

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Filière : Sciences Biologique
Spécialité : Science Alimentaire
Option : Industrie laitière



Réf:.....

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

MASTER

Thème

**Optimisation de l'extraction des composés
phénoliques et élaboration d'un yaourt à
base de la courge**

Présenté par :

BELKEBLA Amina & MAKHLOUFI Nawal

Soutenu le : **13 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

M^{me} BOULEKBACHE L.

MCA

Présidente

M^{elle} BRAHMI F.

MAA

Encadreur

M^{me} SMAIL L.

MAA

Examinatrice

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciements



Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements au Bon Dieu de nous avoir donné le courage et la force pour terminer notre travail et pour sa bienveillance.

Notre profonde gratitude va à notre promotrice M^{lle} Brahmi F pour ses précieux conseils, ses orientations et la confiance qu'il nous a donnée, et nous lui souhaitons la réussite dans ses projets.

Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à :

- *M^{me} Boulekhabache L d'avoir accepté de présider le jury et de juger notre travail.*
- *M^{me} Smail L d'avoir accepté d'examiner et de juger notre travail.*
- *L'ensemble du personnel de laboratoire LAI, ainsi que M^{me} Yalaoui et M^{me} Smail pour leurs aides.*
- *Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude*

Enfin nos remerciements s'adressent plus particulièrement à nos familles et nos amis(es) qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous supporter tout au long des années.

Nawal et Mina



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents, qui m'ont soutenu tout au long de ces années, avec leurs affections et leurs amours, et que dieu leurs offres une bonne santé et longue vie;

À ma chère Mina ;

À ma très chère sœur SALIMA, son marie et leur fille LINA

À mes deux frères aimables DIDINE et WALID;

À ma grand-mère que dieu lui prêtent une longue vie ;

À mes tantes;

À mes oncles, leurs femmes et leurs enfants : Rayan, Salim, Maria,

Anaïs et Yani;

À toute la famille MAKHLOUFI ;

À tous mes très chères ami(e)s et pour tous ceux qui m'aiment;

À Toute la PROMOTION d'Industrie laitière

NAWAL

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents, qui m'ont soutenu tout au long de ces années, avec leurs affections et leurs amours, et que dieu leurs offres une bonne santé et longue vie;

À ma chère Nawal ;

À mes très chères sœurs Sonia, Rebika, Ghania et Yasmie

À mes belles sœurs Nadia et Nawel;

À mes nièces adorables Asma, Chaima, Imane et Marwa

À mon neveu Hocine

À Dada et mes chers frères Djelloul, Didou, Didis et Yahia;

À ma chère copine Sabrina;

À toute la famille BELKEBLA;

À tous mes très chères ami(e)s et pour tous ceux qui m'aiment;

À Toute la PROMOTION d'Industrie laitière

Amina

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Partie bibliographique

| | |
|--|----|
| I- Caractéristiques de la courge | 3 |
| I-1-Historique | 3 |
| I-2- Généralités sur la courge | 3 |
| I-2-1-Description botanique de la citrouille | 3 |
| I-2-2-Les noms vernaculaires de la citrouille | 4 |
| I-2-3-Habitat et distribution | 5 |
| I-2-4-Composition chimique de la courge | 5 |
| I-2-5-Utilisations culinaire et thérapeutique de la citrouille | 7 |
| I-3-Activité antioxydante et métabolites secondaires | 9 |
| I-3-1-Généralités sur l'activité antioxydante | 8 |
| I-3-2-Métabolites secondaires | 10 |
| I-4- Le Yaourt | 11 |
| I-4-1-Historique de yaourt | 11 |
| I-4-2-Définition du yaourt | 12 |
| I-4-3-Effets nutritionnel et thérapeutique | 13 |

Partie pratique

1- Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| 1-1-Préparation du matériel végétal | 14 |
| 1-2-Test d'humidité | 14 |
| 1-3-Optimisation de l'extraction des polyphénols | 15 |
| 1-3-1-Etude préliminaire..... | 15 |
| 1-3-1-1-Choix des paramètres d'extraction..... | 15 |
| 1-3-2-Dosages phytochimiques | 16 |

| | |
|---|----|
| 1-3-2-1-Doasage des polyphénols | 16 |
| 1-3-2-2-Doasage des flavonoïdes | 16 |
| 1-3-2-3-Doasage des caroténoïdes | 17 |
| 1-3-3-Activité antioxydante | 17 |
| 1-3-3-1-Pouvoir antiradicalaire | 17 |
| 1-3-3-2-Activité antioxydante totale | 18 |
| 1-4-Préparation des yaourts ferme à base de la poudre de la pulpe et de l'écorce de la courge | 19 |
| 1-4-1-Formulation des échantillons | 19 |
| 1-4-2-Analyses physicochimiques | 19 |
| 1-4-2-1- Mesure du pH | 19 |
| 1-4-2-2-Acidité titrable | 20 |
| 1-4-3-Analyses microbiologiques | 20 |
| 1-4-4-Analyse sensorielle et hédonique | 20 |
| 2- Résultats et discussions | |
| 2-1-Teneur en eau | 22 |
| 2-2-Optimisation de l'extraction des polyphénols | 22 |
| 2-2-1-Etude préliminaire | 23 |
| 2-2-1-1-Choix du solvant d'extraction | 23 |
| 2-2-1-2-Choix du temps d'extraction | 24 |
| 2-2-1-3-Choix de la granulométrie d'extraction | 25 |
| 2-3-Optimisation par la méthodologie de surface de réponse | 26 |
| 2-3-1-Analyse des résultats | 26 |
| 2-3-2-Coefficient de corrélation | 27 |
| 2-3-3-Effet des interactions | 28 |
| 2-4-Dosages phytochimiques | 29 |
| 2-4-1-Doasage des polyphénols | 29 |
| 2-4-2-Doasage des flavonoïdes | 31 |
| 2-4-3-Doasage des caroténoïdes | 31 |
| 2-5-Activité antioxydante | 32 |
| 2-5-1-Pouvoir antiradicalaire | 32 |
| 2-5-2-Activité antioxydante totale | 34 |
| 2-6-Analyses effectuées pour le yaourt | 34 |
| 2-6-1-Analyses physicochimiques | 34 |
| 2-6-2-Paramètres microbiologiques | 35 |

| | |
|--|----|
| 2-6-3-Analyse sensorielle et hédonique | 35 |
| 2-6-3-1-Analyse sensorielle | 35 |
| 2-6-3-2-Analyse hédonique | 38 |
| Conclusion | 40 |
| Références bibliographiques | |
| Annexes | |
| Résumé | |

Liste des abréviations

av. J.-C : Seigneur Jésus-Christ', est un terme qui désigne l'année supposée de la naissance de Jésus-Christ'.

CC : concentration caroténoïdes

CCM: Chromatographie sur couche mince

CLHP: Chromatographie en phase liquide

CPT : Concentration en polyphénols totaux

EAG/g MS : Equivalent acide gallique par gramme de matière sèche.

FAO: Food and Agriculture Organization

FTAM: Flore Mésophile Aérobie Totale.

IC 50: Concentration Inhibitrice à 50%.

LDL: Low Density Lipoprotein.

MG: Matière Grasse

MS: Matière sèche

pH : Potentiel d'Hydrogène

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure n°1: Pédoncule(A), fruit(B) et graine(C) de <i>Cucurbita pepo</i> (6980-7340 ans av. J.C) | 3 |
| Figure n°2: Fruit(A), graines (B), fleur (C) et feuilles (D) de la citrouille | 4 |
| Figure n° 3: Photographies de la courge utilisée dans cette étude | 14 |
| Figure n°4: Réduction de radical DPPH | 18 |
| Figure n°5: Diagramme de fabrication de yaourt | 19 |
| Figure n°5: Diagramme de fabrication de yaourt | 19 |
| Figure n° 6: Teneurs en humidité de l'écorce et la pulpe de la courge | 22 |
| Figure n°7 : Influence de type de solvant sur la teneur en polyphénols des extraits de la pulpe (A) et l'écorce (B) de la courge | 24 |
| Figure n°8 : Influence de temps d'extraction sur la teneur en polyphénols des extraits de la pulpe (A) et l'écorce (B) de la courge | 25 |
| Figure n°9 : Influence de la granulométrie sur la teneur en polyphénols des extraits de la pulpe (A) et l'écorce (B) de la courge | 26 |
| Figure n°10 : Plan de prédiction réel de la pulpe (A) et de l'écorce (B) | 28 |
| Figure n°11: Surface de réponse de l'interaction (Temps-Solvant) de la pulpe (A) et de l'écorce (B) | 29 |
| Figure n°12: Teneur moyenne en polyphénols des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge | 30 |
| Figure n°13 : Teneur moyenne en flavonoïdes des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge | 31 |
| Figure n°14 : Teneur moyenne en caroténoïdes des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge | 32 |
| Figure n°15: Pouvoir discriminant par descripteur | 36 |
| Figure n°16: coefficient de model de l'échantillon Z | 37 |
| Figure n°17 : Corrélations entre les variables et les facteurs | 38 |
| Figure n°18: Courbe de niveau et carte de préférence | 39 |
| Figure n°19: Courbe de niveau | 39 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I : Les noms vernaculaires de la citrouille | 5 |
| Tableau II : La composition chimique de la pulpe de la citrouille | 6 |
| Tableaux III: Analyse microbiologique du yaourt | 20 |
| Tableau IV: Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan central composite pour l'extrait de la pulpe | 27 |
| Tableau V: Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan central composite pour l'extrait de l'écorce | 27 |
| Tableau VI: Les conditions optimales, la valeur expérimentale et prédites de réponse de surface | 28 |
| Tableau VII: Résultats de l'analyse physicochimique du yaourt | 35 |
| Tableau VIII : Résultats de l'analyse microbiologique du yaourt | 35 |
| Tableau IX: Résultats de l'Evaluation du plan | 36 |
| Tableau X: Pourcentage de juges satisfaits pour chaque objet | 39 |

La consommation des aliments d'origine végétale a été augmenté ces dernières années, en raison de la sensibilisation publique de leur bienfaits, où plusieurs études épidémiologiques ont démontrés qu'une telle alimentation réduit considérablement des maladies dégénératives comme les accidents cardiovasculaires et certains types de cancer (**Allane, 2009; Adebayo et al., 2013**).

Les propriétés préventives des aliments d'origine végétales sont dues à la présence des vitamines C, E et A, de caroténoïdes et des composés phénoliques qui sont des molécules dotées d'un pouvoir antioxydant (**Allane, 2009**). La recherche de nouveaux antioxydants à partir de matières végétales a pris une très grande attention dans la dernière décennie, de nombreux groupes de recherches ont mis leurs accents sur l'extraction d'antioxydants des plantes pour applications prometteuses dans l'industrie agro-alimentaires, les produits pharmaceutiques et cosmétiques (**Sineiro et al., 2008; Metherell, 2010; Rajha et al., 2015**).

L'industrie agro-alimentaire doit actuellement faire face à une réduction des marges bénéficiaires sur les produits traditionnels. Elle cherche donc à ajouter de la plus-value à certains de ses produits et le développement des produits "santé" est une alternative très intéressante, à une époque où la relation alimentation-santé est reconnue et où nous souffrons de plus en plus de pathologies liées à l'alimentation. Un des principaux défis de l'industrie alimentaire (fruits et légumes) est de valoriser les propriétés de ses produits. Grâce à leurs propriétés de prévention de certaines pathologies, la richesse en composés phénoliques des matières premières ou des produits transformés pourrait constituer un bon argument de vente (**Tabart et al., 2006**).

Le yaourt est le lait fermenté le plus populaire produit partout dans le monde. Il est caractérisé par ses effets nutritionnels et bénéfiques sur l'Homme. La production mondiale et la consommation du yaourt a diamétralement augmenté durant le dernier quart du siècle dernier, en raison de l'introduction des fruits et légumes. Ces derniers sont ajoutés aux yaourts comme prébiotiques, comme aromates, agents de coloration et comme une source d'antioxydants naturels (**Mehriz et al., 2013**).

Ce travail vise à optimiser l'extraction des antioxydants (composés phénoliques) afin d'accroître la valeur de *C. pepo*. Toutefois, l'extraction est influencée par plusieurs paramètres. La problématique posée via cette étude est déterminé qu'elles sont les meilleures conditions pour extraire des taux importants de ces composés. Cette étude cherche également

à démontrer quels sont les métabolites secondaires (polyphénols totaux, flavonoïdes et caroténoïdes) responsables de l'activité antioxydante de ce fruit. Notre objectif principal est aussi d'explorer l'impact de l'enrichissement de yaourt avec la pulpe et l'écorce de *C. pepo*, autant qu'agents de texture (épaississant ou gélifiant) à l'égard de leurs richesses en fibre et en pectine et principalement en substances bioactifs (polyphénols, vitamines). Ainsi nous nous attendons à aboutir à la formulation d'un produit dont nous voulons savoir si ses propriétés physico-chimiques et microbiologiques vont être conformes aux normes et surtout s'il sera apprécié par les consommateurs.

I- Caractéristiques de la courge

I-1- Historique

La citrouille est une plante très ancienne retrouvée dans des restes archéologiques américains. La preuve est liée à des graines de citrouille datées entre 5500 et 7000 av. J.-C, qui ont été trouvées en Mexique (Figure n°1) (Mohamed *et al.*, 2009 ; Adebayo *et al.*, 2013; Ghedira et Goetz, 2013). Après des siècles, Christophe Colomb a rapporté la première fois en 1492, l'implantation de la citrouille dans son itinéraire ; puis Gasper Espinosa la rencontre aussi dans son parcours en voyageant (Hosseinzadeh-Colagar et Amjadi-souraki, 2012). Ensuite la culture de la citrouille a été introduite en Europe en 15^{ème} siècle par des espagnols (Armougom, 1998; Marianne, 2006).



Figure n°1: Pédoncule (A), fruit (B) et graine (C) de *Cucurbita pepo* (6980-7340 ans av. J.-C) (Smith, 1997).

La courge a été dénommée pumpkin en anglais, ce mot dérive du mot grec pepon, qui signifie gros melon. Les français ont adapté ce mot pompon, alors que les britanniques l'ont nommé pompion et plus tard, les américains ont adapté le mot que nous utilisons aujourd'hui pumpkin, sur la base de son histoire étymologique comme nom appliqué au fruit de cucurbita qui est rond, grand et comestible (Adebayo *et al.*, 2013; Paris, 2015).

I-2- Généralités sur la citrouille

I-2-1-Description botanique de la citrouille

Le terme citrouille vient de citrus indiquant une couleur jaune (Pitrat et Foury, 2015). C'est une culture végétale, appartenant à la famille des Cucurbitaceae qui est composée d'environ de 120 genres et 850 espèces (Prasad, 2014) et au genre *Cucurbita* qui comprend une douzaine d'espèces désignées couramment sous le terme générale de courge (Armougom, 1998). Les différentes espèces sont classées selon la texture et la forme de leurs pédoncules (Asgary *et al.*, 2011 ; Assous *et al.*, 2014), dont 5 sont domestiques (*C. pepo*, *C.*

maxima, *C. moschata*, *C. mixta* et *C. facifolia*) où les trois premières représentent les espèces les plus cultivées dans le monde (Fu *et al.*, 2006; Paucean et Man, 2014; Blanco-Diaz *et al.*, 2015) et les 10 autres espèces sont sauvages (Blanco-Diaz *et al.*, 2015). Cependant, la citrouille présente l'une des cultivars de l'espèce *C. pepo* (Boullard, 1997; Grubben *et al.*, 2004; Pitrat et Foury, 2015).

La citrouille est une plante annuelle ou vivace, herbacée, prostrée, grimpant par des vrilles latérales à 3-4 branches fortement ramifiées, ayant de grand fruit charnus de 15 à 40 cm de diamètre et peut atteindre jusqu'aux 50 kg (Boullard, 2001; Polese, 2006 ; Napier, 2009 ; Botineau, 2010 ; Fedha *et al.*, 2010). Ce fruit est une grosse baie spongieuse, globuleuse ou oblongue, filamenteuse vers le centre (Figure 2-A), renferme de nombreuses graines blanchâtres, ovoïdes, aplatis et entourées d'un bourrelet périphérique (Figure 2-B) (Armougom, 1998; Ghedira et Goetz, 2013). Elle est caractérisée par de grandes fleurs (10-12 cm) jaunes citron à jaunes doré, solitaires et unisexuées (Figure 2-C) (Boullard, 2001; Grubben *et al.*, 2004). Ses tiges sont anguleuses souvent cannelées, à poils piquants atteignant plusieurs mètres de longueur (Armougom, 1998; Grubben *et al.*, 2004) et portant de grandes feuilles à 5 lobes à bords dentés, hérissées, alternes, hispides et soutenues par un long pétiole (Figure 2-D) (Boullard, 2001; Grubben *et al.*, 2004). Son écorce est lisse généralement nervurée, de couleur orange ou jaune (Adebayo *et al.*, 2013).

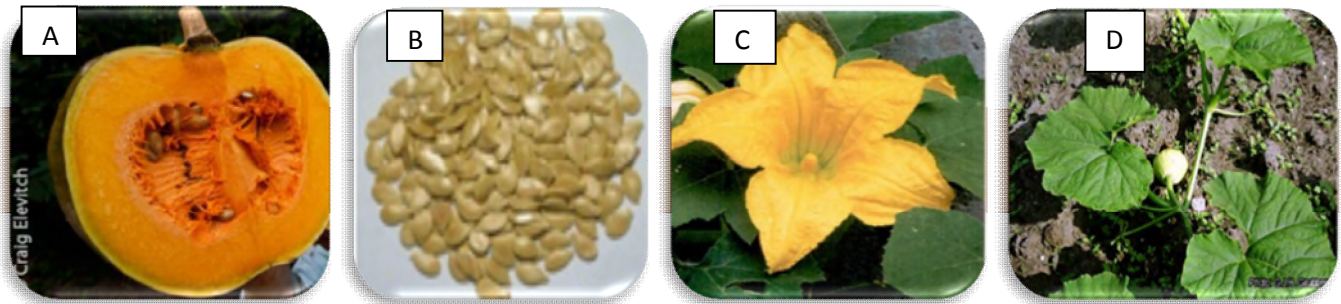


Figure n°2: Fruit(A), graines (B), fleur (C) et feuilles (D) de la citrouille (Boullard, 2001; Zhou *et al.*, 2007).

I-2-2-Les noms vernaculaires de la citrouille

Les différentes dénominations attribuées à la citrouille sont données dans le tableau suivant :

Tableau I : Les noms vernaculaires de la citrouille (Ghedira et Goetz, 2013).

| | Dénomination de la citrouille |
|-----------------|---|
| Français | courge, courge pépon, courgette, pépon, gourde |
| Allemand | Kürbissamen, Gewöhnlicher Kürbis |
| Anglais | Gourd, pumpkin, field pumpkin, squash, vegetable marrow |
| Italien | zucchina, zucca, zucchette |
| Espagnol | Calabacin, calabaza de San Juan |
| Grec | Σκουός |
| Arabe | Qaraa, Elyaqtin |

I-2-3-Habitat et distribution

La citrouille est largement cultivée dans les régions tropicales et subtropicales (Saeleaw et Schleining, 2011; Das et Banerjee, 2015). Elle nécessite une température élevée au-dessus de 25 °C au cours de la période de croissance et une humidité assez faible (Obiakor-Okeke et Oly-Alawuba, 2014). Elle pousse mieux dans les sols fertiles bien drainés avec un pH entre 6 et 6,5, bien qu'elle tolère les sols légèrement acides ou légèrement alcalins (Napier, 2009).

I-2-4-Composition chimique de la citrouille

La citrouille est un légume sain et fonctionnel ayant une valeur nutritionnelle très élevée, mais varie d'une espèce ou d'un cultivar à un autre (Rakcejeva *et al.*, 2011; Assous *et al.*, 2014; Paucean et Man, 2014).

La pulpe de la citrouille est riche en eau, en composés bioactifs (polyphénols, flavonoïdes et caroténoïdes (avec 80% de β -carotènes)), ainsi qu'en polysaccharides, fibres alimentaires, pectine, protéines, sels minéraux (potassium, phosphore, magnésium, fer, zinc et sélénium). Elle présente aussi une source précieuse en vitamines (B6, K, E, thiamine et riboflavine), et renferme en abondance les vitamines A et C (Benseddik *et al.*, 2014; Aydin et Gocmen, 2015; Ponka *et al.*, 2015). Adebayo *et al.* (2013), ont montré que la pulpe de citrouille contenait des cendres totales ($15,98 \pm 0,10\%$), de la matière grasse ($2,30 \pm 0,01\%$), des fibres brutes ($11,46 \pm 0,10\%$), des protéines brutes ($3,07 \pm 0,01\%$) et des glucides ($66,65 \pm 0,01\%$). Les sels minéraux qui ont été identifiés et quantifiés sont : Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Pb, Ni, P, Na et K et leurs teneurs sont respectivement de $189,91 \pm 0,2$; $179,01 \pm 0,2$; $0,50 \pm$

0,1 ; $1,37 \pm 0,1$; $3,91 \pm 0,1$; $0,29 \pm 0,1$; $0,11 \pm 0,1$ et $11,83 \pm 0,2$; $159,01 \pm 0,2$ et $160,31 \pm 0,1$ mg/kg.

L'analyse des composés antinutritionnels de la pulpe de citrouille par ces auteurs, a révélé des teneurs faibles en phytates ($0,62 \pm 0,10$ mg/100kg), en oxalates ($16,30 \pm 0,10$ mg/100 kg) et en tanins ($0,36 \pm 0,10$ mg/100 kg). D'après ces résultats la pulpe de citrouille est considérée comme un aliment très nutritif et peut être utilisée pour formuler d'aliments pour nourrisson.

Les pourcentages en d'autres certains éléments présents dans la pulpe de la citrouille sont donnés en tableau II.

