

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Nutrition et Technologie Agroalimentaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (D04)

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Présenté par :

M^{elle} AIT HAMMOU Aroua Soumia

M^{elle} BOURIAH Mokhtaria

M^{elle} MOULAYAT Keltoum Elhadja

Thème

**Effet d'un extrait phénolique sur l'altération
oxydative d'un fruit durant la conservation.**

Soutenu publiquement le 03-07-2019

Jury:

Président: M^{me} MOULAY M.

Encadreur: M^{me} BENARABA R.

Co-encadreur: M^{me} BENGUIAR R.

Examineur: M BENBEGUARA M.

Grade

MCA Faculté des SNV

MCA Faculté des SNV

MAA Faculté des SNV

MAA Faculté des SNV

Année universitaire 2018-2019

Remerciements

Nous rendons grâce et louange à d'ALLAH qui nous a donné la patience, la santé, la force et la persévérance pour la réalisation de ce modeste ouvrage.

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et nos vives reconnaissances à notre promotrice Madame **BENARABA R.** d'avoir proposé et dirigé ce travail, nous la remercions infiniment pour ses conseils judicieux et son attention qu'elle a apporté et pour l'ambiance sympathique qu'elle a créé pour la réalisation de ce mémoire.*

*Nos vifs remerciements vont également à notre Co-encadreur Madame **BENGUIAR R.** pour son aide et ses conseils et pour nous avoir fait l'honneur d'être notre Co-promotrice.*

*Nous tenons à remercier profondément Madame **MOULAY M.** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.*

*Aussi, nous tenons à remercier profondément Monsieur **BENBEGUARA M.** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous n'omettons pas de citer ici et de remercier Melle **BENABDALLAH F.** Ingénieur au sein du laboratoire d'amélioration et de valorisation des productions animales locales de la faculté des sciences de la matière.*

M BENHALIMA. A** ingénieur au sein du laboratoire technologie alimentaire et **M AOUALI.H, M REGHAOUI .B.

*Madame **SOUALMI N.** Pour leur aide.*

*Et les personnels du laboratoire de microbiologie Melle. **SOUALMI .K** et Melle **DJELLOULI. Z.** Pour leur amabilité et leur disponibilité durant toute la période de notre expérimentation ainsi que toute personne qui a contribué à cette réalisation de près ou de loin.*

A tous les professeurs qui tout au long de notre parcours universitaires, ont mené à bien leur tâche d'enseignants et qui ont pu transmettre aisément leurs connaissances, nous disons merci d'avoir implanté en nous cet amour et cette soif de la science et du savoir.

Dédicace

Quoique je fasse et quoique je dise , rien ne peut combler ou égaler l'amour que me porte mes parents , ou exprimer à leur juste valeur , mon profond respect ainsi que ma gratitude pour tous les sacrifices qu'ils ont pu faire pour satisfaire mes caprices et mes besoins toujours grandissants et qui ont tout fait pour me faciliter la tâche , à leurs soutiens moral et financier et cela tout au long de ma vie scolaire et estudiantine.

Que ce modeste travail soit le symbole de ma profonde reconnaissance et mon admiration envers eux,

Comme j'apprécie énormément le soutien et le sacrifice de mes frères et sœur qui ont renoncé à leurs droits pour que j'aie un peu plus d'appui.

A mes grands-parents aujourd'hui disparus et dont j'honore leurs mémoires.

A mes amies : BOURIAH Mokhtaria MOULAYAT EL-HADJA Keltoum qui ont pu créer une atmosphère de travail et une ambiance sans égale qui resteront à jamais gravées en ma mémoire et à tous ceux et celles qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce mémoire.

M^{elle} AITHAMMOU Aroua –Soumia

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et
mon bonheur que dieu le garde dans son vaste paradis,*

Mon père

*A la femme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral
et la source de joie et de bonheur, la flamme de mon cœur, celle qui
s'est toujours sacrifiée pour me voir réussir, que dieu la garde pour
moi,*

Ma mère

*Aux personnes qui m'ont énormément aidée et Pour leur
soutien morale et leurs sacrifices le long de ma formation,*

Mes très chères sœurs et mes frères

*À ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif
de ce travail,*

Mes camarades

BOURIAH MOKHTARIA

Dédicaces

Je dédie ce travail

A la mémoire de ma Mère

A mon Père

A mes Sœurs

Et A mes Frères

A la mémoire de ma Grande Mère

A toutes mes amies

HELOU

LISTE DES ABREVIATIONS

AG	Acide gallique
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
CE₅₀	Concentration effectrice nécessaire pour réduire 50% la concentration initiale du ferricyanure de potassium
EAG	Equivalent en acide gallique
ED	Eau distillée
EQ	Equivalent en quercétine
ERO	Espèce réactive oxygénée
ES	Erreur standard
EXT	Extrait
FeCl₃	Chlorure de fer
FTAM	Flore Totale Aérobie Mésophile
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
JORA	Journal Officielle de la République Algérienne
Hcl	Acide Chlorhydrique
P	Pomme
PCA	Plate Count Agar
POD	peroxydase
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium.
K₂HPO₄	Phosphate de potassium dibasique
KH₂PO₄	Phosphate de potassium monobasique
MDA	Malondialdéhyde
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
RFC	Réactif de Folin Ciocalteu
TBA	Acide Thiobarbiturique
TBARS	Substances Réactives à l'Acide Thiobarbiturique
TCA	Acide Trichloracétique
TEP	Tétra-éthoxypropane
VF	Viande Foie
Vit C	Vitamine C
VRBG	Violet Red Bile Glucose

LISTE DES FIGURES

Figure N°01 : Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale	10
Figure N°02 : Teneurs en polyphénols (A) et en flavonoïdes (B) ; des pommes traitées par les différentes solutions, obtenues après 30 jrs de conservation	20
Figure N°03 : Teneurs en vitamine C (A) et pouvoir réducteur exprimé en CE50 (B) ; des pommes traitées par les différentes solutions, obtenus après 30 jrs de conservation	21
Figure N°04 : Taux des MAD des pommes traitées par les différentes solutions, obtenus après 30 jrs de conservation.....	23

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°01 : Matériel, produits chimiques utilisés et milieux de cultures utilisés.	08
Tableau n°02: Effet de l'extrait du thé vert, acide ascorbique et l'eau distillée sur la conservation des pommes. (avec TP : Teneur en Polyphénols, TF : Teneur en Flavonoïdes, TVC :Teneur en Vitamine C).....	18
Tableau n°03 : Analyses microbiologiques des pommes traitées par différentes solutions de conservation	24

LISTE DES ANNEXES

- Annexe I** : Variété des pommes utilisées
- Annexe II** : Composition moyenne de pomme
- Annexe III** : Feuilles et fleurs de théier et le catéchine du thé vert
- Annexe IV** : Radicaux libres
- Annexe V** : Différents types altérations
- Annexe VI** : Préparation des tampons et des réactifs
- Annexe VII** : Aspect des pommes dans les boucaux au cours de la conservation (T0, T15 et T30 jours) dans les différentes solutions de stockage
- Annexe VIII** : Courbes de la gamme d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques (A) et flavonoïdes (B)
- Annexe IX** : Courbes de la gamme d'étalonnage pour l'évaluation de l'activité antioxydant
1. Courbes de régression linéaire utilisées dans l'évaluation de la CE50 par la méthode FRAP
- Annexe X** : Courbe de la gamme d'étalonnage du dosage de la vitamine C
- Annexe XI** : Courbe de la gamme d'étalonnage du TEP pour l'évaluation de la peroxydation lipidique
- Annexe XII** : Composition des milieux de culture
- Annexe XIII** : Critères microbiologiques des semi-conserves
- Annexe XIV** : Résultats de l'analyse microbiologique

Liste des Abreviations	<i>i</i>
Liste des figures	<i>ii</i>
Liste des tableaux	<i>iii</i>
Liste des annexes	<i>iv</i>
Introduction	<i>v</i>

SOMMAIRE

CHAPITRE I : Matériel et méthodes

I.1. Objectif du travail	07
I.2. Lieu et durée de travail	07
I.3. Matériel et produits chimiques.....	07
I.4. Matériel végétal	09
I.4.1. Origine et provenance du fruit	09
I.5. Procédure expérimentale.....	09
I.6. Traitement des pommes par les différentes solutions de conservation.....	11
I.6.1. Préparation des différentes solutions de conservation.....	11
I.6.1.1 .Préparation de la solution de l'extrait polyphénolique du thé vert	11
I.6.1. 2. Préparation de la solution d'acide ascorbique	12
I.7. Extraction des composés phénoliques des morceaux de pommes à différents temps et conditions de conservation.....	12
I.8. Analyses phytochimiques	12
I.8.1. Dosage des composés polyphénoliques	12
I.8.2. Dosage des flavonoïdes.....	13
I.9. Analyse des paramètres oxydatifs.....	14
I.9.1. Test de réduction de fer (FRAP)	15
I.9.2 .Evaluation de la peroxydation lipidique (test TBARS).....	15
I.9. 3. Evaluation des teneurs en vitamine C	16
I.10. Analyses microbiologiques	
I.10.1. Recherche et dénombrement de la Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM).....	17

I.10. 2. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et fécaux	17
I.10. 3 .Recherche et dénombrement des Clostridium sulfite-réducteurs.....	17
I.10. 4. Recherche des levures et moisissures	17

CHAPITRE II : Résultats et discussion

II.1.Evaluation de l'effet des composés phénoliques sur les paramètres phytochimiques et oxydatifs des pommes conservées à différents temps (15 et 30 jours) à 4 C	18
II .2. Evaluation des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des pommes après 30 jrs de conservation à 4 C	20
II.3. Evaluation du pouvoir réducteur des extraits issus des pommes après 30 jrs de conservation à 4 C°	21
II.4. Evaluation de l'oxydation lipidique, évaluée par la technique TBARS des extraits issus des pommes après 30 jrs de conservation à 4 C°	23
II.5. .Analyses microbiologiques.....	24
CONCLUSION.....	25

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

INTRODUCTION

Ces dernières années, une grande attention est accordée aux bienfaits de la consommation régulière des fruits et légumes sur la santé humaine. Cette valeur nutritive réside dans la grande variété de molécules bioactives qu'ils les composent, comme les fibres, les caroténoïdes, les vitamines et les composés phénoliques (**Jessica et al, 2007**). Parmi les fruits les plus convoités, la pomme, cette dernière fait partie des fruits les plus riches en antioxydants notamment les polyphénols.

Ce fruit est une denrée alimentaire extrêmement périssable, une majeure partie de sa valeur nutritive est perdue pendant le parcours agroalimentaire, car il subit une détérioration, pourrissement, dessèchement et blessures, dues à la mécanisation pendant la récolte, le transport et le stockage. L'ensemble de ces phénomènes peuvent induire une altération oxydative de ses polyphénols. Ce qui provoque l'apparition de saveurs désagréables et de changement de couleur. En effet, l'oxydation enzymatique des polyphénols des fruits par la polyphénoloxydase (PPO) a lieu lors de la perte d'intégrité cellulaire (par exemple à la découpe) et en présence d'oxygène. Une autre enzyme, la peroxydase (POD), peut également intervenir dans le brunissement enzymatique. Les POD oxydent un donneur d'hydrogène pour le transformer en peroxyde spécifiques du peroxyde d'hydrogène (**Robards et al, 1999**). Ces réactions sont en grande partie responsables d'altération du fruit et incitent les industries agroalimentaires à rechercher et mettre au point des procédés de conservation permettant de garantir une qualité gustative, organoleptique et nutritive importante. Parmi les procédés qui assurent une protection des fruits contre l'oxydation est l'utilisation des antioxydants d'origine naturelle, ces derniers sont utilisés pour substituer les antioxydants de synthèse comme l'acide ascorbique (E300) et éviter ainsi tous risques et toutes conséquences néfastes sur la santé du consommateur. Récemment, le rôle des polyphénols dans la prolongation de la durée de conservation et retarder l'oxydation, fait l'objet de très nombreuses études, ce rôle est souvent associé à leurs propriétés antioxydantes intrinsèques. Le thé vert est l'une des plantes qui attirent l'attention de par sa richesse en polyphénols, essentiellement les catéchines (**Yang et al, 2018**).

Cependant peu d'études, à ce jour, se sont intéressés à étudier l'effet des composés phénoliques du thé vert sur la durée de conservation des fruits frais coupés. Dans cette optique l'objectif de cette présente étude s'intéresse à évaluer l'effet des composés phénoliques du thé vert sur l'altération oxydative, durant la conservation, des pommes vertes fraîches. Elle consiste à étudier l'influence de ce traitement sur les paramètres phytochimiques, le statut antioxydant du fruit et sa qualité microbiologique.

Chapitre I
Matériel et méthodes

I.1. Objectif du travail

L'objectif de la présente étude consiste à évaluer l'effet des composés phénoliques du thé vert sur l'altération oxydative durant la conservation à 4°C des pommes vertes fraîches via :

- La quantification des flavonoïdes et des polyphénols du fruit frais avant et après la conservation.
- Le dosage de la vitamine C.
- Evaluation du pouvoir réducteur total du fer.
- Evaluation de la peroxydation lipidique.
- Analyse de la qualité microbiologique.

I.2. Lieu et durée de travail

La démarche expérimentale relative à cette présente étude, a été réalisée sur une période qui s'étale du 03 février au 09 Mai 2019. Elle a été effectuée au sein des laboratoires suivants :

- Laboratoire d'Amélioration et de Valorisation des Productions Animales locales *Université Ibn Khaldoun- Tiaret.*

- Laboratoire de Technologie Alimentaire, microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de Vie. *Université Ibn Khaldoun- Tiaret.*

I.3. Matériel et produits chimiques

Le matériel, les produits chimiques et les milieux de culture nécessaires à l'accomplissement de ce travail sont cités dans le **tableau n°01**:

Tableau n°01: Matériel , produits chimiques et milieux de culture utilisés.

