

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M<sup>elle</sup> Mazouz Dalal

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN AGRONOMIE**

**Spécialité : BIOTECHNOLOGIE ALIMENTAIRE**

### THÈME

L'effet de l'ajout des antioxydants naturels à la viande ovine  
hachée

Soutenue publiquement le : 13/ 07 /2016

DEVANT LE JURY

<b>Président</b>	M. Ghelamallah Amine	Maitre de conférences
<b>Encadreur</b>	M. Benabdelmoumene D.	Maitre de conférences
<b>Examinatrice</b>	M. Keddoum Ramdane.	Maitre de conférences

*Thème réalisé au Laboratoire de Biochimie N° 02 SNV- Université de Mostaganem*

## *Remerciements*

*Je voudrais exprimer ma très vive gratitude et mes sincères remerciements à :*

*Mon directeur de mémoire : M. BENABDELMOUMENE Djilali, pour sa patience, sa rigueur, ses conseils à chaque étape du travail qui nous ont permis de faire évoluer problématique, méthodologie, résultats et réflexions présentés dans ce travail.*

*Comme je tiens à remercier profondément le Dr GHÉLAMELLAH Amine pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider la commission d'examen.*

*Mes vifs remerciements vont également à :*

*-M. Keddam Ramdane.*

*-Dr AIT SAADA pour ses encouragements, son enthousiasme et son dynamisme.*

*A toute l'équipe d'enseignants du parcours Master-biotechnologie pour leur aide, conseils, orientation et disponibilité.*

*Je remercie enfin mon mari, ma famille et toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont supporté, encouragé, aidé dans cette recherche et dans la rédaction de ce mémoire.*

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction.....	1
<b>Chapitre 1 : Caractéristiques nutritionnelles des viandes</b>	
Introduction.....	3
1. La viande ou les viandes: une grande variété.....	3
2. Teneur en lipides et en protéines.....	4
2.1. Composition en acides gras.....	6
2.2. Apports en fer, zinc et sélénium.....	7
2.3. Vitamines du groupe B.....	7
2.4. Qualité des protéines et du fer.....	7
a) Protéines et acides aminés.....	7
b) fer sous forme héminique.....	9
Conclusion.....	10
<b>Chapitre 2 : conservation des viandes par le froid</b>	
1. Historique et généralités.....	13
2. Rôle du froid dans l'agro-alimentaire.....	14
3. Congélation.....	14
3.1. Congélation lente.....	15
3.2. Congélation rapide.....	15
3.3. Congélation ultra rapide (surgélation).....	17
4. Décongélation des viandes.....	17
4.1 viandes en carcasses.....	17
4.2. viandes désossées en caisses.....	19
5. Modifications de la viande rouge congelée.....	19
5.1. Modification physique.....	19
5.1.1. Modifications de consistance.....	19
5.1.2. Modifications de couleurs.....	19
5.1.3. Perte de poids.....	20
5.2. Modifications histologiques.....	20

5.3. Modifications chimiques.....	20
5.3.1. Modifications des matières azotées.....	20
5.3.2. Dénaturation des protéines.....	21
5.3.3. Dégradation des lipides.....	21
5.3.4.évolution du ph.....	22
5.3.5. Pouvoir de rétention d'eau.....	22
6. Sensibilité des microorganismes a la congélation.....	22

### **Chapitre 3 : Oxydation des lipides**

1. Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides.....	24
1.1. Auto-oxydation.....	25
2. Initiateurs de l'oxydation des lipides.....	30
2.1. Initiation par les formes activées de l'oxygène.....	30
2.2. Initiation par les métaux.....	30
2.3. Facteurs environnementaux.....	31
3. Produits formés au cours de l'oxydation des lipides.....	31
3.1. Produits primaires.....	31
3.2. Produits secondaires.....	32
3.3. Produits d'interaction entre les produits d'altération des lipides et les Protéines.....	32

### **Chapitre 4 : Citronnier : Huiles essentielles et essence citronnier**

1. Introduction.....	33
2. Usage en phytothérapie.....	33
3. Usage en aromathérapie.....	34
3.1. Zeste.....	34
3.2. Feuille.....	34
4. Description botanique du citronnier.....	35
5. Caractéristiques de l'HE et de l'essence de citronnier/ zeste.....	36

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **Chapitre 1 : Matériels et méthodes**

1. Objectif.....	38
2. Laboratoire d'analyse.....	38
3. Récupération des feuilles et préparation des échantillons.....	38
4. Méthodes.....	39
5. Extraction de l'huile essentielle des feuilles de citronnier.....	39
5.1. Extraction par hydro distillation.....	39
5.2. Extraction par entrainement par la vapeur (la cocote).....	40
5.3. Calcul du rendement.....	40
6. Préparation des dilutions.....	40
7. Échantillonnage.....	41
8. Analyses physico-chimiques.....	41
8.1. Dosages de la matière sèche et de la teneur en eau (Méthodes thermogravimétriques).....	41
a. Matériel.....	41
b. Calcul et expression des résultats.....	41
8.2. Méthodes de dosage de cendres M.S.D.A 2004.....	42
a. Calcul et expression des résultats.....	42
8.3. Détermination de la matière organique (AFNOR, 1985).....	42
8.4. Dosage des lipides totaux (SOXHLET).....	42
a. Principe.....	42
b. Mode opératoire.....	44
8.5. Estimation du degré d'oxydation des lipides de la viande hachée ovine (TBA).....	44
a. Principe.....	44

b. Mode opératoire.....	44
c. Expression des résultats.....	45
Chapitre 2 : Résultats et discussion	
1. Résultats.....	46
1.1. Estimation du degré d'oxydation des lipides de la viande hachée.....	46
1.2. Matière sèche.....	47
1.3. Matière minérale.....	48
1.4. La teneur en lipides totaux.....	49
2. Discussion.....	50
Conclusion générale.....	52

## Liste des tableaux

### Chapitre 1 :

**Tableau 1** Teneur en acides aminés indispensables de protéines exprimée en pourcentage du profil de référence..... 8

**Tableau 2 :** Composition nutritionnelle de morceaux crus de bœuf issus de 16 vaches.....11

### Résultats et discussion :

**Tableau 3:** Indice TBA dans la viande hachée.....46

**Tableau 4 :** Teneur en matière sèche des échantillons de la viande hachée.....47

**Tableau 5:** Teneur en matière minérale des échantillons de la viande hachée.....48

**Tableau 6:** Teneur en lipides totaux des échantillons de la viande hachée.....49

---

## Liste des figures

### Chapitre 1 :

- Figure 1.** Les différents morceaux de bœuf. (**Duchéne et al.**, 2010).....4
- Figure 2.** Teneurs en lipides de viandes crues (g/100 g).....5

### Chapitre 3 :

- Figure 3 :** Schéma générale de l'oxydation des lipides.....25
- Figure 4 :** Mécanisme d'initiation de la peroxydation des lipides par l'activité lipoxygénique.....27

### Matériels et méthodes :

- Figure 5 :** Champ de citronnier (**originale**, 2016).....38
- Figure 6 :** Feuilles de citronnier (**originale**, 2016).....39
- Figure 7 :** Extraction d'huile essentielle par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (**originale**, 2016).....40
- Figure 8:** Appareil d'extraction des lipides totaux par chaud (**originale**, 2016).....43

### Résultats et discussion :

- Figure 9 :** Indice TBA dans la viande hachée.....47
- Figure 10:** Teneur en matière sèche de la viande hachée.....48
- Figure 11:** Teneur en matière minérale de la viande hachée.....49
- Figure 12:** Teneur en lipides totaux de la viande hachée.....50

## *Liste des abréviations*

**MDA** : manoldialdéhyde.

**TBA** : acide thiobarbiturique.

**TCA** : acide trichloroacétique.

**HE** : huiles essentielles.

**Mm** : matière minérale.

**Ms** : matière sèche.

## *Résumé*

Cette étude a pour but d'étudier les effets de l'addition d'antioxydant naturel sous forme d'huiles essentielles extraites des feuilles de citronnier sur les qualités nutritionnelles et physicochimiques de la viande ovine hachée.

Nous avons préparé trois solutions d'huiles essentielles extraites des feuilles du citronnier à différentes concentrations 1%, 2% et 5%, et nous avons essayé de voir quelle concentration a permis de réduire les teneurs en MDA des viandes, car ce dernier est considéré comme indice de la fraîcheur de la viande, et effectivement nous avons trouvé que la solution à 1% a donné de bons résultats en réduisant la teneur du MDA de la viande.

Nous pouvons signaler aussi que l'utilisation des huiles essentielles du citronnier n'a pas eu une mauvaise influence sur les caractéristiques physicochimiques (matière sèche, matière minérale, et les lipides totaux) de la viande, ainsi que l'odeur des huiles essentielles n'était pas déplaisante au contraire elle était assez agréable.

Mots clés : antioxydant, citronnier, viande ovine, MDA

## *Abstract*

This study aims to investigate the effects of adding natural antioxidant in the form of essential oils extracted from lemon tree leaves on the nutritional and physicochemical qualities minced mutton.

So three solutions of essential oils were prepared extracted from the leaves of the lemon tree with different concentrations 1%, 2% and 5%, and we tried to see: what concentration has allowed to reduce the levels of MDA meat because it is considered as an index of the freshness of the meat, and indeed it was found that the 1% solution has been successful in reducing the content of MDA meat.

We can also report that the use of essential oils of lemon did not have a bad influence on the physicochemical characteristics (dry matter, mineral, and total fat) of meat, as well as the smell of essential oils was not unpleasant to the contrary, it was quite nice

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى التعرف على الآثار إضافة مضادات الأكسدة الطبيعية في شكل من الزيوت الأساسية المستخرجة من أوراق شجرة الليمون على الصفات الغذائية والفيزيائية مفروم لحم الضأن. لذلك تم استخراج ثلاث محاليل زيوت أساسية مستخرجة من أوراق شجرة الليمون بتركيزات مؤشر للنضارة اللحوم، مختلفة 1% و 2% و 5%، وحاولنا معرفة التركيز المناسب الذي يخفض من مستويات MDA، وبالفعل فقد وجد أن الحل 1% قد حققت نجاحا في الحد من محتوى مانول دي أدهيد في اللحوم . يمكننا أيضا القول بأن استخدام الزيوت الأساسية من الليمون لم يكن لديها تأثير سلبي على الخصائص الفيزيائية والكيميائية (المواد الجافة والمعادن والدهون الكلي) للحوم، بالإضافة إلى ذلك، الزيوت الأساسية لم تكن لديها رائحة كريهة.

**الكلمات المفتاحية:** مضادات الأكسدة، الليمون، لحم الضأن، مانول دي أدهيد

## Introduction générale

---

La viande et ses dérivés occupent une place de choix dans notre alimentation tant pour des raisons nutritionnelles (**Clinquart et al., 1999**). La richesse de la viande en eau, en protéines de haute valeur biologique fait d'elle un aliment indispensable pour une alimentation équilibrée. Cependant, ces mêmes raisons la rendent un terrain favorable à la prolifération microbienne.

Une grande partie des germes contaminant les carcasses suite aux différentes étapes de l'abattage (dépouillement et éviscération) sont saprophytes. Il s'agit de bactéries, de levures et de moisissures. Ce sont des germes d'altération qui provoquent la putréfaction de la viande.

Par ailleurs, la présence de germes pathogènes responsables des toxi-infections alimentaires est possible. Elle est souvent liée à des défauts d'hygiène. Ces intoxications souvent causées par: *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* etc...) peuvent être assez graves (**Cottin et al., 1985**).

L'utilisation de diverses méthodes de conservation de la viande remonte à la préhistoire, ou salaison, dessiccation, suppression d'oxygène, addition d'additifs, réfrigération congélation etc..., étaient appliquées pour augmenter la durée de vie de cet aliment (**Collin, 19972**).

La conservation de la viande consiste à maintenir sa qualité microbiologique en ralentissant la vitesse de prolifération des microorganismes et garder ses propriétés organoleptiques et nutritionnelles en éliminant les mécanismes d'altération intrinsèques et extrinsèques. La bonne conservation d'un aliment résulte d'une optimisation réussie entre différents paramètres tel que l'allongement de la date limite de conservation (DLC) des viandes fraîches selon des conditions de stockage et la qualité de l'aliment (**Multon, 1984; Durand, 2006**).

Pour assurer la stabilisation de la viande et améliorer sa conservation, l'utilisation de basses températures est éventuellement la meilleure méthode (**Collin, 19972 ; Claude, 1974**).

La congélation permet d'arrêter le développement des microorganismes et de ralentir les réactions de dégradation par le fait de la transformation d'une grande proportion de l'eau de l'aliment en glace (**Girard, 1990**).

Les trois phases de la congélation (la congélation proprement dite, le stockage du produit congelé et la décongélation) modifient les qualités, organoleptique et nutritionnelle de la viande. Ces modifications se manifestent par une altération des membranes cellulaires qui implique une dénaturation des protéines membranaires, le durcissement de la fraction lipidique et la destruction des vitamines (**Girard, 1990**).

## Introduction générale

---

La réfrigération, qui est une conservation au froid des aliments périssables, notamment la viande, a pour effet la diminution de l'activité des bactéries en retardant leur prolifération.

La majorité des microorganismes tels que les coliformes fécaux et les germes pathogènes responsables d'intoxications alimentaires ne sont plus capables d'activités métaboliques à des températures inférieures à 5°C. Cet abaissement de la température est aussi indispensable pour contrôler les propriétés organoleptiques post mortem de la viande (tendreté, flaveur et couleur). Ce mode de conservation ne peut en général excéder quelques jours, de l'ordre de deux à trois jours pour les viandes fraîches (**Collin, 1972 ; Montel, 1984 ; Maas Van Brekel, et al., 2005**).

La majorité des bactéries se développent rapidement dans les aliments frais non acides comme la viande, le poisson et les légumes provoquant ainsi leur détérioration. D'autres, forment des spores qui les rendent résistantes aux techniques de conservation et reprennent leur multiplication dès le retour aux conditions ambiantes (**Multon, 1984**).

Mise à part la salaison, autrefois appliquée, l'utilisation d'additifs chimiques pour acidifier les viandes permet d'assurer leur conservation dans de meilleures conditions. L'addition de ces agents a pour objectif d'optimiser la conservation de l'aliment tout en préservant sa qualité nutritionnelle et améliorant sa qualité organoleptique (la tendreté) (**Multon, 1984**).

