

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaïa



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Effet des extraits phénoliques de quelques fruits
sur la stabilité oxydative de l'huile de soja**

Présenté par :

TAKKA Melissa & MEROUANI Kahina Rahma

Soutenu le : **24 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mme CHOUGUI N.	MCA	Président
Mme AIDLI A.	MAA	Encadreur
Mme TAMENDJARI S.	MCB	Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018

REMERCIEMENT

Louange à Allah le tout puissant qui nous à donné la santé, le courage, la volonté et la patience de réaliser ce modeste travail

Nous exprimons nos sincères remerciements à Mme AIDLI.A de nous avoir accordé sa confiance en acceptant de diriger notre travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre reconnaissance et notre profond respect.

Nous tenons à remercier Mme CHOUGUI de nous avoir fait l'honneur de présider le jury. Qu'elle trouve ici l'expression de notre grande considération.

Nos vifs remerciements vont également à Mme TAMENDJARI d'avoir accepté de faire partie du jury d'examinassions. Qu'elle trouve ici nos chaleureux remerciements pour son aide apportée à la réalisation des travaux au laboratoire.

Ce travail n'aurait pas pu voir la lumière du jour sans l'aide des personnes suivantes: Mlle TOUATI N., OUAR N., BENRAMDANE E, Mme IKHERBACHI N., ainsi que Mlle TABTI N.

Nous souhaitons également remercier l'équipe de CEVITAL SPA, en particulier Mr TAKOURABET-F, Mr MAOUCH et Mr ZAIDI -L.

Enfin, nous exprimons notre profonde gratitude à toute les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce travail et qu'on a omit de citer.

Dédicaces

A mes chers parents et ma belle mère que Dieu les protège.

En témoignage de ma profonde affection. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien, je leur suis très reconnaissante. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

A mon cher frère qui m'a toujours encouragé et soutenue. Qu'il trouve ici l'expression de ma grande gratitude.

A mon fiancé, les mots ne seront pas suffisants mais tu sais ce que cela signifie pour moi, l'investissement et les sacrifices demandés.

Merci d'être là depuis toujours. Tu trouveras ici toutes mes expressions d'amour.

A mes amis : Bilal, Farid, Anis, Jugou, Fifi, Wissam, Souad, Amine.

A ma binôme

A moi même.

Melissa

Dédicaces

Je Dédie ce travail à mes chers parents pour leur amour, soutien et encouragements durant toutes mes années d'études, que Dieu les protège.

Mes chères sœurs et frère: Chaïne, Melissa et Rayane.

A mes deux grands-mères ainsi que mes cousins et cousines.

Mes chères amis et Ma promotion «Master II Qualité des produits et sécurité des aliments»

A ma binôme

Kahina Rahma.

Table de matières

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1

PARTIE I: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : huile de soja et oxydation lipidique.....	3
1.1. Huile de soja	3
1.1.1. La plante	3
1.1.2. La graine	3
1.2. Composition de l'huile de soja	4
1.2.1. Intérêt nutritionnelle de l'huile de soja.....	5
1.3. Raffinage de l'huile de soja	5
2. L'oxydation des lipides	7
3. Les antioxydants	8
Chapitre II : Grenade et pomme	10
1. La grenade :	10
1.1. Biologie du grenadier:	10
1.2. Composition du fruit	11
1.3. Le grenadier en Algérie.....	12
2. La pomme	12
2.1. Biologie du pommier.....	13
2.2. Composition du fruit	13
2.3. Le pommier en Algérie	14

PARTIE II: EXPERIMENTATION

Chapitre III : Matériel et méthodes.....	14
1. Matériel végétal.....	14
1.1. Préparation des poudres	14
1.2. Choix des huiles.....	14
1.1. Extraction des composés phénoliques	14
1.3. Dosages des composés phénoliques et pigments	15
1.3.1. Polyphénols totaux	15
1.3.2. Flavonoïdes	15
1.3.3. Caroténoïdes.....	16
1.4. Evaluation de l'activité antioxydante	16
1.4.1. Pouvoir réducteur	16

1.4.2. Pouvoir de piégeage du radical DPPH	16
2. Enrichissement de l'huile de soja.....	17
2.1. Préparations des concentrations.....	17
2.2. Test à l'étuve ou test de Schaal.....	18
2.2.1. Analyses de l'huile	18
3. Analyses statistiques	20
Chapitre IV : Résultats et discussion.....	21
1. Teneur en composés phénoliques et pigments	21
1.1. Polyphénols totaux.....	21
1.2. Flavonoïdes	22
1.3. Teneur en pigments (caroténoïdes).....	22
2. Activité antioxydante	23
2.1. Activité anti-radical DPPH•.....	23
2.2. Pouvoir réducteur.....	25
3. Etude de la stabilité oxydative au cours du stockage à 65°C.....	26
3.1. Indice de peroxyde.....	26
3.2. Indice d'acide.....	29
3.3. Activité antiradicalaire DPPH° de l'huile enrichie.....	31
Conclusion générale	34
Références bibliographiques.....	37
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau I: Valeur nutritionnelle de la graine	4
Tableau II: Composition en acide gras de l'huile de soja.....	5
Tableau III: mecanisme d'oxydation des lipides	7

Liste des figures

Figure 1 : Plante de soja	4
Figure 2 : Gousse verte du soja	3
Figure 3: Description macroscopique de graine de soja (Hubert 2006).....	4
Figure 4: Fruit du grenadier (A), Pomme Golden Delicious. (B).....	14
Figure 5: Composition de l'extrait de peau de grenade et pomme en composés phénoliques.	21
Figure 6: Composition de l'extrait de peau de grenade et pomme en flavonoïdes	22
Figure 7: Composition de l'extrait de peau de grenade et pomme en caroténoïdes.....	23
Figure 8: Activité antiradicalaire DPPH de l'extrait phénolique de la peau de grenade et de la pomme exprimé en IC ₅₀	24
Figure 9 : Evolution du pouvoir réducteur des antioxydants en fonction des concentrations exprimé en EC ₅₀	25
Figure 10 : Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile de soja enrichie avec les extraits de pomme et de grenade au cours du stockage à 65°C	26
Figure 11 : Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile de soja enrichie avec l'extrait de grenade comparée au témoin et aux standards au cours du stockage à 65°C.....	27
Figure 12 : Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile de soja enrichie avec l'extrait de pomme comparée au témoin et aux standards au cours du stockage à 65°C	27
Figure 13 : Evolution de l'indice d'acide de l'huile de soja enrichie en extraits de pelures de pomme et de grenade au cours de l'oxydation accélérée à 65°C	30
Figure 14 : Evolution de l'indice d'acide de l'huile de soja enrichie au cours de l'oxydation accélérée à 65°C de la grenade comparée au témoin et aux standards.....	30
Figure 15 : Evolution de l'indice d'acide de l'huile de soja enrichie au cours de l'oxydation accélérée à 65°C de la pomme comparée au témoin et aux standards	31
Figure 16: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'huile témoin et des huiles enrichies	31

Liste des abréviations

- AA** : activité antiradicalaire, activité antioxydante.
- BHA** : l'hydroxyanisolebutylé.
- BHT**: l'hydroxytolonebutylé.
- DPPH** : Le diphényle picryl-hydrazyle.
- EBC** : Equivalent β -carotène.
- EAG** : Equivalent acide gallique.
- EQ** : Equivalent quercétine.
- EC₅₀** : concentration effective a 0,5 d'absorbance.
- G** : grenade.
- H.** : huile
- IC₅₀** : concentration inhibitrice de 50% des radicaux.
- IA** : indice d acide.
- IP** : indice de peroxyde.**MS** : matière sèche.
- Méq O₂/Kg** : milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme
- p** : pomme.
- ppm** : partie par million.
- Pv** : valeur peroxyde.
- SSS** : tri-saturé.
- SSU-SUS** : di-saturé-monosaturé.
- SUU-USU**:monosaturé,di-insaturé.
- TFC** : teneur total en flavonoïdes.
- T/ha** :Tonne par hectare.
- UUU** :tri-insaturé.
- V /V** :volume par volume.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction

Les huiles et les graisses ont toujours constitué une part importante de l'alimentation humaine (**Prior, 2003**). Les huiles végétales offrent un large choix tant au niveau du goût, de l'utilisation, du prix, que de la qualité. La différence entre les diverses huiles végétales réside dans la qualité des acides gras qui les composent. Selon leur nature, elles sont plus ou moins riches en certains acides gras polyinsaturés qui sont dits "essentiels". Elles constituent également la meilleure source de vitamine E connue pour ses propriétés antioxydantes (**Alais et Linden, 1997;Frénot et Vierling, 2002**).

L'oxydation des lipides, qui est la cause principale de la détérioration de la qualité dans beaucoup de systèmes alimentaires, peut mener à une perte significative de la qualité alimentaire d'un aliment, causer des mauvais goûts et à la formation des composés toxiques(**Viuda-Martos et al., 2011**). Cependant, l'ajout des antioxydants aux produits alimentaires, en particulier aux lipides et aux aliments contenant des lipides, peuvent augmenter la durée de conservation en retardant le processus d'oxydation.

Les antioxydants synthétiques, tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA), l'hydroxytoluène butylé (BHT) et la vitamine E, ont une utilisation restreinte dans les aliments car ces antioxydants synthétiques sont soupçonnés d'être cancérigènes (**Madhavi et al., 1995**). Par conséquent, l'importance de la recherche et de l'exploitation d'antioxydants naturels, en particulier d'origine végétale, a considérablement augmenté ces dernières années (**Jayaprakasha et Rao, 2000**). Comme substances naturelles avec un potentiel antioxydant élevé on peut noter les vitamines C, E, β -carotène ainsi que les composés phénoliques (**Bravo, 1998; Mazza et al., 2002 ;Rice-Evans et al.,1996**).