Matériel et appareillage	Produits chimiques et réactifs	Milieux de culture
Agitateur magnétique (ROTMAG) Balance analytique (OHAUS) Centrifugeuse (SIGMA) Etuve (Heraeus) Spectrophotomètre UV-Visible (OPTIZEN 1412V) Vortex (Techno Kartell) Autoclave (Sanoclave) Bain marie (Memmert)	Acide Ascorbique ($C_6H_8O_6$; PM =176,128 g/mol) Acide gallique ($C_7H_6O_5$; PM=170,12g/mol) Acide trichloracétique (163,38g/mol) Carbonate de sodium (Na_2CO_3 ;PM=106 g/mol) Chlorure de fer III ($FeCl_3$; PM=162,2g/mol) Ethanol pur Eau physiologique (0.9%) Ferricyanure de potassium, $K_3[Fe^{+3}(CN)_6]$; PM= 329,26 g/mol Méthanol pur Phosphate de potassium dibasique (K_2HPO_4 ; PM= 228,23 g/mol). Phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4 ; PM= 136,09 g/mol). Quercétine ($C_{15}H_{10}O_7$; PM=302,236 g/mol) Réactif de Folin-ciocalteau (PM=188,14g/mol, 2N) TBA acide thiobarbiturique (PM=144,15g/mol) Trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$; PM=133,34g/mol) TCA: Acide trichloracétique	Milieu de PCA Milieu VRBG Milieu de Viande Foie (VF) Milieu de Sabouraud (Voir annexe n°XII)

I.4. Matériel végétal

I.4.1. Origine et provenance du fruit

Le choix du fruit utilisé pour la réalisation de cette étude a été porté sur des pommes vertes fraîches, celles-ci ont été obtenues par voie commerciale au niveau de trois points de vente différents de la ville de Tiaret. Elles ont été triées selon leur forme, couleur et taille. Elles ne devaient contenir ni blessures, ni altérations ; 12 pommes de variété *Golden delicious* ont été sélectionnées. Cette variété a été choisie pour sa disponibilité au moment du commencement de l'étude (le mois de février 2019).

I.5. Procédure expérimentale

La procédure expérimentale regroupant les différentes étapes réalisées au cours de cette étude est illustrée dans la **figure n°01**.

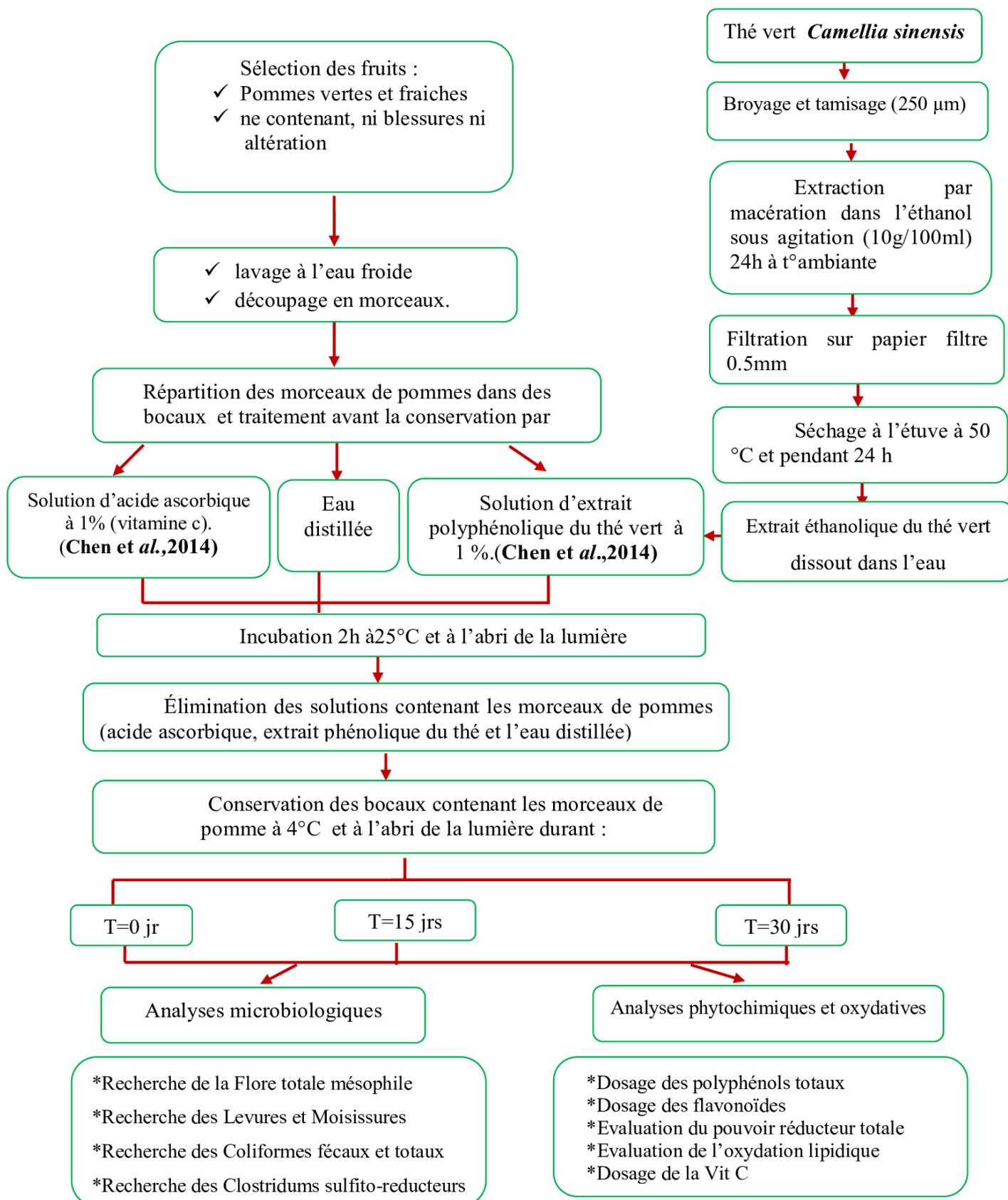


Figure n°01 : Diagramme récapitulatif de la démarche expérimentale

I.6. Traitement des pommes par les différentes solutions de conservation

Les pommes sélectionnées sont soigneusement nettoyées avec de l'eau froide, séchées découpées en petits morceaux et réparties dans des bocaux en verre destinés à la conservation. Trois solutions de conservation différentes, à savoir : l'acide ascorbique à 1% (considéré comme le contrôle positif), solution d'un extrait polyphénolique issue du thé vert à 1% et de l'eau distillée (le contrôle négatif), ces trois solutions ont été ajoutées aux bocaux contenant les morceaux de pommes, ces derniers ont été totalement immergés dans les différentes solutions, précédemment citées, pendant 2h à température ambiante et à l'abri de la lumière. Après 2 h de traitement, les solutions de conservation ont été éliminées et les bocaux contenant les morceaux de pommes ont été conservés à 4°C, à l'abri de la lumière durant 30 jrs. Une évaluation des paramètres phytochimiques et oxydatifs ainsi qu'une analyse microbiologique ont été effectuées à trois temps différents : au début (T0), après 15 jrs (T15) et après 30 jrs (T30) de la conservation et ce pour les trois traitements : l'acide ascorbique, l'extrait du thé vert et l'eau distillée. On note que le traitement des pommes par les trois solutions a été réalisé dans les mêmes conditions expérimentales.

I.6.1. Préparation des différentes solutions de conservation

I.6.1.1 .Préparation de la solution de l'extrait polyphénolique du thé vert

Les feuilles du thé vert séchées, ont été broyées dans un robot électronique et tamisées dans un tamis ayant un diamètre de 250 µm de manière à obtenir une poudre qui a servi à la réalisation de l'extraction.

La méthode d'extraction des composés polyphénoliques de la poudre du thé vert utilisée au cours de ce travail est décrite par **Anesini et al (2008)**, elle consiste à macérer 10g de matière végétale sèche transformée en poudre (à l'aide d'un broyeur) dans 100 mL d'éthanol pur. Après une agitation de 24h à température ambiante et à l'abri de la lumière, une filtration a été faite sur un papier filtre d'un diamètre de 0,5 mm. Le filtrat obtenu a été débarrassé de son solvant à l'aide d'un rotavapeur (à 65°C), afin d'obtenir un extrait sec, 1 g de cet extrait a été préparé pour traiter les pommes lors de la conservation.

•Détermination du rendement d'extraction

Le poids de l'extrait sec a été calculé par la différence entre le poids de la boîte de Pétri en verre contenant l'extrait (après élimination du solvant) et le poids de la boîte de Pétri vide. Le rendement de l'extraction est exprimé en pourcentage. Il est calculé par la formule suivante:

$$R\% = (PF/PI) \times 100$$

Où :

R : Rendement en pourcentage (%).

PF : Poids de l'extrait sec en g

PI : Poids de la poudre mise à l'extraction en g.

Il est à noter que le rendement obtenu suite à cette extraction est de 9.09 %.

1.6.1. 2. Préparation de la solution d'acide ascorbique

01g d'acide ascorbique a été dissout dans 100 mL d'eau distillée, la solution a été ensuite utilisée ultérieurement dans le traitement des pommes pour leur conservation.

1.7. Extraction des composés phénoliques des morceaux de pommes à différents temps et conditions de conservation

05 g des morceaux de pommes issus des différentes solutions (l'acide ascorbique l'extrait du thé vert et l'eau distillée) et à différents temps de conservation (T0 , T15 et T30) ont été traités avec 50mL d'un mélange de méthanol pur (49,5 mL) et de HCl à 37 %(1N) (0,5 mL), la mixture obtenue a été broyée à l'aide d'un mortier, puis laissée sous agitation pendant 30 min à l'abri de la lumière et à température ambiante. Cette étape a été suivie d'une filtration, le filtrat obtenu a été utilisé pour effectuer les différents dosages phytochimiques et oxydatifs, à noter les polyphénols, les flavonoïdes, le pouvoir réducteur total et la vitamine C (**Chen et al ., 2014**).

1.8. Analyses phytochimiques

1.8.1. Dosage des composés polyphénoliques

Le dosage des composés phénoliques issus des pommes avant, durant et après la conservation, a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au Folin-ciocalteau décrite par **Singleton et al, (1999)**.

Principe :

Le réactif de Folin-ciocalteau de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$).

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques en milieu alcalin par ce réactif, cette réaction entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu présentant un maximum d'absorption à une longueur d'onde $\lambda=760nm$ et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de composés phénoliques présents dans l'échantillon, le dosage des composés phénoliques a été effectué par la comparaison de la densité optique observée à celle obtenue par un étalon : l'acide gallique de concentration connue.

Technique :

500 µL de l'extrait de pommes (préparé dans le solvant approprié avec les dilutions convenables) ont été ajoutés à 500 µL de réactif de Folin Ciocalteu (RFC) avec une concentration de 0,2 N, après une incubation de 10 min, 500 µL de Na₂CO₃ à 7,5 % ont été additionnés.

Le mélange ainsi obtenu a été incubé de nouveau pendant 30 min à une température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance a été ensuite mesurée au spectrophotomètre à 760 nm. Notons qu'une courbe d'étalonnage a été parallèlement réalisée, (**voir annexe VIII, figure N°06**) afin de quantifier le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, cette courbe a été établie avec des concentrations précises d'acide gallique (80; 60; 40; 20; 10; µg/mL) utilisé comme standard de référence, ce dernier a subi les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon. Les teneurs en composés phénoliques ont été exprimées en mg EQ AG/100g de P et calculées selon la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

Avec :

- C** : Teneur en polyphénols totaux exprimée en mg EAG /100g de P.
c : Concentration de l'échantillon calculée.
D : Facteur de dilution.
V : Volume solution d'extraction utilisé (50 mL mélange méthanol et HCL)
m : Masse des morceaux de pommes utilisés pour l'extraction (5 g)

I.8.2. Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les morceaux de pommes traités par les différentes solutions et à différents temps de conservation, a été réalisée par la méthode de **Bahorun et al., (1996)**.

Principe :

Le principe de cette méthode est basé sur la formation de complexes de couleur jaune entre les flavonoïdes et le trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Ceci traduit le fait que le métal perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène du flavonoïde agissant comme donneur d'électrons. La couleur jaune présente une absorption maximale à 430 nm.

Technique :

1mL de l'extrait de pomme a été mélangé avec 1mL d'une solution de chlorure d'aluminium à 2% (préparée dans l'eau distillée). Le mélange a été incubé à température ambiante et à l'abri de lumière pendant 30 minutes, l'absorbance a été mesurée à 430 nm contre un blanc préparé. La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard, (**voir annexe VIII, figure n°07**) la quercétine avec différentes concentrations (80 ; 60 ; 40 ; 20 ; 10 ; mg/mL). La teneur en flavonoïdes a été exprimée en mg équivalent quercétine par gramme de fruit (mg EQ Q/100g de P), et elle est calculée selon la formule suivante :

$$C = (c \times D \times V) / m$$

Avec :

- C** : Teneur en flavonoïdes exprimée en mg EQ Q/100 g de P.
- c** : Concentration de l'échantillon calculée.
- D** : Facteur de dilution.
- V** : Volume solution d'extraction utilisé (50 mL mélange méthanol et HCl)
- m** : Masse des morceaux de pommes utilisés pour l'extraction (5 g)

1.9. Analyse des paramètres oxydatifs

Dans cette étude, la mise en évidence d'une éventuelle altération de l'activité antioxydante de l'extrait de pomme issu des différents traitements lors de la conservation à 4°C, a été réalisée par les techniques chimiques à savoir : la réduction du fer ; *Ferric Reducing Antioxydant Power* (FRAP).

