

Article original

Essais de Formulation Galénique du Beurre de Cacao Utilisé comme Complément Nutritionnel

Essais de formulation galénique du beurre de cacao utilisé comme complément nutritionnel

^{1,2,3}Nnanga Nga, ²Ngene Jean Pierre, ²Ngoule Charles Christian, ²Beyina Ayissi François, ³Tchinda Alembert, ^{1,2}Mpondo Mpondo Emmanuel

¹Faculté de Médecine et des Sciences Pharmaceutiques (Département des Sciences Pharmaceutiques), Université de Douala.

²Faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales (Département de Pharmacie Galénique et Législation Pharmaceutique), Université de Yaoundé I.

³Institut de Recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales (Centre de Recherches en Plantes Médicinales et Médecine Traditionnelle), Yaoundé.

Auteur Correspondant: Dr Nnanga Nga, FMSB-Yaoundé, Email : ngnnanga@yahoo.fr

ABSTRACT

OBJECTIVE. To carry out a pharmaceutical formulation trial from three cocoa butter samples, obtained by pressure, from three cocoa farmers of Melik village (Lekie, Cameroon), of which only one was monitored during the post-harvest processing.

MATERIALS AND METHODS. this is an experimental study from October 2013 to May 2014, in Melik and IMPM in Cameroon and in GALEPHAR M / F S A in Belgium. The methods were those of the American Oil Chemistry Society (AOCS), recommended by the Codex Alimentarius and the related tests are those described in the European Pharmacopoeia 8.0.

RESULTS. Three separate lots were formulated with the following characteristics: Lot A041301 with a capacity of 63 boxes of 30 capsules of a dosage of 400 mg per capsule cocoa butter enriched to 1.25 percent vitamin E, or 5 mg; Lot B051302 with a capacity of 60 boxes of 30 enteric capsules of a dosage of 400 mg per capsule cocoa butter enriched to 1.25 percent vitamin E, either 5 mg; Lot C031403 with a capacity of 68 boxes of 24 capsules of a dosage of 750 mg per capsule cocoa butter enriched to 1.25 percent vitamin E, or 9.375 mg.

CONCLUSION. This study permitted the realization of three pharmaceutical formulations in capsules thus an enteric. Moreover cocoa butter could be used as "gelucire" for the fat-soluble active principles.

KEY WORDS. cocoa butter, formulation trial, capsule, food supplementation

RÉSUMÉ

OBJECTIF. Effectuer un essai de formulation galénique à partir de trois échantillons de beurre de cacao, obtenus par pression, chez trois cacaoculteurs du Village Mélik (Lékié, Cameroun), dont un seul a été suivi lors du traitement post récolte.

MATÉRIELS ET MÉTHODES. étude expérimentale réalisée d'octobre 2013 à Mai 2014, respectivement à Melik et IMPM au Cameroun puis à GALEPHAR M/F S.A en Belgique. Les méthodes utilisées étaient celles de l'American Oil Chemistry Society (AOCS), recommandées par le Codex alimentarius, et les essais afférents étaient ceux décrits par la Pharmacopée européenne 8.0.

RÉSULTATS. Trois lots distincts ont été formulés selon les caractéristiques suivantes : Lot A041301 d'une capacité de 63 boîtes de 30 gélules d'un dosage de 400 mg de beurre de cacao par capsule enrichi à 1,25 pourcent en vitamine E, soit 5 mg ; Lot B051302 d'une capacité de 60 boîtes de 30 capsules gastro-résistantes d'un dosage de 400 mg de beurre de cacao par capsule enrichi à 1,25 pourcent en vitamine E, soit 5 mg ; Lot C031403 d'une capacité de 68 boîtes de 24 gélules d'un dosage de 750 mg de beurre de cacao par capsule enrichi à 1,25 pourcent en vitamine E, soit 9,375 mg.

CONCLUSION. Cette étude a permis la réalisation de trois formulations galéniques dans des capsules dont une gastro-résistante. En outre le beurre de cacao pourrait être utilisé comme « gelucire » pour les principes actifs liposolubles.