Les acides, citrique et lactique, sont deux acides organiques employés couramment comme condiments dans des préparations alimentaires, car ils sont plus doux que l'acide acétique (constituant principal du vinaigre). Ils n'ont aucun danger pour l'Homme et l'environnement (**Multon, 1984**). Ils inhibent la croissance des bactéries surtout celle des microorganismes pathogènes telque : E. coli, C.botulinum et S.aureus S.typhimurium (**Houtsma et al., 1986 et Miller ; Acuff, 1994 et Conner et Kotrola, 1995**).

L'attention donnée aux méthodes à petite échelle a pour but d'aider les familles à traiter et à stocker leur surplus tout en gardant à l'aliment sa valeur nutritionnelle et hygiénique mais de façon économique (**Maas Van Brekel, et al., 2005**).

Dans ce contexte, nous nous proposons dans ce travail d'étudier l'effet de l'incorporation des huiles essentielles extraites à partir de plante naturelle sur la conservation des viandes ovines

## **Introduction**

Symbole de force et de vie, la viande a longtemps fait partie des aliments les plus recherchés, mais elle a toujours aussi, selon les époques et les cultures, fait l'objet de tabous. La montée actuelle dans la population française et européenne d'une préoccupation santé, rejointe plus récemment par des questions d'ordre environnemental, influence les représentations alimentaires des Français. Dans ce contexte, l'image de la viande oscille entre, d'une part, la mise en avant de ses intérêts nutritionnels et de son rôle dans notre alimentation et, d'autre part, la mise en garde contre des consommations excessives. Mais qu'en est-il réellement?

### **1. La viande ou les viandes: une grande variété**

Cet article traitera essentiellement des «viandes de boucherie», caractérisées selon les définitions suivantes:

- produits carnés à la carcasse: viandes de boucheries et produits tripiers, charcuteries, volailles, gibiers;
- viandes de boucherie: viandes de bœuf, de porc, de veau, d'agneau et viande chevaline;
- produits tripiers: tout ce qui n'est pas rattaché à la carcasse en fin de chaîne d'abattage: organes, viscères, glandes, queue et certains muscles (joue, hampe, onglet) ;
- viandes rouges: bœuf, agneau, viande chevaline;
- viandes blanches: veau, porc, volaille.

Derrière ces catégorisations, le consommateur peut accéder à une grande diversité de morceaux (exemple du bœuf: Fig. 1) : morceaux à cuisson rapide (pauvre en collagène) ou à cuisson longue (riches en collagène) ; morceaux découpés dans un seul et même muscle (filet, rumsteck, etc.) ou tranchés à l'intersection de plusieurs muscles et de gras intermusculaires (côte, entrecôte, etc.). Cette diversité de morceaux est démultipliée par la variété des méthodes de cuisson: rôtie au four, poêlée, grillée ou cuite aux micro-ondes pour les cuissons rapides; bouillie, braisée ou sautée pour les cuissons lentes.

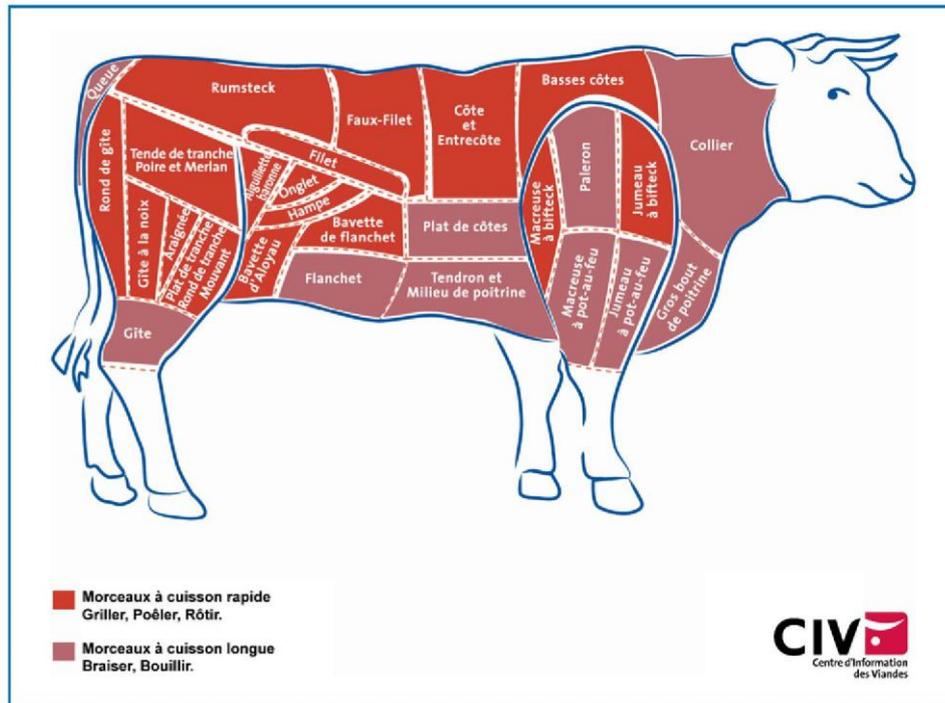


Figure 1. Les différents morceaux de bœuf. (Duchéne *et al.*, 2010)

## 2. Teneur en lipides et en protéines

Avec environ 20g/100g de protéines, toutes les viandes crues, quelle que soit l'espèce animale, présentent une teneur en protéines élevée qui varie peu d'un morceau à un autre: 19à 23g/100g selon les morceaux de bœuf par exemple (Annexe I) et 17 à 22 g/100 g pour les produits tripiers (Annexe II). Cent grammes de viande permettent ainsi de couvrir environ un tiers de l'apport nutritionnel conseillé minimal en protéines d'un homme adulte (0,83g/kg par jour) (Raude *et al.*, 2007)

En revanche, la teneur en lipides varie considérablement d'un morceau à l'autre, avec dans chacune des espèces animales, des morceaux maigres à moins de 3 % de masse grasse (MG) ou peu gras (entre 4 et 6 % de MG) et des morceaux gras (jusqu'à 20 %) (Fig. 4). Pour le bœuf, les lipides vont de 2 ou 3 g/100 g pour les morceaux les plus maigres comme le tende de tranche et la macreuse, et jusqu'à 8 ou 9g/100g pour les plus riches comme le plat de côte ou l'entrecôte (viande seule après prélèvement du gras périphérique) ; les autres morceaux se situent entre 5et 7g/100g (Annexe I) (Bauchart *et al.*, 2008). Au sein des produits tripiers, la langue se distingue par une forte teneur en lipides (14g/100 g) alors que les rognons, le cœur et le foie en sont pauvres (3à 4g/100g) (Bauchart *et al.*, 2008) (Annexe II).

Certains morceaux tels que l'entrecôte, le plat de côte pour le bœuf ou encore les côtes d'agneau, de porc, de veau, comportent une part importante de gras périphérique bien visible qui peut être facilement enlevé dans l'assiette. Les chiffres suivants issus des analyses réalisées par l'Inra sont très illustratifs: alors qu'une portion d'entrecôte de 120g comporte 20g de lipides si elle est consommée avec l'ensemble du gras (soit, 100g de viande [à 9% de lipides] + 20 g de «gras périphérique» [à 52% de lipides]), elle n'en apportera plus que 9g dès lors que le consommateur aura grossièrement retiré au couteau le gras périphérique des morceaux. Pour ce type de morceaux, considérer la teneur globale en lipides, gras compris, comme représentative de l'apport réel n'est pas forcément juste, cela dépend beaucoup des choix du consommateur. Bien entendu, comme pour tout aliment, le gras contenu dans les viandes est fortement associé à leur goût. Rien de tel, pour l'amateur de viande, que de se faire plaisir de temps en temps avec une bonne côte de bœuf. En revanche, informer le patient ou le consommateur sur la nature des morceaux les plus gras ou les moins gras lui permettra de mieux choisir sa viande et d'adapter le mode de préparations (avec ou sans MG ajoutée par exemple) en fonction de ses besoins, de ses goûts et surtout de sa fréquence de consommation de viande.

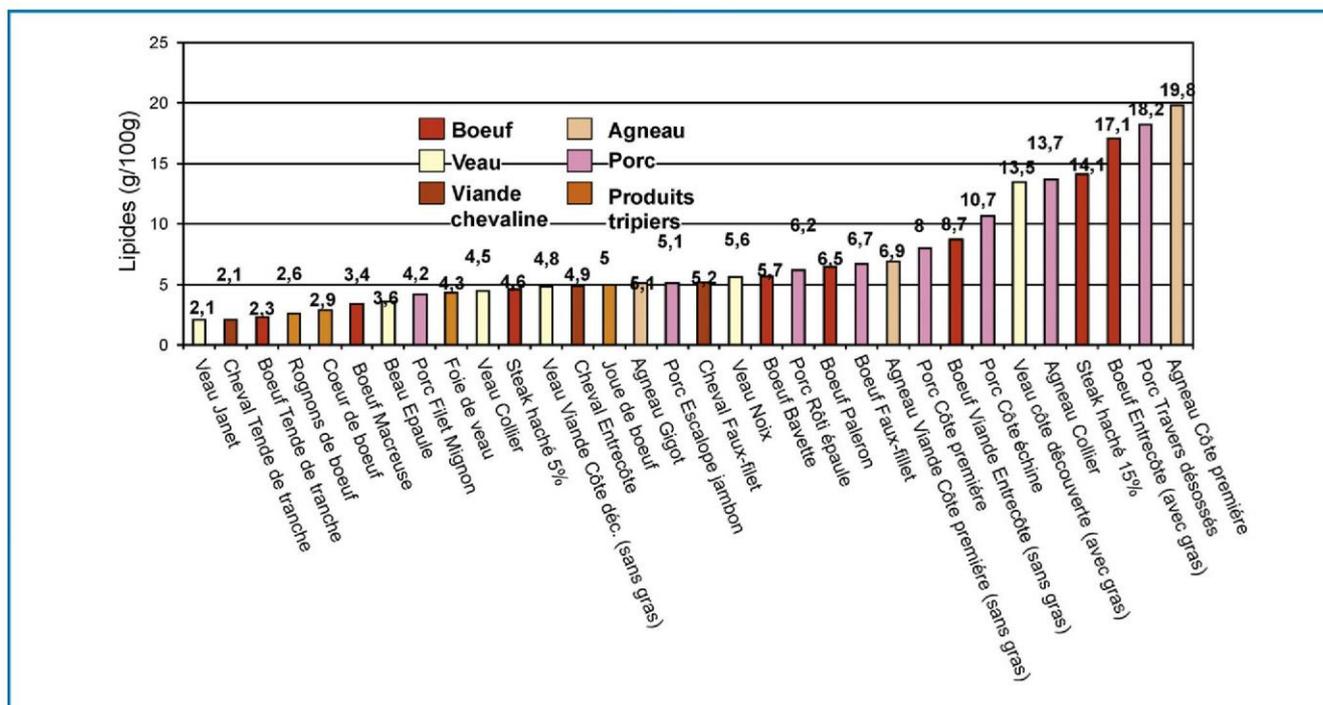


Figure 2. Teneurs en lipides de viandes crues (g/100 g).

## 2.1. Composition en acides gras

Dans la viande de bœuf, les lipides se caractérisent par (Annexe I) (**Bauchart et al.**, 2008) :

- autant d'acides gras mono-insaturés (AGMI) que d'acides gras saturés (AGS) :
  - \* 40 à 49 % d'AGMI. L'acide oléique (C18 :1) constitue 75 à 80 % des AGMI de la viande,
  - \* 43 à 53 % d'AGS : les deux principaux sont l'acide stéarique (C18 :0) (entre 24 et 29 % des AG totaux) et l'acide palmitique (C16 :0) (entre 13 et 21 % des AG totaux) ;
- une proportion plus faible et plus variable d'acides gras polyinsaturés (AGPI): 4 à 11 % des AG totaux avec une majorité d'AGPI n-6. En ce qui concerne les deux acides gras essentiels précurseurs, l'acide linoléique (C18:2n6) représente entre 0,9 et 4% des AG totaux et l'α linoléique (C18:3n-3) 0,4 à 0,8%, avec un bon rapport 18:2n-6/18:3n-3, de 4 ou 5 selon les morceaux;
- un apport d'AGPI longues chaînes (AGPI-LC), à ne pas négliger malgré leur proportion limitée. Il s'agit majoritairement de l'acide arachidonique (20:4n-6; 0,4 à 1,8% des AG totaux selon les morceaux) et de l'acide docosapentaénoïque (DHA, 22:5n-3; 0,3 à 1,7% des AG totaux) mais aussi de l'acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5 n3) de façon plus minoritaire (0,2 à 0,7% des AG totaux) ;
- des teneurs en acides gras trans (AGT) qui restent modérées. Le bœuf en apporte en moyenne 0,2g/100g (3% des AG totaux) : de 0,05g/100g (2,5% des AG totaux) pour les morceaux maigres à 0,5 g/100 g (3,6 % des AG totaux) pour les morceaux plus gras.

Rappelons que ces acides gras trans d'origine naturelle sont produits par biohydrogénation des acides gras polyinsaturés dans le rumen. Le dernier avis de l'Afssa précise «qu'aucune association n'est observée avec le risque coronarien pour les AGT naturels aux niveaux auxquels ils peuvent être consommés, selon certaines études, dans les populations occidentales» (**Afssa**, 2009). La répartition des grandes familles d'acides gras dans les produits tripiers comme le cœur, le foie ou les rognons diffère de celle des muscles. Ils présentent une proportion d'AGPI particulièrement intéressante (33 à 46 % des AG totaux), avec beaucoup moins d'AGMI (15 à 29 % des AG totaux) et un peu moins d'AGS (34 à 42 % des AG totaux) (**Bauchart et al.**, 2008)

## **2.2. Apports en fer, zinc et sélénium**

Cent grammes de viande fraîche de bœuf apportent 2,2 à 3,7 mg de fer selon les morceaux, ce qui couvre entre 25 et 40 % des apports nutritionnels conseillés (ANC) en fer de l'homme et entre 15 et 25 % de ceux de la femme adulte (Afssa ,2001). Le cœur, le foie et les rognons sont particulièrement riches en fer avec 5 à 7 mg/100 g (Annexe II), soient 30 à 45% des ANC de la femme et 55 à 80% de ceux de l'homme. Le bœuf est également riche en zinc: 3,3 à 6,8 mg/100 g (Annexe I), soient 30 à 60% des ANC homme/femme (Afssa ,2001). La viande représente aussi l'une des principales sources de sélénium alimentaire. Cent grammes de bœuf en apportent 10 à 12 µg (Annexe I), soit environ 20 % des ANC homme/femme. Le cœur (23 µg/100 g), le foie (39 µg/100 g) et les rognons (118 µg/100 g) sont particulièrement riches en sélénium.