1.9.1. Test de réduction de fer (FRAP)

Principe :

Cette technique permet de mesurer la capacité d'un extrait de réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}) (Oyaizu, 1986).

Technique :

Le pouvoir réducteur du fer Fe^{3+} de l'extrait de pommes a été déterminé selon la méthode décrite par Oyaizu (1986). 500 μL l'extrait à différentes concentrations a été mélangé avec 500 μL d'une solution de tampon phosphate 0,2M (pH=6,6) et 500 μL d'une solution de Ferricyanure de potassium. L'ensemble a été incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20 min ensuite, 500 μL d'acide trichloracétique à 10% ont été ajoutés pour stopper la réaction. A partir du mélange réactionnel précédent un aliquote de 1 mL a été combiné avec 1 mL d'eau distillée et 500 μL d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 0,1%. L'absorbance du mélange réactionnel a été lue à 700 nm contre un blanc préparé de la même manière, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.

Le contrôle positif est représenté par trois solutions d'antioxydant standard : l'acide gallique, la quercétine et l'acide ascorbique dont les absorbances ont été mesurées dans les mêmes conditions que les échantillons (voir annexe IX). Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Le potentiel réducteur de l'extrait et des standards est exprimé par les valeurs de concentrations effectives à 50% (CE_{50}).

La CE_{50} a été rapportée comme étant la quantité d'antioxydant requise pour réduire 50% la concentration initiale de ferricyanure de potassium. Tous les essais ont été effectués au moins trois fois et les graphiques ont été tracés en utilisant la moyenne de trois déterminations.

1.9.2. Evaluation de la peroxydation lipidique (test TBARS)

Principe :

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour suivre et évaluer l'état d'oxydation des lipides des produits alimentaires, mais la plus utilisée est la méthode TBARS (substances réagissant à l'acide thiobarbiturique; Le dosage du TBARS permet d'évaluer la quantité de malondialdéhyde (MDA), un produit terminal de l'oxydation des lipides par les radicaux libres. Le principe de ce dosage est le suivant : chaque molécule de MDA issue de la lipoperoxydation réagit avec deux molécules d'acide thiobarbiturique (ThioBarbituric Acid TBA). La réaction s'effectue en milieu acide à la température de 95-100°C et conduit à la formation d'un complexe de couleur rose, l'absorbance de la coloration est maximale à une longueur d'onde de 532nm.

Technique

L'évaluation des taux du MDA a été effectuée selon la méthode décrite par **Chen et al (2014)**. 10g de morceaux de pommes issus de différents conditions et temps de conservation ont été homogénéisés avec 25 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 5 % et ensuite centrifugés pendant 10 min à 4000 rpm et à 4°C. Le surnageant recueilli (0,5 ml) a été mélangé avec 3 mL d'acide thiobarbiturique à 0,5% (TBA) préalablement dissous dans Hcl 1 N. La solution de ce mélange réactionnel a été traitée thermiquement pendant 20 min à 95 ° C dans un bain marie, puis refroidie rapidement dans l'eau froide pendant 10 min, et centrifugée pendant 10 min à 4000 g pour clarifier le surnageant. L'absorbance a été mesurée à 532 nm sur le surnageant. La concentration des MDA est déduite à partir d'une gamme étalon établie dans les mêmes conditions avec le [100 ; 50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,125 ; 1,562 µmol/l] tétraméthoxypropane TEP (voir annexe XI).

1.9.3. Evaluation des teneurs en vitamine C

Principe :

Le dosage de la vitamine C, développé par **Jacota et Dana (1982)**, est basé sur la réduction de la vitamine C présente dans une solution par le réactif de Folin ciocalteu en donnant une coloration bleue dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en vitamine C. L'absorbance de la coloration est maximale à une longueur d'onde de 760nm.

Mode opératoire :

500 µL de l'extrait de pommes ont été ajoutés à 200 µl de réactif de Folin Ciocalteu (RFC), après une incubation dans le bain marie de 10 min à 37°C. La mesure de l'absorbance, de la couleur bleue développée, a été réalisée à une longueur d'onde de 769 nm. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la teneur en vitamine C présente dans l'échantillon. La concentration est exprimée en mg/mL et a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage obtenue grâce à une solution mère d'acide ascorbique 100mg/mL. (La courbe de la gamme d'étalonnage figure en (annexe X).

1 .10. Analyses microbiologiques

1 .10. 1. Recherche et dénombrement de la Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM)

Ce dénombrement a été effectué sur les morceaux de pommes issus de différents temps et solutions de conservation à savoir : l'acide ascorbique à 1%, Extrait du thé vert 1% et l'eau distillée. En effet, la technique consiste à préparer la solution mère par le broyage de 10 g de morceaux de pommes dans 90 ml de l'eau peptonée tamponnée. La solution ainsi préparée a été homogénéisée à l'aide d'un vortex, et laissée 2 minutes pour précipiter. À partir de cette solution, des dilutions décimales ont été réalisées jusqu'à 10^{-6} , pour chaque dilution des étalements en profondeur ont été réalisés dans le milieu PCA. Les boîtes de Pétri contenant le milieuensemencé, ont été incubées à 30°C pendant 24 h à 72h. Après incubation, les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies ont été prises en considération pour interprétation des résultats (*Guiraud.,2003*).

1 .10. 2. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et fécaux

Leur dénombrement consiste à ensemencer en profondeur le milieu VRBG à partir des dilutions décimales préparées. L'ensemencement en profondeur a été suivi d'une incubation de 48 heures et à 37°C pour les coliformes totaux et à 44 °C pour les coliformes fécaux. Une étude portée sur les caractères culturaux a été réalisée (*Guiraud.,2003*).

1 .10. 3 .Recherche et dénombrement des spores de Clostridium sulfite-réducteurs

Elles sont capables de réduire le sulfite de sodium, cette réaction est mise en évidence par formation de sulfure de fer dans un milieu contenant du sulfite de sodium et un sel de fer (*Guiraud.,2003*).

Le dénombrement des spores de Clostridium sulfite-réducteurs a été effectué sur le milieu Viande Foie (VF) avec l'incorporation de deux additifs (d'Alain de fer et sulfite de sodium). Pour chaque échantillon, un tube contenant 1mL produit à analyser a été chauffé à 80°C pendant 10 min dans un bain marie, puis refroidi immédiatement, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder les formes sporulées. Ensuite, les tubes ont été remplis avec la gélose VF et les deux additifs puis homogénéisés et incubés à 46°C pendant 24h.

1 .10. 4. Recherche des levures et moisissures

Leur dénombrement a été réalisé par l'étalement en surface sur milieu Sabouraud à partir des dilutions décimales. Ceci a été suivi d'une incubation à 25°C pendant 5 jours (*Guiraud.,2003*).

Chapitre II
Résultats et discussion

II. Résultats

II.1. Evaluation de l'effet des composés phénoliques sur les paramètres phytochimiques et oxydatifs des pommes conservées à différents temps (15 et 30 jours) à 4 C° :

Les résultats d'évaluation de l'effet de l'extrait du thé vert à 1% sur les paramètres phytochimiques et oxydatifs des pommes au cours de la conservation sont présentés dans le **tableau n° 2**.

Tableau n°02 : Effet de l'extrait du thé vert, acide ascorbique et l'eau distillée sur la conservation des pommes (avec TP : Teneur en Polyphénols , TF : Teneur en Flavonoïdes, TVC : Teneur en Vitamine C)

	Traitement : Extrait du thé			Traitement : Eau Distillée			Traitement : Acide ascorbique		
	T0	T15	T30	T0	T15	T30	T0	T15	T30
TP (mg EQAG/100g de P)	205,6 ± 3,07	143,45 ± 3,60	148,25 ± 0,47	136,09 ± 5,31	40,77 ± 2,97	49,97 ± 3,53	229,75 ± 6,59	183,45 ± 9,04	179,20 ± 16,95
TF (mg EQ Q/100g de P)	23,06 ± 0,05	16,83 ± 0,51	4,24 ± 0,38	22,08 ± 0,91	9,02 ± 0,36	3,60 ± 0,33	24,27 ± 0,66	8,67 ± 0,3	2,92 ± 0,34
TVC (mg/mL)	151,16 ± 13,6	40,19 ± 0,44	79,40 ± 0,59	48,76 ± 5,67	23,72 ± 2,05	22,95 ± 0,11	445,5 ± 10,58	386,36 ± 86,11	44,17 ± 1,5
FRAP (mg/mL)	105,57 ± 0,28	74,95 ± 13,88	151,15 ± 4,42	369,94 ± 11 26	693,10 ± 11,29	222,89 ± 24,79	104,92 ± 2,54	88,41 ± 1,02	150,59 ± 3,61
TBARS (µmol/L)	9,41 ± 1,31	22,25 ± 2,59	36,39 ± 7,10	8,7 ± 0,10	24,66 ± 1,1	33,65 ± 2,58	6,41 ± 0,5	22,93 ± 0,71	27,26 ± 1,93

Les résultats du dosage des taux des polyphénols issus des morceaux de pommes traités par l'extrait du thé vert ou l'acide ascorbique, tous deux testés à 1%, dévoilent des concentrations élevées des composées phénoliques, ceci a été observé à 15 et 30 jrs de conservation, en comparaison avec les pommes entretenues dans de l'eau distillée et dans les mêmes conditions expérimentales. Cependant, il est intéressant de noter que les morceaux de pomme émergés dans l'acide ascorbique ou l'extrait du thé vert présente une bonne conservation ceci est reflété par une stabilité des taux des polyphénols entre 15 et 30 jours de conservation. On note à T15 une valeur de $143,45 \pm 3,60$ mg EQ AG /100 g de P et à T30 une valeur de $148,25 \pm 0,47$ mg EQ AG /100 g de P pour le traitement à l'extrait du thé vert.

L'acide ascorbique quant à lui enregistre une valeur de $183,45 \pm 9,04$ mg EQ AG /100 g de P à T15 et une valeur de $179,20 \pm 16,75$ mg EQ AG /100 g de P à T30.

En parallèle, les teneurs en flavonoïdes varient considérablement entre les trois temps de conservation (T0, T15, T30) et ce pour les différents traitements utilisés (eau distillée, acide ascorbique ou l'extrait de thé vert). En effet une diminution des concentrations des flavonoïdes dans les morceaux de pommes traitées a été constatée. Les valeurs obtenues pour T15 et T30 sont respectivement de l'ordre de $16,83 \pm 0,51$ mg EQ quercétine /100 g de P et $4,24 \pm 0,38$ mg EQ Q/100 g de P pour le traitement à l'extrait du thé vert et de $8,67 \pm 0,30$ mg EQ Q/100 g de P et de $2,92 \pm 0,34$ mg EQ Q/100 g de P pour le traitement à l'acide ascorbique. Cependant les teneurs des flavonoïdes des pommes traitées par l'eau distillée sont $9,02 \pm 0,36$ mg EQ Q/100 g de P pour T15 et de $3,60 \pm 0,33$ mg EQ Q/100 g de P pour T30.

D'autre part, les teneurs en vitamine C des pommes traitées par l'acide ascorbique ou de l'extrait du thé vert à 1 %, révèlent une diminution avec l'augmentation de la durée de conservation, Cependant on constate que la concentration de la vitamine C des pommes conservées avec l'extrait du thé vert, évaluée à T30 jrs de conservation est supérieure à celle obtenue à T15 ($79,40 \pm 0,59$ *versus* $40,19 \pm 0,44$) mg /mL respectivement.

Aussi, le fruit traité par l'eau distillée présente une réduction de la quantité de la vitamine C durant la conservation. Par contre, ces concentrations sont largement inférieures à celles obtenues avec les morceaux de pommes traités par l'acide ascorbique ou l'extrait du thé vert. Ceci a été constaté pour les trois temps de conservations (T0, T15, et T30) (**Voir tableau n°02**).

Les résultats concernant la capacité réductrice du fer des pommes conservés dans des conditions et des temps différents, évaluée par la technique FRAP, démontrent que à T15 jrs de conservation, le pouvoir réducteur des pommes traitées par l'extrait du thé vert ou bien la l'acide ascorbique augmente en comparaison avec celui des pommes traitées par l'eau distillée. On note, que les pommes mises en présence de 1% du thé vert ou de l'acide ascorbique exhibent des pouvoirs réducteurs évalués à $74,95 \pm 13,88$ mg/mL et à $88,41 \pm 1,02$ mg/mL respectivement, *versus* le pouvoir réducteur des pommes traitées par l'eau ($693,10 \pm 11,29$ mg/mL). Cependant ce pouvoir réducteur n'est pas maintenu après 15 jrs de conservation. On constate, à T30, une diminution de la capacité réductrice des pommes traitées par les différents extraits : l'acide ascorbique évaluée à 41% et le thé vert évaluée à 50% en comparaison avec les pouvoirs réducteurs des deux traitements précédemment cités et obtenus à T15 jrs.

Toutefois, le traitement du fruit par les deux solutions de conservation à savoir l'extrait du thé, et l'acide ascorbique, ne révèlent aucune protection contre l'oxydation lipidique, ceci est reflétée par une augmentation des taux des MDA au cours de la conservation, il va de même pour le traitement à l'eau distillée.

