

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences Alimentaires
Option : Industrie Laitière



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Optimisation de l'extraction des
antioxydants et préparation d'un yaourt à
base de pépins de raisin et d'épluchures de
pomme**

Présenté par :

Merchiche Farid & Mokhtari Safia

Soutenu le : **15 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

M ^{me} Bouali N.	MAA	President
M ^{elle} Brahmi F.	MAA	Encadreur
M ^{elle} Issaadi O.	MAA	Examineur

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciements

Nous tenons à remercier vivement :

Notre promotrice M^{elle} Brahmi F. d'avoir accepté de nous encadrer, ainsi que pour sa générosité, sa disponibilité permanente et sa bonne humeur.

Nos remerciements s'adressent également à :

M^{me} Bouali N. de présider le jury ;

M^{elle} Issaadi O. d'avoir accepté d'examiner notre travail ;

A M^{me} Yalaoui D. pour ses conseils, son aide et sa disponibilité ;

Nos sentiments de reconnaissance vont également à toute personne ayant participé de près ou de loin à élaborer ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur soutien moral et financier. Je les remercie d'autant que ne remercie personne

Mes chaleureux dédicaces sont aussi destinés à :

.Mes frères (Allaoua et sa famille, Youcef et sa famille, M'hand, Lounis) et sœurs (Ourida, Taous);

. Tous mes cousins et cousines ;

. Tous mes amis ;

.Ma binôme Safia et à toute sa famille ;

.A ceux qui m'ont soutenu de loin et de près ;

.A toute la promotion Science Alimentaire 2015-2016.

Farid

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur soutien moral et financier. Je les remercie d'autant que ne remercie personne

Mes chaleureux dédicaces sont aussi destinés à :

.Mes chères et adorables sœurs ;

.Mes chers frères ;

.Tous mes proche et mes amis sans exception ;

.Mon binôme Farid et à toute sa famille ;

.A ceux qui m'ont soutenu de loin et de près ;

.A toute la promotion Science Alimentaire 2015-2016.

Safia

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des annexes	
Introduction	1

Synthèse bibliographique

I Généralité sur le raisin	3
I-1 Production mondiale et locale du raisin.....	4
I-2 Etude des pépins.....	5
II Généralité sur la pomme	6
II-1 Production mondiale et locale de la pomme.....	7
II-2 Etude des épiluchures de pomme.....	8
III Généralité sur les composés phénoliques	9
III-1 Activité antioxydante.....	9
III-1-1 Antioxydants.....	9
III-1-2 Stress oxydatif.....	10
III-1-3 Activité antioxydante des composés phénoliques.....	10
IV- Généralité sur le yaourt	11
IV-1 Matière première de la fabrication du yaourt.....	11
IV-2 Le Yaourt.....	11
IV-2-1 Définition.....	11
IV-2-2 Réglementation.....	11
IV-2-3 Structure et comportement rhéologique.....	12
IV-2-4 Intérêt nutritionnelle et thérapeutique.....	13

Matériels et méthodes

1 Matériel végétal.....	14
-------------------------	----

1-1 Test d'humidité.....	14
1-2 Extraction des antioxydants.....	14
1-2-1 Optimisation d'extraction des antioxydants.....	15
1-3 Dosage des antioxydants.....	17
1-3-1 Polyphénols totaux.....	17
1-3-2 Flavonoïdes.....	17
1-4 Evaluation de l'activité antioxydante.....	18
1-4-1 Piégeage du radical DPPH°.....	18
1-4-2 Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium.....	18
1-5 Formulation et caractérisation des yaourts.....	19
1-5-1 Fabrication des yaourts.....	19
1-5-2 Caractérisation des yaourts.....	20
1-5-3 Evaluation sensorielle.....	21
1-6 Analyse statistique.....	21

Résultats et discussion

2-1 Test d'humidité.....	23
2-2 Optimisation des conditions d'extraction des antioxydants.....	23
2-2-1 Essais préliminaires.....	23
2-2-2 Plan d'expérience.....	27
2-3 Dosages des antioxydants.....	29
2-3-1 Polyphénols totaux.....	29
2-3-2 Flavonoïdes.....	30
2-4 Evaluation de l'activité antioxydante.....	31
2-4-1 Pouvoir antiradicalaire (DPPH°).....	31
2-4-2 Pouvoir réducteur.....	33
2-5 Le yaourt.....	34
2-5-1 Analyses physico-chimiques.....	34

2-5-2 Analyses microbiologiques.....	35
2-5-3 Analyse hédonique.....	35
2-5-3-1 Test du plan d'expérience avec XL Stat-MX.....	36
2-5-3-2 Pouvoir discriminant par descripteur.....	36
2-5-3-3 Les coefficient des modèles.....	38
2-5-3-4 Les moyennes ajustées par produit.....	40
2-5-3-5 Test d'analyse des pénalités.....	41
2-5-3-6 Analyse des données des préférences des consommateurs.....	43
Conclusion	44
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

CP: Centi Poise

EP: Epluchure de pomme

FAO: Food and Agriculture Organisation

FAO: Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

FIL: Fédération International de Laitière

GN: gélose nutritive

Ha: Hectare

J O R A D P: Journal officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire

LSD: Least Significant Différence

M17: Gélose M17

Mha: Milliers d'hectares

Mioqx: Millions de quintaux

MRS: Gélose de De Man, Rogoza et Sharpe

MS: Matière sèche

OPC: Oligomères proanthocyanidiques de catéchine et d'épicatéchine.

PCA: Plate Count Agar (gélose pour dénombrement)

PR: Pépin de raisin

Qx: Quintaux

RMS: Méthode de surface de réponse

RO·: Superoxydes

ROO·: Alkoxydes

ROS: Surproduction des espèces réactives de l'Oxygène

VRBL: Gélose Lactosés Biliée au Crislal Violet et au Rouge neutre

YEP: Yaourt à base d'épluchures de pomme

YGC: Yeast glucose chloramphenicol

YPR: Yaourt à base de pépins de raisin

YT: Yaourt témoin

Liste des figures

Figure 1: Anatomie d'une grappe et d'une baie de raisin	3
Figure 2: Production totale en pourcentage du raisin à la Willaya de Bejaia.....	4
Figure 3: Structure du pépin	5
Figure 4 : Organisation tissulaire de la pomme.....	7
Figure 5 : Production totale en pourcentage de la pomme à la willaya de Bejaia.....	7
Figure 6 : Diagramme de fabrication d'un yaourt à base de poudre de pépins de raisin et d'épluchures de pomme.....	19
Figure 7 : Effet de type du solvant sur la teneur en polyphénols.....	24
Figure 8 : Effet du temps sur la teneur en polyphénols.....	25
Figure 9 : Effet de la granulométrie sur la teneur en polyphénols.....	26
Figure 10 : Plan de prédiction réelle d'épluchures de pomme et de pépins de raisins.....	28
Figure 11 : surface de réponse de l'interaction (solvant- temps) des pépins de raisin et d'épluchures de pomme.....	28
Figure 12 : Teneur moyenne en polyphénols totaux	29
Figure 13 : Teneurs moyennes en flavonoïdes	30
Figure 14 : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait d'épluchures de pomme et de pépins de raisin.....	31
Figure 15 : pouvoir réducteur de l'extrait d'épluchure de pomme et de pépins de raisin.....	33
Figure 16 : Pouvoir discriminant par descripteur des experts et des naïfs.....	37
Figure 17 : Coefficient des modèles des 3 échantillons des sujets experts.....	38
Figure 18 : Coefficient des modèles des 3 échantillons des sujets naïfs.....	39
Figure 19: Pénalités de l'échantillon A des experts et des naïfs	41
Figure 20: Pénalités de l'échantillon B des experts et des naïfs	42
Figure 21: Pénalités de l'échantillon C des naïfs des naïfs.....	42
Figure 22 : Préférence générale des consommateurs.....	43

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I : La composition moyenne du raisin pour 100 g nets de fruit.....	3
Tableau II : Composition des différentes parties du grain de raisin.....	4
Tableau III : Composition biochimique des pépins en pourcentage de poids frais.....	6
Tableau IV : Optimisation de solvant d'extraction.....	16
Tableau V : Optimisation de temps d'extraction.....	16
Tableau VI : Optimisation de la granulométrie.....	16
Tableau VII : analyses microbiologiques des yaourts préparés.....	21
Tableau VIII : Optimisation des conditions d'extraction par le plan d'expérience plan central composite des échantillons étudiés.....	27
Tableau IX : pouvoir anti-radicalaire de l'extrait de pépins de raisin et d'épluchure de pomme.....	32
Tableau X : Les paramètres physico-chimiques des trois yaourts préparés.....	34
Tableau XI : Résultats des analyses microbiologiques des yaourts formulés.....	35
Tableau XII : Résultats du l'évaluation du plan.....	36
Tableau XIII : Moyennes ajustées par produit pour les experts.....	40
Tableau XIV : Moyennes ajustées par produit pour les sujets naïfs.....	40

Introduction

Introduction

Les études épidémiologiques et expérimentales indiquent une corrélation négative entre la consommation des régimes riches en fruits et légumes et les risques de maladies angiogéniques chroniques, telles que les maladies cardio-vasculaires, l'arthrite, l'inflammation chronique, et les cancers. Ces fonctions physiologiques des fruits et légumes peuvent être en partie attribuées à leur richesse en composés phénoliques. Les avantages liés à la consommation des aliments contenant ces métabolites secondaires sont associés à leur activité antioxydante (El Hajaji *et al.*, 2011).

Une partie de ces molécules bioactives peuvent se retrouver aussi dans les résidus obtenus lors de la transformation des fruits. La valorisation des fruits sous forme de produits séchés, concentrés, congelés, etc. conduit à l'apparition d'une gamme variée de sous-produits et déchets composés notamment de pulpe de fruits, de peaux et de pépins (Grigoras, 2012). Les déchets industriels de la pomme et des raisins pourraient être une bonne source d'antioxydants naturels (Tow *et al.*, 2011). Les sous-produits de ces fruits sont connus par leur richesse en antioxydants naturels notamment les composés phénoliques (Garcia-Jares *et al.*, 2015).

Ces antioxydants connaissent un intérêt croissant pour des applications dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. En effet, leur utilisation est encouragée, car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, une mauvaise presse parmi les consommateurs. Il existe donc un besoin de production d'extraits riches en antioxydants à partir de différentes sources végétales y compris les co-produits d'industries agro-alimentaires (Alessandro *et al.*, 2012).

Les composés phénoliques peuvent être isolés facilement à partir d'un tissu végétal par extraction avec des solvants organiques, mais la procédure de l'extraction est influencée par plusieurs paramètres tels que : la nature chimique de ces composés, la méthode d'extraction utilisée, la dimension des particules d'échantillon et le temps d'extraction. Une autre difficulté doit être prise en considération qui est la susceptibilité des polyphénols à l'oxydation. Chaque matériel végétal a ses propriétés uniques en termes d'extraction de ces composés (Telli *et al.*, 2010).

Il est bien connu que les produits laitiers frais fermentés comme le yaourt sont des aliments de grande consommation dans beaucoup de pays. L'évolution actuelle du marché des

produits alimentaires incite l'industrie de la transformation à élaborer sans cesse de nouveaux produits. Le yaourt est l'un des produits laitiers les plus vendus sur le marché du fait de la diversification de la gamme disponible. Le yaourt par lui-même en plus de son importance nutritionnelle, a été identifié pendant longtemps en tant que nourriture saine due à l'action bénéfique de ses bactéries vivantes (Tamime et Robinson, 1985). De nombreuses recherches ont été conduites sur l'enrichissement des yaourts en vue de l'amélioration de leurs propriétés sensorielles et rhéologiques (Amellal, 2008).

Ainsi, ce travail de recherche vise à répondre à plusieurs questions notamment :
Quelles sont les meilleures conditions d'extraction d'antioxydants (composés phénoliques) à partir des poudres de résidus de deux fruits (la pomme et les raisins) largement cultivés et consommés dans la région de Bejaia ?
Est-ce que les yaourts qui seront enrichis par les antioxydants de poudres de ces sous-produits vont être appréciés par le consommateur ? Et quelle sera sa préférence ?

Dans ce contexte, le travail présenté dans ce mémoire vise à une optimisation des conditions d'extraction d'antioxydants dont le but est de valoriser les pépins de raisin et les épiluchures de pomme en tant que sous-produits au regard de leur impact sur la santé par leur profusion en substances à vertu antioxydante. A cet effet trois formulations de yaourts à base de poudres issues des sous-produits utilisés ont été élaborées.

Pour cela notre travail est divisé en trois parties :

- Une partie consacrée pour la synthèse bibliographique ;
- Une partie consacrée à la description du matériel et des méthodes utilisées ;
- Partie résultats et discussions ;

La dernière partie concerne la conclusion tirée de ce travail et les futures perspectives.

*Synthèse
bibliographique*

I-Généralités sur le raisin

Le raisin est le fruit amélioré de la vigne cultivée (*Vitis vinifera*) (Amira-Guebailia, 2007). C'est le fruit le plus cultivé au monde en raison de son utilisation dans la production de vinicole (Kashif *et al.*, 2009). En effet, selon un rapport de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) concernant le marché mondial du fruit, le raisin représente 14,6% de la production mondiale de fruits juste après l'orange, ce qui représente près de 68 millions de tonnes de raisins produits (Chira *et al.*, 2008).

Le raisin se présente sous la forme de grappes (Amira-Guebailia, 2007). Qui sont constituées de deux parties : la rafle, qui en est la charpente et le fruit dit grain ou baie de raisin. Cette dernière se compose de trois constituants : la pellicule, la pulpe et les pépins de raisin. En général, la rafle représente de 3 à 6% de la grappe mûre, et la baie en constitue de 94 à 97%. La pulpe représente 75 à 85% du poids des baies, les pellicules de 15 à 20% et les pépins de 3 à 6% (Rombaut, 2013). L'anatomie d'une grappe et d'une baie de raisin est illustrée en figure 1.

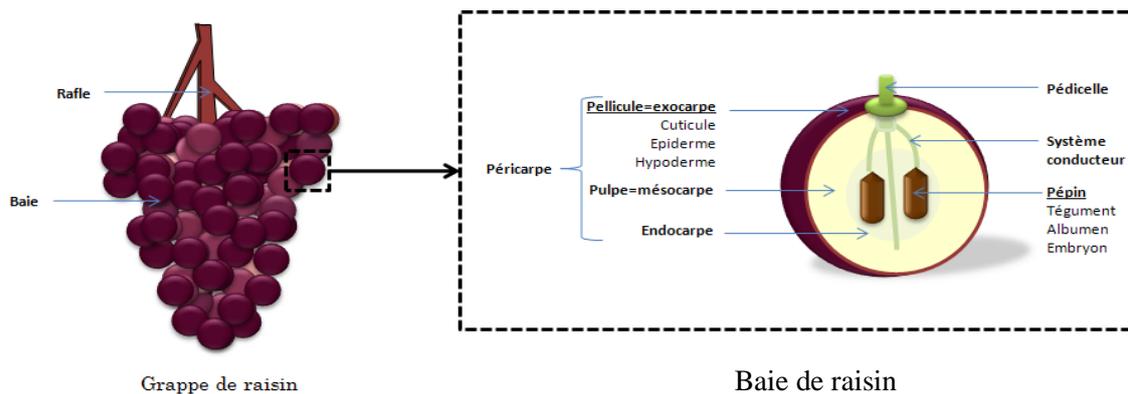


Figure 1: Anatomie d'une grappe et d'une baie de raisin (Doumouya, 2014).

Le raisin est l'un des fruits les plus riches en glucides (sucres), cependant les protides et les lipides ne sont que faiblement représentés (Aprifel, 1993). La composition moyenne du raisin est donnée en tableau I.

Tableau I : La composition moyenne du raisin pour 100 g nets de fruit (Aprifel, 1993).

	Masse (g)	Variation possible
Glucides	17	15-20
Protides	0,6	0,5-1
Lipides	0,2	0,3-0,6
Eau	81	77-83
Fibres alimentaires	0,7	0,5-0,9

Chaque élément qui compose le grain de raisin renferme des substances indispensables et complémentaires (tableau II) (Toussaint, 2001).

Tableau II : Composition des différentes parties du grain de raisin (Toussaint, 2001).

Partie	Composition
La rafle	Eau, tanins, acides
La pellicule	Matières colorantes, vitamines
La pruine	Réserve des ferments
La pulpe	Eau, sucre, acide
Les pépins	Matières oléagineuses (huile)

Le raisin est depuis longtemps réputé pour son action favorable sur la santé, grâce à son contenu en vitamines, acides organiques, polyphénols, minéraux et sucres facilement assimilables (Demelin, 2012). De nombreuses études épidémiologiques ont maintenant démontré les effets bénéfiques de la consommation des raisins, de jus de raisin et de vin sur de nombreuses pathologies en particulier les maladies cardiovasculaires, les cancers et le diabète de type 2 (Carbonneau *et al.*, 2012).

I-1 Production mondiale et locale du raisin

En 2014/2015 la superficie viticole mondiale s’élève à 7573 mha (milliers d’hectares), et la production mondiale du raisin atteint 737 Mioqx (millions de quintaux) (OIV, 2015). Pour la superficie complantée du vignoble à la Wilaya de Bejaia est de 460,66 ha avec une superficie en rapport de 450,75 ha. La production du raisin totale obtenue est estimée à 29195 qx (figure 2) (DSA, 2015).

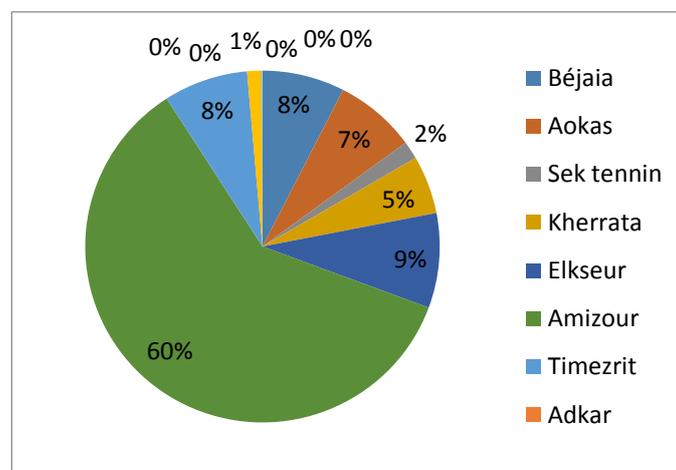


Figure 2: Production totale en pourcentage du raisin à la Willaya de Bejaia (DSA, 2015).

Grâce aux progrès scientifiques et technologiques, de nombreux co-produits du raisin ont vu le jour durant le vingtième siècle. L'obtention de ces différents dérivés du raisin peut se faire en faisant subir au raisin lui-même, des transformations pouvant être physiques ou chimiques. Le but des recherches scientifiques est d'inclure les polyphénols du raisin dans le traitement de nombreuses pathologies (Demelin, 2012). Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'étude des pépins de raisin dans ce présent travail.

I-2 Étude des pépins

Les pépins représentent jusqu'à 6 % du poids total de la baie. En principe, en nombre de quatre dans la plupart des cépages, leur nombre peut varier à la suite de mauvaises fécondations des fleurs (Doumouya, 2014). Les pépins font partie des graines albuminées. Chaque pépin est composé d'un embryon entouré d'un albumen. L'ensemble des trois parties du tégument (interne, intermédiaire et externe) constitue la coque ligneuse du pépin, entourant l'albumen. Enfin, une fine cuticule constitue la dernière assise cellulaire du pépin (Rombaut, 2013). La figure 3-a et b illustrent la structure de pépins de raisin, ainsi que les différentes parties qui le composent. La couleur des pépins évolue du vert au marron au cours de leur développement. Les modifications de couleur des pépins seraient dues à l'oxydation de composés phénoliques présents dans le tégument (Rombaut, 2013).

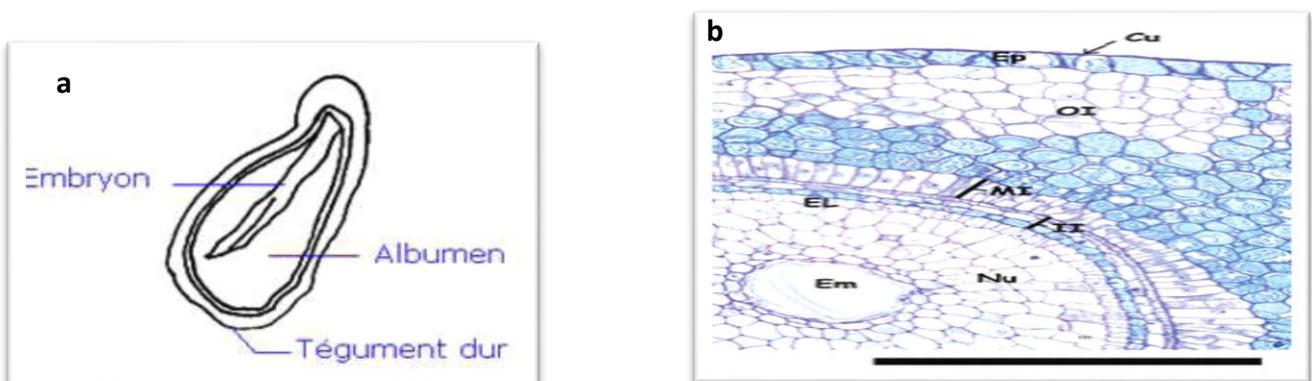


Figure 3: Structure du pépin (a) (Demelin, 2012). et du pépin de raisin à 11 jours après floraison marquée au bleu de Toluidine : cuticule (Cu), épiderme (Ep), enveloppe externe (OI), enveloppe moyenne (MI), enveloppe interne (II), albumen (Nu), embryon (Em) Bar=10µm (Doumouya, 2014).

La composition biochimique globale des pépins matures est donnée dans le tableau III.

Tableau III : Composition biochimique des pépins en pourcentage de poids frais (Rombaut, 2013).

Composé	%
Eau	25 – 45
Composé glucidique	34-36
Lipidique	8-13
Polyphénol	4-10
Composés azotés	4-6.5
Minéraux	2-4

- **Valeur nutritionnelle**

Le pépin de raisin contient une quantité élevée d'huile comestible de très grande qualité, connue pour ses vertus alimentaires et ses propriétés diététiques. Autre son utilisation en diététique, elle est aussi employée pour la fabrication de produits cosmétiques : sa richesse en acides gras essentiels alliée à une grande fluidité, en fait une excellente huile de massage. Les pépins de raisins étant très riches en OPC (oligomères proanthocyanidiques de catéchine et d'épicatéchine), nous en retrouvons une grande quantité dans l'huile. Elle a également des propriétés antioxydantes qui vont lui permettre de lutter contre les radicaux libres et donc contre le vieillissement prématuré des cellules : elle aide à combattre les rides et le relâchement cutané et à renforcer la fibre capillaire (Demelin, 2012).

Les OPC des pépins de raisin, grâce à leur action anti-radicalaire, sont de très bons anti-âge; mais ils ont aussi des propriétés exfoliantes, adoucissantes, rafraichissantes, régénérantes et nourrissantes. Les OPC extraits des pépins de raisin sont beaucoup plus efficaces que la vitamine E dans la lutte contre les radicaux libres. L'activité des OPC serait 10 000 fois plus puissante que celle de la vitamine E (Demelin, 2012).

II- Généralités sur la pomme

La pomme est le fruit du pommier commun, *Malus domestica*, de la famille des Rosacées (sous famille des Pomoïdés). D'un point de vue botanique, la pomme est une baie, c'est-à-dire un fruit charnu sans noyau dur (Colin-Henrion, 2008). À maturité, en partant de l'extérieur, le fruit du pommier est constitué de trois zones (figure 4) :

–l'épiderme (peau), zone où les cellules sont surmontées par la cuticule ;

–le mésocarpe ou parenchyme (chair), zone constituée de plusieurs couches de cellules allongées dans le sens tangentiel et à paroi épaisses ;

– l’endocarpe, zone profonde contenant les pépins, aussi appelés le trognon.

Le mésocarpe occupe la majeure partie du fruit ; c’est le tissu le plus consommé. Les cellules des différents tissus sont constituées de plastides, de pigments assimilateurs (chlorophylles, caroténoïdes) et d’une vacuole qui occupe 80 à 90 % du volume cellulaire. Les cellules sont par ailleurs entourées d’une paroi semi-rigide et complexe caractéristique des végétaux (Kebe, 2014).

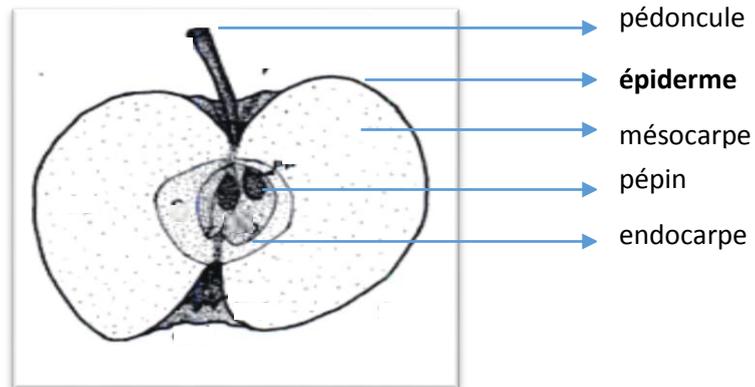


Figure 4 : Organisation tissulaire de la pomme (Colin-Henrion, 2008).

II-1 Production mondiale et locale de la pomme

La production mondiale de la pomme est de plus de 69,5 millions de tonnes, dont 29,8 millions de tonnes en Chine, premier producteur mondial, qui a multiplié par 2 sa production en 10 ans (FAO, 2008) (Fumey, sd). En 2012 la superficie complantée de pommier était de 4,8 millions d’hectares et une production totale de 70,89 million tonne (MAAF, 2015).

En 2014/2015 la superficie complantée de pommier à la Wilaya de Bejaia est de 627,51 ha avec une superficie en rapport de 619,06 ha. La production de pomme totale obtenue est estimée à 13400 qx (figure 5) (DSA, 2015).

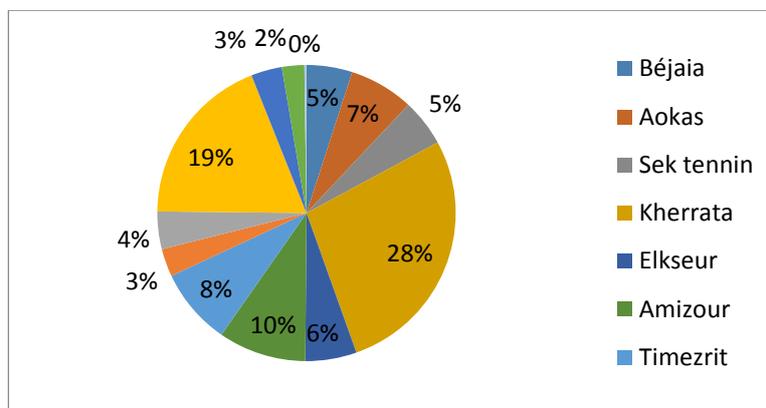


Figure 5 : Production totale en pourcentage de la pomme à la willaya de Bejaia (DSA, 2015).

La pomme est l'un des fruits les plus largement consommés, dû en partie à ses effets positifs sur la santé (Plaza *et al.*, 2013). En effet, elle est le quatrième fruit le plus consommé

après les agrumes, la banane et le raisin (Dib, 2010). C'est une source riche essentiellement en eau (85,6 %), et en glucides (13,8 %). Elle est aussi riche en fibres avec une teneur moyenne de 2,4g/100g, en sels minéraux, pectine, vitamines et acides organiques (Bourles, 2010). Cette richesse en fibres s'accompagne par ailleurs d'une teneur intéressante en polyphénols : en moyenne 180 mg en équivalent acide gallique pour 100 g de fruit frais (Kebe, 2014). La majeure partie de la littérature rapportée s'est concentrée sur les compositions et la fonction des polyphénols extractibles de pomme. Les flavanols (catéchine et proanthocyanidins) sont la classe principale des polyphénols de pomme (71% 90%) (Tow *et al.*, 2011). Les polyphénols de la pomme sont la principale source du fort potentiel antioxydant de ce fruit (Kebe, 2014).

Beaucoup de résidus agricoles et de sous-produits de l'industrie alimentaire contiennent une série de composés phénoliques qui sont associés à la prévention des maladies dégénératives, et ceci peut être attribué à leur action comme antioxydants. Récemment, l'extraction phénolique à partir des déchets agricoles et industriels a recueilli une grande attention parce qu'elles pourraient être une source commerciale sûre d'antioxydants.

Puisque la peau de pomme pourrait fournir des effets bénéfiques sur la santé, son utilisation appropriée est souhaitable (Kim *et al.*, 2005).

II-2 Etude des épluchures de pomme

La composition chimique de la pomme est affectée par différents facteurs tels que la variété, la maturité, la saison de la récolte, la région géographique etc. Les pommes et leurs résidus sont riches en fibres diététiques, protéines, vitamines (C, B1, B2, B3, B6, B9) et minéraux (Ca, Mg, Na, K, P, S, Fe, Zn). Elles contiennent également des quantités importantes de sucres (Grigoras, 2012). Les polyphénols sont repartis très différemment dans le fruit : ils sont nettement plus abondants dans la peau que dans la chair (Kebe, 2014).

Les peaux de pomme qui représentent jusqu'à 10% du fruit entier de pomme, pourraient être une excellente source des antioxydants naturels et des composés bioactifs qui peuvent contribuer à l'amélioration de la santé des personnes. Les composés phénoliques sont un autre type de composés bioactifs. Parmi les composés phénoliques de pommes et de leurs résidus nous pouvons citer : les acides phénoliques et les flavonoïdes (Grigoras, 2012).

- **Données nutritionnelles**

Les résidus de pommes sont une source de fibres (Grigoras, 2012). Ces fibres sont notamment à l'origine des effets bénéfiques de la consommation de pomme sur le taux de

cholestérol. Selon une étude menée sur une trentaine de sujets, la réponse du cholestérol à la consommation de pommes a montré des réductions. La pomme, spécialement la peau des pommes ayant une forte activité antioxydante, peut fortement inhiber la croissance des cellules cancéreuses du foie ou du colon *in vivo*. La peau de ce fruit représente environ 83 μmol de vitamine C; ce qui signifie que l'activité antioxydante de 100g de pomme équivaut à 1500 mg de vitamine C alors qu'en réalité la quantité de vitamine C dans la pomme est seulement de 5,7mg. La vitamine C est un puissant antioxydant, mais les recherches ont montré que presque l'essentiel des activités antioxydantes de la pomme proviennent des composés phénoliques. En réalité, la vitamine C ne contribue qu'à 0,4% de l'activité antioxydante totale de la pomme (Kebe, 2014).

Les sous-produits de la pomme ont beaucoup d'application en agroalimentaire. Ils sont utilisés pour l'obtention de la gelée, d'huile végétale, du vinaigre et de l'alcool alimentaire et de la levure boulangère. Ils sont également exploités comme substrat pour la production de champignons comestibles et comme de bio-adsorbants pour le traitement des eaux résiduelles (Grigoras, 2012).

III- Généralités sur les composés phénoliques

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes, un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hannebelle *et al.*, 2004).

Ces métabolites secondaires ont un rôle antioxydant protecteur pour les végétaux contre les agressions de l'environnement (température, lumière) ou de pathogènes (Mehinajic, 2011). Par ailleurs ils sont bénéfiques pour l'Homme vis-à-vis de certaines maladies de par leur action sur le métabolisme humain et leur propriété antioxydante (Michel, 2011).

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire (Chira *et al.*, 2008). Les grandes familles de polyphénols sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les stilbènes, et les lignanes (Celhay, 2013).

III-1 Activité antioxydante

III-1-1 Les antioxydants

Il s'agit de substances qui, en présence d'un substrat oxydable et à des concentrations bien inférieures à celles de ce dernier, vont retarder d'une façon significative l'oxydation de ce

substrat, ou la réduire. Leur principal mode d'action est la capture des radicaux libres (Demelin, 2012). Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques (Popovici, 2009).

Les antioxydants jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps. Normalement, le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé *stress oxydatif* (Penchev, 2010).

III-1-2 Stress oxydatif

C'est un phénomène associé avec une augmentation du taux des dommages cellulaires induits par l'oxygène et les dérivés oxydants d'oxygène couramment connus comme espèces réactives d'oxygène (Sikka *et al.*, 1995).

Une surproduction des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les organismes vivants peut causer un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants conduisant ainsi à un dommage oxydatif pour de nombreuses biomolécules tels que les lipides, l'ADN et les protéines. Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être soit des radicaux libres ($O_2^{\cdot-}$: anion superoxyde, OH^{\cdot} : radical hydroxyle) ou des molécules non radicalaires mais hautement instables (O_2^1 singulet). Chez l'homme, le stress oxydatif est responsable du développement de nombreuses pathologies (Berger, 2006). Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska, 2002).

III-1-3 Activité antioxydante des composés phénoliques

Les polyphénols sont des antioxydants avec les propriétés redox, qui leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donateurs d'hydrogène, et extincteurs de l'oxygène singulet (Charalampos *et al.*, 2013). En plus de leur rôle important dans certaines propriétés sensorielles, plusieurs études ont souligné que beaucoup d'entre eux montrent des activités biologiques liées à leurs propriétés antioxydantes et antiradicalaires (Ojeil *et al.*, 2010).

Grâce à la mobilité de l'hydrogène phénolique, les composés phénoliques sont capables de piéger les radicaux libres oxygénés en particulier les radicaux peroxydes (ROO^{\cdot}), alkoxydes (RO^{\cdot}), superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) et les hydroxydes ($\cdot OH$), générés en permanence par notre organisme

ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections...) (Ojeil *et al.*, 2010).

IV- Généralités sur le yaourt

IV-1 Matière première de la fabrication du yaourt

La principale matière première pour la fabrication des yaourts est le lait.

- **Le lait**

Selon le congrès international de la répression des fraudes, le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir le colostrum (Luquet, 1985). Il est constitué d'environ 88% d'eau et de 12% de matière sèche contenant des glucides, des protéines, des lipides et des minéraux (Paci Kora, 2004).

La fermentation du lait permettait la conservation pour quelques jours de cette denrée très riche, mais très périssable (Konte, 1999). Les laits fermentés sont des produits obtenus par la multiplication des bactéries lactiques dans une préparation du lait. Leur diversification est due à certains facteurs comme la composition du lait, la durée et températures d'incubation, la flore lactique, etc (Luquet, 1985).

Il existe dans le monde une grande diversité de laits fermentés, le yaourt est l'exemple le plus célèbre.

IV-2 Yaourt

IV-2-1 Définition

Originnaire d'Asie, le mot yaourt (yoghourt ou yogurt) vient de « yoghurmark », mot turc signifiant « épaissir » (Tamime et Deeth, 1980). La réglementation française précise : « la dénomination yaourt ou yoghurt est réservée au lait fermenté obtenu, selon les usages loyaux et constants, par le développement des seules bactéries, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouvent vivantes dans le produit à raison d'au moins 10^7 bactéries. La quantité d'acide lactique libre ne doit pas être inférieure à $0,7\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ lors de la vente aux consommateurs (Jeantet *et al.*, 2008).

IV-2-2 Règlementation

Les critères pris en compte par le *codex alimentaire* et la FIL dans la réglementation du yaourt sont les suivants :

-Dénomination du produit : elle varie selon les langues, mais les termes les plus utilisés sont « youghurt », « yoghourt » ou « yaourt ».

-Type de produit : ils sont définis souvent en fonction de leur teneur en matière grasse ou de l'adjonction éventuelle d'ingrédients (yoghourt partiellement écrémé ou maigre, yoghourt écrémé, le yoghourt nature).

-Le type de ferment utilisé : selon la FIL, et de nombreux pays, la dénomination « yaourt » nécessite l'utilisation obligatoire et exclusive des deux ferments caractéristiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbruechii* sous-espèce *bulgaricus*.

-La quantité de ferment contenue dans le produit fini : la FIL fixe la quantité de ferments vivants, égale à 10^7 bactéries par gramme rapporté à la partie lactée jusqu'à la date limite de consommation.

-La viabilité de la flore lactique : flore viable pendant toute la durée de vie.

-Ingrédients laitiers : lait pasteurisé, congelé, écrémé, concentré, en poudre, crémé et caséines etc.

-Ingrédients non laitiers : une multitude d'ingrédients peut être incorporée dans le yaourt. Il peut s'agir par exemple de fruits sous différentes formes (purée, jus, pulpe, sirop, etc.), de céréales, de légumes ou de sucre. La quantité d'ingrédients non laitiers est fixée par le *codex alimentarius*, la FIL et la plupart des pays à moins de 30% en poids du produit fini.

-pH : la FIL préconise une teneur de 0,7% d'acide lactique. Cette valeur est respectée dans certains pays avec une variabilité de 0,6 à 15%. Certaines normes imposent un pH inférieur à 4,5 ou 4,6.

-Taux de matière grasse : il doit être minimum, inférieur à 3%(m/m) dans le cas des yaourts (nature, sucré ou aromatisé), compris entre 0,5 et 3% dans le cas des yaourts partiellement écrémés et 0,5% dans les yaourts écrémés.

-Teneur en protéines : elle est égale à 2,8% dans le produit fini (Amellal, 2008).

IV-2-3 Structure et comportement rhéologique

Les structures principales impliquées lors de la gélification acide du lait sont les micelles de caséines. Lors de la baisse du pH, due à la fermentation lactique, les micelles de caséines subissent des changements substantiels. Le déplacement de l'équilibre acido-basique entraîne une diminution progressive de la charge ionique des micelles qui devient nulle. En parallèle, une solubilisation de phosphates de calcium micellaire est observée, entraînant la dissolution de la structure micellaire. Le pH auquel commence la gélification du lait dépend de la température et de prétraitement thermique (Tamime et Robinson, 1985).