## **2.3. Vitamines du groupe B**

Les produits carnés représentent la première source de vitamine B12 dans l'alimentation des Français: ils contribuent, selon les chiffres du CREDOC 2007, à 43 % des apports en cette vitamine dont 21 % par les viandes de boucherie. Tous les morceaux de bœuf sont riches en vitamine B12 avec des teneurs variant de 1 à 5 µg/100 g selon les morceaux de viande (Annexe I), 100 g de bœuf couvrent entre 50 et 100% des ANC (Afssa ,2001). Le foie en est lui extrêmement riche avec une moyenne de 95 µg/100g (Annexe II).

La viande de bœuf est également source de vitamine B6 ou pyridoxine (0,3 à 0,5 mg/100 g) et de vitamine B3 ou niacine (3,7 à 5,8 mg/100 g) (Annexe I). Avec 15 mg de B3 (Annexe II), 100 g de foie couvrent 100 % des ANC (Afssa ,2001).

## **2.4. Qualité des protéines et du fer**

### **a) Protéines et acides aminés**

En raison de leur équilibre en acides aminés indispensables proche des besoins de l'Homme et d'une absorption digestive élevée, les protéines d'origine animale sont dites de « forte valeur biologique ». Parmi les 20 acides aminés constitutifs des protéines, neuf sont considérés comme indispensables chez l'Homme (histidine, isoleucine, leucine, lysine, acides aminés soufrés —méthionine et cystéine—, acides aminés aromatiques —phénylalanine et

tyrosine—, tryptophane, valine): ils doivent être fournis en quantité adéquate par l'alimentation car l'organisme ne peut les synthétiser à une vitesse suffisante. Ces acides aminés indispensables constituent le premier facteur limitant de la synthèse des protéines corporelles (Tomé, 2008).

**Tableau 1** Teneur en acides aminés indispensables de protéines exprimée en pourcentage du profil de référence

Pourcentage	Œuf	Bœuf	Lait	Soja	Blé	Maïs	Riz	Régime occidental	Régime indien
Lysine	139	203	158	144	57	58	86	140	87
Acides aminés	225	182	164	114	203	132	176	174	182
Tryptophane	293	213	417	217	217	117	224	211	293
Thréonine	223	202	191	191	127	157	153	177	143
Acides aminés	168	144	151	136	122	177	146	143	132
Acides aminés aromatiques	301	275	271	281	306	314	305	311	317

Pour pouvoir estimer la capacité des protéines alimentaires à satisfaire les besoins humains en acides aminés indispensables, un profil de référence a été calculé sur la base des besoins nutritionnels moyens en acides aminés indispensables et en protéines. Sur cette base, la viande et les protéines animales ne présentent pas d'acide aminé indispensable limitant, contrairement aux céréales, déficientes en lysine et aux légumineuses qui présentent des valeurs plus faibles que la viande, le lait ou les œufs en acides aminés soufrés (Tableau 1).

Cela explique la nécessité de compléter les sources de protéines végétales entre elles (une légumineuse avec une céréale) pour obtenir un apport protéique de qualité suffisante.

D'autres acides aminés indispensables présents en quantité dans la viande présentent un intérêt particulier: la leucine joue par exemple un rôle important dans le contrôle de la synthèse protéique (Tomé, 2008). Enfin, la digestibilité des acides aminés fournis par les

protéines alimentaires (94% pour la viande) (Tomé, 2008) doit, elle aussi, être prise en compte pour évaluer la qualité des protéines.

### **b) fer sous forme héminique**

Les produits carnés représentent les premières sources de fer dans l'alimentation des Français (22% du fer total selon les chiffres du CREDOC 2007), suivis par les féculents (Credoc, 2009). Mais les différences qualitatives entre ces deux grandes sources sont notables. Le fer de la viande se présente essentiellement sous forme héminique: c'est le cas de 65 à 75 % du fer de la viande de bœuf (Annexe I). La proportion de fer héminique dans les viandes de porc ou de volaille est un peu plus faible (respectivement 60% et 40% environ du fer total) (Souheyre, 2008). Cette forme de fer propre au poisson et à la viande est plus de deux fois mieux absorbée (coefficient d'absorption d'environ 25 %) que le fer non héminique présent dans les céréales, les légumes secs et les légumes verts (coefficient d'absorption inférieur à 10 %, entre 5 et 10 selon les facteurs favorables ou défavorables) (Afssa, 2001). Un petit bifteck de 100 g apportera par exemple 3 mg<sup>2</sup> de fer dont 0,75 mg seront absorbés alors que 100g de lentilles ou d'épinards cuits apporteront la même quantité de fer<sup>2</sup> dont moins de 0,3 mg seront absorbés.

La viande présente un autre intérêt pour la couverture des besoins en fer: elle favorise l'absorption du fer non héminique des végétaux. Celle-ci peut en effet être inhibée par certains facteurs, phytates ou tanins par exemple (thé, etc.), ou au contraire favorisée, par la vitamine C, la viande ou le poisson. Plusieurs études ont ainsi démontré qu'en présence de viande, le fer non héminique du reste du repas est deux à trois fois mieux absorbé (Lopez *et al.*, 2004), (South *et al.*, 2000). Les principales hypothèses explicatives de ce «facteur viande» portent sur l'action des produits de la digestion des protéines musculaires (Souheyre, 2008). En pratique, cela renforce l'intérêt d'associer de la viande à des légumes ou des légumes secs au cours d'un même repas.

**Conclusion**

Source majeure d'acides aminés indispensables avec des protéines de bonne digestibilité, de fer héminique, de vitamines B12, B3 et B6, de sélénium et de zinc, la densité nutritionnelle des viandes de boucherie ne peut être sous-estimée. La teneur en lipides, souvent stigmatisée, est très variable selon les morceaux (de 2 à 20 %, avec une majorité à moins de 7%). Elle relève donc avant tout d'une question de choix de morceaux et de modes de préparation. Sur cette base, la viande dont la qualité sanitaire est, par ailleurs, constamment contrôlée conserve toute sa place dans l'équilibre alimentaire, en alternance avec le poisson ou les œufs, «une à deux fois par jour». Les recommandations doivent tenir compte des niveaux de consommation, des âges et des situations physiologiques: s'il peut être conseillé aux «gros consommateurs» de limiter leur consommation, des «petits consommateurs» (jeunes femmes et sujets âgés notamment), peuvent, en revanche, se voir recommander de l'accroître.

Viande de bœuf crue, valeurs nutritionnelles moyennes pour 100 g (analyses sur 16 animaux)	Faux filet	Viande sans le 'gras'	Viande de Plat de côte sans le "gras"	Steak Haché 5 % MG	Steak Haché 15 °h MG
Teneur en eau (g)	71	69	71	74	67
Energie 0=11	150	162	153	129	208
Protéines (g)	22	21	21	22	20
Lipides (g)	7	9	a	5	14
Fer total (mg)	2,3	2,5	2,2	2,5	2
dont Fer héminique (mg)	1,6	1,8	1,5	1,9	1,7
Fer hémique /fer total	70	72	70	78	87
Zinc (mg)	3,3	5,2	4,6	4,5	4,8
Sélénium (ugl)	10,6	10,1	10,5	6,7	6,8
Vitamine B3 (mg)	5,8	4,4	4,9	4,7	4,1
Vitamine B6 (mg)	0,5	0,3	0,4	0,4	0,3
Vitamine B12 (pg)	1,2	1,6	1,8	2,1	1,9
AGS (acides gras saturés)	48	52	49	43	46
dont acide palmitique C 16:0	28	29	28	24	26
dont acide stéarique C 18:0	13	15	14	13	14
AGM1 (acides gras monoinsaturés)	47	44	46	49	49
dont acide oléique C 18:1 n-9	37	35	36	38	38
AGPI (acides gras polyinsaturés)	4,9	4,3	4,9	8,2	4,4
dont AGPI n-6	2,6	3,1	3,3	5,6	3
dont acide linoléique C 18:2 n-6	1,8	1,8	0,9	3,1	1,7
dont acide arachidonique C20:4 n-6	0,4	0,4	0,6	1,1	0,4
dont AGPI n-3	1,4	0,9	1,3	2,2	0,9
dont acide finoléique C 18:3 n-3	0,4	0,4	0,4	0,7	0,4
AG trans(CLA compris)	2,8	3,2	2,9	3,6	3,6
AGPI n-6 / AGPI n-3	2	4	3	3	4
C18:2 n-6 / C18:3 n-3	4	4	4	5	4
AG totaux (g)	5,7	7,5	6,5	3,8	12,3
AGS (mg)	2741	3880	3170	1643	5706
AGM1 (mg)	2700	3331	2990	1856	6058
dont acide oléique C 18:1 n-9 (mg)	2090	2624	2310	1438	4647
AGPI (mg)	267	308	308	303	545
dont AGPI n-6 (mg)	141	224	205	204	372
dont acide linoléique C 18:2 n-6 (mg)	99	130	106	114	204
dont acide arachidonique C 20:4 n-6 (mg)	23	25	36	38	45
dont AGPI n-3 (mg)	77	63	82	79	112

**Tableau 2 :** Composition nutritionnelle de morceaux crus de bœuf issus de 16 vaches

Source: valeurs nutritionnelles du programme d'analyse Inra-CIV 2007-2009. (Duchêne et al., 2010)



## **1. Historique et généralités :**

L'application du froid à la conservation de la viande commença aux Etats-Unis vers 1880 d'une façon générale en Europe, c'est à partir de 1945 que le développement des marchés des produits frigorifiques commerciaux commença à prendre de l'ampleur.

En France ce n'est que récemment que la viande réfrigérée a remplacé la viande fraîche grâce à l'équipement généralisé de toutes les boucheries de détails.

En Algérie l'emploi du froid, jusqu'en 1962 n'a pas fait l'objet d'une organisation qui a permis de profiter aux mieux des produits périssables et des efforts des hommes (**Daniel**, 1972)

Les installations frigorifiques de l'époque se réduisaient à quelques entrepôts portuaires et une flotte restreinte.

La viande peut avoir soit une utilisation immédiate sous forme de viande fraîche ou de viande réfrigérée soit une utilisation différée sous forme de viande conservée ou de produits de charcuterie.

La viande est non seulement un produit fragile mais une denrée alimentaire des plus chères et plus périssable d'où le gros effort déjà fait pour assurer sa stabilisation et les recherches actuellement pour améliorer la conservation de la viande qui est la base économique des nombreuses industries et commerces de produits carnés.

La viande se modifie et s'altère par l'interaction de phénomènes physiques, chimiques et surtout microbiens qui agissent généralement par l'action des enzymes ; l'importance primordiale des microbes tient au fait que la viande est un excellent milieu de culture. La contamination est variable en quantité et qualité, les possibilités de prolifération sont variables avec les conditions du milieu mais au bout d'un certain temps la qualité des microbes est suffisante pour qu'ils manifestent leur pouvoir protéolytique, leur pouvoir pathogène ou leur pouvoir toxigène.

La conservation peut avoir lieu à des températures différentes :

1 / A  $-10^{\circ}\text{C}$  pour les viandes en carcasses soumises à la congélation lente ou semi-lente, la conservation y est de 5 à 8 mois ;

2/Entre  $-12^{\circ}\text{C}$  et  $-15^{\circ}\text{C}$  pour les viandes en quartiers ou en caisses soumises à la congélation rapide ; la conservation y est de 6 à 9 mois ;

3/Entre  $-18^{\circ}\text{C}$  et  $-20^{\circ}\text{C}$  pour les viandes en morceau soumises à la congélation ultra-rapide ; la conservation y est de 8 à 12 mois.

Quelle que soit la température il convient de prendre un ensemble de précautions : passage dans un rideau de froid pour éviter le grivage, chargement en allant de la porte au fond , protection contre les odeurs (ammoniaque, odeurs de fruits , etc ....).(Daniel ,1972)

## **2. Rôle du froid dans l'agro-alimentaire :**

Le froid offre de très vastes possibilités à l'industrie agro-alimentaire .il permet de conserver pendant un temps plus ou moins long un produit pouvant être consommé avec sécurité tout en lui gardant son aspect , sa couleur ,ses qualités gustatives et nutritives.(Daniel , 1972)

## **3. Congélation :**

Lorsque la durée de conservation doit dépasser 1 mois, il est indispensable de recourir à la congélation. La température de  $0^{\circ}\text{C}$  n'est plus suffisamment basse pour empêcher les altérations physiques et les modifications microbiologie.

Il y a une différence fondamentale entre la viande réfrigérée et la viande congelée .La viande réfrigérée n'a subi aucune modification physiologique, alors que la congélation a provoqué une modification irréversible des tissus.

On distingue plusieurs techniques de congélation.

### **3.1. Congélation lente :**

Qui a cessé d'être employée car la chambre froide non ventilée avait une température de  $-10^{\circ}\text{C}$  à  $15^{\circ}\text{C}$  ce qui obligeait à un séjour de 4 à 6 jours

### **3.2. Congélation rapide :**

La viande en carcasses suspendues, se congèle en tunnel ou en cellules ayant la même caractéristique que celles décrites pour la réfrigération rapide. La température de l'air est de l'ordre de  $-30^{\circ}\text{C}$  ou  $-35^{\circ}\text{C}$  avec un taux de brassage de 150 à 30 dans le cas de cellule.

Il y'a quelques années ,les carcasses étaient congelées en demies accrochées à des chariots roulants sur des rails haut niveau , situés à 3.80 ou 4m au –dessus du sol avant congélation, on amorçait, sur la carcasse refroidie, une fente entre les côtes en reversant un lambeau de poitrine et une vertèbre, pour faciliter la mise en quartiers après congélation.

Il suffisait alors de sectionner au couperet la vertèbre et le lambeau de poitrine pour obtenir des quartiers.