II .2. Evaluation des teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des pommes après 30 jrs de conservation à 4 C° :

Les teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes des différents extraits issus des pommes conservées sont illustrées dans les **figures 02**

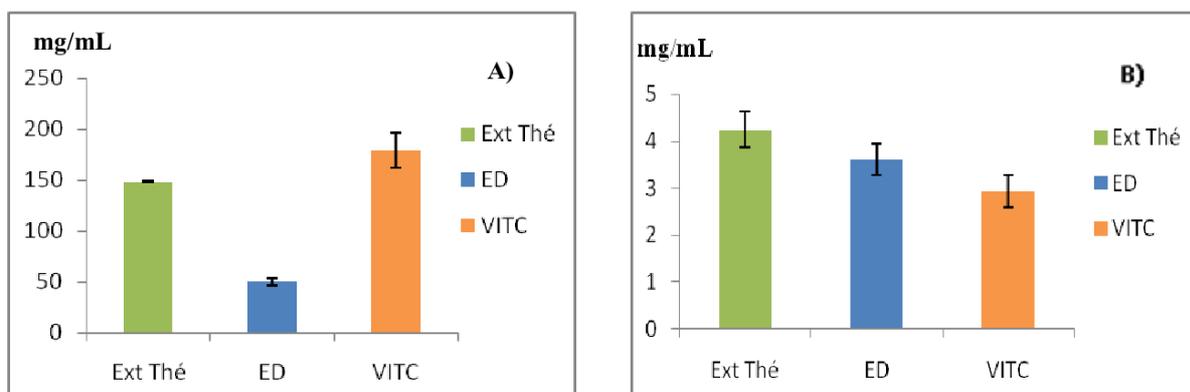


Figure n° 02: Teneurs en polyphénols (A) et en flavonoïdes (B) ; des pommes traitées par les différentes solutions, obtenues après 30 jrs de conservation

(Les valeurs illustrées correspondent à la moyenne \pm ES de trois essais indépendants)

Les résultats obtenus révèlent que la conservation des pommes dans une solution de 1% d'extrait du thé vert durant 30jrs, dévoilent une teneur en polyphénols, estimée à $148,25 \pm 0,47$ mg EQ AG /100 g de P et supérieure a celle des pomme traitées par l'eau distillée, estimée à $49,97 \pm 3,53$ mg EQ AG /100 g de P , néanmoins ces teneurs demeurent inférieures à celui des pommes traitées par l'acide ascorbique, celle-ci présentent un taux de polyphénols enregistré à $179,20 \pm 16,95$ mg EQ AG /100 g de P.

Parallèlement la teneur des flavonoïdes quantifiée dans le fruit conservé dans de l'extrait du thé est supérieur celle des pommes entretenues dans l'eau distillée et l'acide

Ascorbique on note $4,24 \pm 0,38$ mg EQ quercétine /100 g de P, *versus* $3,60 \pm 0,33$ mg équivalent quercétine /100 g de P et $2,92 \pm 0,34$ mg EQ quercétine /100 g de P respectivement.

Cette constatation peut être attribuée aux composés phénoliques de l'extrait du thé ajoutés aux pommes lors de la conservation. En effet, le thé est une source très importante d'antioxydants en particulier les catéchines et les flavonols dont le rôle est la neutralisation des radicaux libre. **(Cabrera et al ,2013)**. Ce qui permet une meilleure conservation par le biais de l'inhibition de l'oxydation des flavonoïdes des pommes.

II.3. Evaluation du pouvoir réducteur et des teneurs en Vitamine C des extraits issus des pommes après 30 jrs de conservation à 4 C°

Les résultats concernant l'activité réductrice des extraits issus des pommes traitées par différentes solutions de conservation sont indiqués dans la figure n°03. Ils sont exprimés en concentration effectrice à 50% (CE50).

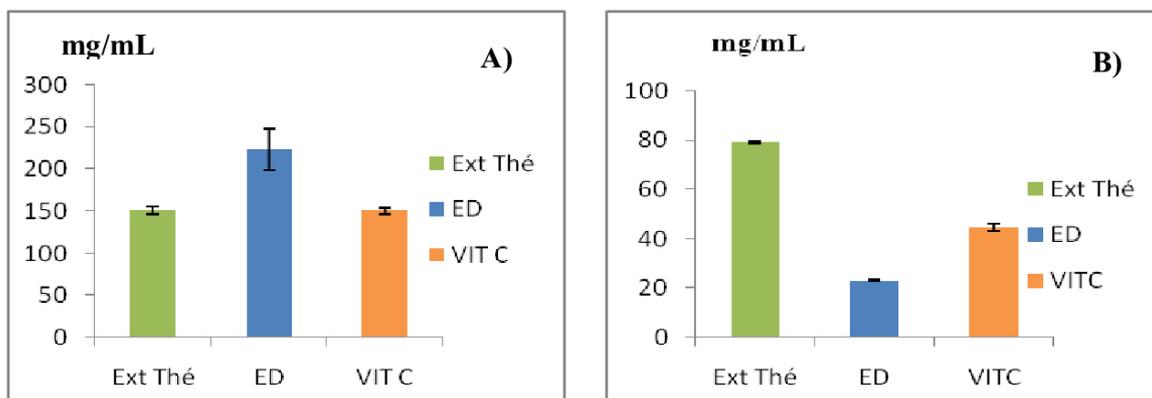


Figure n° 03 : Pouvoir réducteur exprimé en CE50 (A) et Teneurs en vitamine C (B) ; des pommes traitées par les différentes solutions, obtenus après 30 jrs de conservation.

(Les valeurs illustrées correspondent à la moyenne \pm ES de trois essais indépendants)

Ces données indiquent que le traitement des pommes par 1% de l'extrait du thé vert induit une augmentation de l'activité antioxydante évaluée à 32,186% en comparaison avec le traitement des pommes par l'eau distillée après 30 jrs de conservation. Il est à noter que l'extrait du thé ralentit l'altération oxydative de manière similaire comme celle de l'acide ascorbique, car ces deux conditions de traitement aboutissent à l'obtention à T30 jrs de conservation, des CE50 quasi identique (**Voir Figure n°03(A)**). Il semblerait que l'activité antioxydante peut être liée à la teneur en composés phénoliques, ces derniers semblent être mieux protégés dans le fruit traité par l'extrait du thé vert ou l'acide ascorbique ce qui procure à ce dernier un pouvoir réducteur important en comparaison avec le fruit traité par l'eau distillée. Ceci va de pair avec l'étude de Chen et ses collaborateurs (2014), ces derniers suggèrent que le pouvoir antioxydant, reflété par la capacité de piéger le radical DPPH°, du lichi conservé dans les mêmes conditions que notre expérimentation (extrait du thé vert à 1%) est influencée par les teneurs en composés phénoliques totaux. Les auteurs expliquent que les propriétés antioxydantes et les teneurs en composés phénoliques sont très corrélés. Ils rajoutent que les polyphénols de thé améliorent

l'activité antioxydante par la réduction de la teneur en ERO dans le fruit. En effet, il est largement démontré que les polyphénols du thé sont riches en catéchines, principalement les composées d'épicatéchine, épicatechine 3-gallate, épigallocatechine, épigallocatechine 3-gallate, catéchine et gallocatechine (**Harold et al., 1992 ; Yang et al .,2018**). De nombreux travaux ont rapporté que les catéchines du thé vert ont un pouvoir antioxydant plus puissant que celui de la vitamine C et E (**Kazuo Mukai et al., 2005 ;Yang et al .,2018**).

D'autre part nos résultats indiquent que la teneur en vitamine C dans des pommes conservées dans l'extrait du thé après 30 jrs est supérieure à celle obtenue dans des pommes traitées par l'eau distillée et l'acide ascorbique (**Voir figure n°3(B)**). Ces valeurs sont estimées à 245,96 % en comparaison avec le traitement par l'eau distillée et à 79,76 % en comparaison avec le traitement par l'acide ascorbique. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Pizzocaro et al (1993)**. Ces derniers ont confirmé que le traitement des morceaux de pommes par des un antioxydant inhibe le brunissement enzymatique au cours de la conservation.

II.4. Evaluation de l'oxydation lipidique, évaluée par la technique TBARS des extraits issus des pommes après 30 jrs de conservation à 4 C°

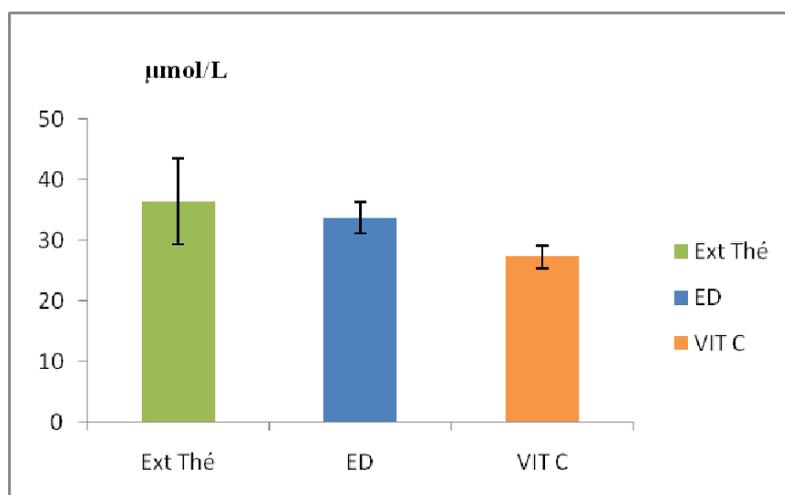


Figure n° 04 : Taux des MDA des pommes traitées par les différentes solutions, obtenus après 30 jrs de conservation.

(Les valeurs illustrées correspondent à la moyenne \pm ES de deux essais indépendants)

Après 30jrs de conservation, une légère diminution en MDA est observée dans les pommes traitées par 1% d'acide ascorbique. Cette diminution est estimée à 18,99 % en comparaison avec les taux des MDA des pommes traitées par l'eau distillée et à 8,14 % en comparaison avec le traitement à l'extrait du thé vert. En effet, l'acide ascorbique est un système de défense antioxydant non enzymatique, un réducteur susceptible d'influencer la peroxydation lipidique. (Ming lü ,et al 2010).

II.5. Analyses microbiologiques des pommes traitées par différentes solutions au cours de la conservation

Les résultats des analyses microbiologiques des pommes traitées par différentes solutions de conservation sont illustrés dans le tableau n°03

Tableau n°03 : Analyses microbiologiques des pommes au cours de la conservation

solutions Germes	<i>Traitement : Extrait du thé</i>			<i>Traitement : Eau distillée</i>			<i>Traitement : Acide ascorbique</i>			<i>Limites microbiologiques (UFC/g) selon JORA1998</i>	
	<i>T0</i>	<i>T15</i>	<i>T30</i>	<i>T30</i>	<i>T15</i>	<i>T30</i>	<i>T0</i>	<i>T15</i>	<i>T30</i>	<i>m</i>	<i>M</i>
Flore Totale aérobie mésophile	Absence			Absence			Absence			10 ⁵	10 ⁶
Coliformes fécaux et totaux	Absence			Absence			Absence			Absence	Absence
Levures et Moisissures	Absence			Absence			Absence			Absence	Absence
Clostridium sulfito- réducteur	Absence			Absence			Absence			Absence	Absence

L'analyse microbiologique des pommes conservées révèle une absence totale des germes à savoir la Flore Totale Mésophile, les Coliformes, les Clostridium, les Levures et les Moisissures. Les résultats obtenus conformément aux limites microbiologiques fixées par la Norme Algérienne (**JORA 1998**). (**Voir annexe n° XIII**).

L'absence de ces germes peut être expliquée par le respect de bonnes d'hygiène, une température de conservation adéquate à 4 C° ainsi que le pH des solutions de conservation qui rend le milieu défavorable au développement de certains germes microbiens.

CONCLUSION

Par sa richesse en fibres, en vitamines et en polyphénols, la pomme est l'un des fruits « santé » de première importance, il est indispensable d'inciter sa consommation ce qui nécessite un temps de préparation réduit et une adaptation à la consommation nomade. L'offre en fruits frais coupés pourrait satisfaire cette demande. Mais son essor se heurte à une difficulté technique : la durée de vie, trop courte. Pour répondre à ces exigences il est fortement intéressant de développer une procédure de conservation plus appropriée basé sur l'utilisation de substances naturelles telles que les polyphénols comme substitution aux additifs et aux conservateurs chimiques. Ce qui permettra d'assurer une conservation longue sans influence sur la valeur nutritionnelle et la santé humaine. L'objectif de cette étude s'inscrit dans ce cadre.

Au cours de notre étude, la conservation des pommes dans une solution d'extrait du thé vert à 1% durant 30jrs, dévoilent une teneur en polyphénols, estimée à $148,25 \pm 0,47$ mg EQ AG /100 g de P et supérieure a celle des pomme traitées par l'eau distillée celle-ci est estimée à $49,97 \pm 3,53$ mg EQ AG /100 g de P. Néanmoins ces teneurs demeurent inférieures à celle des pommes traitées par la vitamine C, ces dernières présentent un taux de polyphénols enregistré à $179,20 \pm 16,95$ mg EQ AG /100 g de P. Parallèlement la teneur des flavonoïdes quantifiée dans le fruit conservé dans l'extrait du thé est supérieur celle des pommes entretenues dans l'eau distillée et l'acide ascorbique on note $4,24 \pm 0,38$ mg EQ Q /100 g de P, *versus* $3,60 \pm 0,33$ mg EQ Q /100 g de P et $2,92 \pm 0,34$ mg EQ Q /100 g de P respectivement. Aussi le traitement des pommes par l'extrait du thé vert induit une augmentation de l'activité antioxydante évaluée à 32,186% en comparaison avec le traitement des pommes par l'eau distillée après 30 jrs de conservation. Cet extrait a la capacité de ralentir l'altération oxydative de manière similaire à celle de l'acide ascorbique. D'autre part nos résultats indiquent que la teneur en vitamine C au niveau des pommes conservées dans l'extrait du thé après 30 jrs est supérieure à celle obtenue dans les pommes traitées par l'eau distillée et la Vitamine C. Ces valeurs sont estimées à 245,96 % *versus* l'eau distillée et à 79,76 % *versus* vitamine C. Cependant après 30jrs de conservation, une légère diminution des MDA est observée dans les pommes traitées par 1% vitamine C. Cette diminution est estimée à 18,99 % en comparaison avec les taux des MDA des pommes traitées par l'eau distillée et à 8,14 % en comparaison avec le traitement à l'extrait du thé vert.