L'abaissement du pH par acidification entraîne une déminéralisation progressive des micelles de caséine. Celles-ci vont s'associer entre elles par formation de liaisons hydrophobes ; hydrogènes et électrostatiques pour former un réseau protéique retenant la phase aqueuse. À un pH inférieur au point isoélectrique (pH =4,6), les micelles qui flocculent précipitent, du fait de leur densité, et le réseau formé se stabilise et n'évolue pratiquement plus (Paci Kora, 2004).

La transformation du lait en yaourt s'accompagne aussi d'un changement des propriétés rhéologiques en passant d'un liquide à un gel à destruction non réversible. Les additifs et les étapes de procédé de fabrication jouent également un rôle sur ce comportement (Paci Kora, 2004).

IV-2-4 Intérêt nutritionnels et thérapeutiques

En plus des avantages technologiques (amélioration du goût, de l'arôme, de la texture et de la stabilité du produit), de nombreux effets bénéfiques sont attribués aux bactéries lactiques notamment des effets nutritionnels et thérapeutiques.

Au cours de la fermentation, la composition du lait subit un certain nombre de modifications. Certaines de ces modifications en font un produit de meilleure valeur nutritionnelle que le lait tels que :

- ✓ L'amélioration de l'absorption du lactose,
- ✓ L'amélioration de la digestibilité de la matière grasse,
- ✓ L'amélioration de la digestibilité des protéines (Mahaut *et al.*, 2000).

Outre les qualités nutritionnelles et organoleptiques, les yaourts peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine (Xanthopoulos *et al.*, 2001). Ces effets dépendent à la fois des souches utilisées et des métabolites produits. Les bienfaits que les yaourts peuvent apporter aux consommateurs sont :

- ✓ Activité antimicrobienne (Schmidt *et al.*, 1994).
- ✓ Stimulation du système immunitaire,
- ✓ Action anticholestérolémiant,
- ✓ Activité anti-carcinogène (Mahaut *et al.*, 2000).

Matériel
et
méthodes

1 Matériel végétal

Notre étude est réalisée sur une variété de pépins de raisin et d'épluchures de pomme, récupérés à partir des fruits récoltés à la wilaya de Bejaia en été 2015.

- **Les pépins de raisin**

Les raisins sont issus de la région de Timezrit. Les pépins après les avoir séparés de leur matrice, sont lavés et séchés avant d'être broyés. Le broyage est au départ mécanique à l'aide d'un mortier, ensuite électrique à l'aide d'un broyeur de marque IKA.

- **Les épluchures de pomme**

Les pommes (rouges) sont procurées du marché local de Bejaia. Elles sont ensuite lavées et essuyées avant d'être épluchées. Les épluchures sont récupérées et mises à l'étuve à 40°C pendant quelques jours pour le séchage. Ce dernier a pour but d'éliminer toute l'eau contenue dans l'écorce et ainsi faciliter le broyage.

1-1 Test d'humidité

10 g de l'épluchure de pomme et de pépins de raisin sont pesés dans un creuset puis porté à 105 °C pendant 4 heures. Les résultats ont été exprimés en pourcentage (Lako *et al.*, 2007) selon la formule suivante :

$$H\% = (P_0 - P_1 / P) \times 100$$

Où :

P₀ : poids du creuset vide (g).

P₁ : poids du creuset après séchage (g).

P : prise d'essai (g).

1-2 Extraction des antioxydants

- **Principe de la méthode d'extraction**

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction...etc. La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continu avec la solubilisation de composés

bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers les solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint (Grigoras, 2012).

Il est possible de constater que les solvants jouent un rôle très important dans plusieurs méthodes d'extraction. En effet, les composés phénoliques solubles sont généralement extraits en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone (Perez, 2008).

▪ Mode opératoire

L'extraction des antioxydants des échantillons étudiés est réalisée selon la méthode décrite par Brahmi *et al.* (2015). Une prise d'essai de 5 g des produits broyés est mise en contact avec le solvant d'extraction à 50% (v/v). Après agitation magnétique pendant 24 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, le mélange est filtré. Les filtrats obtenus sont récupérés et évaporés à l'étuve à 40 °C jusqu'à l'obtention des extraits secs, qui seront reconstitués par la suite avec le solvant d'extraction.

A la fin de cette opération, nous obtenons l'extrait, dont le taux d'extraction est déterminé par la formule suivante : **Taux d'extraction = [(P₁ - P₀) / E] × 100**

Où :

P₀ : poids du bécher vide (g).

P₁ : poids du bécher après évaporation (g).

E : prise d'essai d'échantillon (g).

1-2-1 Optimisation des conditions d'extraction

Le model expérimental est divisé en trois parties :

• Choix du solvant

Un essai préliminaire est effectué pour déterminer le type de solvant d'extraction, selon le modèle classique d'extraction en variant un paramètre (type de solvant) et fixant les autres (temps et température) (tableau IV). L'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques à partir de poudre de pépins de raisin et des épiluchures de pomme est réalisée selon la méthode de surface de réponse (RMS), un modèle mathématique polynomial a été développé, le type du modèle choisi est le plan central composite (Goupy, 2006).

Tableau IV : Optimisation de solvant d'extraction.

Solvant	Éthanol	Méthanol	Acétone
Temps	24 heures		
Température	Ambiante		

- **Choix du temps d'extraction**

Une prise d'essai est effectuée pour déterminer le meilleur temps d'extraction, selon le modèle classique d'extraction en variant le paramètre (temps) et fixant les autres (solvant et température) (tableau V).

Tableau V : Optimisation de temps d'extraction.

Temps	6 heures	12 heures	18 heures
Solvant	Meilleur solvant d'extraction		
Température	Ambiante		

- **Choix de la granulométrie**

Une prise d'essai est effectuée pour optimiser la granulométrie, selon le modèle classique d'extraction après l'optimisation de solvant et de temps d'extraction, en variant la granulométrie et fixant les paramètres (solvant, temps, et température) (tableau VI).

La granulométrie des poudres de pépins de raisin et des épiluchures de pomme a été déterminée par tamisage. Les tamis sélectionnés possèdent les diamètres suivants : 250, 500 et 1000 μm . Les poudres ainsi obtenues sont conservées dans des récipients scellés et stockées à l'abri de la lumière.

Tableau VI : Optimisation de la granulométrie.

Granulométrie (μm)	Poudre de 250	Poudre de 500	Poudre de 1000
Solvant	Meilleur solvant d'extraction		
Temps	Meilleur temps d'extraction		
Température	Ambiante		

1-3 Dosage des antioxydants

1-3-1 Polyphénols totaux

▪ Principe

La méthode de Folin-Ciocalteu est utilisée pour le dosage des composés phénoliques totaux. L'ensemble de ces composés est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, de couleur jaune, est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ojeil *et al.*, 2010). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnel à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot, 2006).

▪ Mode opératoire

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon la méthode décrite par Brahmi *et al.* (2015). Un volume de 100 µL d'extrait est mélangé avec 6 mL d'eau distillée et de 500 µL du réactif de Folin-Ciocalteu. Ensuite, 1,5 mL de carbonate de sodium (20%) et 1,9 mL d'eau distillée sont additionnés. Après deux heures d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche d'échantillon (mg EAG/g MS) par référence à une courbe d'étalonnage.

1-3-2 Flavonoïdes

▪ Principe

Le contenu en flavonoïdes peut être facilement déterminé à l'aide du chlorure d'aluminium. Sous sa forme anhydre, cette substance présente une structure de réseau hexa coordonnée. En solution aqueuse elle est totalement ionisée. De nombreuses recherches ont été axées sur l'étude de sa capacité de former des complexes stables en présence de flavonoïdes et des mécanismes impliqués (Grigoras, 2012).

▪ Mode opératoire

La teneur en flavonoïde totaux des extraits est évaluée selon la méthode décrite par Brahmi *et al.* (2015). Un volume de 1 mL d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium (AlCl₃) à 2% est additionné à 1 mL des extraits. Le mélange est vigoureusement homogénéisé et laissé reposer pendant 15 minutes à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 430 nm contre un blanc. Les résultats sont rapportés en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage.

1-4 Evaluation de l'activité antioxydante

1-4-1 Piégeage du radical DPPH[•]

▪ Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, le DPPH[•] reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur mauve bien caractéristique de la solution de DPPH[•]. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH[•], mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.

Le piégeage des radicaux libres par les composés phénoliques, se fait par le transfert de l'atome H sur le DPPH[•] alors transformé en une molécule stable DPPH-H (Popovici *et al.*, 2009).

▪ Mode opératoire

Le protocole suivi est celui décrit par Brahmi *et al.* (2015). Une série de dilutions a été préparée, puis chacune est additionnée par 1 mL d'éthanol, suivi par un volume de 0,15 mL de DPPH[•]. Un contrôle sans extrait a été préparé dans les mêmes conditions.

Après une heure d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm contre l'éthanol pris comme un blanc.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction du radical DPPH[•] par rapport à un contrôle, selon la formule suivante :
$$\% \text{ réduction DPPH}^{\bullet} = \frac{(Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{extrait}})}{Abs_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$).

1-4-2 Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium

▪ Principe

Cette méthode a été employée d'habitude pour évaluer toute la capacité antioxydante. En présence des extraits, le Mo (VI) est réduit au Mo (V) et forme un complexe coloré vert de phosphomolybdenum V qui montre l'absorbance maximum à 695 nm (Umamaheswari et Chatterjee., 2008).

▪ Mode opératoire

Pour réaliser ce test, nous avons utilisé le protocole d'Umamaheswari et Chatterjee (2008). Dans des tubes à essai, 200 μL des dilutions des extraits ont été mélangés avec 2 mL

de réactif au phosphomolybdate. Les tubes ont été incubés à 90°C pendant 90 minutes. Après refroidissement des tubes à la température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 695 nm contre un blanc. Les résultats sont exprimés en IC₅₀ (µg/ml).

1-5 Formulation et caractérisation des yaourts

1-5-1 Fabrication des yaourts

La préparation des yaourts a été réalisée à l'échelle de Laboratoire d'analyse instrumentale de l'Université de Bejaïa, en respectant le diagramme de fabrication d'un yaourt standard avec l'ajout des poudres de pépins de raisin et d'épluchures de pomme (figure 6).

▪ Procédé de fabrication

La figure 6 résume les étapes essentielles du procédé de fabrication d'un yaourt à base des poudres des pépins de raisin et d'épluchures de pomme lors de la formulation :

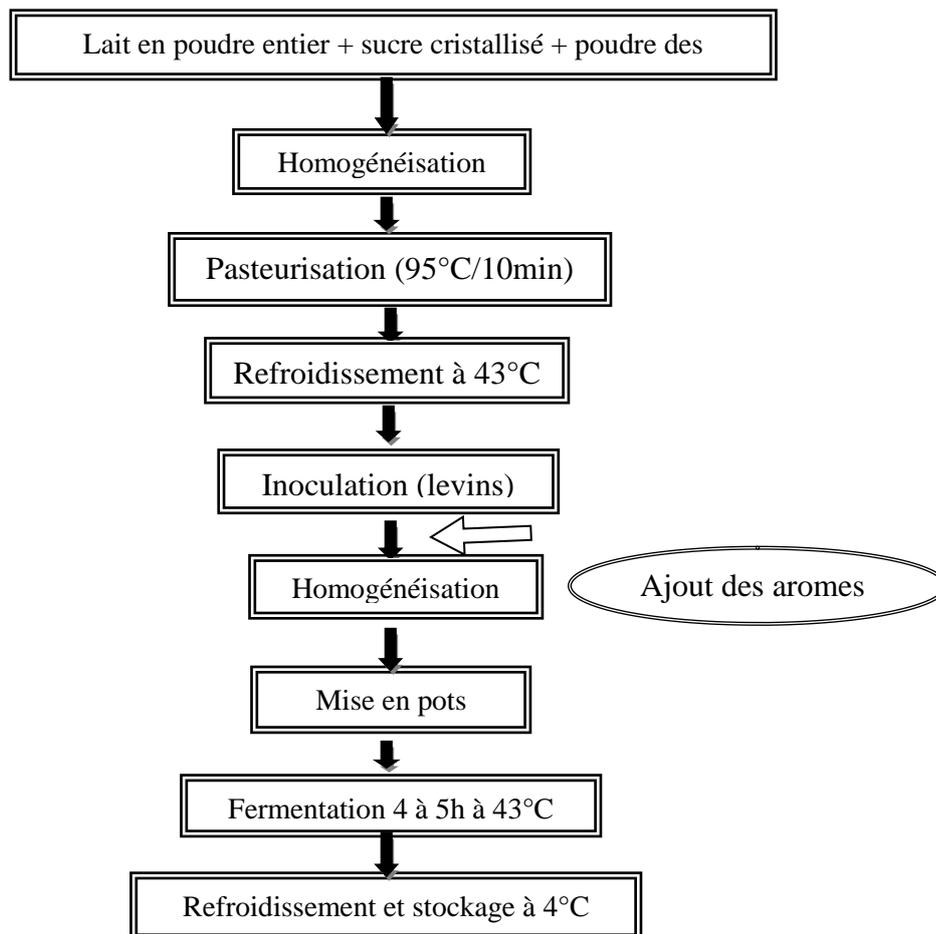


Figure 6: Diagramme de fabrication d'un yaourt à base de poudre des pépins de raisin et d'épluchures de pomme.

▪ **Composition**

Le lait utilisé est un lait en poudre (Loya), additionné du sucre cristallisé et de ferments lactiques, et de la poudre des échantillons étudiés (poudres de pépins de raisin et d'épluchures de pomme).

1-5-2 Caractérisation des yaourts

Les analyses effectuées sont les analyses physico-chimiques et microbiologiques

• **Analyses physico-chimiques**

Le contrôle physico-chimique du yaourt a pour objectif de garantir une meilleure stabilité et une constance de ses caractéristiques organoleptiques.

• **Mesure du pH**

Le principe consiste à la mesure de la différence de potentiel entre une électrode de mesure et une électrode de référence réunies en un système d'électrodes combiné.

Le pH est déterminé directement en utilisant un pH-mètre électronique, et ce après avoir plongé l'électrode dans un bécher contenant une suspension du yaourt à analyser.

• **Mesure de la viscosité**

La mesure de la viscosité consiste à appliquer une force de mouvements à un produit, en le mettant en rotation à vitesse fixe. La résistance en mouvement de produit en mouvement de rotation est enregistrée puis convertie en unité viscosimétrique.

La viscosité d'un yaourt ferme est mesurée à l'aide d'un viscosimètre « BROOK FIELD ROV » muni d'un mobile croisillon C (27 mm de diamètre), réglé à une vitesse de 2,5 tours/min, pied en marche descente. La lecture se fait après 45 secondes (coefficient multiplicateur 4000) (Manuel de la laiterie SOUMMAM, 2008).

• **Mesure de l'acidité**

L'acidité titrable mesure tous les ions H^+ disponibles dans le milieu, qu'ils soient dissociés, c'est-à-dire ionisés, ou non. Ainsi, nous déplaçons les équilibres chimiques pour neutraliser tous les ions H^+ des acides faibles.

Le titrage de l'acidité se fait par la soude (1/9 N), en présence de la phénolphthaléine comme indicateur.

Dans un erlenmeyer, nous avons versé 10 mL du yaourt + 2 à 3 gouttes du phénolphthaléine. Après agitation, de la solution, nous avons titré avec le NaOH (1/9 N), jusqu'à l'obtention d'une couleur rose pâle.

- **Analyse microbiologique**

Les analyses microbiologiques ont pour but d'assurer que les yaourts préparés présentent une qualité hygiénique et commerciale adéquate.

Le tableau VII récapitule l'ensemble des germes à dénombrer :

Tableau VII : analyses microbiologiques des yaourts préparés

Germes recherchés	Milieux utilisés	T° d'incubation	Durée d'incubation
Coliformes totaux	VRBL	30 °C	24h
Coliformes fécaux	VRBL	44 °C	24h
Levures et moisissures	YGC	25 °C	5 jours
Germes totaux	GN / PCA	30 °C	24h

1-5-3 Évaluation sensorielle

L'évaluation sensorielle est définie comme la discipline scientifique qui englobe toutes les méthodes pour évoquer, mesurer, analyser, et interpréter la réponse humaine aux propriétés des aliments et des matériaux perçus par les cinq sens : le goût, l'odorat, le toucher, la vue et l'ouïe (civille et Oftedale, 2012).

- **Analyse sensorielle**

L'analyse sensorielle constitue une approche indispensable à l'évaluation de la qualité organoleptique d'un produit alimentaire. Étroitement associée à la caractérisation des propriétés physico-chimiques, elle peut être un outil d'aide à la maîtrise de la qualité et la formulation des produits transformés.

1-6 Analyse statistique

L'analyse de la variance (ANOVA/MANOVA) utilisant le test LSD (Least Significant Différence) est effectué à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5 pour comparer entre les résultats obtenus à partir des différents tests réalisés.

Résultats
et
discussion

2-1 Test d'humidité

L'humidité et la matière sèche sont deux paramètres complémentaires importants pour connaître la teneur en eau, et pouvoir estimer le rendement après séchage des sous-produits de fruits. Le taux élevé d'humidité est une source de dégradation des antioxydants. Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage rapide aussitôt après la récolte (Ribéreau-Gayon, 1968).

La teneur en eau des pépins de raisin et d'épluchures de pomme étudiés est déterminée en utilisant la méthode pondérale. Elle consiste à la détermination de la perte en eau par dessiccation à l'étuve, ce qui permettra d'uniformiser le taux d'humidité résiduelle et ainsi d'assurer un meilleur broyage et homogénéité. La teneur d'humidité obtenue est de $27,04 \pm 0,82\%$ pour les pépins de raisin et de $79,17 \pm 0,64\%$ pour les épluchures de pomme. Ces résultats montrent la richesse hydrique des épluchures de pomme. Ce paramètre a une grande importance pour l'extraction des polyphénols, car sa présence est un élément gênant du rendement d'extraction.

L'étude menée par Plaza *et al.* (2013) sur les sous-produits de pomme a montré que leur teneur en eau est de $80,82 \pm 0,90\%$, et la teneur moyenne rapportée par Peschel *et al.* (2006) est de 80%. Ces valeurs sont en accord avec notre résultat.

D'après Rombaut (2013), la teneur moyenne en eau des pépins de raisin peut varier de 25 à 45% de poids frais. La valeur obtenue dans la présente étude est dans cet intervalle.

2-2 Optimisation des conditions d'extraction des antioxydants

L'extraction est l'une des méthodes les plus utilisées dans les industries alimentaires, pour l'obtention des composés désirés initialement retenus dans la matrice de l'aliment (Barzana *et al.*, 2002).

La méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu est l'une des méthodes désignées pour la détermination de la teneur en composés phénoliques dans les aliments ou les plantes médicinales (Roginsky et Lissi, 2005). Cette méthode est adoptée afin d'évaluer la teneur en polyphénols totaux de nos échantillons.

2-2-1 Essais préliminaires

a- Choix du solvant

Dans la présente étude nous avons utilisé différents solvants purs (méthanol, éthanol, acétone) et à 50% (v/v) pour l'extraction des composés phénoliques (Brahmi *et al.*, 2012).

Chaque extraction est effectuée à température ambiante avec un temps d'agitation égale à 24 heures pour les deux poudres utilisées: poudres de pépins de raisin et d'épluchures de pomme. Les résultats obtenus, de l'effet de la nature du solvant, sur la teneur en polyphénols extraits sont représentés dans la figure 7.

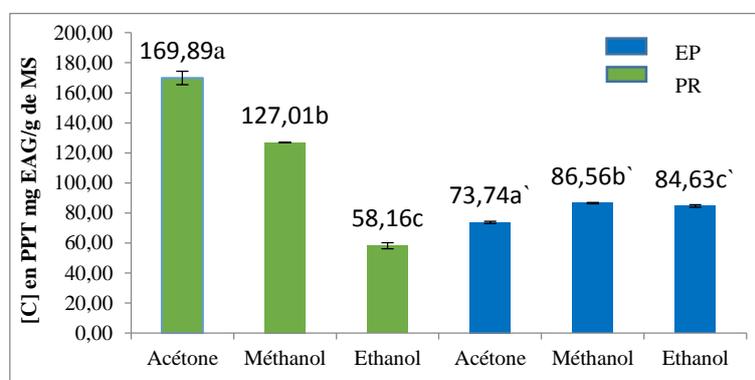


Figure 7 : Effet de type du solvant sur la teneur en polyphénols des échantillons étudiés

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b > c$; $b' > c' > a'$.

EP: épluchures de pomme

PR: pépins de raisin

D'après les résultats de la présente étude, les teneurs en polyphénols totaux obtenus pour les différents solvants utilisés varient de 58,16 à 169,89 mg EAG/g de matière sèche (MS) pour l'extrait de pépins de raisin et de 73,74 à 86,56 mg EAG/g de MS pour l'extrait d'épluchures de pomme. Le meilleur solvant d'extraction des polyphénols totaux est l'acétone avec une différence significative à $P \leq 0,05$ pour l'extrait des pépins de raisin. Saucier *et al.* (1997) et Tarascou (2005), ont également proposé un mode opératoire utilisant le mélange de solvants acétone/eau dans les proportions 7:3 (v/v) pour extraire les tanins de pépins des raisins. Concernant les épluchures de pomme, le méthanol a donné la teneur la plus élevée en polyphénols totaux avec une différence significative à $P \leq 0,05$. Ce résultat est en accord avec celui révélé par l'étude menée par Paschel *et al.* (2006) sur les sous-produits de la pomme.

Il est possible de constater que les solvants jouent un rôle très important dans plusieurs méthodes d'extraction. En effet, les composés phénoliques solubles sont généralement extraits en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone (Perez, 2008). Le mélange acétone/eau ou méthanol/ eau est communément employé comme solvant dans le but d'extraire des polyphénols. En effet, l'acétone et le méthanol semblent avoir des spécificités

distinctes par rapport à l'extraction de substances polyphénoliques (Goni et Serrano, 2005 ; Perez, 2008).

Le choix de la méthode et du solvant d'extraction est fondamental pour un processus optimal. Il dépend premièrement de la source et du type des composés à extraire et il doit assurer un rendement élevé sans dégradation de composés (Perez, 2008).

b- Choix du temps d'extraction

Le temps d'extraction est un autre paramètre principal dans la procédure d'extraction des composés phénoliques, il peut varier de quelques minutes à 24 heures (Lapornik *et al.*, 2005 ; Lee *et al.*, 2005).

Les résultats obtenus de l'effet du temps sur la teneur en polyphénols des échantillons étudiés sont représentés dans la figure 8.

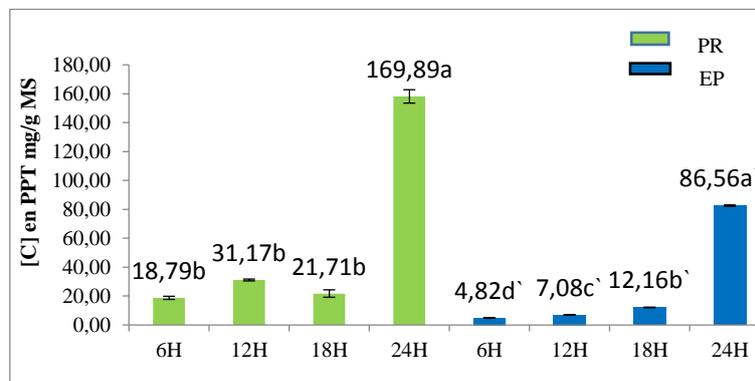


Figure 8 : Effet du temps sur la teneur en polyphénols des échantillons étudiés.

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les valeurs désignées par les lettres identiques ne présentent pas des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b ; a' > b' > c' > d'$

EP: épluchures de pomme

PR: pépins de raisin

Les résultats obtenus montrent que le meilleur temps d'extraction des antioxydants est de 24 heures avec une différence significative à $P \leq 0,05$. La durée de mise en contact de l'échantillon avec le solvant apparaît comme un paramètre qui influence l'extraction des composés phénoliques (perez, 2008). Selon Spigno *et al.* (2006), le taux d'extraction peut être amélioré en augmentant le temps de contact entre le solvant et le matériel végétal.

Plusieurs travaux ont montré que le temps nécessaire pour l'extraction des composés phénoliques est de 24 heures. Pantelic *et al.* (2016), ont adopté comme temps maximal 24 heures pour l'extraction des polyphénols à partir des pépins de raisin.

Cependant, Zhou *et al.* (2016) ont utilisé un temps seulement de 5 à 20 minutes dans l'extraction des composés phénoliques des épiluchures de pomme. Ce temps limité est combiné à l'utilisation de différentes températures (40 – 140 °C).

c- Choix de la granulométrie

Les résultats de la présente étude montrent que la concentration des polyphénols varie selon la taille des particules formant l'échantillon. L'extraction est meilleure avec une poudre $\leq 250 \mu\text{m}$ pour l'extrait de pépins de raisin, et est meilleure avec une poudre $\leq 1000 \mu\text{m}$ pour l'extrait d'épiluchures de pomme (figure 9).

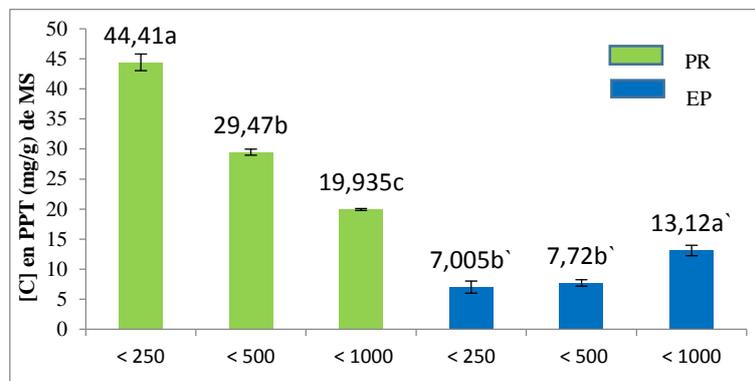


Figure 9: Effet de la granulométrie sur la teneur en polyphénols des échantillons étudiés

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les valeurs désignées par les lettres identiques ne présentent pas des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b > c$; $a' > b'$.

EP : épiluchures de pomme

PR : pépins de raisin

Différents facteurs contribuent à l'efficacité de l'extraction (nature et volume du solvant, nombre d'extraction, la taille et forme des particules, le temps et température de macération). Penchev *et al.* (2010) ont utilisé des fractions de dimensions différentes (de 0,7 à 3 mm). Ils ont trouvé que les petites particules ont donné le meilleur taux d'extraction. Cela peut être attribué à la création d'une surface de contact plus grande avec la diminution de la taille de particules. En outre, l'ouverture d'un grand nombre de pores, qui peuvent être fermés en cas de fractions plus grandes, facilite le contact avec le solvant.

2-2-2 Plan d'expérience

Beaucoup de paramètres peuvent influencer l'efficacité de l'extraction des polyphénols, comme la méthode d'extraction, la nature et la concentration du solvant, la température d'extraction, le pH, et le temps d'extraction (Banik et Pandey, 2007). Afin de faciliter l'interprétation des résultats, et minimiser le nombre des essais, nous avons opté un plan d'expérience.

Le plan que nous avons suivi dans ce présent travail est celui de plan central composite. Les facteurs choisis sont la concentration du solvant et le temps d'extraction.

L'analyse des résultats est présentée dans le tableau suivant :

Tableau VIII : Optimisation des conditions d'extraction par le plan d'expérience, plan central composite des échantillons étudiés.

Épluchures de pomme						Pépins de raisins					
N° d'essai	Configuration	Solvant (%(v/v))	Temps (heure)	Valeurs réelles PTT (mg d'EAG/g)	Valeurs prédites PTT (mg d'EAG/g)	N° d'essai	Configuration	Solvant (%(v/v))	Temps (heure)	Valeurs réelles PTT (mg d'EAG/g)	Valeurs prédites PTT (mg d'EAG/g)
1	++	100	24	11,39	11,23	1	+-	100	4	33,23	42,00
2	A0	100	14	9,92	8,86	2	0a	70	4	70,6	72,67
3	a0	40	14	7,99	9,05	3	--	40	4	90,21	79,35
4	0a	70	4	15,45	14,07	4	A0	100	14	73,74	54,11
5	0A	70	24	12,52	13,9	5	a0	40	14	26,81	46,43
6	-+	40	24	12,23	11,01	6	++	100	24	69,55	80,40
7	-0	40	4	11,43	11,59	7	0A	70	24	68,13	66,05
8	+-	100	4	9,77	10,99	8	-+	40	24	36,48	27,70

Les résultats de la présente étude, montre que la teneur en composés phénoliques d'épluchures de pomme et de pépins de raisin varie de 7,99 à 15,45 mg EAG/g de MS et de 26,81 à 90,21 mg EAG/g de MS respectivement. Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés (solvant et temps) sur le taux de polyphénols extraits. D'autres facteurs peuvent avoir un effet sur l'extraction des polyphénols tel que la granulométrie (Bucic-Kojic *et al.*, 2007).

➤ **Validation du model**

Dans les plans d'expérience le model mathématique relie la réponse aux facteurs qui l'influence, et afin d'avoir une bonne réponse plusieurs conditions doivent être vérifiées.

➤ **Coefficient de corrélation**

L'efficacité d'ajustement globale est exprimée par le coefficient R^2 (Chan *et al.*, 2009).

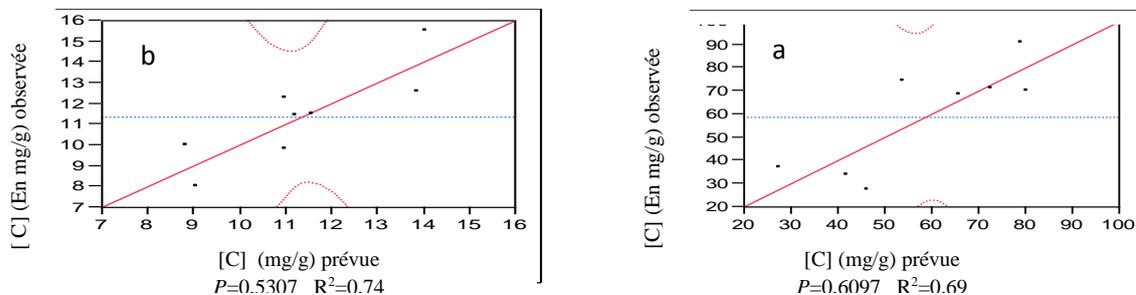


Figure 10 : Plan de prédiction réelle d'épluchures de pomme (a) et de pépins de raisins (b)

➤ **Effet d'interaction**

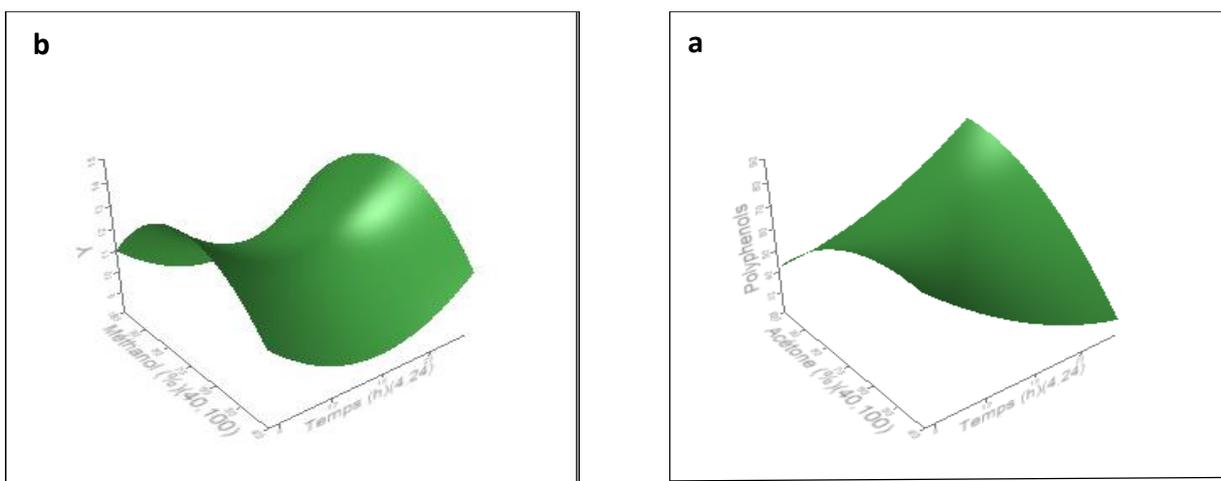


Figure 11: surface de réponse de l'interaction (solvant- temps) des pépins de raisin (a) et d'épluchures de pomme (b).

Les résultats obtenus par le plan central composite montrent que le meilleur temps d'extraction des polyphénols pour les deux extraits de pépins de raisin et d'épluchures de pomme est de 14 heures avec une concentration du solvant de 70% (v/v).

2-3 Dosages des antioxydants

2-3-1 Polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols dans les pépins de raisin et d'épluchures de pomme sont rapportées en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche, en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe I).

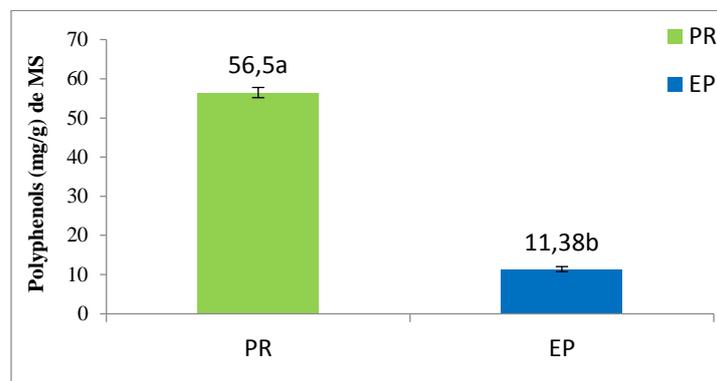


Figure 12: Teneur moyenne en polyphénols totaux des échantillons étudiés

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b$.

EP : épluchures de pomme

PR : pépins de raisin

Les résultats obtenus (figure 12), montre que la teneur en composés phénoliques des extraits étudiés sont de ceux de l'intervalle de prévision du plan d'expérience plan central composite estimé à 58,59 et 11,33 mg EAG/g de MS pour l'extrait de pépins de raisin et d'épluchures de pomme respectivement.

L'analyse a permis de déduire qu'il y a une différence significative à $P \leq 0,05$ entre la teneur en polyphénols totaux de l'épluchure de pomme et des pépins de raisin. Paschel *et al.* (2006) ont déterminé une teneur en polyphénols totaux des sous-produits de pomme largement supérieure à celle obtenue dans le présent travail ($52,18 \pm 4,80$ mg EAG/g d'extrait sec). Cependant, Wolfe *et al.* (2003) ont rapporté dans leur étude sur les épluchures de pomme une teneur en polyphénols plus faible qui est de $5,88 \pm 0,83$ mg EAG/g de l'épluchure.

Quant aux raisins, selon Garcia-Jares *et al.* (2015) et Pantelic *et al.* (2016) environ 60-70% de composés phénoliques totaux sont trouvés principalement dans les graines de raisin. Rombaut (2013) a trouvé des teneurs en polyphénols dans les pépins de raisins qui varient de 58 à 960 mg/g de matière sèche. En outre, les études menées par Pantelic *et al.* (2016) sur quelques variétés de raisins ont trouvé des teneurs en polyphénols dans les pépins qui varient de 38,02 à 101,25 mg EAG/g de MS. Ces concentrations varient selon les variétés. De même, Garcia-Jares *et al.* (2015) ont trouvé des teneurs en polyphénols variant de $79,5 \pm 0,5$ à 168 ± 6 mg EAG/g de MS dans les pépins de raisin de quelques variétés de raisin. Une étude menée par Zhou *et al.* (2016) a révélé une concentration en polyphénols totaux qui est de l'ordre de $22,97 \pm 0,14$ mg EAG/g de matière sèche dans les graines de raisin.

Les résultats obtenus par la présente étude semblent être proches de ceux rapportés par la littérature dans le cas des pépins de raisin. Toutefois, les teneurs trouvées dans les épiluchures de pomme sont différentes à celles rapportées dans la littérature. Dissimilitudes peuvent être expliquées par l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthode et les conditions d'extractions et d'analyses, l'origine géographique de l'échantillon ainsi que le degré de maturité des produits utilisés (Salvador *et al.*, 2001).

2-3-2 Flavonoïdes

La teneur des flavonoïdes de nos extraits a été exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe I). L'extrait d'épiluchures de pomme a donné une concentration plus importante en flavonoïdes avec une différence significative à $P \leq 0,05$ (figure 13).

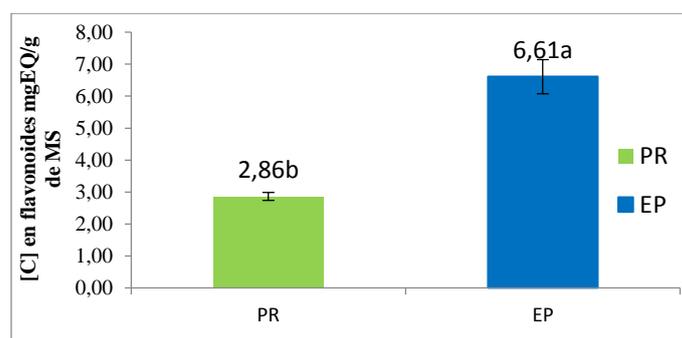


Figure 13 : Teneurs moyennes en flavonoïdes des échantillons étudiés.

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b$.

EP : épiluchures de pomme.

PR : pépins de raisin.

Wolfe *et al.* (2003) ont rapporté dans leur étude sur les épiluchures de pomme une teneur en flavonoïdes de 3,061 mg équivalents de catéchine/g d'épiluchures, ce résultat est inférieur à celui obtenu par la présente étude. Selon Garcia-Jares *et al.* (2015), les flavanols étaient les polyphénols les plus abondants dans les extraits de graines de raisins et représentent 98%-99% de la composition totale en polyphénols. La teneur rapportée par cet auteur et ses collaborateurs était de 3,190 mg/g de MS, qui est comparable à celle obtenue par la présente étude.