Les antioxydants phénoliques sont largement utilisés en agroalimentaire, car ils préviennent le développement de rancidité aux conséquences technologiques très néfastes durant le stockage et la cuisson (**Gharby et al., 2014**). De plus, les composés phénoliques ont montré des propriétés antimicrobiennes, hypolipidémiques, hypocholestérolémiantes et anti-cancérigènes(**Franconi et al., 2006**). Ces puissants antioxydants sont capables de piéger les radicaux libres générés en permanence par notre organisme ou formés en réponse à des agressions extérieures (pollutions diverses, infections, etc.) (**Rice-Evans et al., 1996**).

Les industries agro-alimentaires génèrent à partir de leurs activités de transformation, des quantités importantes de déchets et co-produits d'origine organiques.

Aujourd'hui, ces coproduits sont considérés comme sans valeur par les industriels de la transformation et sont utilisés en épandage, compostage, alimentation animale ou bien en valorisation énergétique (méthanisation). La valorisation de ces déchets représente des enjeux importants pour le monde agricole et agro-alimentaire (**Bendjabeur, 2012**). Il semble que l'écorce de grenade et pelures de pomme puissent être de bonnes sources d'antioxydants naturels et mériteraient d'être étudiées plus en avant (**Guo et al., 2003**).

Singhet al. (2002) et Jayaprakasha et al. (2000), ont récemment rapporté que l'extrait méthanolique d'écorce de grenade avait une capacité antioxydante beaucoup plus élevée que celle des graines, comme le démontrent les systèmes de modèles β -carotène-linoléate et DPPH.

Dans le cadre de notre travail, nous avons sélectionné des coproduits modèle, les pelures de pomme et les écorces de grenade qui concentrent de nombreux composés phénoliques. Le travail a été principalement réalisé sur l'extrait phénolique des poudres de pelures de ces fruits. Une voie possible de valorisation, est la réintroduction dans des produits alimentaires en tant qu'ingrédient, de façon à proposer des aliments enrichis en molécules fonctionnelles. Dans notre cas, notre aliment est l'huile de soja.

Cette étude est axée sur deux parties principales :

- Synthèse bibliographique :
 - Généralités sur l'huile de soja et l'oxydation lipidique ;
 - Généralités sur la pomme et la grenade.
- Partie expérimentale :
 - La première étape est consacrée à l'extraction et au dosage des composés bioactifs tels que les phénols totaux, les flavonoïdes et les caroténoïdes, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante, (antiradicalaire et du pouvoir réducteur) des extraits;
 - La deuxième étape, concerne l'enrichissement de l'huile de soja par l'extrait phénolique des pelures afin de prolonger sa durée de vie ;
 - La troisième étape, concerne le développement des résultats

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I : huile de soja et oxydation lipidique

1.1. Huile de soja

L'huile de soja est fluide et d'un jaune plus ou moins foncé suivant la variété des graines et les procédés d'extraction. Fraîche, elle a une saveur assez prononcée d'haricot qui s'atténue peu à peu. Elle est riche en acides gras polyinsaturés et notamment en acide gras essentiel alpha-linolénique. Elle est recommandée pour les assaisonnements (Cossut *et al.*, 2002).

1.1.1. La plante

Le soja [*Glycine max (L.) Merrill*] appartient à la famille des Fabacées, sous-famille des Faboideae, tribu des Phaseoleae, sous tribu des Glycininae, genre *Glycine*. La plante (figure 6) est annuelle, herbacée, dressée, et peut atteindre une hauteur de 1,5m (Rasolohery, 2007).

La gousse (figure 7) est droite ou légèrement courbée, d'une longueur de deux à sept cm. Elle est formée par les deux moitiés du carpelle, soudées le long de leurs bords dorsal et ventral (Rasolohery, 2007).



Figure 1 : Plante de soja (A) ; Gousse verte du soja (B)

1.1.2. La graine

À l'issue de la floraison et de la nouaison, se développe une gousse contenant, selon les cas, entre 1 et 4 graines. Comme chez les autres légumineuses, la graine (figure 3) se compose essentiellement d'une enveloppe lisse (la coque) et d'un embryon. Sa taille varie généralement entre 5 et 10mm de diamètre et son poids (selon les variétés) oscille entre 50 et 400 mg. La forme de la graine varie selon les cultivars (Merrien *et al.*, 1992).



Figure 2: Description macroscopique de graine de soja (Hubert 2006).

- **Composition nutritionnelle de la graine**

Selon (Hubert, 2006), la qualité des protéines est idéale en termes de profil d'acides aminés et de digestibilité. Elles sont constituées principalement de globuline (90 % des protéines et 36 % du poids de la graine). La graine de soja contient aussi des glucides non structurels, pour environ 10 % du poids de la graine, avec principalement des sucres solubles (sucrose, stachyose et raffinose) et peu d'amidon (moins de 3 % du poids des graines) (Merrien *et al.*, 1992). Le tableau 1 montre la valeur nutritionnelle de la graine de soja.

Tableau 1: Valeur nutritionnelle de la graine (composition moyenne en g/100g) (Vierling 2008).

Eau	Protéines	Lipides	Glucides Assimilables	Amidons	Minéraux
8.5g	36.9g	18 à 23g	12.3g	12g	2.93g

1.2. Composition de l'huile de soja

La principale différence de l'huile de soja par rapport aux autres huiles végétales, se situe au niveau de la forme d'insaturation et de la présence d'acide linoléique (C18:3) en quantité appréciable (tableau 2). Les molécules triglycéridiques de l'huile de soja contiennent au moins deux acides gras insaturés et les glycérides di et tri-saturés sont pratiquement absents ou en très faibles quantités. Cet acide gras étant très sensible à l'oxydation, il conviendrait d'éviter au maximum le contact de l'huile avec l'oxygène de l'air (Platon, 1988).

L'huile brute de soja est définie en termes d'humidité, impuretés, teneur en phosphatides, en acides gras libres et aussi en termes de couleur, caractéristiques d'oxydation et de traces métalliques (**Chekroun, 2013**).

La composition moyenne en acides gras est donnée dans le Tableau 2.

Tableau 2: Composition en acide gras de l'huile de soja (**Debruyne, 2001**)

Acide gras	Acide myristique (C ₁₄ :0)	Acide Palmitique (C ₁₈ :0)	Acide Stéarique (C ₁₈ :0)	Acide oléique (C ₁₈ :1)	Acide linoléique (C ₁₈ :2)	Acide linoléique (C ₁₈ :3)	Acide arachidique (C ₂₀ :0)
Teneur (%)	<0.5	7 à 12	2 à 5.5	20 à 50	35 à 60	2 à 13	1

1.2.1. Intérêt nutritionnel de l'huile de soja

L'huile de soja a une valeur très appréciable dans l'alimentation humaine et elle offre la plus haute teneur en acide gras polyinsaturé, Sa haute teneur en acide linoléique donne une valeur nutritive supérieure à celle des autres huiles végétales (**Asiedu, 1991**).

Sa richesse en lécithine la rend précieuse pour la reconstitution des cellules nerveuses et cérébrales, sa bonne digestibilité en fait une bonne remplaçante de l'huile d'olive pour ceux qui ne peuvent la tolérer (**Cossutet al., 2002**).

1.3. Raffinage de l'huile de soja

L'objectif principal du raffinage d'une huile est de réduire son contenu en éléments mineurs non triglycéridique, phospholipides, métaux, acides gras libres, savons, pigment, qui sont des produits d'oxydation ayant un effet néfaste sur la qualité de l'huile en terme de stabilité oxydative. Il convient par ailleurs de ne pas endommager la fraction triglycéridique et de conserver un maximum de constituants reconnus comme bénéfiques (tocophérols, stérols etc.). Le processus de raffinage comprend une série d'étapes distinctes qui peuvent s'opérer de trois manières chimique, physique et enzymatique (**Benyoub et Madani, 2012**).

- **Démucilagination**

Cette opération permet l'élimination des « gommages » ou « mucilages », composés surtout de phospholipides, facteurs d'instabilité qui tendent à troubler l'huile et induisent des colorations lors de son chauffage (Evrard *et al.*, 2007). De l'eau acidulée est ajoutée à l'huile brute provoquant la précipitation des phospholipides avec formation de mucilages (substances présentes chez de nombreux végétaux qui gonflent au contact de l'eau donnant une solution visqueuse plus lourde que l'huile), c'est la démucilagination. Ensuite, ces mucilages sont éliminés par centrifugation (Cossut *et al.*, 2002).

- **Neutralisation alcaline**

Cette étape permet essentiellement d'éliminer les acides gras libres par transformation en savons et séparation, ainsi que divers composés résiduels (phospholipides, composés de nature protéique, certains pigments et contaminants, etc.). Le procédé traditionnel comprend les phases suivantes : addition d'une solution de soude, mélange, séparation par centrifugation, lavages à l'eau pour éliminer les traces de soude, séparation puis séchage sous vide. La neutralisation des huiles par la soude conduit donc à la formation d'une phase aqueuse émulsionnée dite pâte de neutralisation, qui peut être séparée de l'huile par centrifugation ; mais avec une perte significative d'huile (Evrard *et al.*, 2007).