L'analyse microbiologique des pommes traitées par différentes solutions de conservation révèle une absence totale des germes.

L'ensemble de ces données indiquent la pertinence de l'utilisation de l'extrait du thé vert dans la conservation des fruits. Ce dernier semblerait réserver les taux des polyphénols et des flavonoïdes des pommes durant la conservation ce qui pourrait contribuer au maintien de la capacité antioxydante totale, à la prolongation de sa conservation et *in fini* à sa protection contre le brunissement enzymatique. Les perspectives de cette présente étude visent à :

- Elargir la gamme d'échantillons et tester d'autres préparations de fruits.
- Réaliser des tests physico-chimiques sur les pommes conservées
- Optimisation des paramètres de conservation (durée, concentration de l'extrait...), ainsi que l'emballage.
- Développer l'analyse microbiologique.
- Utiliser d'autres extraits polyphénoliques, exemple extrait de la cannelle
- Réaliser un test gustatif afin d'apprécier les qualités organoleptiques du fruit conservé.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

A

Aprifel, 2008. Fiches nutritionnelles pomme : la pomme. Consulté le 26-06-2019 à 11 :00h : <http://www.aprifel.com/fiches,produits>.

Anesini ., Agric J.(2008). Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Food -Chem.* 56(19):9225-9.

B

Bahorun T., Grinier B., Trotin F., Brunet G., Pin T., Luncky M., Vasseur J., Cazin M., Cazin C., Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung.* 46:1086-1089.

Benaraba R. (2007). Insulinorésistance et stress oxydant dans le syndrome métabolique : Etude expérimentale des effets protecteurs de micro-constituants nutritionnels (polyphénols du thé, de la cannelle et chrome III). Thèse de doctorat de l'université Joseph Fourier.

Bucić-Kojić A., Planinić M., Tomas, S., Bilić, M., and Velić, D. (2007). Study of solid– liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of Food Engineering.* 81 (1): 236-242.

C

Cabrera C., Artacho R., Giménez P.H.D. (2013) .Beneficial Effect of Green Tea .*Journal of the American college of Nutrition.* 25 :79-99.

Carange J. (2010). Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection .Thèse de doctorat. Université du Québec Trois-Rivières.

Chan E.W.C., Wong S.K. (2015). Herbs and herbal teas with antioxidant properties comparable to or superior than those of *camellia sinensis*. *International Journal of Pharmacognosy.* 2:33-37.

Chen w., Zhang Z., Shen Y., Duan X., et Jiang Y. (2014). Effect of Tea Polyphenols on Lipid Peroxidation and Antioxidant Activity of Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) Fruit during Cold Storage. *Molecules .* 19:16837-16850.

G

Guidi L., Tonini M., Soldatini G.F. (2000). Effects of high light and ozone fumigation on photosynthesis in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol. Biochem.* 38 : 717–725.

Guiraud J.P. (2003). Microbiologie alimentaire. *Ed, Dunod, Paris, 2012.* : pp583-600.

Guiraud J-P. (1998). Microbiologie alimentaire .Dunod .paris, 2003 : p 549.

H

Haton C. (2005). Effets des rayonnements ionisants sur la structure et la fonction de la cellule épithéliale intestinale. Thèse de doctorat. Université de Paris VI.

J

Jacota S. K., et Dana H. M. (1982). A new calorimetric technique for estimation of vitamin C using folin phenol reagent. *Analytical Biochemistry.* 127: 178-182.

Jessica D., Mcaleese., mph. (2007). garden-based nutrition education affects fruit and vegetable consumption in sixth-grade adolescents. *journal of the american dietetic association,* 107 : 662-665.

Jiang Y.M., Li J.R., Shi J. (2008). Enhanced effect of L-cysteine and citric acid combination on browning inhibition and quality maintenance in harvested litchi fruit. *Journal of Food Science Technology.* Mysore. 45:75–77.

Joffin C., Joffin J.N. (1999). Microbiologie alimentaire .5^{ème} édition, AlsaceLorraine, Bordeaux : p143.

K

Kamaliroosta L., Gharachorloo M., Kamaliroosta Z., and KH A. Z. (2012). Extraction of cinnamon essential oil and identification of its chemical compounds. *Journal of Medicinal Plants Research.* 6(4) : 609-614.

Kazuo ,M ,Souichi ,N .,Keishi ,O.(2005). Kinetic study of the quenching reaction of singlet oxygen by tea catechins in ethanol solution .*Free radical biology and medicine.* 39(6) :752-761.

KRIEPS M(2009). Le thé : Origine, Actualité et potentialités .Thèse de doctorat de l'université Henri Poincaré _ Nancy I.

M

Macheix J.J., Fleurie A., and Sarni-Manchado P. (2005). Composés phénoliques dans la plante: structure, biosynthèse, répartition et rôles, in, Les Polyphénols en Agroalimentaire. Tecand Doc Edition. Paris. pp: 133-141.

Ming Lü J., Lin PH., Yao Q., and Chen C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* .14 : 840-860.

Marie L.P. (2009). Saison froide et thé vert font bon ménage Le magazine santé AU NATUREL

Mattias R. (2010). Lettre d'information sur la santé substances phytochimiques (phytochemicals) .5ème partie : l'epigallocatechine gallate (EGCG).

O

Oyaizu M. (1986). "Studies on products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, p307–315.

P

Pizzocaro F., Torreggiani D., and Gilardi G. (1993). Inhibition of apple polyphenoloxidase (ppo) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. *Journal of food processing and preservation* 17 : 2130.

R

Robards K., Prenzler P. D., Tucker G., Swatsitang P., and Glover W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* .66: 401-436.

S

Singleton V., Orthofer R., Lamuela- Raventos R. (1999).Analysis of total phenols and other oxidation subctrates and antioxydants by means of folin-ciocalteau reagent.Methode of enzymology. 299:152-178.

Y

Yang H., Xue X., Li H., Apandi N.S., Tay-Chan S.C., Poon Ong S., and Tian E-F.(2018).The relative antioxidant and steric structure of green tea catechins. Food Chemmistly. 257 :399-405.

ANNEXES

Annexe I : Variété des pommes utilisées

Goldrush:

Variété américaine obtenue en 1973 par un croisement de la Coop et de la Golden Delicious.

L'Arbre légèrement dressé, demi-spur, modérément vigoureux et peu ramifié.

Les fruits possèdent un calibre moyen, une forme tronconique, et ont une couleur vert-jaunâtre persistante avec un lavis bronzé et des lenticelles liégées assez distinctes.

La chair, est juteuse de couleur blanchâtre et d'excellente texture, a une saveur épicée et une forte teneur en sucres et en acides.

La récolte se fait à partir de la troisième décade d'octobre (+30-35 jours par rapport à la Golden Delicious).



*Annexe II : Composition moyenne de pomme***Tableau 1 : composition moyenne d'une pomme (Aprifel, 2008).**

Composition moyenne pour 100g de produit frais							
Composants	(g)	Minéraux	(mg)	Vitamines	(mg)	Apports énergétiques	
Glucides	12,6	Potassium	145,0	Vitamine C	5,0	KCalories	54,0
Protides	0,3	Phosphore	9,0	Provitamine A	$7,0 \times 10^{-2}$	KJoules	226,0
Lipides	0,3	Calcium	4,0	Vitamine B1	$3,0 \times 10^{-2}$		
Acides organiques	0,6	Magnésium	4,0	Vitamine B2	$2,0 \times 10^{-2}$		
Fibres alimentaires	2,1	Sodium	3,0	Vitamine B3	0,3		
Eau	84,3	Fer	0,2	Vitamine B5	0,1		
		Cuivre	$4,0 \times 10^{-2}$	Vitamine B6	$5,0 \times 10^{-2}$		
		Zinc	$9,0 \times 10^{-2}$	Vitamine B9	$1,2 \times 10^{-2}$		
		Manganèse	$3,0 \times 10^{-2}$	Vitamine E	0,5		

Annexe III : Feuilles et fleurs de théier et le catéchine du thé vert

Figure n°01 : Feuilles et fleurs de théier (Krieeps., 2009)

Catéchines – Polyphénols les plus précieux

Du point de vue médical, le groupe le plus important pour la santé des polyphénols présents dans le thé sont les catéchines, également appelées flavanols. L'appellation de catéchine provient du terme « catechu » le nom d'un extrait d'*Acacia catechu* L. Fabaceae. Ce sont des monomères qui sont des tanins naturels non-hydrolysables.

On leur a découvert des vertus anti-carcinogènes, antioxydatives, antivirales, antibactérienne. Cela vaut pour les catéchines principales catéchine (C), épicatechine (EC), épigallocatechine (EGC), et épigallocatechine-gallate (EGCG). Cependant pour certains troubles de santé spécifiques (notamment les allergies), les scientifiques ont découvert que les catéchines méthylés sont recommandées épigallocatechine-3-O-méthyle-gallate. Ces dernières sont présentes en grandes quantités dans le thé vert Benifuuki, ainsi que le Sunrouge.

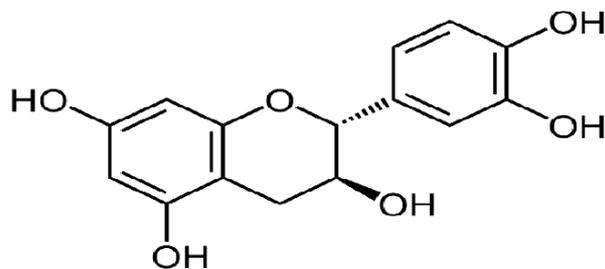


Figure n°02 : Structure de bases des catéchines (Benaraba.,2007)

Annexe IV : Radicaux libres**1. Définition**

Un radical libre est une espèce chimique qui possède un ou plusieurs électrons non appariés sur sa couche externe. La présence d'un électron non apparié confère à ces molécules une grande instabilité, c'est-à-dire qu'elles sont extrêmement réactives et que leur durée de vie est courte. (Carange, 2010). Les Radicaux libre sont très fortement impliqués dans l'oxydation et l'altération des aliments

Tableau N°01 : Principaux radicaux libres (Haton, 2005).

Oxygène singulet	${}^1\text{O}^2$
Anion super oxyde	$\text{O}^{2\cdot-}$
Radical hydroxyle	$\cdot\text{OH}$
Radical hydroperoxyde	$\text{HOO}\cdot$
Radical peroxyde	$\text{ROO}\cdot$
Hydroperoxyde	ROOH
Radical alkoxyde	$\text{RO}\cdot$
Peroxyde d'hydrogene	H_2O_2
Radical oxyde nitrique	$\text{NO}\cdot$

Annexe V. Différents types altérations

Il existe en effet différents types

Altération physique : Chocs, blessures, changements d'état, variation de la teneur en eau, changement de couleur.

Altération chimique et biochimique : Oxydation (rancissement) Par les enzymes (brunissement enzymatique, lyses, destruction des vitamines et de certains nutriments)

Altération microbiologique : développement des microorganismes pathogène ,fermentation production des toxines et des enzymes.

Annexe VI : Préparation des tampons et des réactifs**I. Préparation des tampons phosphate à 1M**

2,72g de KH_2PO_4 100 ml eau distillée

4,56g de K_2HPO_4 100ml eau distillée

Mélanger 100 ml de KH_2PO_4 et 100 ml de K_2HPO_4 , la solution est ajustée à pH 6,6.

Conserver les deux solutions à 4 °C pendant 03 mois.

II. Préparation des réactifs**II.1. Préparation de solution AlCl_3**

AlCl_3 02g

Eau distillée.....100 ml

Conservation à 4°C pendant 01 mois.

II.2. Préparation de solution Na_2CO_3

Na_2CO_37,5g

Eau distillée 100 ml

Conservation à 4°C pendant 01 mois.

II.3.Préparation de FeCl_3

FeCl_3 0.1g

Eau distillée100ml

Conservation à 4°C pendant 01 mois.