L'étude statistique a révélée l'existence d'une corrélation hautement significative positive ($r=1,00$) marquée à $P \leq 0,05$ entre les polyphénols totaux et les flavonoïdes. Cela signifie que les flavonoïdes constituent les composés phénoliques majoritaires des échantillons étudiés. Pantelic *et al.* (2016) et Garcia (2008) ont montré que les polyphénols les plus abondants dans les pépins de raisin sont les flavan-3-ols.

2-4 Évaluation de l'activité antioxydante

Il existe différents types d'antioxydants dans les fruits et il est très difficile de mesurer chaque antioxydant séparément. Par conséquent, plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer l'activité antioxydante totale des fruits ou d'autres tissus de plantes (Guo *et al.*, 2003

II-4-1 Pouvoir anti-radicalaire au DPPH

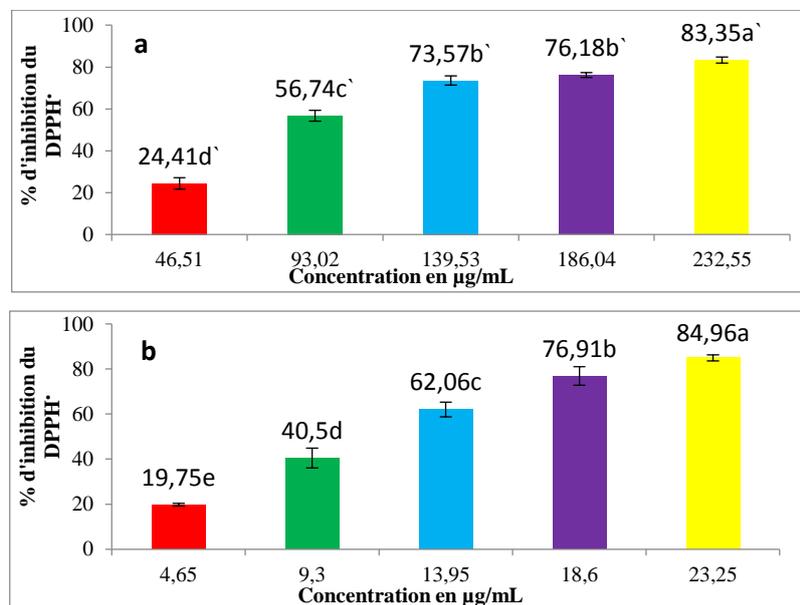


Figure 14: Pouvoir anti-radicalaire d'extraits d'épiluchures de pomme (a) de pépins de raisin (b).

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les valeurs désignées par les lettres identiques ne présentent pas des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b > c > d > e$; $a' > b' > c' > d'$.

Les résultats obtenus (figure 14) montrent que les deux échantillons étudiés ont la capacité de piéger le radical DPPH^{*}. De plus, le piégeage de 50% du radical libre DPPH^{*} est enregistré dans des petites concentrations. Les concentrations qui ont piégé 50% (IC₅₀) du radical libre du DPPH^{*} sont de 12,22 et 97,34 µg/mL pour les extraits de pépins de raisin et d'épluchures de pomme respectivement. La puissance anti-radicalaire (ARP = 1/ IC₅₀) de chaque extrait est donnée dans le tableau IX

Tableau IX : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait de pépins de raisin et les épluchures de pomme.

Extrait	IC ₅₀ (µg/mL)	ARP (1/ IC ₅₀). 10 ⁻³
Pépins de raisin	12,22 ^a ± 0,89	83,33 ^a ± 3,33
Épluchures de pomme	97,34 ^b ± 4,30	10,27 ^b ± 0,7

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives (P ≤ 0,05)

D'après Ling *et al.* (2009), plus l'IC₅₀ diminue, plus la puissance de l'antioxydant augmente. Ainsi, l'extrait de pépins de raisins a montré une meilleure capacité à piéger le radical DPPH^{*} avec une différence significative à P ≤ 0,05 que celui d'épluchures de pomme. La réduction du radical DPPH^{*} peut être attribuée à la présence de composés phénoliques qui cèdent facilement des protons pour le réduire (Popovici *et al.*, 2009). Les données de la littérature ont révélé une puissante activité scavenger du radical DPPH^{*} par les extraits de pépins de raisins. Selon Popovici *et al.* (2009), les concentrations en polyphénols totaux et l'activité anti-radicalaire se sont avérées notamment plus importantes au niveau des extraits de graines qu'en ceux de la peau et de la pulpe de raisin. Bozan *et al.* (2008) ont trouvé des valeurs d'IC₅₀ qui varient de 2,71 à 4,52 µg/mL, d'autre part, Baydar *et al.* (2007) ont enregistré des valeurs d'IC₅₀ variant de 22,9 à 32,90 µg/L. Garcia-Jares *et al.* (2015) a trouvé une activité qui varie selon les variétés de 19,7 ± 0,6 à 41,3 ± 1,9 mmol Trolox[®]équivalent/g de matière sèche.

Nos résultats sont différents de ceux rapportés par la littérature. Bien que l'extraction à partir des pépins de raisin soit extrêmement étudiée, il est relativement difficile de comparer les données de la littérature. En effet, il existe une diversité des variétés, des stades de maturité, des conditions climatiques et de stockage des raisins et de leur déchets, d'une part et une assez grande variation dans les procédés d'extraction d'autre part : type de solvants (eau, éthanol, méthanol, acétone, acétate d'éthyle), température (20-60°C) et temps d'extraction (de 5 minutes à 24 heures) (Popovici *et al.*, 2009).

Quant aux épiluchures de pomme, Wolfe *et al.* (2003) ont rapporté une activité antioxydante qui est de $312,2 \pm 9,8 \mu\text{mol}$ équivalent de vitamine C/g d'épiluchures. D'autre part, Tow *et al.* (2011) ont trouvé une activité antioxydante qui varie de 77,63 à 91,55 %. En outre, Plaza *et al.* (2013) ont trouvé la puissance antiradicalaire ($1/IC_{50}$) qui est de 0,26, ce résultat est comparable à celui calculé dans la présente étude.

Une corrélation significative à $P \leq 0,05$ ($r = -1,0$) est enregistrée entre les polyphénols totaux et le pouvoir anti-radicalaire des deux échantillons étudiés. Cela signifie que ce sont les composés phénoliques qui sont responsables de cette activité des deux échantillons. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par les travaux antérieurs sur l'activité antioxydante et composition phénolique de pépins de raisins. Pantelic *et al.* (2016) ont montré que parmi les différentes parties de raisins, les pépins renferment les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante les plus élevées. De plus, ils ont montré l'existence d'une corrélation significative à $P \leq 0,05$ ($r = 0,76$) entre les polyphénols totaux et l'activité antioxydante de l'extrait de pépins de raisin.

2-4-2 Pouvoir réducteur

Ce test est basé sur la réduction du Molybdate (VI) au Molybdate (V) par les antioxydants présents dans l'échantillon, et la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/Molybdate (V)) qui donne un maximum d'absorption à 695 nm (El-Sayed, 2009).

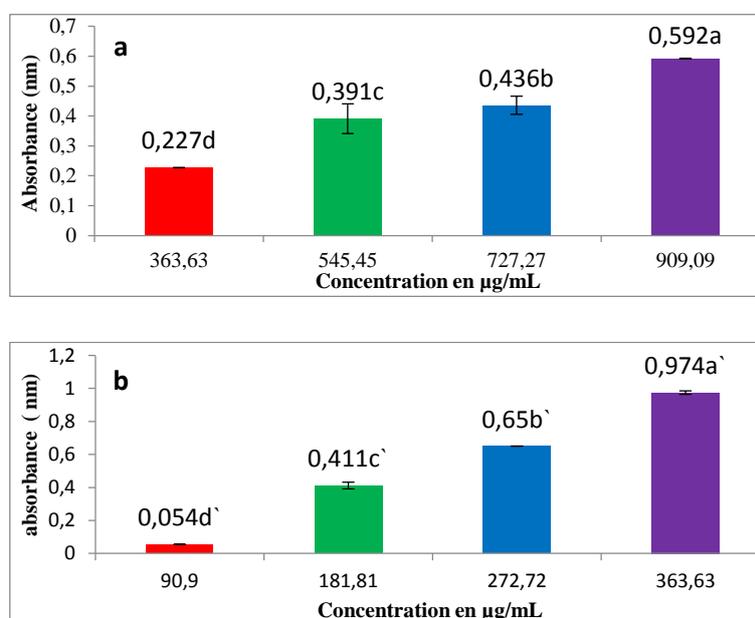


Figure 15: Pouvoir réducteur d'extraits d'épiluchure de pomme (a) et de pépins de raisins (b).

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b > c > d$; $a` > b` > c` > d`$

D'après les résultats obtenus (figure 15) dans la présente étude les absorbances augmentent d'une manière significative à $P \leq 0,05$ avec l'augmentation des concentrations. Selon Amezouar *et al.* (2013), plus la concentration de l'extrait augmente plus le pouvoir réducteur augmente. Les concentrations qui ont réduit 50% du phosphomolybdate sont de $225,47 \pm 7,10$ et $837,91 \pm 35,94$ $\mu\text{g/ml}$ pour les extraits de pépins de raisins et d'épluchures de pommes respectivement. Par conséquent, l'extrait de pépins de raisins a montré une meilleure activité réductrice de molybdate (VI) au molybdate (V) avec une différence significative à $P \leq 0,05$.

L'étude statistique a révélé l'existence d'une corrélation linéaire positive entre le pouvoir réducteur au phosphomolybdate et les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes à $P \leq 0,05$ avec des coefficients respectivement de 0,50 et 0,44.

2-5 Yaourt

2-5-1 Analyses physico-chimiques

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées pour les trois yaourts fabriqués (yaourt témoin, yaourt à base de poudre des pépins de raisin et yaourt à base d'épluchures de pomme) sont représentés dans le tableau X.

Tableau X: Les paramètres physico-chimiques des trois yaourts préparés.

Paramètres	Yaourt témoin	Yaourt à base de PR	Yaourt à base d'EP	Norme (JORA)
pH	4,36	4,25	4,23	4,3-4,8
Acidité (D°)	79	80	86	78-100
Viscosité (CP)	30100	30180	30200	27500-32500

PR : pépins de raisin ; EP : épluchures de pommes

a- pH

Les valeurs du pH des trois yaourts analysés sont très proches. Le pH du yaourt à base de pépins de raisins et celui d'épluchures de pommes est légèrement inférieur à celui du yaourt témoin. Cela est probablement dû à l'enrichissement du yaourt par les deux poudres de pépins de raisins et d'épluchure de pomme. Ces résultats s'accordent bien avec ceux cités par les Normes (J O R A D P). Nos valeurs s'accordent également avec celles annoncées par laiterie SOUMMAM (4,30-4,70).

b- Acidité

L'acidité nous renseigne sur la teneur en acide organique dominant (acide lactique). D'après les résultats obtenus, nous avons noté que le yaourt à base d'épluchures de pommes est plus acide que le yaourt à base de pépins de raisins. Cela pourrait être dû à la richesse d'épluchures de pommes en acide organique. Toutefois, l'acidité des trois yaourts élaborés est conforme aux normes données par (**J O R A D P**) et laiterie **SOUMMAM (80-95°D)**.

c- Viscosité

Les résultats de la viscosité des trois produits analysés sont conformes aux normes de laiterie **SOUMMAM** (27500-32500 Centi Poise (CP)), ce qui révèle que le taux d'extrait du lait utilisé est satisfaisant.

2-5-2 Analyse microbiologie

Les résultats obtenus pour les analyses microbiologiques pour les yaourts fabriqués sont illustrés dans le Tableau XI

Tableau XI : Résultats des analyses microbiologiques des yaourts formulés.

Type du yaourt	Germe recherchés				
	Germe totaux	Levures	Moisissures	Coliformes totaux	Coliformes fécaux
Témoin	2. 10 ²	00	Absence	00	00
YPR	2.10 ²	00	Absence	00	00
YEP	3.10 ²	00	Absence	00	00
Normes(JORA)	10 ²	<100	Absence	<10	<1

YPR : yaourt à base de pépins de raisin, YEP : yaourt à base d'épluchure de pomme

➤ Interprétation

Les résultats des analyses microbiologiques des trois yaourts montrent clairement leur parfaite conformité aux normes. Nous constatons d'après ces résultats une absence totale de tous les germes pathogènes et un nombre négligeable de germes totaux. Ceci est lié aux bonnes conditions de fabrications, de stockage et au respect des règles d'asepsie pendant la fabrication des échantillons et leurs analyses.

2-5-3 Analyse hédonique

Cette analyse a été effectuée sur **82** sujets naïfs et **09** experts auxquels nous avons présenté 03 échantillons différents du yaourt : **A**, **B** et **C**. Le **A** et le **B** sont des produits formulés et le **C** correspond au produit de référence.

2-5-3-1 Test du plan d'expérience avec XL Stat-MX

Le test du plan d'expérience avec XL Stat-MX est utilisé pour créer un plan d'expériences optimal, ou quasi-optimal, dans le cadre d'expériences visant à modéliser les préférences d'un ensemble de consommateurs ou d'experts pour différents produits (Perinel *et al.*, 2004).

➤ **Résultat**

Une fois les données brutes des **91** sujets sont rapportées sur une feuille d'Excel, la procédure de génération du plan d'expérience sera lancée directement à partir de la commande XLSTAT-MX/ plan d'expérience pour l'analyse sensorielle, les résultats obtenus sont rapportés dans le Tableau XII:

Tableau XII : résultats de l'évaluation du plan.

A-Efficacité	1,000
D-Efficacité	1,000

➤ **Discussion**

Après la génération du plan d'expérience pour l'analyse sensorielle, nous remarquons que les deux critères A-Efficacité et D-Efficacité sont égaux, car toutes les valeurs propres sont égales. Ces résultats indiquent que notre plan est validé et nous permet de mettre en place une étude sensorielle menée auprès de **91** sujets évaluant trois produits.

La caractérisation de produit permet d'identifier quels sont les descripteurs qui discriminent le mieux les produits et quelles sont les caractéristiques importantes de ces mêmes produits dans le cadre de l'analyse sensorielle (Husson *et al.*, 2009).

2-5-3-2 Pouvoir discriminant par descripteur

Ce test permet d'afficher les descripteurs ordonnés de celui qui a le plus fort pouvoir discriminant sur les produits à celui qui a le plus faible (Husson *et al.*, 2009).

Les résultats du test sont présentés dans la figure 16 pour les experts (a) et des naïfs (b)

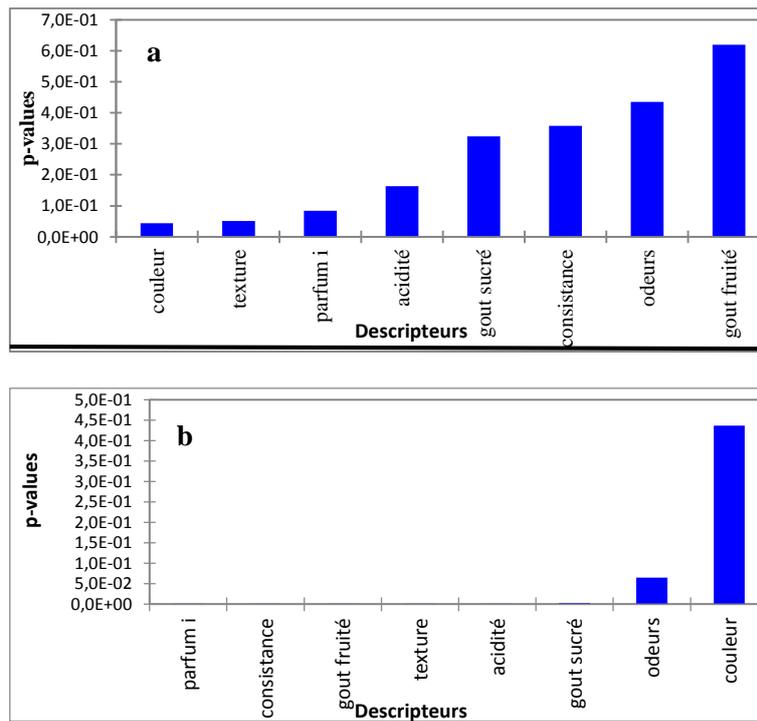


Figure 16: Pouvoir discriminant par descripteur des experts (a) et des naïfs (b).

➤ **Discussion**

a- Les sujets experts

La figure 16 (a) rassemble les descripteurs ordonnés de plus discriminant au moins discriminant sur les trois échantillons. Il permet de visualiser que la couleur est le descripteur le plus discriminant. Les *p*-values associées montrent toutes un effet significatif sur le descripteur. Par contre, le descripteur le moins discriminé est le gout fruité. Les descripteurs couleur, texture, parfum identifiés, ont été discriminés. Cela prouve que les experts n'ont pas constaté des divergences entre ces descripteurs pour les trois échantillons. Les descripteurs acidité, gout sucré, consistance, odeur et gout fruité, n'ont pas été discriminés, ce qui traduit que les experts ont constaté des divergences entre ces descripteurs pour les trois échantillons présentés.

b- Les sujets naïfs

La figure 16 (b) montre les descripteurs ordonnés du plus discriminant au moins discriminant sur les trois échantillons. Nous remarquons que le parfum, la consistance, le goût fruité, la texture sont les descripteurs qui ont le plus fort pouvoir discriminant sur les trois échantillons. C'est-à-dire que les sujets naïfs ont constaté des différences entre les descripteurs des échantillons. Concernant les descripteurs suivants : acidité, goût sucré, odeur, couleur, ils ont un pouvoir discriminant faible. Cependant, le descripteur couleur est celui qui a le pouvoir

discriminant le plus faible. Alors, nous déduisons que les naïfs n'ont pas constaté des divergences entre les descripteurs des échantillons.

2-5-3-3 Les coefficients des modèles

Ce test a pour but de traiter pour chaque combinaison descripteur-produit, le coefficient, la moyenne estimée, la *p*-value ainsi qu'un intervalle de confiance sur le coefficient (Naes et Risvik, 1996). Les résultats des coefficients des modèles sont présentés dans les Figures ci-dessous :

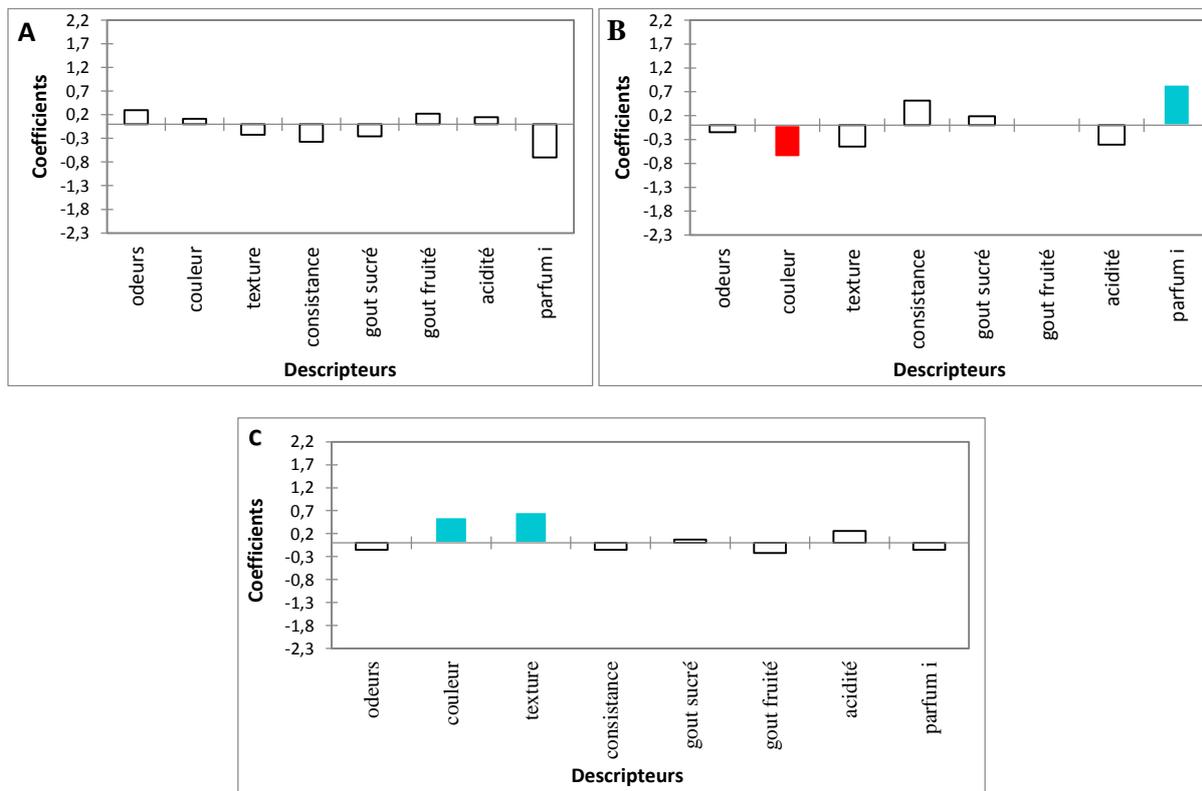


Figure 17 : Coefficient des modèles des 3 échantillons des sujets experts.

A: yaourt à base de pépins de raisin ; **B**: yaourt à base d'épluchures de pomme ; **C**: yaourt témoin

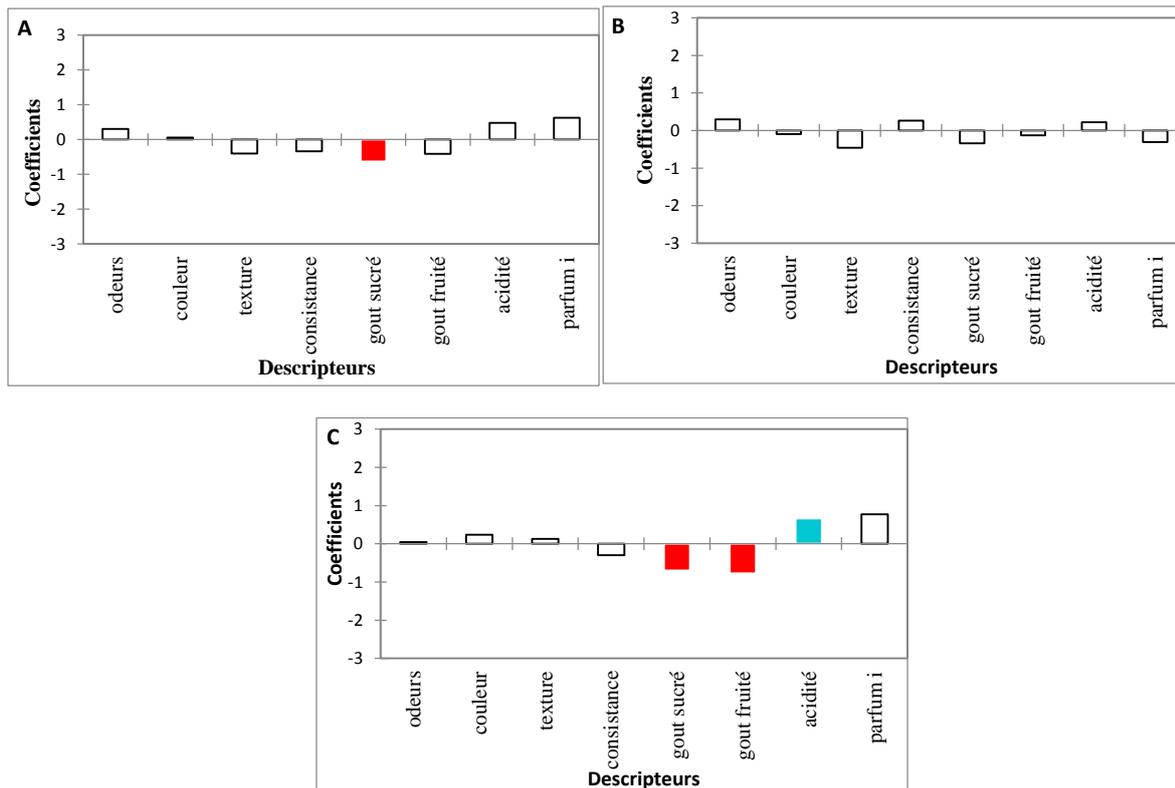


Figure 18 : Coefficients des modèles des 3 échantillons des sujets naïfs.

A: yaourt à base de pépins de raisin ; **B:** yaourt à base d'épluchures de pomme ; **C:** yaourt témoin

➤ Discussion

Les graphiques des figures précédentes permettent de définir l'appréciation ou la non appréciation des descripteurs des trois échantillons A, B et C, par les sujets experts et naïfs.

L'analyse de chaque graphique permet de définir chaque produit :

- ✓ En bleu, nous observons les caractéristiques dont le coefficient est significativement positif ;
- ✓ En blanc celles dont le coefficient n'est pas significatif ;
- ✓ En rouge, nous observons la caractéristique dont le coefficient est significativement négatif.

a- Les sujets experts

Echantillon A : montre aucune signification des descripteurs, donc l'échantillon A n'est ni apprécié ni pénalisé.

Echantillon B : possède un bon parfum par contre il n'a pas une couleur appréciable.

L'échantillon C : possède une bonne couleur ainsi qu'une bonne texture.

b- Les sujets naïfs

Echantillon A : n'a pas un bon gout sucré appréciable.

Echantillon **B** : ne montre aucune signification des descripteurs, donc l'échantillon A n'est ni apprécié ni pénalisé.

Echantillon **C** : possède un mauvais gout sucré et fruité par contre, il possède une bonne acidité.

2-5-3-4 Les moyennes ajustées par produit

Le but de cette action est de définir les moyennes ajustées calculées à partir du modèle pour chaque combinaison descripteur-produit (Lé et Husson, 2008).

➤ Résultats

Les tableaux suivants correspondent aux moyennes ajustées calculées à partir du modèle pour chaque combinaison descripteur-produit.

TableauXIII : Moyennes ajustées par produit pour les experts.

	Consistance	Parfum identifié	Gout sucré	Gout fruité	Texture	Odeur	Couleur	Acidité
B	3,444	3,778	3,000	2,667	3,000	2,556	2,667	2,111
C	2,778	2,778	2,889	2,444	4,111	2,556	3,889	2,778
A	2,556	2,222	2,556	2,889	3,222	3,000	3,444	2,667

TableauXIV : Moyennes ajustées par produit pour les sujets naïfs.

	Odeur	Acidité	Consistance	Gout sucré	Gout fruité	Parfum identifié	Couleur	Texture
B	3,100	2,327	4,087	3,203	3,274	2,128	3,342	3,590
A	3,110	2,585	3,488	2,915	2,988	3,061	3,488	3,646
C	2,854	2,768	3,524	2,841	2,622	3,207	3,671	4,171

A: yaourt à base de pépins de raisin ; **B**: yaourt à base d'épluchures de pomme ; **C**: yaourt témoin

➤ Discussion

Ces tableaux permettent de faire ressortir les moyennes lorsque les différents produits et les caractéristiques sont croisés. Nous avons donc en bleu les moyennes qui sont significativement plus grandes que la moyenne globale et en rouge celles qui sont significativement plus petites que la moyenne globale.

a- Les sujets experts: Le mélange C présente une très bonne texture, une bonne couleur, et il est l'opposé du mélange B.

b- Les sujets naïfs: le mélange C présente une très bonne acidité, il est l'opposé du mélange A.

2-5-3-5 Test d'analyse des pénalités

La penalty analysis (analyse des pénalités) est une méthode utilisée en analyse sensorielle pour identifier des axes d'améliorations possibles pour des produits, suite à des enquêtes auprès de consommateurs ou d'experts (Popper *et al.*, 2004).

➤ Résultat

Pour chaque produit un graphique de pénalités est affiché comme le montrent les figures suivantes :

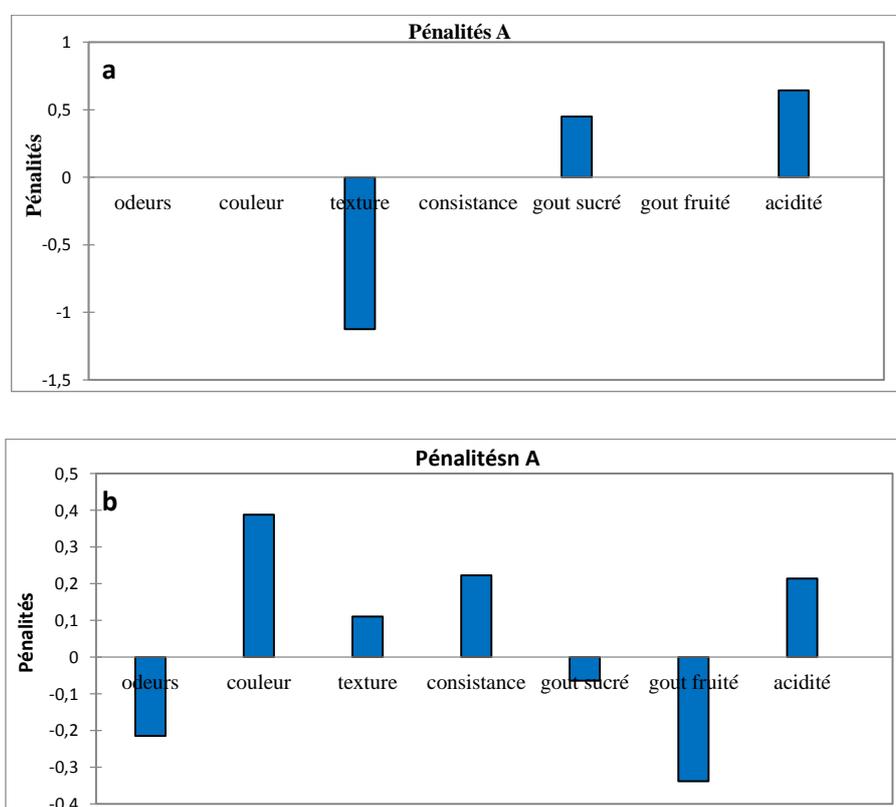


Figure 19: Pénalités de l'échantillon A des experts (a) et des naïfs (b).

A: yaourt à base de pépins de raisin

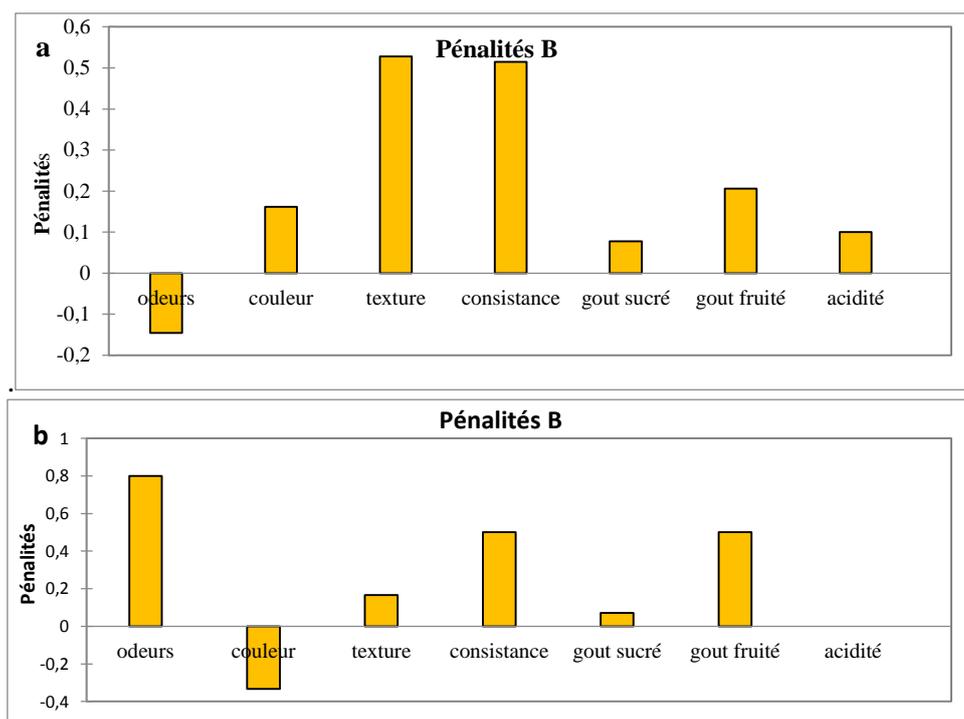


Figure 20: Pénalités de l'échantillon B des experts (a) et des naïfs (b).

B: yaourt à base d'épluchures de pomme

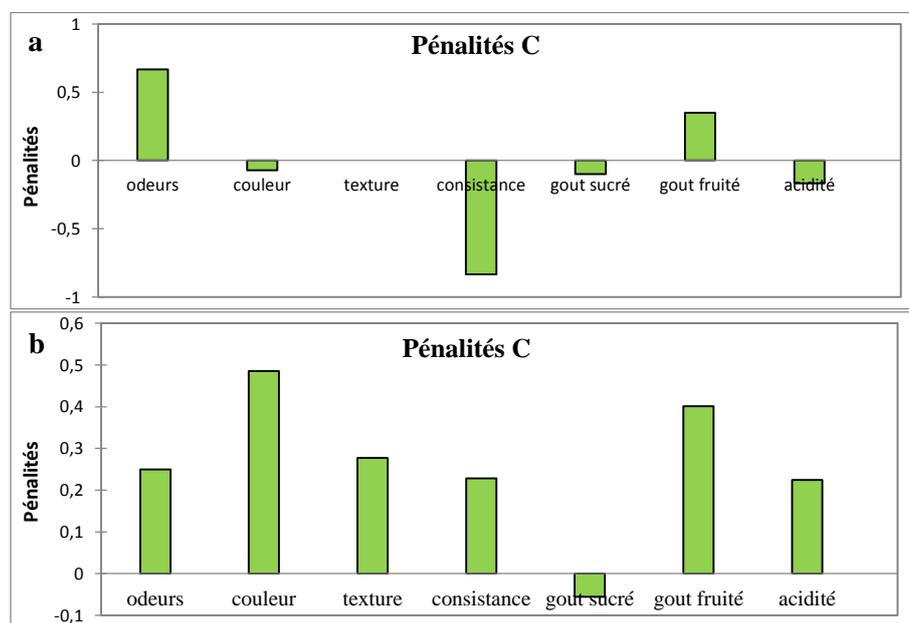


Figure 21: Pénalités de l'échantillon C des experts (a) et des naïfs (b).

C: yaourt témoin

➤ **Discussion**

Ces graphiques de synthèse représentent les pénalités pour chaque produit. La pénalité est une différence pondérée entre les moyennes (préférence moyenne pour JAR – préférence

moyenne pour les deux autres niveaux confondus). Elle nous montre combien de points de préférence sont perdus lorsque le produit ne correspond pas à l'attente du consommateur (Popper *et al.*, 2004).

En parallèle, si un descripteur possède un coefficient positif, ce dernier est pénalisé positivement par les membres de jury. Au contraire si un descripteur possède un coefficient négatif, ce dernier est pénalisé négativement par les membres de jury. Les caractéristiques des produits qui sont pénalisés négativement sont présentées comme suit :

- ✓ La texture pour le produit A (experts).
- ✓ L'odeur, gout sucré et gout fruité pour le produit A (naïfs).
- ✓ La couleur pour le produit B (experts).
- ✓ L'odeur pour le produit B (naïfs).
- ✓ La couleur, la consistance, le gout sucré et l'acidité pour le produit C (experts).
- ✓ Le gout sucré pour le produit C (naïfs).

2-5-3-6 Analyse des données des préférences des consommateurs

La figure 22 représente un graphe indiquant la préférence générale des **82** sujets naïfs(b) et **09** sujets experts (a) vis-à-vis les trois échantillons de l'analyse.

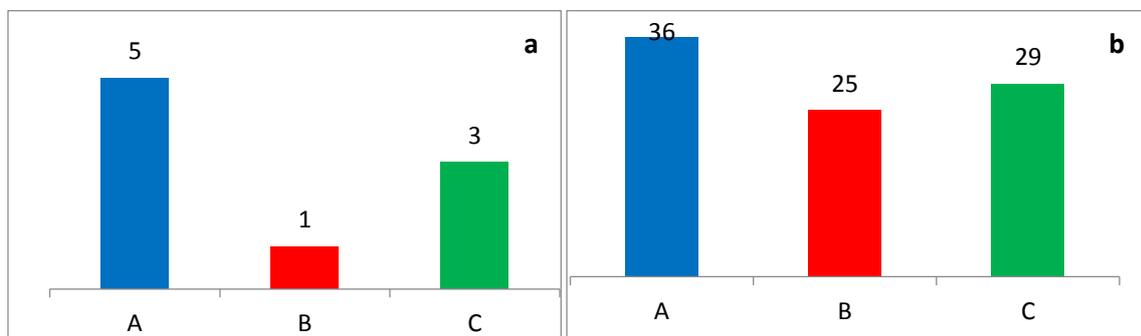


Figure 22 : Préférence générale des consommateurs des experts (a) et naïfs (b)

A: yaourt à base de pépins de raisin ; **B:** yaourt à base d'épluchures de pomme ; **C:** yaourt témoin

➤ Discussion

À partir des graphes nous remarquons que parmi les **09** sujets experts (graphe a) qui ont participé à l'analyse hédonique, **05** d'entre eux préfèrent l'échantillon **A**, **1** préfère l'échantillon **B** et **3** préfèrent le **C**. Pour les **82** sujets naïfs (graphe b), nous constatons que **36** d'entre eux préfèrent l'échantillon **A**, **25** préfèrent l'échantillon **B** et **29** préfèrent le **C**. Par conséquent, l'échantillon préféré étant le **A**.

Conclusion

Conclusion

Ce présent travail a été mené en vue d'optimiser l'extraction des composés phénoliques contenus dans les pépins de raisin et les épluchures de pomme, ainsi l'élaboration d'un yaourt à base des poudres de ces sous-produits. A cet effet plusieurs analyses ont été effectuées afin de trouver les conditions optimales pour l'extraction des polyphénols totaux de ces résidus. L'activité antioxydante de ses extraits est ensuite évaluée, suivi par des analyses effectuées pour les yaourts élaborés.