Cette opération avait lieu dans une salle dite « d'entoilage » maintenue à une température comprise entre 0 et  $+5^{\circ}\text{C}$ . Les quartiers étaient enveloppés dans une stockinette puis dans une toile de jute et stockés en vrac dans des salles maintenues à  $-18^{\circ}\text{C}$

Actuellement la commercialisation des viandes a quelques peu modifié le processus, car on congèle surtout les quartiers avants pour l'exportation, les quartiers arrières étant vendus en frais.(**Daniel** , 1972)

Il est donc nécessaire de procéder à la mise en quartiers avant congélations.

Les quartiers sont accrochés à un rail dont le niveau est situé à 2.20 à 2.50m au dessus du sol. On appelle ce rail « bas niveau » par rapport au rail « haut niveau » situé à une hauteur de 3.80 à 4 m destiné au demi.

Carcasses et de ce fait la forme du tunnel a dû être modifiée, l'inconvénient de ce système est de nécessiter une surface au sol double. On peut y remédier en conservant des rails à haut niveau et en accrochant à un même chariot roulant, deux quartiers superposés, ce qui exige toutefois une manipulation supplémentaire.

Les services de l'intendance ont adopté le principe de la viande congelée, découpée, désossée et mise caisses qui a pour avantage de ne transporter que de la viande nette. (25% du poids sous forme d'os et de déchets restent à l'abattoir et peuvent être récupérés pour être traités industriellement avec les graisses provenant du désossage.)

Les viandes sont classées en trois catégories :

- viandes à rôtir ;
- viandes à braiser ;
- viandes à bouillir.

La découpe est faite en évitant de sectionner le muscle. Pour réduire les pertes à la décongélation, les aponévroses sont laissées en place et les plans musculaires sont respectés. Ces prescriptions qui sont négligées dans la découpe américaine, évitent une exsudation au moment de la décongélation.

Chaque morceau est enveloppé dans un papier sulfurisé ou dans une pellicule cellulosique et sont placés dans une caisse en bois ou en carton spécial, contenant 25 Kg de viande. Les morceaux sont tassés sans excès, pour réduire les poches d'air, constituant des zones isolantes qui gênent la pénétration du froid. Un espace de 2 cm est réservé entre la partie supérieure des viandes et le couvercle pour tenir compte de la dilatation en cours de congélation qui ferait éclater les caisses. (9)

La dimension inférieure des caisses de 25 Kg est de 58 x 34 cm, hauteur 17 cm

Les caisses sont cerclées de ruban de fer.

La congélation se fait soit dans les tunnels de congélation de viande en carcasses, soit dans des tunnels spécialement prévus à cet effet. Dans le premier cas les

caisses sont placées sur des balancelles à étagères superposées pour utiliser la hauteur totale du tunnel (en général 4 cm)

Dans le deuxième cas, les tunnels étant moins hauts, les caisses peuvent être simplement disposées sur des palettes, en prenant soin de les quinconces pour assurer une bonne circulation d'air.

Dans un tunnel bien conçu, possédant une circulation d'air rapide et rationnelle par rapport aux carcasses, on obtient une congélation de la viande en 18 à 20 Heures, lorsque la température de l'air est comprise entre -30 et -35°C et en 24 heures pour la viande en caisses.

On estime l'opération suffisamment avancée; lorsque la température au cœur atteint -8 ou -10°C. Au bout de quelques heures; machine arrêtée, la température de la masse s'est égalisée et l'ensemble peut être stocké dans des chambres maintenues à -18 ou -20°C. (Daniel, 1972)

### **3.3. Congélation ultra rapide (surgélation) :**

La congélation, même dite «rapide», de grosses pièces telles que les carcasses de viande, dans des tunnels fortement ventilés, ne peut être considérée comme « ultra-rapide », étant donnée la pénétration du froid dans la masse.

Par contre, la congélation des petits morceaux comme : biftecks, tranches, côtelettes, peut être beaucoup plus rapide et elle porte en général le nom de « surgélation ».

Plusieurs systèmes sont utilisés pour obtenir ses résultats on cite par exemples :

- Congélation à l'air ;
- Congélation par contact.

## **4. Décongélation des viandes :**

### **4.1. viandes en carcasses :**

Les carcasses de viande congelée ne peuvent être débitées facilement par le boucher détaillant. Il faut donc les décongeler avant de les mettre en vente.

La décongélation s'opère à l'air dans les chambres à +5 ou +6°C avec une bonne ventilation. Les carcasses sont suspendues sur des chariots aériens. Pour éviter que l'humidité de l'air ne se dépose sur la viande froide, on maintient une humidité basse par un léger réchauffage de l'air. Le réchauffement progresse de l'extérieur vers l'intérieur de la chambre, la décongélation doit s'opérer lentement pour que les tissus aient le temps de résorber l'eau de fusion des cristaux de glace qu'il contiennent. La durée de décongélation est de 4 à 5 jours dans une chambre à +5 ou +6°C, température pouvant s'élever graduellement jusqu'à +8 ou +10°C. L'hygrométrie doit passer de 70% au début à 90% à la fin.

Les carcasses congelées sont d'abord débarrassées de leur emballage en toile de jute, dont l'odeur très forte peut pénétrer dans la viande décongelée par sa surface humide. On répand sur le sol une couche de sciure de bois, pour absorber le jus qui s'écoule des carcasses. (Daniel, 1972)

Après décongélation, la viande reste suspendue dans la chambre maintenue à 0 ou +2°C pour lui donner un aspect ferme et pour réduire encore la perte en eau par exsudation. On estime que la décongélation est terminée quand la température intérieure de la viande atteint 0 ou -1°C; elle reste encore suspendue 2 jours à 0°C avant d'être découpée.

Des expériences ont été faites pour décongeler les carcasses de viandes par réchauffage diélectrique à haute fréquence ou à hyperfréquence. Bien que rapide, ce procédé ne provoque pas d'exsudation importante (moins de 1%) parce que la chaleur se propage de l'intérieur vers l'extérieur, mais ce procédé n'a pas été appliqué industriellement pour la viande en carcasses.

L'appareillage est assez onéreux et la consommation d'énergie plus importante qu'avec la décongélation lente à l'air.

#### **4.2. viandes désossées en caisses :**

La viande désossée ou découpée, n'a pas nécessairement besoin d'être décongelée. Elle peut être vendue congelée et mise à la cuisson directement. La chaleur vive du four coagule superficiellement les albumines et empêche le jus de s'écouler.

On peut toutefois la décongeler en laissant séjourner les caisses dans des chambres à +5°C, mais les morceaux doivent être sortis de la décongélation par chauffage diélectrique décrit plus haut. Avec ce procédé, le réchauffage ayant lieu de l'intérieur vers l'extérieur, la perte de jus par exsudation est très faible. Il se prête mieux pour la décongélation des petits morceaux que pour la viande en carcasses. (Daniel, 1972)

#### **5. Modifications de la viande rouge congelée :**

##### **5.1. Modification physique :**

La durée de conservation théorique peut atteindre 2 à 3 ans.

##### **5.1.1. Modifications de consistance :**

La viande congelée se présente sous forme de blocs durs dans lesquels une lame de canif pénètre difficilement. Les graisses sont granuleuses et s'effritent lorsque la conservation est prolongée. À certains endroits le tissu devient dépressif et peut croire à un commencement de décongélation alors que cette sensation est due uniquement à l'évaporation.

##### **5.1.2. Modifications de couleurs :**

La coloration des muscles superficiels est plus prononcée, elle est d'autant plus brune que la congélation est plus ancienne.

Le tissu spongieux des vertèbres accuse plus nettement les modifications de couleur rosée lorsque la conservation est prolongée. Lorsque la congélation est ancienne, on constate une décoloration de quelques régions superficielles, celles où les muscles sont minces.

### **5.1.3. Perte de poids :**

La perte de poids est due à l'évaporation et dépend des mêmes facteurs que pour la viande fraîche.

La perte de poids est assez faible si les viandes sont couvertes, si la température est basse et si l'entrepôt n'est pas ventilé.

### **5.2. Modifications histologiques :**

L'examen au microscope d'une section transversale montre des aiguilles de glace d'autant plus nombreuses et plus petites que la congélation a été plus rapide et d'autant plus volumineuses que la congélation a été plus lente.

À la décongélation. Les fins cristaux de glace sont résorbés plus facilement alors que les grosses aiguilles perforent les membranes des cellules et laissent couler leur eau.

L'exsudation à la décongélation est donc d'autant plus importante que la viande a été congelée plus lentement.

On a intérêt à utiliser les procédés de congélation rapide (**Daniel**, 1972)

### **5.3. Modifications chimiques :**

Elles consistent principalement en :

#### **5.3.1. Modifications des matières azotées :**

Elles sont beaucoup plus complexes et se traduisent surtout par une augmentation de l'azote aminé (2.5 à 2.8 fois le taux initial) et de l'azote ammoniacal (environ le double) (**Daniel**, 1972).

Selon **B.I DUMONT BOCCARD.R** et AL-1982-Hygiène et technologie de la viande fraîche-Edition du centre national de la recherche scientifique. Les changements intéressants des composés azotés ont surtout été étudiés et caractérisés par différents critères : azote total non protéique (**OCKERMAN** et al. 1996), azote total volatil (**PERRSON** 1968), acides aminés (**GARDNER ET STEWART** 1966),

urée (**GARDNER ET STEWART 1966**). De tels caractères sont souvent proposés pour apprécier objectivement le degré de pollution des viandes.

### **5.3.2. Dénaturation des protéines :**

Les protéines de la viande subissent lors d'un stockage en congélation des modifications liées d'une part aux conditions physiques de ce mode de conservation (température basse, cristallisation de l'eau...), d'autre part aux conséquences de ce traitement (variation du PH, concentration en sels).

On appelle dénaturation une modification de la conformation la molécule sans qu'il y ait rupture de liaisons covalentes.

Les protéines dénaturées deviennent moins solubles et s'agglutinent. dans le cas des protéines myofibrillaires du muscle, il est difficile d'affirmer qu'elles subissent une telle dénaturation **ROSSET.R ; MEZIANE.J ; CIQUARD.N.R-1974**-influence de la congélation sur les aliments protéiques.(**Plusquellec**)

Dans le cas du collagène, (**VALIN et al..1971**) enregistrent une augmentation progressive au cours de conservation à -20°C du nombre de liaisons thermorésistantes en PH acide, donc de l'insolubilisation de cette protéine.

Cette évolution du collagène pourrait aller de pair avec la diminution progressive de tendreté qui accompagne les longues périodes de conservation à l'état congelé.

### **5.3.3. Dégradation des lipides :**

Les graisses subissent au cours du stockage en congélation deux types de réactions : des réactions d'oxydation et des hydrolyses. Ces deux réactions constituent un facteur limitant de la durée de conservation des viandes à l'état congelé

Lipolyse : elle s'effectue soit sous l'action de lipases endogènes ou sous celle des lipases bactériennes .et cette réaction constitue le premier stade de la dégradation des lipides animaux.

L'oxydation : c'est le second stade de la dégradation des lipides. Ce stade entraîne rapidement la détérioration des qualités organoleptiques des produits carnés pouvant

conduire à l'extrême à une odeur rance les rendant appétant voire même inconsommable. (Daniel, 1972)

#### **5.3.4. évolution du pH :**

La valeur du PH est le résultat sensible de la dégradation du glycogène et des composés phosphates et de l'effet du pouvoir tampon du muscle.

Le PH est un bon indicateur de résistance de la viande vis-à-vis d'une flore microbienne prédominante ; par ailleurs, le PH donne une bonne appréciation de la capacité de rétention d'eau et d'hydratation des protéines (Boccard *et al.* 1982).

#### **5.3.5. Pouvoir de rétention d'eau :**

Des corrélations positives élevées entre la croissance des germes d'altération et l'accroissement du pouvoir de rétention d'eau ont été trouvées par de nombreux auteurs (JAY et SHELEF, 1978).

Pour ces derniers l'accroissement du pouvoir de rétention d'eau qui se produit dans le cas de croissance bactérienne sur les viandes entreposées au froid semble avoir pour effet de rendre les protéines plus sensibles à la dégradation d'origine bactérienne. (Boccard *et al.* 1982)

### **6. Sensibilité des microorganismes à la congélation :**

La sensibilité des microorganismes varie avec :

- la nature du microorganisme.
- L'état physiologique et les conditions de culture.
- les capacités d'adaptation du métabolisme.
- la vitesse de congélation et de décongélation.
- la température et la durée du stockage.

Les bactéries sporulées et quelques formes végétatives survivent à la congélation quelles que soient les conditions dans lesquelles elle est réalisée (Microcoques, streptocoques, staphylocoques)

D'autres espèces ont une survie qui dépend des conditions de congélation.

Il apparaît ainsi que les bactéries Gram(-) sont beaucoup plus sensibles que les bactéries Gram(+); la résistance de ces dernières serait en relation avec la nature de la membrane hypoplasique qui contient des complexes mucoprotéiques et de l'acide diaminopenémilique.

La congélation réalise une sélection des espèces les mieux adaptées pour résister au froid et à la déshydratation.

Les microorganismes sont plus sensibles lorsqu'ils sont en phase exponentielle de croissance que lorsqu'ils sont en phase de latence ou en phase stationnaire, la concentration cellulaire, la température et la composition du milieu de culture ont également une influence bien que celle-ci ne soient pas encore bien déterminées (Oten, 1984).

La stabilité du muscle vis à vis de l'oxydation dépend de la localisation, de la composition, de la concentration et de la réactivité de trois facteurs : les substrats et les catalyseurs de l'oxydation et les antioxydants (**Decker et Xu, 1998**).

Au niveau des tissus vivants, il existe des mécanismes naturels de contrôle de l'oxydation afin de prévenir la destruction oxydative des lipides membranaires, des protéines et des acides nucléiques. Ainsi, il existe une régulation des systèmes pro oxydants et antioxydants qui permettent de maintenir la balance entre les facteurs impliqués dans les réactions d'oxydation.

La régulation des facteurs pro et antioxydants est perturbée à la mort de l'animal et durant le stockage et la transformation des muscles. Ce dérèglement induit des changements des propriétés biochimiques du muscle (**Hultin, 1994**). Ces modifications sont caractérisées notamment par une augmentation de la teneur en fer libre (**Decker et Hultin, 1990**), une activation des protéines héminiques (Kanner et coll., 1987), la dégradation des membranes (**Huang et al., 1993**).