- **Décoloration**

La décoloration a pour objet d'éliminer les pigments colorés (chlorophylles et caroténoïdes), on utilise généralement des matières absorbantes comme certaines terres activées ou charbon actif. Outre l'élimination des colorants, la décoloration permet d'éliminer d'autres impuretés résiduelles: les phosphatides, les produits d'oxydation, les glycolipides, les traces de métaux, savons, pesticides, contaminants et hydrocarbures polycycliques aromatiques (Zschau, 2001).

- **Désodorisation**

La désodorisation est l'élimination par distillation au moyen de vapeur d'eau, sous vide, des composants volatiles de saveurs indésirables, pigments et odeur persistants dans l'huile. La désodorisation élimine les traces d'acides gras libres, les produits oxydés et réduit de manière importante les stérols et les tocophérols. Dans le cas du raffinage

physique la désodorisation est réalisée à des températures plus élevées de l'ordre de 260 – 280°C, ce qui à pour conséquence l'abaissement de la teneur en tocophérols à des niveaux plus bas et la formation d'une quantité appréciable d'isomères trans à partir de l'acide linoléique. Par contre dans le raffinage chimique où la désodorisation est portée à 235 – 240°C, la perte en tocophérols est acceptable (Platon, 2009).

2. L'oxydation des lipides

En science des aliments, lorsque l'on parle de la réaction de l'oxygène moléculaire avec des triglycérides. On parle de « l'oxydation ». Plus formellement, cependant, il s'agit d'une réaction d'addition d'une molécule d'oxygène qui aboutit à la formation de radicaux libres peroxy (ROO^{*}). C'est la raison pour laquelle on utilise plutôt le terme de peroxydation des lipides insaturés. Globalement, il s'agit d'une réaction d'insertion d'une molécule d'oxygène dans une liaison C-H^{*}, la peroxydation lipidique concerne tous lipides contenant des acides gras insaturés quelle que soit leur provenance (Bauer, Badoud *et al.*, 2010). Elle se produit par l'intermédiaire de trois processus qui sont illustrés dans le tableau 3 :

Tableau 3 Mécanismes d'oxydation des lipides (Pokorny, 2003)

Type d'oxydation	Lipides oxides	Catalyseurs	Agent oxydant	Prévention
L'auto-oxydation	Tous les lipides insaturés	Métaux lourds, radicaux libres	Oxygène triplet	antioxydants
Oxydation enzymatique	Lipides polyinsaturés	Lipooxygénases	Oxygènes triplet	Inactivation des enzymes
Oxydation due à l'oxygène singulet	Tous les lipides insaturés	Molécules photosensibles	Oxygène singulet	Piégeurs d'oxygène singulet

L'oxydation est donc un phénomène complexe induit par l'oxygène en présence des initiateurs tels que la chaleur, les radicaux libres, la lumière, les pigments photosensibilisateurs et les ions métallique (Laguerre *et al.*, 2007).

La peroxydation lipidique est le facteur nuisible le plus commun dans les huiles végétales (Lambropoulos *et Roussis*, 2007; Pan *et al.*, 2007). Elle entraîne des altérations qualitatives (rancissement), nutritionnelles (perte en vitamines), voir même une toxicité

due aux produits issus de la peroxydation lipidique (peroxydes, aldéhydes) sans oublier l'aspect économiques de ces huiles (**Chillard *et al.*, 2006**).

De nombreuses autres pathologies sont associées à la peroxydation des lipides. C'est le cas des maladies neurodégénérative (Alzheimer, parkinson), du diabète, des cancers, des maladies inflammatoires, du vieillissement(**Chilliardet *al.*, 2006**).

L'oxydation des lipides insaturés ne peut être évitée qu'en l'absence totale de l'oxygène. En pratique, elle ne peut jamais être totalement exclue, mais uniquement freinées en mettant en œuvre les moyens suivant : exclusion partielle de l'oxygène (remplissage sous vide), entreposage à basse température et à l'obscurité, addition d'antioxydants (**Bauer *et al.*, 2010**).

3. Les antioxydants

Maitriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences sur la sécurité alimentaire. L'activité antioxydante est évaluée soit par dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes) par des techniques photométriques plus ou moins directes, soit par la mesures de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libre (**Marc *et al.*, 2004**).

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance capable de retarder ou empêcher le développement de la rancidité ou de toute autre détérioration de saveur dans les aliments due à l'oxydation (**Gülçin, 2012**). Ils peuvent agir contre l'oxydation de deux manières distinctes : soit en protégeant les lipides cibles des initiateurs de l'oxydation. Soit en interrompant la phase de propagation (**Leger, 2006**).

Selon cette classification, certains antioxydants présentent plus d'un mécanisme d'activité, par conséquent, appelés antioxydants multiples-fonctions. Une autre classification couramment utilisée catégorise les antioxydants en antioxydants primaires : piégeurs de l'oxygène et antioxydants secondaires : enzymatiques et chélateurs séquestrant (**Wanasundara et Shahidi, 2005**).

Selon **Marc *et al.* (2004)**, l'antioxydant alimentaire idéal, est facilement incorporable et efficace à faible dose, est non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur, ni

saveur indésirable. Il est résistant aux processus technologiques et stable dans le produit fini.

Chapitre II : Grenade et pomme

1. La grenade :

La culture du grenadier, *Punicagranatum*, connaît un regain d'intérêt dans plusieurs pays en raison d'une demande assez forte de ces fruits sur le marché. La grenade, très anciennement connue dans le monde, est considérée comme un symbole de beauté et de fertilité. Il existe plus de 1000 cultivars de *granatum*, originaires du Moyen-Orient, de la région Punic méditerranéenne, de l'Est de la Chine, de l'Inde, du Sud-Ouest américain, de la Californie et du Mexique (**Lansky et Newman, 2007**).

Li et al., (2006), ont rapporté que la peau de grenade montrait l'activité antioxydante la plus élevée parmi les fractions de peau, de pulpes et de graines de 28 genres de fruits de consommation courante en Chine.

1.1. Biologie du grenadier:

1.1.1. Classification :

Le grenadier a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753. (**Spichiger et al., 2002**). Telle est cette classification :

Embranchement :	Spermaphytes
Sous-embranchement :	Angiosperme
Classe :	Magnoliopsida
Ordre :	Myrtales
Famille :	Punicaceae
Genre :	Punica
Espèce :	<i>Punicagranatum</i>

1.1.2. Description

Le grenadier est un gros buisson ou arbuste assez épineux, au feuillage caduc et de bel aspect. Il est originaire de l'Asie subtropicale et s'est acclimaté à la région méditerranéenne (**Sarkhosh et al., 2006**). Il atteint 3 à 5 mètres de haut et se reconnaît à ces feuilles vertes vives, opposées ou sous-opposées, ovales ou en forme de lance. Ses fleurs sont rouges vives, de 3 cm de diamètre et ayant cinq pétales (**Sarkhosh et al., 2006**).

Son fruit est une baie, dont la taille varie entre celle d'une orange ou d'un pamplemousse, de 7 à 12 cm de diamètre (**Ben-Ariete *et al.*, 1984**). Une couleur brun-jaune ornée d'une touche de rouge et un calice dur semblable à une couronne en cassant l'écorce dure, on peut voir les fruits translucides blancs, rosâtre ou écarlates serrés les uns contre les autres à l'intérieur (**Storey, 2007**).

Le poids des grenades varie généralement selon l'origine et le cultivar entre 163 et 216 g. De point de vue botanique, le fruit de grenadier se compose de 3 parties : l'épiderme (écorce), les pépins ou 'arilles' et le jus (**Al-Maiman *et Ahmad*, 2002 ; Oukabli *et al.*, 2004**).

1.2. Composition du fruit

Le jus de grenade, comme de nombreux autres jus de fruits, se compose de sucres tels que le glucose, le fructose et le saccharose et d'acides organiques tels que l'acide citrique, l'acide malique, l'acide oxalique et l'acide tartrique (**Melgarejo *et al.*, 2000**).

L'écorce du fruit contient deux importants acides hydroxybenzoïques, l'acide gallique et l'acide ellagique. Elle renferme également des acides hydroxycinnamiques, des dérivés de flavones, des molécules de coloration jaune et des anthocyanidines, responsables de la couleur rouge des grenades (**Lansky *et al.*, 2007**). Ces tanins représentent jusqu'à 28% de l'épiderme du fruit (**Fournier, 1948**).

Le grenadier contient aussi des flavanols et des indole-amines comme la tryptamine, la sérotonine, neuromédiateur qui intervient dans la régulation du sommeil, de l'appétit et de l'humeur ainsi que la mélatonine, connue sous le nom « d'hormone du sommeil » intervenant dans la régulation des rythmes chronobiologiques (**Lansky *et al.*, 2007**).

Enfin, sa teneur en composés phénoliques et surtout en anthocyanines, puissantes molécules antioxydantes fournissant au jus de grenade sa couleur brillante, augmente jusqu'à maturité du fruit et diminue après la pression du fruit (**Hernandez *et al.*, 1999**).

1.1.2. Bienfaits du fruit

La grenade est l'un des produits les plus riches en antioxydants notamment les polyphénols solubles, les tanins et les anthocyanes (**Gil *et al.*, 2000**). Cette espèce de climat tempéré, comporte des constituants qui présentent diverses activités biologiques telles que l'élimination des radicaux libres, l'inhibition de la croissance microbienne et la diminution des risques de maladies cardiovasculaires, cérébro-vasculaires et certains cancers (**Mena *et al.*, 2011**). Les extraits du grenadier peuvent être utilisés aussi pour la prévention ou

l'aggravation de l'athérosclérose, des diarrhées, des ulcères gastriques et des maladies liées à l'œstrogène telle que la maladie de Paget du mamelon (**Holland et al., 2009**).