MOTS-CLÉS. Beurre de cacao, essais de formulation, capsule, complément nutritionnel.

INTRODUCTION

La production mondiale annuelle du cacao est estimée à environ 4,1 millions de tonnes, la Côte-d'Ivoire et le Ghana étant les deux premiers pays producteurs avec respectivement 38% et 21% de part du marché mondial. D'autres pays sont de sérieux concurrents aux deux «géants» comme l'Indonésie (13%) et le Brésil

(5%) (1). Le Cameroun, cinquième producteur mondial derrière la Côte d'Ivoire, le Ghana, l'Indonésie et le Nigeria, projette de porter sa production annuelle de cacao de 230. 000 tonnes actuellement à 600.000 tonnes d'ici 2020. En nette augmentation par rapport aux saisons précédentes, la production actuelle est

issue de sept bassins de production représentant sept des dix régions administratives du Cameroun, à savoir le Centre, l'Est, le Littoral, l'Ouest, le Sud, le Sud-Ouest et le Nord-Ouest. Environ quatre millions de camerounais vivent ou dépendent du cacao. Lequel représentait 28 % des exportations hors pétrole en 2012 (2).

Le beurre de cacao est utilisé actuellement au Cameroun pour l'alimentation, la cosmétique, le traitement et/ou la prévention de nombreux troubles nutritionnels, fonctionnels ou pathologiques chez l'homme en médecine douce (3) (4). D'autre part, cette matière grasse peut provoquer ou aggraver des pathologies cardiovasculaires comme l'athérosclérose si son usage n'est pas contrôlé en alimentation ou en thérapie (5).

C'est pourquoi nous avons jugé nécessaire d'évaluer la valeur nutritive pharmaceutique du beurre de cacao et de proposer des formes galéniques utilisables comme complément nutritionnel.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Il s'agit d'une étude expérimentale réalisée d'Octobre 2013 à Mai 2014, au village Melik (Département de la Léké, Région du Centre, Cameroun) et à l'Institut de Recherches Médicales et d'Etudes des Plantes Médicinales (IMPM) de Yaoundé, puis en Belgique à GALEPHAR M/F S.A qui est une industrie de recherches et de développement pharmaceutiques.

Un échantillonnage non probabiliste « au jaugé » a été réalisé sur les fèves de *Theobroma cacao* L., de trois planteurs du village Melik dont l'un a été guidé pour le traitement post récolte et les deux autres n'ont reçu aucune instruction.

La technique par pression hydraulique a permis d'obtenir le beurre de cacao concentré par évaporation à 100° C pendant trente minutes. La préparation de la matière première a été réalisée sous une lumière non ectonique afin d'éviter l'oxydation des constituants insaturés contenus dans le beurre de cacao en présence des rayons UV d'une source lumineuse ectonique et de l'air. Le beurre concentré a été ensuite décanté et filtré à l'aide d'un papier filtre.

Les trois beurres de cacao de pression obtenus des fèves de ces différents cacaoculteurs ont été traités dans les mêmes conditions. Tous les échantillons prélevés ont été étiquetés et codifiés. Ce code comportait: la date de prélèvement, le lieu de prélèvement, la quantité prélevée, le numéro de lot, le dosage en principe actif, la date de production, et les conditions de stockage.

L'appareillage utilisé pour les analyses était constitué de l'ensemble des chromatographies en phase liquide à haute performance (CLHP) couplé à une autre en phase gazeuse (CPG) model 8310 Perkin-Elmer, dont la technique permettait de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses. L'échantillon à analyser était poussé par un liquide (appelé phase mobile) dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie.

Le débit d'écoulement de la phase mobile élevé entraînait une augmentation de la pression dans le système et diminuait le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. La fine granulométrie de la phase stationnaire permettait une meilleure séparation des composants.

Les méthodes officielles de l'American Oil Chemistry Society (AOCS), recommandées par le Codex alimentarius, et décrites par Firestone, ont été utilisées pour les analyses des échantillons. La pré-formulation, la formulation et les essais y afférents ont été ceux décrits par la Pharmacopée européenne 8.0.