Ces différents facteurs favorisent le développement des réactions d'oxydation qui induisent la dégradation des propriétés biochimiques, organoleptiques et nutritionnelles de l'aliment (**Frankel, 1998**).

Les facteurs qui influencent l'oxydation des lipides sont nombreux. Il s'agit de facteurs intrinsèques tels que la composition en acides gras des lipides (nombre et position des insaturations), la présence de pro oxydants (hème, ions métalliques, enzymes) ou d'antioxydants naturels (tocophérols, caroténoïdes...) et des facteurs externes tels que la température, la lumière, la pression partielle en oxygène, l'activité de l'eau, les conditions de stockage et de transformation (**Hsieh et kinsella, 1989**).

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

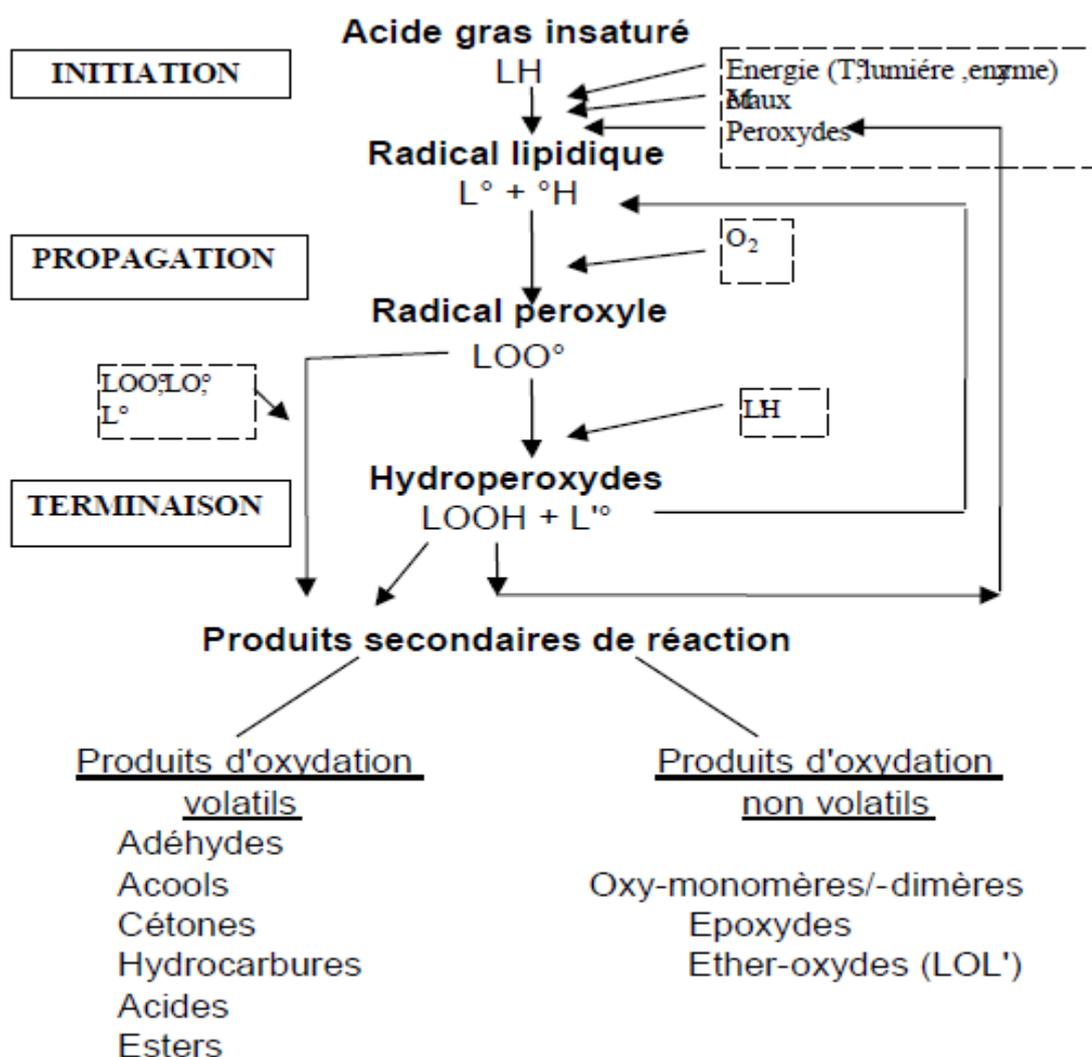
L'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

- l'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres;
- la photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photo-sensibilisateurs

- l'oxydation enzymatique initiée par la lipoxygénase.

### 1.1. Auto-oxydation

L'oxydation des lipides est une réaction auto-catalytique. Il s'agit d'un enchaînement de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes (Figure ). Une première réaction produit un radical libre par élimination d'un hydrogène de l'acide gras (initiation).



**Figure 1** : Schéma générale de l'oxydation des lipides

Puis les réactions s'enchaînent pour produire plusieurs radicaux libres (propagation) qui se combinent pour former des composés non radicalaires (terminaison).

**Mécanisme réactionnel de l'oxydation des lipides (Bolland et Gee, 1946) :**

### Initiation

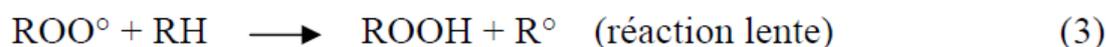
En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre de lipide (R°) (radical, lipoyle).



Ce mode d'initiation, favorisé par une élévation de température, peut être produit par des radiations ionisantes, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatiques ou chimiques produisant des espèces activées de l'oxygène, ou de traces métalliques.

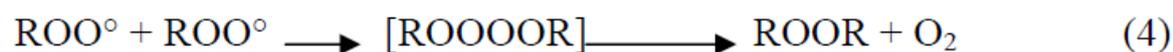
### Propagation

Les radicaux libres formés fixent l'oxygène moléculaire et forment des radicaux libres peroxydes instables (2) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras pour former des hydroperoxydes (3).



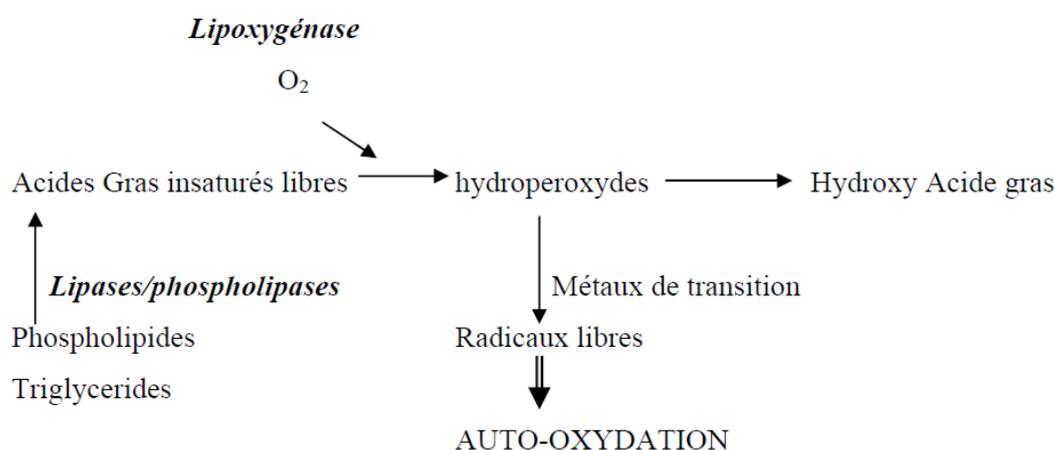
### Terminaison

Les radicaux formés réagissent entre eux pour conduire à un produit qui n'est pas un radical libre.



Les hydroperoxydes peuvent également se décomposer par scission homolytique de la liaison O-O pour former un radical alcoyl et un radical hydroxyl. Le radical alcoyl réagit avec d'autres substrats et propage la réaction en chaîne. Il peut également subir une scission carbone-carbone de part et d'autre du radical pour former un radical alkyl et un radical vinyl.

Le radical alkyl peut réagir avec un hydrogène, un radical hydroxyl ou une molécule d'oxygène générant ainsi des hydrocarbures, des alcools et d'autres hydroperoxydes. Le radical vinyl peut réagir avec un radical hydroxyl, un radical hydrogène ou l'oxygène moléculaire pour générer des aldéhydes et des hydrocarbures.



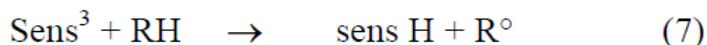
**Figure 2 :** Mécanisme d'initiation de la peroxydation des lipides par l'activité lipoxygénique (German et Kinsella, 1985).

### Photo-oxydation

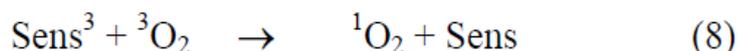
La photo-oxydation est une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photo-sensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine (Hultin, 1992). Les photo-sensibilisateurs (Sens) absorbent l'énergie lumineuse et passent à l'état triplet excité (Sens3) (Hultin, 1994). Les photo-sensibilisateurs interviennent dans l'oxydation des lipides selon deux types de mécanismes (Frankel, 1998).

Les photo-sensibilisateurs de type I, telle que la riboflavine, agissent comme les radicaux libres initiateurs. Dans leur état triplet, elles arrachent un atome d'hydrogène

ou un électron aux molécules lipidiques pour former un radical capable de réagir avec l'oxygène (7)



Selon le second mécanisme, les molécules photosensibles de type II, telles que la chlorophylle et l'érythrosine, réagissent dans leur état excité (Sens<sup>3</sup>) avec l'oxygène triplet (8) auquel elles transfèrent leur énergie pour donner de l'oxygène singulet (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>).



L'oxygène singulet ainsi formé est très électrophile et peut réagir directement sur un acide gras insaturé (RH) formant ainsi un hydroperoxyde ROOH (9).



Par la suite interviennent les réactions radicalaires en chaîne de l'auto oxydation. Les hydroperoxydes ainsi formés sont différents de ceux formés par auto-oxydation (**Frankel, 1998**).

### Voie enzymatique

Le phénomène d'oxydation des acides gras insaturés peut être d'origine enzymatique. Les deux enzymes principalement impliquées sont la lipoxygénase et la cyclooxygénase (**Hultin, 1994**). La lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé selon une réaction stéréospécifique et aboutit à la formation d'hydroperoxydes. Elle agit spécifiquement sur les acides gras non estérifiés. Son activité est donc souvent couplée avec celle des lipases et phospholipases (Figure). La cyclooxygénase est une lipoxygénase qui incorpore deux molécules d'oxygène au niveau d'un acide gras pour former des hydroperoxydes spécifiques. Les cyclooxygénases catalysent la formation *in vivo* des prostaglandines et thromboxanes et les lipoxygénases celle des leucotriènes. Les substrats de la lipoxygénase de poisson sont les AGPI comme l'acide arachidonique (C<sub>20</sub> :4 □6), l'EPA (C<sub>20</sub> :5 □3) et le DHA (C<sub>22</sub> :6 □3) (**Josephson & Lindsay, 1986**).

L'oxydation enzymatique se produit même à basse température. Durant le stockage à l'état congelé l'activité enzymatique est très faible. Cependant, une fois la décongélation amorcée et des températures de 0°C à 4°C atteintes, il semblerait que cette activité reprenne et s'accroisse (**Frankel**, 1998). Cette activité lipoxygénasique est surtout présente au niveau des branchies et de la peau du poisson (**German et Kinsella**, 1985). Chez le poisson, les lipoxygénases présentes seraient les 12-lipoxygénase, 15-lipoxygénase et 9-lipoxygénase dont l'activité conduit à la formation des 12-hydroperoxydes, 15-hydroperoxydes et 9-hydroperoxyde. Les activités des 12-lipoxygénase, 15-lipoxygénase, et 9-lipoxygénase ont été mises en évidence au sein de la peau de hareng (*Clupea haerengus*) et de sardine (*Sardinapilchardus*), avec une activité prédominante de la 12-lipoxygénase (**Medina et al.**, 1999).

L'activité de la 12-lipoxygénase est également présente dans les muscles de maquereaux (**Saeed&Howell**, 2001).

La décomposition de l'acide arachidonique-12-hydroperoxyde issu de l'activité lipoxygénasique des ouies de truite conduit à la formation de 2-nonéanal, 1-octène, 1-octène-3-ol, 2-octène, 2-octène-1-ol. La décomposition de l'acide eicosapentaénoic-12-hydroperoxyde conduit à la formation du 2,6-nonadiène, 1,5-octadiène-2-ol et 2,5-octadiène-1-ol (**Hsieh&Kinsella**, 1989).

Au cours de la période *post mortem* et de la transformation des poissons, des lipoxygénases seraient libérées par la peau et généreraient des hydroperoxydes de lipides au sein des muscles (**Rhee**, 1988). Ces hydroperoxydes participeraient à l'initiation et à la propagation de l'oxydation. Cette voie enzymatique de peroxydation nécessite la présence de cofacteurs et un pH situé entre 6 et 7 dans le cas des muscles de poisson (**Rhee**, 1988).

Les lipoxygénases du poisson sont inactivées à des températures supérieures à 60°C, pour lesquelles l'oxydation non enzymatique est favorisée. Ces enzymes peuvent être inhibées par les tocophérols (vitamine E) qui sont des antioxydants naturels.

## 2. Initiateurs de l'oxydation des lipides

La phase d'initiation de l'oxydation des lipides peut être déclenchée par plusieurs facteurs : les formes activées de l'oxygène, les enzymes, les métaux ou la chaleur (**Hsieh et Kinsella, 1989, Hultin, 1994 ; Frankel, 1998**).

### 2.1. Initiation par les formes activées de l'oxygène

L'oxygène moléculaire est, dans son état fondamental, à l'état triplet. Il ne peut réagir directement avec les lipides car la barrière de spin est trop élevée. La réaction de l'oxygène avec les acides gras insaturés est rendue possible par trois types de mécanismes. Le premier correspond aux voies de l'autoxydation qui résultent du départ d'un hydrogène d'une chaîne d'acide gras sous l'influence de différents initiateurs comme les ions des métaux de transition, et les formes activées de l'oxygène comme le radical hydroxyle. Le radical hydroxyle est très réactif, il peut arracher un hydrogène et former ainsi un radical alkyle qui va initier la peroxydation lipidique. Le second mécanisme est la formation d'oxygène singulet capable de réagir directement avec les chaînes grasses. C'est ce qui se produit généralement lors de la photooxydation. La troisième est liée à l'intervention d'enzymes permettant une fixation directe de l'oxygène moléculaire.