1.3. Le grenadier en Algérie

Bien que le grenadier soit peut exigeant, les plantations ne sont pas très importantes en Algérie. Plusieurs sortes de grenadiers sont signalées dans des petits jardins en Kabylie. On ne connaît que leurs appellations locales (lahlou, elmouze...) (**Bonneuil et al., 2006**).

2. La pomme

Les pommes, *Malus domestica*, sont l'un des fruits les plus consommés dans le monde et sont à l'origine des principales sources de phytochimiques et d'antioxydants dans l'alimentation humaine (**Feliciano et al., 2010**).

Environ 70 millions de tonnes de pommes sont produites dans le monde entier (**Massias et al., 2015**). L'ensemble des pommiers cultivés actuellement sont à l'état greffé, ce qui a donné lieu à un grand nombre d'études sur les interactions entre porte-greffes et greffons. Le volume des arbres, ainsi que leur longévité, dépendent à la fois du génotype du greffon et de celui du porte-greffe. La durée de production d'un pommier cultivé en verger intensif, greffé sur porte-greffe semi-nanifiant, est de l'ordre de 20 à 25 ans (**Pratt, 1990**).

Les variétés cultivées dans le monde restent dominées par les variétés unicolores jaunes, rouges et vertes de type Golden Delicious, Delicious Rouge, Granny Smith, mais une montée en puissance des variétés bicolores de type Gala, Fuji, Braeburn, Jonagold et Cripps Pink est observée, ces variétés étant très appréciées par les consommateurs (**Massonnet, 2004**).

2.1. Biologie du pommier

2.1.1. Classification

Selon **Banerjee et Delanghe, (1985)** la classification est la suivante :

Classe :	Magnolopsida.
Sous-classe:	Rosidae.
Ordre :	Rosales.
Famille :	Rosaceae.
Sous-famille :	Maloïdeae
Tribu :	Pyreae.
Espèce :	Malus communisL.
	Malus pumila M.
	Malus domesticaBorkh.

2.1.2. Description

Le pommier est une espèce fruitière cultivée sur tous les continents (récolte d'environ 58 millions de tonnes en 2003), avec une présence prédominante dans l'hémisphère nord, qui regroupe près de 90% de la production mondiale. Il est particulièrement adapté à une culture en zone tempérée (**Trillot et al., 2002**).

Selon **Robinson et al. (2001)**, le pommier cultivé *Malus pumila* Mill, serait originaire du Caucase et d'Asie Mineure. Il serait apparu en Europe à partir de la préhistoire et aurait subi l'évolution grâce à l'hybridation avec d'autres espèces présentes en Europe. Par la suite, la sélection créatrice aurait complété les processus d'évolution naturelle.

Les rameaux du pommier portent des bourgeons qui peuvent être végétatifs ou inflorescenciel. Sur ces rameaux, les feuilles sont caduques, alternes, simples, entières et dentées sur les bords. Elles portent 2 stipules à la base du pétiole. Les fleurs du pommier sont hermaphrodites, et la reproduction de l'espèce est assurée avec une allogamie prédominante (**Pratt, 1988**).

2.2. Composition du fruit

Les pommes ont une composition variée et bien équilibrée avec une grande diversité de vitamines, une teneur élevée en fibres par rapport aux autres fruits et sont modérément énergétiques en termes d'apport calorique (**Massias et al., 2015**). Elles

contiennent plus de 60 composés phénoliques différents (**Vasantha et al., 2008**). Les quatre principaux groupes phénoliques sont les hydroxycinnamiques (avec l'acide chlorogénique le plus abondant), les dérivés dihydrochalcones (spécialement la phloridzine), les flavan-3-ols (catéchine comme monomères ou procyanidines comme oligomères) et les flavonols (quercétine et quercétine glycosides) (**Kahle et al., 2005 ;Colin-Henrion, 2008**).

La distribution et la concentration des polyphénols varient grandement entre les cultivars de pommes (fourchette de 68 à 165 mg / 100 g de portion comestible (**Feliciano R. et al., 2010**)).

Les pelures de pomme ont des niveaux plus élevés de composés phénoliques totaux que la chaire ou le noyau et concentrent spécialement les quercétylcétosides, l'acide chlorogénique et la phloridzine (**Colin-Henrion et al., 2008 ;Vasantha-Rupasingheet al., 2008**).

Selon l'étude de **Tsao et al.(2003)**, sur huit cultivars de pommes, les polyphénols totaux allaient de 1,0 à 2,3 mg / g de poids frais dans la peau, à comparer aux 0,33-0,93mg/g de poids frais dans la chaire.

De plus, il a été démontré que les polyphénols du pommier avaient des effets bénéfiques sur le stress oxydatif et l'inflammation (**Denis et al., 2013**).

2.3. Le pommier en Algérie

L'Algérie c'est le troisième producteur de pommier en Afrique après l'Égypte et le Maroc avec un rendement de 97,295.27 T /ha .Si la culture de la pomme et de la poire, sont prédominantes dans les pays à climat tempéré, l'Algérie et depuis l'indépendance déploie de grands efforts pour mettre fin à l'importation de ces deux fruits par la bonne conduite du verger, l'amélioration de la production et l'élévation des rendements (**Soltani et al., 1986**).

Selon **F.A.O(2009)**, les vergers de pommier couvraient 21 200 ha en 2007, ces vergers sont essentiellement localisés à Médéa, Ain Defla, Batna, Tiaret, Blida et Khenchela.

PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

1.1. Préparation des poudres

Les fruits utilisés dans ce travail (grenade et pomme) sont achetés dans le marché local de la ville de Bejaia en mois de septembre. On a suivi les procédures décrites par **Allane et Benamara, (2010)** ; **Massias et al. (2015)** pour la préparation des échantillons, une fois au laboratoire, les fruits sont lavés à l'eau distillée puis l'excès d'eau est enlevé avec du papier absorbant, sont pelés mécaniquement puis les pelures obtenues sont immédiatement séchées à l'étuve (40°C) jusqu'à stabilité du poids. Une fois séchées, les pelures sont réduites en poudre à l'aide d'un broyeur à café type Moulinex puis tamisées. La figure 3 illustre les photos de la grenade (A) et de la pomme (B)



Figure 3: Photographies de la grenade (A) et de la pomme Golden Delicious (B)

1.2. Choix des huiles

Le choix des huiles pour l'essai est basé sur la composition en acides gras polyinsaturés. L'huile de soja est riche en acide linoléique (18 : 3 n -3) en plus de l'acide linoléique. L'échantillon d'huile est procuré à CEVITAL.

1.1. Extraction des composés phénoliques

Pour extraire les polyphénols des poudres de pelure de grenade et de pomme, nous avons opté pour une extraction par macération suivant le protocole décrit par **Romani et al., (2006)**, en y apportant quelques modifications : 10g de la poudre sont macérés à température ambiante pendant 2 h (deux fois) avec 100 ml d'éthanol-eau à 70 % v/v. Après

filtration sur du papier filtre, le solvant est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif et l'extrait sec est conservé à 4°C en attendant les analyses.

1.3. Dosages des composés phénoliques et pigments

1.3.1. Polyphénols totaux

- **Principe**

La teneur en polyphénols totaux des extraits est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environ de 760 nm (**Li et al., 2006**).

- **Protocole**

Dans un tube à essai, 0,5ml de l'extrait méthanolique est ajouté à 2,5 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué à 1/10. Juste après un temps de réaction d'environ 2 min, 2 ml de carbonate de sodium à 7,5% sont additionnées. Les tubes à essai sont maintenus à l'obscurité pendant 30 min à température du laboratoire, l'absorbance est mesurée à 760nm. Un blanc est préparé dans les mêmes conditions, en remplaçant l'extrait méthanolique par le méthanol. Les polyphénols totaux sont quantifiés à l'aide d'une courbe d'étalonnage (annexe I) réalisée avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en équivalent acide gallique par 100 gramme de poudre, (mg EAG/100g poudre).

1.3.2. Flavonoïdes

Pour la teneur totale en flavonoïdes (TFC), la méthode de **Quettier-Deleu et al. (2000)**, est utilisée. 1 ml d'une solution méthanolique d'extrait de (grenade, pomme) est mélangé à 1 ml de chlorure d'aluminium (d' AlCl_3 à 10%). Après incubation à température ambiante pendant 15 min, les absorbances sont mesurées à 430 nm et les résultats sont exprimés en mg quercétine / 100 g de poudre (mg EQ/100g poudre) à l'aide d'une courbe d'étalonnage (annexe II).

1.3.3. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont extraits selon **Sass-Kiss *et al.* (2005)**, environ 1 g de poudre de pelure est pesé et placé dans un bûcher et extraits dans l'obscurité avec 10 ml de n-hexane: acétone: éthanol (2: 1: 1) (v/v), en agitant pendant 15 minutes. Après centrifugation, la phase supérieure est récupérée et l'absorbance est mesurée à 420 nm. Les teneurs en caroténoïdes sont déterminées à partir d'une courbe d'étalonnage (annexe III), réalisée avec la β -carotène. Les concentrations sont exprimées en mg équivalent de β -carotène /100 g de poudre, (mg E β C/100g poudre).

1.4. Evaluation de l'activité antioxydante

1.4.1. Pouvoir réducteur

- **Principe**

L'activité antioxydante quantifiée par le biais du pouvoir réducteur indique l'aptitude des extraits à réduire le fer (III) en fer (II). Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons (**Oyaizu, 1986**).