Il en ressort de l'analyse des résultats obtenus, que les meilleurs solvants d'extraction des antioxydants sont l'acétone et le méthanol pour les pépins de raisin et les épluchures de pomme respectivement. Les teneurs phénoliques varient de 58,16 à 169,89 mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche (EAG/g de MS) pour les extraits de pépins de raisin et de 73,74 à 86,56 mg EAG/g de MS pour les extraits d'épluchures de pomme. Les résultats obtenus pour le choix de meilleur temps d'extraction des antioxydants est de 24 heures pour les deux extraits avec des teneurs qui varient de 18,79 à 169,89 et de 4,82 à 86,56 mg EAG/g de MS pour les extraits de pépins de raisins et d'épluchures de pomme respectivement. En ce qui concerne la granulométrie les teneurs en polyphénols ont varié en fonction de la taille des particules formant l'échantillon, la poudre qui a donné une meilleure teneur en polyphénols est la poudre < 1000 μm pour l'épluchure de pomme et la poudre < 250 μm pour les pépins de raisin.

Après optimisation des conditions d'extraction avec le plan central composite des échantillons étudiés, l'optimum d'extraction est de 14 heures avec une concentration du solvant de 70%, et à l'issue des différents dosages effectués, les résultats obtenus indiquent que la teneur en polyphénols totaux, des pépins de raisin est de 56,5 mg EAG/g de MS et celle d'épluchures de pomme est de 11,38 mg EAG/g de MS. Les teneurs des flavonoïdes sont de 2,86 et 6,61 mg équivalent de quercétine/g de MS pour les extraits de pépins de raisin et d'épluchures de pomme respectivement.

A la lumière des résultats obtenus, il résulte également que les extraits des sous-produits utilisés révèlent une activité antioxydante élevée pour les différents tests réalisés (pouvoir anti-radicalaire au DPPH^{*} et pouvoir réducteur au phosphomolybdate). Ainsi une corrélation a été enregistrée entre les teneurs en composés phénoliques des extraits de différents échantillons utilisés et leur activité antioxydante.

Les poudres des échantillons (pépins de raisin et épiluchures de pomme) ont été utilisées avantageusement dans un produit laitier dont le but est l'enrichissement du yaourt. A cet effet trois formulations du yaourt ont été élaborées (deux à base de poudres issues des sous-produits utilisés et un yaourt témoin). Enfin, une étude de la qualité hygiénique ainsi qu'une analyse sensorielle (test de dégustation) des yaourts élaborés ont été effectuées.

Les résultats des analyses microbiologiques des trois yaourts : yaourt à base de pépins de raisin (YPR), yaourt à base d'épiluchures de pomme (YEP) et yaourt témoin (YT) montrent clairement leur parfaite conformité aux normes. Le test de dégustation (test de classement) a permis de faire ressortir le classement de préférence suivant : en premier lieu YPR, suivi d'YT et le dernier est YEP. Il est donc possible de produire un yaourt enrichi avec les sous-produits de raisin et de pomme comme ingrédients naturels à vertu antioxydante.

La composition et la diversité des sous-produits de raisin et ceux de pomme en composés phénoliques leur confèrent leur rôle bénéfique pour la santé. Une consommation des produits éventuellement enrichis par ses sous-produits est conseillée pour prévenir certaines maladies liées au stress oxydatif.

En perspectives il serait intéressant :

- ✓ D'optimiser d'autres paramètres influençant l'extraction des polyphénols tels que le pH, la température et la ration solide-liquide ;
- ✓ De déterminer d'autres types d'activités (que l'activité antioxydante) telles que les activités anti-inflammatoire, antibactérienne etc.
- ✓ D'estimer l'activité antioxydante des yaourts préparés et de quantifier les principes actifs ;
- ✓ De trouver une modalité de valorisation ultérieure des sous-produits des fruits en faisant des tests de formulation puis en les incorporant dans divers produits agroalimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques.

*Références
bibliographiques*

- Amellal H. 2008.** Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes : formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de Doctorat. Université de Boumerdes, Faculté des sciences de L'ingénieur, 203 p.
- Amezouar F., Badri W., Hsaine M., Bourhim N., Fougrach H. 2013.** Evaluation des activités antioxydantes et anti-inflammatoires de *Erica arborea* L. du Maroc. Pathologie biologie, 61 : 254-258.
- Amira-Guebailia H. 2007.** Polyphénols des sarments et des rafles de la vigne (*Vitis vinifera* L.) et du vin, purification, dosage et activités biologiques. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba, Faculté des sciences, 123 p.
- Aprifel B. 1993.** Le raisin. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, PP. 435-437.
- Banik R. M. et Pandey D. K. 2007.** Optimizing conditions for oleanolic acid extraction from Lantana camara roots using response surface methodology. Industrial Crops and Products, 27: 241-248.
- Barzana E., Rubio D., Santamaria R. I., Garcia-Correa O., Garcia F., Ridaura-Sanz, V. E. 2002.** Enzyme-mediated solvent extraction of carotenoids from marigold flower (*Tagetes erecta*). Journal of agricultural and food chemistry, 50: 4491-4496.
- Baydar N. G., Özkan G., Yaşar S. 2007.** Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. Food Control, 18 (9): 1131-1136.
- Berger M. M. 2006.** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. Nutritionnal manipulation of oxidative stress : review of the evidence, Nutrition clinique et métabolisme, 20: 48-53.
- Boizot N. et Charpentier J. P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra, 4 p.
- BOURLES E. 2010.** Aptitude variétale des pommes à la transformation : Recherche d'indicateurs biochimiques de l'évolution de la texture et de marqueurs d'intérêt nutritionnel. Thèse de Doctorat. Université d'Angers, école Doctorale VENAM, 237 P.
- Bozan B., Tosun G. et Ozcan D. 2008.** Study on polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antioxidant activity. Food chemistry, 209: 426-430.
- Brahmi F., Hauchard D., Guendouze N., Madani K., Kiendrebeogo M., Kamagaju L., Stévigny C., Chibane M. et Duez P. 2015.** Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian Mentha species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). Industrial Crops and Products, 74: 722-730.

Bucic-Kojic A., Planinic N., Tomas S., Bilic M. et Velic D. 2007. Study of solid-liquide extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of food engineering*, 81: 236-242.

Carbonneau M. A, Souquet J. M. et Carbonneau A. sd. Analyse des composés phénoliques et des propriétés Antioxydantes des pellicules du raisin dans des échantillons De *Vitis vinifera silvestris* et *Vitis vinifera sativ.*. Cahier scientifique, Université de Montpellier, P. 9.

Celhay M. C. 2013. Fractionnement de coproduits de pin maritime (*Pinus pinaster*) et de peuplier (*Populus tremula*) pour l'obtention d'extraits polyphénoliques à activité antioxydante : procédé d'extraction aqueuse en extracteur bi-vis et étude des conditions subcritiques. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, 320 p.

Chan S. W., Lee C. Y., Yap C. F., Wan Aida W. M. et Ho C. W. 2009. Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*citrus hystrix*) peels. *International Food Research Journal*, 16: 203-213.

Chira K., Suh J. H., C., Saucier C. et Teissèdre P. L. 2008. Les polyphénols du raisin. *Phytonutrition Fondamentale*, 6: 75–82.

Civille G. V. et Oftedal K. N. 2012. Sensory evaluation techniques - make "good for you" taste "good". *Physiology Behavior*, 107(4), 598-605.

Colin-Henrion M. 2008. De la pomme à la pomme transformée : impact du procédé sur deux composés d'intérêt nutritionnel Caractérisation physique et sensorielle des produits transformés. Thèse de Doctorat. Université d'Angers, école Doctorale d'Angers 325 p.

D.S.A. 2015. Direction des services agricoles, section statistique et prévision. Wilaya de Bejaia.

Demelin E. 2012. Le raisin et ses applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université de Limoges, Faculté de Pharmacie, 109 p.

Dib H. 2010. Rôle des ennemis naturels dans la lutte biologique contre le puceron cendré, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera: Aphididae) en vergers de pommiers. Thèse de Doctorat. Université de d'Avignon, école Doctorale SIBAGHE, 252 P.

Doumouya S. 2014. Compréhension des facteurs physiques et physiologiques impliqués dans les changements de propriétés mécaniques de la baie de raisin au cours de la maturation : impact de l'hétérogénéité de la matière première. Thèse de Doctorat. Université de NANTES, faculté des sciences et des techniques, 238 p.

El-Sayed S. A. H. 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of some Egyptian *Ficus species* leaf samples. *Food Chemistry*, 114: 1271-1277.

Fumey D. Approche architecturale de la réponse du pommier a la taille : de l'expérimentation à l'élaboration d'un modèle réactif. Thèse de Doctorat. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques Montpellier, SupAgro, 226 p.

Garcia-Jares C., Vazquez A., Lamas J. P., Pajaro M., Alvarez-Casas M. et Lores M. 2015. antioxidant white grape seed phenolics: pressurized liquid extracts from different varieties. *Antioxydants*, 4: 737-749.

Goni, I., et Serrano J. 2005. The intake of dietary fiber from grape seeds modifies the antioxidant status in rat cecum. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1877-1881.

Goupy J. 2006. Introduction aux plans d'expérience. *Technique et ingénierie : série gestion industrielle* : 3^{ème} Edition, Donod, Paris, France. PP. 324.

Grigoraş C. G. 2012. Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse de Doctorat. Université Orléans, école Doctorale sciences et technologies, 262 p.

Guo C., Yang J., Wei J., Li Y., Xu J. et Jiang Y. 2003. Antioxydant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research* 23: 1719-1726.

Guo C., Yang J., Wei J., Li Y., Xu J. et Jiang Y. 2003. Antioxydant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23: 1719-1726.

Hennebelle T., SahpazS., Bailleul F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *La Phytothérapie*. Springer-Verlag, 1 : 3-6.

Husson F et Pagès J. 2009. SensoMiner dans Evaluation sensorielle. Manuel méthodologique, 3^{ème} éd. Lavoisier, vol.23, p.16.

Jeanet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brulé G. 2008. Les produits laitiers. Lavoisier, 2^{ème} édition, Tech & Doc, Paris, France.

Kashif A., Fedarica M., Young H. C et Robert V. (2010). Metabolic of grapevine and grape-derived products. *Phytochemical Review*. 9: 357-378.

Kebe M. 2014. Incidence de traitements thermiques sur le parenchyme de Pomme (*Malus Domestica*) et diffusion des composés phénoliques. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des pays de vaucluse, école Doctorale science et agronomie, 255 p.

Kim Y. G, Kim D. O., Chun O. K., Shin D. H, Jung H., Lee C. Y. and Wilson D. B. 2005. Phenolic Extraction from Apple Peel by Cellulases from *Thermobifida fusca*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9560-9565.

Kohen R. and Nyska A. 2002. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30: 620-650.

Konte M. 1999. Le lait et les produits laitiers : développement de systèmes de production intensives en Afrique de l'ouest. Institut Sénégalais de recherches agricoles Laboratoire national de l'élevage et des recherches vétérinaires, Université de Nouakchott (RIM), P.25.

Lako J., Trenerry V. C., Wahlqvist M., Wattanapenpaiboon N., Sotheeswaran S. et Premier R. 2007. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, 101: 1727.

Lapornik B., Prosek M. et Wondra A.G. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71:214-222.

Lê S. et Husson F. (2008). SensoMiner: a package for sensory data analysis. *Journal of Sensory Studies*. 23 (1): 14-25.

Lee B.K., Jung J.F. et Choi Y.H. 2005. Optimization of microwave-assisted extraction process of *Rehmannia Radix Preparata* by reponse surface methodology. *Food Engineering Progress*, 9: 283:290.

Ling L. T., Yap S., Radhakrishnan A. K., Subramaniam T., Cheng H. M. et Palanisamy U. D. 2009. Standartised *Mangifera indica* extract is an ideal antioxydant. *Food Chemistry*, 113 : 1154-1159.

Luquet F. M., 1985. Laites et produits laitiers. 2. Les produits laitiers. Paris, Technique et Documentation, Lavoisier ; APRIA, 633 p. (Coll. Sciences et techniques agro-alimentaires)

Mahaut M., Jeantet R., Brulé G. et Schuck P. 2000. Les produits industriels laitiers. Tech &Doc. Lavoisier. Paris.

MAMF : Ministre de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Foret (2015).

Mehinagic E., Bourles E. et Jourjon F. 2011. Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. Ecole supérieure d'agriculture d'Angers. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 43 (6): 364.

Michel T. 2011. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de Doctorat. Université d'Orléans, école Doctorale sciences et technologies 289 p.

Naes T. et Risvik E. 1996. Multivariate analysis of data in sensory science. Elsevier Science, Amsterdam.

OIV : organisation internationale de la vigne et du vin (2015).

Ojeil A., El Darra N., El Hajj Y., Bou Mouncef P., Rizk T. J. et Maroun R. G. 2010. Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin chateau ksara. *Lebanese Science Journal*, 11: No. 2.

Paci Kora E. 2004. Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur ?. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique, Paris-Grignon, 258 p.

Pantelic M. M., Dabic Zagorac D. C., Davidovic S. M., Todic S. R., Bešlic Z. S., Gašic U. M., Tešic Z. L. et Natic M. M. 2016. Identification and quantification of phenolic compounds in berry skin, pulp, and seeds in 13 grapevine varieties grown in Serbia. *Food Chemistry*, 211: 243–252.

Penchev P. I. 2010. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, P. 239.

Penchev P., Angelov G., Condoret J. S. 2010. Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la Melisse (*Melissa officinalis* L.). *Revue de génie industriel*, 5 : 115-123.

Perez M. E. G. 2008. Caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune : étude de leur capacité antioxydante. Université de Laval, 147 p.

Périnel E. et Pagès J. 2004. Optimal nested cross-over designs in sensory analysis. *Food Quality and Preference*, 15(5): 439-446.

Peschel W., Sanchez-Rabaneda F., Diekmann W., Plescher A., Gartzia I., Jimenez D., Rosa Lamuela-Raventos R., Buxaderas S., Codina C., 2006. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, 97: 137-150.

Plaza M., Abrahamsson V. and Turner C. 2013. Extraction and Neoformation of Antioxidant Compounds by Pressurized Hot Water Extraction from Apple Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 5500–5510.

Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4: 25-39.

Popper P., Schlich P., Delwiche J., Meullenet J. F., Xion R., Moskovitz H., Lesniauskas R. O., Carr T. B., Eberhardt K., Rossi F., Vigneau E., Qannari P. et Markato C. 2004. Workshop summary: Data Analysis workshop: getting the most out of just-about-right data. *Food Quality and Preference*, 15: 891-899.

Proestos C., Lytoudi K., Mavromelanidou O. K., Zoumpoulakis P. et Sinanoglou V. J. 2013. Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxydants*, 2: 11-22.

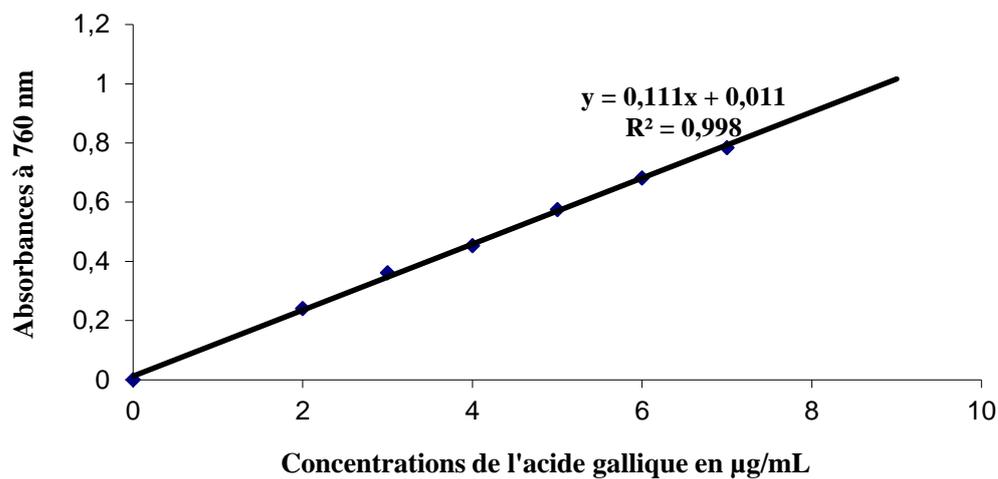
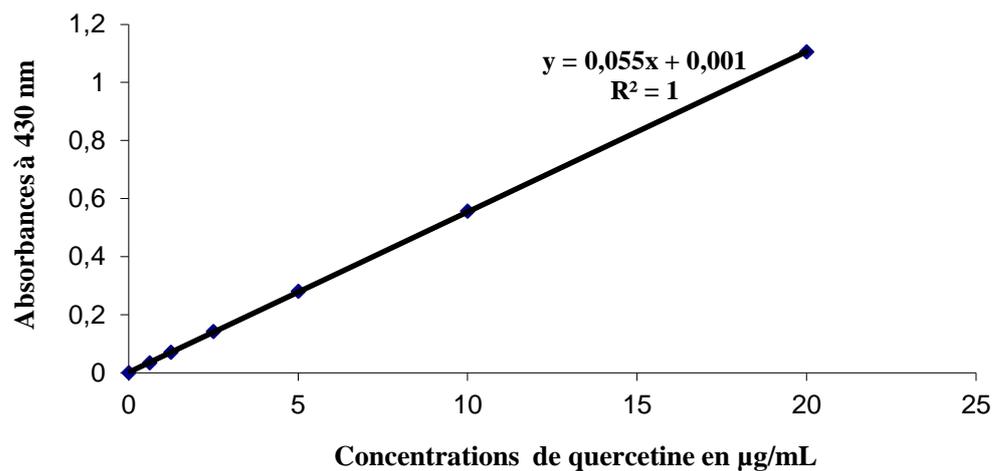
- Ribereau G. P. 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Edition : Dunod, Paris. 1-201.
- Roginsky V. et Lissi E. A. 2005.** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92: 235-254.
- Rombaut N. 2013.** Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile : aspects qualitatifs et quantitatifs. Application aux graines de lin et aux pépins de raisin. Thèse de Doctorat. Université de Technologie Compiègne, 255 p.
- Salvador M. D., Aranda F. et Fregapane G. 2001.** Influence of fruit ripening on Cornicaba virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*, 73: 45-53.
- Saucier C., Bourgeois G., Vitry C., Roux D., Glories Y., J. Agric. Food Chemistry. 1997,** 45, 1045-1049
- Schmidt T., Tourneur C., et Lenoir D. 1994.** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières. In : « bactéries lactiques ». De Roissart H. et Luquet F. Ed . Loriga. Paris. PP : 37-46.
- Sikka S. C., Rajasekaran M., Hellestrom W. J. G. 1995.** Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *Journal of Andrology*, 16:464-468.
- Spigno G., Tramelli L., De Faveri D. M. 2006.** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200–208
- Tamime A. Y. et Deeth H. C. 1980.** Yogurt : technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43, 12, 939-977.
- Tamime A. Y., Robinson R. K., 1985.** Background to manufacturing practice. *In yoghurt. Science and technology.* Pergamon press, Paris, 7-9.
- Tamime, A Y., Kalab, M., Davies, G. 1984.** Microstructure of the set-style yoghurt manufactured from cow's milk fortified by various methods. *Food Microstructure*, 3, 83-92.
- Tarascou I. 2005.** Synthèse et caractérisation de procyanidines oligomères pour l'identification de tanins du raisin et du vin. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux, école Doctorale des sciences chimiques, 201p.
- Toussaint F. 2001.** Le grain de raisin. Technorest.org.
- Tow W.W., Premier R., Jing H. and Ajlouni S. 2011.** Antioxidant and Antiproliferation Effects of Extractable and Non extractable Polyphenols Isolated from Apple Waste Using Different Extraction Methods. *Journal of Food Science*, Vol : 76. Nr :7.
- Umamaheswari M. et Chatterjee T. K. 2008.** *In vitro* antioxidant activities of the fractions of coccinia grandis L. leaf extract. *African journal complementations and alternative medicine* S(1): 61-73.

Wolfe k., wu X. et liu R. H. 2003.Antioxidant Activity of Apple Peels. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 609-614.

Xanthopoulos V., Petiadis D., et Tzanetakis N. 2001. Characterization and classification of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* strains isolated from traditional Greek yogurts. Journal of Food Science, 66 (5), 247-253.

Zhou L., Wang W., Huang J., Ding Y., Pan Z., Zhao Y., Zhang R., Hua B. et Zeng X. 2016. *In vitro* extraction and fermentation of polyphenols from grape seeds (*Vitis vinifera*) by human intestinal microbiota. Food and Function, 7: 1959–1967.

Annexes

Annexe I : Courbes d'étalonnages utilisées pour le dosage des antioxydants**Annexe I-1:** courbe d'étalonnage des polyphénols totaux**Annexe I-2 :** courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Annexe II : Tableaux récapitulatifs des différentes corrélations entre l'activité antioxydante et les teneurs en antioxydants dosés.

Epluchures de pomme	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	DPPH	Molybdate
Polyphénols totaux	1	1,00	-0,50	-0,01
Flavonoïdes	1	1	-0,50	0,00
DPPH	-0,50	-0,50	1	-0,87
Molybdate	-0,01	0,00	-0,87	1

Pépins de raisin	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	DPPH	Molybdate
Polyphénols totaux	1	-0,55	-1,0	0,50
Flavonoïdes	-0,05	1	0,55	0,44
DPPH	-1,0	0,55	1	0,55
Molybdate	0,50	0,44	-0,05	1

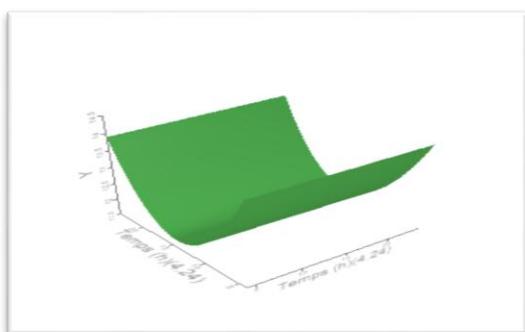
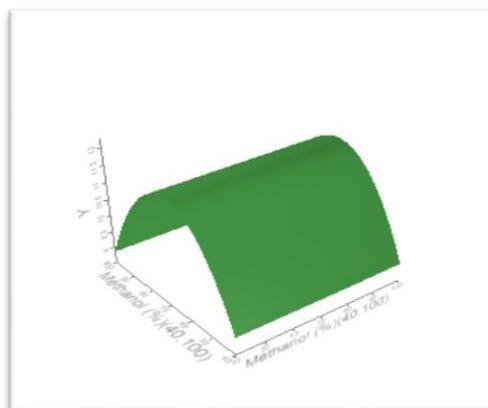
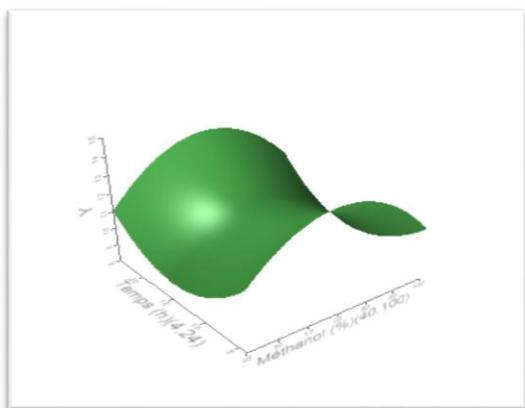
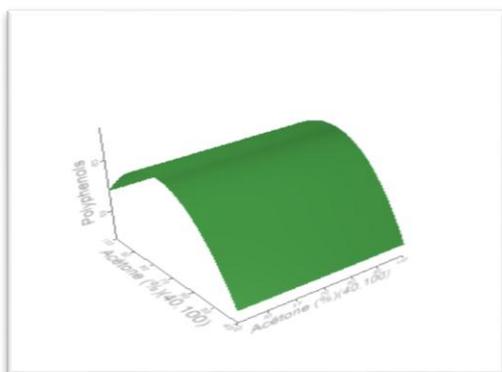
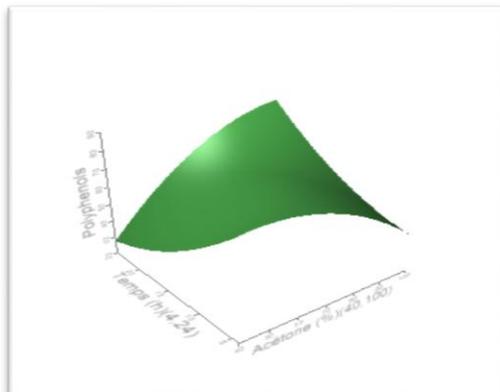
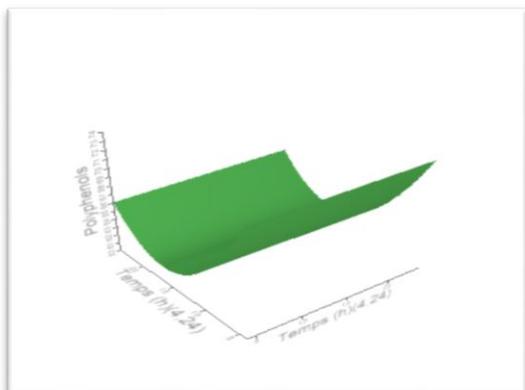
Annexe III : Solvants et réactifs utilisés au cours du travail.

Nom du produit	Formule chimique	Marque	Masse molaire (g/mol)	Pays de fabricant
Acétone	C ₃ H ₆ O	BIOCHEM Chemopharma	58,08	Québec
Acide gallique monohydrate	C ₇ H ₆ O ₂ , H ₂ O	BIOCHEM Chemopharma	188,14	Québec
Acide quercétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₇ , 2H ₂ O	Riedel-de Haën	338,27	Germany
Acide sulfurique à 96-98%	H ₂ SO ₄	BIOCHEM Chemopharma	98,07	Québec
Carbonate de sodium decahydrique à 7,7 %	Na ₂ CO ₃ · 10H ₂ O	SIGMA-ALDRICH	286,14	Germany
Chlorure d'aluminium à 2%	AlCl ₃	BIOCHEM Chemopharma	133,341	USA
DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl)	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	SIGMA-ALDRICH	1235,86	Germany
Ethanol	C ₂ H ₆ O	SIGMA-ALDRICH	46,07	Germany
Folin-Ciocalteu 1/10	-	BIOCHEM Chemopharma	-	France
Hydroxyde de sodium	NaOH	BIOCHEM Chemopharma	39,997	Quebec
Iodure de potassium	KI	BIOCHEM Chemopharma	166,00	Quebec
Méthanol à 99%	CH ₃ OH	GPR RECTAPUR	32,00	France
Molybdate d'ammonium tetrahydrique	H ₂₄ MO ₇ N ₆ O ₂₄ · 4H ₂ O	BIOCHEM Chemopharma	1235,86	Quebec
Tétrachlorure de carbone	CCL ₄	BIOCHEM Chemopharma	153,83	Quebec
Thiosulfate de sodium	Na ₂ S ₂ O ₃	BIOCHEM Chemopharma	158,10	Quebec
Phénol phtaleine	C ₂₀ H ₁₄ O ₄		318,32	
Phosphate de sodium	NaH ₂ PO ₄ , 2H ₂ O	BIOCHEM Chemopharma	1561,01	Quebec

Annexe IV : Le matériel utilisé au cours du travail.

Matériel	Les appareils
<ul style="list-style-type: none">✓ Béchers✓ Burette graduée✓ Cuve en verre et en quartz✓ Eprouvettes graduées✓ Pipettes graduée✓ Tubes à essais✓ boîtes de pétri✓ embouts✓ écouvillons✓ erlenmeyer✓ Baro magnétique✓ Tamis✓ pH-mètre✓ viscosimètre (BROOK FIELD ROV)✓ erlenmeyer✓	<ul style="list-style-type: none">✓ Bain-marie (RAYPA)✓ Balance de précision (SUMSUNG)✓ Micropipettes✓ Plaque magnétique agitatrice (VELP SCIENTIFICA)✓ Réfrigérateur (SAMSUNG)✓ Spectrophotomètre (UV-Vis Spectrophotometer, Spectro Scan 50)✓ Vortex (VELP SCIENTIFICA)✓ bec benzène✓ hôte (FASTER TWO 30)✓ étuve ventilée✓ broyeur (IKA)✓ pompe à vide (VELP scientifica)✓ micropipette

Annexe V: Différentes interaction de différents paramètres (solvant, temps, température) des extraits de pépins de raisin et d'épluchures de pomme.



Annexe VI : Questionnaire d'évaluation sensorielle de trois types de yaourt

Age :

Sex : féminin masculin

date :

Trois échantillons du yaourt codés **A**, **B** et **C** vous sont présentés, il vous est demandé de cocher la case correspondante aux descripteurs appropriés.

NB : veuillez rincer votre bouche à chaque dégustation d'un échantillon.

1- Odeurs :

1 : très forte

2 : forte

3 : moyenne

4 : faible

5 : absente

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

2- Couleur :**1- La couleur du yaourt vous l'appréciez :**

1 : très bien

2 : bien

3 : moyen

4 : peu

5 : n'est pas apprécié

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

3- Texture:**1- Texture en bouche:**

1 : très lisse

2 : lisse

3 : moyenne

4 : granuleuse

5 : très granuleuse

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

2- Consistance quand on mélange (veuillez remuez 10 fois) :

1 : très mou

2 : mou

3 : moyenne

4 : ferme

5 : très ferme

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

4 –Sensation en bouche :**1- Gout sucré :**

- 1 : très fort
- 2 : fort
- 3 : moyen
- 4 : faible
- 5 : absent

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

5- Saveur :**1- Gouts fruités :**

- 1 : très fort
- 2 : fort
- 3 : moyen
- 4 : faible
- 5 : absent

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

2- Acidité :

- 1 : très forte
- 2 : forte
- 3 : moyenne
- 4 : faible
- 5 : absente

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

3- Parfum identifié :

- 1 : basilic
- 2 : citron
- 3 : vanille
- 4 : orange
- 5 : fraise

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

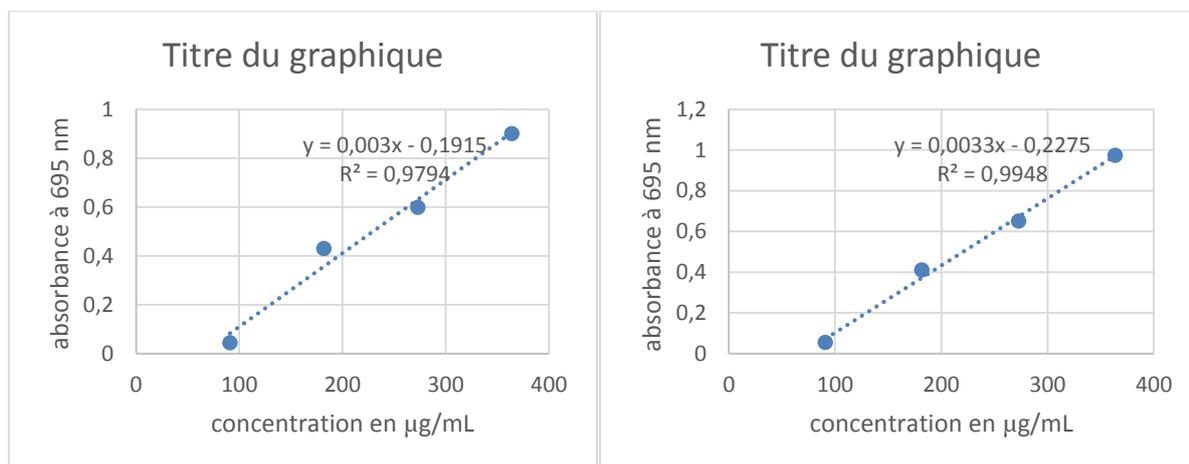
6- Attribuez une note allant de 1 à 9 pour chaque échantillon, sachant que 1 correspond à l'échantillon le moins préféré et 9 au plus préféré :

	Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C
Note			

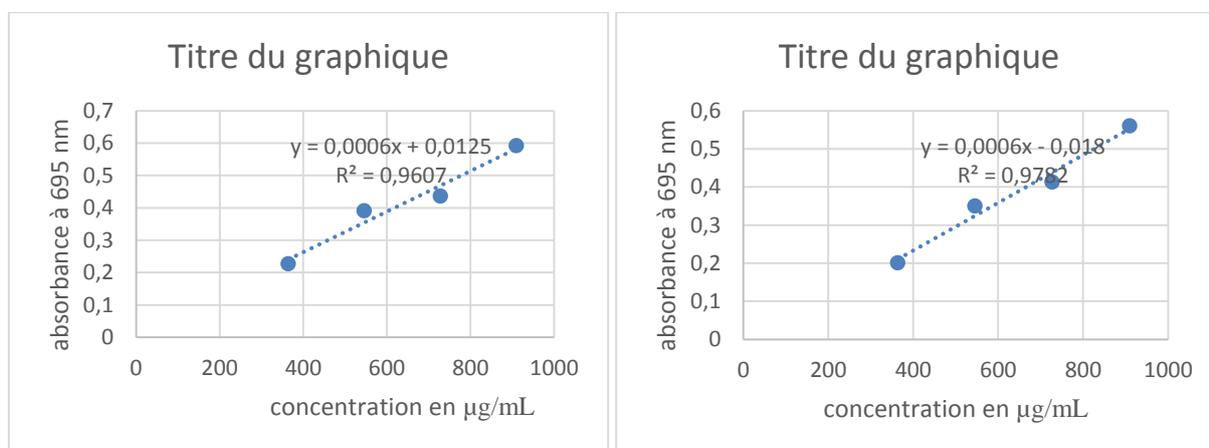
Merci pour votre coopération

Anexxe VII : courbe d'étalonnage utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante

Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur au phosphomolybdate de pépins de raisin



Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur au phosphomolybdate des épiluchures de pomme



Résumé

Dans la présente étude, les extraits de pépins de raisins et d'épluchures de pomme ont été étudiés pour optimiser les paramètres d'extraction des antioxydants (composés phénoliques) en utilisant le plan composite central. Les conditions expérimentales optimales permettant une maximisation de l'extraction des polyphénols des pépins de raisins sont : le solvant (acétone) à une concentration de 70% (v/v) pour un temps de 14 heures avec une poudre < 250 µm. Pour les épluchures de pomme sont le méthanol à une concentration de 70% (v/v) pour un temps de 14 heures avec une poudre < 1000 µm. Une quantification des polyphénols totaux (PPT) et des flavonoïdes (FT) et une évaluation de l'activité antioxydante (pouvoir anti-radicalaire et réducteur) des échantillons étudiés ont été effectués. L'extrait de pépins de raisins a donné la teneur la plus élevée avec une différence significative à $P \leq 0,05$ en PPT (56,5 mg EAG/g de MS). Cependant, l'extrait d'épluchures de pommes est plus riche en flavonoïdes (6,61 mg EQ/g de MS). Une bonne corrélation positive a été enregistrée entre les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiées et leur activité antioxydante. Les poudres des deux échantillons ont été ensuite utilisées avantageusement dans un produit laitier dont le but est l'enrichissement du yaourt. A cet effet, des formulations du yaourt ont été élaborées à base de ces poudres. Les résultats des analyses microbiologiques des trois yaourts fabriqués montrent leur conformité aux normes. En outre, le test de dégustation a permis de faire ressortir le classement de préférence où le yaourt enrichi par la poudre de pépins de raisins est en première position.

Mots clés : Optimisation, extraction, pépins de raisins, épluchures de pommes, polyphénols, activité antioxydante, yaourt.

Abstract

In the present study, the extracts of grape seeds and apple peeling were studied to optimize the extraction parameters of antioxydants (phenolic compounds) by using the composite experimental design plane central. The optimal experimental conditions allowing a maximization of the extraction of polyphenols of the grape seeds are: the solvent (acetone) with a concentration of 70% (v/v) for a 14 hours time with a powder < 250 µm. For the apple peeling the conditions are: methanol with a concentration of 70% (v/v) for a 14 hours time with a powder < 1000 µm. A quantification of total phenolic compounds (TPP) and flavonoïds (TF) and an evaluation of antioxydant activities (antiradical and reducer capacity) of the studied samples were carried out. The grape seeds extract showed significantly at $P \leq 0,05$ a high TPP content (56.5 mg GAE/g DM). However, the apple peeling extract is richer in flavonoids (6.61 mg QE/g DM). A good positive correlation was found between phenolic compounds content and the antioxydant activity of the extracts. The powders of the studied samples were used advantageously in a dairy product of which the goal is the enrichment of yoghurt. For this purpose formulations of yoghurt were elaborate containing these powders. The results of microbiological analysis of the three elaborate yoghurts showed their standards compliance. Besides, the test of tasting bring out the rankings preferably where in the yoghurt enriched with the grape seeds powder is in the first position.

Keywords: Optimization, extraction, grape seeds, apple peelings, phenolic compounds, antioxydant activity, yoghurt.

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Sciences Alimentaires
Option : Industrie Laitière



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Optimisation de l'extraction des
antioxydants et préparation d'un yaourt à
base de pépins de raisin et d'épluchures de
pomme**

Présenté par :

Merchiche Farid & Mokhtari Safia

Soutenu le : **15 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

M^{me} Bouali N.

MAA

President

M^{elle} Brahmi F.

MAA

Encadreur

M^{elle} Issaadi O.

MAA

Examineur

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciements

Nous tenons à remercier vivement :

Notre promotrice M^{elle} Brahmi F. d'avoir accepté de nous encadrer, ainsi que pour sa générosité, sa disponibilité permanente et sa bonne humeur.

Nos remerciements s'adressent également à :

M^{me} Bouali N. de présider le jury ;

M^{elle} Issaadi O. d'avoir accepté d'examiner notre travail ;

A M^{me} Yalaoui D. pour ses conseils, son aide et sa disponibilité ;

Nos sentiments de reconnaissance vont également à toute personne ayant participé de près ou de loin à élaborer ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur soutien moral et financier. Je les remercie d'autant que ne remercie personne

Mes chaleureux dédicaces sont aussi destinés à :

.Mes frères (Allaoua et sa famille, Youcef et sa famille, M'hand, Lounis) et sœurs (Ourida, Taous);

. Tous mes cousins et cousines ;

. Tous mes amis ;

.Ma binôme Safia et à toute sa famille ;

.A ceux qui m'ont soutenu de loin et de près ;

.A toute la promotion Science Alimentaire 2015-2016.