II.4. Préparation de TBA a 36 mmol

TBA0.5g

TCA (10%)100ml

Hcl (1N).....25ml

Annexe VII : Aspect des pommes dans les boucaux au cours de la conservation (T0, T15 et T 30 jours) dans les différentes solutions de stockage

- *Solution d'acide ascorbique à 1 %*
- *Solution d'extrait phénolique du thé vert à 1%*
- *Eau distillée*



A : Morceaux de pommes à T0 de conservation dans l'eau distillée à 4°C

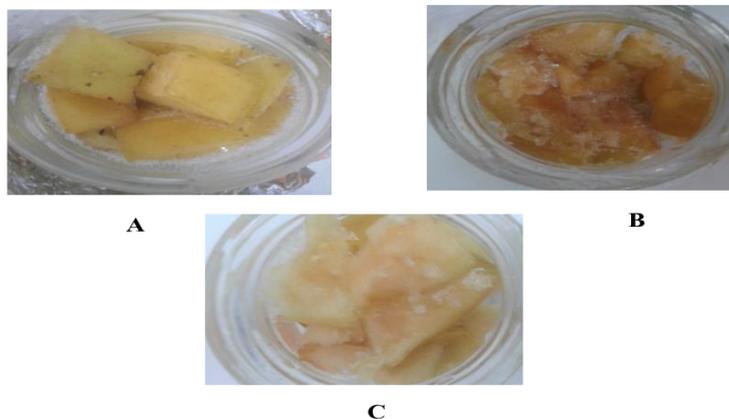
B : Morceaux de pommes à T0 de conservation dans l'extrait du thé à 4°C

C : Morceaux de pommes à T0 de conservation dans la Vit C à 4°C

Figure N°03: Morceaux de pomme au début de conservation (T0) dans différentes solutions



Figure N°04: Morceaux de pomme après 15 jours de conservation dans différentes solutions



- A : Morceaux de pommes à T30 de conservation dans l'eau distillée à 4°C
- B : Morceaux de pommes à T30 de conservation dans l'extrait du thé à 4°C
- C : Morceaux de pommes à T30 de conservation dans la Vit C à 4°C

Figure N°03: Morceaux de pomme au début de conservation (T0) dans différentes solutions

Annexe VIII : Courbes de la gamme d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques (A) et flavonoïdes (B)

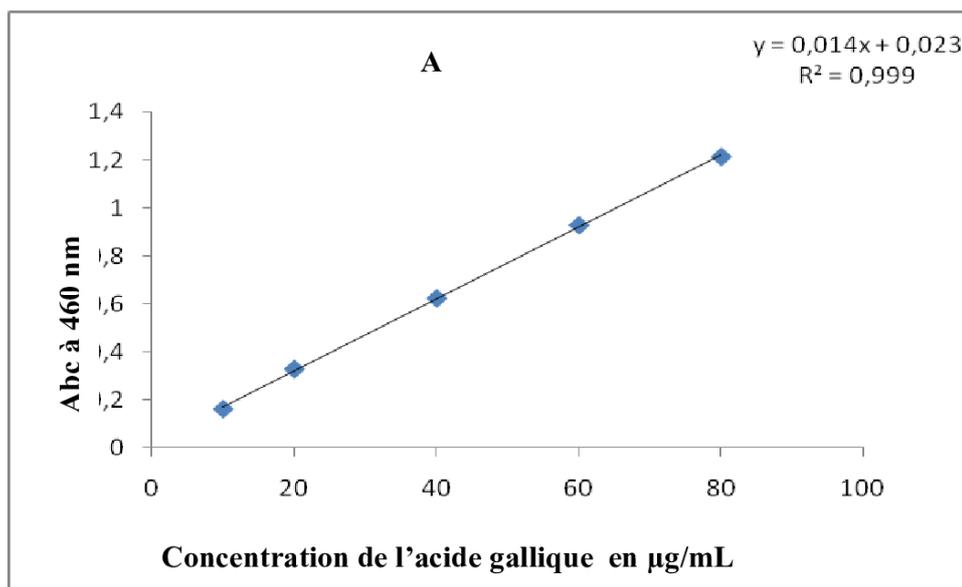


Figure N°06: Courbe de gamme d'étalonnage de l'acide gallique.

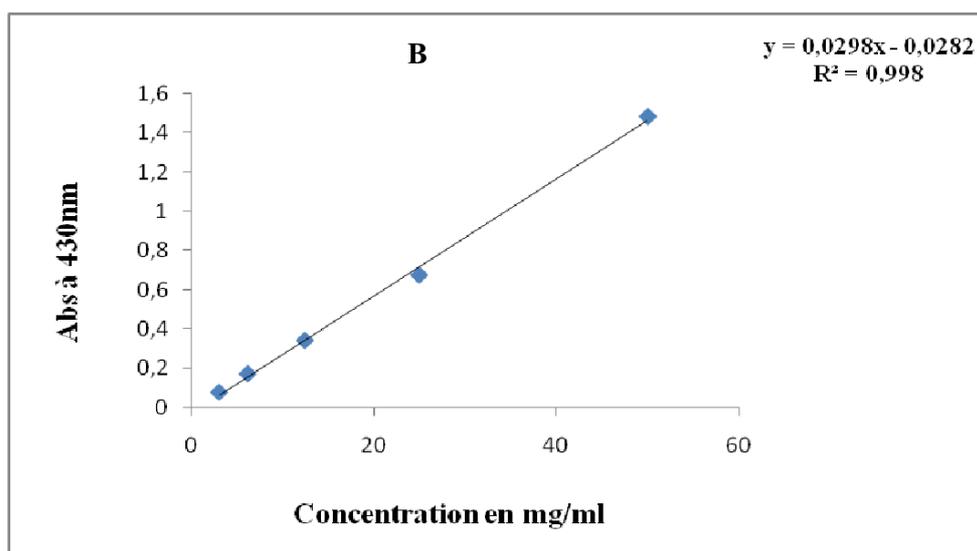


Figure N°07: Courbe de gamme d'étalonnage de la quercétine.

Annexe IX. Courbes de la gamme d'étalonnage pour l'évaluation de l'activité antioxydant

1. Courbes de régression linéaire utilisées dans l'évaluation de la CE50 par la méthode FRAP

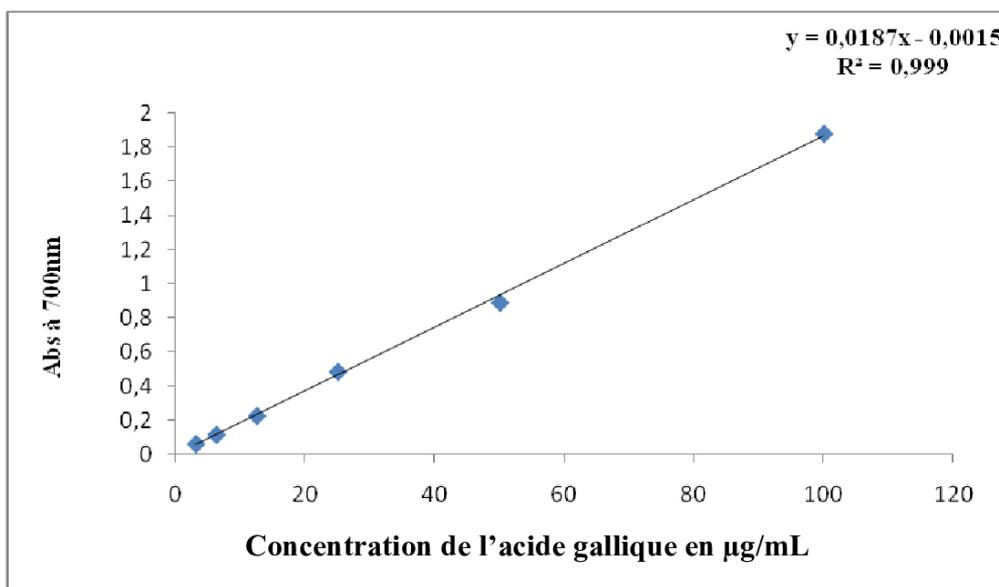


Figure N°08: Courbe de la régression linéaire utilisée dans l'évaluation de la CE50 de l'acide gallique

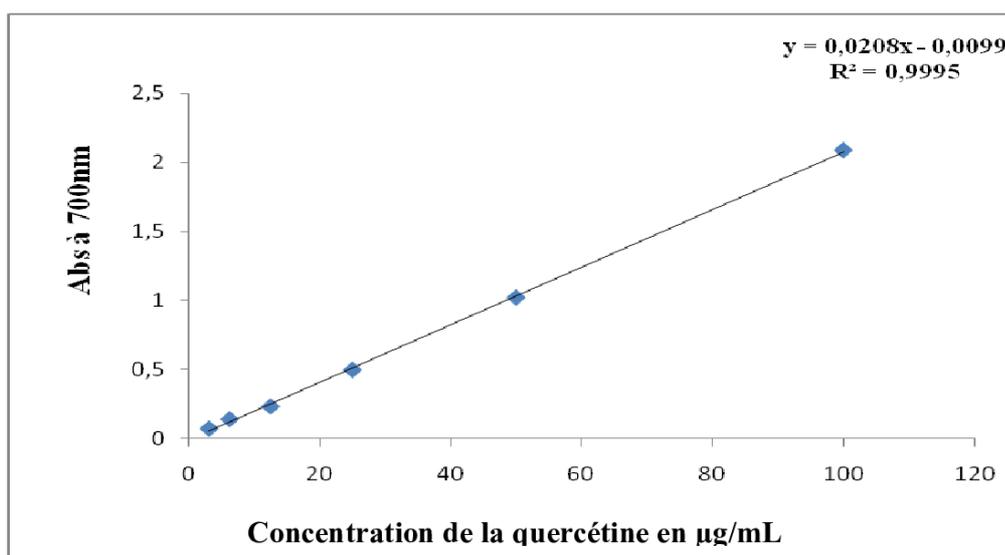


Figure N°09 : Courbes de la régression linéaire utilisée dans l'évaluation de la CE50 de quercétine

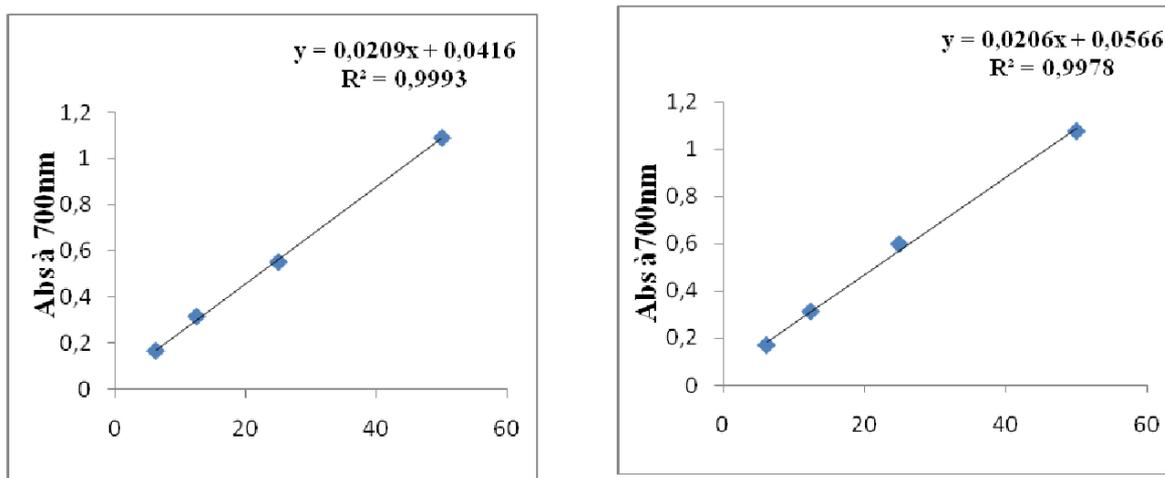


Figure N°10: Courbes de la régression linéaire utilisées pour l'évaluation de la CE50 d'Extrait du Thé vert àT0 exprimé en mg/mL

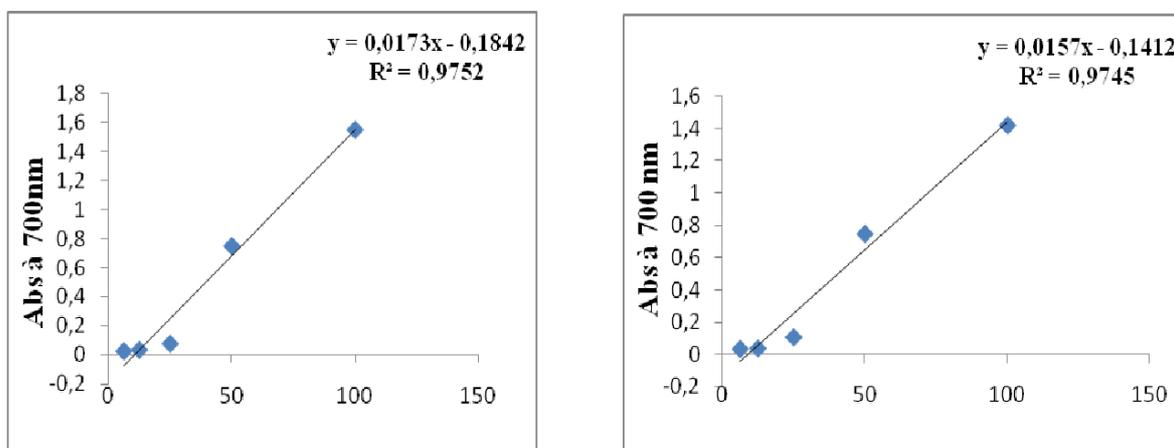


Figure N°11: Courbes de la régression linéaire utilisées pour l'évaluation de la CE50 d'Extrait du Thé vert àT15 exprimé en mg/mL

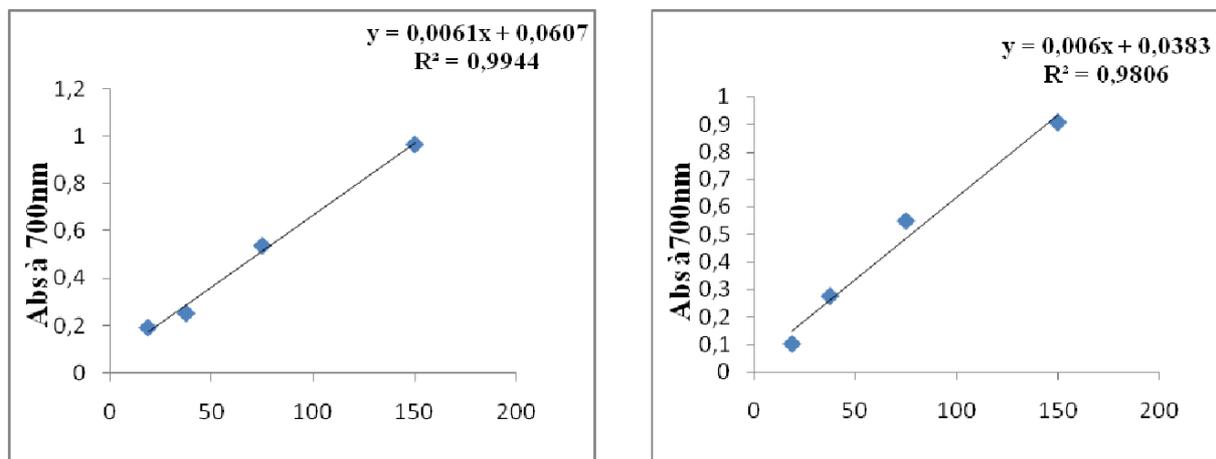


Figure N°12: Courbes de la régression linéaire utilisées pour l'évaluation de la CE50 d'Extrait du Thé vert à T30 exprimée en mg/mL