L'analyse statistique a fait appel au test de Chi2. Le seuil de significativité retenu a été de $p < 0,05$.

RÉSULTATS

Identification et dosage des constituants des beurres de cacao

Des trois beurres analysés, celui obtenu chez le planteur suivi lors du traitement post récolte du cacao (CB1) avait le meilleur profil en termes de teneur en triglycérides, en tocophérols et en méthylxanthines et d'impuretés (tableau I). C'est ce beurre qui a été retenu pour la formulation.

Production

Trois lots distincts ont été formulés selon les caractéristiques suivantes :

- Lot A041301 d'une capacité de 63 boîtes de 30 gélules (capsules de taille 1 à tête et à corps bleu) d'un dosage de 400 mg de beurre de cacao par capsule enrichi à 1,25 pourcent en vitamine E, soit 5 mg ;
 - Lot B051302 d'une capacité de 60 boîtes de 30 capsules gastro-résistantes (capsules de taille 1 à tête et à corps rouge) d'un dosage de 400 mg de beurre de cacao par capsule enrichi à 1,25 pourcent en vitamine E, soit 5 mg ;
 - Lot C031403 d'une capacité de 68 boîtes de 24 gélules (capsules de taille 00 à tête et à corps jaune) d'un dosage de 750 mg de beurre de cacao par capsule enrichi à 1,25 pourcent en vitamine E, soit 9,375 mg.
- Chaque lot contenant une unité de prise de graisse solide, blanc jaunâtre, d'odeur légère et agréable semblable à celle du cacao, de saveur douce et caractéristique, à cassure cireuse.

Essais de formulation

Essais de masses moyennes

Les masses moyennes obtenues pour chaque lot étaient très proches de celles théoriques et étaient ainsi réparties, 400 mg, 400 mg, 750 mg respectivement pour A041401, B041402 et C031403. Le processus de formulation a été reproductible.

Les trois lots ont satisfait à l'essai (Figure 1).

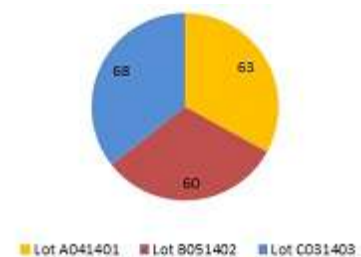


Figure 1: production des différents lots

TABLEAU I – COMPOSITION DES BEURRES DE CACAO

	Planteur CB1 (suivi)	Planteur CB2 (non suivi)	Planteur CB3 (non suivi)	Beurre raffiné de référence CB CRMN 801
MAG/DAG (% m/m)	2,32	2	1,5	1,74
Triglycérides (% m/m)				
Radicaux peroxyls	0,41	0,35	0,39	0,38
1-palmitoyl-2-linoléoyl-3-oléoylglycerol	0,82	0,56	0,57	0,53
1,3-dipalmitoyl-2-linoléoylglycerol	1,87	2,14	1,89	1,97
Trioléin	0,28	0,29	0,19	0,67
1-palmitoyl- 2,3-oléoylglycérol	2,7	2,89	2,02	3,07
1,3-dipalmitoyl-2-oléoylglycerol	18,36	17	17,08	18,31
1-stéaroyl- 2,3-oléoylglycérol	2,86	3	2	2,83
1-palmitoyl-2-oléoyl-3-stéaroylglycérol	39,31	36,55	38,1	38,69
1,2-dipalmitoyl-3-stéaroyl glycerol	0,3	0,28	0,37	0,46
1,3-distéaroyl-2-oléoylglycerol	27,16	27,27	27,25	27,29
1-palmitoyl-2,3-distéaroylglycerol	0,46	0,42	0,45	0,48
1-Stéaroyl-2-oléoyl-3-arachidonoylglycérol	1,6	1,3	1,25	2,03
Tristaerin	0,33	0,37	0,28	0,25
Acides gras libre (%)	1,54 ±0,01	3,05±0,02	2,14±0,01	1,34±0,01
Phosphoreux (ppm)	61,52	42,79	46,51	58,55
Tocophérols (ppm)	264	244,21	228	187,97
Théobromine (ppm)	61,75	71,57	73,17	51,43
Caféine (ppm)	293,17	473,86	398,25	197,51
Alcalinité (ppm stéarate de sodium)	183,7±7	192±13	195±15	306±29
Peroxydes (meq O ₂ /Kg)	1,54±0,18	2,87±0,10	4,31±0,10	0,85±0,04
p-anisidine	0,53±0,01	0,6±0,06	0,82±0,05	2,0±0,16