Farid

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur soutien moral et financier. Je les remercie d'autant que ne remercie personne

Mes chaleureux dédicaces sont aussi destinés à :

.Mes chères et adorables sœurs ;

.Mes chers frères ;

.Tous mes proche et mes amis sans exception ;

.Mon binôme Farid et à toute sa famille ;

.A ceux qui m'ont soutenu de loin et de près ;

.A toute la promotion Science Alimentaire 2015-2016.

Safia

Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

I Généralité sur le raisin.....3

I-1 Production mondiale et locale du raisin.....4

I-2 Etude des pépins.....5

II Généralité sur la pomme.....6

II-1 Production mondiale et locale de la pomme.....7

II-2 Etude des épluchures de pomme.....8

III Généralité sur les composés phénoliques.....9

III-1 Activité antioxydante.....9

III-1-1 Antioxydants.....9

III-1-2 Stress oxydatif.....10

III-1-3 Activité antioxydante des composés phénoliques.....10

IV- Généralité sur le yaourt.....11

IV-1 Matière première de la fabrication du yaourt.....11

IV-2 Le Yaourt.....11

IV-2-1 Définition.....11

IV-2-2 Réglementation.....11

IV-2-3 Structure et comportement rhéologique.....12

IV-2-4 Intérêt nutritionnelle et thérapeutique.....13

Matériels et méthodes

1 Matériel végétal.....14

1-1 Test d'humidité.....	14
1-2 Extraction des antioxydants.....	14
1-2-1 Optimisation d'extraction des antioxydants.....	15
1-3 Dosage des antioxydants.....	17
1-3-1 Polyphénols totaux.....	17
1-3-2 Flavonoïdes.....	17
1-4 Evaluation de l'activité antioxydante.....	18
1-4-1 Piégeage du radical DPPH°.....	18
1-4-2 Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium.....	18
1-5 Formulation et caractérisation des yaourts.....	19
1-5-1 Fabrication des yaourts.....	19
1-5-2 Caractérisation des yaourts.....	20
1-5-3 Evaluation sensorielle.....	21
1-6 Analyse statistique.....	21

Résultats et discussion

2-1 Test d'humidité.....	23
2-2 Optimisation des conditions d'extraction des antioxydants.....	23
2-2-1 Essais préliminaires.....	23
2-2-2 Plan d'expérience.....	27
2-3 Dosages des antioxydants.....	29
2-3-1 Polyphénols totaux.....	29
2-3-2 Flavonoïdes.....	30
2-4 Evaluation de l'activité antioxydante.....	31
2-4-1 Pouvoir antiradicalaire (DPPH°).....	31
2-4-2 Pouvoir réducteur.....	33
2-5 Le yaourt.....	34
2-5-1 Analyses physico-chimiques.....	34

2-5-2 Analyses microbiologiques.....	35
2-5-3 Analyse hédonique.....	35
2-5-3-1 Test du plan d'expérience avec XL Stat-MX.....	36
2-5-3-2 Pouvoir discriminant par descripteur.....	36
2-5-3-3 Les coefficient des modèles.....	38
2-5-3-4 Les moyennes ajustées par produit.....	40
2-5-3-5 Test d'analyse des pénalités.....	41
2-5-3-6 Analyse des données des préférences des consommateurs.....	43
Conclusion	44
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

CP: Centi Poise

EP: Epluchure de pomme

FAO: Food and Agriculture Organisation

FAO: Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

FIL: Fédération International de Laitière

GN: gélose nutritive

Ha: Hectare

J O R A D P: Journal officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire

LSD: Least Significant Différence

M17: Gélose M17

Mha: Milliers d'hectares

Mioqx: Millions de quintaux

MRS: Gélose de De Man, Rogoza et Sharpe

MS: Matière sèche

OPC: Oligomères proanthocyanidiques de catéchine et d'épicatéchine.

PCA: Plate Count Agar (gélose pour dénombrement)

PR: Pépin de raisin

Qx: Quintaux

RMS: Méthode de surface de réponse

RO·: Superoxydes

ROO·: Alkoxydes

ROS: Surproduction des espèces réactives de l'Oxygène

VRBL: Gélose Lactosés Biliée au Crislal Violet et au Rouge neutre

YEP: Yaourt à base d'épluchures de pomme

YGC: Yeast glucose chloramphenicol

YPR: Yaourt à base de pépins de raisin

YT: Yaourt témoin

Liste des figures

Figure 1: Anatomie d'une grappe et d'une baie de raisin	3
Figure 2: Production totale en pourcentage du raisin à la Willaya de Bejaia.....	4
Figure 3: Structure du pépin	5
Figure 4 : Organisation tissulaire de la pomme.....	7
Figure 5 : Production totale en pourcentage de la pomme à la willaya de Bejaia.....	7
Figure 6 : Diagramme de fabrication d'un yaourt à base de poudre de pépins de raisin et d'épluchures de pomme.....	19
Figure 7 : Effet de type du solvant sur la teneur en polyphénols.....	24
Figure 8 : Effet du temps sur la teneur en polyphénols.....	25
Figure 9 : Effet de la granulométrie sur la teneur en polyphénols.....	26
Figure 10 : Plan de prédiction réelle d'épluchures de pomme et de pépins de raisins.....	28
Figure 11 : surface de réponse de l'interaction (solvant- temps) des pépins de raisin et d'épluchures de pomme.....	28
Figure 12 : Teneur moyenne en polyphénols totaux	29
Figure 13 : Teneurs moyennes en flavonoïdes	30
Figure 14 : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait d'épluchures de pomme et de pépins de raisin.....	31
Figure 15 : pouvoir réducteur de l'extrait d'épluchure de pomme et de pépins de raisin.....	33
Figure 16 : Pouvoir discriminant par descripteur des experts et des naïfs.....	37
Figure 17 : Coefficient des modèles des 3 échantillons des sujets experts.....	38
Figure 18 : Coefficient des modèles des 3 échantillons des sujets naïfs.....	39
Figure 19: Pénalités de l'échantillon A des experts et des naïfs	41
Figure 20: Pénalités de l'échantillon B des experts et des naïfs	42
Figure 21: Pénalités de l'échantillon C des naïfs des naïfs.....	42
Figure 22 : Préférence générale des consommateurs.....	43

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I : La composition moyenne du raisin pour 100 g nets de fruit.....	3
Tableau II : Composition des différentes parties du grain de raisin.....	4
Tableau III : Composition biochimique des pépins en pourcentage de poids frais.....	6
Tableau IV : Optimisation de solvant d'extraction.....	16
Tableau V : Optimisation de temps d'extraction.....	16
Tableau VI : Optimisation de la granulométrie.....	16
Tableau VII : analyses microbiologiques des yaourts préparés.....	21
Tableau VIII : Optimisation des conditions d'extraction par le plan d'expérience plan central composite des échantillons étudiés.....	27
Tableau IX : pouvoir anti-radicalaire de l'extrait de pépins de raisin et d'épluchure de pomme.....	32
Tableau X : Les paramètres physico-chimiques des trois yaourts préparés.....	34
Tableau XI : Résultats des analyses microbiologiques des yaourts formulés.....	35
Tableau XII : Résultats du l'évaluation du plan.....	36
Tableau XIII : Moyennes ajustées par produit pour les experts.....	40
Tableau XIV : Moyennes ajustées par produit pour les sujets naïfs.....	40

Introduction

Introduction

Les études épidémiologiques et expérimentales indiquent une corrélation négative entre la consommation des régimes riches en fruits et légumes et les risques de maladies angiogéniques chroniques, telles que les maladies cardio-vasculaires, l'arthrite, l'inflammation chronique, et les cancers. Ces fonctions physiologiques des fruits et légumes peuvent être en partie attribuées à leur richesse en composés phénoliques. Les avantages liés à la consommation des aliments contenant ces métabolites secondaires sont associés à leur activité antioxydante (El Hajaji *et al.*, 2011).

Une partie de ces molécules bioactives peuvent se retrouver aussi dans les résidus obtenus lors de la transformation des fruits. La valorisation des fruits sous forme de produits séchés, concentrés, congelés, etc. conduit à l'apparition d'une gamme variée de sous-produits et déchets composés notamment de pulpe de fruits, de peaux et de pépins (Grigoras, 2012). Les déchets industriels de la pomme et des raisins pourraient être une bonne source d'antioxydants naturels (Tow *et al.*, 2011). Les sous-produits de ces fruits sont connus par leur richesse en antioxydants naturels notamment les composés phénoliques (Garcia-Jares *et al.*, 2015).

Ces antioxydants connaissent un intérêt croissant pour des applications dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. En effet, leur utilisation est encouragée, car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, une mauvaise presse parmi les consommateurs. Il existe donc un besoin de production d'extraits riches en antioxydants à partir de différentes sources végétales y compris les co-produits d'industries agro-alimentaires (Alessandro *et al.*, 2012).

Les composés phénoliques peuvent être isolés facilement à partir d'un tissu végétal par extraction avec des solvants organiques, mais la procédure de l'extraction est influencée par plusieurs paramètres tels que : la nature chimique de ces composés, la méthode d'extraction utilisée, la dimension des particules d'échantillon et le temps d'extraction. Une autre difficulté doit être prise en considération qui est la susceptibilité des polyphénols à l'oxydation. Chaque matériel végétal a ses propriétés uniques en termes d'extraction de ces composés (Telli *et al.*, 2010).

Il est bien connu que les produits laitiers frais fermentés comme le yaourt sont des aliments de grande consommation dans beaucoup de pays. L'évolution actuelle du marché des

produits alimentaires incite l'industrie de la transformation à élaborer sans cesse de nouveaux produits. Le yaourt est l'un des produits laitiers les plus vendus sur le marché du fait de la diversification de la gamme disponible. Le yaourt par lui-même en plus de son importance nutritionnelle, a été identifié pendant longtemps en tant que nourriture saine due à l'action bénéfique de ses bactéries vivantes (Tamime et Robinson, 1985). De nombreuses recherches ont été conduites sur l'enrichissement des yaourts en vue de l'amélioration de leurs propriétés sensorielles et rhéologiques (Amellal, 2008).

Ainsi, ce travail de recherche vise à répondre à plusieurs questions notamment :
Quelles sont les meilleures conditions d'extraction d'antioxydants (composés phénoliques) à partir des poudres de résidus de deux fruits (la pomme et les raisins) largement cultivés et consommés dans la région de Bejaia ?
Est-ce que les yaourts qui seront enrichis par les antioxydants de poudres de ces sous-produits vont être appréciés par le consommateur ? Et quelle sera sa préférence ?

Dans ce contexte, le travail présenté dans ce mémoire vise à une optimisation des conditions d'extraction d'antioxydants dont le but est de valoriser les pépins de raisin et les épiluchures de pomme en tant que sous-produits au regard de leur impact sur la santé par leur profusion en substances à vertu antioxydante. A cet effet trois formulations de yaourts à base de poudres issues des sous-produits utilisés ont été élaborées.

Pour cela notre travail est divisé en trois parties :

- Une partie consacrée pour la synthèse bibliographique ;
- Une partie consacrée à la description du matériel et des méthodes utilisées ;
- Partie résultats et discussions ;

La dernière partie concerne la conclusion tirée de ce travail et les futures perspectives.

*Synthèse
bibliographique*

I-Généralités sur le raisin

Le raisin est le fruit amélioré de la vigne cultivée (*Vitis vinifera*) (Amira-Guebailia, 2007). C'est le fruit le plus cultivé au monde en raison de son utilisation dans la production de vinicole (Kashif *et al.*, 2009). En effet, selon un rapport de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) concernant le marché mondial du fruit, le raisin représente 14,6% de la production mondiale de fruits juste après l'orange, ce qui représente près de 68 millions de tonnes de raisins produits (Chira *et al.*, 2008).

Le raisin se présente sous la forme de grappes (Amira-Guebailia, 2007). Qui sont constituées de deux parties : la rafle, qui en est la charpente et le fruit dit grain ou baie de raisin. Cette dernière se compose de trois constituants : la pellicule, la pulpe et les pépins de raisin. En général, la rafle représente de 3 à 6% de la grappe mûre, et la baie en constitue de 94 à 97%. La pulpe représente 75 à 85% du poids des baies, les pellicules de 15 à 20% et les pépins de 3 à 6% (Rombaut, 2013). L'anatomie d'une grappe et d'une baie de raisin est illustrée en figure 1.

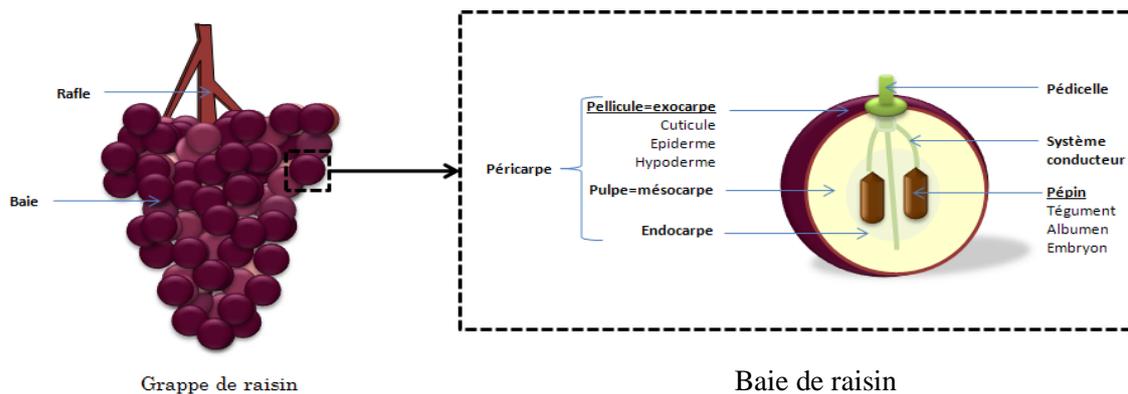


Figure 1: Anatomie d'une grappe et d'une baie de raisin (Doumouya, 2014).

Le raisin est l'un des fruits les plus riches en glucides (sucres), cependant les protides et les lipides ne sont que faiblement représentés (Aprifel, 1993). La composition moyenne du raisin est donnée en tableau I.

Tableau I : La composition moyenne du raisin pour 100 g nets de fruit (Aprifel, 1993).

	Masse (g)	Variation possible
Glucides	17	15-20
Protides	0,6	0,5-1
Lipides	0,2	0,3-0,6
Eau	81	77-83
Fibres alimentaires	0,7	0,5-0,9

Chaque élément qui compose le grain de raisin renferme des substances indispensables et complémentaires (tableau II) (Toussaint, 2001).

Tableau II : Composition des différentes parties du grain de raisin (Toussaint, 2001).

Partie	Composition
La rafle	Eau, tanins, acides
La pellicule	Matières colorantes, vitamines
La pruine	Réserve des ferments
La pulpe	Eau, sucre, acide
Les pépins	Matières oléagineuses (huile)

Le raisin est depuis longtemps réputé pour son action favorable sur la santé, grâce à son contenu en vitamines, acides organiques, polyphénols, minéraux et sucres facilement assimilables (Demelin, 2012). De nombreuses études épidémiologiques ont maintenant démontré les effets bénéfiques de la consommation des raisins, de jus de raisin et de vin sur de nombreuses pathologies en particulier les maladies cardiovasculaires, les cancers et le diabète de type 2 (Carbonneau *et al.*, 2012).

I-1 Production mondiale et locale du raisin

En 2014/2015 la superficie viticole mondiale s’élève à 7573 mha (milliers d’hectares), et la production mondiale du raisin atteint 737 Mioqx (millions de quintaux) (OIV, 2015). Pour la superficie complantée du vignoble à la Wilaya de Bejaia est de 460,66 ha avec une superficie en rapport de 450,75 ha. La production du raisin totale obtenue est estimée à 29195 qx (figure 2) (DSA, 2015).

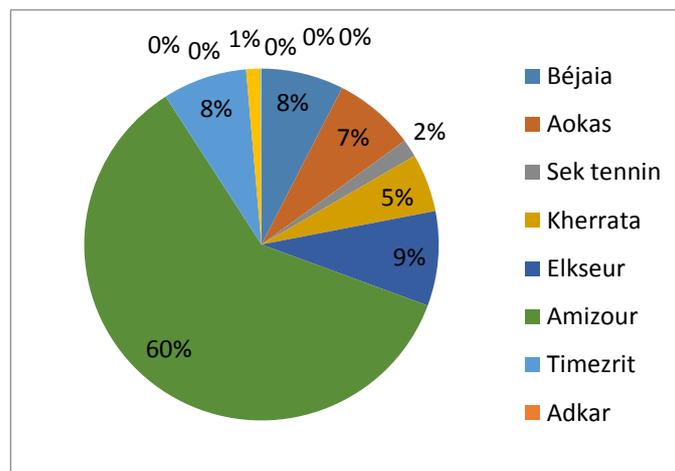


Figure 2: Production totale en pourcentage du raisin à la Wilaya de Bejaia (DSA, 2015).

Grâce aux progrès scientifiques et technologiques, de nombreux co-produits du raisin ont vu le jour durant le vingtième siècle. L'obtention de ces différents dérivés du raisin peut se faire en faisant subir au raisin lui-même, des transformations pouvant être physiques ou chimiques. Le but des recherches scientifiques est d'inclure les polyphénols du raisin dans le traitement de nombreuses pathologies (Demelin, 2012). Ainsi, nous nous sommes intéressés à l'étude des pépins de raisin dans ce présent travail.

I-2 Étude des pépins

Les pépins représentent jusqu'à 6 % du poids total de la baie. En principe, en nombre de quatre dans la plupart des cépages, leur nombre peut varier à la suite de mauvaises fécondations des fleurs (Doumouya, 2014). Les pépins font partie des graines albuminées. Chaque pépin est composé d'un embryon entouré d'un albumen. L'ensemble des trois parties du tégument (interne, intermédiaire et externe) constitue la coque ligneuse du pépin, entourant l'albumen. Enfin, une fine cuticule constitue la dernière assise cellulaire du pépin (Rombaut, 2013). La figure 3-a et b illustrent la structure de pépins de raisin, ainsi que les différentes parties qui le composent. La couleur des pépins évolue du vert au marron au cours de leur développement. Les modifications de couleur des pépins seraient dues à l'oxydation de composés phénoliques présents dans le tégument (Rombaut, 2013).

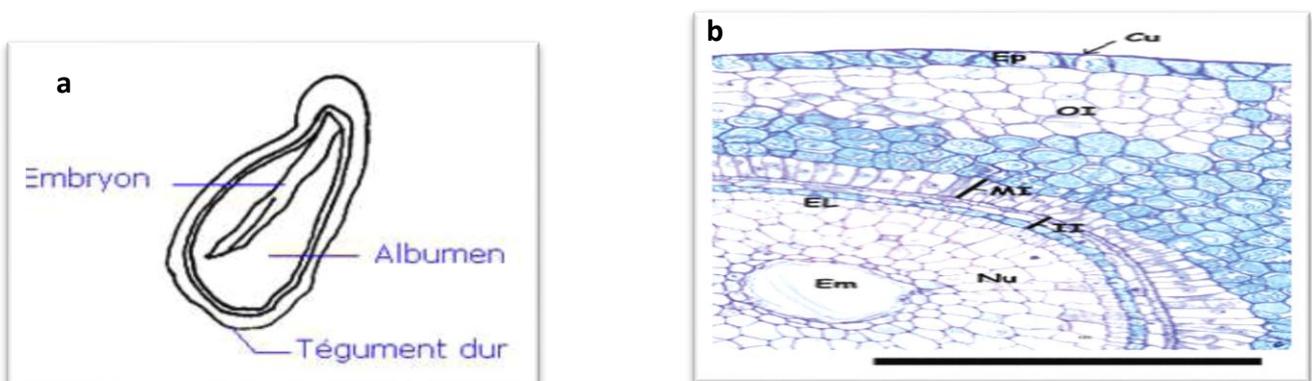


Figure 3: Structure du pépin (a) (Demelin, 2012). et du pépin de raisin à 11 jours après floraison marquée au bleu de Toluidine : cuticule (Cu), épiderme (Ep), enveloppe externe (OI), enveloppe moyenne (MI), enveloppe interne (II), albumen (Nu), embryon (Em) Bar=10µm (Doumouya, 2014).

La composition biochimique globale des pépins matures est donnée dans le tableau III.

Tableau III : Composition biochimique des pépins en pourcentage de poids frais (Rombaut, 2013).

Composé	%
Eau	25 – 45
Composé glucidique	34-36
Lipidique	8-13
Polyphénol	4-10
Composés azotés	4-6.5
Minéraux	2-4

- **Valeur nutritionnelle**

Le pépin de raisin contient une quantité élevée d'huile comestible de très grande qualité, connue pour ses vertus alimentaires et ses propriétés diététiques. Autre son utilisation en diététique, elle est aussi employée pour la fabrication de produits cosmétiques : sa richesse en acides gras essentiels alliée à une grande fluidité, en fait une excellente huile de massage. Les pépins de raisins étant très riches en OPC (oligomères proanthocyanidiques de catéchine et d'épicatéchine), nous en retrouvons une grande quantité dans l'huile. Elle a également des propriétés antioxydantes qui vont lui permettre de lutter contre les radicaux libres et donc contre le vieillissement prématuré des cellules : elle aide à combattre les rides et le relâchement cutané et à renforcer la fibre capillaire (Demelin, 2012).

Les OPC des pépins de raisin, grâce à leur action anti-radicalaire, sont de très bons anti-âge; mais ils ont aussi des propriétés exfoliantes, adoucissantes, rafraichissantes, régénérantes et nourrissantes. Les OPC extraits des pépins de raisin sont beaucoup plus efficaces que la vitamine E dans la lutte contre les radicaux libres. L'activité des OPC serait 10 000 fois plus puissante que celle de la vitamine E (Demelin, 2012).

II- Généralités sur la pomme

La pomme est le fruit du pommier commun, *Malus domestica*, de la famille des Rosacées (sous famille des Pomoïdés). D'un point de vue botanique, la pomme est une baie, c'est-à-dire un fruit charnu sans noyau dur (Colin-Henrion, 2008). À maturité, en partant de l'extérieur, le fruit du pommier est constitué de trois zones (figure 4) :

–l'épiderme (peau), zone où les cellules sont surmontées par la cuticule ;

–le mésocarpe ou parenchyme (chair), zone constituée de plusieurs couches de cellules allongées dans le sens tangentiel et à paroi épaisses ;

– l’endocarpe, zone profonde contenant les pépins, aussi appelés le trognon.

Le mésocarpe occupe la majeure partie du fruit ; c’est le tissu le plus consommé. Les cellules des différents tissus sont constituées de plastides, de pigments assimilateurs (chlorophylles, caroténoïdes) et d’une vacuole qui occupe 80 à 90 % du volume cellulaire. Les cellules sont par ailleurs entourées d’une paroi semi-rigide et complexe caractéristique des végétaux (Kebe, 2014).

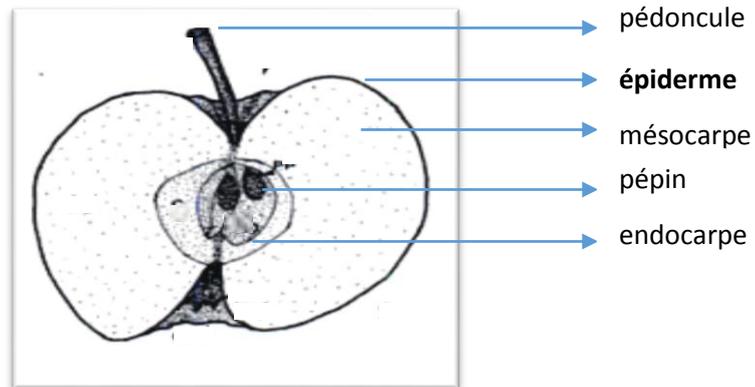


Figure 4 : Organisation tissulaire de la pomme (Colin-Henrion, 2008).

II-1 Production mondiale et locale de la pomme

La production mondiale de la pomme est de plus de 69,5 millions de tonnes, dont 29,8 millions de tonnes en Chine, premier producteur mondial, qui a multiplié par 2 sa production en 10 ans (FAO, 2008) (Fumey, sd). En 2012 la superficie complantée de pommier était de 4,8 millions d’hectares et une production totale de 70,89 million tonne (MAAF, 2015).

En 2014/2015 la superficie complantée de pommier à la Wilaya de Bejaia est de 627,51 ha avec une superficie en rapport de 619,06 ha. La production de pomme totale obtenue est estimée à 13400 qx (figure 5) (DSA, 2015).

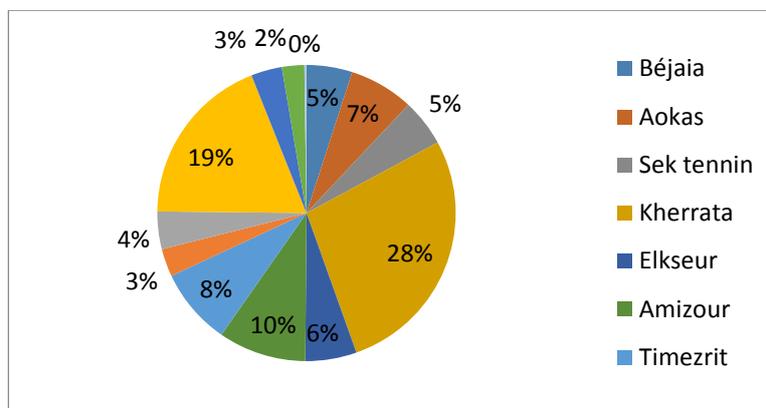


Figure 5 : Production totale en pourcentage de la pomme à la willaya de Bejaia (DSA, 2015).

La pomme est l'un des fruits les plus largement consommés, dû en partie à ses effets positifs sur la santé (Plaza *et al.*, 2013). En effet, elle est le quatrième fruit le plus consommé

après les agrumes, la banane et le raisin (Dib, 2010). C'est une source riche essentiellement en eau (85,6 %), et en glucides (13,8 %). Elle est aussi riche en fibres avec une teneur moyenne de 2,4g/100g, en sels minéraux, pectine, vitamines et acides organiques (Bourles, 2010). Cette richesse en fibres s'accompagne par ailleurs d'une teneur intéressante en polyphénols : en moyenne 180 mg en équivalent acide gallique pour 100 g de fruit frais (Kebe, 2014). La majeure partie de la littérature rapportée s'est concentrée sur les compositions et la fonction des polyphénols extractibles de pomme. Les flavanols (catéchine et proanthocyanidins) sont la classe principale des polyphénols de pomme (71% 90%) (Tow *et al.*, 2011). Les polyphénols de la pomme sont la principale source du fort potentiel antioxydant de ce fruit (Kebe, 2014).

Beaucoup de résidus agricoles et de sous-produits de l'industrie alimentaire contiennent une série de composés phénoliques qui sont associés à la prévention des maladies dégénératives, et ceci peut être attribué à leur action comme antioxydants. Récemment, l'extraction phénolique à partir des déchets agricoles et industriels a recueilli une grande attention parce qu'elles pourraient être une source commerciale sûre d'antioxydants.

Puisque la peau de pomme pourrait fournir des effets bénéfiques sur la santé, son utilisation appropriée est souhaitable (Kim *et al.*, 2005).

II-2 Etude des épluchures de pomme

La composition chimique de la pomme est affectée par différents facteurs tels que la variété, la maturité, la saison de la récolte, la région géographique etc. Les pommes et leurs résidus sont riches en fibres diététiques, protéines, vitamines (C, B1, B2, B3, B6, B9) et minéraux (Ca, Mg, Na, K, P, S, Fe, Zn). Elles contiennent également des quantités importantes de sucres (Grigoras, 2012). Les polyphénols sont repartis très différemment dans le fruit : ils sont nettement plus abondants dans la peau que dans la chair (Kebe, 2014).

Les peaux de pomme qui représentent jusqu'à 10% du fruit entier de pomme, pourraient être une excellente source des antioxydants naturels et des composés bioactifs qui peuvent contribuer à l'amélioration de la santé des personnes. Les composés phénoliques sont un autre type de composés bioactifs. Parmi les composés phénoliques de pommes et de leurs résidus nous pouvons citer : les acides phénoliques et les flavonoïdes (Grigoras, 2012).

- **Données nutritionnelles**

Les résidus de pommes sont une source de fibres (Grigoras, 2012). Ces fibres sont notamment à l'origine des effets bénéfiques de la consommation de pomme sur le taux de

cholestérol. Selon une étude menée sur une trentaine de sujets, la réponse du cholestérol à la consommation de pommes a montré des réductions. La pomme, spécialement la peau des pommes ayant une forte activité antioxydante, peut fortement inhiber la croissance des cellules cancéreuses du foie ou du colon *in vivo*. La peau de ce fruit représente environ 83 μmol de vitamine C; ce qui signifie que l'activité antioxydante de 100g de pomme équivaut à 1500 mg de vitamine C alors qu'en réalité la quantité de vitamine C dans la pomme est seulement de 5,7mg. La vitamine C est un puissant antioxydant, mais les recherches ont montré que presque l'essentiel des activités antioxydantes de la pomme proviennent des composés phénoliques. En réalité, la vitamine C ne contribue qu'à 0,4% de l'activité antioxydante totale de la pomme (Kebe, 2014).

Les sous-produits de la pomme ont beaucoup d'application en agroalimentaire. Ils sont utilisés pour l'obtention de la gelée, d'huile végétale, du vinaigre et de l'alcool alimentaire et de la levure boulangère. Ils sont également exploités comme substrat pour la production de champignons comestibles et comme de bio-adsorbants pour le traitement des eaux résiduelles (Grigoras, 2012).

III- Généralités sur les composés phénoliques

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes, un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hannebelle *et al.*, 2004).

Ces métabolites secondaires ont un rôle antioxydant protecteur pour les végétaux contre les agressions de l'environnement (température, lumière) ou de pathogènes (Mehinajic, 2011). Par ailleurs ils sont bénéfiques pour l'Homme vis-à-vis de certaines maladies de par leur action sur le métabolisme humain et leur propriété antioxydante (Michel, 2011).

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire (Chira *et al.*, 2008). Les grandes familles de polyphénols sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les stilbènes, et les lignanes (Celhay, 2013).

III-1 Activité antioxydante

III-1-1 Les antioxydants

Il s'agit de substances qui, en présence d'un substrat oxydable et à des concentrations bien inférieures à celles de ce dernier, vont retarder d'une façon significative l'oxydation de ce

substrat, ou la réduire. Leur principal mode d'action est la capture des radicaux libres (Demelin, 2012). Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques (Popovici, 2009).

Les antioxydants jouent un rôle important dans le métabolisme humain. Les réactions biochimiques qui ont lieu dans notre organisme produisent des radicaux libres initiant des réactions d'oxydation en chaîne qui ont une action néfaste sur les cellules de notre corps. Normalement, le corps humain maintient l'équilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en produisant simultanément les deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé *stress oxydatif* (Penchev, 2010).

III-1-2 Stress oxydatif

C'est un phénomène associé avec une augmentation du taux des dommages cellulaires induits par l'oxygène et les dérivés oxydants d'oxygène couramment connus comme espèces réactives d'oxygène (Sikka *et al.*, 1995).

Une surproduction des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les organismes vivants peut causer un déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants conduisant ainsi à un dommage oxydatif pour de nombreuses biomolécules tels que les lipides, l'ADN et les protéines. Les espèces réactives de l'oxygène peuvent être soit des radicaux libres ($O_2^{\cdot-}$: anion superoxyde, OH^{\cdot} : radical hydroxyle) ou des molécules non radicalaires mais hautement instables (O_2^1 singulet). Chez l'homme, le stress oxydatif est responsable du développement de nombreuses pathologies (Berger, 2006). Pour enrayer le stress oxydant, il faut donc aider la cellule et l'organisme par l'apport d'antioxydants secondaires (vitamine C, E, caroténoïdes, polyphénols) (Kohen et Nyska, 2002).

III-1-3 Activité antioxydante des composés phénoliques

Les polyphénols sont des antioxydants avec les propriétés redox, qui leur permettent d'agir en tant qu'agents réducteurs, donateurs d'hydrogène, et extincteurs de l'oxygène singulet (Charalampos *et al.*, 2013). En plus de leur rôle important dans certaines propriétés sensorielles, plusieurs études ont souligné que beaucoup d'entre eux montrent des activités biologiques liées à leurs propriétés antioxydantes et antiradicalaires (Ojeil *et al.*, 2010).

Grâce à la mobilité de l'hydrogène phénolique, les composés phénoliques sont capables de piéger les radicaux libres oxygénés en particulier les radicaux peroxydes (ROO^{\cdot}), alkoxydes (RO^{\cdot}), superoxydes ($O_2^{\cdot-}$) et les hydroxydes ($\cdot OH$), générés en permanence par notre organisme

ou formés en réponse à des agressions de notre environnement (cigarette, polluants, infections...) (Ojeil *et al.*, 2010).

IV- Généralités sur le yaourt

IV-1 Matière première de la fabrication du yaourt

La principale matière première pour la fabrication des yaourts est le lait.

- **Le lait**

Selon le congrès international de la répression des fraudes, le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir le colostrum (Luquet, 1985). Il est constitué d'environ 88% d'eau et de 12% de matière sèche contenant des glucides, des protéines, des lipides et des minéraux (Paci Kora, 2004).

La fermentation du lait permettait la conservation pour quelques jours de cette denrée très riche, mais très périssable (Konte, 1999). Les laits fermentés sont des produits obtenus par la multiplication des bactéries lactiques dans une préparation du lait. Leur diversification est due à certains facteurs comme la composition du lait, la durée et températures d'incubation, la flore lactique, etc (Luquet, 1985).

Il existe dans le monde une grande diversité de laits fermentés, le yaourt est l'exemple le plus célèbre.

IV-2 Yaourt

IV-2-1 Définition

Originnaire d'Asie, le mot yaourt (yoghourt ou yogurt) vient de « yoghurmark », mot turc signifiant « épaissir » (Tamime et Deeth, 1980). La réglementation française précise : « la dénomination yaourt ou yoghurt est réservée au lait fermenté obtenu, selon les usages loyaux et constants, par le développement des seules bactéries, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouvent vivantes dans le produit à raison d'au moins 10^7 bactéries. La quantité d'acide lactique libre ne doit pas être inférieure à $0,7g.100g^{-1}$ lors de la vente aux consommateurs (Jeantet *et al.*, 2008).

IV-2-2 Règlementation

Les critères pris en compte par le *codex alimentaire* et la FIL dans la réglementation du yaourt sont les suivants :

-Dénomination du produit : elle varie selon les langues, mais les termes les plus utilisés sont « youghurt », « yoghourt » ou « yaourt ».

-Type de produit : ils sont définis souvent en fonction de leur teneur en matière grasse ou de l'adjonction éventuelle d'ingrédients (yoghourt partiellement écrémé ou maigre, yoghourt écrémé, le yoghourt nature).

-Le type de ferment utilisé : selon la FIL, et de nombreux pays, la dénomination « yaourt » nécessite l'utilisation obligatoire et exclusive des deux ferments caractéristiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbruechii* sous-espèce *bulgaricus*.

-La quantité de ferment contenue dans le produit fini : la FIL fixe la quantité de ferments vivants, égale à 10^7 bactéries par gramme rapporté à la partie lactée jusqu'à la date limite de consommation.

-La viabilité de la flore lactique : flore viable pendant toute la durée de vie.

-Ingrédients laitiers : lait pasteurisé, congelé, écrémé, concentré, en poudre, crémé et caséines etc.

-Ingrédients non laitiers : une multitude d'ingrédients peut être incorporée dans le yaourt. Il peut s'agir par exemple de fruits sous différentes formes (purée, jus, pulpe, sirop, etc.), de céréales, de légumes ou de sucre. La quantité d'ingrédients non laitiers est fixée par le *codex alimentarius*, la FIL et la plupart des pays à moins de 30% en poids du produit fini.

-pH : la FIL préconise une teneur de 0,7% d'acide lactique. Cette valeur est respectée dans certains pays avec une variabilité de 0,6 à 15%. Certaines normes imposent un pH inférieur à 4,5 ou 4,6.

-Taux de matière grasse : il doit être minimum, inférieur à 3%(m/m) dans le cas des yaourts (nature, sucré ou aromatisé), compris entre 0,5 et 3% dans le cas des yaourts partiellement écrémés et 0,5% dans les yaourts écrémés.

-Teneur en protéines : elle est égale à 2,8% dans le produit fini (Amellal, 2008).

IV-2-3 Structure et comportement rhéologique

Les structures principales impliquées lors de la gélification acide du lait sont les micelles de caséines. Lors de la baisse du pH, due à la fermentation lactique, les micelles de caséines subissent des changements substantiels. Le déplacement de l'équilibre acido-basique entraîne une diminution progressive de la charge ionique des micelles qui devient nulle. En parallèle, une solubilisation de phosphates de calcium micellaire est observée, entraînant la dissolution de la structure micellaire. Le pH auquel commence la gélification du lait dépend de la température et de prétraitement thermique (Tamime et Robinson, 1985).

L'abaissement du pH par acidification entraîne une déminéralisation progressive des micelles de caséine. Celles-ci vont s'associer entre elles par formation de liaisons hydrophobes ; hydrogènes et électrostatiques pour former un réseau protéique retenant la phase aqueuse. À un pH inférieur au point isoélectrique (pH =4,6), les micelles qui flocculent précipitent, du fait de leur densité, et le réseau formé se stabilise et n'évolue pratiquement plus (Paci Kora, 2004).

La transformation du lait en yaourt s'accompagne aussi d'un changement des propriétés rhéologiques en passant d'un liquide à un gel à destruction non réversible. Les additifs et les étapes de procédé de fabrication jouent également un rôle sur ce comportement (Paci Kora, 2004).

IV-2-4 Intérêt nutritionnels et thérapeutiques

En plus des avantages technologiques (amélioration du goût, de l'arôme, de la texture et de la stabilité du produit), de nombreux effets bénéfiques sont attribués aux bactéries lactiques notamment des effets nutritionnels et thérapeutiques.