Tableau II : La composition chimique de la pulpe de la citrouille (Assous *et al.*, 2014) :

| Paramètres | Composition (%) | Paramètres | Composition (%) |
|-----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|
| Taux d'humidité | 92,23 | Sucres réducteurs | 7,98 |
| Matière sèche soluble | 6 | Sucres non réducteurs | 54,18 |
| pH | 6,7 | Sucres totaux | 62,16 |
| Matière azotée | 22,1 | Fibres alimentaires | 4,96 |
| Polyphénols | 3,74 | Cendres | 5,69 |
| Caroténoïdes | 0,38 | Acidité totale | 3,64 |
| Acide ascorbique | 33,81 | | |

Cependant, l'écorce est riche en pectine, fibres alimentaires et antioxydants (Kostalova *et al.*, 2013; Nyam *et al.*, 2013). Tandis que, les graines sont riches en acides gras y compris l'acide linoléique comme composant principal, les acides oléique, palmitique et stéarique (Asgary *et al.*, 2011; Geetha *et al.*, 2014) et en divers phytostérols (Zhou *et al.*, 2007; Geetha *et al.*, 2014). Ces graines sont considérées aussi comme une source importante en sels minéraux (P, Mg, Zn, Fe et Cu) (Zhou *et al.*, 2007 ; Geetha *et al.*, 2014), en vitamines, en fibres alimentaires (Nyam *et al.*, 2013), en protéines (Mohammed *et al.*, 2009; Tomar *et al.*, 2014), en caroténoïdes, et en composés phénoliques (Zhou *et al.*, 2007; Asgary *et al.*, 2011). Parmi les composés phénoliques Altemimi *et al.* (2015), ont quantifié en utilisant la densitométrie l'acide éllagique ($2,96 \pm 0,05$ µg/g de matière sèche) et la myricétine ($2,95 \pm 0,06$ µg/g MS).

Selon Yoo *et al.* (2012), la pectine de la citrouille possède une structure unique qui peut lui dicter différentes propriétés physiques par rapport aux pectines commerciales. Elle

renferme une teneur faible en acide galacturonique (51% à 58%) et une grande quantité en sucres neutres et en esters d'acétyle comparativement à la pectine commerciale. Ces propriétés structurelles lui confèrent la caractéristique d'être plus gélifiante.

I-2-5-Utilisations culinaire et thérapeutique de la citrouille

Selon les estimations de l'organisation (FAO), la production mondiale de la citrouille en 2007 est estimée de 20 million de tonnes car elle a un rendement élevé, est facile à cultiver et peu coûteuse (**Nawirska-Olszanska et al., 2011**). Les pays les plus producteurs sont la Chine, l'Inde, la Russie, les Etats-Unis et l'Egypte (**Provesi et al., 2011**). La citrouille possède ainsi plusieurs applications notamment culinaires et thérapeutiques.

Elle est l'un des légumes riches en constituants nécessaires à la bonne santé de l'Homme, elle a joué depuis les temps anciens un rôle essentiel dans le régime alimentaire des communautés rurales ainsi que dans la médecine traditionnelle. De nos jours, la citrouille est cultivée à la fois pour les fruits et les graines qui sont utilisés de façon variée (**Zdunić et al., 2015**). Elle a de nombreuses applications culinaires où elle est utilisée soit fraîche comme un dessert en Turquie (**Aydin et Gocmen, 2015**), ou cuite comme plat principal ou ingrédient dans les tartes, soupes, ragouts et préparations de boulangeries (**Durante et al., 2014**), ou bien traitée pour obtenir le jus et les marinades (**Aydin et Gocmen, 2015**).

Selon **Nyam et al. (2013)**, la teneur élevée en fibres alimentaires de l'écorce de citrouille a montré qu'elle convient pour son utilisation comme additif aux produits de boulangeries pour améliorer leurs textures, saveurs et valeurs nutritionnelles.

Zagar et al. (2014), ont incorporé la pulpe de citrouille aux saucissons de poulets dans le but de les enrichir en fibres alimentaires d'origine végétale. Ils ont constaté que la présence de la citrouille dans ces saucissons permet de prolonger leur durée de conservation (14 jours à $4 \pm 1^{\circ}$ C) sans aucune modification marquée de la qualité physico-chimique, microbiologique et sensorielle.

Les différentes parties (racines, fleurs, feuilles, fruits et graines) de la citrouille ont été utilisées à des fins médicinales ; la raison pour laquelle est considérée comme un super aliment (**Hosseinzadeh-Colagar et Amjadi-souraki, 2012**). En médecine traditionnelle, la citrouille a été exploitée dans de nombreux pays tels que la Chine, la Yougoslavie, l'Argentine, l'Inde, le Mexique, le Brésil et l'Amérique. Parmi ses utilisations courantes dans la plupart des pays, le traitement des vers parasites et le diabète (**Li et al., 2005; Fu et al., 2006; Jin et al., 2013**). Cependant, elle présente diverses activités pharmacologiques tels que : les activités

antioxydante et antimicrobienne, et les effets hypoglycémiants, antihypertenseurs, antalgique (Ponka *et al.*, 2015; Fu *et al.*, 2006; El Demery, 2011; Adams *et al.*, 2012) et anticancéreux notamment du cancer gastro-intestinal (Hosseinzadeh-Colagar et Amjadi-souraki, 2012).

La pulpe de la citrouille est couramment utilisée comme anti-inflammatoire, diurétique, et pour le traitement de la fièvre, des douleurs de l'oreille, de l'inflammation des voies urinaires et des troubles de la prostate (Henriques *et al.*, 2012). Elle est aussi apte à soigner les brûlures et dissiper les maux de tête (Boullard, 2001; Grubben *et al.*, 2004).

Quant aux graines de la citrouille, elles sont utilisées dans la médecine pour leurs propriétés vermifuges, notamment ténicide (Umadevi *et al.*, 2011; Okombe *et al.*, 2013). D'autre part, plusieurs recherches ont montré que ces graines peuvent réduire le risque de maladies de la vessie (Urolithiase) et des poumons. Elles sont aussi utilisées en cas de gastrite, et pour réduire le cancer colorectal (Geetha *et al.*, 2014). En outre, les graines et l'écorce peuvent prévenir la constipation, réduire la glycémie et le taux du cholestérol grâce à leurs richesses en fibres alimentaires (Nyam *et al.*, 2013).

L'étude de l'écorce comme un agent antibactérien a été mise en place par Yoo *et al.* (2012). Ils ont montré son effet inhibiteur sur la croissance d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Clostridium perfringens*. De plus, l'écorce a un effet antifongique en traitant les infections des nourrissons et des adultes (Nyam *et al.*, 2013).

L'écorce et les fleurs sont utilisées pour la cicatrisation des plaies et en particulier en cas de brûlures. Tandis que, les fleurs en infusion sont employées pour traiter les maux de gorge (Hosseinzadeh-Colagar et Amjadi-souraki, 2012).

Des études *in vivo* en induisant le diabète par l'alloxane aux souris, montrent que les polysaccharides de la citrouille liés aux protéines provoquent une augmentation significative de taux de l'insuline sérique. En outre, ils réduisent le taux de glucose sanguin et améliorent de la tolérance au glucose (Li *et al.*, 2005 ; Fu *et al.*, 2006; Jin *et al.*, 2013).

I-3-Activité antioxydante et métabolites secondaires

I-3-1- Activité antioxydante

- **Radicaux libres**

Un radical libre est une molécule ou un atome instable, ayant un ou plusieurs électrons non appariés ce qui le rend extrêmement réactif (**Favier, 2003; Gardès-Albert *et al.*, 2003; Pastre, 2005**). En effet, ce radical libre aura toujours tendance à remplir son orbitale pour devenir plus stable ; il va donc se réduire en oxydant un autre composé (**Boubekri, 2014**).

Il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires. Ce sont les plus dangereux car ils dérivent directement de l'oxygène tel que le radical superoxyde $O_2^{\cdot -}$, le radical hydroxyl OH^{\cdot} , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 ou encore l'oxygène singulet O_2 (**Favier, 2003; Mohammadi, 2006; Harrar, 2012**). Les autres radicaux libres dits radicaux secondaires tels que les radicaux peroxyde (ROO^{\cdot}) et alkoxy (RO^{\cdot}), sont issus de l'action d'un radical libre primaire sur un composant cellulaire (acides nucléiques, lipides membranaires, protéines etc..) (**Harrar, 2012**).

L'ensemble des radicaux libres sont souvent appelés espèces réactives de l'oxygène, ces derniers ne sont pas uniquement toxiques, au contraire ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires ou réguler des fonctions cellulaires telle que la mort cellulaire programmée ou apoptose (**Favier, 2003**).

- **Stress oxydant**

La notion de stress oxydant est définie comme étant l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des radicaux libres, suite à un déséquilibre oxydant/antioxydant en faveur des oxydants (**Girotti-CHANU, 2006; Koehelui-ramonatxo, 2006; Zarroki, 2007; Defraigne et Pincemail, 2008**).

La pollution, le tabagisme, une consommation excessive d'alcool, la prise de pilule contraceptive, l'exposition immodérée au soleil ou à des radiations sans protection suffisante, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique, sont parmi les sources de production des radicaux libres. Une alimentation pauvre en fruits et légumes favorise une baisse de la capacité antioxydante (**Defraigne et Pincemail, 2008**). Le stress oxydant est impliqué dans de nombreuses pathologies, incluant l'obésité (**Soares, 2005**), l'hypertension (**Metherelle, 2010**), le diabète (**Lemos *et al.*, 2012**), les maladies cardiovasculaires et

neurodégénératives (**Barus, 2008**), le vieillissement cutané (**Girotti-CHANU, 2006**) et l'insuffisance rénale (**Descamps-Latscha et Witko-Sarsat, 2003**).

- **Antioxydants**

Un antioxydant est toute substance, présente à concentration inférieure à celle du substrat oxydable, qui est capable de retarder ou de prévenir l'oxydation de ce substrat (**Van Antwerpen, 2006; Pastre et Priymeuko, 2007**). Les antioxydants sont endogènes ou exogènes (naturels ou synthétiques) (**Gilgun-Sherki *et al.*, 2002 ; metherell, 2010**).

Les antioxydants endogènes sont représentés par superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la peroxydase (glutathion ascorbate) (**Harrar, 2012**). Les antioxydants exogènes sont des molécules qui ne sont pas synthétisées par l'organisme, mais qui sont apportées par l'alimentation ou la pharmacothérapie. Cette catégorie d'antioxydants, est représentée par les oligoéléments (Mg, Zn, Se et Mn), vitamines E, C, caroténoïdes et polyphénols (**Metherell, 2010; Kanoun, 2011**). Ils peuvent être aussi synthétiques tels que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT) gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ) (**Kanoun, 2011**).

I-3-2-Métabolites secondaires

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires. Ces métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes (**BouziD, 2009**).

- **Polyphénols**

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites secondaires le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animal (**Bougandoura et Bendimerad, 2012 ; Morand et Mileukovic, 2014**). Ces composés ont un rôle protecteur sur la santé en contribuant à diverses activités biologiques (**WatreLOT, 2013; Barchechath, 2014; Bouterfas *et al.*, 2014**). L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques, est la présence d'au moins d'un noyau aromatique à 6 atomes de carbone, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction ; éther, ester ou hétéroside (**Rombaut, 2013; Concenço *et al.*, 2014**).

Ils peuvent être classés selon le nombre d'atomes de carbone et la structure de squelette de base (**Antolovich *et al.*, 2000 ; Benhammou-Belyagoubi, 2012**) (Annexe I).

▪ **Flavonoïdes**

Le terme flavonoïde provient du mot latin flavus qui signifie jaune. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Nkhili, 2009 ; Manallah, 2012 ; Boubekri, 2014). Les flavonoïdes représentent environ deux tiers de l'apport alimentaire des polyphénols (Jaakola, 2003; Metherell, 2010). Ils se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavones, les dihydrofavanols, les isoflavones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes (Mohammedi, 2006 ; Dai et Mumper, 2010). Les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres et sont essentiels afin d'inhiber la peroxydation lipidique. Ils chélatent les métaux de transition et peuvent prévenir la dégradation catalytique du peroxyde d'hydrogène (Eversley, 2012).

▪ **Caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles, responsables de la couleur jaune, orange ou rouge (Ravan *et al.*, 2000; Derradji-Benmeziane, 2015; Ilg *et al.*, 2014). Ces pigments appartiennent à la famille des tétraterpénoïdes (C₄₀) formés de 8 unités isoprènes (C₅) liées et forment une molécule symétrique (Rodriguez-Amaya, 2001 ; Giovanni, 2014). Cependant, les caroténoïdes constitués de carbone et de l'hydrogène sont appelés carotènes (α carotène et β carotène), alors que ceux contenant des atomes d'oxygènes dans leurs structures sont appelés xanthophylles (lutéine, zeaxanthine etc) (Rodriguez-Amaya, 2001).

Généralement les caroténoïdes ne sont pas synthétisés par l'organisme, par conséquent, ils doivent être apportés par l'alimentation. Ces composés agissent comme des antioxydants car ils sont capables de piéger les radicaux libres et de protéger les LDL contre l'oxydation *in vitro* (Voutilainen *et al.*, 2006). Les caroténoïdes sont impliqués dans l'activité provitaminique A, l'inhibition de cancers, la prévention des maladies cardiovasculaires, la diminution du risque de cataracte, la prévention de la dégénérescence maculaire liée à l'âge et l'immuno-augmentation (Amoussa Hounkpatin, 2011).

I-4- Le Yaourt

I-4-1-Historique de yaourt

Le yaourt est un produit laitier originaire d'Asie connu depuis l'antiquité, les premières preuves de son existence remontent à plus de 6000 ans av. J.-C (Trachoo, 2002). Le mot « yaourt » n'est pas Bulgare, mais Turc où le terme « yogurmark » a été trouvé au IX^{ème} siècle qui signifie épaissir. Au début du XX^{ème} siècle, le biologiste Russe Elie Metchnikoff montre que le yaourt provient de la fermentation du lait sous l'action de deux

ferments *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* et découvre ses effets bénéfiques sur la santé (Dzikbordi, 2011 ; Ben Yahia, 2012). En Europe occidentale, la consommation des laits fermentés et de yaourt a été tardive dont la première unité industrielle voit le jour en France à Levallois en 1919 (Tome, 2002; Pacikora, 2004), mais s'est rapidement répandu grâce à la mise en œuvre de procédés de fabrication et aux progrès de la distribution (Riad, 2010).

I-4-2-Définition du yaourt

Le "yaourt" ou "yoghourt" est le lait fermenté le plus consommé, obtenu exclusivement par la coagulation du lait sous l'action de deux bactéries lactiques thermophiles homofermentaires: *S. thermophilus* et *L. bulgaricus* (Branger et al., 2012 ; shireesha et al., 2014; Sumarmono et al., 2015; Hashemi Gahrue et al., 2015). Ces bactéries doivent être ensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini, à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie lactée. La quantité d'acide lactique libre contenue dans le yaourt ne doit pas être inférieure à 0,7 gramme pour 100 grammes lors de la vente au consommateur. Le lait mis en œuvre doit avoir subi un traitement thermique au moins égale à la pasteurisation, il peut être écrémé ou non, concentré ou en poudre et enrichi ou non de constituants du lait. Selon le type de fabrication, des morceaux de fruits, du sucre, des confitures et des arômes peuvent être ajoutés (Branger et al., 2012; Dupin et al., 1992), à condition que cette addition n'excède pas 30% du poids du produit fini (Saint-Eve, 2006). Ce produit doit être maintenu jusqu'à sa consommation à une température comprise entre 0 à 6°C (Meghachou, 2014).

La matière première de la fabrication de yaourt peut être soit du lait cru, pour l'essentiel le lait de vache, soit de lait recombinaison ou reconstitué, ou encore un mélange (FAO, 1995).

- **Les ferments du yaourt**

S. thermophilus : se représente sous forme de cellules sphériques ovoïdes en paires, en chainettes ou en longues chaînes. Elle est Gram positif, anaérobie facultatif, immobile, homofermentaire, thermophile dont sa température optimale de croissance varie de 37 à 45°C. Cette espèce est thermorésistante, halotolérante (2 à 4 % NaCl), exigeante en nutriments en vitamines groupe B et en acides aminés (Boudjema, 2008).

L. bulgaricus : a été isolé pour la première fois à partir des sels d'un nourrisson. Elle se trouve souvent seule ou en paires sous forme de bâtonnets ou de chainettes. Cette espèce est Gram positif, immobile, non sporulée, microaérophile et thermophile dont la température

optimale de croissance est d'environ de 42 °C, très exigeante en calcium et en magnésium (Boubchir-Ladj, 2010).

I-4-3-Effets nutritionnel et thérapeutique

En plus de l'appréciation du yaourt pour son goût et sa texture, il est aussi apprécié pour sa valeur nutritionnelle importante, cependant il est plus riche que le lait en acides aminés essentiels, protéines, calcium, vitamine D, B₆, B₁₂ et riboflavine et en lactose (Ayar et Gurlin, 2014; Nikkhah, 2014). La teneur variable en matière grasse dans le yaourt offre une flexibilité de sa consommation par les personnes saines et malades (Nikkhah, 2014).

Un certain nombre d'études ont montré que la consommation de yaourt pendant 15 à 60 jours a un effet hypocholestérolémiant, avec une diminution de taux de cholestérol sérique total de 4% et LDL sérique de 5% (Nikkhah, 2014). D'autre part, des essais chez l'Homme ont montré que la présence de bactéries lactiques vivantes dans le yaourt permet une meilleur assimilation du lactose chez les individus déficients en lactase (Rampal *et al.*, 2000 ; Mater *et al.*, 2005; Clement *et al.*, 2015; Muniandy *et al.*, 2016). Le yaourt est plus digeste que le lait non fermenté vue sa richesse en acides aminés libres suite à l'activité protéolytique des bactéries lactiques (Mahaut *et al.*, 2008).

La consommation de yaourt, en activant le métabolisme du galactose, serait un des facteurs pouvant diminuer les risques d'apparition de cataracte (Syndifrais, 1997). Le yaourt a également un rôle préventif contre les infections gastro-intestinales. Des études anciennes ont démontré l'intérêt de yaourt sur les traitements des diarrhées infantiles (Mahaut *et al.*, 2000; Roberfroid *et al.*, 2008). De même, l'effet immunomodulateur de yaourt a été démontré. Son rôle dans l'augmentation de la production d'interférons et d'immunoglobulines et dans l'activation des lymphocytes B est attribué à *L. bulgaricus* (Mahaut *et al.*, 2000; Clement *et al.*, 2015). Le yaourt augmente aussi la biodisponibilité du calcium (Luquet *et al.*, 1986), il peut prévenir l'ostéoporose et l'hypertension artérielle (Nikkhah, 2014; Clement *et al.*, 2015).

1- Matériel et méthodes

1-1-Préparation du matériel végétal

La courge utilisée dans cette présente étude (figure n°3) a été récoltée en Février 2016 dans le village d'Imekhlef de la commune d'El'kseur (à 25 km de la willaya de Bejaia). Elle a été nettoyée et épluchée ensuite l'écorce et la pulpe de la courge ont été découpées en petits morceaux, lavées avec l'eau distillée puis ont été mis dans une étuve ventilée pour le séchage à 40°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Une fois les échantillons de l'écorce et de la pulpe sont séchés, ils ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique de marque IKA. Les poudres ainsi obtenues ont été conservées dans des boîtes hermétiquement fermées à l'abri de la lumière et de l'humidité pour des analyses ultérieures et l'enrichissement du yaourt.



Figure n° 3: Photographies de la courge utilisée dans cette étude.

1-2-Test d'humidité

La dessiccation est la méthode utilisée pour déterminer le taux d'humidité, où 3 échantillons de 10 g de l'écorce et de la pulpe sont mis dans une étuve à 105°C jusqu'à la stabilité du poids. Le taux d'humidité est défini comme étant la perte de poids subit lors de la dessiccation qui est calculé par la formule suivante :

$$H\% = [(M_1 - M_2)/PE] * 100$$

H% : Teneur en eau.

M₁ : Poids de la capsule + échantillon avant dessiccation.

M₂ : Poids de la capsule + échantillon après dessiccation.

PE : La prise d'essai.

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

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

1-3-Optimisation de l'extraction des polyphénols

Afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols quatre paramètres ont été étudiés : le type de solvant, la granulométrie, le temps d'extraction et la concentration de solvant. L'évaluation est portée sur la teneur en polyphénols totaux.

L'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée à partir de matière végétale, notamment le cas des polyphénols végétaux, suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison de leur pouvoir antioxydant et antiradicalaire élevé (Bonnaillie *et al.*, 2012).

1-3-1-Etude préliminaire

Une quantité de 5 g de la poudre du matériel végétal a été macérée dans 100 mL de solvants à 50% (v/v) à température ambiante pendant 24 h à l'obscurité. Après filtration sous vide, les filtrats des parties concernées (la pulpe et l'écorce) sont évaporés dans une étuve ventilée à 40°C.

Le taux d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Le taux d'extraction (\%)} = [(P_1 - P_0)/E]*100$$

Où : P_0 : Poids du récipient vide (g).

P_1 : Poids du récipient après évaporation (g).

E : poids de la poudre initiale (g).

1-3-1-1-Choix des paramètres d'extraction

Trois paramètres sont étudiés (type de solvant, temps et température). Un essai préliminaire est effectué en variant un paramètre et fixant les deux autres. Les solvants à optimiser sont le méthanol, l'éthanol et l'acétone, les temps sont : 6 h, 12 h, 18 h et 24 h. Après le choix du meilleur solvant et temps de macération, et afin d'optimiser la granulométrie de l'extraction des polyphénols, les poudres des échantillons de l'écorce et de la pulpe de la courge ont été soumis au tamisage pour obtenir des poudres de différents diamètres : $\emptyset < 250 \mu\text{m}$, $250\mu\text{m} < \emptyset < 500\mu\text{m}$ et $\emptyset > 1\text{mm}$. Ces derniers ont été utilisés pour

l'extraction des polyphénols avec les meilleurs paramètres préalablement optimisés (solvant, temps).