### 2.2. Initiation par les métaux

Les métaux de transition jouent un rôle important dans la génération des radicaux libres de l'oxygène, ils sont les premiers activateurs des molécules d'oxygène. Le niveau élevé de l'oxydation lipidique présent au sein des muscles bruns ne serait pas directement due à la proportion importante de lipides mais dépendrait plutôt de sa forte concentration en fer (**Love, 1980**). Au sein des tissus biologiques, les principaux métaux de transition présents sont le fer et le cuivre. Ces derniers catalysent l'oxydation des lipides par des voies enzymatiques et non enzymatiques. La voie non enzymatique intervient en présence d'agent réducteur tel que les superoxydes, l'ascorbate et la cystéine (**Kanner et al., 1987**).

Au niveau des microsomes et du réticulum sarcoplasmique des muscles, la voie d'initiation de l'oxydation des lipides est de nature enzymatique et fait intervenir le fer,

l'ADP, le NADH ou le NADPH. (Rhee, 1988). En présence des métaux de transition, les hydroperoxydes produits par les enzymes, seraient décomposés pour former des composés volatils responsables des mauvaises odeurs. L'initiation de l'oxydation lipidique par les métaux peut se faire par transfert d'électron ou par formation de complexe de transition ou de complexe avec le peroxyde d'hydrogène qui catalysent l'auto-oxydation et la décomposition par la réaction redox (Frankel, 1998).

### 2.3. Facteurs environnementaux

Les principaux facteurs impliqués dans l'oxydation des lipides au cours des procédés de transformation et de conservation des poissons et de leurs produits transformés sont : la température, du pH, de l'activité de l'eau et de la pression partielle en oxygène.

Une élévation de température favorise l'oxydation des lipides. L'oxydation des lipides est d'autant plus rapide que la température est importante : le départ des hydrogènes allyliques et la décomposition des hydroperoxydes en produits secondaires sont favorisés. Il est à noter cependant, que la solubilité de l'oxygène diminue quand la température augmente.

### 3. Produits formés au cours de l'oxydation des lipides

L'oxydation des lipides de poisson conduit à la formation de produits primaires : hydroperoxydes, radicaux libres, diènes conjugués, très instables et rapidement décomposés en produits secondaires : aldéhydes, alcools, cétones. Ainsi, lors du développement des réactions d'oxydation vont successivement apparaître les produits primaires et secondaires de l'oxydation.

#### 3.1. Produits primaires

Des radicaux libres sont formés au cours des phases d'initiation et de propagation de la réaction d'oxydation des lipides. Ces espèces très instables et très réactives sont des composés cytotoxiques susceptibles d'induire des altérations des molécules d'ADN (Kanazawa *et al.*, 2000) et des protéines. Les diènes conjugués, se forment par réarrangement des doubles liaisons du radical lipoylé des acides gras polyinsaturés. Les hydroperoxydes sont des produits intermédiaires de l'oxydation des lipides sans

odeur spécifique, ils se décomposent rapidement. Ce sont les précurseurs des composés volatils.

### **3.2. Produits secondaires**

La scission des produits primaires de l'oxydation conduit à la formation de composés secondaires souvent volatils. Ces composés sont responsables des odeurs propres aux poissons. Les poissons frais sont caractérisés par une odeur d'herbe coupée, caractéristiques des composés carbonylés et des alcools issus de la dégradation des AGPI probablement par voie enzymatique (**Josephson, 1984**).

### **3.3. Produits d'interaction entre les produits d'altération des lipides et les protéines**

Les hydroperoxydes et les produits secondaires issus de l'oxydation des lipides interagissent avec les protéines et les acides aminés. Ces interactions ont un impact important sur la dégradation des propriétés fonctionnelles, sensorielles et nutritionnelles des aliments (**Pokorny, 1977**). La nature de ces interactions dépend du stade de l'oxydation des lipides c'est à dire de la teneur en hydroperoxydes ou en produits secondaires (**Ladikos et Lougovois, 1990**).

### **1. Introduction :**

Le mot agrume ‘terme dont l’origine italienne est agrume et l’origine latine *acrimen*) signifie aigre.

Les agrumes, arbres appartenant à la famille des Rutaceae et au genre botanique *Citrus*, sont cultivés principalement pour leurs fruits : le bois est utilisé en ébénisterie. Ils poussent dans les régions tropicales et méditerranéennes. Ils sont encore retrouvés à l’état sauvage.

A l’origine, ces arbustes étaient chétifs et produisaient de petits fruits acides. Cela les rendait impropres à la consommation.

D’origine asiatique et plus précisément de l’Asie du Sud, Est et d’Inde, le citronnier fut introduit en Méditerranée par les arabes. C’est à l’époque des croisades que l’Europe découvre le « *Citrus* ». i est cultivé depuis le XIV<sup>e</sup> siècle en Sicile , qui est actuellement le plus gros producteur de citrons. La Corse produit des citrons d’excellente qualité et de très belle grosseur.

Actuellement, la culture s’étend aux régions tempérées du monde entier.

Les huiles essentielles et l’essence de citronnier (*Citrus Limon* (L.). Burm. Feuille/ zeste) sont connues et utilisées depuis très longtemps aussi bien en usage alimentaire que cosmétique et thérapeutique. Les études récentes sur le d-limonène, présent entre 65 et 70% dans ces produits, confortent les activités traditionnelles (anti-infectieuse, cholagogue, anti nauséuse, tonique...) et mettent en avant de nouvelles propriétés (hypocholestérolémiant, lipolytique, hypoglycémiant, ulcéroprotectrice, anxiolytique...).

L’absence de toxicité per os du d-limonène présente un intérêt majeur. De nouveaux traitements contre les pathologies métaboliques pourraient donc être envisagés

## **2. Usage en phytothérapie :**

Le jus de citron est riche en vitamine C et a été utilisé pour lutter contre le scorbut. Les feuilles de citronnier sont utilisées en phytothérapie pour leurs actions calmantes et spasmolytiques principalement.

## **3. Usage en aromathérapie :**

### **3.1. Zeste :**

Les zestes étaient distillés par les chimistes du XVI<sup>e</sup> siècle. Aujourd'hui les zestes sont distillés ou exprimés. L'expression à froid produit une essence plus appréciée pour son goût et son odeur que l'huile essentielle obtenue par distillation à la vapeur d'eau du zeste sec. L'essence de citronnier (zeste exprimé) est très utilisée en parfumerie, en savonnerie, en cosmétique, en pharmacie et en industries agroalimentaires. Elle entre dans la composition de nombreux parfums (eau de cologne .....).

### **3.2. Feuille :**

Les feuilles sont distillées à la vapeur d'eau, on obtient l'huile essentielle (HE) petit grain citronnier. Le terme petit grain citronnier correspond aux minuscules fruits verts immatures (en forme de petits grains) accrochés aux rameaux et distillés avec les feuilles.

Les propriétés, précautions et fragrances sont différentes de celles de l'essence et de l'HE obtenues à partir du zeste.

Remarque :

Il existe plusieurs « huiles essentielles petit grain » obtenues par distillation à la vapeur d'eau des feuilles des « Citrus ».

- HE petit grain bigaradier (oranger amer).
- HE petit grain mandarinier.
- HE petit grain pamplemoussier.

Deux E et une essence de citronnier sont aujourd'hui commercialisés.

- HE citronnier (zeste sec distillé). Cette HE est obtenue par distillation à la vapeur d'eau du zeste sec du fruit, le citron.
- HE citronnier (feuilles). Cette HE est connue sous le nom d'HE petit grain citronnier. Elle est obtenue par distillation à la vapeur d'eau des feuilles du citronnier.
- Essence citronnier (zeste frais exprimé). Cette essence est obtenue par expression mécanique du zeste frais du fruit, le citron.

Les essences et les HE obtenues à partir du zeste sont les produits les plus connus provenant des « Citrus ». Elles présentent les mêmes propriétés et précautions à l'exception de la photosensibilisation qui existe pour la seule essence.

Dans le cadre de cet article. L'HE citronnier (zeste sec distillé) et l'essence citronnier (zeste frais exprimé) seront principalement étudiées.

#### **4.Description botanique du citronnier :**

Le citronnier appartient à la famille des Rutaceae et au genre Citrus. A la dixième édition de la pharmacopée française, le citronnier est désigné sous le nom de Citrus Limon (L.) Burn.f.

Il peut être cité sous le synonyme de Citrus Limonum Risso.

Il existe de nombreuses espèces de « Citrus »

➔ Citrus sp type « citronnier ».

- Citrus Limon (L.) Burman.
- Citrus aurantifolia (Swingle) limette ou citron vert
- Citrus bergamia (Risso) bergamotier
- Citrus medica (L.) cédrat.

➔ Citrus sp type « oranger ».

- Citrus reticulata (Blanco) mandarinier.
- Citrus sinensis (L.) oranger doux.

→ Citrus sp « hybride ».

- Citrus maxima (Burm.) Merr. Pamplemoussier.

Le citronnier dépasse rarement 5 m de haut. Il apprécie la douceur et déteste le froid et le vent. Il peut vivre en moyenne 80 ans.

Ses branches épineuses portent des feuilles odorantes persistantes, oblongues lancéolées.

Les jeunes pousses et les bourgeons sont teintés de pourpre. Les boutons floraux rouges bordeaux se métamorphosent en fleurs blanches et rosées qui exhalent un parfum doux et hespéridé. Ses fruits verts virent au jaune citron à maturité.

Il prospère sur le pourtour de la Méditerranée, en Californie, en Amérique du Sud et en Afrique.

Le fruit est une baie constituée de trois parties :

- Le zeste ou flavédo, partie extérieure colorée d'où seront extraites les essences par expression mécanique à froid du zeste frais et les HE par distillation à la vapeur d'eau du zeste sec.
- L'albédo, partie blanchâtre à saveur amère, d'épaisseur inégale ; cette partie ne se mange pas.
- La pulpe, gorgée de jus est utilisée en alimentation.

Le citron jaune est le plus courant (Citrus Limon), mais il existe aussi le citron vert (Citrus aurantifolia), dont on extrait à partir du zeste l'essence de limette. Cette arbre est plus petit que le citronnier à fruits jaunes et la péricarpe ou zeste des citrons verts est lisse. Il est utilisé en confiserie, confit ou pour parfumer le ti-punch.

Il est très recherché en parfumerie pour sa fragrance très « fraîche ».

#### **5. Caractéristiques de l'HE et de l'essence de citronnier/ zeste :**

- Drogue utilisée : zeste frais du fruit exprimé (partie externe du péricarpe).
- Origine : Italie.

- Caractéristiques organoleptiques : liquide fluide, limpide et jaune, parfum frais et citronné.
- Récolte et rendement : en Sicile, la récolte a lieu de janvier à mai. La richesse en essence varie selon les terroirs, les climats, la maturité, l'âge du citronnier et sa variété. Le citronnier fournit environ 1500 à 3000 citrons. Deux cent cinquante kilogrammes de zestes sont nécessaires pour produire 1 kg d'essence. (F.MILLET, 2014).

### **1- Objectif**

Cette étude a pour but d'étudier les effets de l'addition d'antioxydant naturel sous forme d'huiles essentielles extraites des feuilles de citronnier sur les qualités nutritionnelles et physicochimiques de la viande ovine hachée.

### **2- Laboratoire d'analyse**

Les analyses ont été effectuées au niveau du laboratoire pédagogique de biochimie de l'université de Mostaganem.

### **3- Récupération des feuilles et préparation des échantillons**

Les feuilles vertes du citronnier ont été récupéré à partir de citronniers plantés au niveau de l'atelier d'agriculture de l'université Abdelhamid IbnBadis.



**Figure 1 :** Champ de citronnier (**originale**, 2016)

La viande ovine (*LongissimusDorsi*) est achetée au niveau d'une boucherie locale, conservée à 4°C pendant le temps du transfert au laboratoire.

#### **4- Méthodes**

Les feuilles de citronnier sont lavées et nettoyées de toutes les nervures de feuilles puis transformer en poudre.

#### **5. Extraction de l'huile essentielle des feuilles de citronnier :**

Pour l'extraction d'huile essentielle, nous avons utilisé deux méthodes :

##### **5.1. Extraction par hydro distillation :**

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par une hydro distillation dans un appareil de type Clevenger (Clevenger. 1928). Deux extractions ont été réalisées par ébullition de 200g de feuilles vertes de citronnier découpées avec 1000 ml d'eau distillée, durant trois heures (3h).



**Figure 2 :** Feuilles de citronnier (**originale**, 2016)



**Figure 3 :** Extraction d'huile essentielle par hydro distillation dans un appareil de type Clevenger (**originale**, 2016)

### **5.2. Extraction par entrainement par la vapeur (la cocote) :**

Nous avons rempli la cocote avec environ 1l d'eau distillée, puis nous avons mis nos feuilles vertes sur un support, et nous avons fait le montage de l'extraction après avoir placé la cocote sur une plaque chauffante ; en dernier nous avons fait circuler l'eau froide dans le réfrigérant à eau.

La récupération de l'huile dans un tube a été faite après environ 3h (après l'épuisement du végétal).

### **5.3. Calcul du rendement :**

Avant la récupération de l'huile, nous avons lu le volume directement sur l'appareil.

### **6. Préparation des dilutions :**

En tout, nous avons préparé des solutions en trois concentrations différentes :

- La solution à 1% : 1ml d'huile essentielle a été ajoutée à 100ml d'eau distillée.
- La solution à 2% : 2ml d'huile essentielle sont additionnés a 100ml d'eau distillée.
- La solution à 5% : nous avons mis 5ml d'huile essentielle et nous avons rempli jusqu'à 100ml avec de l'eau distillée.

### **7. Échantillonnage :**

Nous avons acheté environ 500 g de viande ovine d'où nous avons prélevé nos échantillons.

### **8. Analyses physico-chimiques :**

Avant d'effectuer les analyses physicochimiques, nous avons fait une immersion de la viande dans une solution d'huile essentielle des feuilles du citronnier à 2%.

#### **8.1. Dosages de la matière sèche et de la teneur en eau (Méthodes thermogravimétriques)**

##### **a. Matériel**

Pour l'estimation de la teneur en eau, trois fois 5 g d'échantillon homogénéisé ont été placés dans des creusets en porcelaine puis laissés à déshydrater pendant 24 heures dans une étuve à  $103 \pm 2$  °C.