Au cours de la fermentation, la composition du lait subit un certain nombre de modifications. Certaines de ces modifications en font un produit de meilleure valeur nutritionnelle que le lait tels que :

- ✓ L'amélioration de l'absorption du lactose,
- ✓ L'amélioration de la digestibilité de la matière grasse,
- ✓ L'amélioration de la digestibilité des protéines (Mahaut *et al.*, 2000).

Outre les qualités nutritionnelles et organoleptiques, les yaourts peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine (Xanthopoulos *et al.*, 2001). Ces effets dépendent à la fois des souches utilisées et des métabolites produits. Les bienfaits que les yaourts peuvent apporter aux consommateurs sont :

- ✓ Activité antimicrobienne (Schmidt *et al.*, 1994).
- ✓ Stimulation du système immunitaire,
- ✓ Action anticholestérolémiante,
- ✓ Activité anti-carcinogène (Mahaut *et al.*, 2000).

Matériel
et
méthodes

1 Matériel végétal

Notre étude est réalisée sur une variété de pépins de raisin et d'épluchures de pomme, récupérés à partir des fruits récoltés à la wilaya de Bejaia en été 2015.

- **Les pépins de raisin**

Les raisins sont issus de la région de Timezrit. Les pépins après les avoir séparés de leur matrice, sont lavés et séchés avant d'être broyés. Le broyage est au départ mécanique à l'aide d'un mortier, ensuite électrique à l'aide d'un broyeur de marque IKA.

- **Les épluchures de pomme**

Les pommes (rouges) sont procurées du marché local de Bejaia. Elles sont ensuite lavées et essuyées avant d'être épluchées. Les épluchures sont récupérées et mises à l'étuve à 40°C pendant quelques jours pour le séchage. Ce dernier a pour but d'éliminer toute l'eau contenue dans l'écorce et ainsi faciliter le broyage.

1-1 Test d'humidité

10 g de l'épluchure de pomme et de pépins de raisin sont pesés dans un creuset puis porté à 105 °C pendant 4 heures. Les résultats ont été exprimés en pourcentage (Lako *et al.*, 2007) selon la formule suivante :

$$H\% = (P_0 - P_1 / P) \times 100$$

Où :

P₀ : poids du creuset vide (g).

P₁ : poids du creuset après séchage (g).

P : prise d'essai (g).

1-2 Extraction des antioxydants

- **Principe de la méthode d'extraction**

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée pour une durée déterminée. Cette technique est basée sur la solubilité de composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction...etc. La macération commence avec le choix d'un solvant d'extraction adéquat. Après une étape de diffusion du solvant à l'intérieur des cellules végétales le processus continu avec la solubilisation de composés

bioactifs qui vont migrer de la matrice végétale vers les solvant environnant jusqu'à ce que l'équilibre de partage de concentration soit atteint (Grigoras, 2012).

Il est possible de constater que les solvants jouent un rôle très important dans plusieurs méthodes d'extraction. En effet, les composés phénoliques solubles sont généralement extraits en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone (Perez, 2008).

▪ Mode opératoire

L'extraction des antioxydants des échantillons étudiés est réalisée selon la méthode décrite par Brahmi *et al.* (2015). Une prise d'essai de 5 g des produits broyés est mise en contact avec le solvant d'extraction à 50% (v/v). Après agitation magnétique pendant 24 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière, le mélange est filtré. Les filtrats obtenus sont récupérés et évaporés à l'étuve à 40 °C jusqu'à l'obtention des extraits secs, qui seront reconstitués par la suite avec le solvant d'extraction.

A la fin de cette opération, nous obtenons l'extrait, dont le taux d'extraction est déterminé par la formule suivante : **Taux d'extraction = [(P₁ - P₀) / E] × 100**

Où :

P₀ : poids du bécher vide (g).

P₁ : poids du bécher après évaporation (g).

E : prise d'essai d'échantillon (g).

1-2-1 Optimisation des conditions d'extraction

Le model expérimental est divisé en trois parties :

• Choix du solvant

Un essai préliminaire est effectué pour déterminer le type de solvant d'extraction, selon le modèle classique d'extraction en variant un paramètre (type de solvant) et fixant les autres (temps et température) (tableau IV). L'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques à partir de poudre de pépins de raisin et des épiluchures de pomme est réalisée selon la méthode de surface de réponse (RMS), un modèle mathématique polynomial a été développé, le type du modèle choisi est le plan central composite (Goupy, 2006).

Tableau IV : Optimisation de solvant d'extraction.

Solvant	Éthanol	Méthanol	Acétone
Temps	24 heures		
Température	Ambiante		

- **Choix du temps d'extraction**

Une prise d'essai est effectuée pour déterminer le meilleur temps d'extraction, selon le modèle classique d'extraction en variant le paramètre (temps) et fixant les autres (solvant et température) (tableau V).

Tableau V : Optimisation de temps d'extraction.

Temps	6 heures	12 heures	18 heures
Solvant	Meilleur solvant d'extraction		
Température	Ambiante		

- **Choix de la granulométrie**

Une prise d'essai est effectuée pour optimiser la granulométrie, selon le modèle classique d'extraction après l'optimisation de solvant et de temps d'extraction, en variant la granulométrie et fixant les paramètres (solvant, temps, et température) (tableau VI).

La granulométrie des poudres de pépins de raisin et des épiluchures de pomme a été déterminée par tamisage. Les tamis sélectionnés possèdent les diamètres suivants : 250, 500 et 1000 μm . Les poudres ainsi obtenues sont conservées dans des récipients scellés et stockées à l'abri de la lumière.

Tableau VI : Optimisation de la granulométrie.

Granulométrie (μm)	Poudre de 250	Poudre de 500	Poudre de 1000
Solvant	Meilleur solvant d'extraction		
Temps	Meilleur temps d'extraction		
Température	Ambiante		

1-3 Dosage des antioxydants

1-3-1 Polyphénols totaux

▪ Principe

La méthode de Folin-Ciocalteu est utilisée pour le dosage des composés phénoliques totaux. L'ensemble de ces composés est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, de couleur jaune, est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ojeil *et al.*, 2010). La coloration produite, dont l'absorption maximum est comprise entre 725 et 750 nm est proportionnel à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot, 2006).

▪ Mode opératoire

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon la méthode décrite par Brahmi *et al.* (2015). Un volume de 100 µL d'extrait est mélangé avec 6 mL d'eau distillée et de 500 µL du réactif de Folin-Ciocalteu. Ensuite, 1,5 mL de carbonate de sodium (20%) et 1,9 mL d'eau distillée sont additionnés. Après deux heures d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc. La teneur en polyphénols totaux est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche d'échantillon (mg EAG/g MS) par référence à une courbe d'étalonnage.

1-3-2 Flavonoïdes

▪ Principe

Le contenu en flavonoïdes peut être facilement déterminé à l'aide du chlorure d'aluminium. Sous sa forme anhydre, cette substance présente une structure de réseau hexa coordonnée. En solution aqueuse elle est totalement ionisée. De nombreuses recherches ont été axées sur l'étude de sa capacité de formé des complexes stables en présence de flavonoïdes et des mécanismes impliqués (Grigoras, 2012).

▪ Mode opératoire

La teneur en flavonoïde totaux des extraits est évaluée selon la méthode d'écrite par Brahmi *et al.* (2015). Un volume de 1 mL d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2% est additionné à 1 mL des extraits. Le mélange est vigoureusement homogénéisé et laissé reposer pendant 15 minutes à l'obscurité et à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 430 nm contre un blanc. Les résultats sont rapportés en mg équivalent de quercétine par g de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage.

1-4 Evaluation de l'activité antioxydante

1-4-1 Piégeage du radical DPPH[•]

▪ Principe

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, le DPPH[•] reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur mauve bien caractéristique de la solution de DPPH[•]. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH[•], mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm.

Le piégeage des radicaux libres par les composés phénoliques, se fait par le transfert de l'atome H sur le DPPH[•] alors transformé en une molécule stable DPPH-H (Popovici *et al.*, 2009).

▪ Mode opératoire

Le protocole suivi est celui décrit par Brahmi *et al.* (2015). Une série de dilutions a été préparée, puis chacune est additionnée par 1 mL d'éthanol, suivi par un volume de 0,15 mL de DPPH[•]. Un contrôle sans extrait a été préparé dans les mêmes conditions.

Après une heure d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm contre l'éthanol pris comme un blanc.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction du radical DPPH[•] par rapport à un contrôle, selon la formule suivante :

$$\% \text{ réduction DPPH}^{\bullet} = \frac{(Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{extrait}})}{Abs_{\text{contrôle}}} \times 100$$

Les résultats sont exprimés en IC₅₀ (µg/mL).

1-4-2 Pouvoir réducteur au phosphomolybdate d'ammonium

▪ Principe

Cette méthode a été employée d'habitude pour évaluer toute la capacité antioxydante. En présence des extraits, le Mo (VI) est réduit au Mo (V) et forme un complexe coloré vert de phosphomolybdenum V qui montre l'absorbance maximum à 695 nm (Umamaheswari et Chatterjee., 2008).

▪ Mode opératoire

Pour réaliser ce test, nous avons utilisé le protocole d'Umamaheswari et Chatterjee (2008). Dans des tubes à essai, 200 µL des dilutions des extraits ont été mélangés avec 2 mL

de réactif au phosphomolybdate. Les tubes ont été incubés à 90°C pendant 90 minutes. Après refroidissement des tubes à la température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 695 nm contre un blanc. Les résultats sont exprimés en IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$).

1-5 Formulation et caractérisation des yaourts

1-5-1 Fabrication des yaourts

La préparation des yaourts a été réalisée à l'échelle de Laboratoire d'analyse instrumentale de l'Université de Bejaïa, en respectant le diagramme de fabrication d'un yaourt standard avec l'ajout des poudres de pépins de raisin et d'épluchures de pomme (figure 6).

▪ Procédé de fabrication

La figure 6 résume les étapes essentielles du procédé de fabrication d'un yaourt à base des poudres des pépins de raisin et d'épluchures de pomme lors de la formulation :

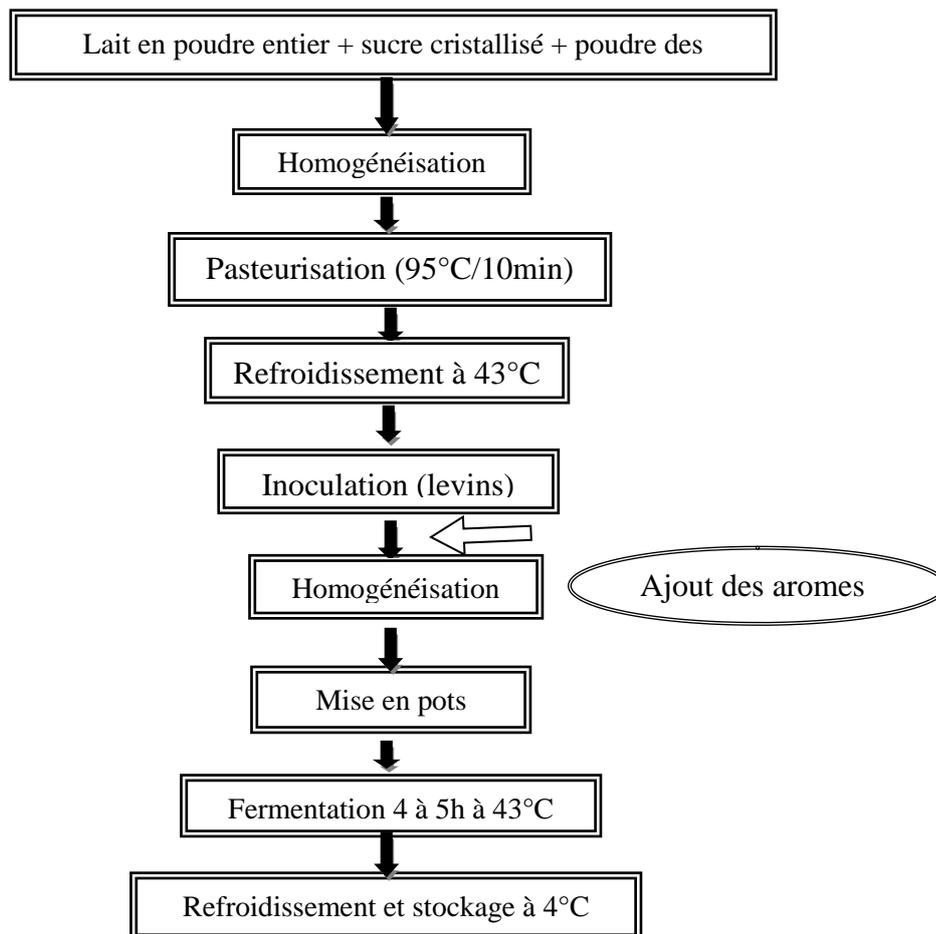


Figure 6: Diagramme de fabrication d'un yaourt à base de poudre des pépins de raisin et d'épluchures de pomme.

▪ **Composition**

Le lait utilisé est un lait en poudre (Loya), additionné du sucre cristallisé et de ferments lactiques, et de la poudre des échantillons étudiés (poudres de pépins de raisin et d'épluchures de pomme).

1-5-2 Caractérisation des yaourts

Les analyses effectuées sont les analyses physico-chimiques et microbiologiques

• **Analyses physico-chimiques**

Le contrôle physico-chimique du yaourt a pour objectif de garantir une meilleure stabilité et une constance de ses caractéristiques organoleptiques.

• **Mesure du pH**

Le principe consiste à la mesure de la différence de potentiel entre une électrode de mesure et une électrode de référence réunies en un système d'électrodes combiné.

Le pH est déterminé directement en utilisant un pH-mètre électronique, et ce après avoir plongé l'électrode dans un bécher contenant une suspension du yaourt à analyser.

• **Mesure de la viscosité**

La mesure de la viscosité consiste à appliquer une force de mouvements à un produit, en le mettant en rotation à vitesse fixe. La résistance en mouvement de produit en mouvement de rotation est enregistrée puis convertie en unité viscosimétrique.

La viscosité d'un yaourt ferme est mesurée à l'aide d'un viscosimètre « BROOK FIELD ROV » muni d'un mobile croisillon C (27 mm de diamètre), réglé à une vitesse de 2,5 tours/min, pied en marche descente. La lecture se fait après 45 secondes (coefficient multiplicateur 4000) (Manuel de la laiterie SOUMMAM, 2008).

• **Mesure de l'acidité**

L'acidité titrable mesure tous les ions H^+ disponibles dans le milieu, qu'ils soient dissociés, c'est-à-dire ionisés, ou non. Ainsi, nous déplaçons les équilibres chimiques pour neutraliser tous les ions H^+ des acides faibles.

Le titrage de l'acidité se fait par la soude (1/9 N), en présence de la phénolphaléine comme indicateur.

Dans un erlenmeyer, nous avons versé 10 mL du yaourt + 2 à 3 gouttes du phénolphthaléine. Après agitation, de la solution, nous avons titré avec le NaOH (1/9 N), jusqu'à l'obtention d'une couleur rose pâle.

- **Analyse microbiologique**

Les analyses microbiologiques ont pour but d'assurer que les yaourts préparés présentent une qualité hygiénique et commerciale adéquate.

Le tableau VII récapitule l'ensemble des germes à dénombrer :

Tableau VII : analyses microbiologiques des yaourts préparés

Germes recherchés	Milieux utilisés	T° d'incubation	Durée d'incubation
Coliformes totaux	VRBL	30 °C	24h
Coliformes fécaux	VRBL	44 °C	24h
Levures et moisissures	YGC	25 °C	5 jours
Germes totaux	GN / PCA	30 °C	24h

1-5-3 Évaluation sensorielle

L'évaluation sensorielle est définie comme la discipline scientifique qui englobe toutes les méthodes pour évoquer, mesurer, analyser, et interpréter la réponse humaine aux propriétés des aliments et des matériaux perçus par les cinq sens : le goût, l'odorat, le toucher, la vue et l'ouïe (civille et Oftedale, 2012).

- **Analyse sensorielle**

L'analyse sensorielle constitue une approche indispensable à l'évaluation de la qualité organoleptique d'un produit alimentaire. Étroitement associée à la caractérisation des propriétés physico-chimiques, elle peut être un outil d'aide à la maîtrise de la qualité et la formulation des produits transformés.

1-6 Analyse statistique

L'analyse de la variance (ANOVA/MANOVA) utilisant le test LSD (Least Significant Différence) est effectué à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5 pour comparer entre les résultats obtenus à partir des différents tests réalisés.

Résultats
et
discussion

2-1 Test d'humidité

L'humidité et la matière sèche sont deux paramètres complémentaires importants pour connaître la teneur en eau, et pouvoir estimer le rendement après séchage des sous-produits de fruits. Le taux élevé d'humidité est une source de dégradation des antioxydants. Cet inconvénient peut être éliminé par un séchage rapide aussitôt après la récolte (Ribéreau-Gayon, 1968).

La teneur en eau des pépins de raisin et d'épluchures de pomme étudiés est déterminée en utilisant la méthode pondérale. Elle consiste à la détermination de la perte en eau par dessiccation à l'étuve, ce qui permettra d'uniformiser le taux d'humidité résiduelle et ainsi d'assurer un meilleur broyage et homogénéité. La teneur d'humidité obtenue est de $27,04 \pm 0,82\%$ pour les pépins de raisin et de $79,17 \pm 0,64\%$ pour les épluchures de pomme. Ces résultats montrent la richesse hydrique des épluchures de pomme. Ce paramètre a une grande importance pour l'extraction des polyphénols, car sa présence est un élément gênant du rendement d'extraction.

L'étude menée par Plaza *et al.* (2013) sur les sous-produits de pomme a montré que leur teneur en eau est de $80,82 \pm 0,90\%$, et la teneur moyenne rapportée par Peschel *et al.* (2006) est de 80%. Ces valeurs sont en accord avec notre résultat.

D'après Rombaut (2013), la teneur moyenne en eau des pépins de raisin peut varier de 25 à 45% de poids frais. La valeur obtenue dans la présente étude est dans cet intervalle.

2-2 Optimisation des conditions d'extraction des antioxydants

L'extraction est l'une des méthodes les plus utilisées dans les industries alimentaires, pour l'obtention des composés désirés initialement retenus dans la matrice de l'aliment (Barzana *et al.*, 2002).

La méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu est l'une des méthodes désignées pour la détermination de la teneur en composés phénoliques dans les aliments ou les plantes médicinales (Roginsky et Lissi, 2005). Cette méthode est adoptée afin d'évaluer la teneur en polyphénols totaux de nos échantillons.

2-2-1 Essais préliminaires

a- Choix du solvant

Dans la présente étude nous avons utilisé différents solvants purs (méthanol, éthanol, acétone) et à 50% (v/v) pour l'extraction des composés phénoliques (Brahmi *et al.*, 2012).

Chaque extraction est effectuée à température ambiante avec un temps d'agitation égale à 24 heures pour les deux poudres utilisées: poudres de pépins de raisin et d'épluchures de pomme. Les résultats obtenus, de l'effet de la nature du solvant, sur la teneur en polyphénols extraits sont représentés dans la figure 7.

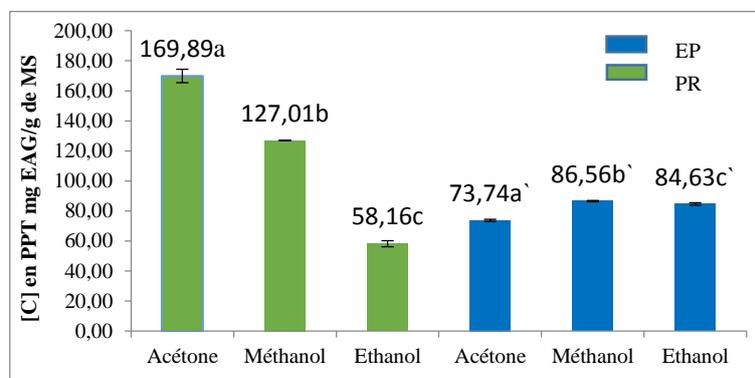


Figure 7 : Effet de type du solvant sur la teneur en polyphénols des échantillons étudiés

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b > c$; $b' > c' > a'$.

EP: épluchures de pomme

PR: pépins de raisin

D'après les résultats de la présente étude, les teneurs en polyphénols totaux obtenus pour les différents solvants utilisés varient de 58,16 à 169,89 mg EAG/g de matière sèche (MS) pour l'extrait de pépins de raisin et de 73,74 à 86,56 mg EAG/g de MS pour l'extrait d'épluchures de pomme. Le meilleur solvant d'extraction des polyphénols totaux est l'acétone avec une différence significative à $P \leq 0,05$ pour l'extrait des pépins de raisin. Saucier *et al.* (1997) et Tarascou (2005), ont également proposé un mode opératoire utilisant le mélange de solvants acétone/eau dans les proportions 7:3 (v/v) pour extraire les tanins de pépins des raisins. Concernant les épluchures de pomme, le méthanol a donné la teneur la plus élevée en polyphénols totaux avec une différence significative à $P \leq 0,05$. Ce résultat est en accord avec celui révélé par l'étude menée par Paschel *et al.* (2006) sur les sous-produits de la pomme.

Il est possible de constater que les solvants jouent un rôle très important dans plusieurs méthodes d'extraction. En effet, les composés phénoliques solubles sont généralement extraits en utilisant des solvants polaires tels que l'eau, le méthanol, l'éthanol ou l'acétone (Perez, 2008). Le mélange acétone/eau ou méthanol/ eau est communément employé comme solvant dans le but d'extraire des polyphénols. En effet, l'acétone et le méthanol semblent avoir des spécificités

distinctes par rapport à l'extraction de substances polyphénoliques (Goni et Serrano, 2005 ; Perez, 2008).

Le choix de la méthode et du solvant d'extraction est fondamental pour un processus optimal. Il dépend premièrement de la source et du type des composés à extraire et il doit assurer un rendement élevé sans dégradation de composés (Perez, 2008).

b- Choix du temps d'extraction

Le temps d'extraction est un autre paramètre principal dans la procédure d'extraction des composés phénoliques, il peut varier de quelques minutes à 24 heures (Lapornik *et al.*, 2005 ; Lee *et al.*, 2005).

Les résultats obtenus de l'effet du temps sur la teneur en polyphénols des échantillons étudiés sont représentés dans la figure 8.

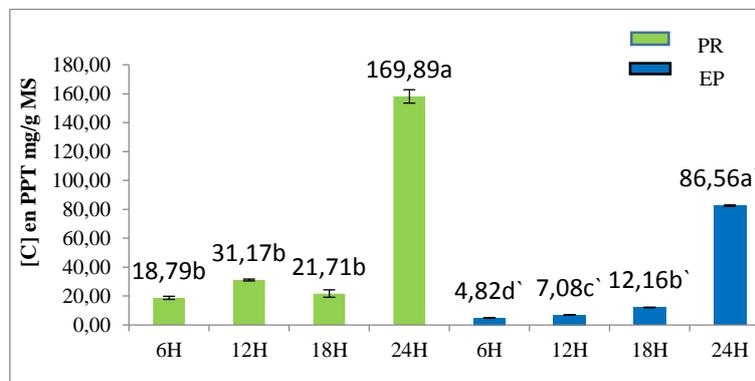


Figure 8 : Effet du temps sur la teneur en polyphénols des échantillons étudiés.

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les valeurs désignées par les lettres identiques ne présentent pas des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b ; a' > b' > c' > d'$

EP: épluchures de pomme

PR: pépins de raisin

Les résultats obtenus montrent que le meilleur temps d'extraction des antioxydants est de 24 heures avec une différence significative à $P \leq 0,05$. La durée de mise en contact de l'échantillon avec le solvant apparaît comme un paramètre qui influence l'extraction des composés phénoliques (perez, 2008). Selon Spigno *et al.* (2006), le taux d'extraction peut être amélioré en augmentant le temps de contact entre le solvant et le matériel végétal.

Plusieurs travaux ont montré que le temps nécessaire pour l'extraction des composés phénoliques est de 24 heures. Pantelic *et al.* (2016), ont adopté comme temps maximal 24 heures pour l'extraction des polyphénols à partir des pépins de raisin.

Cependant, Zhou *et al.* (2016) ont utilisé un temps seulement de 5 à 20 minutes dans l'extraction des composés phénoliques des épiluchures de pomme. Ce temps limité est combiné à l'utilisation de différentes températures (40 – 140 °C).

c- Choix de la granulométrie

Les résultats de la présente étude montrent que la concentration des polyphénols varie selon la taille des particules formant l'échantillon. L'extraction est meilleure avec une poudre $\leq 250 \mu\text{m}$ pour l'extrait de pépins de raisin, et est meilleure avec une poudre $\leq 1000 \mu\text{m}$ pour l'extrait d'épiluchures de pomme (figure 9).

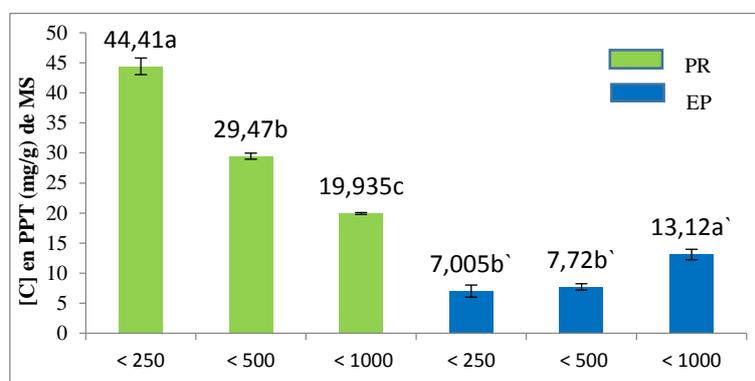


Figure 9: Effet de la granulométrie sur la teneur en polyphénols des échantillons étudiés

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les valeurs désignées par les lettres identiques ne présentent pas des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b > c$; $a' > b'$.

EP : épiluchures de pomme

PR : pépins de raisin

Différents facteurs contribuent à l'efficacité de l'extraction (nature et volume du solvant, nombre d'extraction, la taille et forme des particules, le temps et température de macération). Penchev *et al.* (2010) ont utilisé des fractions de dimensions différentes (de 0,7 à 3 mm). Ils ont trouvé que les petites particules ont donné le meilleur taux d'extraction. Cela peut être attribué à la création d'une surface de contact plus grande avec la diminution de la taille de particules. En outre, l'ouverture d'un grand nombre de pores, qui peuvent être fermés en cas de fractions plus grandes, facilite le contact avec le solvant.

2-2-2 Plan d'expérience

Beaucoup de paramètres peuvent influencer l'efficacité de l'extraction des polyphénols, comme la méthode d'extraction, la nature et la concentration du solvant, la température d'extraction, le pH, et le temps d'extraction (Banik et Pandey, 2007). Afin de faciliter l'interprétation des résultats, et minimiser le nombre des essais, nous avons opté un plan d'expérience.

Le plan que nous avons suivi dans ce présent travail est celui de plan central composite. Les facteurs choisis sont la concentration du solvant et le temps d'extraction.

L'analyse des résultats est présentée dans le tableau suivant :

Tableau VIII : Optimisation des conditions d'extraction par le plan d'expérience, plan central composite des échantillons étudiés.

Épluchures de pomme						Pépins de raisins					
N° d'essai	Configuration	Solvant (%(v/v))	Temps (heure)	Valeurs réelles PTT (mg d'EAG/g)	Valeurs prédites PTT (mg d'EAG/g)	N° d'essai	Configuration	Solvant (%(v/v))	Temps (heure)	Valeurs réelles PTT (mg d'EAG/g)	Valeurs prédites PTT (mg d'EAG/g)
1	++	100	24	11,39	11,23	1	+-	100	4	33,23	42,00
2	A0	100	14	9,92	8,86	2	0a	70	4	70,6	72,67
3	a0	40	14	7,99	9,05	3	--	40	4	90,21	79,35
4	0a	70	4	15,45	14,07	4	A0	100	14	73,74	54,11
5	0A	70	24	12,52	13,9	5	a0	40	14	26,81	46,43
6	-+	40	24	12,23	11,01	6	++	100	24	69,55	80,40
7	-0	40	4	11,43	11,59	7	0A	70	24	68,13	66,05
8	+-	100	4	9,77	10,99	8	-+	40	24	36,48	27,70

Les résultats de la présente étude, montre que la teneur en composés phénoliques d'épluchures de pomme et de pépins de raisin varie de 7,99 à 15,45 mg EAG/g de MS et de 26,81 à 90,21 mg EAG/g de MS respectivement. Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés (solvant et temps) sur le taux de polyphénols extraits. D'autres facteurs peuvent avoir un effet sur l'extraction des polyphénols tel que la granulométrie (Bucic-Kojic *et al.*, 2007).

➤ **Validation du model**

Dans les plans d'expérience le model mathématique relie la réponse aux facteurs qui l'influence, et afin d'avoir une bonne réponse plusieurs conditions doivent être vérifiées.

➤ **Coefficient de corrélation**

L'efficacité d'ajustement globale est exprimée par le coefficient R^2 (Chan *et al.*, 2009).

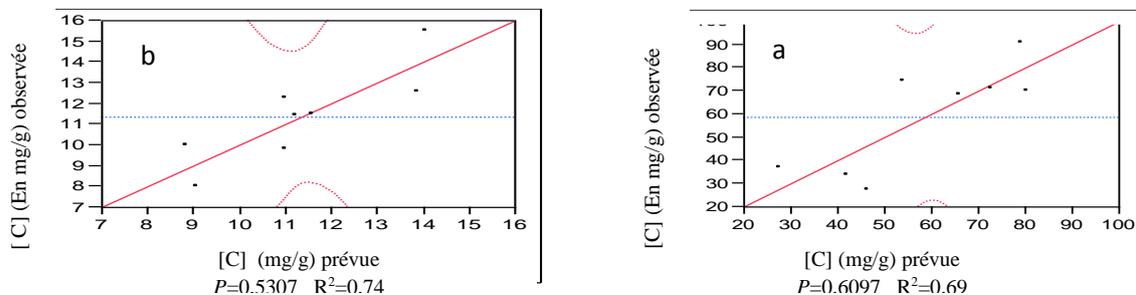


Figure 10 : Plan de prédiction réelle d'épluchures de pomme (a) et de pépins de raisins (b)

➤ **Effet d'interaction**

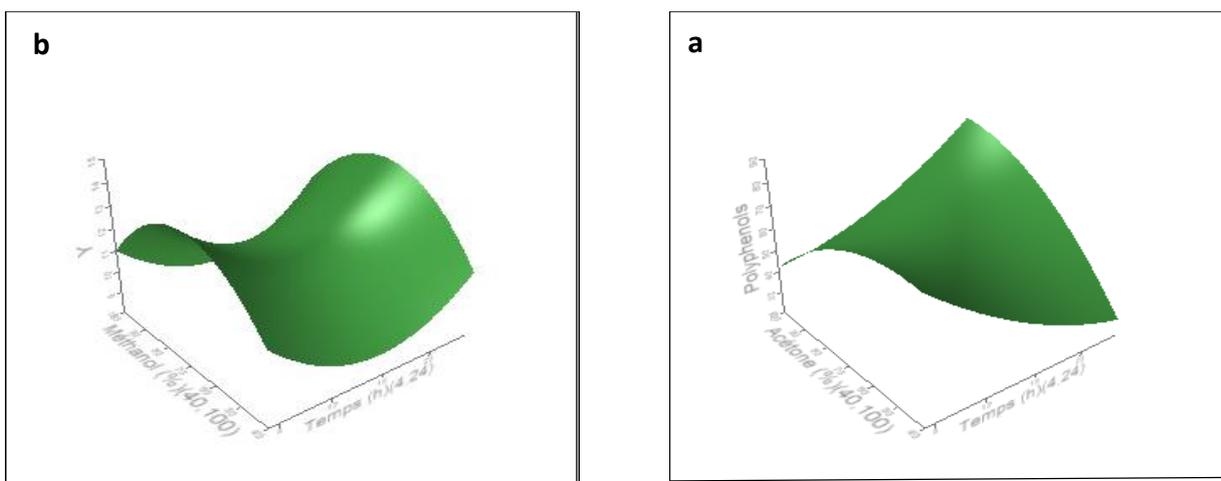


Figure 11: surface de réponse de l'interaction (solvant- temps) des pépins de raisin (a) et d'épluchures de pomme (b).

Les résultats obtenus par le plan central composite montrent que le meilleur temps d'extraction des polyphénols pour les deux extraits de pépins de raisin et d'épluchures de pomme est de 14 heures avec une concentration du solvant de 70% (v/v).

2-3 Dosages des antioxydants

2-3-1 Polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols dans les pépins de raisin et d'épluchures de pomme sont rapportées en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche, en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexe I).

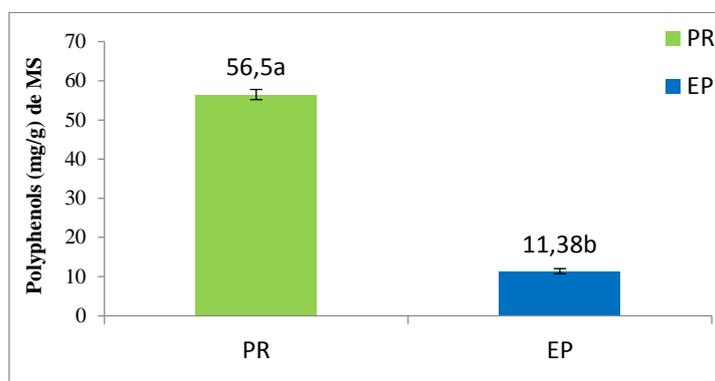


Figure 12: Teneur moyenne en polyphénols totaux des échantillons étudiés

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b$.

EP : épluchures de pomme

PR : pépins de raisin

Les résultats obtenus (figure 12), montre que la teneur en composés phénoliques des extraits étudiés sont de ceux de l'intervalle de prévision du plan d'expérience plan central composite estimé à 58,59 et 11,33 mg EAG/g de MS pour l'extrait de pépins de raisin et d'épluchures de pomme respectivement.

L'analyse a permis de déduire qu'il y a une différence significative à $P \leq 0,05$ entre la teneur en polyphénols totaux de l'épluchure de pomme et des pépins de raisin. Paschel *et al.* (2006) ont déterminé une teneur en polyphénols totaux des sous-produits de pomme largement supérieure à celle obtenue dans le présent travail ($52,18 \pm 4,80$ mg EAG/g d'extrait sec). Cependant, Wolfe *et al.* (2003) ont rapporté dans leur étude sur les épluchures de pomme une teneur en polyphénols plus faible qui est de $5,88 \pm 0,83$ mg EAG/g de l'épluchure.

Quant aux raisins, selon Garcia-Jares *et al.* (2015) et Pantelic *et al.* (2016) environ 60-70% de composés phénoliques totaux sont trouvés principalement dans les graines de raisin. Rombaut (2013) a trouvé des teneurs en polyphénols dans les pépins de raisins qui varient de 58 à 960 mg/g de matière sèche. En outre, les études menées par Pantelic *et al.* (2016) sur quelques variétés de raisins ont trouvé des teneurs en polyphénols dans les pépins qui varient de 38,02 à 101,25 mg EAG/g de MS. Ces concentrations varient selon les variétés. De même, Garcia-Jares *et al.* (2015) ont trouvé des teneurs en polyphénols variant de $79,5 \pm 0,5$ à 168 ± 6 mg EAG/g de MS dans les pépins de raisin de quelques variétés de raisin. Une étude menée par Zhou *et al.* (2016) a révélé une concentration en polyphénols totaux qui est de l'ordre de $22,97 \pm 0,14$ mg EAG/g de matière sèche dans les graines de raisin.

Les résultats obtenus par la présente étude semblent être proches de ceux rapportés par la littérature dans le cas des pépins de raisin. Toutefois, les teneurs trouvées dans les épiluchures de pomme sont différentes à celles rapportées dans la littérature. Dissimilitudes peuvent être expliquées par l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthode et les conditions d'extractions et d'analyses, l'origine géographique de l'échantillon ainsi que le degré de maturité des produits utilisés (Salvador *et al.*, 2001).

2-3-2 Flavonoïdes

La teneur des flavonoïdes de nos extraits a été exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage (annexe I). L'extrait d'épiluchures de pomme a donné une concentration plus importante en flavonoïdes avec une différence significative à $P \leq 0,05$ (figure 13).

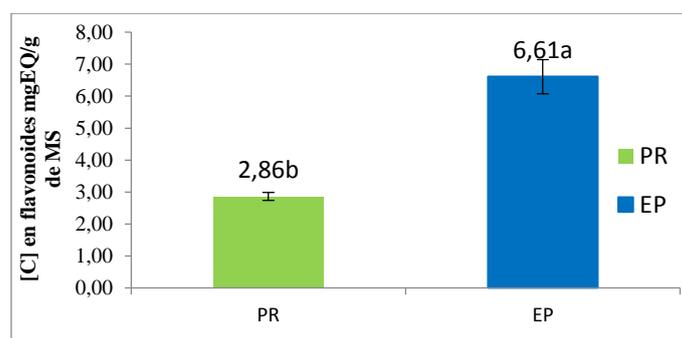


Figure 13 : Teneurs moyennes en flavonoïdes des échantillons étudiés.

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b$.

EP : épiluchures de pomme.

PR : pépins de raisin.

Wolfe *et al.* (2003) ont rapporté dans leur étude sur les épiluchures de pomme une teneur en flavonoïdes de 3,061 mg équivalents de catéchine/g d'épiluchures, ce résultat est inférieur à celui obtenu par la présente étude. Selon Garcia-Jares *et al.* (2015), les flavanols étaient les polyphénols les plus abondants dans les extraits de graines de raisins et représentent 98%-99% de la composition totale en polyphénols. La teneur rapportée par cet auteur et ses collaborateurs était de 3,190 mg/g de MS, qui est comparable à celle obtenue par la présente étude.

L'étude statistique a révélée l'existence d'une corrélation hautement significative positive ($r=1,00$) marquée à $P \leq 0,05$ entre les polyphénols totaux et les flavonoïdes. Cela signifie que les flavonoïdes constituent les composés phénoliques majoritaires des échantillons étudiés. Pantelic *et al.* (2016) et Garcia (2008) ont montré que les polyphénols les plus abondants dans les pépins de raisin sont les flavan-3-ols.