L'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques dans cette présente étude est réalisée en utilisant la méthode de surface de réponse (MSR). Les plans d'expériences sont une démarche rigoureuse basée sur la statistique qui conçoit un plan avec le minimum d'essais possibles. La méthodologie de surface de réponse (MSR) permet d'augmenter le nombre de facteurs à étudier, modélisant les réponses, quantifiant les interactions qui ont lieu entre les paramètres opératoires et assurant une prédiction et une optimisation des réponses (Goupy, 2006).

1-3-2-Dosages phytochimiques

1-3-2-1-Dosage des polyphénols

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode de **Dorman *et al.*(2001)**, utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. C'est une méthode colorimétrique basée sur les réactions d'oxydo-réductions de Folin-Ciocalteu qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) de coloration jaune. Dans un milieu alcalin, le Folin-Ciocalteu réagit avec les composés phénoliques, cette réaction est basée sur l'oxydation des phénols et la formation d'un complexe bleu molybdène-tungstène. La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm (**Talbi *et al.*, 2015**).

A un volume de 6 mL d'eau distillée est ajouté 100 μ L des extraits à la concentration de 10 mg/mL. Le monocarbonate de sodium à 20% est ensuite ajouté (1,5 mL) suivi de 0,5 mL de Folin-Ciocalteu. Les tubes ont été bien agités et le volume est ajusté à 10 mL. Après 2 h d'incubation à température ambiante et à l'obscurité l'absorbance est mesurée à 760 nm contre un blanc. La concentration des polyphénols est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (Annexe II.1). Les résultats seront exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

1-3-2-2-Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la quantité des flavonoïdes contenus dans les extraits de la pulpe et de l'écorce est réalisée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium. Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe jaune, acide et stable entre le chlorure d'aluminium et le groupement cétonique C-4 et avec les groupements hydroxyles C-3 ou C-5 de flavones et flavonols (**Chang *et al.*, 2002**).

Un volume de 1 mL de chaque extrait (10 mg/mL) est ajouté à 1 mL d'une solution d'AlCl₃ (2%). Après 15 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430 nm (**Dorman et al., 2001**). La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine (Annexe II.2). Les résultats seront exprimés en milligramme équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

1-3-2-3-Doasage des caroténoïdes

La couleur est l'élément caractéristique de caroténoïdes, elle peut varier du jaune au rouge. Leur couleur est due à leur système de doubles liaisons conjuguées créant un chromophore et permettant ainsi l'absorption de la lumière visible entre 400 nm et 500 nm. Le degré de conjugaison du chromophore détermine les caractéristiques d'absorption du caroténoïde (**Degrou, 2013**).

Les caroténoïdes sont extraits par la méthode de **Sass-Kiss et al. (2005)**. Un volume de 10 mL du mélange de solvant d'extraction (Hexane/acétone/ éthanol, 2/1/1 (v/v/v)) est ajouté à 0,5 g de poudre de l'écorce/pulpe de la courge. Après agitation à l'obscurité pendant 30 min, la phase supérieure est récupérée puis diluée pour le dosage des caroténoïdes par spectrophotométrie à 450 nm. Les concentrations en caroténoïdes sont estimées en se référant à la courbe d'étalonnage en utilisant le β carotène comme standard (Annexe II.3). Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent β carotène par gramme de matière sèche (mg E β carotène /g MS).

1-3-3-Activité antioxydante

1-3-3-1-Pouvoir antiradicalaire

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH[•] (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) comme un radical libre relativement stable. Le DPPH[•] initialement violet se décolore rapidement lorsqu'il est réduit par un antioxydant en DPPH-H (diphényle picryl-hydrazine) ayant une couleur jaune (Figure n°4), (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (**Cherif et al., 2004**). Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517 nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou d'un extrait de plante peut être déterminé.

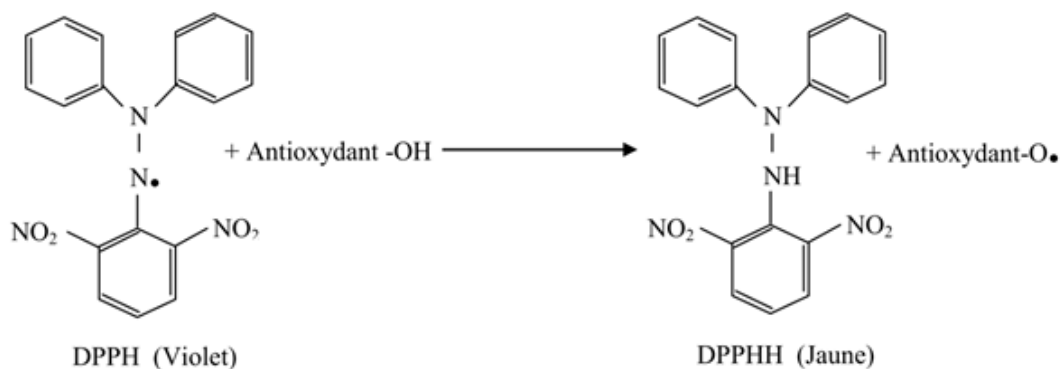


Figure n°4: Réduction de radical DPPH (Kebbab, 2014).

Un volume de 1 mL de chaque extrait à différentes concentrations, est mélangé avec 1 mL de l'éthanol puis additionner 1 mL de la solution éthanolique DPPH (1 mM). Les solutions sont mélangées au vortex puis incubées à l'obscurité pendant 1 h. Un contrôle est préparé avec la même solution de DPPH et de l'éthanol avec 1 mL de l'eau distillée. Les absorbances ont été mesurées à 517 nm. Les résultats seront exprimés en pourcentage de réduction du radical DPPH' comme suit :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{[\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}]}{\text{Abs contrôle}} \times 100.$$

Les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC_{50}) du radical DPPH' sont calculées.

1-3-3-2-Activité antioxydante totale

La capacité antioxydant totale (TAC) des extraits de l'écorce et de la pulpe de la courge est évaluée par la méthode de phosphomolybdate d'ammonium. Cette technique est basée sur la réduction de molybdène Mo (VI) présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} à molybdène Mo(V) MoO^{2+} en présence des extraits pour former un complexe vert de phosphate/ Mo(V) à pH acide (Aliyu *et al.*, 2012).

Un volume de 0,2 mL de chaque extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2 mL de réactif de phosphomolybdène, Un blanc est préparé en remplaçant l'extrait avec les solvants utilisés puis les solutions sont mélangées au vortex et incubé à 95°C pendant 90 min. Les absorbances ont été mesurées à 695 nm après refroidissement des tubes.

1-4-Préparation des yaourts ferme à base de la poudre de la pulpe et de l'écorce de la courge

1-4-1-Formulation des échantillons

Les différentes étapes impliquées dans l'élaboration des yaourts fermes sont illustrées dans la figure suivante :

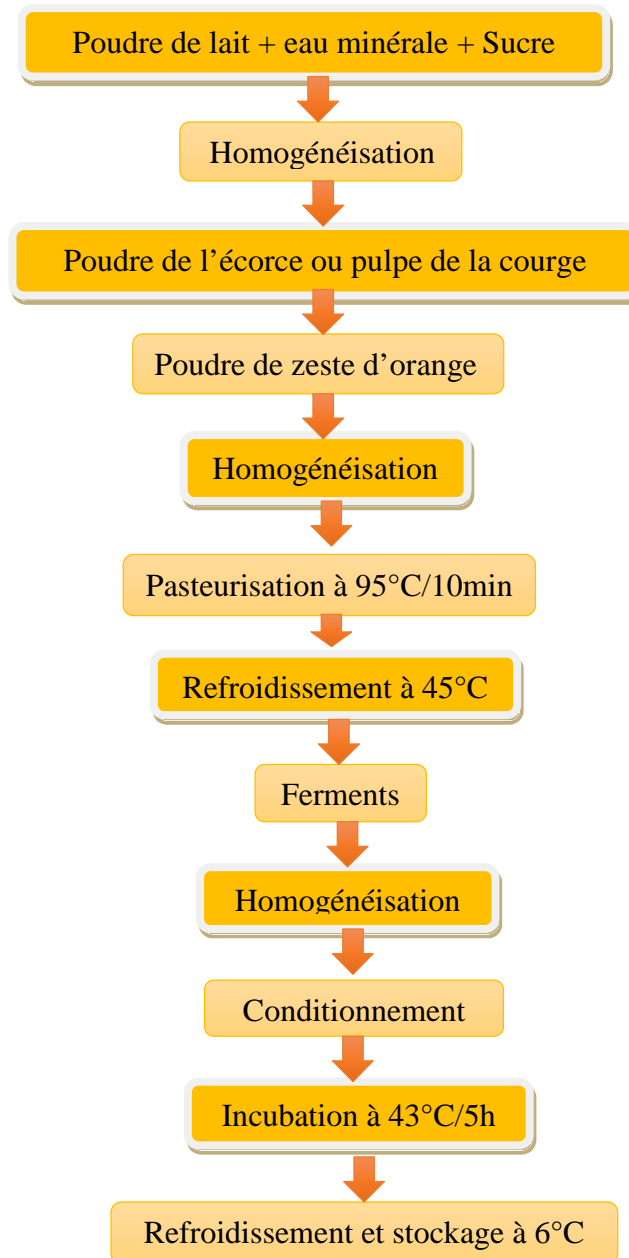


Figure n°5: Diagramme de fabrication de yaourt.

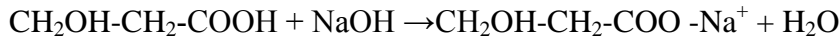
1-4-2-Analyses physicochimiques

1-4-2-1- Mesure du pH

Après étalonnage de pH mètre avec des solutions tampons (pH 7 et pH 4), l'électrode du pH-mètre est plongée dans le yaourt contenu dans un bécher. La valeur du pH est obtenue par simple lecture sur l'écran du pH-mètre.

1-4-2-2-Acidité titrable

Pour la détermination de l'acidité titrable, 10 mL de l'échantillon sont préparés dans un bécher; additionnés de 2 à 3 gouttes de la solution de phénolphtaléine à 1%, puis le mélange est titré avec la soude (0,1 N) jusqu'au virage au rose de la solution qui doit persister pendant une dizaine de secondes. L'équation de la réaction est la suivante :



Le volume de NaOH ainsi obtenu est noté en mL puis les résultats sont exprimés comme suit:

$$D \text{ (g/L)} = (V \times 0,9) \text{ (g/L)}.$$

V : volume en mL de NaOH.

0,9 : facteur de conversion pour l'acide lactique.

$$1^\circ\text{D} = 0.1 \text{ g/mL}.$$

1-4-3-Analyses microbiologiques

Dans les examens microbiologiques effectués, les déterminations quantitatives et qualitatives des germes recherchés (Tableau III) sont en application du journal officiel de la république algérienne n°35 du 27 mai 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

Tableaux III: Analyse microbiologique du yaourt.

| Germes recherchés | Milieux utilisés | T°/durée d'incubation |
|--------------------------|-------------------------|------------------------------|
| Coliformes totaux | VRBL | 37 °C/24 h |
| Coliformes fécaux | VRBL | 44 °/24 h |
| Levures et moisissures | OGA | 22 °C/3 à 5 j |
| FTAM | GN | 30 °C/72 h |

1-4-4-Analyse sensorielle et hédonique

L'analyse sensorielle ou l'évaluation sensorielle permet de définir, mesurer, analyser et interpréter les caractéristiques d'un produit perçu par l'intermédiaire des organes des sens,

c'est-à-dire ses propriétés gustatives, olfactives, visuelles, auditives et tactiles (**Claustriax, 2001**).

▪ **Groupe de l'évaluation sensorielle**

Un groupe de jury de 8 experts (2 masculins, 6 féminins), ont été sélectionnés d'après leurs disponibilités et volontés à participer à ces essais ainsi que pour leurs expériences dans l'évaluation sensorielle.

▪ **Groupe de l'évaluation hédonique**

Un groupe de (masculins, féminins) dégustateurs naïfs non entraînés sur le plan sensoriel, âgés de 18 à 31 ans, leurs sont demandé d'exprimer leurs préférences en répondant sur un questionnaire (Annexe III).

La dégustation est réalisée à J+1 de production au niveau de laboratoire d'analyse sensorielle de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia, équipée de 15 cabinets. Les trois échantillons de yaourt codés x, y, z sont menés d'opercule en aluminium, contenant 30 mL du produit sont présentés afin d'être dégusté.

X : Représente le yaourt enrichi avec la poudre de l'écorce de la courge.

Y : Représente le yaourt enrichi avec la poudre de la pulpe de la courge.

Z : Représente le témoin.

2-1-Teneur en eau

La teneur en humidité est le paramètre principal des produits alimentaires qui influe sur la durée de conservation. Sachant que la durée de conservation des produits à haute teneur en humidité est inférieure à ceux ayant une teneur faible.

La teneur en eau des échantillons étudiés est déterminée, en utilisant la méthode pondérale, les résultats sont représentés dans la figure n°6.

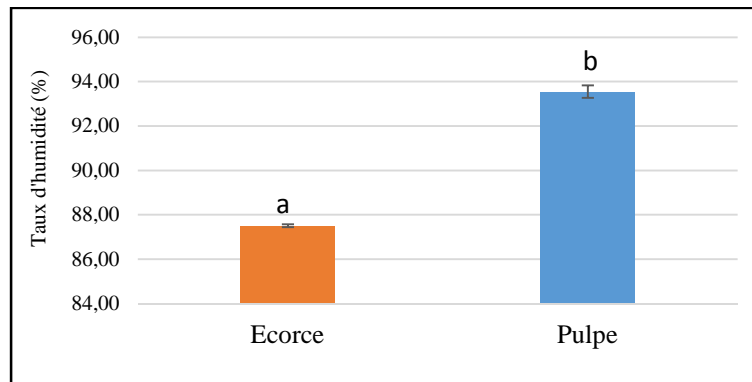


Figure n° 6: Teneurs en humidité de l'écorce et la pulpe de la courge.

a et b : représentent les différences significatives à $P \leq 0,05$.

La pulpe de la courge est plus riche en eau ($93,55 \pm 0,29\%$) avec une différence significative à $P \leq 0,05$ que l'écorce ($87,51 \pm 0,06\%$). La teneur en eau de la pulpe est proche de celle rapportée par **Rakcejeva et al. (2011)** qui est de $94,54 \pm 0,10\%$. De même, l'étude d'**El Shafie (1981)**, a rapporté que la pulpe de la courge récoltée à partir de trois zones de culture au Soudan contient une gamme de 92,80 à 93,95% d'humidité (**Abdella, 2008**). En outre, selon plusieurs auteurs le teneur en humidité de la pulpe de la courge varié entre 75,8 et 91,33% (**Păucean et Man, 2014**). Ainsi que les pourcentages d'humidité trouvés par **Howard et al. (1962)**, rapportés par **Abdella (2008)** s'échelonnent entre 85-97%. La teneur en eau varie selon la variété, le stade de maturation, les conditions de culture et la saison (**Norfezah, 2013**).

2-2-Optimisation de l'extraction des polyphénols

L'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée à partir des matières végétales, notamment le cas des polyphénols, suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison de leur pouvoir antioxydant et anti-radicalaire élevé. L'accent a été mis sur la substitution des antioxydants synthétiques par des antioxydants naturels. Il est bien connu que les antioxydants synthétiques peuvent générer d'effets toxiques (**Bounnaillie et al., 2012**).

Les composés phénoliques peuvent être isolés facilement à partir d'un tissu végétal par extraction avec des solvants organiques. Cependant, 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.*, 2009).

2-2-1-Etude préliminaire

Dans l'objectif de montrer l'influence de certains paramètres sur l'extraction des composés phénoliques à partir de l'écorce et de la pulpe de la courge nous avons dosé les polyphénols totaux (PPT) dans les différents extraits obtenus.

La méthode de Folin-Cioalteau avait été employée pendant de nombreuses années pour déterminer les phénols totaux dans les produits naturels. Bien qu'il y ait certaines substances interférentes dans le procédé tels des sucres, des amines aromatiques, du dioxyde de soufre et de l'acide ascorbique, cette méthode a été la plus populaire pour déterminer la teneur totale en polyphénol dans les échantillons de plantes (Mohd Azman *et al.*, 2013).

2-2-1-1-Choix du solvant d'extraction

Le choix de solvant est un paramètre clé de l'extraction pour les échantillons d'aliments complexes car il déterminera la quantité et le type de composés phénoliques (Chan *et al.*, 2009). Il se fera en fonction de la sélectivité recherchée pendant l'extraction (les solvants polaires pour extraire les molécules chargées hydrophiles et les solvants apolaires pour les molécules lipophiles) et les risques de contamination (l'éthanol 50% limitera plus la charge bactériologique que l'éthanol 20% ou l'eau) (Gaillot, 2015). Les solvants les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols de matériaux botaniques sont l'acétone, l'éthanol et le méthanol (Chan *et al.*, 2009), les combinaisons de ces solvants avec l'eau font améliorer l'extraction des composés phénoliques glycosylés (Telli *et al.*, 2009).

La solubilité des polyphénols est étroitement liée au degré de polymérisation en raison de l'augmentation de nombre de groupe hydroxyles -OH. Les flavonoïdes polymères et les non-flavonoïdes étant plus polaires sont plus solubles dans l'eau (Bounnaillie *et al.*, 2012).

Les résultats obtenus pour l'influence de type de solvant sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge sont représentés dans la figure n°7.

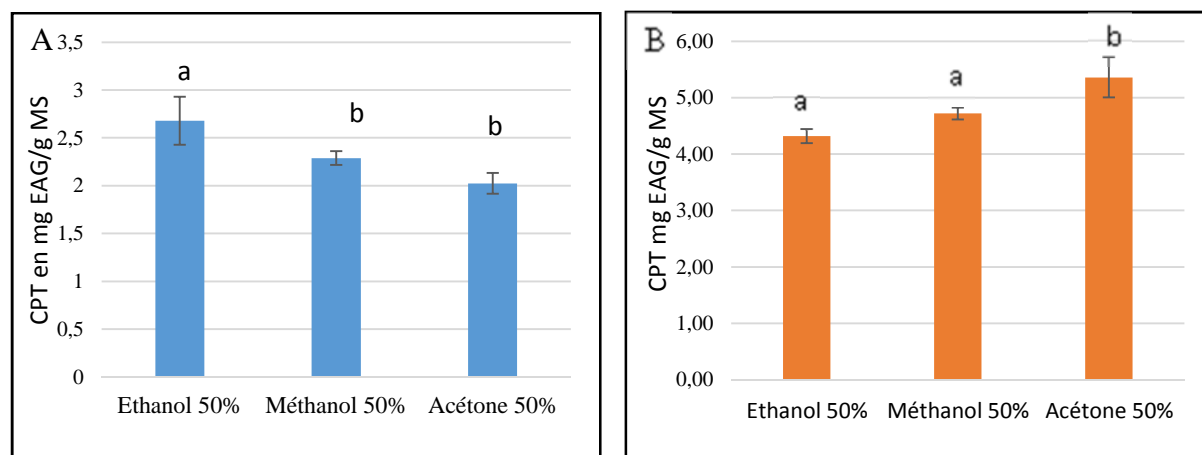


Figure n°7 : Influence de type de solvant sur la teneur en polyphénols des extraits de la pulpe(A) et l'écorce (B) de la courge.

a et b : représentent les différences significatives à $P \leq 0,05$.

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en polyphénols totaux (PPT) varient en fonction du solvant utilisé. La teneur la plus élevée en PPT pour l'extrait de la pulpe est obtenue avec l'éthanol 50% ($2,67 \pm 0,25$ mg EAG/g MS) avec une différence significative à $P \leq 0,05$ qu'avec le méthanol 50% ($2,28 \pm 0,07$ mg EAG/g MS) et l'acétone 50% ($2,02 \pm 0,11$ mg EAG/g MS).

La concentration la plus importante en PPT pour l'extrait de l'écorce est celle extraite avec l'acétone 50% ($5,35 \pm 0,35$ mg EAG/g MS) avec une différence significative à $P \leq 0,05$. Des concentrations moins importantes ont été données avec le méthanol 50% ($4,71 \pm 0,11$ mg EAG/g MS) et l'éthanol 50% ($4,31 \pm 0,12$ mg EAG/g MS). D'après ces résultats le meilleur solvant d'extraction est l'éthanol pour l'extrait de la pulpe et l'acétone pour l'extrait de l'écorce.

2-2-1-2-Choix du temps d'extraction

Le temps d'extraction est un autre paramètre principal pour la procédure d'extraction des polyphénols qui peut être soit aussi court de quelques minutes ou très long jusqu'à 24 heures (Chan *et al.*, 2009).

Les résultats obtenus pour l'influence de temps d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de la pulpe et de l'écorce de la courge sont représentés dans la figure n°8.

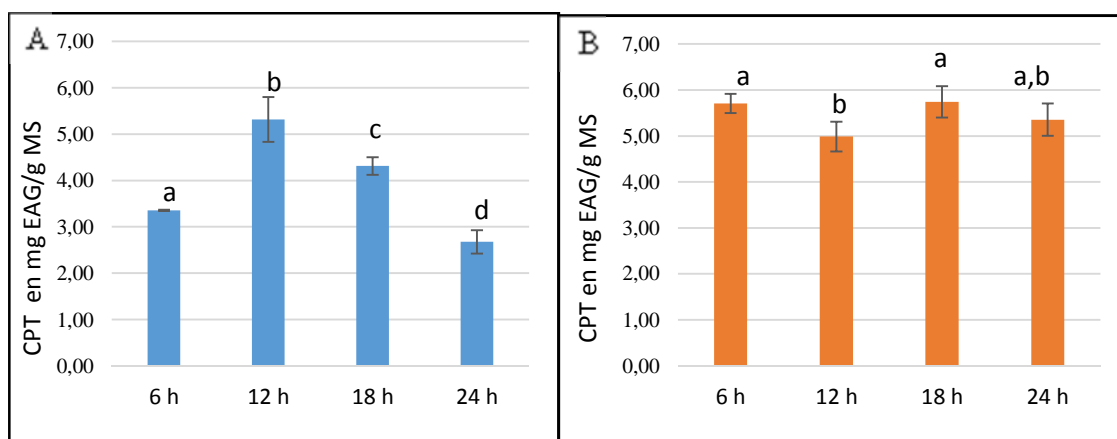


Figure n°8 : Influence de temps d'extraction sur la teneur en polyphénols des extraits de la pulpe (A) et l'écorce (B) de la courge.

a , b, c et d : représentent les différences significatives à $P \leq 0,05$.