Monoacylglycerols (MAG), diacylglycerols (DAG), and triacylglycerols (TAG)

Essais d'uniformité de masse

Les résultats obtenus durant le test d'uniformité de masse montrent qu'aucune capsule (pleine, vide) ou son contenu ne s'écartait de la norme prescrite par la Pharmacopée européenne 8.0. L'analyse des résultats a trouvé tous les lots conformes à l'essai, bien que les variations du contenu fussent importantes dans les trois lots (Figure 2). De ces trois lots, le lot B051402 était le plus répétable et le lot A041401 est le moins répétable.

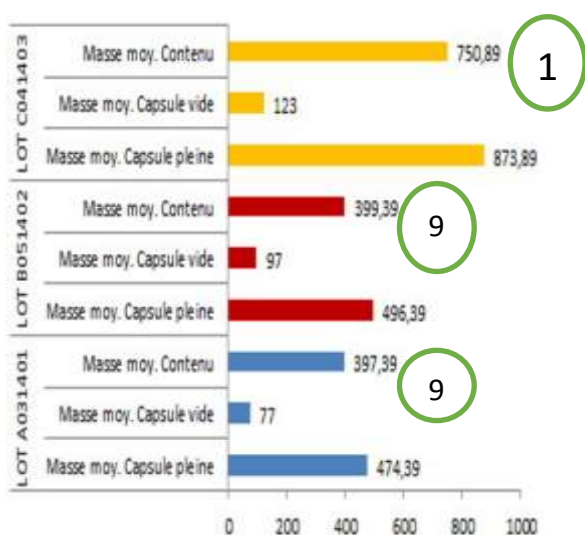


FIGURE 2 : DIAGRAMME COMPARATIF DES MASSES MOYENNES DES DIFFÉRENTS LOTS

Essai de désintégration et de gastrorésistance

Les capsules classiques présentaient une désagrégation totale après neuf et dix minutes maximum, respectivement pour les lots A041401 et C031403, dans une solution d'acide 0,1M à 37,3°C. Par contre les capsules entériques ou gastro résistantes ne présentaient aucune désagrégation ni fissure au bout de deux heures dans la solution d'acide chlorhydrique 0,1M ; mais elles sont totalement désagrégées dans la solution tampon phosphate pH 6,8 après un temps maximal de 45 min. Tous les lots ont satisfait à l'essai de désintégration prescrite par la pharmacopée européenne 8.0.

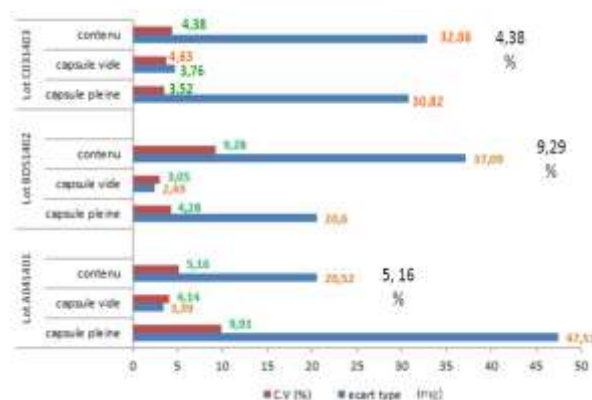


FIGURE 2 : DIAGRAMME COMPARATIF DES RÉSULTATS DE L'ESSAI D'UNIFORMITÉ DE MASSE

Contrôle microbiologique

L'analyse microbiologique des échantillons de capsules de différents lots a conduit aux résultats suivants :

- Bactéries aérobies totales (DGAT) : $< 10^3$ ufc/g,
- Levures et moisissures (DMLT) : $< 10^2$ ufc/g.
- Escherichia coli : absence.