2-4 Évaluation de l'activité antioxydante

Il existe différents types d'antioxydants dans les fruits et il est très difficile de mesurer chaque antioxydant séparément. Par conséquent, plusieurs méthodes ont été développées pour évaluer l'activité antioxydante totale des fruits ou d'autres tissus de plantes (Guo *et al.*, 2003

II-4-1 Pouvoir anti-radicalaire au DPPH

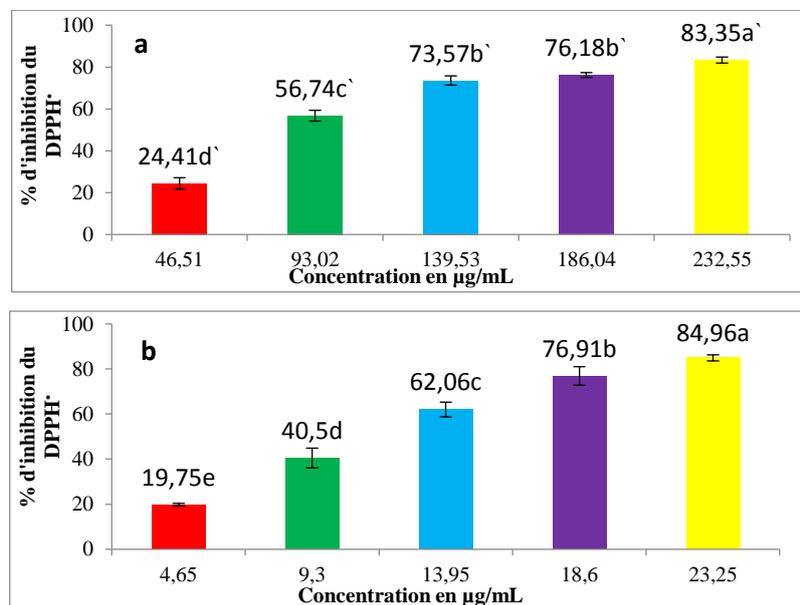


Figure 14: Pouvoir anti-radicalaire d'extraits d'épiluchures de pomme (a) de pépins de raisin (b).

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les valeurs désignées par les lettres identiques ne présentent pas des différences significatives ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par l'ordre décroissant ; $a > b > c > d > e$; $a' > b' > c' > d'$.

Les résultats obtenus (figure 14) montrent que les deux échantillons étudiés ont la capacité de piéger le radical DPPH^{*}. De plus, le piégeage de 50% du radical libre DPPH^{*} est enregistré dans des petites concentrations. Les concentrations qui ont piégé 50% (IC₅₀) du radical libre du DPPH^{*} sont de 12,22 et 97,34 µg/mL pour les extraits de pépins de raisin et d'épluchures de pomme respectivement. La puissance anti-radicalaire (ARP = 1/ IC₅₀) de chaque extrait est donnée dans le tableau IX

Tableau IX : Pouvoir anti-radicalaire de l'extrait de pépins de raisin et les épluchures de pomme.

Extrait	IC ₅₀ (µg/mL)	ARP (1/ IC ₅₀). 10 ⁻³
Pépins de raisin	12,22 ^a ± 0,89	83,33 ^a ± 3,33
Épluchures de pomme	97,34 ^b ± 4,30	10,27 ^b ± 0,7

Les valeurs désignées par les lettres différentes présentent des différences significatives (P ≤ 0,05)

D'après Ling *et al.* (2009), plus l'IC₅₀ diminue, plus la puissance de l'antioxydant augmente. Ainsi, l'extrait de pépins de raisins a montré une meilleure capacité à piéger le radical DPPH^{*} avec une différence significative à P ≤ 0,05 que celui d'épluchures de pomme. La réduction du radical DPPH^{*} peut être attribuée à la présence de composés phénoliques qui cèdent facilement des protons pour le réduire (Popovici *et al.*, 2009). Les données de la littérature ont révélé une puissante activité scavenger du radical DPPH^{*} par les extraits de pépins de raisins. Selon Popovici *et al.* (2009), les concentrations en polyphénols totaux et l'activité anti-radicalaire se sont avérées notamment plus importantes au niveau des extraits de graines qu'en ceux de la peau et de la pulpe de raisin. Bozan *et al.* (2008) ont trouvé des valeurs d'IC₅₀ qui varient de 2,71 à 4,52 µg/mL, d'autre part, Baydar *et al.* (2007) ont enregistré des valeurs d'IC₅₀ variant de 22,9 à 32,90 µg/L. Garcia-Jares *et al.* (2015) a trouvé une activité qui varie selon les variétés de 19,7 ± 0,6 à 41,3 ± 1,9 mmol Trolox[®]équivalent/g de matière sèche.

Nos résultats sont différents de ceux rapportés par la littérature. Bien que l'extraction à partir des pépins de raisin soit extrêmement étudiée, il est relativement difficile de comparer les données de la littérature. En effet, il existe une diversité des variétés, des stades de maturité, des conditions climatiques et de stockage des raisins et de leur déchets, d'une part et une assez grande variation dans les procédés d'extraction d'autre part : type de solvants (eau, éthanol, méthanol, acétone, acétate d'éthyle), température (20-60°C) et temps d'extraction (de 5 minutes à 24 heures) (Popovici *et al.*, 2009).

Quant aux épiluchures de pomme, Wolfe *et al.* (2003) ont rapporté une activité antioxydante qui est de $312,2 \pm 9,8 \mu\text{mol}$ équivalent de vitamine C/g d'épiluchures. D'autre part, Tow *et al.* (2011) ont trouvé une activité antioxydante qui varie de 77,63 à 91,55 %. En outre, Plaza *et al.* (2013) ont trouvé la puissance antiradicalaire ($1/IC_{50}$) qui est de 0,26, ce résultat est comparable à celui calculé dans la présente étude.

Une corrélation significative à $P \leq 0,05$ ($r = -1,0$) est enregistrée entre les polyphénols totaux et le pouvoir anti-radicalaire des deux échantillons étudiés. Cela signifie que ce sont les composés phénoliques qui sont responsables de cette activité des deux échantillons. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par les travaux antérieurs sur l'activité antioxydante et composition phénolique de pépins de raisins. Pantelic *et al.* (2016) ont montré que parmi les différentes parties de raisins, les pépins renferment les teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante les plus élevées. De plus, ils ont montré l'existence d'une corrélation significative à $P \leq 0,05$ ($r = 0,76$) entre les polyphénols totaux et l'activité antioxydante de l'extrait de pépins de raisin.

2-4-2 Pouvoir réducteur

Ce test est basé sur la réduction du Molybdate (VI) au Molybdate (V) par les antioxydants présents dans l'échantillon, et la formation d'un complexe verdâtre (phosphate/Molybdate (V)) qui donne un maximum d'absorption à 695 nm (El-Sayed, 2009).

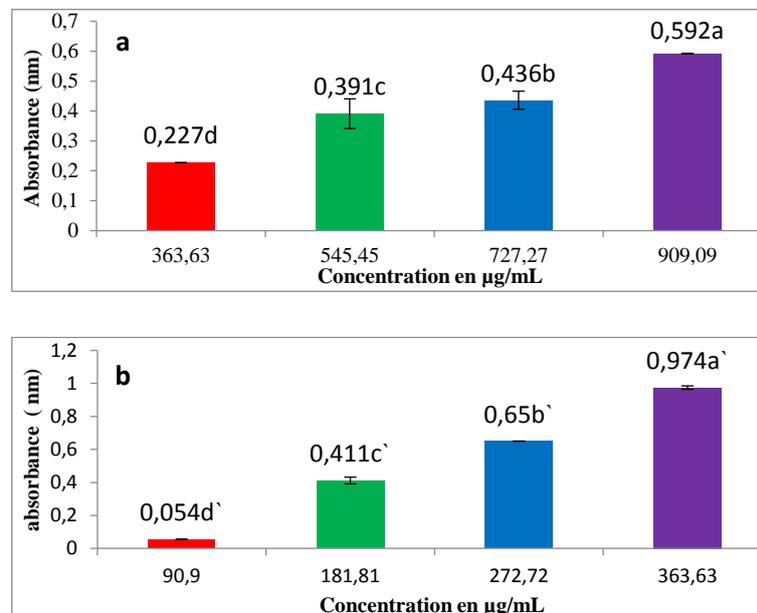


Figure 15: Pouvoir réducteur d'extraits d'épiluchure de pomme (a) et de pépins de raisins (b).

La barre verticale représente l'écart-type.

La valeur représente la moyenne de trois mesures \pm écart-type.

Les valeurs portant des lettres différentes sont différentes significativement ($P \leq 0,05$).

Les résultats sont classés par ordre décroissant ; $a > b > c > d$; $a` > b` > c` > d`$

D'après les résultats obtenus (figure 15) dans la présente étude les absorbances augmentent d'une manière significative à $P \leq 0,05$ avec l'augmentation des concentrations. Selon Amezouar *et al.* (2013), plus la concentration de l'extrait augmente plus le pouvoir réducteur augmente. Les concentrations qui ont réduit 50% du phosphomolybdate sont de $225,47 \pm 7,10$ et $837,91 \pm 35,94$ $\mu\text{g/ml}$ pour les extraits de pépins de raisins et d'épluchures de pommes respectivement. Par conséquent, l'extrait de pépins de raisins a montré une meilleure activité réductrice de molybdate (VI) au molybdate (V) avec une différence significative à $P \leq 0,05$.

L'étude statistique a révélé l'existence d'une corrélation linéaire positive entre le pouvoir réducteur au phosphomolybdate et les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes à $P \leq 0,05$ avec des coefficients respectivement de 0,50 et 0,44.

2-5 Yaourt

2-5-1 Analyses physico-chimiques

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées pour les trois yaourts fabriqués (yaourt témoin, yaourt à base de poudre des pépins de raisin et yaourt à base d'épluchures de pomme) sont représentés dans le tableau X.

Tableau X: Les paramètres physico-chimiques des trois yaourts préparés.

Paramètres	Yaourt témoin	Yaourt à base de PR	Yaourt à base d'EP	Norme (JORA)
pH	4,36	4,25	4,23	4,3-4,8
Acidité (D°)	79	80	86	78-100
Viscosité (CP)	30100	30180	30200	27500-32500

PR : pépins de raisin ; EP : épluchures de pommes

a- pH

Les valeurs du pH des trois yaourts analysés sont très proches. Le pH du yaourt à base de pépins de raisins et celui d'épluchures de pommes est légèrement inférieur à celui du yaourt témoin. Cela est probablement dû à l'enrichissement du yaourt par les deux poudres de pépins de raisins et d'épluchure de pomme. Ces résultats s'accordent bien avec ceux cités par les Normes (**J O R A D P**). Nos valeurs s'accordent également avec celles annoncées par laiterie **SOUMMAM** (4,30-4,70).

b- Acidité

L'acidité nous renseigne sur la teneur en acide organique dominant (acide lactique). D'après les résultats obtenus, nous avons noté que le yaourt à base d'épluchures de pommes est plus acide que le yaourt à base de pépins de raisins. Cela pourrait être dû à la richesse d'épluchures de pommes en acide organique. Toutefois, l'acidité des trois yaourts élaborés est conforme aux normes données par (**J O R A D P**) et laiterie **SOUMMAM (80-95°D)**.

c- Viscosité

Les résultats de la viscosité des trois produits analysés sont conformes aux normes de laiterie **SOUMMAM** (27500-32500 Centi Poise (CP)), ce qui révèle que le taux d'extrait du lait utilisé est satisfaisant.

2-5-2 Analyse microbiologie

Les résultats obtenus pour les analyses microbiologiques pour les yaourts fabriqués sont illustrés dans le Tableau XI

Tableau XI : Résultats des analyses microbiologiques des yaourts formulés.

Type du yaourt	Germe recherchés				
	Germe totaux	Levures	Moisissures	Coliformes totaux	Coliformes fécaux
Témoin	2. 10 ²	00	Absence	00	00
YPR	2.10 ²	00	Absence	00	00
YEP	3.10 ²	00	Absence	00	00
Normes(JORA)	10 ²	<100	Absence	<10	<1

YPR : yaourt à base de pépins de raisin, YEP : yaourt à base d'épluchure de pomme

➤ **Interprétation**

Les résultats des analyses microbiologiques des trois yaourts montrent clairement leur parfaite conformité aux normes. Nous constatons d'après ces résultats une absence totale de tous les germes pathogènes et un nombre négligeable de germes totaux. Ceci est lié aux bonnes conditions de fabrications, de stockage et au respect des règles d'asepsie pendant la fabrication des échantillons et leurs analyses.

2-5-3 Analyse hédonique

Cette analyse a été effectuée sur **82** sujets naïfs et **09** experts auxquels nous avons présenté 03 échantillons différents du yaourt : **A**, **B** et **C**. Le **A** et le **B** sont des produits formulés et le **C** correspond au produit de référence.

2-5-3-1 Test du plan d'expérience avec XL Stat-MX

Le test du plan d'expérience avec XL Stat-MX est utilisé pour créer un plan d'expériences optimal, ou quasi-optimal, dans le cadre d'expériences visant à modéliser les préférences d'un ensemble de consommateurs ou d'experts pour différents produits (Perinel *et al.*, 2004).

➤ **Résultat**

Une fois les données brutes des **91** sujets sont rapportées sur une feuille d'Excel, la procédure de génération du plan d'expérience sera lancée directement à partir de la commande XLSTAT-MX/ plan d'expérience pour l'analyse sensorielle, les résultats obtenus sont rapportés dans le Tableau XII:

Tableau XII : résultats de l'évaluation du plan.

A-Efficacité	1,000
D-Efficacité	1,000

➤ **Discussion**

Après la génération du plan d'expérience pour l'analyse sensorielle, nous remarquons que les deux critères A-Efficacité et D-Efficacité sont égaux, car toutes les valeurs propres sont égales. Ces résultats indiquent que notre plan est validé et nous permet de mettre en place une étude sensorielle menée auprès de **91** sujets évaluant trois produits.

La caractérisation de produit permet d'identifier quels sont les descripteurs qui discriminent le mieux les produits et quelles sont les caractéristiques importantes de ces mêmes produits dans le cadre de l'analyse sensorielle (Husson *et al.*, 2009).

2-5-3-2 Pouvoir discriminant par descripteur

Ce test permet d'afficher les descripteurs ordonnés de celui qui a le plus fort pouvoir discriminant sur les produits à celui qui a le plus faible (Husson *et al.*, 2009).

Les résultats du test sont présentés dans la figure 16 pour les experts (a) et des naïfs (b)

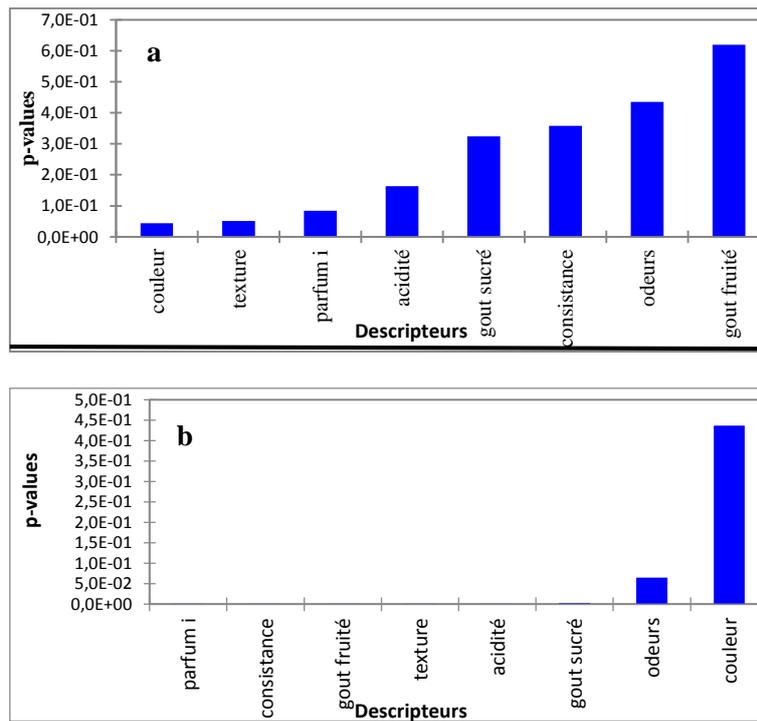


Figure 16: Pouvoir discriminant par descripteur des experts (a) et des naïfs (b).

➤ Discussion

a- Les sujets experts

La figure 16 (a) rassemble les descripteurs ordonnés de plus discriminant au moins discriminant sur les trois échantillons. Il permet de visualiser que la couleur est le descripteur le plus discriminant. Les p -values associées montrent toutes un effet significatif sur le descripteur. Par contre, le descripteur le moins discriminé est le gout fruité. Les descripteurs couleur, texture, parfum identifiés, ont été discriminés. Cela prouve que les experts n'ont pas constaté des divergences entre ces descripteurs pour les trois échantillons. Les descripteurs acidité, gout sucré, consistance, odeur et gout fruité, n'ont pas été discriminés, ce qui traduit que les experts ont constaté des divergences entre ces descripteurs pour les trois échantillons présentés.

b- Les sujets naïfs

La figure 16 (b) montre les descripteurs ordonnés du plus discriminant au moins discriminant sur les trois échantillons. Nous remarquons que le parfum, la consistance, le goût fruité, la texture sont les descripteurs qui ont le plus fort pouvoir discriminant sur les trois échantillons. C'est-à-dire que les sujets naïfs ont constaté des différences entre les descripteurs des échantillons. Concernant les descripteurs suivants : acidité, goût sucré, odeur, couleur, ils ont un pouvoir discriminant faible. Cependant, le descripteur couleur est celui qui a le pouvoir

discriminant le plus faible. Alors, nous déduisons que les naïfs n'ont pas constaté des divergences entre les descripteurs des échantillons.

2-5-3-3 Les coefficients des modèles

Ce test a pour but de traiter pour chaque combinaison descripteur-produit, le coefficient, la moyenne estimée, la *p*-value ainsi qu'un intervalle de confiance sur le coefficient (Naes et Risvik, 1996). Les résultats des coefficients des modèles sont présentés dans les Figures ci-dessous :

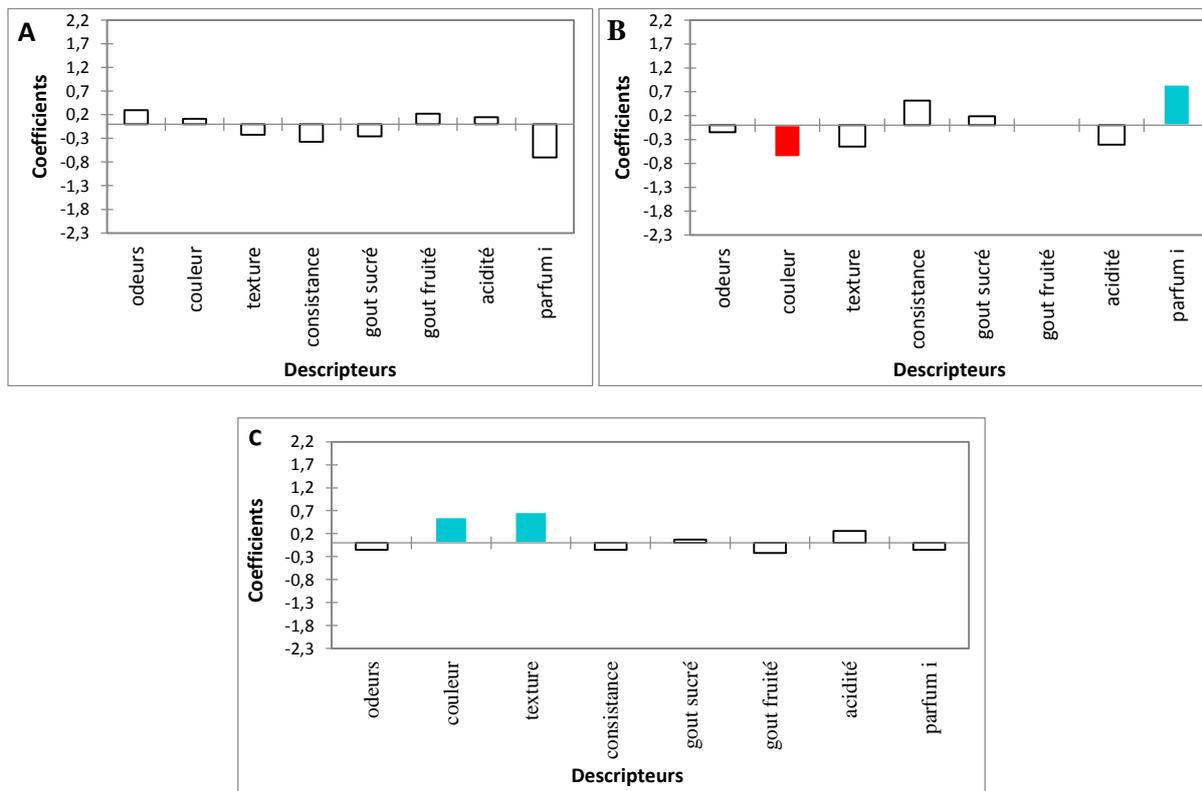


Figure 17 : Coefficient des modèles des 3 échantillons des sujets experts.

A: yaourt à base de pépins de raisin ; **B:** yaourt à base d'épluchures de pomme ; **C:** yaourt témoin

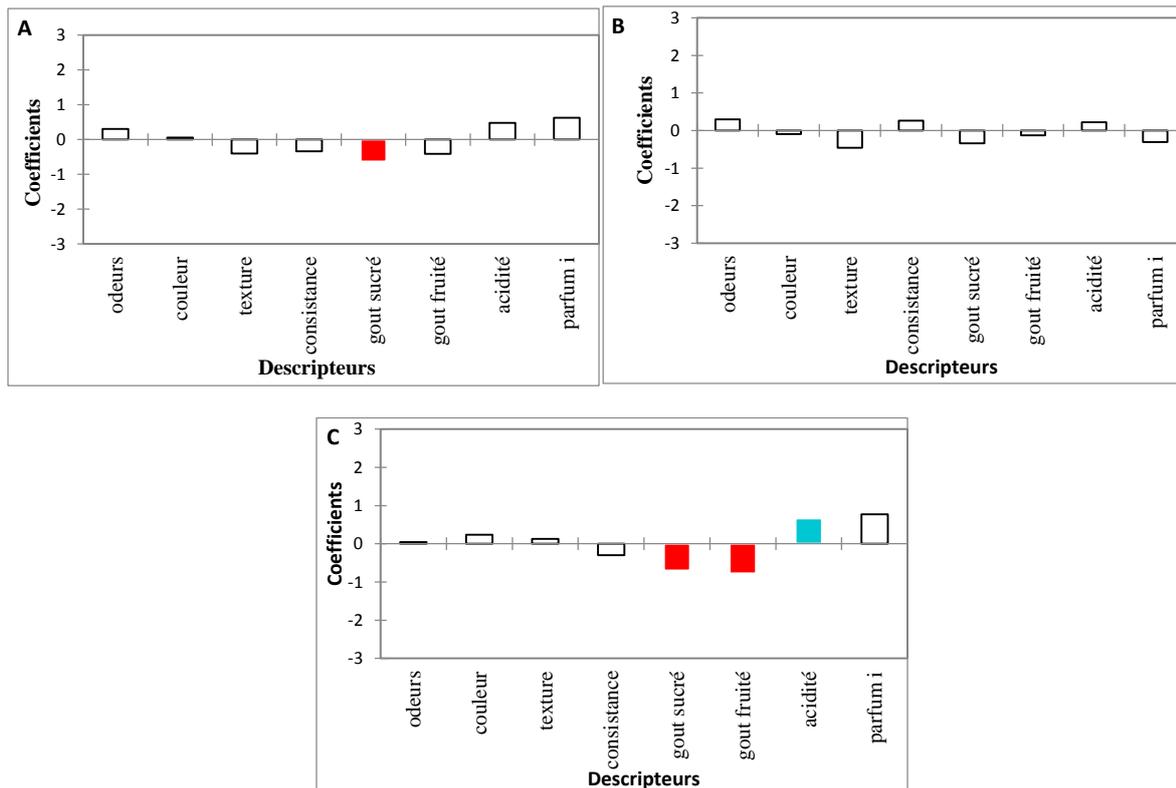


Figure 18 : Coefficients des modèles des 3 échantillons des sujets naïfs.

A: yaourt à base de pépins de raisin ; **B:** yaourt à base d'épluchures de pomme ; **C:** yaourt témoin

➤ Discussion

Les graphiques des figures précédentes permettent de définir l'appréciation ou la non appréciation des descripteurs des trois échantillons A, B et C, par les sujets experts et naïfs.

L'analyse de chaque graphique permet de définir chaque produit :

- ✓ En bleu, nous observons les caractéristiques dont le coefficient est significativement positif ;
- ✓ En blanc celles dont le coefficient n'est pas significatif ;
- ✓ En rouge, nous observons la caractéristique dont le coefficient est significativement négatif.

a- Les sujets experts

Echantillon A : montre aucune signification des descripteurs, donc l'échantillon A n'est ni apprécié ni pénalisé.

Echantillon B : possède un bon parfum par contre il n'a pas une couleur appréciable.

L'échantillon C : possède une bonne couleur ainsi qu'une bonne texture.

b- Les sujets naïfs

Echantillon A : n'a pas un bon gout sucré appréciable.

Echantillon **B** : ne montre aucune signification des descripteurs, donc l'échantillon A n'est ni apprécié ni pénalisé.

Echantillon **C** : possède un mauvais gout sucré et fruité par contre, il possède une bonne acidité.

2-5-3-4 Les moyennes ajustées par produit

Le but de cette action est de définir les moyennes ajustées calculées à partir du modèle pour chaque combinaison descripteur-produit (Lé et Husson, 2008).

➤ Résultats

Les tableaux suivants correspondent aux moyennes ajustées calculées à partir du modèle pour chaque combinaison descripteur-produit.

TableauXIII : Moyennes ajustées par produit pour les experts.

	Consistance	Parfum identifié	Gout sucré	Gout fruité	Texture	Odeur	Couleur	Acidité
B	3,444	3,778	3,000	2,667	3,000	2,556	2,667	2,111
C	2,778	2,778	2,889	2,444	4,111	2,556	3,889	2,778
A	2,556	2,222	2,556	2,889	3,222	3,000	3,444	2,667

TableauXIV : Moyennes ajustées par produit pour les sujets naïfs.

	Odeur	Acidité	Consistance	Gout sucré	Gout fruité	Parfum identifié	Couleur	Texture
B	3,100	2,327	4,087	3,203	3,274	2,128	3,342	3,590
A	3,110	2,585	3,488	2,915	2,988	3,061	3,488	3,646
C	2,854	2,768	3,524	2,841	2,622	3,207	3,671	4,171

A: yaourt à base de pépins de raisin ; **B**: yaourt à base d'épluchures de pomme ; **C**: yaourt témoin

➤ Discussion

Ces tableaux permettent de faire ressortir les moyennes lorsque les différents produits et les caractéristiques sont croisés. Nous avons donc en bleu les moyennes qui sont significativement plus grandes que la moyenne globale et en rouge celles qui sont significativement plus petites que la moyenne globale.

a- Les sujets experts: Le mélange C présente une très bonne texture, une bonne couleur, et il est l'opposé du mélange B.

b- Les sujets naïfs: le mélange C présente une très bonne acidité, il est l'opposé du mélange A.

2-5-3-5 Test d'analyse des pénalités

La penalty analysis (analyse des pénalités) est une méthode utilisée en analyse sensorielle pour identifier des axes d'améliorations possibles pour des produits, suite à des enquêtes auprès de consommateurs ou d'experts (Popper *et al.*, 2004).

➤ Résultat

Pour chaque produit un graphique de pénalités est affiché comme le montrent les figures suivantes :

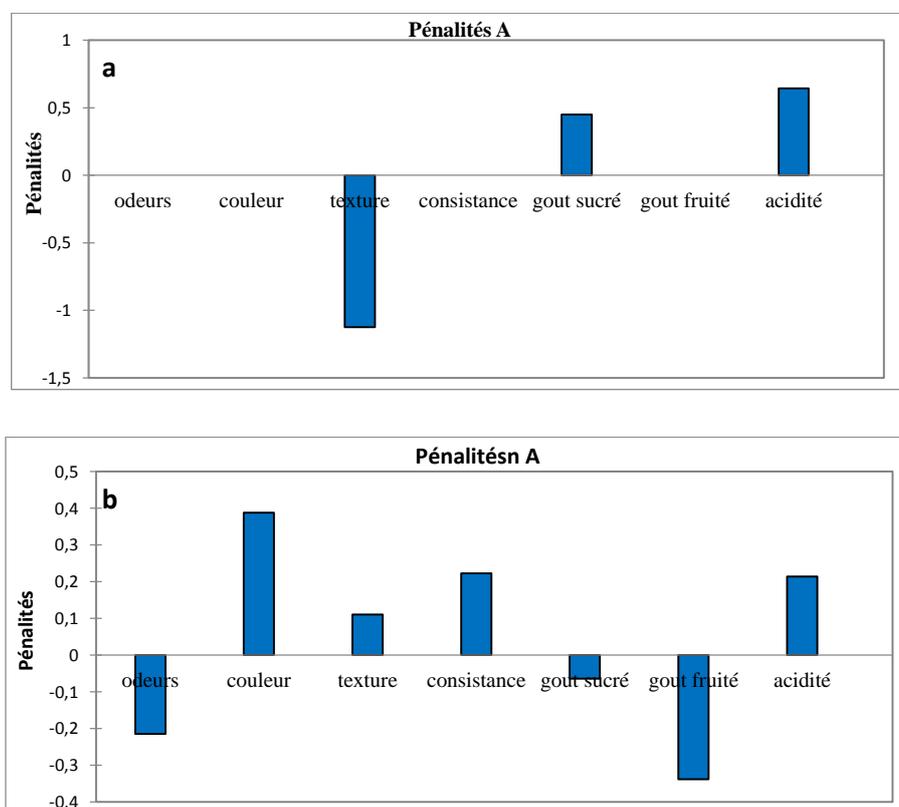


Figure 19: Pénalités de l'échantillon A des experts (a) et des naïfs (b).

A: yaourt à base de pépins de raisin

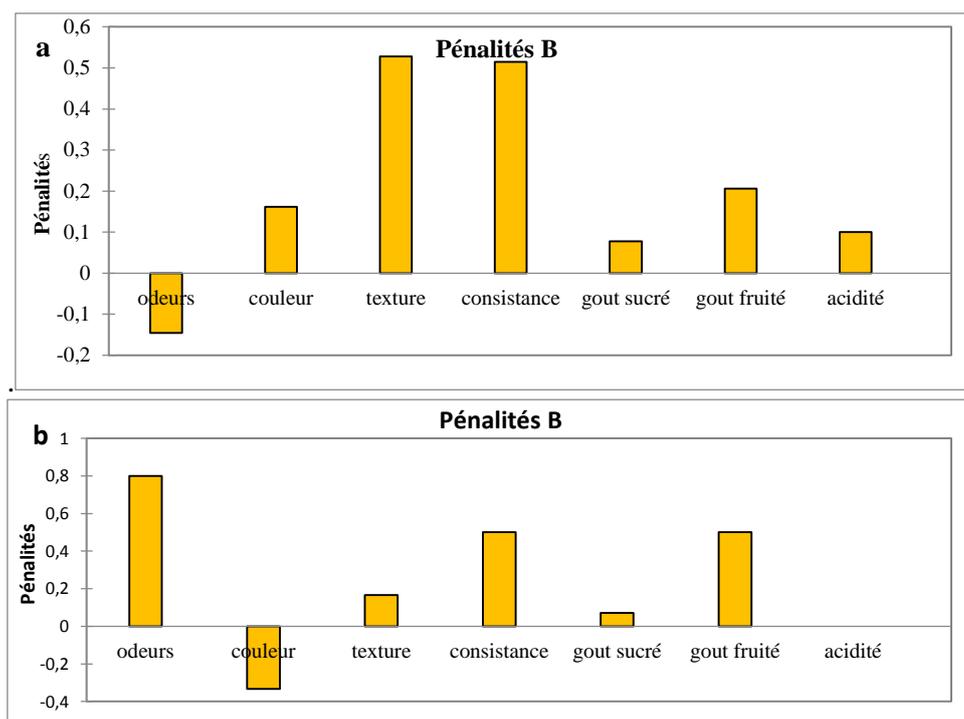


Figure 20: Pénalités de l'échantillon B des experts (a) et des naïfs (b).

B: yaourt à base d'épluchures de pomme

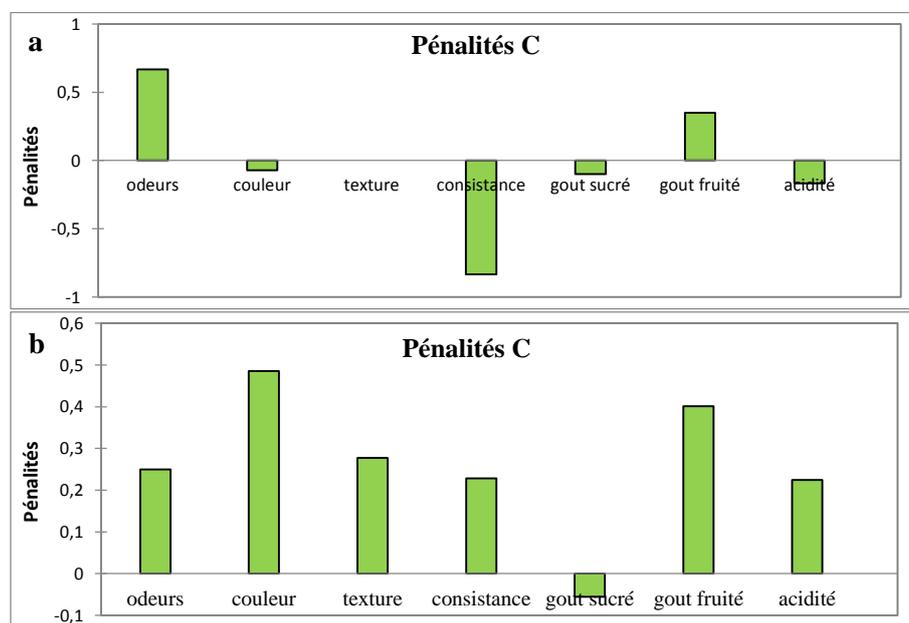


Figure 21: Pénalités de l'échantillon C des experts (a) et des naïfs (b).

C: yaourt témoin

➤ Discussion

Ces graphiques de synthèse représentent les pénalités pour chaque produit. La pénalité est une différence pondérée entre les moyennes (préférence moyenne pour JAR – préférence

moyenne pour les deux autres niveaux confondus). Elle nous montre combien de points de préférence sont perdus lorsque le produit ne correspond pas à l'attente du consommateur (Popper *et al.*, 2004).

En parallèle, si un descripteur possède un coefficient positif, ce dernier est pénalisé positivement par les membres de jury. Au contraire si un descripteur possède un coefficient négatif, ce dernier est pénalisé négativement par les membres de jury. Les caractéristiques des produits qui sont pénalisés négativement sont présentées comme suit :

- ✓ La texture pour le produit A (experts).
- ✓ L'odeur, gout sucré et gout fruité pour le produit A (naïfs).
- ✓ La couleur pour le produit B (experts).
- ✓ L'odeur pour le produit B (naïfs).
- ✓ La couleur, la consistance, le gout sucré et l'acidité pour le produit C (experts).
- ✓ Le gout sucré pour le produit C (naïfs).

2-5-3-6 Analyse des données des préférences des consommateurs

La figure 22 représente un graphe indiquant la préférence générale des **82** sujets naïfs(b) et **09** sujets experts (a) vis-à-vis les trois échantillons de l'analyse.

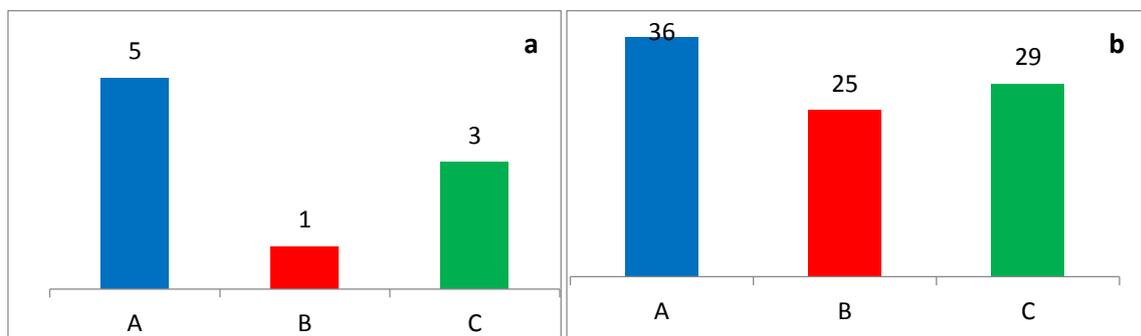


Figure 22 : Préférence générale des consommateurs des experts (a) et naïfs (b)

A: yaourt à base de pépins de raisin ; **B:** yaourt à base d'épluchures de pomme ; **C:** yaourt témoin

➤ Discussion

À partir des graphes nous remarquons que parmi les **09** sujets experts (graphe a) qui ont participé à l'analyse hédonique, **05** d'entre eux préfèrent l'échantillon **A**, **1** préfère l'échantillon **B** et **3** préfèrent le **C**. Pour les **82** sujets naïfs (graphe b), nous constatons que **36** d'entre eux préfèrent l'échantillon **A**, **25** préfèrent l'échantillon **B** et **29** préfèrent le **C**. Par conséquent, l'échantillon préféré étant le **A**.