La teneur en polyphénols des extraits de la pulpe augmente considérablement avec la durée d'extraction de 6h à 12h puis diminue à 18h car un temps de contact solvant/matériel végétal prolongé n'améliore pas toujours l'efficacité de l'extraction suite à la possibilité de l'oxydation des composés phénoliques (Telli *et al.*, 2009). L'étude statistique révèle l'existence d'une différence significative à $P \leq 0,05$ entre les teneurs au PPT pour les différents temps d'extraction étudiés.

Les résultats obtenus montrent que l'augmentation de temps d'extraction de 6h à 24h n'a pas amélioré significativement l'extraction des polyphénols contenus dans l'extrait de l'écorce de la courge. Cela peut être expliqué par la seconde loi de Fick, qui a déclaré que l'équilibre final sera atteint entre les concentrations de soluté dans la matrice solide (matrice végétale) et dans la solution en vrac (solvant) après un certain temps. Par conséquent, avec une extraction excessive, le temps n'as pas été utile pour extraire d'autres composés phénoliques (Chan *et al.*, 2009; Chew *et al.*, 2011).

D'après les résultats de la présente étude le temps optimal d'extraction est de 12h pour l'extrait de la pulpe et de 6 h pour l'extrait de l'écorce.

2-2-1-3-Choix de la granulométrie d'extraction

Il est généralement admis que sous une forme broyée, la matière végétale présentera une plus grande surface de contact avec le solvant (Bounaillie *et al.*, 2012). En outre, la microstructure de la matière végétale, sa porosité et ses parois cellulaires influencent également le procédé d'extraction (Rajha, 2015).

Les résultats de l'influence de la granulométrie sur la teneur en polyphénols des extraits de la pulpe et d'écorce de la courge étudiés sont reportés sur la figure n°9.

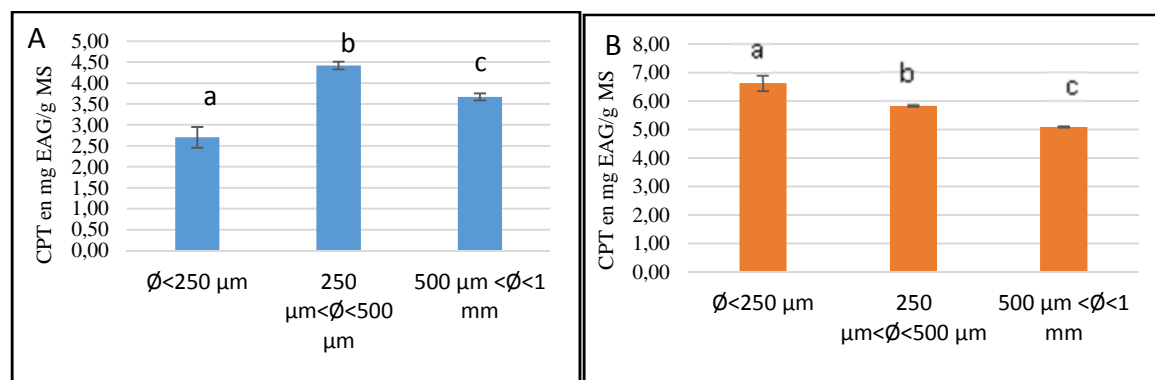


Figure n°9 : Influence de la granulométrie sur la teneur en polyphénols des extraits de la pulpe (A) et l'écorce (B) de la courge.

a, b et c : représentent les différences significatives à $P \leq 0,05$.

La teneur en polyphénols des extraits de la pulpe est meilleure lorsque le diamètre des particules est inférieur à $< 500 \mu\text{m}$, alors que pour l'écorce c'est le diamètre $< 250 \mu\text{m}$ qui a révélé la concentration la plus élevée. Les résultats de l'étude statistique, montre l'existence d'une différence significative entre les teneurs en PPT pour les extraits de la pulpe et de l'écorce. Il ressort de ce qui précède qu'avec les fines particules, les composés chimiques sont plus facilement transférés de la matière végétale vers le solvant d'extraction. Cela s'expliquerait par le fait que le solvant diffuse plus facilement à l'intérieur des petites particules pour extraire les molécules de polyphénols grâce à la création d'une surface de contact plus grande avec la diminution de la taille de particules et aussi à l'ouverture de plus grand nombre de pores, facilitant le contact avec le solvant (Penchev *et al.*, 2010; Virginie *et al.*, 2015), une observation similaire a été rapportée par Kossah *et al.*(2010).

2-3-Optimisation par la méthodologie de surface de réponse

2-3-1-Analyse des résultats

L'optimisation de l'extraction des polyphénols de l'extrait de l'écorce et la pulpe de la courge a été réalisée en utilisant le plan central composite. Les résultats de l'optimisation obtenus sont représentés dans les tableaux IV et V pour la pulpe et l'écorce respectivement.

Tableau IV: Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan central composite pour l'extrait de la pulpe.

| Nombre d'essais | Solvant (%) | Temps (h) | Polyphénols mg EAG/g MS | |
|-----------------|-------------|-----------|-------------------------|------------------|
| | | | Valeurs réelles | Valeurs prédites |
| 1 | 70 | 4 | 4,588 | 5,215 |
| 2 | 100 | 7 | 3,317 | 3,396 |
| 3 | 40 | 4 | 3,834 | 3,559 |
| 4 | 100 | 10 | 2,703 | 2,977 |
| 5 | 70 | 10 | 5,011 | 4,383 |
| 6 | 40 | 10 | 3,215 | 3,568 |
| 7 | 40 | 7 | 3,225 | 3,146 |
| 8 | 100 | 4 | 5,004 | 4,650 |

Tableau V: Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan central composite pour l'extrait de l'écorce.

| Nombre d'essais | Solvant (%) | Temps (h) | Polyphénols mg EAG/g MS | |
|-----------------|-------------|-----------|-------------------------|------------------|
| | | | Valeurs réelles | Valeurs prédites |
| 1 | 100 | 1 | 4,63 | 4,450 |
| 2 | 70 | 6 | 5,507 | 5,264 |
| 3 | 100 | 3.5 | 5,562 | 5,678 |
| 4 | 100 | 6 | 4,818 | 4,882 |
| 5 | 40 | 3.5 | 6,626 | 6,510 |
| 6 | 40 | 1 | 5,285 | 5,221 |
| 7 | 40 | 6 | 5,596 | 5,775 |
| 8 | 70 | 1 | 4,528 | 4,771 |

D'après les résultats de la présente étude, la teneur en composés phénoliques de la pulpe varie de 2,703 à 5,011 mg EAG/g MS, et celle de l'écorce entre 4,528 à 6,626 mg EAG/g MS ce qui confirme l'influence des paramètres (solvant/temps) sur le taux d'extraction des polyphénols.

2-3-2-Coefficient de corrélation

L'efficacité d'ajustement globale est exprimée par le coefficient de corrélation R^2 (Tinsson, 2010). Dans la présente étude, la valeur de R^2 de la pulpe est de 0,87, alors que celle de l'écorce est de 0,97, ce qui suggère que le polynôme décrit parfaitement le comportement de système. Les résultats confirment la perfection d'ajustement d'où toutes les valeurs réelles appartiennent à l'intervalle de confiance (Figure n°10).

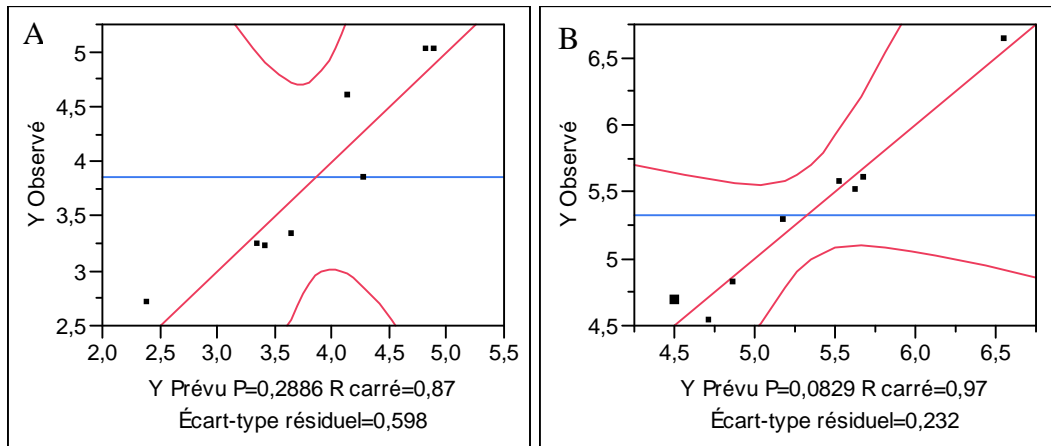


Figure n°10 : Plan de prédiction réel de la pulpe (A) et de l'écorce (B).

Tableau VI: Les conditions optimales, la valeur expérimentale et prédites de réponse de surface.

| | Conditions optimales | | Teneur en PPT (mg EAG/g MS) |
|--------|------------------------------|------------------------|-----------------------------|
| | Concentration du solvant (%) | Temps d'extraction (h) | Valeur prédite |
| Pulpe | Ethanol 70% | 7 | 4,38 |
| Ecorce | Acétone 70% | 3,5 | 5,32 |

2-3-3-Effet des interactions

Le couple solvant-temps d'extraction joue un rôle important dans l'extraction, influençant sur le taux des polyphénols, le temps influence positivement sur la teneur mais diminue après une longue durée. Cependant, les résultats obtenus ont montré aussi que les teneurs en polyphénols totaux varient en fonction de la concentration de solvant utilisé (Figure n°11).

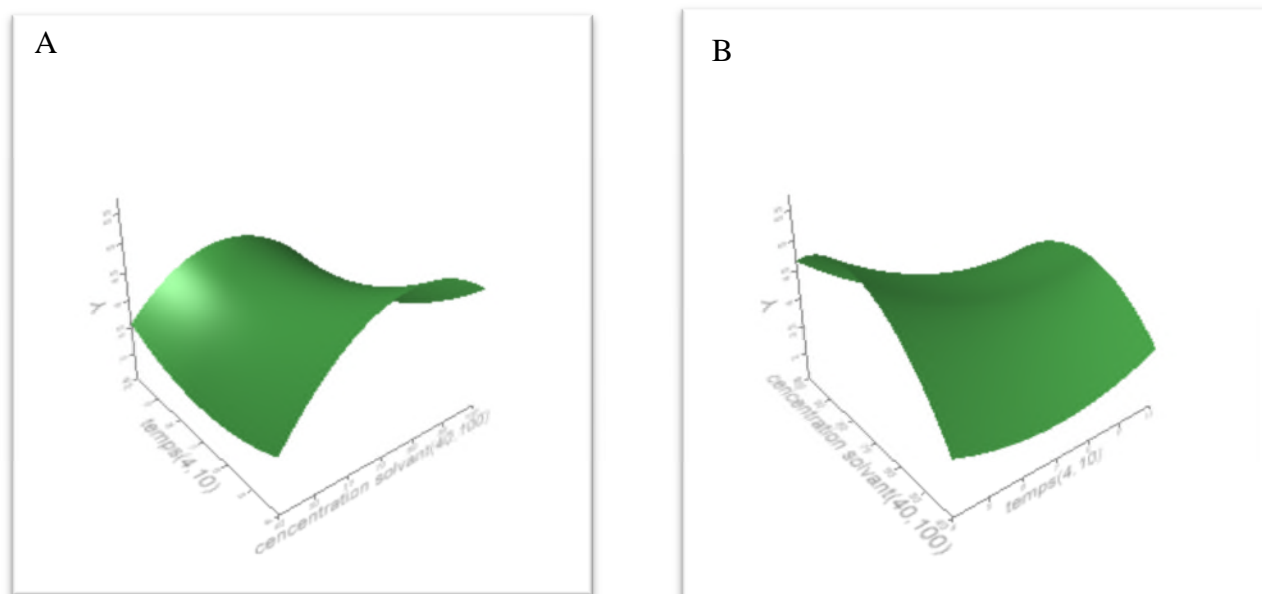


Figure n°11: Surface de réponse de l'interaction (Temps-Solvant) de la pulpe (A) et de l'écorce (B).

2-4-Dosages phytochimiques

2-4-1-Dosage des polyphénols

La détermination des composés phénoliques totaux est basée sur une réaction d'oxydo-réduction, qui peut être également considérée comme une méthode permettant d'évaluer l'activité antioxydante. De ce fait, les échantillons les plus riches en composés phénoliques peuvent être également considérés comme les plus antioxydants (**Michel, 2011**).

La faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement ceux des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines (**Harrar, 2012**).

Les résultats de la teneur en polyphénols des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge étudiés sont reportés sur la figure n°12.

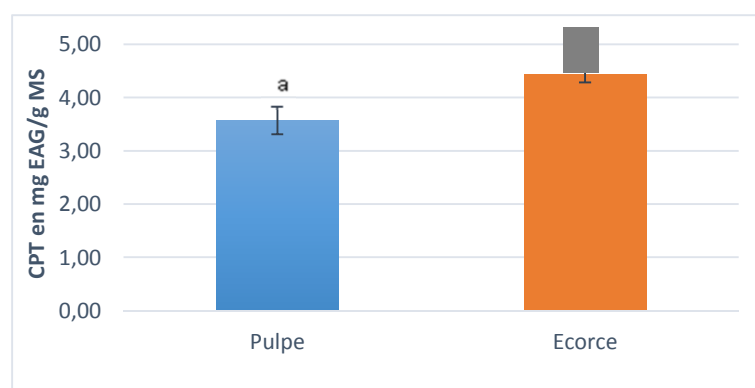


Figure n°12: Teneur moyenne en polyphénols des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge.

a et b : représentent les différences significatives à $P \leq 0,05$.

La présente étude montre que la teneur en PPT des extraits de l'écorce ($4,43 \pm 0,15$ mg EAG/g MS) est plus élevée avec une différence significative à $P \leq 0,05$ que celle de la pulpe ($3,57 \pm 0,26$ mg EAG/g MS). Les résultats expérimentaux ont été très proches de ceux prévus. Cela implique qu'il y avait un haut degré d'ajustement entre les valeurs observées dans l'expérience et la valeur prévue à partir de modèle de régression. Par conséquent, la surface de réponse modélisation pourrait être appliquée efficacement pour prédire l'extraction des composés phénoliques (Tableau VI).

Selon **Saavedra et al. (2015)**, la teneur de l'extrait de l'écorce de *C. pepo* en polyphénols est de $6,31 \pm 0,22$ mg EAG/g MS qui est proche de celle trouvée dans cette présente étude. Par contre, la teneur trouvée par **Nyam et al. (2013)**, pour l'extrait de l'écorce de *C. pepo* est plus faible ($38,60 \pm 0,82$ mg EAG/100g). En outre, selon **Dini et al. (2013)**, la teneur de l'extrait de la pulpe en polyphénols est de $4,7 \pm 1,2$ mg EAG/g MS qui est proche de celle trouvée dans cette présente étude ($3,57$ mg EAG/g MS). Tandis que, **Denev et al. (2013)**, montre que la teneur de l'extrait de la pulpe en polyphénols est de $14,6 \pm 0,9$ mg EAG/100g MS.

Cette différence entre les résultats de chaque étude est probablement liée à certains facteurs tels que : la variété, le stade de maturation, la géographie, le climat, la récolte et post récolte, ainsi qu'à l'analyse elle-même (**Provesi et al., 2011**).

2-4-2-Dosage des flavonoïdes

Les résultats de la teneur en flavonoïdes des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge étudiés sont reportés sur la figure n°13.

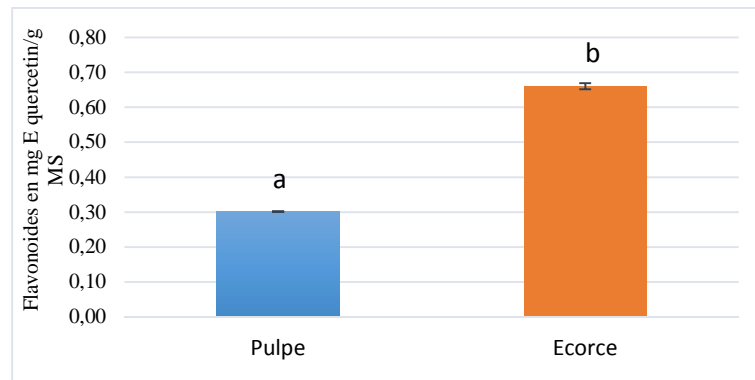


Figure n°13 : Teneur moyenne en flavonoïdes des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge.

a et b : représentent les différences significatives à $P \leq 0,05$.

D'après les résultats obtenus, l'extrait de l'écorce est plus riche en flavonoïdes ($0,66 \pm 0,02$ mg EQ/g MS) avec une différence significative à $P \leq 0,05$ que l'extrait de la pulpe ($0,30 \pm 0,001$ mg EQ/g MS) de la courge. Selon **Ismat et al. (2009)**, l'extrait méthanolique de l'écorce contient une quantité importante en flavonols ($40,89$ mg/kg) ce qui confirme la richesse de l'écorce en flavonoïdes comparativement à la pulpe. **Rawat et al. (2014)**, montre que la pulpe contient seulement $0,018 \pm 0,001$ mg/mL en flavonoïdes.

2-4-3-Dosage des caroténoïdes

Les résultats de la teneur en caroténoïdes des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge étudiés sont reportés sur la figure n°14.

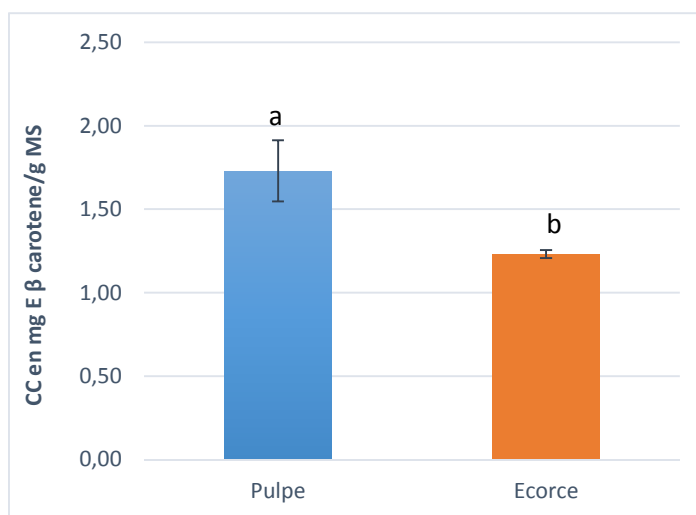


Figure n°14 : Teneur moyenne en caroténoïdes des extraits de la pulpe et l'écorce de la courge.

a et b : représentent les différences significatives à $P \leq 0,05$.

Le résultat de la présente étude montre que la teneur en caroténoïdes ($1,73 \pm 0,18$ mg E β carotène/ g MS) de l'extrait de la pulpe est plus importante avec une différence significative à $P \leq 0,05$ que celle de l'écorce ($1,23 \pm 0,02$ mg Eβ carotène/ g MS). Selon la littérature, la teneur de la courge en caroténoïdes est de 2-4 mg/100gde matière fraîche (**Assous et al., 2014**). **Amotz et Fishler (1998)**, ont rapporté que la courge est composée essentiellement de β-carotène et de lycopène. **Azzizah et al. (2009) et Murkovic et al. (2002)**, ont rapporté la composition en caroténoïdes de trois espèces de courge (*Cucurbita pepo*, *C. maxima* et *C. moschata*) : β-carotène (0,06 à 7,4 mg / 100 g), α-carotène (0-7,5 mg / 100 g) et lutéine (0-17 mg / 100g). Les caroténoïdes ont été extraits avec succès de la courge de cinq endroits de la Malaisie. Les caroténoïdes détectés étaient α- carotène, β-carotène et en petite quantité et la lutéine (**Norshazila et al., 2014**).

La composition des aliments en caroténoïdes est influencée par plusieurs facteurs tels que le cultivar ou variété; la partie de la plante consommée; le stade de maturation; les conditions climatiques ou géographiques ; le site de production ; la récolte et manipulation après la récolte ; le traitement et le stockage (**Rodriguez-Amaya, 2001 ; Zdunic et al., 2015**).

2-5-Activité antioxydante

2-5-1-Pouvoir antiradicalaire

Le test au DPPH· a été largement utilisé comme un paramètre rapide, fiable et reproductible pour la recherche de l'activité antioxydante *in vitro* des composés purs ainsi que

des extraits de plantes (Aliyu *et al.*, 2012). La présence des groupements hydroxyles est importante, les composés qui contiennent ce type de groupements fonctionnels vont pouvoir inhiber le DPPH[•] (Grigoraş, 2012).

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC₅₀, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH[•]. Ces IC₅₀ sont déterminées à partir des courbes de régression linéaire (Annexe IV), plus la valeur de l'IC₅₀ est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant (Harrar, 2012). L'IC₅₀ de l'extrait de l'écorce (1,13±0,01 mg/mL) est plus faible avec une différence significative $P \leq 0,05$ que celle de la pulpe (5,41±0,01 mg/mL). Donc l'écorce a une activité anti-radicalaire plus élevée que la pulpe de la courge.