Après le refroidissement des récipients dans le dessiccateur pendant 45 minutes, la matière sèche restante est alors pesée, par différence avec la masse initiale, la quantité d'eau évaporée déduite.

##### **b. Calcul et expression des résultats**

La matière sèche (M.S.) de l'échantillon sera calculée sur la base de la prise d'essai et de la pesée après dessiccation

$$M.S (\%) = \frac{\text{Masse MS (g)}}{\text{Masse de l'échantillon(g)}} \times 100$$

Le pourcentage de la teneur en eau est calculé en suivant le modèle mathématique suivant :

$$H_2O = 100 - MS (\%)$$

## **8.2. Méthodes de dosage de cendres M.S.D.A 2004**

Les cendres sont les résidus de composés minéraux qui restent après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques d'origine animale, végétale ou synthétique.

### **a. Calcul et expression des résultats**

La teneur en cendres de l'échantillon est calculée sur la base de la pesée de l'échantillon incinéré et la prise d'essai (exprimé en g / 100 g).

$$Cendres \% = \frac{\text{poids après calcination} - \text{poids du creuset vide}}{\text{Poids de l'échantillon}} \times 100$$

## **8.3. Détermination de la matière organique (AFNOR, 1985) :**

La teneur en matière organique s'obtient en soustrayant de la matière sèche les cendres (ou matière minérale totale).

$Mo = Ms - Mm (\text{en \% de MS})$
-------------------------------------

## **8.4. Dosage des lipides totaux (SOXHLET) :**

### **a. Principe :**

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première. Le schéma d'un appareil Soxhlet. Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant

d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.



**Figure 4:** Appareil d'extraction des lipides totaux par chaud (**originale**, 2016).

L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche. La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide de l'appareil appelé Rotavapor. Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon- collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide.

Ou bien par d'autres méthodes qui se font par la récupération du solvant (éther de pétrole) et l'étuvage des ballons.

### **b. Mode opératoire**

Placement d'un échantillon de 5g de viande hachée (ovine) dans une cartouche après avoir peser les ballons, puis mettre 200 ml d'éther de pétrole dans chaque ballon avec la vérification d'installation d'eau et ensuite lancer l'opération, le temps d'extraction est environ de 3h.

A la fin de l'extraction, on enlève les cartouches et nous avons récupéré le solvant brut, puis nous avons pesé à nouveau les ballons, et calculé le pourcentage de la matière grasse extraite selon la formule suivante :

$$\text{Lipides totaux (\%)} = \frac{P1 - P0}{5} * 100.$$

**P1** : ballon + extrait

**P<sub>0</sub>** : ballon vide.

## **8.5. Estimation du degré d'oxydation des lipides de la viande hachée ovine (TBA) :**

### **a. Principe**

L'indice TBA ou TBARS est une méthode spectrophotométrie qui dose le malonaldéhyde (MDA), ce dernier étant le produit secondaire de l'oxydation des acides gras polyinsaturés, l'acide thiobarbiturique (TBA) réagit avec le malonaldéhyde (MDA) pour former un complexe de couleur rose et/ou jaune possédant un maximum d'absorption à une longueur d'onde de 532 nm ( **Pegg, 1993**).

### **b. Mode opératoire :**

Dans notre étude, nous avons fait l'estimation du degré d'oxydation des lipides de la viande hachée ovine à différentes périodes : 0h, 30 min, 1h et 2h ; après avoir fait une immersion dans trois solutions d'huile essentielle des feuilles de citronnier de différentes concentrations : 1%, 2% et 5%.

Nous avons placé un échantillon de viande hachée (ovine) de 2g dans un broyeur, et ajouté 16 ml de TCA et 100 µl de vitamine C, puis nous avons broyé et filtré à travers un papier filtre afin d'obtenir un filtrat. Puis de ce filtrat 2 ml sont additionnés à 2 ml d'acide thiobarbiturique.

Les tubes fermés sont plongés dans au bain-marie à 70°C pendant 30 minutes et placés dans un bain d'eau froide. Et en fin la dernière étape consiste à lire à l'aide d'un spectrophotomètre l'absorbance du mélange réactionnel à 532 nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent MDA (malonaldehyde) / kg.

### **c. Expression des résultats**

Les résultats dégagés au cours de ces expériences sont obtenus par la formule suivante :

$$\text{mg équivalent MDA/ kg} = (0,72 / 1,56) \times (A_{532 \text{ cor}} \times V \text{ solvant} \times V_f) / PE$$

**A<sub>532 cor</sub>** : l'absorbance.

**V solvant** : volume de solution de dilution TAC en ml.

**PE** : prise d'essai en gramme.

**V<sub>f</sub>** : volume du filtrat prélevé. **0,72 / 1,56** : correspond à la prise en compte du coefficient d'extinction moléculaire du complexe TBA-MDA à la valeur de : 1,56.105 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> (**Buedgeet al.**, 1978) et au poids moléculaire du MDA d'une valeur de 72g.

### **Traitement statistique**

Les résultats ont été traités par analyse de variance suivie d'une comparaison de moyenne par le biais d'un logiciel (stat box 6.04) selon le test de **Newman** et **Keuls**.

## Résultats

### 1. Estimation du degré d'oxydation des lipides de la viande hachée:

Les résultats obtenus sont dans le tableau 3 et la figure 9

**Tableau 3:** Teneurs en MDA des viandes ovines hachées

	Témoin				1% extrait			
	0H	30min	1h	2h	0H	30min	1h	2h
Teneur en MDA mg d'équivalents	0,04±0,04 <sup>i</sup>	0,75±0,02 <sup>d</sup>	1,86±0,01 <sup>b</sup>	2,04±0,01 <sup>a</sup>	0,27±0,01 <sup>f</sup>	0,07±0,01 <sup>i</sup>	0,59±0,01 <sup>e</sup>	0,9±0,01 <sup>c</sup>

(N=3 ± l'ecartype) les lettres affectées de groupes homogènes indiquent des différences significatives

2% extrait				5% extrait			
0H	30min	1h	2h	0H	30min	1h	2h
0,62±0,02 <sup>e</sup>	0,09±0,02 <sup>i</sup>	0,59±0,01 <sup>e</sup>	0,6±0,02 <sup>e</sup>	0,69±0,03 <sup>d</sup>	0,14±0,01 <sup>i</sup>	0,27±0,09 <sup>f</sup>	0,63±0,02 <sup>e</sup>

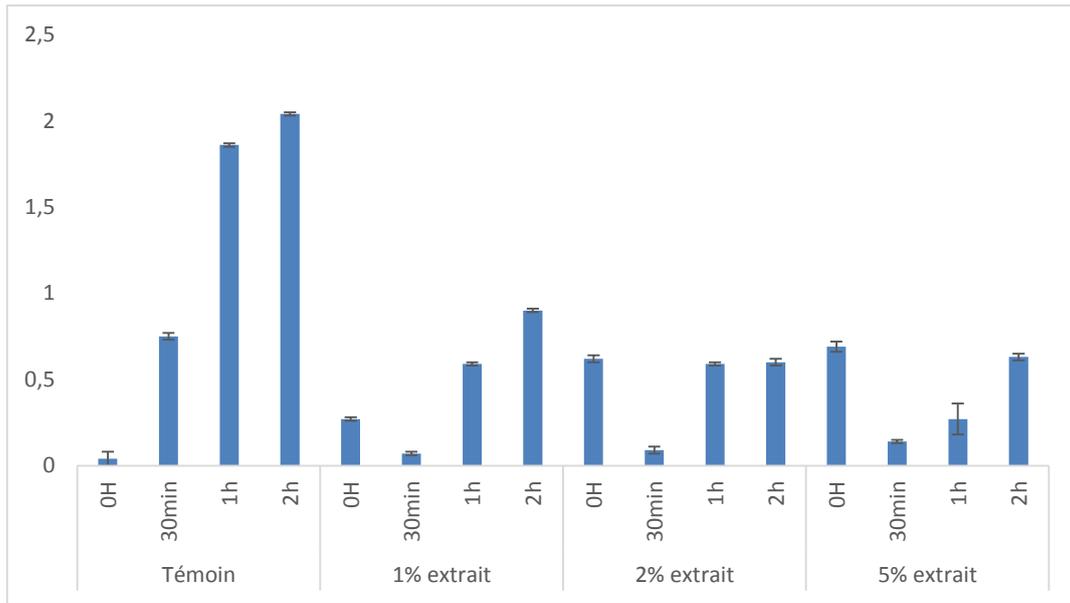
Les teneurs en manoldialdéhydes sont des indicateurs de fraîcheurs de viandes, d'après nos résultats, nous remarquons que les viandes témoins présentent des teneurs en MDA différentes significativement par rapport aux viandes traitées par les huiles essentielles à différents pourcentage.

Les viandes ovines conservées après 2 heures présentent une valeur importante en MDA soit 2.04mg d'équivalents par rapport à un kg de viande contre 0.04 juste après l'achat.

Les résultats des analyses statistiques ( $p < 0.05$ ) montre que l'ajout d'1% d'huile essentielles provoque une chute significative des valeurs en MDA par rapport aux viandes témoins. (0.47 mg vs 1.17 mg) respectivement.

L'ajout des huiles essentielles à raison de 2% ou a raison de 5% n'affecte pas les teneurs en MDA des viandes (0.47 mg et 0.43mg) respectivement.

Il est a noté que les teneurs en MDA suivent une progression linéaire durant les différents temps de l'étude



**Figure 9 :** Indice TBA dans la viande hachée

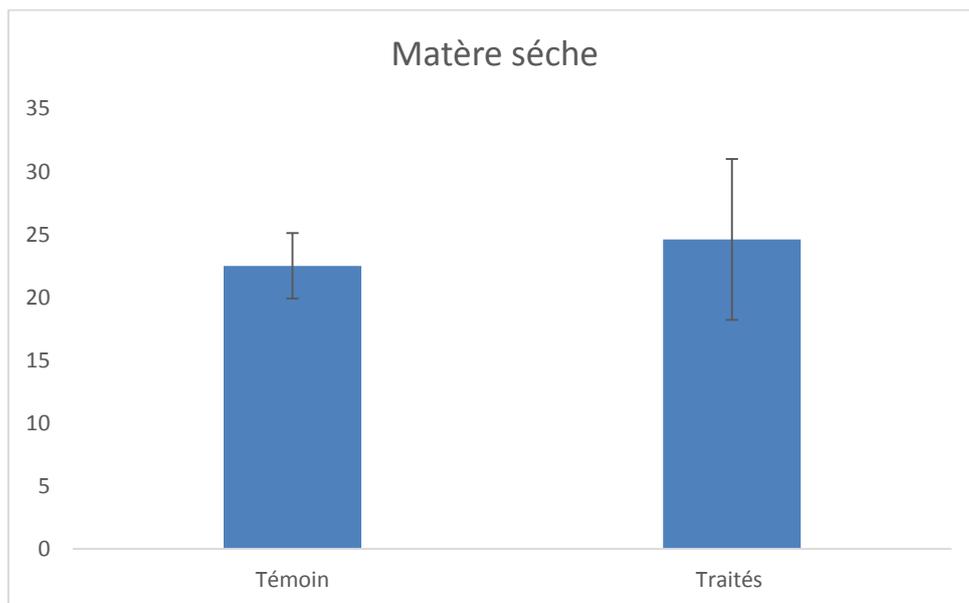
## 2. Matière sèche :

Les résultats obtenus sont représenté dans le tableau 4 et la figure 10

**Tableau 4 :** Teneur en matière sèche des échantillons de la viande hachée.

	Témoins	Traités
Matière sèche (g pour 100 g de viandes)	$22,5 \pm 2,6^b$	$24,6 \pm 6,4^a$

(N=3 ± l'ecartype) les lettres affectées de groupes homogènes indiquent des différences significatives



**Figure 10:** Teneur en matière sèche de la viande hachée.

La teneur en matière sèche est légèrement supérieure dans la viande traitée au HE 24.6 % que dans la viande témoin 22.5%, soit un rapport de différence de 8.53 %.

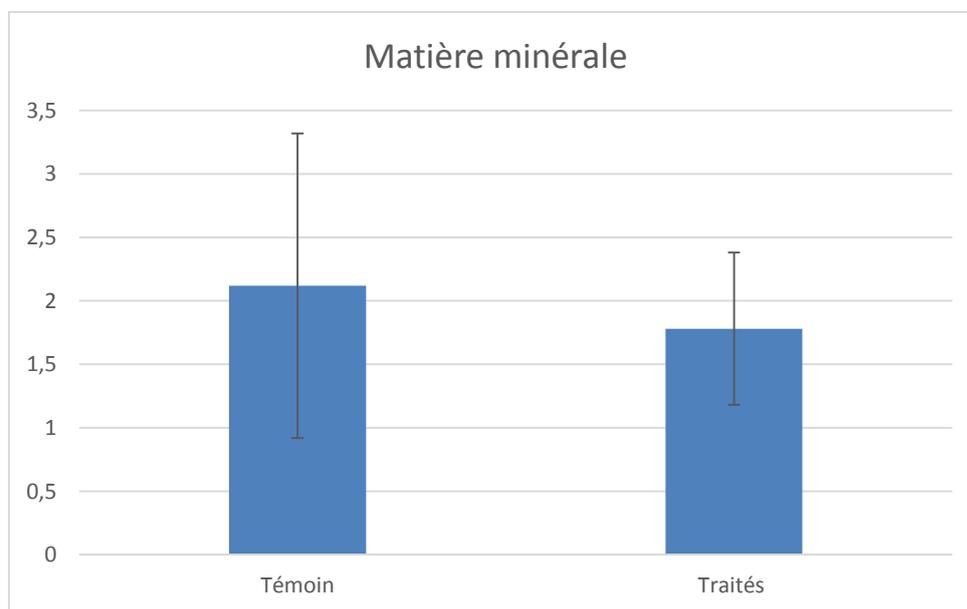
### 3. Matière minérale :

Les résultats obtenus sont représenté dans le tableau 5 et la figure 11

**Tableau 5:** Teneur en matière minérale des échantillons de la viande hachée.

	Témoin	Traités
Matière minérale (g par rapport a 100g)	2,12±1,2 <sup>a</sup>	1,78±0,6 <sup>b</sup>

(N=3 ± l'ecartype) les lettres affectées de groupes homogènes indiquent des différences significatives



**Figure 11:** Teneur en matière minérale de la viande hachée.

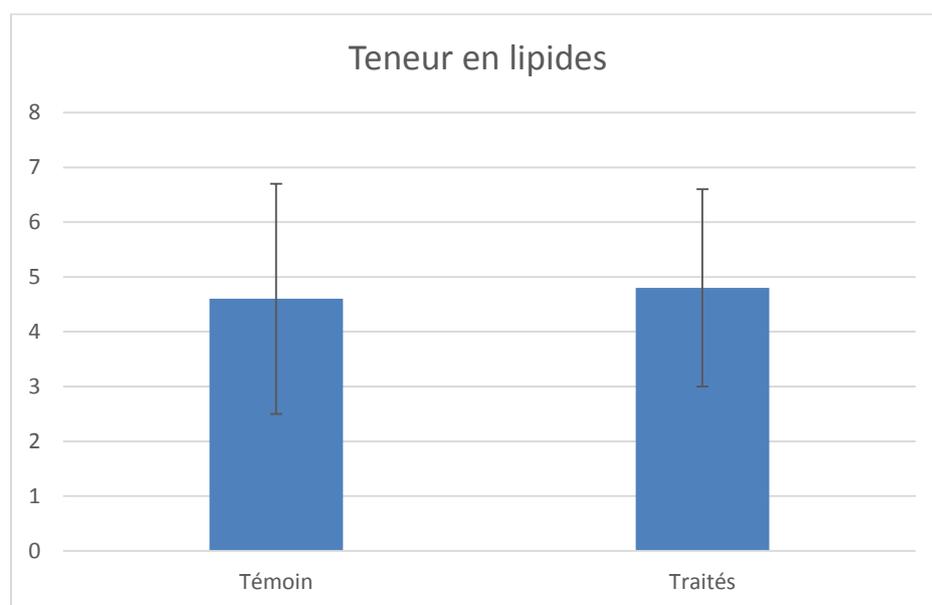
La teneur en matière minérale des viandes témoins est largement supérieure par rapport à celle des échantillons expérimentaux 2.12% contre 1.78% respectivement, avec un rapport de différence d'environ 16.03%.