- **Protocole expérimental**

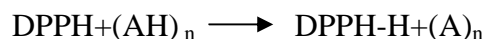
Un volume de 1 ml de chaque extrait est mélangé avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH : 6,6) et 2,5 ml de solution aqueuse d'hexacyanoferrate de potassium [$K_3Fe(CN)_6$] à 1 %. Après 30 minutes d'incubation à 50 °C, 2,5 ml de la solution d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutées et ensuite le mélange est centrifugé pendant dix minutes. Une aliquote (2,5 ml) du surnageant est combinée avec 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de solution aqueuse de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,1 % puis l'absorbance est mesurée à 700 nm. Une absorbance élevée indique une activité antioxydante élevée. Les résultats sont exprimés en concentration effective 50 mg/ml (EC_{50}) (**Allane *et* Benamara, 2010**).

1.4.2. Pouvoir de piégeage du radical DPPH

- **Principe**

Le diphenyle picryl-hydrazyle (DPPH), un radical libre stable, violet en solution et présentant une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphenyle picrylhydrazine par un composé à propriété

antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons) (Sanchez-Moreno, 2002). On peut résumer la réaction de la manière suivante :



Où $(\text{AH})_n$ représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picrylhydrazine (Jaune). Ceci permet de suivre la décoloration à 517nm.

- **Protocole expérimental**

Le test est réalisé suivant la méthode décrite par Şahin *et al.* (2004) avec quelques modifications :

Une quantité aliquote (50 µL) de la solution méthanolique des extraits phénolique à différentes concentrations est mélangée à 1950 µL de la solution méthanolique de DPPH. Le mélange est incubé pendant 30min à l'obscurité et l'absorbance est mesurée à 517nm contre le contrôle (en remplaçant la quantité de l'extrait par du méthanol). Les résultats obtenus pour chaque extrait testé sont comparés à ceux obtenus pour le BHA pris comme antioxydant standard. L'activité antiradicalaire (AA) est estimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (voir annexe V et VI) selon la formule suivante :

$$\text{AA}\% = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

- **Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux (IC50)**

Elle est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% de radical DPPH. Elle est obtenue à partir de l'équation de la courbe du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits.

2. Enrichissement de l'huile de soja

2.1. Préparations des concentrations

Trois concentrations de l'extrait phénolique de la peau de fruits, (grenade et pomme), (50; 100 et 150 ppm) sont choisis en se référant à Iqbal, (2008) et une concentration de 100 ppm pour, la BHT et l' α -tocophérol (antioxydants synthétiques) (Duh *et Yen*, 1997).

Une quantité adéquate de l'extrait est dissoute dans l'éthanol-eau puis ajoutée à un volume définit (150g) de l'huile de soja. Les échantillons sont agités pendant 30 minutes à température ambiante ensuite sonifiés pour une dispersion uniforme, un échantillon témoin sans ajouts est pris en parallèle (Sultana *et al.*, 2008).

2.2. Test à l'étuve ou test de Schaal

Selon Besbes *et al.* (2004), la température de 65°C est utilisée comme méthode rapide permettant de simuler les conditions réelles de stockage. Tous les échantillons sont placés dans une série de bouteilles en préformes transparentes ayant un volume de 250 ml, sans bouchon et stockés dans une étuve à une température fixe de 65°C pendant 28 jours. Les échantillons témoins sont également placés dans les mêmes conditions de stockage. Les analyses sont effectuées à des intervalles réguliers de 7 jours pour les indices de peroxydes et de 10 jours pour l'acidité.

2.2.1. Analyses de l'huile

2.2.1.1. Activité antiradicalaire DPPH

L'activité antioxydante des huiles testée avant et après enrichissement est mesurée par le test DPPH. Les antioxydants présents dans l'huile neutralisent le DPPH° et la diminution de la concentration de ce radical est suivie par la diminution de l'absorbance à 517 nm (Salta *et al.*, 2010).

La capacité antioxydante est estimée suivant la méthode décrite par Salta *et al.* (2010), qui consiste à ajouter à 1 ml de la solution d'huile (huile dans chloroforme : 10% p/v) 4 ml de la solution de DPPH (DPPH dans le chloroforme, 6×10^{-5} M). Après incubation de 30 min à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm. Le pourcentage d'inhibition est donné par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de DPPH}^\circ = \frac{A_C - A_{t=30}}{A_C} \times 100$$

Avec :

A_C : Absorbance du contrôle (solution de DPPH° dans le chloroforme, 6×10^{-5} M) ;

$A_{t=30}$: Absorbance de la solution d'huile après incubation.

2.2.1.2. Indice de peroxyde (ISO 3960: 2007)

- **Principe**

L'indice de peroxyde est la quantité de produit présent dans l'échantillon, exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme, oxydant l'iodure de potassium dans les conditions opératoires décrites.

- **Protocol expérimental**

Peser 5g d'huile dans un flacon, ajouter 12ml de chloroforme et 18ml d'acide acétique glaciale puis 1ml de solution d'iodure de potassium saturé. Boucher aussitôt le flacon, l'agiter pendant une minute et le laisser une minute à l'abri de la lumière, à température ambiante. Ajouter 75ml d'eau distillé. En agitant vigoureusement et en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur coloré, titrer l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium (0.01N). Parallèlement à la détermination, effectuer un essai à blanc.

L'indice de peroxyde, exprimé en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme d'échantillon, est égale à :

$$IP = \frac{T(V_1 - V_0)}{m} \times 1000$$

Avec :

V₀ : le volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc ;

V₁ : le volume en ml de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la détermination;

T : la normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée ;

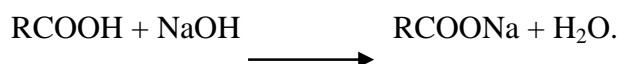
m: la masse en gramme de la prise d'essai.

2.2.1.3. Acidité et indice d'acide : ISO 660/1996

- **Principe**

L'acidité exprimée conventionnellement en pourcentage d'acide gras prédominant dans le corps gras, pour l'huile de soja en acide oléique.

L'indice d'acide est le nombre de mg de KOH ou NaOH nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenu dans 1g de corps gras. Le principe est de neutraliser des acides gras par une base en présence de phénol phtaléine.



- **Protocol expérimental**

Peser dans un bécher 5g d'huile, faire chauffer un volume de 50 ml d'alcool éthylique à 95% et le verser dans le bécher contenant la prise d'essai, ajouter 1ml de phénol phtaléine, agiter et titrer avec la solution de NaOH jusqu'au virage rose persistant 10 secondes.

$$\text{Acidité} = \frac{N \times V \times EG}{10 \times P}$$

$$\text{Indice d'acide} = \frac{N \times V \times 56.1}{P}$$

Avec : N : normalité de NaOH ; V : volume dépensé pour le titrage ; P : prise d'essai; EG : équivalent gramme de l'acide gras en laquelle l'acidité est exprimée (282 pour l'acide oléique).

3. Analyses statistiques

Des méthodes statistiques conventionnelles sont utilisées pour calculer les moyennes et les écarts-types de trois essais simultanés effectués pour les différentes analyses. Une analyse statistique (ANOVA) est appliquée aux données pour déterminer les corrélations à ($P < 0.05$) entre les teneurs et les activités antioxydantes, suivit d'un test LSD de Fisher pour avoir les groupes homogènes dans le cas étudié

Les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel STATISTICA 7.0.1 (Stat Soft).

RESULTAS ET DISCUSSION

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Teneur en composés phénoliques et pigments

Les teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes peuvent être utilisées comme indicateurs importants de la capacité antioxydante et servir d'écran préliminaire pour tout produit destiné à constituer une source naturelle d'antioxydants dans les aliments fonctionnels (Viuda-Martos *et al.*, 2011).

1.1. Composés phénoliques totaux

Le test de LSD Fisher montre une différence très hautement significative ($p < 0,05$) entre les deux extraits.

Les résultats représentés dans la figure 4 nous indiquent que l'extrait d'écorces de grenade étudié contient des teneurs en composés phénoliques totaux (11253.51 ± 384 mg EAG /100g largement supérieur à celles de la peau de pomme avec une teneur de 310.09 ± 13 mg EAG /100g.

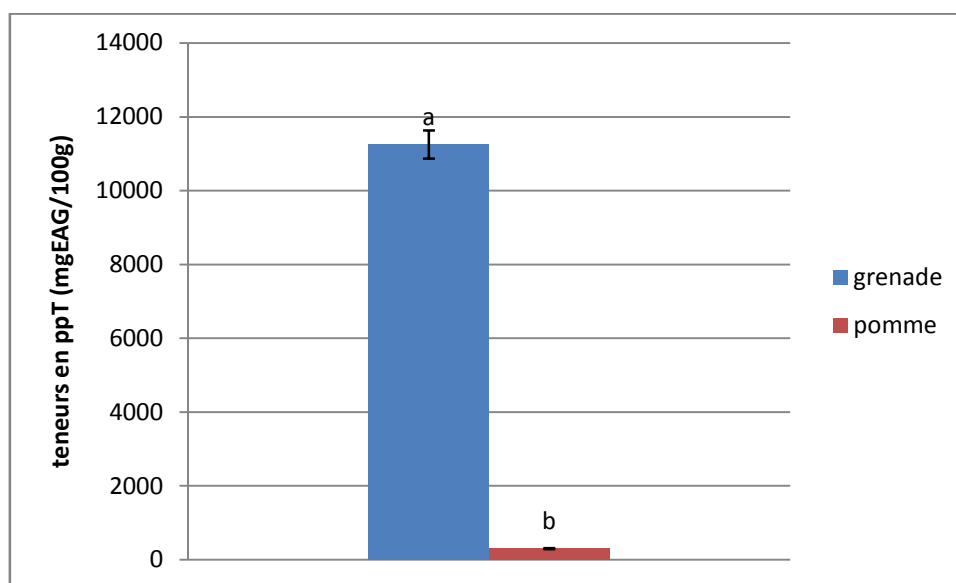


Figure 4: Composition de l'extrait de peau de grenade et de pomme en composés phénoliques.