L'étude menée par Prasad (2014) sur la pulpe de *C. pepo* a révélé une IC₅₀ de 0,62 mg/mL pour l'extrait éthanolique, 0,55mg/mL pour l'extrait méthanolique et 0,91 mg/mL pour l'extrait hexanique. Ces valeurs sont nettement inférieures à celles trouvées avec nos extraits.

Cucurbita pepo a la capacité de piégeage du radical DPPH[•] en raison de la présence des flavonoïdes glycosylés et de phénylpropanoïdes qui sont connus comme donneurs d'hydrogène et de piègeurs de radicaux libres (Abdulrhem, 2011).

L'examen de ces résultats ne montre pas une corrélation significative à $P \leq 0,05$ entre la teneur en polyphénols de l'extrait de la pulpe et l'activité anti-radicalaire au DPPH[•] ($r = -0,06$), ainsi qu'avec les flavonoïdes. Alors que, une corrélation significative positive à $P \leq 0,05$ est enregistré entre la concentration en polyphénols totaux et celle en caroténoïdes ($r=0,87$). D'après ces résultats, l'activité anti-radicalaire de la pulpe est probablement due à sa richesse en caroténoïdes.

L'extrait de l'écorce a révélé une corrélation significative marquée à $P \leq 0,05$ entre la teneur en polyphénols et l'activité anti-radicalaire au DPPH[•] ($r = 0,90$). Une corrélation moyenne est trouvée entre la concentration en caroténoïdes et le test au DPPH[•] ($r=0,50$). Par contre, une corrélation négative est notée entre la concentration en flavonoïdes et ce test ($r = -0,50$). D'après ces résultats, l'activité anti-radicalaire au DPPH[•] de l'écorce pourrait être due principalement à sa richesse en polyphénols et en partie aux caroténoïdes.

2-5-2-Activité antioxydante totale

L'activité antioxydante totale des extraits est exprimée en IC_{50} , il définit la concentration efficace du substrat qui correspond à l'absorbance de 0,5. Ces IC_{50} sont déterminées à partir des courbes de régression linéaire (Annexe IV). L' IC_{50} de l'extrait de l'écorce ($0,22\pm 0,01$ mg/mL) n'a pas montré une différence significative avec celle de l'extrait de la pulpe ($0,22\pm 0,01$ mg/mL). L'activité antioxydante dépend généralement de nombre et de la position des groupements hydroxyles par rapport aux groupements carboxyles fonctionnels (Enneb *et al.*, 2015). L'étude réalisée par Abdulrhem (2011), sur *Cucurbita pepo* a montré qu'elle possède des teneurs phénoliques avec des capacités antioxydante. Récemment Zaho *et al.* (2015), ont signalé que l'activité antioxydante de *C. pepo* peut être affectée par la date de plantation, le stade de maturation, ainsi que par les conditions de traitement industriel et domestique.

L'examen de ces résultats montre une faible corrélation significative à $P \leq 0,05$ entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante totale ($r=0,38$) de l'extrait de la pulpe. En outre, une forte corrélation significative à $P \leq 0,05$ entre la teneur en polyphénols avec les caroténoïdes ($r=0,98$) est notée. D'après ces résultats, l'activité antioxydante totale de la pulpe est probablement due à sa richesse en caroténoïdes ainsi qu'en polyphénols.

L'extrait de l'écorce montre une corrélation significative marquée à $P \leq 0,05$ entre la teneur en polyphénols et l'activité antioxydante totale ($r=0,58$). Cependant, une très faible corrélation est trouvée entre l'activité antioxydante totale et les concentrations en caroténoïdes ($r=0,02$). Une faible corrélation négative est enregistrée en les teneurs en flavonoïdes et l'activité antioxydante totale ($r = - 0,02$). D'après ces résultats, l'activité antioxydante de l'extrait de l'écorce est pourrait être due principalement à sa richesse en polyphénols.

2-6-Analyses effectuées pour le yaourt

2-6-1-Analyses physico-chimiques

Les résultats des analyses physico-chimiques des yaourts enrichies avec les poudres de la pulpe et de l'écorce de *C. pepo* et ceux du témoin sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau VII: Résultats de l'analyse physicochimique du yaourt.

| Paramètres | Echantillon X | Echantillon Y | Echantillon Z | Normes (JORA) |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| pH | 4,34 | 4,39 | 4,51 | 4,30-4,80 |
| Acidité (°D) | 90 | 86 | 81 | 78-100 |

X : Yaourt enrichi de la poudre de l'écorce ; **Y** : Yaourt enrichi de la poudre de la pulpe

Z : Yaourt nature.

La valeur de pH et d'acidité de tous les échantillons sont dans les normes, donc ils sont de bonne qualité physico-chimique. Selon **Najgebauer-Lejko *et al.* (2014)**, le pH de yaourt enrichi avec la pulpe de la courge est de 4,7 et son acidité titrable est de 1,023% d'acide lactique.

2-6-2-Paramètres microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques des trois yaourts élaborés sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau VIII : Résultats de l'analyse microbiologique du yaourt.

| | Yaourt X | Yaourt Y | Yaourt Z | Normes |
|------------------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| Coliformes totaux | 00 | 00 | 00 | <10 |
| Coliformes fécaux | absence | absence | absence | Absence |
| FTAM | <10 ² | 9.10 ⁵ | 2.10 ² | <3.10 ⁶ |
| Levures et moisissures | absence | absence | absence | Absence |

Les résultats de l'analyse microbiologique des trois yaourts préparés sont conformes, en les comparants aux normes, donc c'est des produits de bonne qualité microbiologique. Ceci est lié aux bonnes conditions hygiéniques de fabrication et de stockage, ainsi qu'au respect des règles d'aseptise lors de l'échantillonnage et de l'analyse.

2-6-3-Analyse sensorielle et hédonique

2-6-3-1-Analyse sensorielle

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 jurys experts sont rapportées sur une feuille d'Excel, la procédure de génération du plan d'expérience sera lancé directement à partir de la commande XLSTAT-MX/plan d'expérience pour l'analyse sensorielle.

Tableau IX: Résultats de l'évaluation du plan.

| | |
|--------------|-------|
| A-Efficacité | 1,000 |
| D-Efficacité | 1,000 |

Après la génération du plan d'expérience pour l'analyse sensorielle, nous remarquons que les deux critères A-efficacité et D-efficacité sont égaux (Tableau IX) 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 8 experts évaluant trois produits.

- **Caractérisation des 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 Pagès, 2009**).

- **Pouvoir discriminant par descripteur**

Dans ce présent test sont affichées les descripteurs ordonnés de celui qui a le plus fort pouvoir discriminant sur les produits à celui qui a le plus faible.

Les résultats du test sont présentés dans la figure n°15.

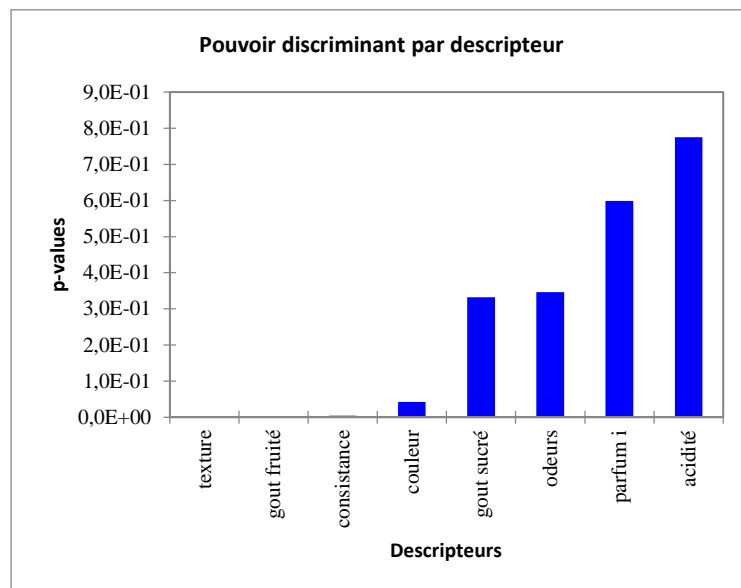


Figure n°15: Pouvoir discriminant par descripteur.

La figure montre les descripteurs ordonnés du plus discriminant au moins discriminant pour les différents types de yaourt. Les résultats révèlent que le pouvoir discriminant par descripteur est dominant pour la texture, le goût fruité et la consistance c'est-à-dire que les sujets experts ont constatés des divergences de ces descripteurs. Concernant les descripteurs, l'acidité, le parfum, l'odeur, le goût sucré et la couleur sont les moins discriminés par le jury expert donc les experts n'ont pas constaté de divergence entre les descripteurs des échantillons dégustés.

- **Coefficients des modèles**

Les coefficients du modèle sont sélectionnés pour chaque descripteur et pour chaque produit. La couleur bleue représente les caractéristiques dont le coefficient significativement positif, la couleur blanche non significatif, et la couleur rouge celui dont le coefficient est significativement négatif. L'analyse de chaque graphique permet de définir chaque produit.

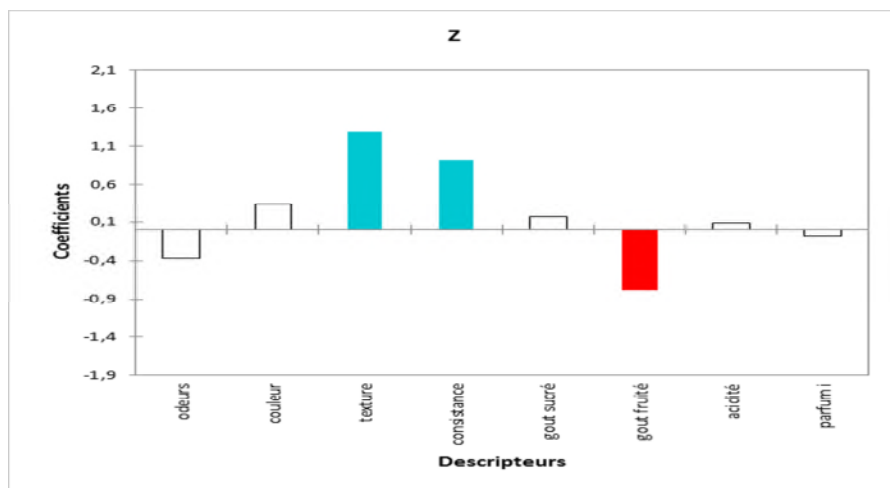


Figure n°16: coefficient de model de l'échantillon Z.

Pour l'échantillon Z, les descripteurs texture et consistance sont appréciés par l'ensemble des jurys experts alors que le gout fruité n'est pas apprécié (Figure n°16). L'échantillon Y, ne montre aucune signification des descripteurs, il n'est ni apprécié ni pénalisé (annexe V). L'échantillon X, montre son gout fruité est apprécié alors que la texture et la couleur le pénalise (annexe V).

L'ensemble de descripteurs affichés en blanc ne sont pas significatifs donc les membres de jurys n'ont pas pu détecter les caractéristiques de ces produits.

- **Analyse en composantes principales (ACP)**

La carte ACP permet de représenter les corrélations entre les variables et les facteurs par l'ACP (Figure n°17).

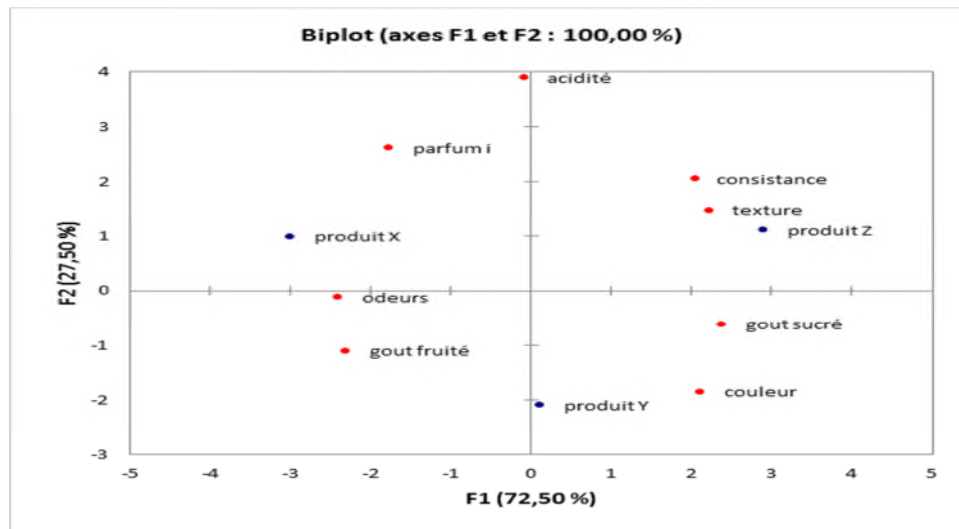


Figure n°17 : Corrélations entre les variables et les facteurs.

La carte obtenue, dont la qualité est assez bonne puisqu'elle permet de représenter 100 % de la variabilité, nous permet de constater que les produits ont été perçus par les experts comme assez différents. La carte permet également de positionner l'échantillon idéal par rapports aux différents descripteurs, et ainsi de valider le choix en fonction des préférences des experts. Nous remarquons que les trois échantillons X, Y et Z regroupant les descripteurs, ce qui exprime une certaine préférence par le jury expert.

2-6-3-2-Analyse hédonique

- **Classification ascendante hiérarchique (CAH)**

La classification ascendante hiérarchique est utilisée pour constituer des groupes homogènes d'objets (classe) sur la base de leurs description par un ensemble de variables, ou à partir d'une matrice décrivant la similarité ou la non similarité entre les objets (Everitt *et al.*, 2001).

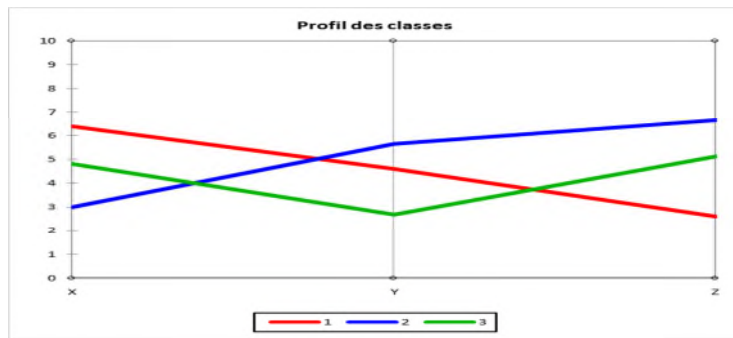


Figure n°18: Courbe de niveau et carte de préférence.

Pour la première classe, c'est l'échantillon X qui est le plus préféré, alors qu'en deuxième et troisième classe c'est l'échantillon Z qui est le plus préféré (Figure n°18).

- Mapping des préférences

Tableau X : Pourcentage de juges satisfaits pour chaque objet

| objet | % |
|-------|----|
| X | 43 |
| Y | 43 |
| Z | 71 |

Dans ce tableau sont affichés pour chaque produit le pourcentage de juges. Donc on trouve que l'échantillon Z a un pourcentage de satisfaction de 71 %, suivi des échantillons X et Y avec un pourcentage de 43 %, cela veut dire que ces deux échantillons sont moins appréciés.

La figure suivante définit la courbe de niveau montre que :

- l'échantillon Z est apprécié pour sa consistance et sa texture par (60-80%) de jury ;
- l'échantillon X et Y sont appréciés par (40-60%) de jury.

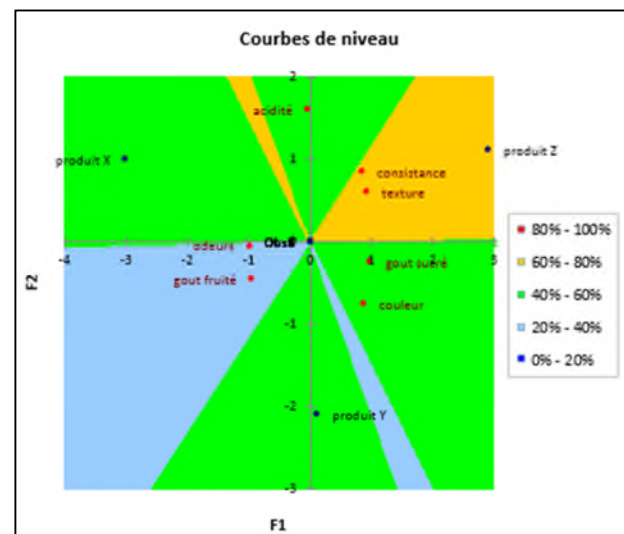


Figure n° 19 : la courbe de niveau.

Conclusion

La présente étude a pour but en première position à optimiser l'extraction des antioxydants par le dosage des composés phénoliques des extraits des poudres de la pulpe et d'écorce de *Cucurbita pepo*. Le plan central composite a permis d'identifier les meilleurs paramètres d'extraction : Ethanol 70% pendant un temps d'extraction 7 h et acétone 70% pendant 3,5 pour les extraits de la pulpe et d'écorce de *C. pepo*.

A l'issue des différents dosages effectués, les valeurs expérimentales obtenues ont été proches de celles prédites. Elles indiquent que la teneur en polyphénols totaux (PPT) est plus importante avec une différence significative à $P \leq 0,05$ pour l'extrait de l'écorce ($4,43 \pm 0,15$ mg EAG/g MS) comparativement à celle de la pulpe ($3,57 \pm 0,26$ mg EAG/g MS).

Les teneurs des flavonoïdes quant à elles montrent que l'extrait de l'écorce est plus riche avec une différence significative ($0,66 \pm 0,02$ mg EQ/g MS) par rapport à l'extrait de la pulpe qui contient $0,30 \pm 0,01$ mg EQ/g MS. Le dosage des caroténoïdes a révélé que la teneur en caroténoïdes ($1,73 \pm 0,18$ mg E β carotène/ g MS) de l'extrait de la pulpe est plus élevée que celle de l'écorce ($1,23 \pm 0,02$ mg E β carotène/ g MS).

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant deux tests, il s'agit de l'activité anti-radicalaire au DPPH• où l'IC₅₀ de l'extrait de l'écorce ($1,13 \pm 0,01$ mg/mL) est plus faible donc avec une activité anti-radicalaire plus élevée que celle de la pulpe ($5,41 \pm 0,01$ mg/mL). En plus, les IC₅₀ données par l'activité antioxydante totale de l'extrait de la pulpe et d'écorce sont respectivement de $0,22 \pm 0,01$ et $0,22 \pm 0,01$ mg/mL.


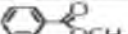

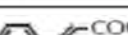


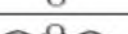


Etant que *C. pepo* est utilisée comme plante médicinale, et vue sa richesse en composés bioactifs et en éléments nutritionnels, ce travail vise à explorer l'impact de l'enrichissement de yaourt à base des poudres de la pulpe et de son écorce.

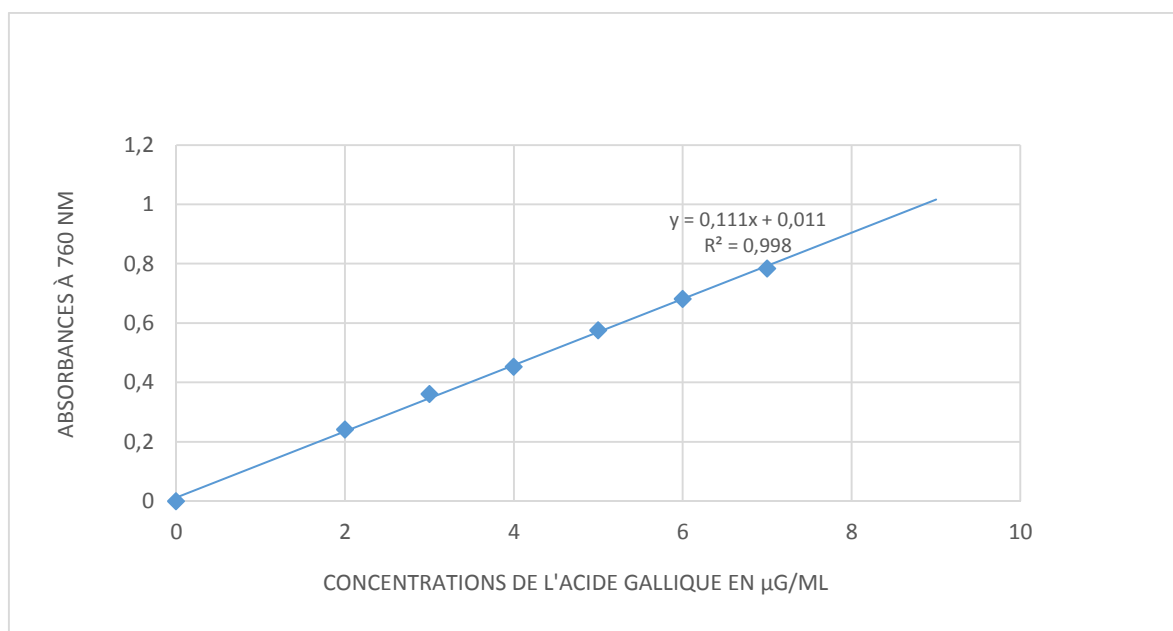
Au terme de ce travail la caractérisation des échantillons de yaourt fermes enrichis et naturels codés X, Y et Z indique la conformité des paramètres physico-chimique (pH et acidité), ainsi que des paramètres microbiologiques (Coliformes totaux et fécaux, FTAM, levures et moisissures). En outre, les résultats de l'analyse sensorielle et hédonique qui est caractérisée par un panel de 8 jurys experts et 100 consommateurs naïfs, ont montré la préférence du yaourt témoin par (71%) de jury et appréciation similaires pour les deux yaourts enrichis avec la pulpe et l'écorce de la courge par (43%) de jury.

