, Siew WL, Aminah A, Mamot S. 2002. TAG composition and solid fat content of palm oil, sunflower oil, and palm kernel olein blends before and after chemical interesterification. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 79: 1137–1144.
- Peyron L, Richard H. 1992. Extraction des épices et herbes aromatiques et différents types d'extraits. In Richard H, ed. Épices et aromates, Paris: Tec et Doc - Lavoisier, APRIA.
- Prior E. Usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire. In: Graille J, ed. Lipides et corps gras alimentaires, 2003, 87–147.
- Wolff JP. 1968. Manuel d'analyse des corps gras, Paris: Azoulay.