TABLEAU II – RÉCAPITULATIF DES RÉSULTATS DES ESSAIS DE FORMULATION

Essais	résultats
Identification et dosage des constituants du beurre de cacao	CBI plus conforme
Caractères des capsules produites	conforme
Masses moyennes et uniformités de masse	Conforme
Masses moyennes et uniformités de masse du contenu	conforme
Désintégration (capsules simples et gastro résistantes)	Conforme
Test de gastrorésistance	Conforme
Identification des colorants des capsules	Conforme
Contrôle microbiologique	Conforme
Conclusion générale	Lots conformes sous réserve des études de stabilité



Figure 1 : Beurre végétal de cacao

DISCUSSION**Composition des beurres**

Les résultats d'analyses révèlent que les beurres de cacao des trois planteurs étaient majoritairement constitués de triglycérides dont les mono-insaturés, les di-insaturés et les tri-insaturés. On y retrouve également des composés non lipidiques tels que la théobromine, la caféine et la vitamine E (alpha-tocophérol majoritairement) ; ce qui corrobore aux résultats de De Clercq (4).

La quantité de tocophérols est plus haute dans les beurres prélevés comparée au beurre de référence (minimum de 228ppm pour les beurres prélevés contre 189,97ppm pour le beurre de référence). Une valeur de 250ppm avait été observée par Timms et de Stewart (6). Quatre types de tocophérols ont été détectés : α -tocophérol, β -tocophérol, γ -tocophérol, δ -tocophérol, α -tocophérol et le β -tocophérol étant majoritaire (approximativement 85 pourcent et 10%

respectivement dans les échantillons). Pontillon J. (7) a démontré que la présence de ces tocophérols et la distribution favorable d'acide gras (basses quantités de l'acide linoléique inférieur à 3 pourcent) et des traces d'acide linoléique, fournit au beurre de cacao une bonne résistance à l'oxydation aux températures modérées ($< 80^\circ\text{C}$) et à l'absence de la lumière. Ce qui justifie d'avantage l'ajout de vitamine dans la formulation comme conservateur.

La teneur en phosphoreux dans le beurre de cacao est déterminée en incinérant l'échantillon, puis en mesurant la quantité phosphoreuse par spectrophotométrie. De cette façon aucune distinction n'est faite entre phosphates inorganiques et phosphatides organiques. Carelli et al. (8) ont défini des facteurs de conversion pour calculer la quantité de phospholipides : 1ppm de phosphoreux correspond à 25ppm ou 0,0025 pourcent de phospholipide ; par conséquent, la quantité de phosphoreux, pour les beurres de cacao prélevés, est comprise entre 42 et 61 ppm ; soit environ 0,11 à 0,15 pourcent de phospholipides. Ce qui correspond aux résultats de Foubert (9). Concernant les impuretés des échantillons analysés, la limite légalement établie pour les acides gras libres est de 1,75% (10). Les échantillons de beurre obtenus des fèves prélevées chez les deux planteurs non suivis lors du processus post récolte ont une teneur en acide gras libre supérieure à cette norme contrairement au planteur suivi. Ces derniers résultats témoignent de l'influence d'un mauvais traitement post récolte sur la teneur en impureté de dégradation du beurre de cacao comme énoncée par Chaiseri et al. (11).

En outre, la teneur en savon est exprimée en stéarate de sodium. Un beurre de cacao de bonne qualité doit contenir moins de 200 ppm de savons ; il sera de mauvaise qualité quand la valeur sera plus haute que 4000 ppm. Foubert et al. (9) ont rapporté une valeur moyenne de 128 ppm dans une étude des 20 beurres de cacao d'origine différente. Comparées à ces résultats, les valeurs pour les beurres de cacao étudiés étaient bonnes, contrairement au beurre raffiné de référence CRMN 801 utilisé pour l'analyse. Cette augmentation de l'alcalinité du beurre de cacao de référence peut être imputable au processus d'alcalisation de la masse de cacao. Les teneurs en peroxyde des beurres étudiés sont plus hautes que le beurre de référence bien que ce dernier ait une teneur plus élevée en p-anisidine, indiquant que l'oxydation secondaire a eu lieu comme l'a constaté De Clercq (4).