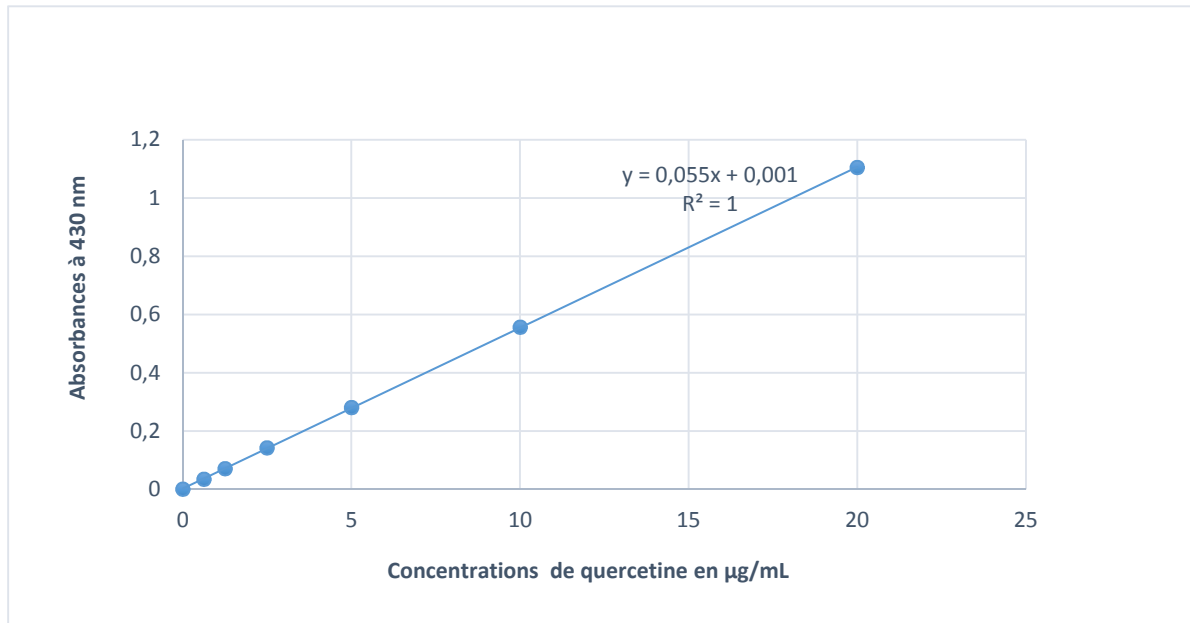
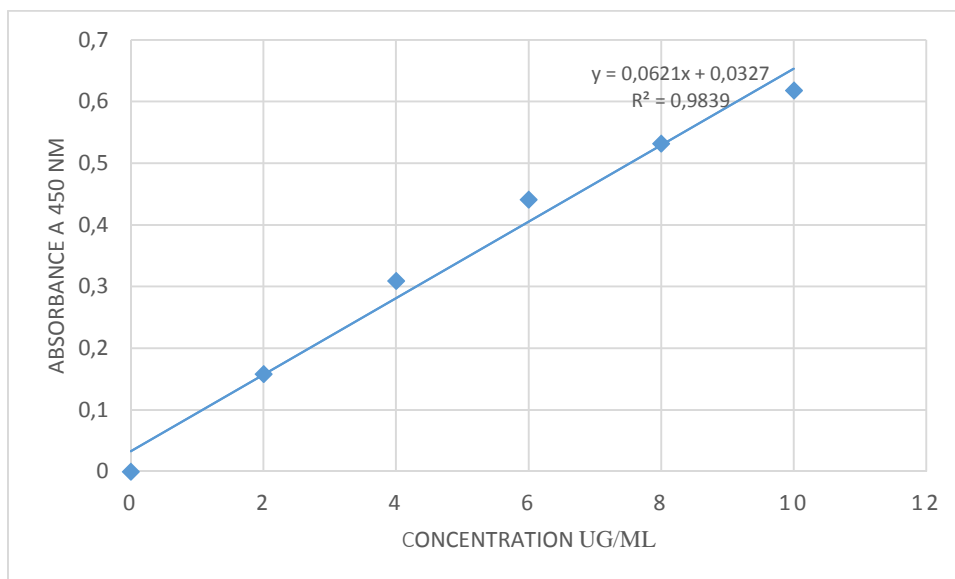
Enfin, l'ensemble des résultats obtenus de cette étude ne constituent qu'une caractérisation incomplète, aux perspectives et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant de :

- Elaboration d'autres méthodes d'extraction et d'investigation (CCM, HPLC, CPG,...) ;
- Reproduire les formulations de la présente étude à l'échelle pilote au sein d'une industrie agro-alimentaire ;
- Faire une enquête préliminaire au sein des professionnels de yaourt pour identifier les descripteurs essentiels à étudier dans l'évaluation sensorielle ;
- Réaliser une étude physico-chimique complète, de la matière première jusqu'au produit fini, y compris les poudres ;
- Optimiser et modéliser une meilleure formule par un plan d'expérience, en associant les résultats de l'analyse sensorielle et ceux de l'analyse physico-chimique ;
- Mettre en place une formule idéale en intégrant d'autres arômes naturels pour améliorer les caractéristiques organoleptiques de yaourt tel que l'arôme de citron.
- Suivre de la stabilité du yaourt enrichie par la poudre de la pulpe et l'écorce au cours de stockage.

Annexe I: Structure de base des polyphénols (Benhammou-Belyagoubi, 2001).

| Nombre de carbones | Squelette | Classification | Exemple | Structure de base |
|--------------------|--|--------------------------|-------------------------------|---|
| 7 | C ₆ -C ₁ | Acides phénols | Acide gallique |  |
| 8 | C ₆ -C ₂ | acétophénones | Gallacetophénone |  |
| 8 | C ₆ -C ₂ | Acide phénylacétique | Acide p-hydroxyphénylacétique |  |
| 9 | C ₆ -C ₃ | Acides hydroxycinamiques | Acide p-coumarique |  |
| 9 | C ₆ -C ₃ | Coumarines | Esculitine |  |
| 10 | C ₆ -C ₄ | Naphthoquinones | Juglone |  |
| 13 | C ₆ -C ₁ -C ₆ | Xanthones | Mangiférine |  |
| 14 | C ₆ -C ₂ -C ₆ | Stilbènes | Resveratrol |  |
| 15 | C ₆ -C ₃ -C ₆ | Flavonoïdes | Naringénine |  |

Annexe II : Courbes d'étalonnage**Annexe II.1 : Courbes d'étalonnage des polyphénols totaux**

Annexe II.2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes**Annexe II.3 : Courbe d'étalonnage des caroténoïdes**

Annexe III : Questionnaire de l'analyse sensorielle et hédonique

Age :

Sex : féminin

masculin

date :

Trois échantillons du yaourt codés **X**, **Y** et **Z** 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 X | Echantillon Y | Echantillon Z |
|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | |

2- Couleur :

1- La couleur du yaourt vous l'appréciez :

- 1 : tres bien
- 2 : bien
- 3 :moyen
- 4 : peu
- 5 : n'est pas apprecier

| Echantillon X | Echantillon Y | Echantillon Z |
|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | |

3- Texture:

1- Texture en bouche:

- 1 : très lisse
- 2 : lisse
- 3 : moyenne
- 4 : granuleuse
- 5 : très granuleuse

| Echantillon X | Echantillon Y | Echantillon Z |
|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | |

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

- 1 : très mou
- 2 : mou
- 3 : moyenne
- 4 : ferme
- 5 : très ferme

| Echantillon X | Echantillon Y | Echantillon Z |
|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | |

4 –Sensation en bouche :

1- Gout sucré :

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

| Echantillon X | Echantillon Y | Echantillon Z |
|---------------|---------------|---------------|
| | | |

5- Saveur :

1- Gouts fruités :

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

| Echantillon X | Echantillon Y | Echantillon Z |
|---------------|---------------|---------------|
| | | |

2- Acidité :

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

| Echantillon X | Echantillon Y | Echantillon Z |
|---------------|---------------|---------------|
| | | |

3- Parfum identifié :

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

| Echantillon X | Echantillon Y | Echantillon Z |
|---------------|---------------|---------------|
| | | |

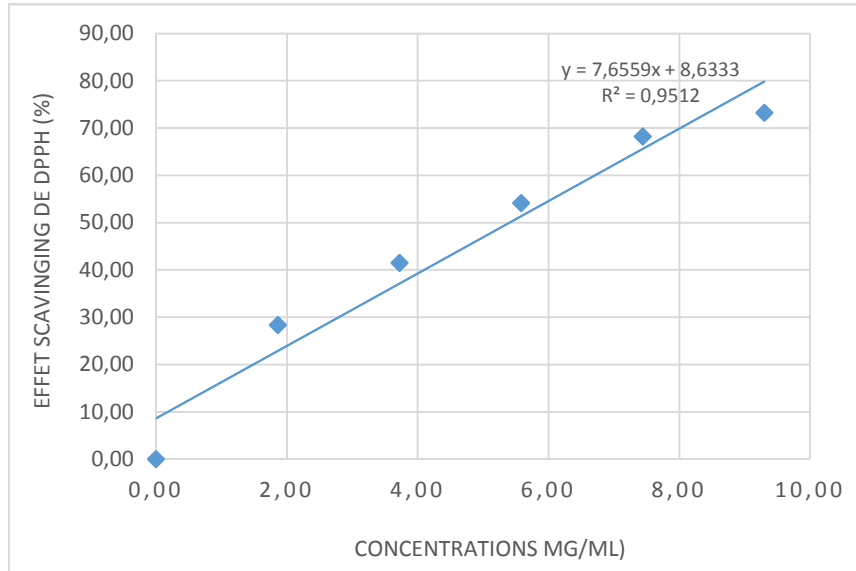
6- Attribuez une note allant de 1 à 9 pour chaque échantillon, sachant que 1 correspond à l'échantillon le moins préféré et 9 au plus préféré :

| | Echantillon X | Echantillon Y | Echantillon Z |
|------|---------------|---------------|---------------|
| Note | | | |

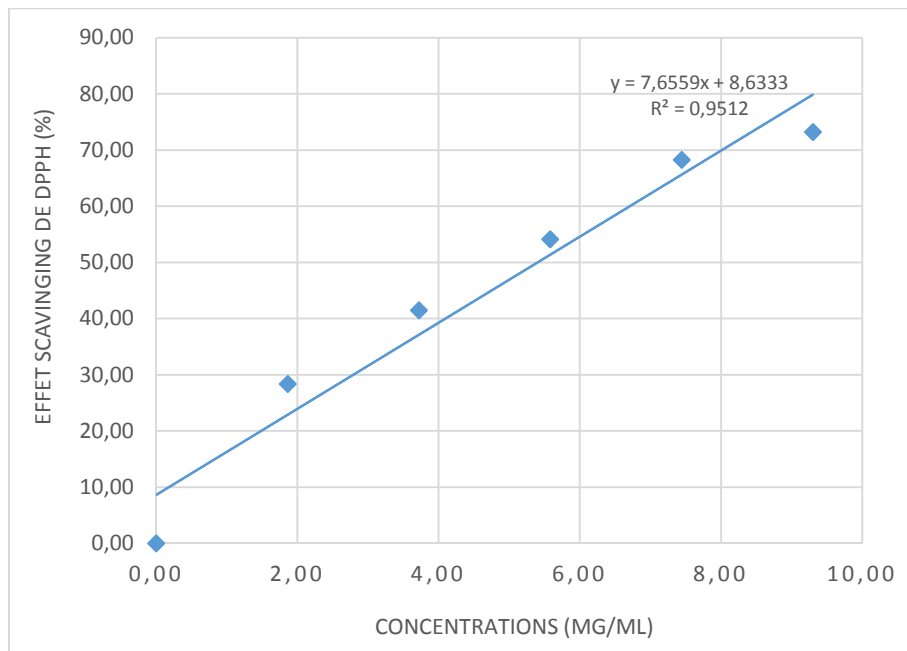
Merci pour votre coopération.

Annexe IV : Courbes de corrélation

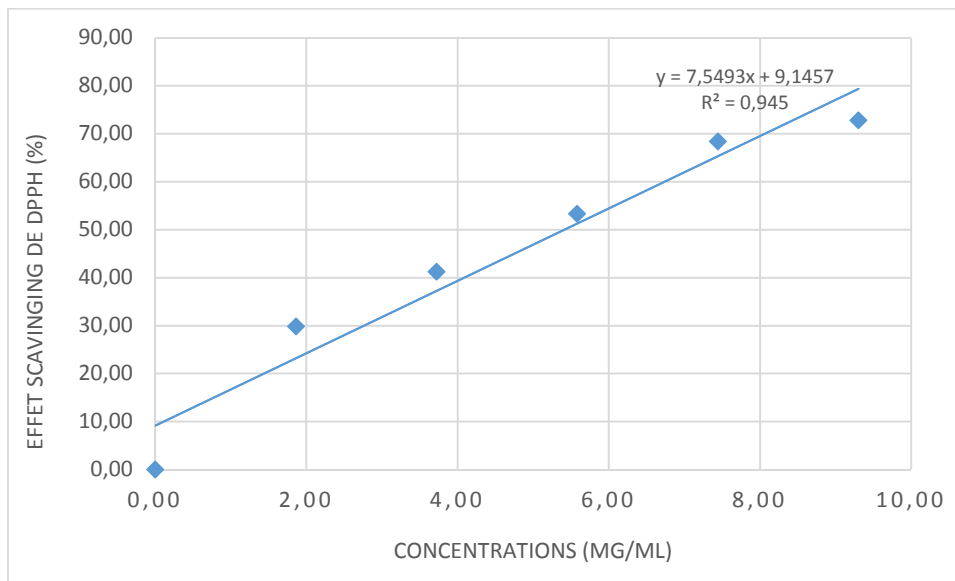
Annexe IV. 1 : Corrélation linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait de la pulpe.



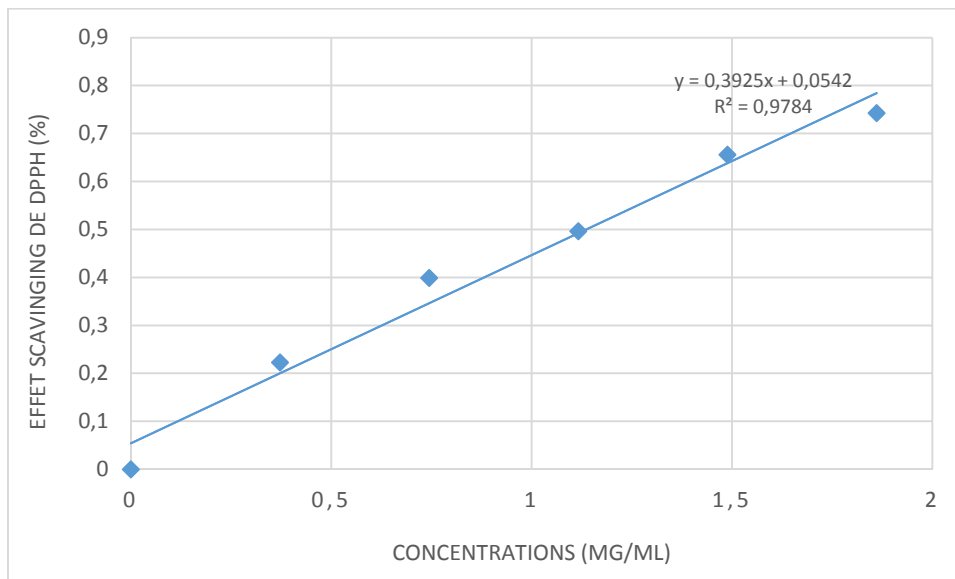
Annexe IV. 2: Corrélation linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait de la pulpe.2



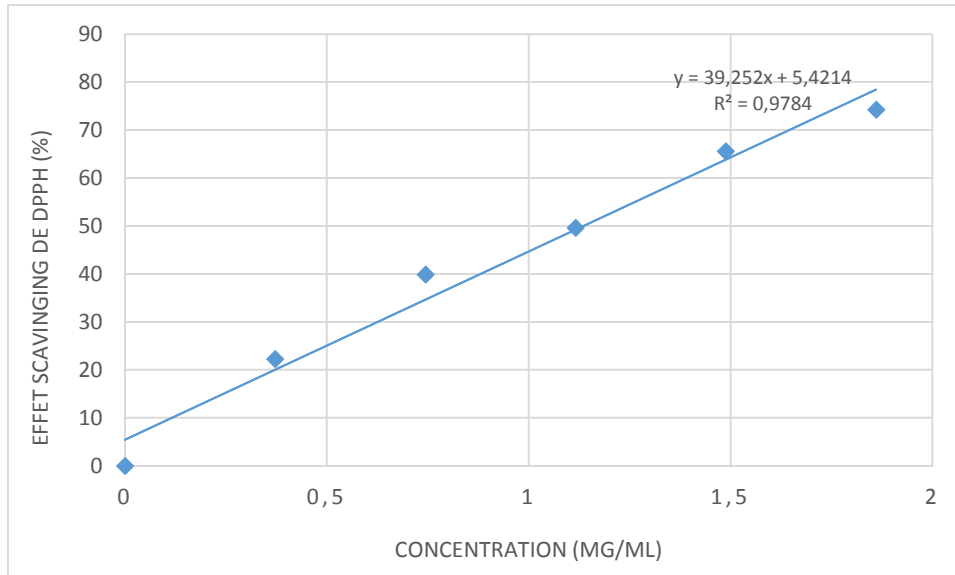
Annexe IV. 3: Corrélation linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait de la pulpe 3.



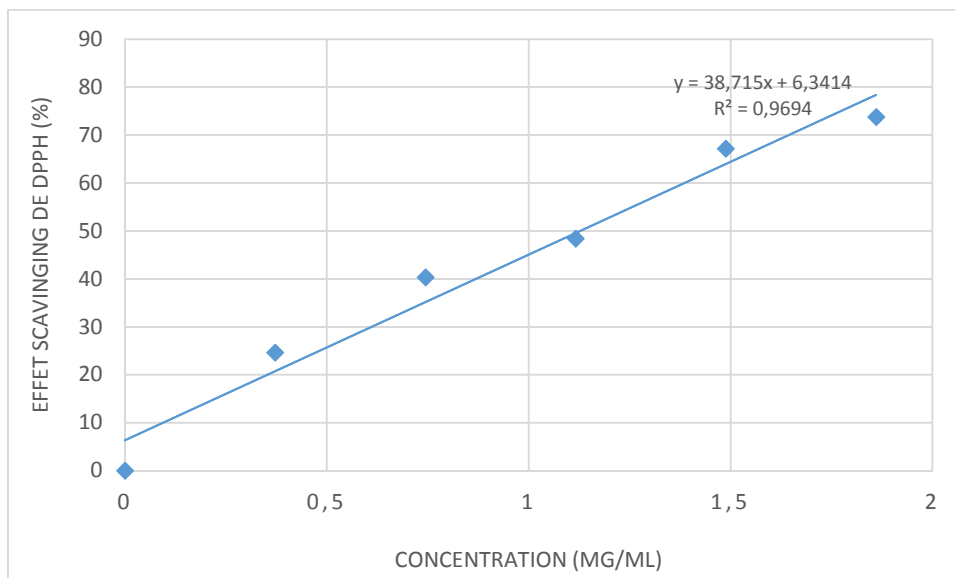
Annexe IV. 4: Corrélation linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait de l'écorce.1



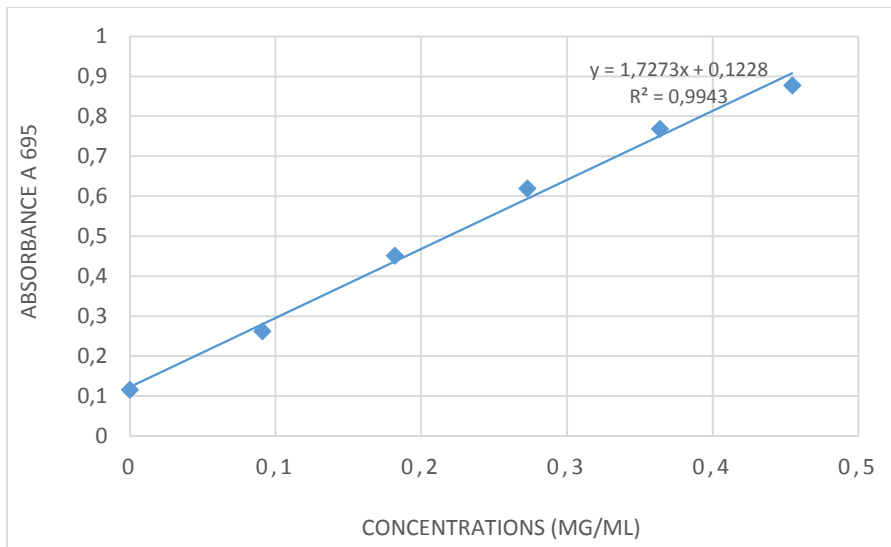
Annexe IV. 5: Corrélation linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait de l'écorce.2



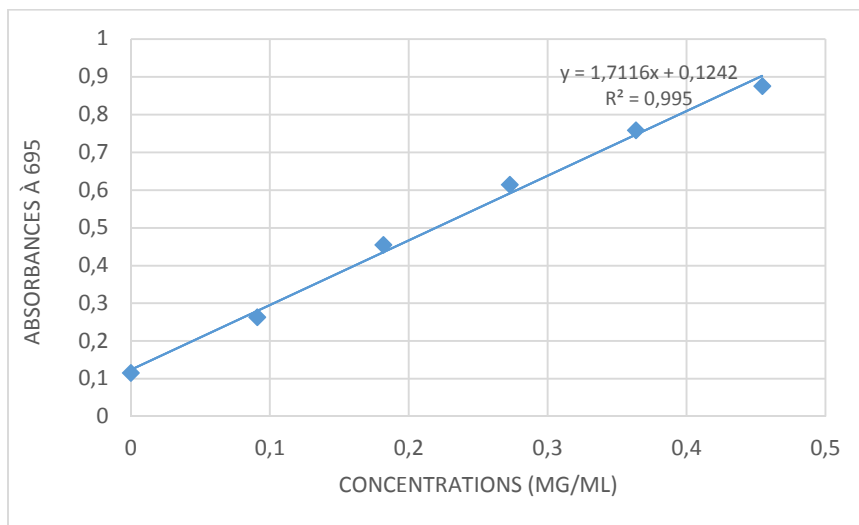
Annexe IV. 6: Corrélation linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait de l'écorce 3.