#### 4. Teneur en lipides totaux :

**Résultats :** Les résultats obtenus sont représenté dans le tableau 6 et la figure 12

**Tableau 6:** Teneur en lipides totaux des échantillons de la viande hachée.

	Témoin	Traités
Teneur en lipides (g)	4,6±2,1 <sup>a</sup>	4,8±1,8 <sup>a</sup>



**Figure 12:** Teneur en lipides totaux de la viande hachée.

Les teneurs en lipides sont comparables entre les deux échantillons (témoin et expérimental) 4.8% et 4.6% successivement, avec un rapport de différence de 7.14%.

Toutefois, il est important de signaler que cette différence n'est pas significative.

## 5. Discussion :

Les viandes ovines ont souvent mauvaise réputation auprès des diététiciens qui les jugent trop riches en lipides. De récentes études ont montré que certains acides gras de ces viandes pouvaient avoir un avis très favorable sur la santé humaine. (GEAY *et al*, 2002).

Les viandes de ruminants sont une source importante de protéines riches en acides aminés indispensables et une source de fer nettement plus assimilable que le fer végétal.

La composition chimique du muscle est assez constante (environ 76% d'eau, 19 à 25% de protéines, 1 à 6% de lipides, 1 à 2% de minéraux, et 1 à 2% de glucides).

La proportion des lipides varie suivant le morceau choisit ainsi que le mode de cuisson utilisé, nos résultats concordent avec les résultats de REGAL 1995.

Il est important de signaler que la contribution de la viande ovine à la consommation totale de lipides par l'homme n'est que de l'ordre de 5% (revue de DEMEYER et DOREAU 1995).

La quantité et la nature des lipides déposés dans les muscles dépendent en grande partie non seulement des apports alimentaires mais aussi de la digestion, de l'absorption intestinale, du métabolisme hépatique et des systèmes de transport des lipides jusqu'au muscle.

Les teneurs en lipides et en matière minérale des viandes sont fortement touchées par la typologie musculaire des viandes. Les fibres sont constituées de longues cellules multinucléées contenant les protéines contractiles, les enzymes requises pour l'utilisation ou le stockage de l'énergie (glucides, lipides) et les enzymes protéolytiques responsables des protéines au cours de la maturation de la viande.

Les teneurs en MDA sont des indicateurs de la fraîcheur de la viande, elles sont en fonction de plusieurs paramètres parmi les quelles la teneur initiale en lipides, la charge microbienne et les méthodes de conservation.

Dans notre étude, l'utilisation des huiles essentielles extraites du citronnier a permis de réduire les teneurs en MDA des viandes, leurs utilisations à raison de 1% a donné des résultats très satisfaisants. Cela s'explique par la formation des complexes entre les huiles essentielles et les radicaux libres formés à la suite de l'oxydation des lipides.

## *Conclusion*

Le travail réalisé sur les viandes ovines avait pour objectif de mettre en évidence l'effet conservateur des huiles essentielles à différentes concentrations (1, 2% et 5%) lorsqu'ils sont appliqués à ces viandes avant leur réfrigération.

L'immersion de la viande ovine dans l'eau distillée additionnée d'huiles essentielles conduit à l'augmentation de sa durée de conservation vis-à-vis de la flore aérobie mésophile, des entérobactéries et des coliformes fécaux d'un jour et surtout sur les résultats d'oxydations des lipides

A la lumière de nos résultats, il en sort que :

La viande ovine est une excellente source de nutriments à savoir lipides, protéines et minéraux, et malgré qu'elle soit mal réputée pour sa richesse en matière grasse, elle reste toujours la viande la plus consommée en Algérie, et elle couvre environ 60% de la production des viandes rouge en Algérie.

L'effet du morceau est ressenti dans les différents résultats surtout sur les teneurs en lipides 4,8% (d'après nos résultats obtenus pour la viande non traitée), et 4,6% (pour la viande traitée)

Les feuilles du citronnier avaient un bon rendement en HE, à raison de 3 ml/kg, et c'était en partie la cause de notre choix pour la plante du citronnier, ainsi que sa disponibilité dans la région de Mostaganem.

L'utilisation des HE a permis d'abaisser les teneurs en MDA des viandes par exemple : de 1,86 mg (dans la viande non traitée) à 0.59 mg (dans la viande traitée à 1%), après une heure de conservation dans les mêmes conditions, ce qui nous mène à dire que l'utilisation des HE des feuilles du citronnier aide à une plus longue et meilleurs conservation de la viande hachée ovine et à la fois naturelle.

Les résultats de cette étude ont révélé la possibilité de la conservation des viandes ovine par la combinaison de deux techniques l'une physique (la réfrigération) et l'autre chimique (les huiles essentielles), tout en préservant leur qualités hygiéniques et nutritionnelles. Il convient ;

- D'approfondir ces résultats par des études complémentaires sur l'effet de ces deux acides sur d'autres flores microbiennes.
- Rechercher d'autres molécules naturelles telque les huiles essentielles, pouvant être utilisées dans la conservation des produits carnés.
- Tester l'efficacité de ces méthodes de conservation à l'échelle industrielle.

**Afssa—CNERNA—CNRS, ANC.** Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Paris: Ed Tech & Doc; **2001**.

**Alasnier, C., David-Briand, E., & Gandemer, G. (2000).** Lipolysis in muscles during refrigerated storage as related to the metabolic type of the fibres in the rabbit. *Meat Science*, 54(2), 127-134.

**Ali F.h. and d.a. Zahran.,(2010).** Effect of growth enhancers on quality of chicken meat during cold storage advance journal of food science and technology 2(4): 219-226, 2010 issn: 2042-4876

**Bauchart D, Chantelot F, Gandemer G.** Qualités nutritionnelles de la viande et des abats chez le bovin : données récentes sur les principaux constituants d'intérêt nutritionnel. *Cah Nutr Diet* **2008**;43(hors-série 1);1S29—39.

**Boccard.R** et Al-1982. hygiène et technologie de la viande fraîche, édition du centre national de la recherche scientifique.

**Christelle Duchéne, Gérard Pascal, Simone Prigentc. 2010,** les viandes aujourd'hui : principales caractéristiques nutritionnelles. Cahiers nutrition diététique. chromatographic analyses to determine oxidation of fish muscle lipids during thermal Compounds from Fresh Fish. *Biogenesis of Aromas* 201-219.

**CREDOC—CIV.** Dossier santé — L'alimentation des Français. Quelle place pour la viande aujourd'hui ? Paris; **2009**.

**Daniel.C 1972.** La viande et le froid, production, transformation, commercialisation, édition dunod PP25-68.

**Decker, E.A. and Hultin, H.O. (1990)** Non enzymic Catalysts of Lipid Oxidation in Mackerel Ordinary Muscle. *Journal of Food Science* **55** 951-953.

**Decker, E.A. and Xu, Z. (1998)** Minimizingrancidity in muscle food. *Food technology***52**, 54-61

**Fabienne Millet**, 2014 huiles essentielles et essences de citronnier

**Frankel, E.N. (1998)** Lipid oxidation. *The Oily Press (vol. 10)*. Dundee, Scotland. 10.

**German, J.B. and Kinsella, J.E. (1985)** Lipid oxidation in fish tissue. enzymatic initiation via lipoxygenase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **33** 680-683.

**Hernández-Gimeno, J. M. (2002)**. Calidad de los alimentosde origen animal. ¿Qué

**Hsieh, R.J. and Kinsella, J.E. (1989a)** Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. *Advances in Food and NutritionResearch*. **33** 233-341.

**Hsieh, R.J. and Kinsella, J.E. (1989b)** Lipoxygenase Generation of Specific Volatile Flavor Carbonyl Compounds in Fish Tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry***37**,279-286.

**Huang, C.H., Hultin, H.O. and Jafar, S.S. (1993)**Some aspects of Fe<sup>2+</sup>-catalysed oxidation in fish sarcoplasmic reticular lipid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **41**, 1886-1892.

**Hultin, H.O. (1992)** Lipid Oxidation in Fish Muscle. In *Advances in sea food biochemistry: Composition and quality* Flick, G.J. & Martin, R.E. (Eds.), Technomics Publishing Compagny Inc, Lancaster; 99-122.

**Hultin, H.O. (1994)** Oxidation of lipids in seafoods. In *Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality*. Shahidi, F. & Botta, J.R. (Eds), Blackie Academic & Professional, New York; 49-74.

**Jiménez, F., & Carballo, J. (2000)**. Capítulo IV: Aplicaciones del frío a la carne y productos cárnicos (pp. 293–313). In Coordinado por M. Lamúa (Ed.), *Aplicación del frío a los alimentos* (p. 350). Madrid: AMV Ediciones y MundiPrensa

**Josephson D.B., Lindsay, R.C., Stuibler, D.A. (1984)** Variations in the occurrences of enzymically derived volatile aroma compounds in salt and fresh water fish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **32** 1344-1347.

**Josephson, D.B. and Lindsay, R.C. (1986)** Enzymic Generation of Volatile Aroma

**Jun Qi, Chunbao Li, Yinji Chen, Feifei Gao, Xinglian Xu, Guanghong Zhou, 2012** ;Changes in meat quality of ovine *longissimus dorsi* muscle in response to repeated freeze and thaw, *Meat Science* S0309-1740(12)00218-5.

**Kanazawa, A., Sawa, T., Akaik, T. and Maeda, H. (2000)** Formation of abasic sites in DNA by t-butylperoxyradicals: implication for potent genotoxicity of lipidperoxyradicals. *Cancer Letters* **156** 51-55.

**Kanner, J., German, J.B. and Kinsella, J.E. (1987)** Initiation of lipid peroxidation in biological systems. *Food Science and Nutrition* **25** 317

**Ladikos, D. and Lougovois, V. (1990)** Lipidoxidation in muscle foods: a review. *Food Chemistry* **35** 295-314.

**Lagerstedt, L. Enfalt, L. Johansson, K. Lundstrom, (2007)**. Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef M. Longissimus dorsi. *MEAT SCIENCE*

**Lopez MA, Martos FC.** Iron availability: an update review. *Int J Food Sci Nutr* 2004;55:597—606.

**Love, R.M. (1980)** *The Chemical Biology of Fishes*. Vol.2. Academic Press London;

**Medina, I., Satué-Gracia, M.T. and Frankel, E.N. (1999)** Static head space gas significadotiene para el consumidor español del siglo XXI? *Eurocarne*, 106, 33–44.

**Muela E., C. Sañudo M.M. Campo, I. Medel, J.A. Beltrán. 2010.** Effect of freezing method and frozen storage duration on instrumental quality of lamb throughout display *Meat science*.

**Oten, G-1984.** Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds, édition techniques et documentation. Paris PP 260.

**Pokorny, J. (1977)** Interactions of oxidized lipids with protein. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* **IV** 389-393. processing. *Journal of American Oil Chemist's Society* **76** 231-236.

**Raude J, Fischler C.** « Défendre son bifteck » : le rapport des Français à la viande entre mutation et permanence, dans Poulain[5] Afssa. Avis sur l'estimation des apports en acides gras trans de la population française, 20 fév. **2009**. JP (dir.), « L'homme, le mangeur et l'animal ». Les cahiers de l'OCHA: Paris; **2007**. p. 270—82.

**Rhee K.S. (1988)** Enzymic and non enzymic catalysis of lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology* 127-132. 1968-1977.

**Saeed S. and Howell N. K. (2001)** 12-Lipoxygenase activity in the muscle tissue of atlantic mackerel (*scombers combrus*) and its prevention by antioxidants. *Journal of the science of Food and Agriculture* **81** 745-750.

**Saldanha, T., &Bragagnolo, N. (2008).** Relation between types of packaging, frozenstorage and grilling on cholesterol and fattyacidsoxidation in Atlantic hakefillets (Merlucciushubbsi). *Food Chemistry*, 106(2), 619-627.

**Soucheyre V.** Teneur et biodisponibilité du fer héminiques et nonHéminique dans la viande et les abats de bœuf : influence de laConservation et de la cuisson. *CahNutrDiet*2008;43(hors-série1):1S46—51.

**South PK, Lei X, Miller DD.** Meat enhances non heme iron Absorption in pigs. *NutrRes* 2000;20:1749—59.

**Tomé D.** Qualité nutritionnelle des protéines de la viande. *CahNutrDiet*2008;43(hors-série 1):1S40—5