Conclusion

Conclusion

Ce présent travail a été mené en vue d'optimiser l'extraction des composés phénoliques contenus dans les pépins de raisin et les épiluchures de pomme, ainsi l'élaboration d'un yaourt à base des poudres de ces sous-produits. A cet effet plusieurs analyses ont été effectuées afin de trouver les conditions optimales pour l'extraction des polyphénols totaux de ces résidus. L'activité antioxydante de ses extraits est ensuite évaluée, suivi par des analyses effectuées pour les yaourts élaborés.

Il en ressort de l'analyse des résultats obtenus, que les meilleurs solvants d'extraction des antioxydants sont l'acétone et le méthanol pour les pépins de raisin et les épiluchures de pomme respectivement. Les teneurs phénoliques varient de 58,16 à 169,89 mg équivalent d'acide gallique/g de matière sèche (EAG/g de MS) pour les extraits de pépins de raisin et de 73,74 à 86,56 mg EAG/g de MS pour les extraits d'épiluchures de pomme. Les résultats obtenus pour le choix de meilleur temps d'extraction des antioxydants est de 24 heures pour les deux extraits avec des teneurs qui varient de 18,79 à 169,89 et de 4,82 à 86,56 mg EAG/g de MS pour les extraits de pépins de raisins et d'épiluchures de pomme respectivement. En ce qui concerne la granulométrie les teneurs en polyphénols ont varié en fonction de la taille des particules formant l'échantillon, la poudre qui a donné une meilleure teneur en polyphénols est la poudre < 1000 μm pour l'épiluchure de pomme et la poudre < 250 μm pour les pépins de raisin.

Après optimisation des conditions d'extraction avec le plan central composite des échantillons étudiés, l'optimum d'extraction est de 14 heures avec une concentration du solvant de 70%, et à l'issue des différents dosages effectués, les résultats obtenus indiquent que la teneur en polyphénols totaux, des pépins de raisin est de 56,5 mg EAG/g de MS et celle d'épiluchures de pomme est de 11,38 mg EAG/g de MS. Les teneurs des flavonoïdes sont de 2,86 et 6,61 mg équivalent de quercétine/g de MS pour les extraits de pépins de raisin et d'épiluchures de pomme respectivement.

A la lumière des résultats obtenus, il résulte également que les extraits des sous-produits utilisés révèlent une activité antioxydante élevée pour les différents tests réalisés (pouvoir anti-radicalaire au DPPH^{*} et pouvoir réducteur au phosphomolybdate). Ainsi une corrélation a été enregistrée entre les teneurs en composés phénoliques des extraits de différents échantillons utilisés et leur activité antioxydante.

Les poudres des échantillons (pépins de raisin et épiluchures de pomme) ont été utilisées avantageusement dans un produit laitier dont le but est l'enrichissement du yaourt. A cet effet trois formulations du yaourt ont été élaborées (deux à base de poudres issues des sous-produits utilisés et un yaourt témoin). Enfin, une étude de la qualité hygiénique ainsi qu'une analyse sensorielle (test de dégustation) des yaourts élaborés ont été effectuées.

Les résultats des analyses microbiologiques des trois yaourts : yaourt à base de pépins de raisin (YPR), yaourt à base d'épiluchures de pomme (YEP) et yaourt témoin (YT) montrent clairement leur parfaite conformité aux normes. Le test de dégustation (test de classement) a permis de faire ressortir le classement de préférence suivant : en premier lieu YPR, suivi d'YT et le dernier est YEP. Il est donc possible de produire un yaourt enrichi avec les sous-produits de raisin et de pomme comme ingrédients naturels à vertu antioxydante.

La composition et la diversité des sous-produits de raisin et ceux de pomme en composés phénoliques leur confèrent leur rôle bénéfique pour la santé. Une consommation des produits éventuellement enrichis par ses sous-produits est conseillée pour prévenir certaines maladies liées au stress oxydatif.

En perspectives il serait intéressant :

- ✓ D'optimiser d'autres paramètres influençant l'extraction des polyphénols tels que le pH, la température et la ration solide-liquide ;
- ✓ De déterminer d'autres types d'activités (que l'activité antioxydante) telles que les activités anti-inflammatoire, antibactérienne etc.
- ✓ D'estimer l'activité antioxydante des yaourts préparés et de quantifier les principes actifs ;
- ✓ De trouver une modalité de valorisation ultérieure des sous-produits des fruits en faisant des tests de formulation puis en les incorporant dans divers produits agroalimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques.

*Références
bibliographiques*

- Amellal H. 2008.** Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes : formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de Doctorat. Université de Boumerdes, Faculté des sciences de L'ingénieur, 203 p.
- Amezouar F., Badri W., Hsaine M., Bourhim N., Fougrach H. 2013.** Evaluation des activités antioxydantes et anti-inflammatoires de *Erica arborea* L. du Maroc. Pathologie biologie, 61 : 254-258.
- Amira-Guebailia H. 2007.** Polyphénols des sarments et des rafles de la vigne (*Vitis vinifera* L.) et du vin, purification, dosage et activités biologiques. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba, Faculté des sciences, 123 p.
- Aprifel B. 1993.** Le raisin. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, PP. 435-437.
- Banik R. M. et Pandey D. K. 2007.** Optimizing conditions for oleanolic acid extraction from Lantana camara roots using response surface methodology. Industrial Crops and Products, 27: 241-248.
- Barzana E., Rubio D., Santamaria R. I., Garcia-Correa O., Garcia F., Ridaura-Sanz, V. E. 2002.** Enzyme-mediated solvent extraction of carotenoids from marigold flower (*Tagetes erecta*). Journal of agricultural and food chemistry, 50: 4491-4496.
- Baydar N. G., Özkan G., Yaşar S. 2007.** Evaluation of the antiradical and antioxidant potential of grape extracts. Food Control, 18 (9): 1131-1136.
- Berger M. M. 2006.** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. Nutritionnal manipulation of oxidative stress : review of the evidence, Nutrition clinique et métabolisme, 20: 48-53.
- Boizot N. et Charpentier J. P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra, 4 p.
- BOURLES E. 2010.** Aptitude variétale des pommes à la transformation : Recherche d'indicateurs biochimiques de l'évolution de la texture et de marqueurs d'intérêt nutritionnel. Thèse de Doctorat. Université d'Angers, école Doctorale VENAM, 237 P.
- Bozan B., Tosun G. et Ozcan D. 2008.** Study on polyphenol content in the seeds of red grape (*Vitis vinifera* L.) varieties cultivated in Turkey and their antioxidant activity. Food chemistry, 209: 426-430.
- Brahmi F., Hauchard D., Guendouze N., Madani K., Kiendrebeogo M., Kamagaju L., Stévigny C., Chibane M. et Duez P. 2015.** Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian Mentha species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). Industrial Crops and Products, 74: 722-730.

Bucic-Kojic A., Planinic N., Tomas S., Bilic M. et Velic D. 2007. Study of solid-liquide extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. *Journal of food engineering*, 81: 236-242.

Carbonneau M. A, Souquet J. M. et Carbonneau A. sd. Analyse des composés phénoliques et des propriétés Antioxydantes des pellicules du raisin dans des échantillons De *Vitis vinifera silvestris* et *Vitis vinifera sativ.*. Cahier scientifique, Université de Montpellier, P. 9.

Celhay M. C. 2013. Fractionnement de coproduits de pin maritime (*Pinus pinaster*) et de peuplier (*Populus tremula*) pour l'obtention d'extraits polyphénoliques à activité antioxydante : procédé d'extraction aqueuse en extracteur bi-vis et étude des conditions subcritiques. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, 320 p.

Chan S. W., Lee C. Y., Yap C. F., Wan Aida W. M. et Ho C. W. 2009. Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels. *International Food Research Journal*, 16: 203-213.

Chira K., Suh J. H., C., Saucier C. et Teissède P. L. 2008. Les polyphénols du raisin. *Phytonutrition Fondamentale*, 6: 75–82.

Civille G. V. et Oftedal K. N. 2012. Sensory evaluation techniques - make "good for you" taste "good". *Physiology Behavior*, 107(4), 598-605.

Colin-Henrion M. 2008. De la pomme à la pomme transformée : impact du procédé sur deux composés d'intérêt nutritionnel Caractérisation physique et sensorielle des produits transformés. Thèse de Doctorat. Université d'Angers, école Doctorale d'Angers 325 p.

D.S.A. 2015. Direction des services agricoles, section statistique et prévision. Wilaya de Bejaia.

Demelin E. 2012. Le raisin et ses applications thérapeutiques. Thèse de Doctorat. Université de Limoges, Faculté de Pharmacie, 109 p.

Dib H. 2010. Rôle des ennemis naturels dans la lutte biologique contre le puceron cendré, *Dysaphis plantaginea* Passerini (Hemiptera: Aphididae) en vergers de pommiers. Thèse de Doctorat. Université de d'Avignon, école Doctorale SIBAGHE, 252 P.

Doumouya S. 2014. Compréhension des facteurs physiques et physiologiques impliqués dans les changements de propriétés mécaniques de la baie de raisin au cours de la maturation : impact de l'hétérogénéité de la matière première. Thèse de Doctorat. Université de NANTES, faculté des sciences et des techniques, 238 p.

El-Sayed S. A. H. 2009. Total phenolic contents and free radical scavenging activity of some Egyptian *Ficus species* leaf samples. *Food Chemistry*, 114: 1271-1277.

Fumey D. Approche architecturale de la réponse du pommier a la taille : de l'expérimentation à l'élaboration d'un modèle réactif. Thèse de Doctorat. Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques Montpellier, SupAgro, 226 p.

Garcia-Jares C., Vazquez A., Lamas J. P., Pajaro M., Alvarez-Casas M. et Lores M. 2015. antioxidant white grape seed phenolics: pressurized liquid extracts from different varieties. *Antioxydants*, 4: 737-749.

Goni, I., et Serrano J. 2005. The intake of dietary fiber from grape seeds modifies the antioxidant status in rat cecum. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85:1877-1881.

Goupy J. 2006. Introduction aux plans d'expérience. *Technique et ingénierie : série gestion industrielle* : 3^{ème} Edition, Donod, Paris, France. PP. 324.

Grigoraş C. G. 2012. Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse de Doctorat. Université Orléans, école Doctorale sciences et technologies, 262 p.

Guo C., Yang J., Wei J., Li Y., Xu J. et Jiang Y. 2003. Antioxydant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research* 23: 1719-1726.

Guo C., Yang J., Wei J., Li Y., Xu J. et Jiang Y. 2003. Antioxydant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23: 1719-1726.

Hennebelle T., SahpazS., Bailleul F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *La Phytothérapie*. Springer-Verlag, 1 : 3-6.

Husson F et Pagès J. 2009. SensoMiner dans Evaluation sensorielle. Manuel méthodologique, 3^{ème} éd. Lavoisier, vol.23, p.16.

Jeanet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brulé G. 2008. Les produits laitiers. Lavoisier, 2^{ème} édition, Tech & Doc, Paris, France.

Kashif A., Fedarica M., Young H. C et Robert V. (2010). Metabolic of grapevine and grape-derived products. *Phytochemical Review*. 9: 357-378.

Kebe M. 2014. Incidence de traitements thermiques sur le parenchyme de Pomme (*Malus Domestica*) et diffusion des composés phénoliques. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des pays de vaucluse, école Doctorale science et agronomie, 255 p.

Kim Y. G, Kim D. O., Chun O. K., Shin D. H, Jung H., Lee C. Y. and Wilson D. B. 2005. Phenolic Extraction from Apple Peel by Cellulases from *Thermobifida fusca*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9560-9565.

Kohen R. and Nyska A. 2002. Invited Review: Oxidation of Biological Systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30: 620-650.

Konte M. 1999. Le lait et les produits laitiers : développement de systèmes de production intensives en Afrique de l'ouest. Institut Sénégalais de recherches agricoles Laboratoire national de l'élevage et des recherches vétérinaires, Université de Nouakchott (RIM), P.25.

Lako J., Trenerry V. C., Wahlqvist M., Wattanapenpaiboon N., Sotheeswaran S. et Premier R. 2007. Phytochemical flavonols, carotenoids and the antioxidant properties of a wide selection of Fijian fruit, vegetables and other readily available foods. *Food Chemistry*, 101: 1727.

Lapornik B., Prosek M. et Wondra A.G. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71:214-222.

Lê S. et Husson F. (2008). SensoMiner: a package for sensory data analysis. *Journal of Sensory Studies*. 23 (1): 14-25.

Lee B.K., Jung J.F. et Choi Y.H. 2005. Optimization of microwave-assisted extraction process of *Rehmannia Radix Preparata* by reponse surface methodology. *Food Engineering Progress*, 9: 283:290.

Ling L. T., Yap S., Radhakrishnan A. K., Subramaniam T., Cheng H. M. et Palanisamy U. D. 2009. Standardised *Mangifera indica* extract is an ideal antioxidant. *Food Chemistry*, 113 : 1154-1159.

Luquet F. M., 1985. Laites et produits laitiers. 2. Les produits laitiers. Paris, Technique et Documentation, Lavoisier ; APRIA, 633 p. (Coll. Sciences et techniques agro-alimentaires)

Mahaut M., Jeantet R., Brulé G. et Schuck P. 2000. Les produits industriels laitiers. Tech &Doc. Lavoisier. Paris.

MAMF : Ministre de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt (2015).

Mehinagic E., Bourles E. et Jourjon F. 2011. Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. Ecole supérieure d'agriculture d'Angers. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 43 (6): 364.

Michel T. 2011. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de Doctorat. Université d'Orléans, école Doctorale sciences et technologies 289 p.

Naes T. et Risvik E. 1996. Multivariate analysis of data in sensory science. Elsevier Science, Amsterdam.

OIV : organisation internationale de la vigne et du vin (2015).

- Ojeil A., El Darra N., El Hajj Y., Bou Mouncef P., Rizk T. J. et Maroun R. G. 2010.** Identification et caractérisation de composés phénoliques extraits du raisin chateau ksara. *Lebanese Science Journal*, 11: No. 2.
- Paci Kora E. 2004.** Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur ?. Thèse de Doctorat. Institut National Agronomique, Paris-Grignon, 258 p.
- Pantelic M. M., Dabic Zagorac D. C., Davidovic S. M., Todic S. R., Bešlic Z. S., Gašic U. M., Tešic Z. L. et Natic M. M. 2016.** Identification and quantification of phenolic compounds in berry skin, pulp, and seeds in 13 grapevine varieties grown in Serbia. *Food Chemistry*, 211: 243–252.
- Penchev P. I. 2010.** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, P. 239.
- Penchev P., Angelov G., Condoret J. S. 2010.** Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la Melisse (*Melissa officinalis* L.). *Revue de génie industriel*, 5 : 115-123.
- Perez M. E. G. 2008.** Caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune : étude de leur capacité antioxydante. Université de Laval, 147 p.
- Périnel E. et Pagès J. 2004.** Optimal nested cross-over designs in sensory analysis. *Food Quality and Preference*, 15(5): 439-446.
- Peschel W., Sanchez-Rabaneda F., Diekmann W., Plescher A., Gartzia I., Jimenez D., Rosa Lamuela-Raventos R., Buxaderas S., Codina C., 2006.** An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, 97: 137-150.
- Plaza M., Abrahamsson V. and Turner C. 2013.** Extraction and Neoformation of Antioxidant Compounds by Pressurized Hot Water Extraction from Apple Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 5500–5510.
- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel*, 4: 25-39.
- Popper P., Schlich P., Delwiche J., Meullenet J. F., Xion R., Moskovitz H., Lesniauskas R. O., Carr T. B., Eberhardt K., Rossi F., Vigneau E., Qannari P. et Markato C. 2004.** Workshop summary: Data Analysis workshop: getting the most out of just-about-right data. *Food Quality and Preference*, 15: 891-899.
- Proestos C., Lytoudi K., Mavromelanidou O. K., Zoumpoulakis P. et Sinanoglou V. J. 2013.** Antioxidant capacity of selected plant extracts and their essential oils. *Antioxydants*, 2: 11-22.

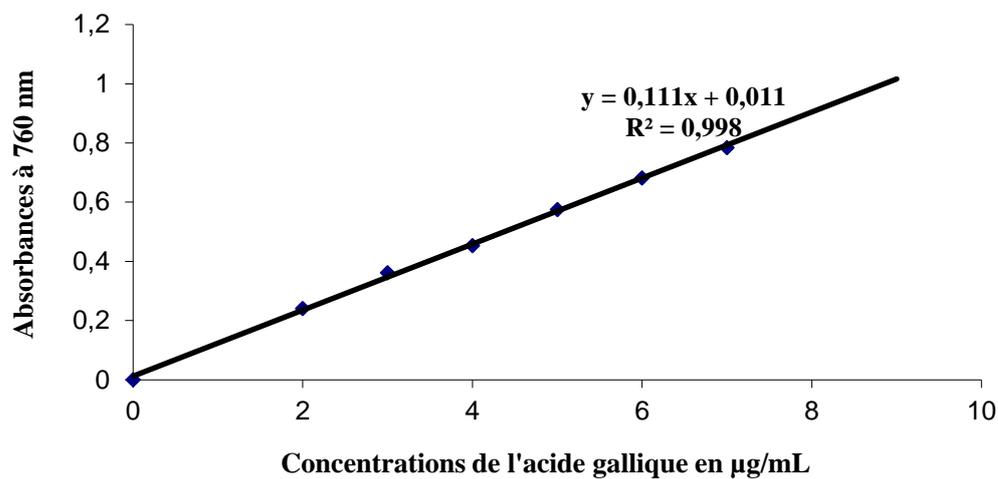
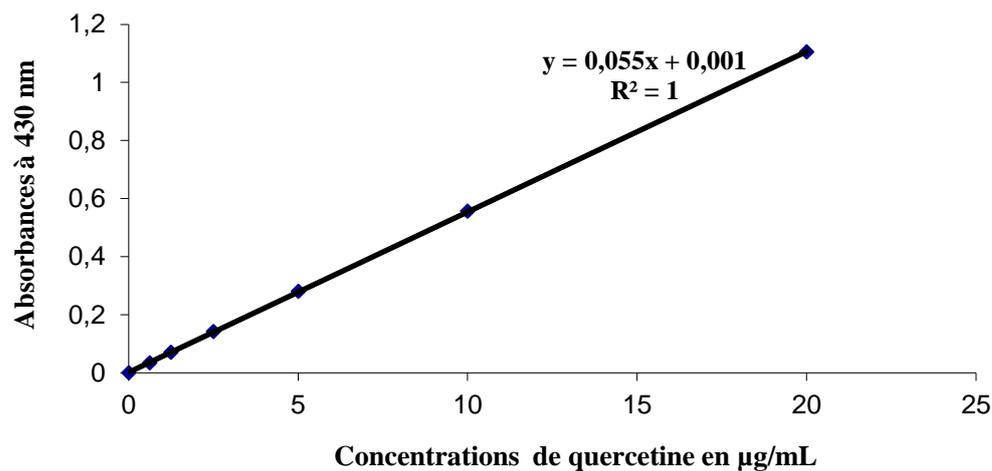
- Ribereau G. P. 1968.** Les composés phénoliques des végétaux. Edition : Dunod, Paris. 1-201.
- Roginsky V. et Lissi E. A. 2005.** Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92: 235-254.
- Rombaut N. 2013.** Etude comparative de trois procédés d'extraction d'huile : aspects qualitatifs et quantitatifs. Application aux graines de lin et aux pépins de raisin. Thèse de Doctorat. Université de Technologie Compiègne, 255 p.
- Salvador M. D., Aranda F. et Fregapane G. 2001.** Influence of fruit ripening on Cornicaba virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*, 73: 45-53.
- Saucier C., Bourgeois G., Vitry C., Roux D., Glories Y., J. Agric. Food Chemistry. 1997,** 45, 1045-1049
- Schmidt T., Tourneur C., et Lenoir D. 1994.** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières. In : « bactéries lactiques ». De Roissart H. et Luquet F. Ed . Loriga. Paris. PP : 37-46.
- Sikka S. C., Rajasekaran M., Hellestrom W. J. G. 1995.** Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *Journal of Andrology*, 16:464-468.
- Spigno G., Tramelli L., De Faveri D. M. 2006.** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200–208
- Tamime A. Y. et Deeth H. C. 1980.** Yogurt : technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43, 12, 939-977.
- Tamime A. Y., Robinson R. K., 1985.** Background to manufacturing practice. *In yoghurt. Science and technology.* Pergamon press, Paris, 7-9.
- Tamime, A Y., Kalab, M., Davies, G. 1984.** Microstructure of the set-style yoghurt manufactured from cow's milk fortified by various methods. *Food Microstructure*, 3, 83-92.
- Tarascou I. 2005.** Synthèse et caractérisation de procyanidines oligomères pour l'identification de tanins du raisin et du vin. Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux, école Doctorale des sciences chimiques, 201p.
- Toussaint F. 2001.** Le grain de raisin. Technorest.org.
- Tow W.W., Premier R., Jing H. and Ajlouni S. 2011.** Antioxidant and Antiproliferation Effects of Extractable and Non extractable Polyphenols Isolated from Apple Waste Using Different Extraction Methods. *Journal of Food Science*, Vol : 76. Nr :7.
- Umamaheswari M. et Chatterjee T. K. 2008.** *In vitro* antioxidant activities of the fractions of coccinia grandis L. leaf extract. *African journal complementations and alternative medicine* S(1): 61-73.

Wolfe k., wu X. et liu R. H. 2003.Antioxidant Activity of Apple Peels. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 609-614.

Xanthopoulos V., Petiadis D., et Tzanetakis N. 2001. Characterization and classification of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus strains isolated from traditional Greek yogurts. Journal of Food Science, 66 (5), 247-253.

Zhou L., Wang W., Huang J., Ding Y., Pan Z., Zhao Y., Zhang R., Hua B. et Zeng X. 2016. *In vitro* extraction and fermentation of polyphenols from grape seeds (*Vitis vinifera*) by human intestinal microbiota. Food and Function, 7: 1959–1967.

Annexes

Annexe I : Courbes d'étalonnages utilisées pour le dosage des antioxydants**Annexe I-1:** courbe d'étalonnage des polyphénols totaux**Annexe I-2 :** courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Annexe II : Tableaux récapitulatifs des différentes corrélations entre l'activité antioxydante et les teneurs en antioxydants dosés.

Epluchures de pomme	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	DPPH	Molybdate
Polyphénols totaux	1	1,00	-0,50	-0,01
Flavonoïdes	1	1	-0,50	0,00
DPPH	-0,50	-0,50	1	-0,87
Molybdate	-0,01	0,00	-0,87	1

Pépins de raisin	Polyphénols totaux	Flavonoïdes	DPPH	Molybdate
Polyphénols totaux	1	-0,55	-1,0	0,50
Flavonoïdes	-0,05	1	0,55	0,44
DPPH	-1,0	0,55	1	0,55
Molybdate	0,50	0,44	-0,05	1

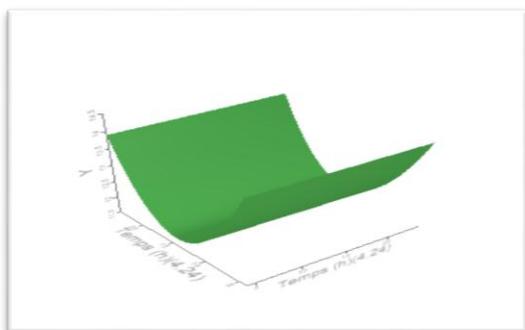
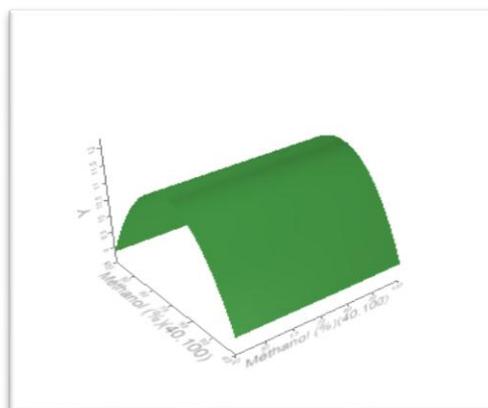
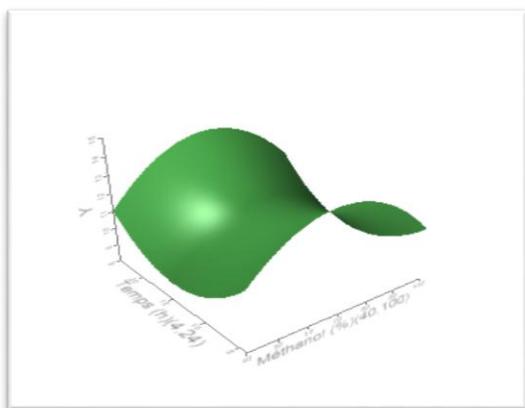
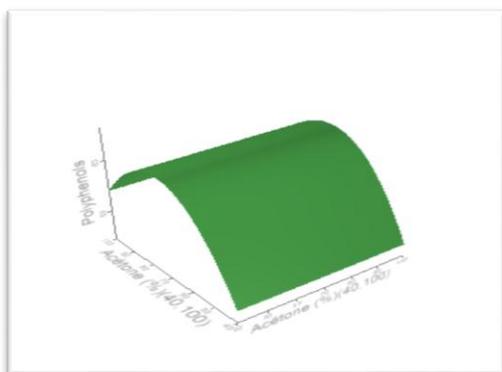
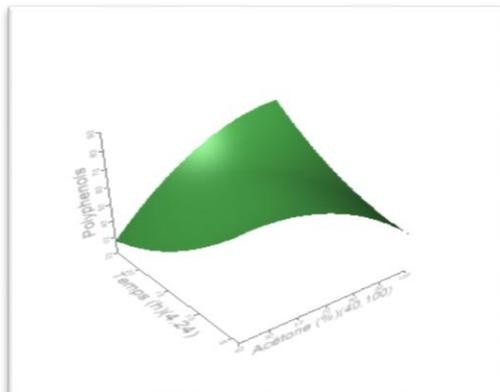
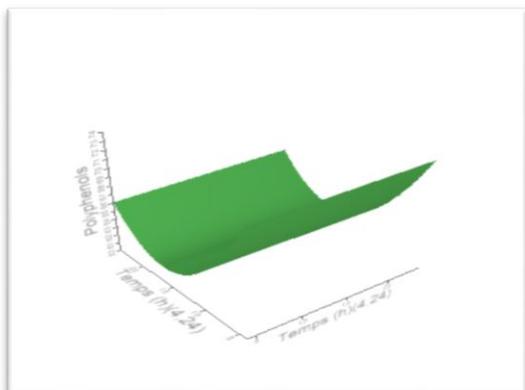
Annexe III : Solvants et réactifs utilisés au cours du travail.

Nom du produit	Formule chimique	Marque	Masse molaire (g/mol)	Pays de fabricant
Acétone	C ₃ H ₆ O	BIOCHEM Chemopharma	58,08	Québec
Acide gallique monohydrate	C ₇ H ₆ O ₂ , H ₂ O	BIOCHEM Chemopharma	188,14	Québec
Acide quercétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₇ , 2H ₂ O	Riedel-de Haën	338,27	Germany
Acide sulfurique à 96-98%	H ₂ SO ₄	BIOCHEM Chemopharma	98,07	Québec
Carbonate de sodium decahydrique à 7,7 %	Na ₂ CO ₃ , 10H ₂ O	SIGMA- ALDRICH	286,14	Germany
Chlorure d'aluminium à 2%	AlCl ₃	BIOCHEM Chemopharma	133,341	USA
DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl)	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	SIGMA- ALDRICH	1235,86	Germany
Ethanol	C ₂ H ₆ O	SIGMA- ALDRICH	46,07	Germany
Folin-Ciocalteu 1/10	-	BIOCHEM Chemopharma	-	France
Hydroxyde de sodium	NaOH	BIOCHEM Chemopharma	39,997	Quebec
Iodure de potassium	KI	BIOCHEM Chemopharma	166,00	Quebec
Méthanol à 99%	CH ₃ OH	GPR RECTAPUR	32,00	France
Molybdate d'ammonium tetrahydrique	H ₂₄ MO ₇ N ₆ O ₂₄ 4H ₂ O	BIOCHEM Chemopharma	1235,86	Quebec
Tétrachlorure de carbone	CCL ₄	BIOCHEM Chemopharma	153,83	Quebec
Thiosulfate de sodium	Na ₂ S ₂ O ₃	BIOCHEM Chemopharma	158,10	Quebec
Phénol phtaleine	C ₂₀ H ₁₄ O ₄		318,32	
Phosphate de sodium	NaH ₂ PO ₄ , 2H ₂ O	BIOCHEM Chemopharma	1561,01	Quebec

Annexe IV : Le matériel utilisé au cours du travail.

Matériel	Les appareils
<ul style="list-style-type: none">✓ Béchers✓ Burette graduée✓ Cuve en verre et en quartz✓ Eprouvettes graduées✓ Pipettes graduée✓ Tubes à essais✓ boîtes de pétri✓ embouts✓ écouvillons✓ erlenmeyer✓ Baro magnétique✓ Tamis✓ pH-mètre✓ viscosimètre (BROOK FIELD ROV)✓ erlenmeyer✓	<ul style="list-style-type: none">✓ Bain-marie (RAYPA)✓ Balance de précision (SUMSUNG)✓ Micropipettes✓ Plaque magnétique agitatrice (VELP SCIENTIFICA)✓ Réfrigérateur (SAMSUNG)✓ Spectrophotomètre (UV-Vis Spectrophotometer, Spectro Scan 50)✓ Vortex (VELP SCIENTIFICA)✓ bec benzène✓ hôte (FASTER TWO 30)✓ étuve ventilée✓ broyeur (IKA)✓ pompe à vide (VELP scientifica)✓ micropipette

Annexe V: Différentes interaction de différents paramètres (solvant, temps, température) des extraits de pépins de raisin et d'épluchures de pomme.



Annexe VI : Questionnaire d'évaluation sensorielle de trois types de yaourt

Age :

Sex : féminin masculin

date :

Trois échantillons du yaourt codés **A**, **B** et **C** vous sont présentés, il vous est demandé de cocher la case correspondante aux descripteurs appropriés.

NB : veuillez rincer votre bouche à chaque dégustation d'un échantillon.

1- Odeurs :

1 : très forte

2 : forte

3 : moyenne

4 : faible

5 : absente

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

2- Couleur :**1- La couleur du yaourt vous l'appréciez :**

1 : très bien

2 : bien

3 : moyen

4 : peu

5 : n'est pas apprécié

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

3- Texture:**1- Texture en bouche:**

1 : très lisse

2 : lisse

3 : moyenne

4 : granuleuse

5 : très granuleuse

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

2- Consistance quand on mélange (veuillez remuez 10 fois) :

1 : très mou

2 : mou

3 : moyenne

4 : ferme

5 : très ferme

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

4 –Sensation en bouche :**1- Gout sucré :**

- 1 : très fort
- 2 : fort
- 3 : moyen
- 4 : faible
- 5 : absent

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

5- Saveur :**1- Gouts fruités :**

- 1 : très fort
- 2 : fort
- 3 : moyen
- 4 : faible
- 5 : absent

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

2- Acidité :

- 1 : très forte
- 2 : forte
- 3 : moyenne
- 4 : faible
- 5 : absente

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

3- Parfum identifié :

- 1 : basilic
- 2 : citron
- 3 : vanille
- 4 : orange
- 5 : fraise

Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C

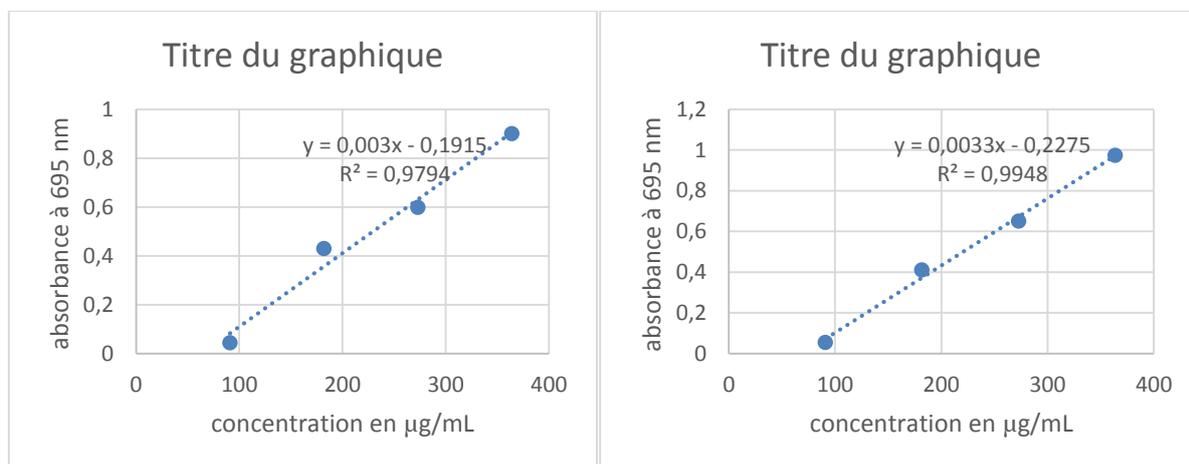
6- Attribuez une note allant de 1 à 9 pour chaque échantillon, sachant que 1 correspond à l'échantillon le moins préféré et 9 au plus préféré :

	Echantillon A	Echantillon B	Echantillon C
Note			

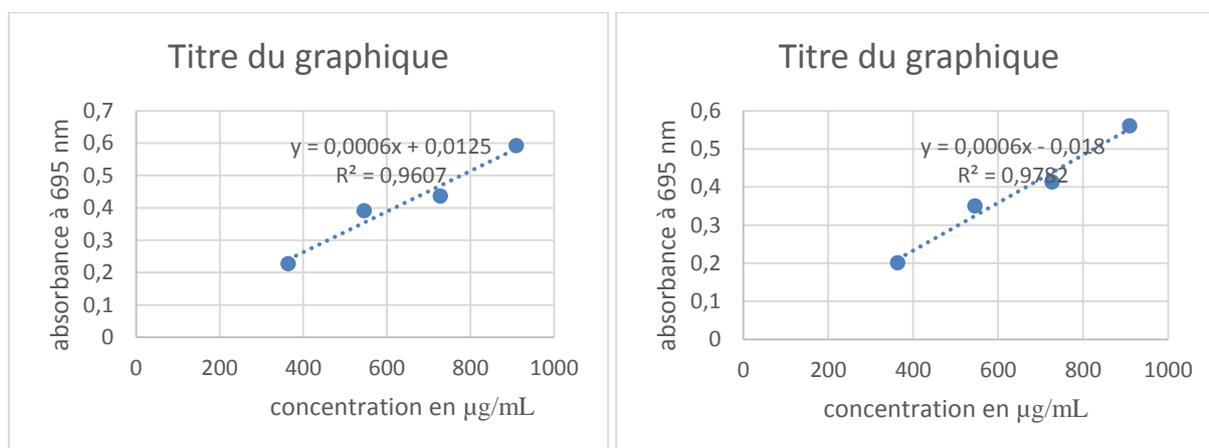
Merci pour votre coopération

Anexxe VII : courbe d'étalonnage utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante

Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur au phosphomolybdate de pépins de raisin



Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur au phosphomolybdate des épiluchures de pomme



Résumé

Dans la présente étude, les extraits de pépins de raisins et d'épluchures de pomme ont été étudiés pour optimiser les paramètres d'extraction des antioxydants (composés phénoliques) en utilisant le plan composite central. Les conditions expérimentales optimales permettant une maximisation de l'extraction des polyphénols des pépins de raisins sont : le solvant (acétone) à une concentration de 70% (v/v) pour un temps de 14 heures avec une poudre < 250 µm. Pour les épluchures de pomme sont le méthanol à une concentration de 70% (v/v) pour un temps de 14 heures avec une poudre < 1000 µm. Une quantification des polyphénols totaux (PPT) et des flavonoïdes (FT) et une évaluation de l'activité antioxydante (pouvoir anti-radicalaire et réducteur) des échantillons étudiés ont été effectués. L'extrait de pépins de raisins a donné la teneur la plus élevée avec une différence significative à $P \leq 0,05$ en PPT (56,5 mg EAG/g de MS). Cependant, l'extrait d'épluchures de pommes est plus riche en flavonoïdes (6,61 mg EQ/g de MS). Une bonne corrélation positive a été enregistrée entre les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés et leur activité antioxydante. Les poudres des deux échantillons ont été ensuite utilisées avantageusement dans un produit laitier dont le but est l'enrichissement du yaourt. A cet effet, des formulations du yaourt ont été élaborées à base de ces poudres. Les résultats des analyses microbiologiques des trois yaourts fabriqués montrent leur conformité aux normes. En outre, le test de dégustation a permis de faire ressortir le classement de préférence où le yaourt enrichi par la poudre de pépins de raisins est en première position.

Mots clés : Optimisation, extraction, pépins de raisins, épluchures de pommes, polyphénols, activité antioxydante, yaourt.

Abstract

In the present study, the extracts of grape seeds and apple peeling were studied to optimize the extraction parameters of antioxydants (phenolic compounds) by using the composite experimental design plane central. The optimal experimental conditions allowing a maximization of the extraction of polyphenols of the grape seeds are: the solvent (acetone) with a concentration of 70% (v/v) for a 14 hours time with a powder < 250 µm. For the apple peeling the conditions are: methanol with a concentration of 70% (v/v) for a 14 hours time with a powder < 1000 µm. A quantification of total phenolic compounds (TPP) and flavonoïds (TF) and an evaluation of antioxydant activities (antiradical and reducer capacity) of the studied samples were carried out. The grape seeds extract showed significantly at $P \leq 0,05$ a high TPP content (56.5 mg GAE/g DM). However, the apple peeling extract is richer in flavonoids (6.61 mg QE/g DM). A good positive correlation was found between phenolic compounds content and the antioxydant activity of the extracts. The powders of the studied samples were used advantageously in a dairy product of which the goal is the enrichment of yoghurt. For this purpose formulations of yoghurt were elaborate containing these powders. The results of microbiological analysis of the three elaborate yoghurts showed their standards compliance. Besides, the test of tasting bring out the rankings preferably where in the yoghurt enriched with the grape seeds powder is in the first position.

Keywords: Optimization, extraction, grape seeds, apple peelings, phenolic compounds, antioxydant activity, yoghurt.