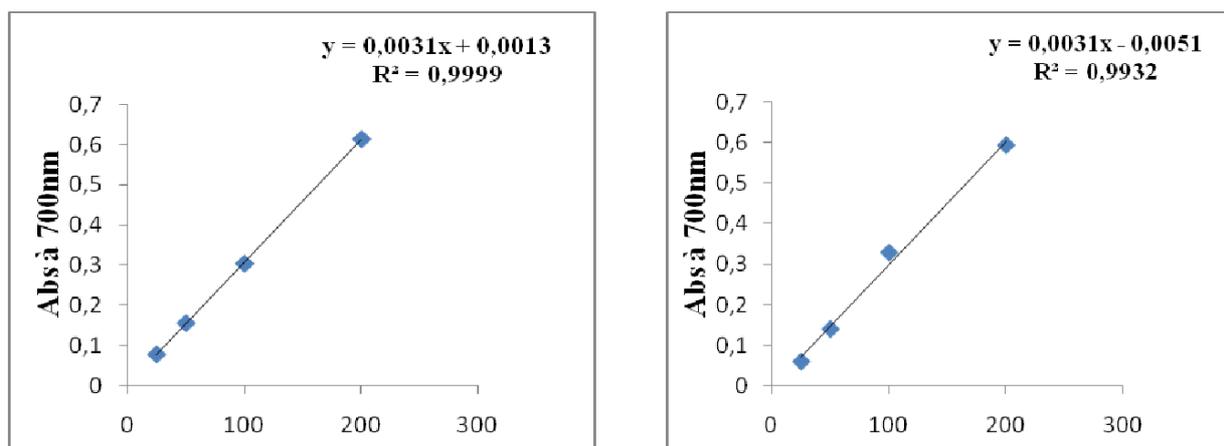


Figure N°13: Courbes de la régression linéaire utilisées pour l'évaluation de la CE50 d'eau distillée à T0 exprimé en mg/mL

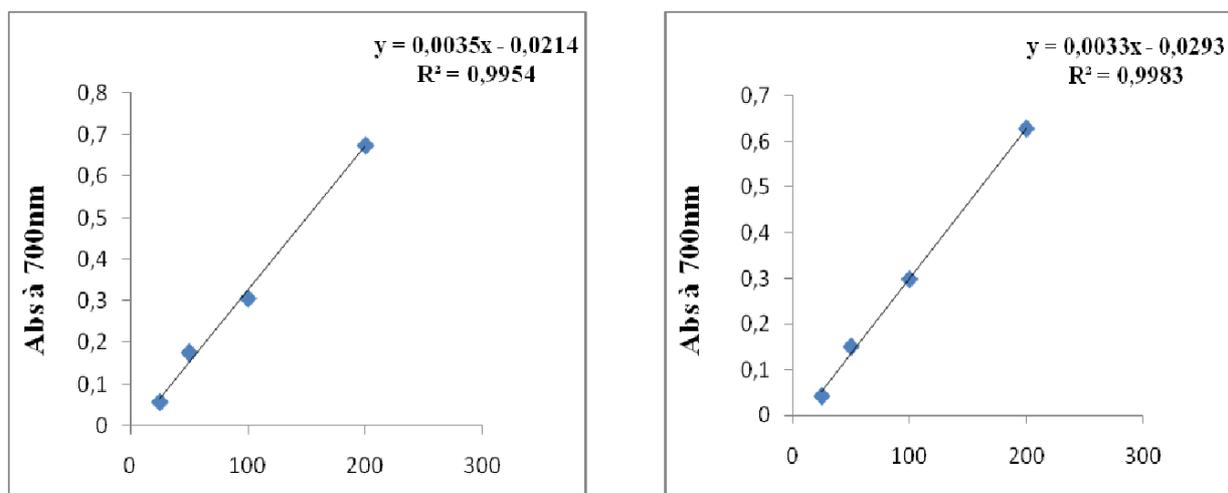


Figure N°14: Courbes de la régression linéaire utilisées pour l'évaluation de la CE50 d'eau distillée à T15 exprimé en mg/mL

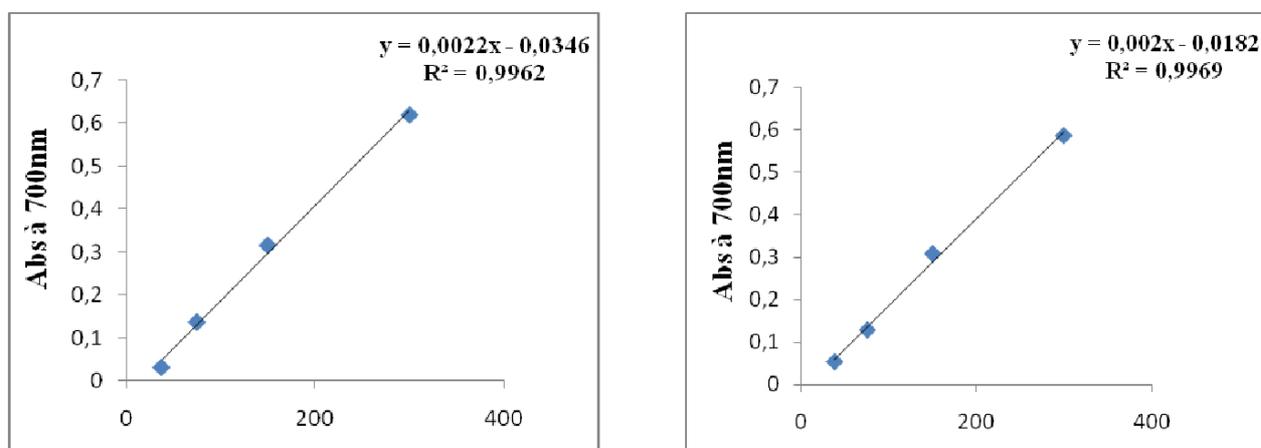


Figure N°15: Courbes de la régression linéaire utilisées pour l'évaluation de la CE50 d'eau distillée à T30 exprimé en mg/mL

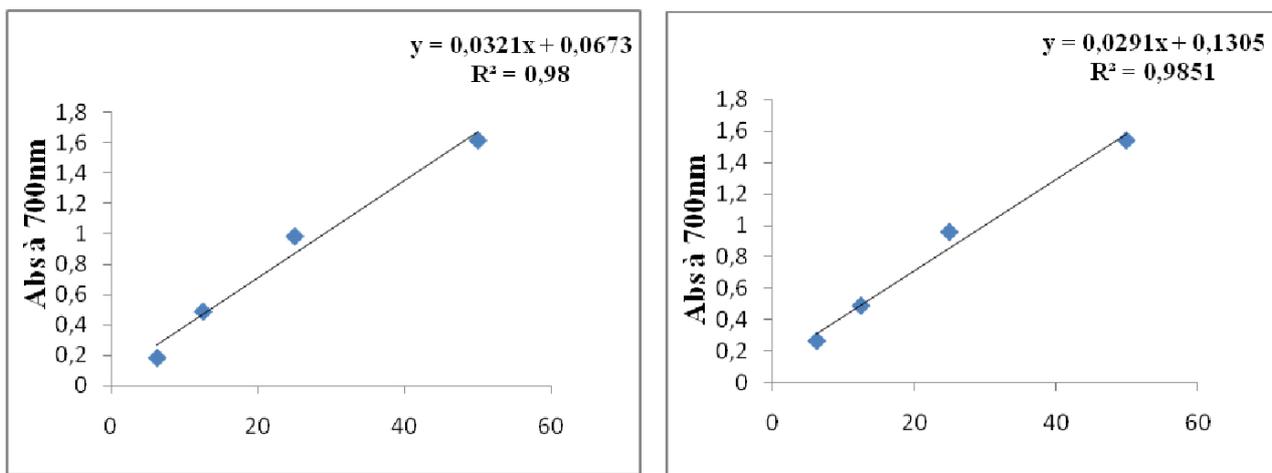


Figure N°16: Courbes de la régression linéaire utilisées pour l'évaluation de la CE50 de la Vitamine C à T0 exprimé en mg/mL

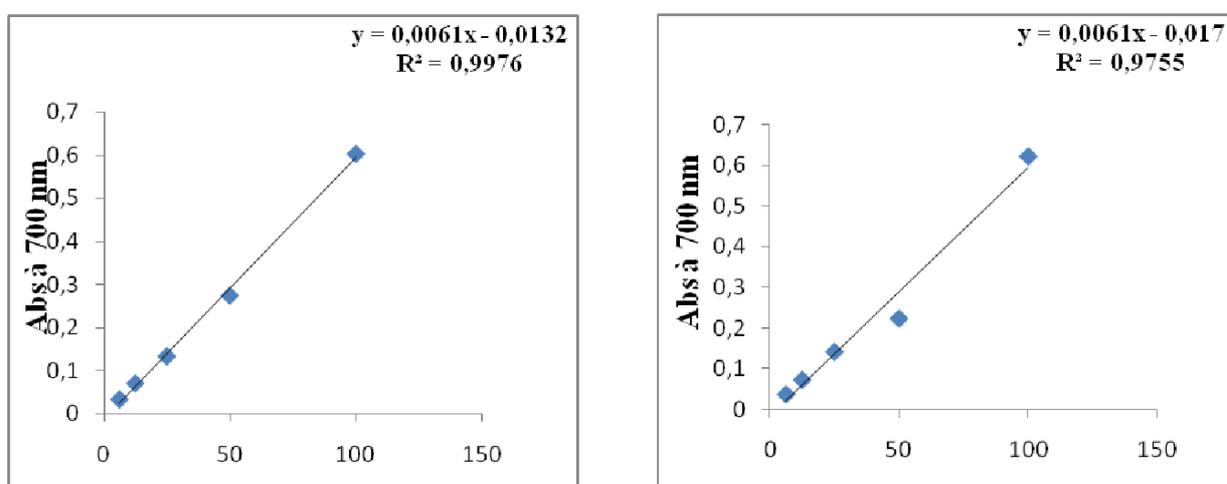


Figure N°17: Courbes de la régression linéaire utilisées pour l'évaluation de la CE50 de la Vitamine C à T15 exprimé en mg/mL

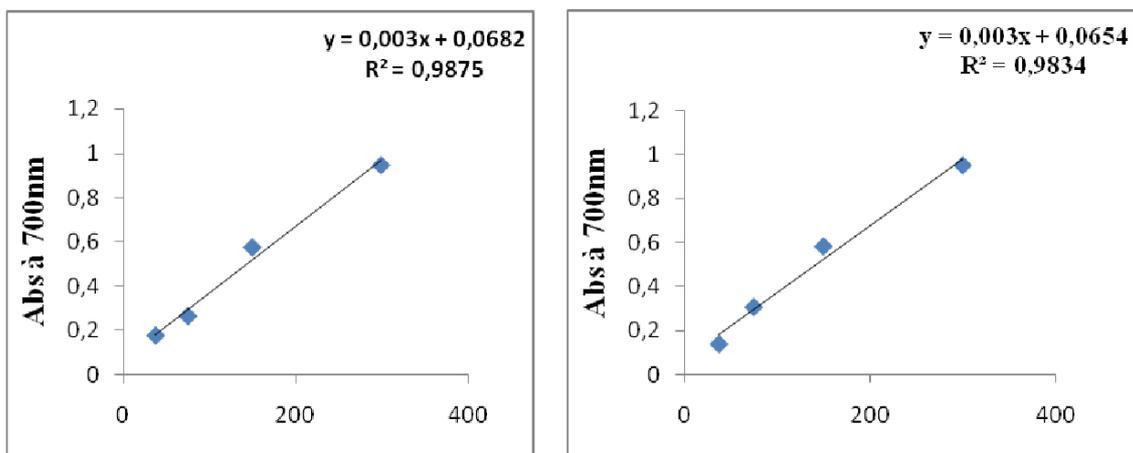


Figure N°18: Courbes de la régression linéaire utilisées pour l'évaluation de la CE50 Vitamine C à T30 exprimé en mg/mL