Enjeux de la formulation

Bien que possédant des valeurs nutritives et biologiques, l'apport de ces nutriments doit être contrôlé et administré de manière rationnelle et optimale. Lo C (12) a montré qu'un apport excessif en acides triglycérides pourrait causer des maladies cardiovasculaires ; d'où la nécessité de rationaliser son usage.

Le beurre de cacao destiné aussi bien à l'alimentation qu'à la pharmacie comme excipient, doit respecter les normes établies par le Codex alimentarius et la pharmacopée respectivement. Mais les équipements nécessaires et leur entretien sont coûteux et pas accessibles pour les agriculteurs et les transformateurs. En outre, Mbarga A. (15) a estimé à plus de quatre millions de camerounais qui vivent ou dépendent du cacao. La maîtrise d'une transformation locale de qualité permettra de valoriser la filière en y apportant une plus-value non négligeable.

RÉFÉRENCES

1. Conférence des Nations Unies sur le Commerce et le Développement. Manuel de statistiques de la CNUCED. Nations Unis ; 2006.
2. DE CLERCQ N. Changing the functionality of cocoa butter. Th PhD, Ghent University, Belgium; 2011. [Internet]. [cité 4 mars 2015]. Disponible sur: <https://www.zotero.org/user/login>
3. BAREL M. Qualité du cacao : l'impact du traitement post-récolte. Ed Quae ; 2013 p 2064.
4. DE CLERCQ N. Changing the functionality of cocoa butter. Th PhD, Ghent University, Belgium; 2011.
5. JACKSON K. POPPITT S., et al. Postprandial lipidemia and cardiovascular disease risk. Interrelationships between dietary, physiological and genetic determinants 2012 ;220(12), 22-23.
6. TIMMS R., STEWART I. Cocoa butter, a unique vegetable fat. LipidTechnology News letter 1999 ;5 : 101-107.
7. PONTILLON, J. Le beurre de cacao et les matières grasses en chocolaterie, in : Pontillon, J. éd. Cacao et chocolat : production, utilisation, caractéristiques. Lavoisier, Paris, France 1998;pp. 325-393.
8. FOUBERT I., VANHOUTTE B., et al. Temperature concentration dependent effect of partial glycerides on milk fat crystallization. European Journal of Lipid Science and Technology 2004; 106 (8) : 531-539.
9. Norme codex pour le beurre de cacao, monographie 86-1981. Codex Stan, oms/ fao Rev1 ; 2001.
10. CHAISERI S., DIMICK P. Dynamic crystallization of cocoa butter. Characterization of simple lipids in rapid- and slow-nucleating cocoa butters and their seed crystals. Journal of the American Oil Chemists Society 1995 ; 72(12) : 1491-1496.
11. LO C.M., TSO P. Physicochemical basis of the digest and absorption of triacylglycerol. In De-signing functional Foods. Measuring and controlling food structure breakdown and nutrients absorption, Woodherd, Cambridge, U K, USA; 2009 p 94-125.
12. MARTIN A. Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Ed. Tec and Doc ; 2001.
13. Sawynok J. Pharmacological rationale for the clinical use of caffeine. Drugs 1995;49 (1):37-50.
14. Rihs M et al. Caffeine consumption in hospitalized psychiatric patients. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci 1996 ; 246 : 83-92.
15. MBARGA A. Perspective de production du cacao au Cameroun à l'horizon 2035. Forum international sur le cacao. 2012 Oct 8-9; Yaoundé, Cameroun.

CONCLUSION

Cette étude expérimentale a permis de se faire une opinion sur la qualité du beurre de cacao camerounais. Ce beurre possède effectivement une valeur nutritive et biologique. Mais sa qualité dépend en grande partie des traitements post récoltes qui y sont effectués. De ce fait il a permis de formuler des compléments nutritionnels essentiels enrichis au tocophérol sous forme de capsules dont une forme gastrorésistante. En outre le beurre de cacao pourrait être utilisé comme « gélucire » pour les principes actifs liposolubles.