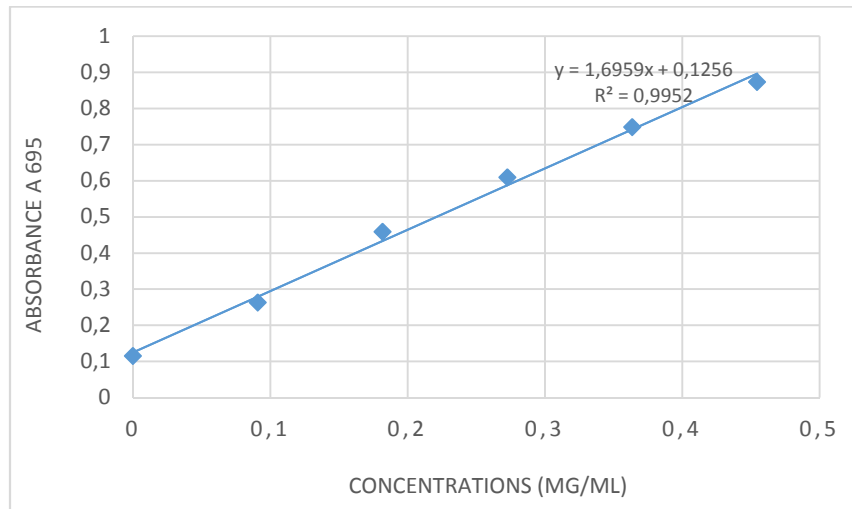
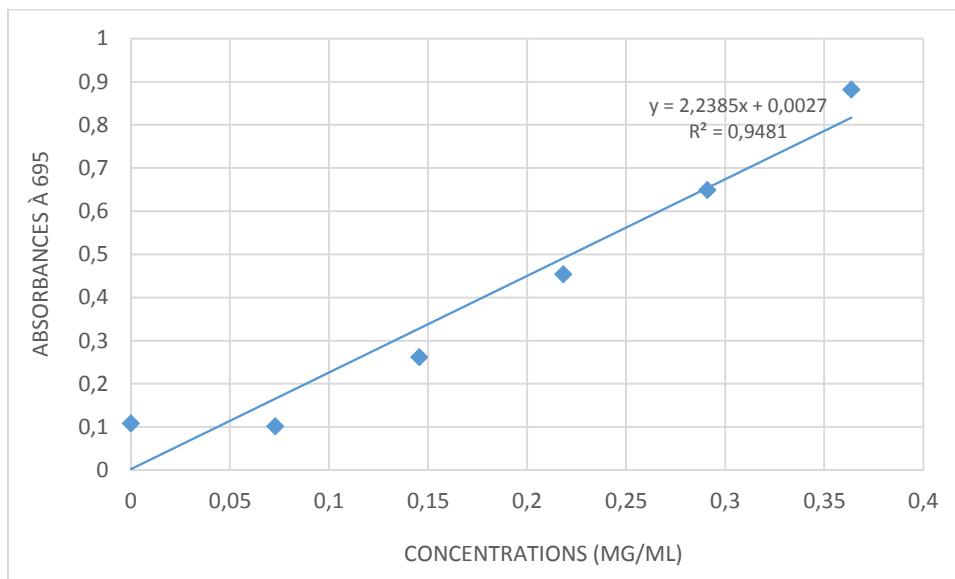


Annexe IV. 7: Absorbances en fonction des concentrations des extraits de la pulpe 1.

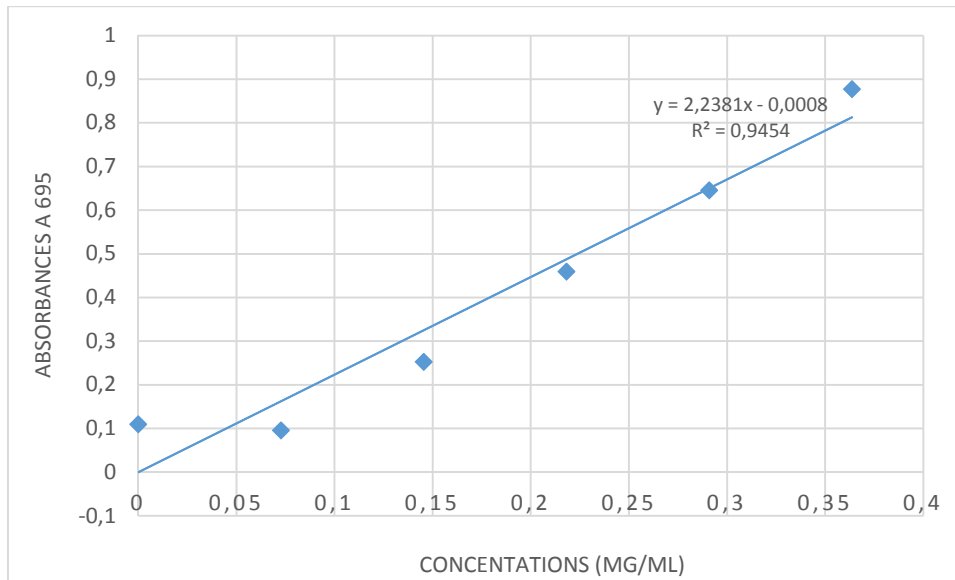


Annexe IV. 8: Absorbances en fonction des concentrations des extraits de la pulpe 2.

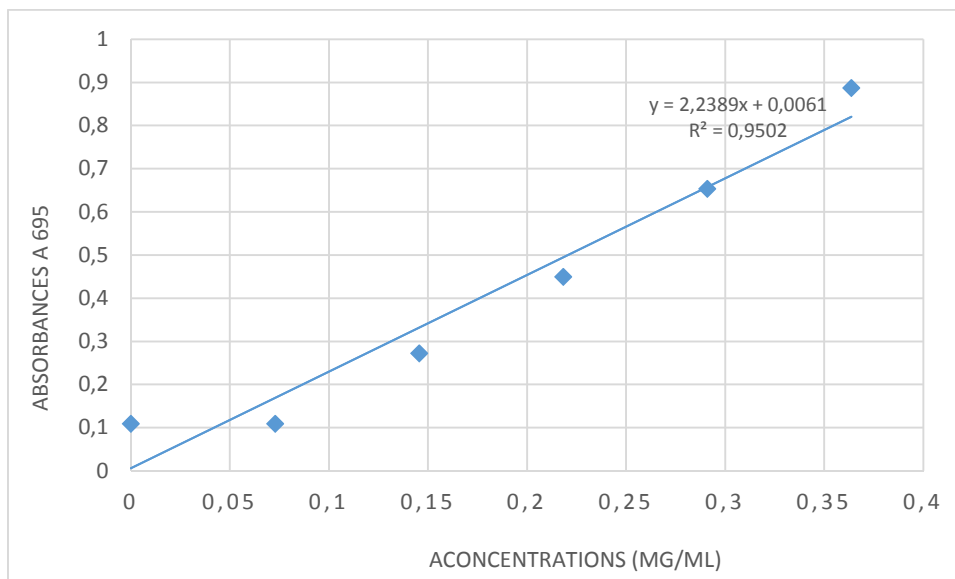


Annexe IV. 9: Absorbances en fonction des concentrations des extraits de la pulpe 3.**Annexe IV. 10:** Absorbances en fonction des concentrations des extraits de l'écorce 1.

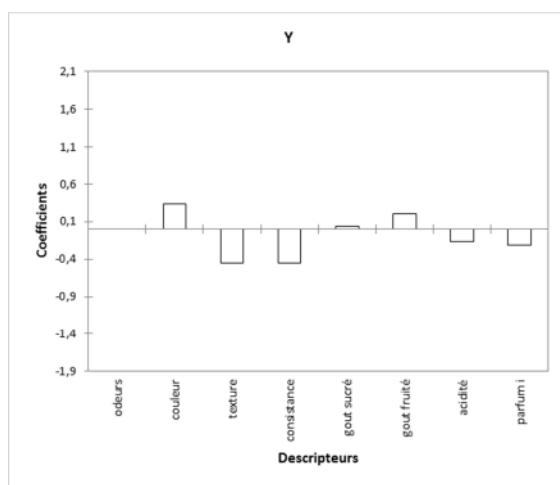
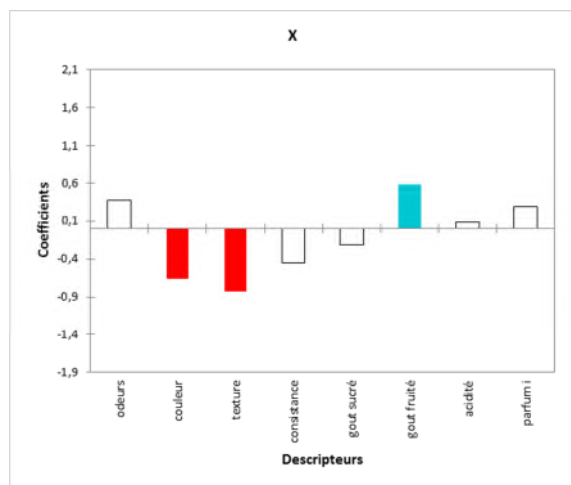
Annexe IV. 11: Absorbances en fonction des concentrations des extraits de l'écorce 2.



Annexe IV. 11: Absorbances en fonction des concentrations des extraits de l'écorce 3.



Annexe V: coefficient de model des échantillons X et Y.



Annexe VI: Solvant et réactifs utilisés au cours du travail.

| Nom du produit | Marque | Pays de fabricant |
|---|------------------------|--------------------------|
| Acide gallique monohydrate | BIOCHEM Chemopharma | Quebec |
| Acide quercétine | Riedel-de Haën | Germany |
| Acide sulfurique à 96-98% | BIOCHEM Chemopharma | Quebec |
| Carbonate de sodium decahydrique à 7,7 % | SIGMA-ALDRICH | Germany |
| Chlorure d'aluminium à 2% | BIOCHEM Chemopharma | USA |
| DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) | SIGMA-ALDRICH | Germany |
| Ethanol | SIGMA-ALORICH | Germany |
| Folin-Ciocalteu 1/10 | BIOCHEM Chemopharma | France |
| Hexane | BIOCHEM Chemopharma | Quebec |
| Hydroxyde de sodium | BIOCHEM Chemopharma | Quebec |
| Méthanol à 99% | GPR RECTAPUR | France |
| Molybdate d'ammonium tetrahydrique | BIOCHEM Chemopharma | Quebec |
| Phénol phtaleïne | MERCK | Germany |

Annexe VII : Le matériel et appareil utilisé au cours du travail.

| Matériel | Appareils |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ✓ Béchers ✓ Burette graduée ✓ Cuve en verre et en quartz ✓ Eprouvettes graduées ✓ Pipettes graduée ✓ Tubes à essais ✓ 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) ✓ Etuve ventilée (MAMMERT). |

Antalgique : ou **analgésiques** sont des médicaments utilisés en médecine dans le traitement de la douleur.

Antihypertenseurs : **Hypotenseurs** sont une classe de médicaments qui sont administrés pour réduire l'hypertension artérielle.

Cataracte : Trouble de la vision qui survient de l'opacification partielle ou totale du cristallin, lentille convergente située à l'intérieur de l'œil.

Cultivar : Variété de plante obtenue en culture, généralement par sélection, pour ses caractéristiques réputées uniques

Diurétique : substance qui entraîne une augmentation de la sécrétion urinaire

Gastrite : Maladie inflammatoire de la paroi de l'estomac.

Hypertension artérielle : (HTA) est une pathologie cardiovasculaire définie par une pression artérielle trop élevée (augmentation anormale de la pression du sang sur la paroi des artères).

Hypoglycémiant : Substance qui provoque l'hypoglycémie, qui abaisse le taux de glucose contenu dans le sang

Immunomodulateur : Substance qui modifie le déroulement des réactions immunitaires.

Ostéoporose : Maladie généralisée du squelette caractérisée par une diminution de leur Densité Minérale Osseuse qui entraîne des modifications de l'organisation structurale de l'os et augmente sa fragilité

Ténicide : Médicament qui détruit le ténia.

Vermifuges : médicament antiparasitaire qui permet d'éradiquer les parasites gastro-intestinaux de son hôte.

Références bibliographiques

Abdella A.M.Y.I. 2008. Isolation and characterization of pectic substances from pumpkin (*Cucurbita sp*) peels. Thèse de master Science Alimentaire et Technologie. Université de khartoum, faculté d'agriculture.

Abdulrhem T. AL-Ghazal A.T. 2012. Evaluation of Antibacterial Effect of *Cucurbita pepo* (Yakten) extracts on multi-antibiotic resistance bacterial strains isolated from human urinary tract infections. Raf. Journal Science, 23(2): 1-7.

Adams G. G., Imran S., Wan S., Mohammad M., Kok M. S., Gray D.A., Channell G. A. et Harding S.E. 2012. Extraction, isolation and characterisation of oil bodies from pumpkin seeds for therapeutic use. Food Chemistry, 134: 1919-1921.

Adebayo O. R., Farombi A. G. et Oyekanmi A. M. 2013. Proximate, Mineral and Anti-Nutrient Evaluation of Pumpkin Pulp (*Cucurbita Pepo*). Journal of Applied Chemistry, 4(5): 25-28.

Aliyu, A.B., Ibrahim M.A., Ibrahim H., Musa A.M., Lawal A.Y. Oshanimi J.A., Usman M., Abdulkadir I.E., Oyewale A.O. et Amupitan J.O. 2012. Free radical scavenging and total antioxidant capacity of methanol extract of *Ethuliaconyzoides* growing in Nigeria. Romanian Biotechnological Letters, 17(4): 7458-7465.

Allane T. 2009. Etudes des pouvoirs antioxydants et antibactériens de quelques espèces végétales locales alimentaires et non alimentaires. Thèse de Magister en Science alimentaire. Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Faculté des Sciences, 83 p.

Altemimi A., Watson D.G., Kinsel M. et Lightfoot D.A. 2015. Simultaneous extraction, optimization, and analysis of flavonoids and polyphenols from peach and pumpkin extracts using. 9(39),1-15.

Amoussa Hounkpatin W. B. A. 2011. Evaluation du potentiel de couverture des besoins en vitamine a des jeunes enfants à partir des sauces accompagnant les aliments de base consommés au Bénin. Thèse de Doctorat en Sciences des aliments et des procédés. Université Montpellier 2, Faculté des sciences et Techniques du Languedoc, 160 p.

Antolovich M. Prenzlerer P., Robards K. et Ryan D. 2000. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. Analyst, 125: 989-1009.

Armougom P. R. 1998. Etude de la fraction lipidique des graines de Cucurbitacées tropicales des genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*. Thèse de Doctora en Sciences. Université de la Reunion de France, Faculté des Sciences, 219 p.

Références bibliographiques

Asgary S. Moshtaghian S. J., Setorki M., Kazemi S., Rafieian-kopaei M., Adelnia A. et Shamsi F. 2011. Hypoglycaemic and hypolipidemic effects of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) on alloxan-induced diabetic rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(23): 2620-2626.

Assous M.T.M., Soheir Saad E.M. et Dyab A.S. 2014. Enhancement of quality attributes of canned pumpkin and pineapple. *Annals of Agricultural Science*, 59(1): 9-15.

Ayar A. et Gurlin E. 2014. Production and Sensory, Textural, Physicochemical Properties of Flavored Spreadable Yogurt. *Life Science Journal*, 11(4): 58-65.

Aydin E. et Gocmen D. 2015. The influences of drying method and metabisulfite pre-treatment on the color, functional properties and phenolic acids contents and bioaccessibility of pumpkin flour. *Food Science and Technology*, 60: 385-392.

Azizah, A. H., Wee, K. C., Azizah, O. et Azizah, M. 2009. Effect of boiling and stir frying on total phenolics, carotenoids and radical scavenging activity of pumpkin (*Cucurbita moschato*). *International Food Research Journal*, 16: 45-51.

Barchechath J. (2014). Etude du potentiel nutraceutique des fibres de canneberge et de bleuet. Thèse de Doctorat en sciences et technologie des aliments. Université Laval de Québec Canada, Faculté des sciences, 117 p.

Barus C. 2008. Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieu homogène et biphasique-Application aux produits dermocosmétiques. Thèse de Doctorat en Science. Université de Toulouse.

Ben-Yahia L. 2012. Etude du dialogue hôte/bactéries lactiques du yaourt chez des rats gnotobiotiques. Thèse de Doctorat en Science et Industries du Vivant et de l'Environnement. Institut des Sciences et Technologies de Paris, 146 p.

Benhammou-Belyagoubi N. 2012. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd de Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, 109 p.

Benseddik A., Azzi A. et Allaf K. 2014. Modélisation des isothermes de désorption de la citrouille en vue de leur séchage solaire. *Revue des Energies Renouvelables*, 14: 173 – 182.

Références bibliographiques

- Blanco-Diaz M. T., Font R., Martínez-Valdivieso D. et Río-Celestino M. D.** 2015. Diversity Of natural pigments and phytochemical compounds from exocarp and mesocarp of 27 *Cucurbita Pepo* accessions. *Scientia Horticulturae*, 197: 357-365.
- Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E. et Saykova I.** 2012. Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Génie Industriel*, 7 : 35-45.
- Botineau M.** 2010. Partie 5 : Eu-dicotylédones moyennes ou rosides in *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Edition TEC & DOC. Lavoisier, Paris. pp. 722-729.
- Boubekri C.** 2014. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mohamed Khider de Biskra, Faculté des Sciences exactes, des sciences de la nature et de vie, 160 p.
- Boubchir-Ladj K.** 2010. Effets de l'enrichissement (avec des concentrés de protéines laitières) et des paramètres technologiques sur la qualité du yaourt fabriqué à la laiterie SOUMMAM d'Akbou. Thèse de magister en Sciences Biologiques. Université Mouloud Mammerie de Tizi-Ouzou, Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques, 63 p.
- Boudjema K.** 2008. Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. Thèse de Magister en Biologie. Université M'Hamed Bougara de Boumerdès, Faculté des Sciences, 67 p.
- Bougandoura N. et Bendimerad N.** 2012. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technologie*, 9 : 14-19.
- Boullard B.** (1997). Dictionnaire des plantes et champignons. Edition ESTEM. Paris, Rousselet. pp. 220-222.
- Boullard B.** (2001). Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. Edition ESTEM. Paris. pp. 172-173.
- Bouterfas K., Mehdadi Z., Benmansour D., Khaled M. B., Bouterfas M, Latreche A.** 2014. Optimization of Extraction Conditions of Some Phenolic Compounds from White Horehound (*Marrubium vulgare* L.) Leaves. *International Journal of Organic Chemistry*, 4: 292-308.

Références bibliographiques

Bouزيد W. 2009. Etude de l'Activité Biologique des Extraits du Fruit de *Crataegus monogyna* Jacq. Thèse de Magister en Biologie. Université d'El hadj lakhder de Batna, Faculté des sciences, 62 p.

Branger A., Richer M.M. et Roustel S. 2012. *Microbiochimie et Alimentation*. Editions EDUCAGRI. Dijon, France. pp. 91-93.

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

Chang C. C., Yang M. H., Wen H. M. et Chern G.H. 2002. Estimation of Total Flavonoid content in Propolis by two Complementary Colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10: 178-182.

Cherif J. K., M'Rabet I., El Habiri M., Abidi R., Albrecht-Gary A.M. 2004. Mesure de l'activité antiradicalaire du jus et des peaux d'oranges tunisiennes par le radical DPPH. *Science and available*, 61(2): 99-107.

Chew K. K., Khoo M. Z., Thoo, Y. Y., Wan Aida W. M. and Ho C. W. 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphonstamineus* extracts. *International Food Research Journal*, 18(4): 1427-1435.

Claustrioux J-J. 2001. Considérations sur l'analyse statistique de données sensorielles. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, (3): 155-158.

Clement I. A., Ekong B. M. et Idiong J. U. 2015. Evaluation of the Safety of Commonly Sold Yoghurts in UYO Metropolis. *Food Processing and Technology*, 7(1): 1-3.

Concenço F. I. G., Stringheta P. C., Ramos A. M. et Oliveira I. H. T. 2014. Blueberry: Functional Traits and Obtention of Bioactive Compounds. *American Journal of Plant Sciences*, 5: 2633-2645.

Dai J. et Mumper R. J. 2010. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15: 7313-7352.

Das S. et Banerjee S. 2015. Production of pumpkin powder and its utilization in bakery products development: a review. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 4: 478-481.

Références bibliographiques

Defraigne J. O. et Pincemail J. 2008. Stress oxydant et antioxydants : Mythes et réalités. Médicale de Liège, 63 : 10-19.

Degrou A.E. 2013. Etude de l'impact des procédés de transformation sur la diffusion des caroténoïdes : cas du lycopène de la tomate. Thèse de doctorat de Sciences agricoles. Université d'Avignon, 195p.

Derradji-Benmeziane F. 2015. Effet de la nature du sol sur la teneur en antioxydants de quelques variétés de raisin de la région d'el-tarf. Thèse de Doctorat de Biologie végétale. Université Badji mokhtar Annaba, Faculté des Sciences, 124 p.

Dini I., Tenore G.C. et Dini A. 2003. Effect of industrial and domestic processing on antioxidant properties of pumpkin pulp. Food Science and Technology, 53: 382-385.

Dorman H.J.D., Kosar M., Kahlos K., Holm Y. et Hiltunen R. 2003. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties, and cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51, 4563–4569.

Dupin H., Cuq J.L., Malewia M.I., Rouaub C.L. et Berthier A.M. 1992. Alimentation et nutrition humaine. Edition EFF, pp. 862-864.

Durante M., Lenucci M. S. et Mita G. 2014. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of carotenoids from Pumpkin (*Cucurbita spp.*). International Journal of Molecular Sciences, 15: 6725-6740.