Annexe X. Courbe de la gamme d'étalonnage du dosage de la vitamine C

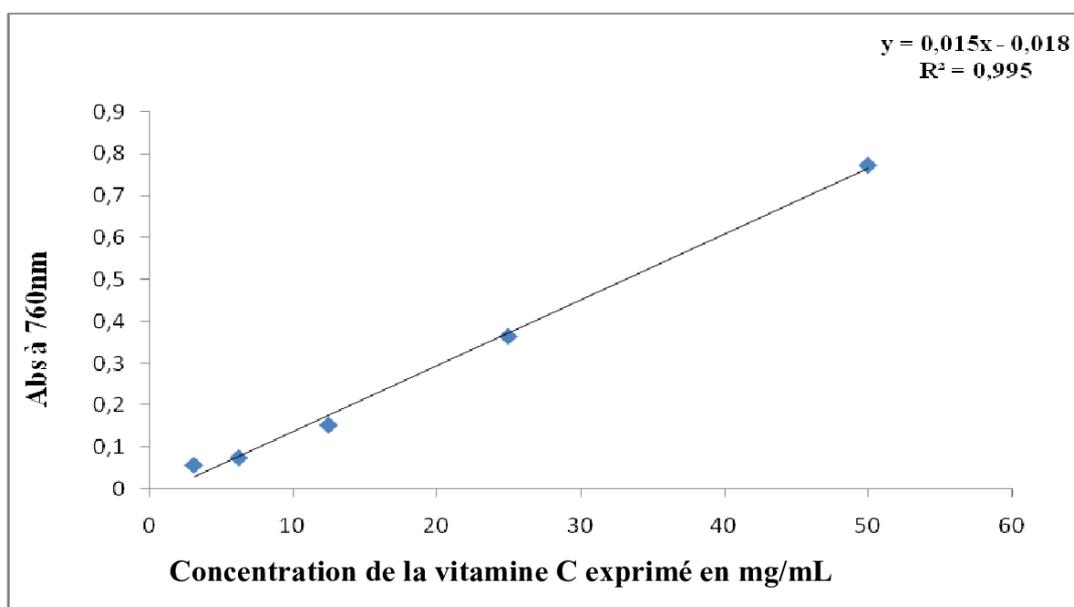


Figure N°19: Courbe de la gamme d'étalonnage de la Vitamine C

Annexe XI. Courbe de la gamme d'étalonnage du TEP pour l'évaluation de la peroxydation lipidique

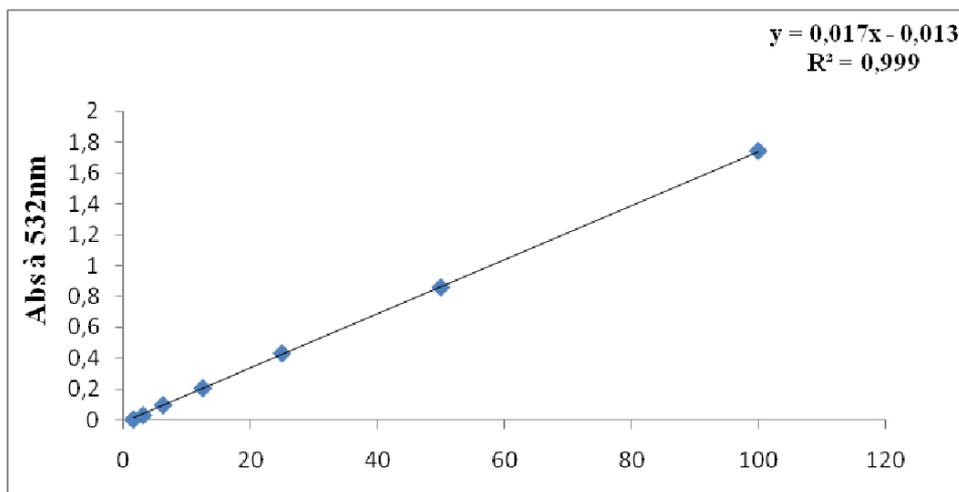


Figure 20: Courbe de la gamme d'étalonnage de TEP à T0 exprimé en µmol/L

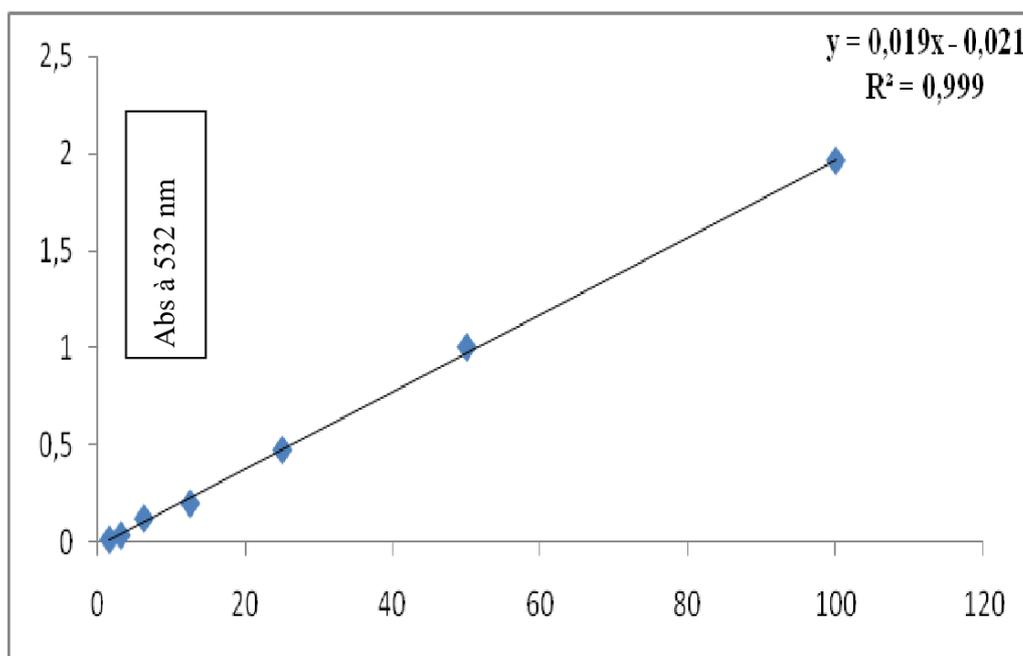


Figure 21: Courbe de la gamme d'étalonnage de TEP à T15 exprimé en µmol/L

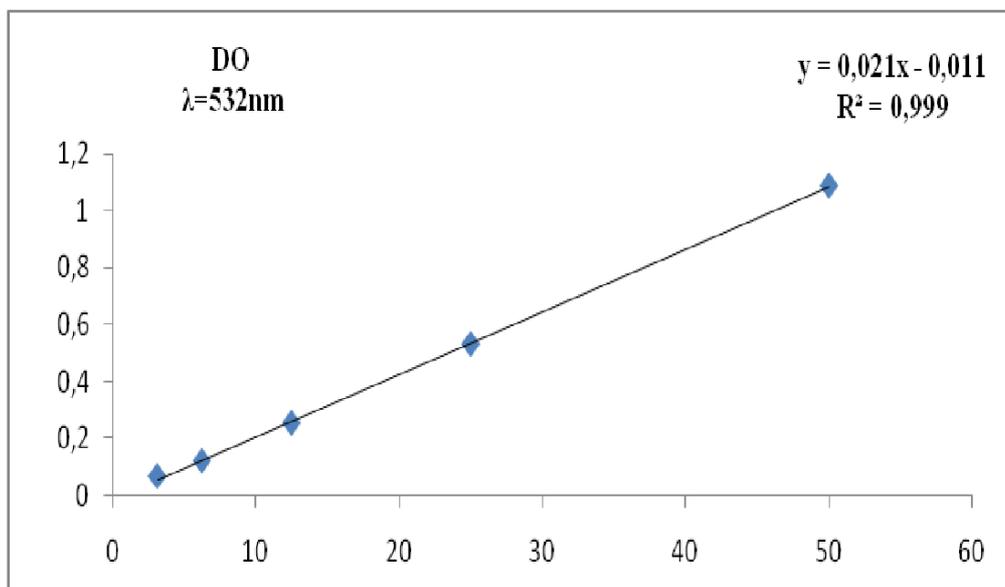


Figure 22: Courbe de la gamme d'étalonnage de TEP à T30 exprimé en $\mu\text{mol/L}$

Annexe XII : Composition des milieux de culture**Selon (Guiraud 1998).****XII.1 Gélose PCA : formule glucosée simple**

Tryptone	5g
Extrait de levure déshydraté	2,5g
Glucose	1,0g
Gélose	12 à 18 g(1)
pH.....	7,2

XII.2 VF – (viande –foie pour germes Sulfito-réducteurs)

Extrait de viande	30g
Glucose	02g
Amidon	02g
Gélose	12g
pH.....	7.6

XII.3 Gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose)

Peptone	7g
Extrait de levure.....	5g
Glucose.....	10g
Sels biliaires.....	1,5g
Chlorure de sodium.....	5 g
Rouge neutre.....	30mg
Cristal violet.....	2mg
Gélose.....	12g
pH.....	7.4

XII.4 Milieu Sabouraud

Peptone de viande.....	5g
Peptone de caséine.....	5g
Glucose	20g
pH.....	6.3

Annexe XVI : Critères microbiologiques des semi-conserves

Arrêté interministériel de l'Aouel Safar 1419 correspondant au 27 mai 1998 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires.

Tableau n° 03: Spécification microbiologiques des semi-conserves (JORA N°35 ,1998).

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (UFC(1)/g ou UFC/ml)	
		n	c	m	M
Semi-conserves d'origine végétale	Germes aérobie à 30°C	5	1	10 ⁵	10 ⁶
	Coliformes	5	0	Absence	Absence
	Clostridium Sulfitoréducteur	5	0	Absence	Absence

m : Seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante .Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisantes.

M : Seuil limite d'acceptabilité, au –delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme non satisfaisants.

n : Nombre d'unité composant l'échantillon.

c : Nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre «m» et «M».

UFC : unité formant colonie

Expression des résultats :

Les boite de Pétri contenant un nombre des colonies compris entre 30 et 300 colonies.

Mode de calcul :Selon la formule suivante :

$$\frac{\Sigma c}{(n_1 + 0.1 n_2)d}$$

Ou : Σc :Somme totale des colonies comptées

n_1 : Nombre de boites retenus dans la première dilution.

n_2 : Nombre de boites retenus dans la seconde dilution

d : Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus (JORA N° 70,2004).

Annexe XIV. Résultats de l'analyse microbiologique

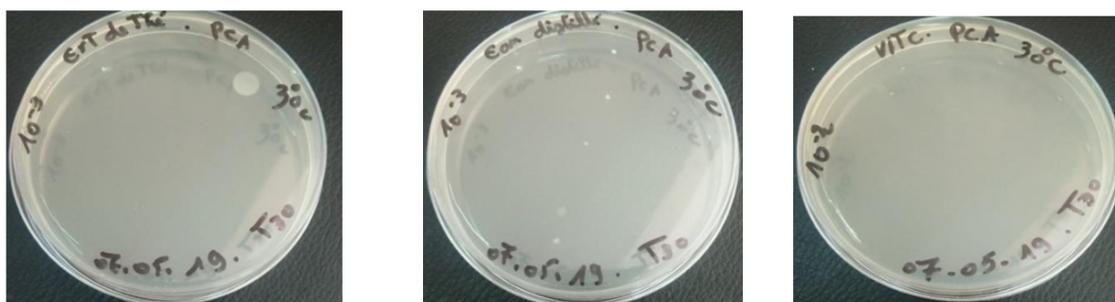


Figure 23: Résultats de la recherche et du dénombrement de la flore totale aérobie mésophile dans les pommes conservées dans différentes solutions (Extrait du thé vert –Eau distillée –Vitamine C) à T30

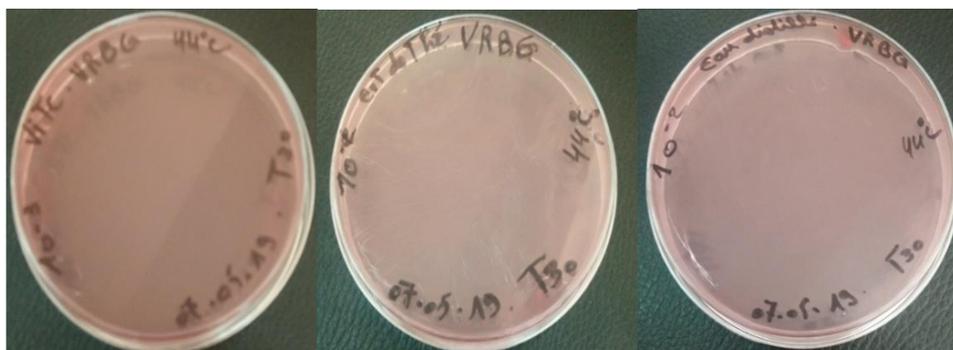


Figure 24: Résultats de la recherche et du dénombrement des coliformes fécaux dans les pommes conservées dans différentes solutions (Extrait du thé vert –Eau distillée –Vitamine C) à T30

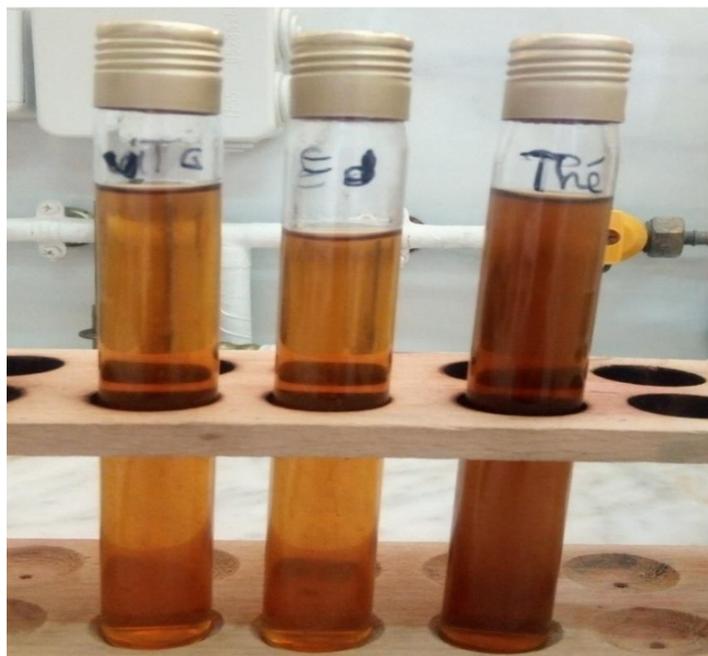


Figure 25 : Résultats de recherche et du dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs dans les pommes conservées dans différentes solutions (Extrait du thé vert –Eau distillée –Vitamine C) à T30