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

..... (42350 mgEAG /100g)

D'après une étude menée par Li *et al.* (2006), les pelures contiennent habituellement des quantités plus importantes de composés phénoliques que la chair.

1.2.Flavonoïdes

Il ressort de ces résultats (figure 5) que les flavonoïdes sont plus abondants dans l'extrait de peau de grenade que dans l'extrait de peau de pomme avec des teneurs de $732.27 \pm 32 \text{ mg EQ/100g}$ et $15.76 \pm 0.3 \text{ mg EQ /100g}$ respectivement. L'analyse statistique (ANOVA) marque une différence hautement significative ($p < 0,05$) entre les deux extraits.

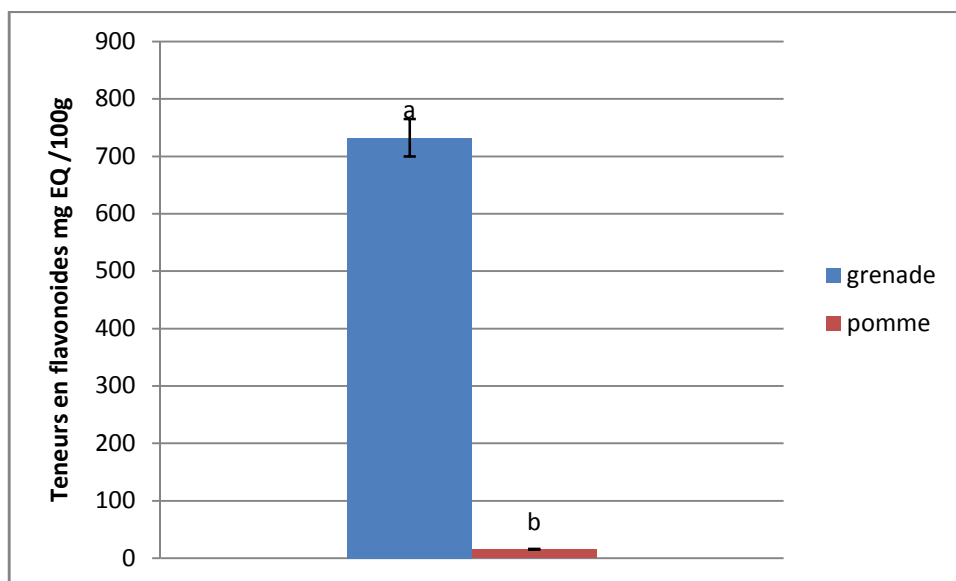


Figure 5: Composition de l'extrait de peau de grenade et de pomme en flavonoïdes

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

Les résultats obtenus pour les flavonoïdes sont faibles comparés à ceux rapportés par **Sultana et al. (2008)** avec une teneur de 4890 mg EQ/100g pour l'extrait de peau de grenade (221 mg EQ/100g) et pour l'extrait de peau de pomme.

Les teneurs en phénols et en flavonoïdes dépendent du cultivar, de la région de croissance, du climat, de la maturité, des pratiques de culture, des conditions de stockage et de la méthode d'extraction des polyphénols et du solvant (**Poyrazogluet al., 2002**).

1.3.Teneur en pigments (caroténoïdes)

Les caroténoïdes jouent un rôle potentiellement important dans la santé humaine en agissant comme antioxydants biologiques, protégeant les cellules et les tissus contre les effets néfastes des radicaux libres et de l'oxygène singulet et sont utilisés comme colorants naturels dans l'industrie alimentaire (**Oreopoulou et Tzia, 2007**).

Selon Feliciano *et al.* (2010), La teneur en β -carotène varie grandement d'un fruit à un autre.

Le test de LSD de Fisher montre une différence hautement significative ($p < 0,05$) entre les deux extraits, néanmoins, les teneurs (figure 6) restent proches avec des valeurs des $3,2 \pm 0,6 \mu\text{gE}\beta\text{C} / 100\text{g}$ de poudre, pour la peau de grenade et $4,05 \pm 0,3 \mu\text{gE}\beta\text{C} / 100\text{g}$ pour la peau de pomme.

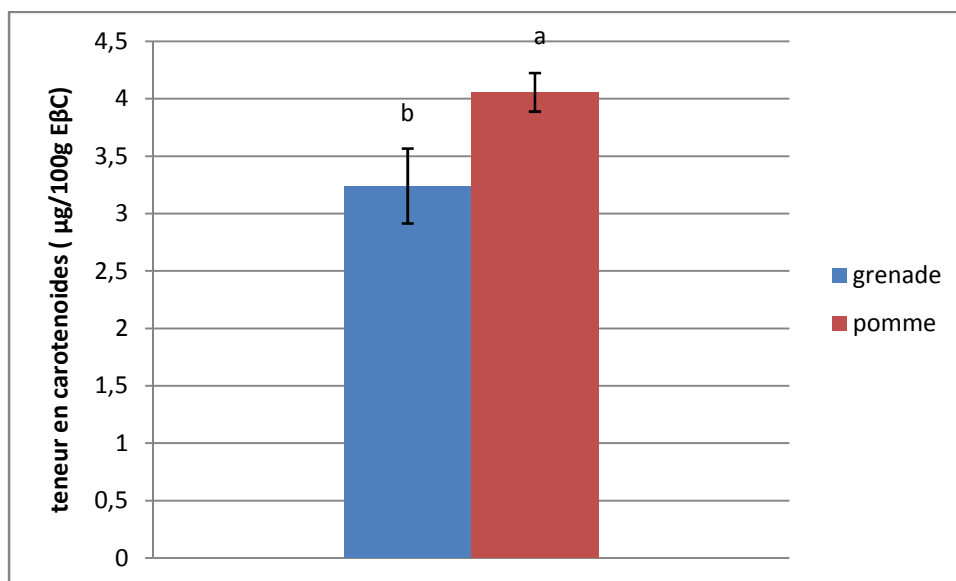


Figure 6: Composition de l'extrait de peau de grenade et de pomme en caroténoïdes

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

Les résultats de notre étude pour la peau de pomme sont similaires à ceux de Delgad *et al.* (2014) avec une valeur de $2,51 \mu\text{g E}\beta\text{C} / 100\text{g}$. Cependant, les résultats obtenus pour l'écorce de grenade sont inférieurs à ceux de (Curl, 1964), qui ont trouvés une teneur de $16 \mu\text{g E}\beta\text{C} / 100\text{g}$.

2. Activité antioxydante

2.1. Activité anti-radical DPPH•

Le test DPPH mesure la capacité de l'extrait à donner de l'hydrogène au radical DPPH, ce qui entraîne le blanchiment de la solution de DPPH. Plus l'action blanchissante est importante, plus l'activité antioxydante est élevée, ce qui se traduit par une IC_{50} plus faible. Cela peut être bénéfique pour la conservation des aliments, des produits pharmaceutiques et des cosmétiques, où les réactions en chaîne induites par les radicaux

libres entraînent une oxydation des lipides et une détérioration subséquente des produits (Dastmalchi *et al.*, 2008).

En ce qui concerne le test DPPH (figure 8), l'extrait de peau de grenade nous montre une capacité supérieure à inhiber le radical DPPH avec une IC_{50} de 0.355 ± 0.01 mg/ml par rapport à l'extrait de peau de pomme avec une IC_{50} de $4,54 \pm 0.4$ mg/ml. Une augmentation modérée de l'activité antiradicalaire est observée lorsque la concentration de l'extrait de peau de grenade et l'extrait de peau de pomme augmente. La BHA montre l'activité radicalaire la plus élevée à toutes les concentrations avec une IC_{50} de 0.063 mg/ml.

L'analyse statistique a révélé pour l'effet de DPPH une différence hautement significative ($p < 0,05$) entre les échantillons.

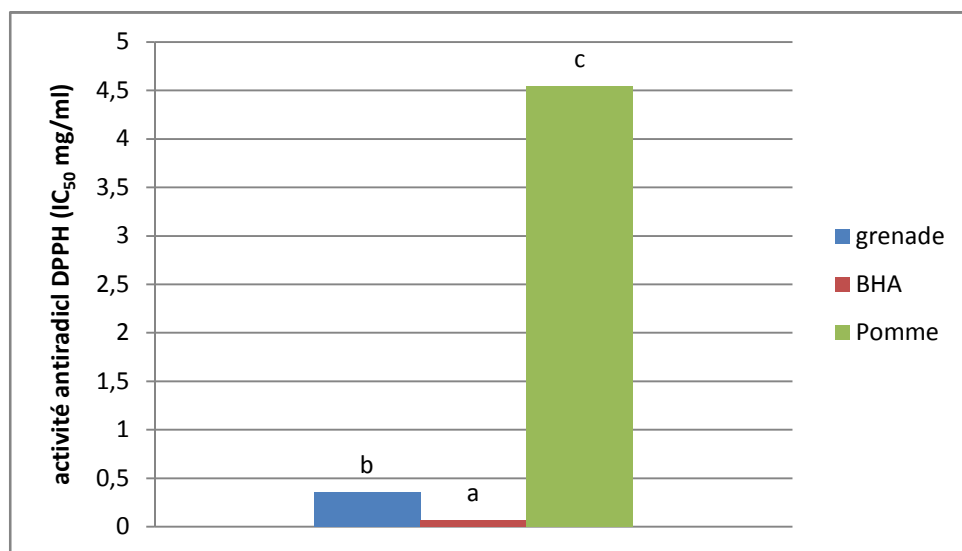


Figure 7: Activité antiradicalaire de l'extrait phénolique de la peau de grenade et de pomme exprimé en IC_{50}

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

Des corrélations très hautement significative sont observées entre l'activité antiradical DPPH• et les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes, avec un même coefficient de corrélation ($r = -0,99$).