El Demery M. E. 2011. Evaluation of physico-chemical properties of toast breads fortified with pumpkin (*Cucurbita moschata*) flour. The 6 th Arab and 3 rd International Annual Scientific Conference on: Development of Higher Specific Education Programs in Egypt and the Arab World in the Light of Knowledge Era Requirements. Université de Kafr-Elsheikh d'Egypt, Faculté d'éducation spécifique, 2145- 2161p.

Enneb H, Belkadhi A., Cheour F. et Ferchichi A. 2015 .Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis L.*). Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, 20(2): 788-793.

Everitt B.S., Landau S. et Leese M. 2001. Cluster analysis (4th edition). Arnold, London.

Références bibliographiques

Eversley T. C. 2012. Le potentiel antioxydant de l'alimentation tel qu'estimé par le score ORAC : une comparaison des apports des personnes âgées avec démence du type Alzheimer avec ceux des témoins sans problèmes cognitifs. Thèse de Magister en Science. Université de Montréal, Faculté de médecine, 164 p.

FAO.1995. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. pp 154-155.

Favier A. 2003. Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.

Fedha M. S., Mwasaru M. A., Njoroge C. K., Ojijo N. O. et Ouma G. O. 2010. Effect of drying on selected proximate composition of fresh and processed fruits and seeds of two pumpkin species. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(6): 1299-1302.

Fu C., Shi H. et Li Q. 2006. A Review on Pharmacological Activities and Utilization Technologies of Pumpkin. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61: 73–80.

Gaillot G. 2015. L'extraction d'une plante à la lecture de sa fiche technique. *The natural sign eccare*, 1-7.

Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z. et Jore D. 2003. Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? *Mécanismes Biochimiques*, 91-96.

Geetha A., Amutha M., Amutha M. et Monika P. 2014. Determination of secondary metabolites, ld 50 alue and antioxidant activity Of seed extract of cucurbita pepo linn. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(3): 173-177.

Ghedira K. et Goetz P. 2013. Cucurbita pepo L. (Cucurbitaceae) : Graine de courge ou citrouille. *Phytothérapie*, 11: 46-51.

Grigora 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 en Science. Université d'Orléans, 262 p.

Giovanni G. 2014. Plant carotenoids: genomics meets multi-gene engineering. *Physiology and Metabolism*, 19: 111-117.

Girotti-chanu C. 2006. Etude de la lipolyse et de la synthèse de composés du derme sous l'effet de la cirsimarine, flavone extraire de *Microtea Debilis*. Thèse de Doctorat en Science, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon.

Goupy J. 2006. Les plans d'expériences. *Revue Modulad*, 34 : 74-116.

Références bibliographiques

Harrar A-N. 2012. Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magistère en Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abasse Sétif, 95 p.

Hashemi Gahruie H., Eskandari M. H., Mesbahi G et Hanifpour M. A. 2015. Scientific and technical aspects of yogurt fortification. *Food Science and Human Wellness*, 4: 1-8.

Henriques F., Guiné R. et João-Barroca M. 2012. Chemical Properties of Pumpkin Dried by Different Methods. *Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 7 (1-2): 98-105.

Hosseinzadeh-Colagar A. et Amjadi-souraki O. 2012. Review of Pumpkin Anticancer Effects. *Quran & Etrat Center, The Ministry of Health and Medical Education*, 1(4): 77-88.

HUSSON F., LË S. and PAGES J. (2009). *SensoMineR dans Evaluation sensorielle - Manuel méthodologique.* Lavoisier, SSHA, 3ème édition. ISBN, P: 44.

Ilg A, Bruno M., Beyer P. et Al-babili S. 2014. Tomato carotenoid cleavage dioxygenases 1A and 1B: Relaxed double bond specificity leads to a plenitude of dialdehydes, monoapocarotenoids and isoprenoid volatiles. *Federation of European Biochemical Societies Open Bio* 4: 584–593.

Ismat N., Abida T., Sabeen I., Hifsa M. et Alya M. 2009. Analysis of flavonols in the peels of vegetables by High Performane Liquid Chromatography. *New York Science Journal*, 2(5).27-30.

Jin H., Zhang Y.J., Jiang J.X., Zhu L.Y., Chen P., Li J. and Yao H.Y. 2013. Studies on the extraction of pumpkin components and their biological effects on blood glucose of diabetic mice. *Journal of Food and Drug Analysis*, (21): 184-189.

Kanoun K. 2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Thèse de Magister en Biologie. Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Et Sciences de la Tterre et de l'Univers, 96 p.

Kebbab R. 2014. Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margines d'olives de la variété Chamlal : évaluation de l'activité avant et après deglycosylation. Thèse de Magister des Sciences Biologiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, 116 p.

Références bibliographiques

Koechelui-ramonatxo C. 2006. Oxygène, Stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 20 :164-167.

Kossah R., Nsabimana C., Zhang H. et Chen W. 2010. Optimization of extraction of polyphenols from Syrian Sumac (*Rhus coriaria L.*) fruits. *Research Journal of Phytochemistry*, 4(3): 146-153.

Kostalova Z., Hromadkova Z., Ebringerova A., Polovka M., Michaelsen T. E. et Paulsen B. S. 2013. Polysaccharides from the Styrian oil-pumpkin with antioxidant and complement-fixing activity. *Industrial Crops and Products*, 41: 127-133.

Lemos M. R. B., Almeida Siqueira E.M., Fernandes Arruda S. et Zambiasi R. C. 2012. The effect of roasting on the phenolic compounds and antioxidant potential of baru nuts. *Food Research International*, 48: 592-597.

Li Q., FU C., RUI Y., HU G. et CAI T. 2005. Effects of Protein-Bound Polysaccharide Isolated from Pumpkin on Insulin in Diabetic Rats. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60: 13-16.

Luquet F.M., Keilling J. et De Wilde R. 1986. Lait et produits laitiers : Vache. Brebis. Chèvre. Qualité, énergie et table de composition. Edition TEC & DOC. Lavoisier, Paris. 445 p.

Mahaut M., Jeantet R., Brulé G. et Schuck. 2000. Les produits industriels laitiers. Edition TEC & DOC. Lavoisier, Paris. pp. 20-30.

Manallah A. 2012. Activité antioxydante et anticoagulante des polyphénols. Thèse de Magister de Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas de Sétif, Faculté des sciences de la nature et de la vie, 86 p.

Marianne L. 2006. Légumes anciens, saveurs nouvelles. Edition France Agricole. Paris. pp. 130-133.

Mehriz A.M.S., Abou Dawood S. et Hebeishy E. 2013. Properties and Antioxidant Activity of Probiotic yoghurt flavored with black carrot, Pumpkin and Strawberry. *International Journal of Dairy Science*, 8(2): 48-57.

Metherell E. 2010. Sourcing of spices to maximize total phenolic levels in food product development. These en Science. Université de Georgia, Faculté de Science, 106 p.

Références bibliographiques

Michel T. 2011. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë ramnoides*). Thèse de Doctorat. Université d'Orléans, Faculté Chimie Analytique et Phytochimie.

Mohamed R.A., Ramadan R.S. et Ahmed L.A. 2009. Effect of Substituting Pumpkin Seed Protein Isolate for Casein on Serum Liver Enzymes, Lipid Profile and Antioxidant Enzymes in CCl₄-intoxicated Rats. *Biological Research*, 3 (1-2): 09-15.

Mohammedi Z. 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de région de Tlemcen. Thèse de Magister en Science. Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

Mohd Azman A. N., Husni S., Almajano P. M., Gallego G. M. 2013. Solvent Effect on Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Betula alba* and *Convolvulus arvensis*. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*, 7(5): 351-356.

Morand C. et Mileukovic D. 2014. Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques*, 42 : 47-62.

Muniandy P., Shorib A-B. et Babaa A.S. 2016. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. *Food Packaging and Shelf Life*. 8:1-8.

Muniandy P., Bakr Shorib A. et Salihin Babaa A. 2016. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. *Food Packaging and Shelf Life*, 8:1-8.

Napier T. 2009. Pumpkin production. Primefact for Profitable and sustainable primary industries, 964: 1-8.

Nawirska-Olszanska A., Biesiada A., Sokol-Letowska A., Alicja Z. et Kucharska A. Z. 2011. Content of bioactive compounds and antioxidant capacity of pumpkin puree Enriched with japanese quince, cornelian cherry, strawberry and apples. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 10(1): 51-60.

Nikkhah A. 2014. Yogurt the Most Natural and Healthy Probiotic: History Reveals. *Probiotics & Health*, 2(2): 1-2.

Références bibliographiques

Nkhili E. 2009. Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat en Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad de Marrakech, Faculté des sciences, 328 p.

Nko Sadi Biatcho D. 2006. Appreciation de la mise en œuvre de l'hygiène dans une laiterie artisanale de dakar « LE DIRFEL » : de la récolte du lait à sa transformation en lait caillé dit « SOW PUR ». Thèse de Doctorat en Science. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Faculté de Médecine et de Pharmacie, 70 p.

Nyam K.L. Lau M. et Tan C.P. 2013. Fibre from pumpkin (*cucurbita pepo* l.) seeds and rinds: physico-chemical properties, antioxidant capacity and application as bakery product ingredients. *Malaysian Journal of Nutrition*. 19(1): 99-109.

Najgebauer-Lejko D., Grega T. et Tabaszewska M. 2014. Yoghurts with addition of selected vegetables: Acidity, antioxidant properties and sensory quality. *Acta Scientiarum Polonorum, Food Science and Human Nutrition*, 13(1), 35-42.

Najgebauer-Lejko, D., Tabaszewska, M., Grega, T. 2015. The effect of addition of selected vegetables on the microbiological, textural and flavour profile properties of yoghurts. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment*, 14(1), 45–53.

Norshazila S., Irwandi J., Othman R. et Yumi Zuhani H.H. 2014. Carotenoid content in different locality of pumpkin (*Cucurbita moschata*) In Malaysia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6: 29-32.

Norfezah M.N. 2013. Development of expanded snack foods containing pumpkin flour and corn grits using extrusion technology. Thesis of Doctor of philosophy. University Palmerston north of New Zealand, 158 p.

Obiakor-Okeke P. N., Oly-Alawuba N. 2014. Evaluation of tannin, phytate and mineral composition of different indigenous dishes based on pumpkin (*Cucurbita pepo*). *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(6): 493-496.

Okombe V.E., Mbumba T. et Pongombo C.S. 2013. Efficacité antiparasitaire de la poudre de graines de courge (*Cucurbita moschata L.*) sur les helminthes gastro-intestinaux de la chèvre locale élevée à Lubumbashi en République Démocratique du Congo. *International Journal of Biological and Chemical. Sciences*, 7(3): 953-960.

Références bibliographiques

Pacikora 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 en Science des Aliments. Institut National Agronomique de Paris, 206 p.

Paris H. S. 2015. Germplasm enhancement of Cucurbita pepo (pumpkin, squash, gourd: Cucurbitaceae): progress and challenges. Euphytica, DOI 10.1007/s10681-015-1605-y.

Pastre J.O.C. 2005. Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse de Doctorat en Science. Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Paucean A. et Man S. 2014. Physico-chemical and sensory evaluations of wheat bread with pumpkin (Cucurbita maxima) pulp incorporated. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 20(1): 26-32.

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

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

Prasad M.P. 2014. In vitro phytochemical analysis and antioxidant activity of seeds belonging to Cucurbitaceae family. Indian Journal of Advances in Plant Research, 1 (4): 13-18.

Provesi J.G., Odebrecht Dias C. et Amante E.R. 2011. Changes in carotenoids during processing and storage of pumpkin puree. Food Chemistry, 128 (2011): 195-202.

Pitrat M. et Foury C. 2015. Histoire de Légumes. Editions Quae, INRA. Paris. pp. 310-313.

Ponka R., Bouba A.A., Fokou L., Tambe S.T., Beaucher E., Piot M., Leonil J. et Gaucheron F. Protein, mineral and amino acid content of some Cameroonian traditional dishes prepared from pumpkin (Cucurbita maxima Duch.). Journal of Food Composition and Analysis, 43: 169–174.

Rajha H.N. 2015. Optimisation des méthodes d'extraction des composés phénoliques des raisins libanais et de leurs coproduits. Thèse de Doctorat en Sciences de la vie et de la terre – Biochimie. Université De Technologie De Compiègne, 248 p.

Rakcejeva T., Galoburda R., Cude L. et Strautniece E. 2011. Use of dried pumpkins in wheat bread production. Procedia Food Science, 1: 441-447.

Références bibliographiques

Raven P.H. Evert R.F. et Eichhorn S.E. 2000. Composition moléculaire des cellules végétales, In « Biologie végétale ». Edition Roeck Diffusion.

Rawat I., Sharma D. et Goel H.C.2014. Antioxidant and anti-inflammatory potential of some dietary cucurbits. *Oxid Antioxid Med Sci*, 3(1):65-72.

Riad N-E. 2010. Simulation d'un plan HACCP au niveau de la chaîne de production du yaourt pour la mise en place d'un plan assurance qualité cas laiterie yaourterie DAHRA. Thèse de Magister en Microbiologie Alimentaire. Université d'Oran, Faculté des Sciences, 113 p.

Rodriguez-Amaya D.B. 2001. A guide to carotenoid analysis in foods. International Life Sciences Institute, 1-64.

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 en Science. Université de Technologie Compiègne, Faculté de Génie des Procédés Industriels et développement durable, 249 p.

Saavedra M. J., Aires A., Dias C., Almeida J. A., De Vasconcelos M. C. B. M., Santos P. et Rosa E. A. 2015. Evaluation of the potential of squash pumpkin by-products (seeds and shell) as sources of antioxidant and bioactive compounds. *Journal Food Science Technology*, 52(2):1008–1015.

Saeleaw M. et Schleining G. 2011. Composition, Physicochemical and Morphological Characterization of Pumpkin Flour. *Natural Resources and Life Sciences*.

Saint-Eve A. 2006. Compréhension de la libération et de la Perception des composés d'arôme en Condition de consommation: Cas du yaourt brassé aromatisé. Thèse de Doctorat en sciences des Aliments. Institut National Agronomique de Paris, 227 p.

Shireesha B., Penchala Raju M., Shobha S et Aparna K. 2014. Development of Symbiotic Yoghurt. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8(5): 19-28.

Sineiro J., Franco D., Rubilar M., Sanchez M., Jerez M., Pinelo M., Costoya N. et Nunez M.J. 2008. Polyphenols from plant materials: extraction and Antioxidant power. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food chemistry*, 7 (8): 3210-3216.

Smith B.D. 1997. The Initial Domestication of Cucurbita pepo in the Americas 10,000 Years Ago. *SCIENCE*, 276: 932-934.

Références bibliographiques

Soares A.F. 2005. Effet du stress oxydant sur le fonctionnement des adipocytes : Adiponectine et prostaglandine. Laboratoire de physiologie des lipides et des membranes de l'INSA. Thèse de Doctorat.

Sumarmono J., Sulistyowati M. et Soenarto. 2015. Fatty Acids Profiles of Fresh Milk, Yogurt and Concentrated Yogurt from Peranakan Etawah Goat Milk. *Procedia Food Science*, 3: 216-222.

Syndifrais 1997. Yaourts, laits fermentés. mission scientifique, 77 : 321-358.

Tabart J., Kevers C., Evers D. et Dommès J. 2006. Ascorbic acid, Phenolic acid, Flavonoid and Carotenoid profiles of selected extracts from *Ribes nigrum*. *Plant Molecular Biology and Biotechnology*, 105: 1268-1256.

Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J. Et Hilali A. 2015. Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(4): 1111-1117.

Telli a., Mahboub N., Boudjeh S., Siboukeur O. E. K. et Moulti-mati F. 2010. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété ghars. *Annales des sciences et Technologie*, 2(2) : 107-114.

Tinsson W. 2010. Plans d'expérience, In « constructions et analyses statistiques, Mathématiques et Applications ». Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 36 p.

Tome D. 2002. Laits fermentés : des antiques vertus aux nouvelles propriétés. *Agronomie et Nutrition*.

Trachoo N. 2002. Yogurt: The fermented milk. *Food Science and Technology*, 24(4): 727-737.

Umadevi P., Murugan S., Jennifer Suganthi S. et Subakanmani S. 2011. Evaluation of antidepressant like activity of cucurbita pepo seed extracts in rats. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 3(1): 108-113.

Van Antwerpen P. 2006. Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique : criblage du système myeloperoxydase/peroxyde d'hydrogène/chlorure. Thèse de Doctorat en Science. Institut de Pharmacie de Bruxelles.

Références bibliographiques

Virginie G., Espérance M.S., Guévara N., Bogninou-Agbidinoukoun G. S. R., Agbangnan D. C. P., et Sohounhloué C. K. D. 2015. Etude chimique et évaluation de l'Influence de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des polyphénols naturels de *Pterocarpuserinaceus* acclimaté au Bénin. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 12 (2) : 325-333.

Voutilainen S., Nurmi T., Mursu J. et Rissanen T.H. 2006. Carotenoids and cardiovascular health. *American Society for Nutrition*, 83:1265–1271.

WatreLOT A. 2013. Interactions non-covalentes entre les polyphénols et les pectines. Etude sur un substrat modèle : la pomme. Thèse de Doctorat en Science. Université d'avignon et des Pays de Vaucluse, 331 p.

Yoo S.H., Lee B.H., Lee H., Lee S., Bae I.Y., Lee H.G., Fishman M.L., Chau H.K., Savary B.J. et Hotchkiss A.T. 2012. Structural Characteristics of Pumpkin Pectin Extracted by Microwave Heating. *Journal of Food Science*, 77(11): 1169-1173.

Zagar F.A., Kumar S., Bhat Z.F. and Kumar P. 2014. Effect of pumpkin on the quality characteristics and storage quality of aerobically packaged chicken sausages. *Springer Plus*, 3(39): 1-10.

Zaho J., Liu W., Chen D., Song Y., Zhang Y., Yuanying Ni Y. et Li Q. 2015. Physico-chemical and Antioxidant Properties of Different Pumpkin Cultivars Grown in China. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 9(4): 308-316.

Zarroki B. Tissu adipeux et inflammation : Effet du stress oxydant sur le métabolisme des prostaglandines dans les adipocytes 3T3-L1. Thèse de Doctorat en Science. Ecole interdisciplinaires Science-Santé.

Zhou T., Kong Q., Huang J., Dai R. et Li Q. 2007. Caractérisation of nutritional components and utilization of pumpkin. *Food global science books*. 1(2): 313-321.

Résumé

La présente étude est portée sur l'optimisation de l'extraction des antioxydants par le dosage des composés phénoliques des extraits des poudres de la pulpe et d'écorce de *Cucurbita pepo* utilisant le plan central composite. A l'issue des différents dosages effectués, les résultats obtenus indiquent que la teneur en polyphénols totaux (PPT) et en flavonoïdes (FT) est plus importante pour l'extrait de l'écorce (PPT : $4,43 \pm 0,15$ mg EAG/g MS, FT : $0,66 \pm 0,02$ mg EQ/g MS) que celui de la pulpe (PPT : $3,57 \pm 0,26$ mg EAG/g MS, FT : $0,30 \pm 0,01$ mg EQ/g MS) avec une différence significative à $P \leq 0,05$. Tandis que, la teneur en caroténoïdes de l'extrait de la pulpe ($1,73 \pm 0,18$ mg E β carotène/ g MS) est plus importante que celle de l'écorce ($1,23 \pm 0,02$ mg E β carotène/ g MS). Deux tests ont été choisis pour évaluer l'activité antioxydante, il s'agit de l'activité antiradicalaire au DPPH• où l'IC₅₀ de l'extrait de l'écorce est faible ($1,13 \pm 0,01$ mg/mL) que celle de la pulpe ($5,41 \pm 0,06$ mg/mL) et l'activité antioxydante totale dont l'IC₅₀ de l'extrait de la pulpe et d'écorce sont respectivement de $0,22 \pm 0,01$ et $0,22 \pm 0,01$ mg/mL. En outre, la caractérisation des échantillons de yaourt ferme enrichi de poudre de la pulpe et d'écorce ainsi que le yaourt nature formulé indique que les résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques sont conformes aux normes. Les résultats de l'analyse sensorielle et hédonique ont montré la préférence du yaourt témoin et appréciation similaire pour les deux yaourts enrichis avec la poudre de la pulpe et de l'écorce de la courge.

Mots clés : *Cucurbita pepo*, plan central composite, polyphénols totaux, flavonoïdes, caroténoïdes, yaourt, l'analyse sensorielle et hédonique.

Abstract

The present study deals with the optimization of antioxidants extraction by the determination of phenolic compounds from extracts of powders of pulp and peel of *Cucurbita pepo* using the composite central plan. At the end of the different determinations carried out, the results obtained indicate that the total phenolic (TPP) and flavonoids (TF) contents is more significantly important for the extract from the peel (TPP : $4,43 \pm 0,15$ mg EAG/g MS, TF: $0,66 \pm 0,02$ mg EQ/g MS) than this of the pulp (TPP : $3,57 \pm 0,26$ mg EAG/g MS, TF: $0,30 \pm 0,01$ mg EQ/g MS). The content of carotenoids of the extract of the pulp ($1,73 \pm 0,18$ mg E β carotene / g MS) is more important than this of the peel ($1,23 \pm 0,02$ mg E β carotene / g MS). However two tests were done to evaluate the antioxidant activity, it is about the DPPH• radical-scavenging activity where the IC₅₀ of the extract of the peel is low (1.13 ± 0.01 mg/mL) than that of the pulp (5.41 ± 0.01 mg/mL) and the IC₅₀ calculated in the total antioxidant activity were respectively of about 0.22 ± 0.01 and 0.22 ± 0.001 mg/mL for peel and the pulp. The results of the physico-chemicals and microbiological analysis were in agreement to standards. The results of the sensory and hedonic analysis showed the preference of the yogurt witness and similar appreciation for two yogurts enriched with powder pulp and the peel of pumpkin.

Keywords: *Cucurbita pepo*, composite central plan, total phenolic compounds, flavonoids, carotenoids, yoghurt, sensory and hedonic analysis.