2.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur Fe^{3+} et Fe^{2+} d'un composé est utilisé pour déterminer la capacité des antioxydant a donner les élections et il est l'une des caractéristiques principale des composés phénolique (**Dorman *et al.*, 2003**).

Les résultats du pouvoir réducteur exprimés en concentration effective (EC_{50}) sont indiqués dans la figure 9.

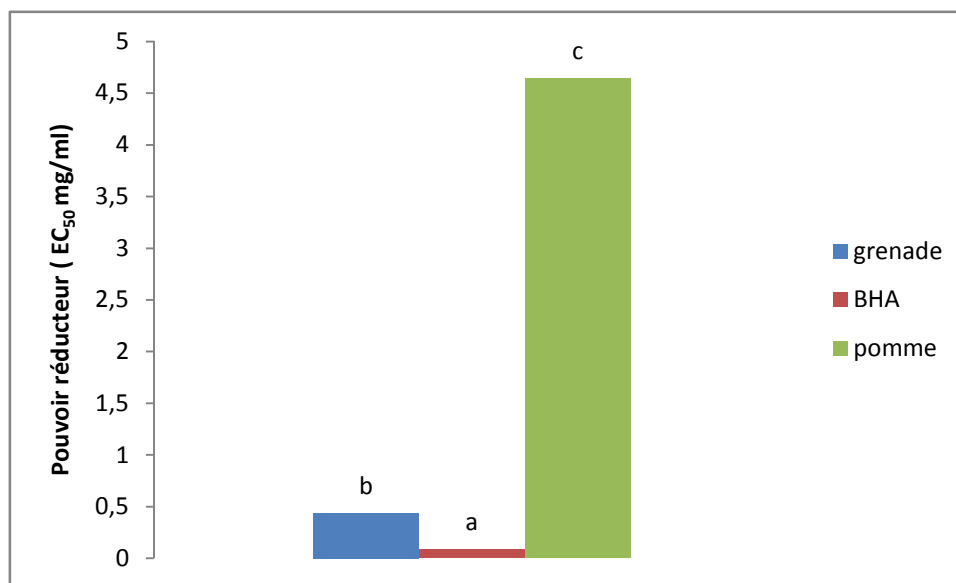


Figure 9 Evolution du pouvoir réducteur des antioxydants en fonction des concentrations exprimé en EC_{50}

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

Comme l'activité antioxydante DPPH, le pouvoir réducteur des extraits augmente avec l'augmentation de la quantité de l'extrait. La BHA montre l'activité antioxydante la plus élevée avec l' EC_{50} le plus faible 0.08 mg/ml suivit de l'extrait d'écorce de grenade 0.44 ± 0.04 mg/ml. L'extrait de peau de pomme montre la plus faible activité antioxydante avec un EC_{50} de 4.65 ± 0.03 mg/ml. Ces résultats sont similaires à ceux rapporté par **Viuda-Martos *et al.* (2011)**.

Des corrélations hautement significatives entre le pouvoir réducteur et les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes, avec le même ($r = -0.99$), sont observées.

3. Etude de la stabilité oxydative au cours du stockage à 65°C

L'objectif du test de stabilité oxydative est de simuler la conservation de l'huile de soja à longue durée en accélérant son oxydation par élévation de température. En outre, il est utile pour vérifier l'effet des composés mineurs sur la stabilité oxydative de l'huile.

3.1. Indice de peroxyde

La valeur de peroxyde est une mesure de la concentration de peroxydes et d'hydroperoxydes formés dans les étapes initiales de l'oxydation des lipides. Cette mesure est l'un des tests les plus largement utilisés pour l'évaluation du rancissement oxydatif dans les huiles et les graisses (Mohdaly *et al.*, 2010).

Les figures (10, 11 et 12) montrent une augmentation continue et significative ($P < 0.05$) de l'indice de peroxyde (IP) de l'huile de soja en fonction du temps pour tous les échantillons, ceci explique l'influence significative de la durée de stockage à 65°C sur l'oxydation de l'huile.

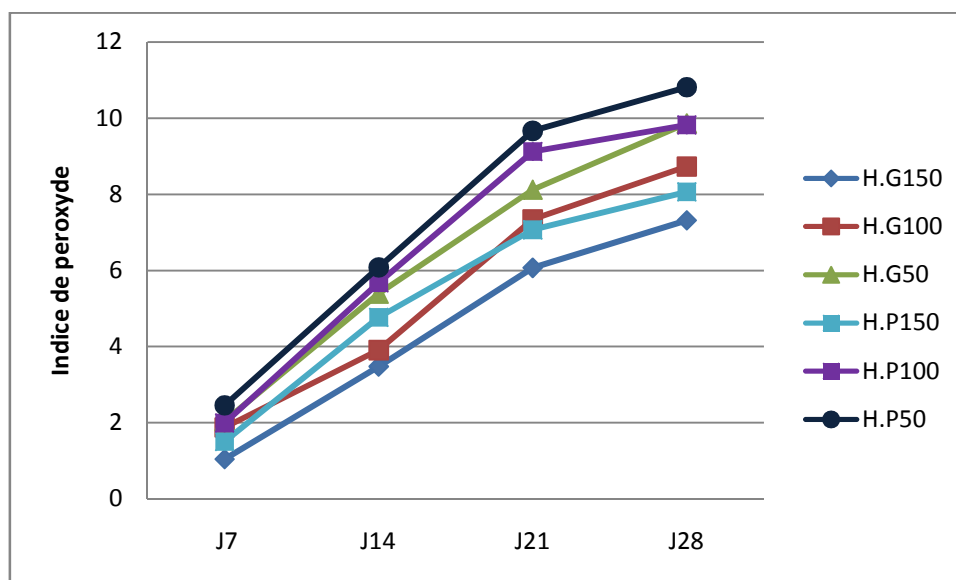


Figure 10 : Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile de soja enrichie avec les extraits de pomme et de grenade au cours du stockage à 65°C

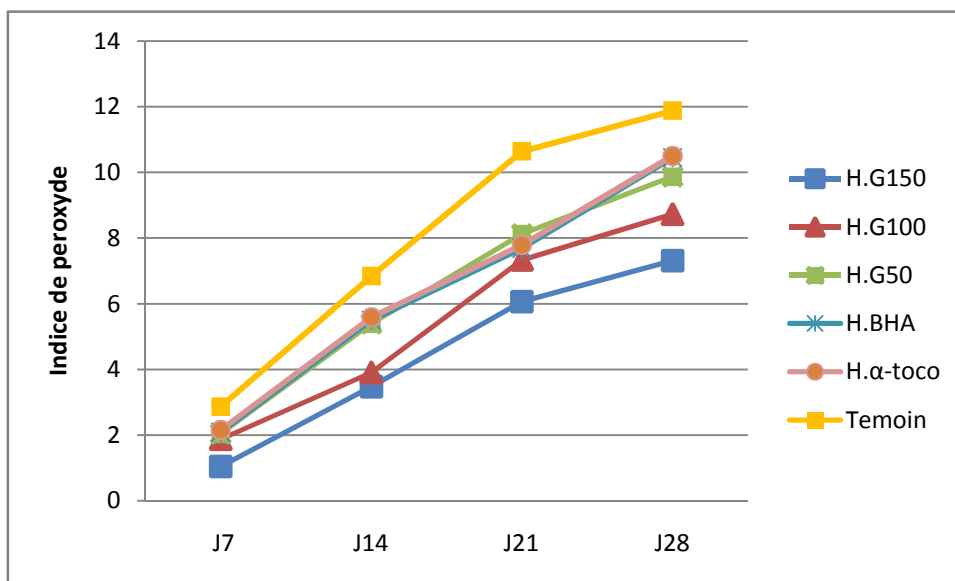


Figure 11 : Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile de soja enrichie avec l'extrait de grenade comparée au témoin et aux standards au cours du stockage à 65°C

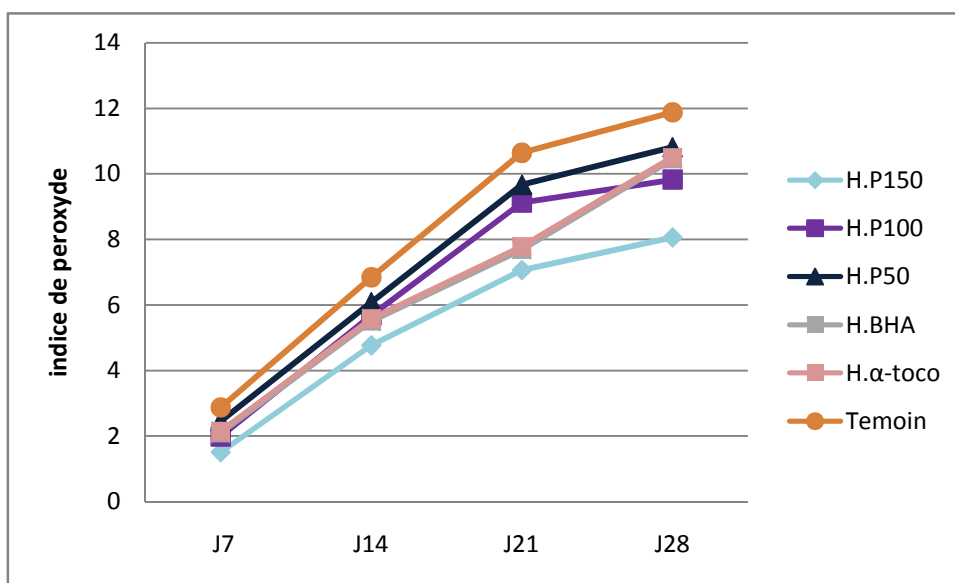


Figure 12 : Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile de soja enrichie avec l'extrait de pomme comparée au témoin et aux standards au cours du stockage à 65°C

L'huile de soja témoin présente l'indice de peroxyde le plus élevé, son IP initial est de 2.87 méqO₂/kg, il augmente jusqu'à atteindre la valeur de 11.87 méqO₂/kg à la fin du stockage.

Les indices de peroxyde de H.G50 et H.P50 sont plus élevés que ceux des autres échantillons, bien qu'ils soient sensiblement inférieurs au témoin pendant toutes les étapes de la période de stockage, les IP finaux de H.G50 et H.P50 9.86 méqO₂/kg et 10.81 méqO₂/kg respectivement, correspondent à une réduction de IP de 16% et 8.9% par rapport au témoin.

Les échantillons H.BHA et H.α-tocopherol suivent ce même rythme mais avec des valeurs moins élevées pour atteindre les valeurs suivantes 10.4 méqO₂/kg, 10.05 méqO₂/kg respectivement, soit une réduction de 12% et 15%.

La H.G100 et H.P100 ont des valeurs d'IP faibles par rapport au témoin et à H.G50, H.P50, H.BHA et H.α-tocopherol. Leurs IP à J28 est de 8.72 méqO₂/kg et 9.82 méqO₂/kg, respectivement, ce qui correspond à une réduction de 26.5% et 17%.

L'huile additionnée de l'extrait de l'écorce de grenade à 150 ppm (H.G150), montre les IP les plus faibles pour atteindre une valeur de 7.31 méqO₂/kg à la fin du stockage, correspondant à un taux de réduction de formation des hydroperoxydes de 38.4%.

Le pouvoir antioxydants des additifs ajoutés à l'huile de soja varie selon l'ordre suivant :

H.G150 >H.G100 >H.P150 >H.P100 >H.G50 >H.α-tocopherol> H.BHA >H.P50≈
H.témoin

Les antioxydants sont principalement utilisés dans les lipides pour retarder la formation des produits d'oxydation primaire et améliorer la stabilité oxydative. Les produits primaires de la peroxydation sont les hydroperoxydes, généralement appelés peroxydes. Par conséquent, les résultats de l'estimation IP donnent une indication claire de l'auto-oxydation des lipides (**Mohdaly et al., 2010**).

Une différence significative (P <0.05) est observée dans les IP entre le témoin et l'huile de soja contenant les extrait et les standards. Cependant il n'ya aucune différence significative entre H.BHA, α-tocophérol et les extrait de peau de grenade à 50ppm et pomme à 100ppm.

3.2. Indice d'acide

L'acidité libre est un facteur important dans l'évaluation de la qualité de l'huile et est largement utilisée comme critère de classification commerciale classique. De plus, un facteur qui fournit des informations sur l'altération de l'huile par hydrolyse (**Servili et Montedoro, 2002**).

Tous les échantillons présentent une différence significative ($P < 0.05$) par rapport au témoin à l'exception de l'extrait de peau de pomme à 50ppm. Il n'existe aucune différence significative entre la H.BHA, H. α -tocophérols et les extraits de peau de pomme à 100 ppm et celui de grenade à 50ppm, ce qui signifie qu'ils ont le même effet antioxydant.

L'analyse périodique des échantillons d'huile de soja avec et sans extraits phénoliques en fonction du temps d'incubation (figure : 13, 14, 15) indique que l'indice d'acide augmente significativement tous au long de la durée d'incubation, et que dans l'échantillon témoin et HP50, l'indice d'acide (IA) est significativement ($P < 0.05$) plus élevé par rapport aux reste échantillons avec extrais ajoutés avec des valeurs de 3.85 mg/g et 3.82 mg/g respectivement, suivit de la H.P100, la H.BHA et l'H. α -tocophérol avec des valeur 3.16 mg/g, 3.14 mg/g et 3.08mg/g respectivement, ce qui donne une réduction de 18%, 18.5% et 20% par rapport au témoin.

La H.P150 et la H.G50 donne des valeurs 2.3 mg/g et 2.17 mg/g respectivement qui superposent durant les 20 jours, cependant, à la fin du stockage, l'IA de H.G50 devient relativement plus élevés. Leur IA finaux sont de 3.12 mg/g et 2.84 mg/g respectivement, correspondant à une réduction de 19% et 25%.

La H.G100 montre une valeur plus faible 2.69 mg/g à la fin du stockage que celle du témoin et des extraits précédents, ce qui correspond à une réduction de 30.22%.

L'échantillon d'huile additionné de l'extrait d'écorce de grenade à 150ppm (H.G150), donne l'IA le plus faible 2.15 mg/g à la fin du stockage, cette concentration donne la meilleure stabilité pour l'huile de soja avec une réduction de 44.23% par rapport au témoin.

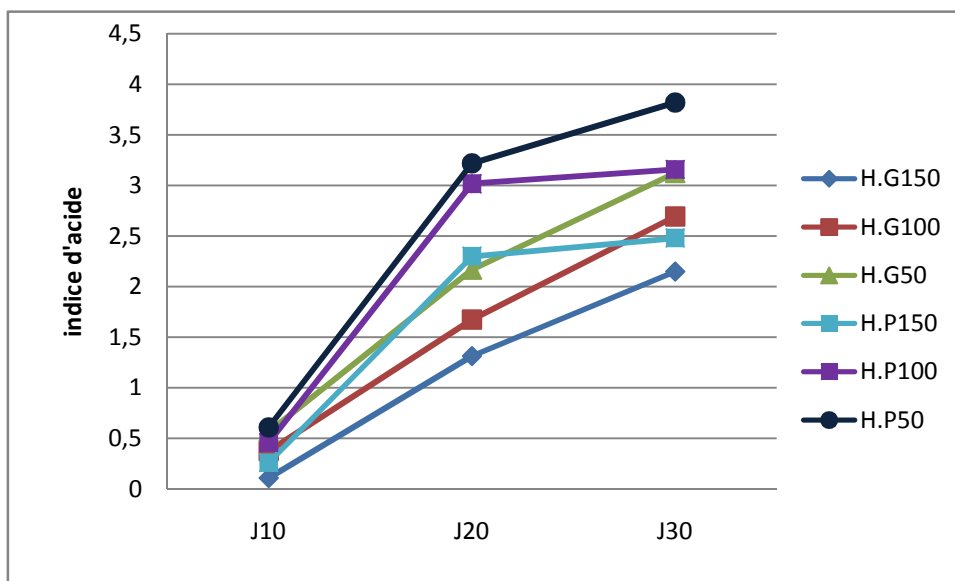


Figure 13 : Evolution de l'indice d'acide de l'huile de soja enrichie en extraits de pelures de pomme et de grenade au cours de l'oxydation accélérée à 65°C

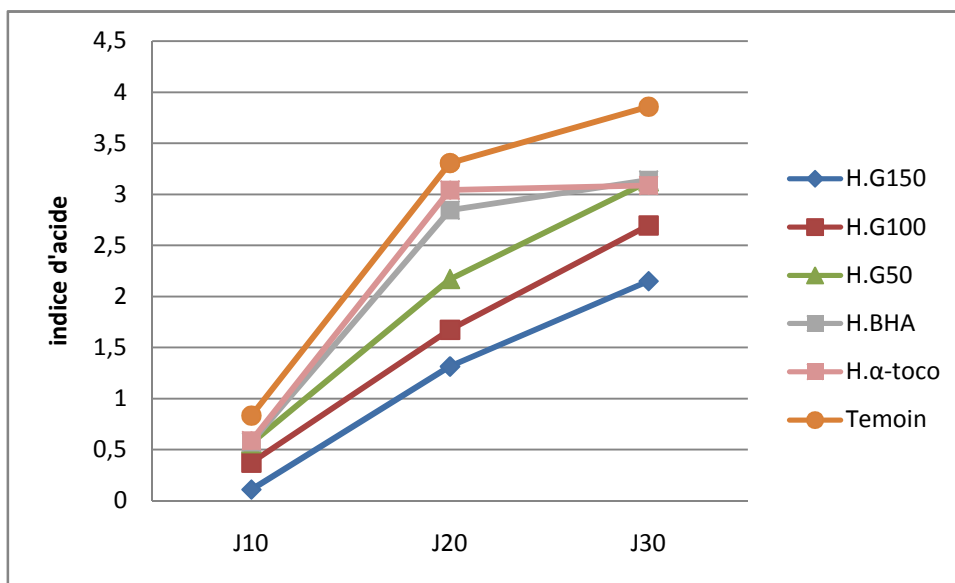


Figure 14 : Evolution de l'indice d'acide de l'huile de soja enrichie au cours de l'oxydation accélérée à 65°C de la grenade comparée au témoin et aux standards

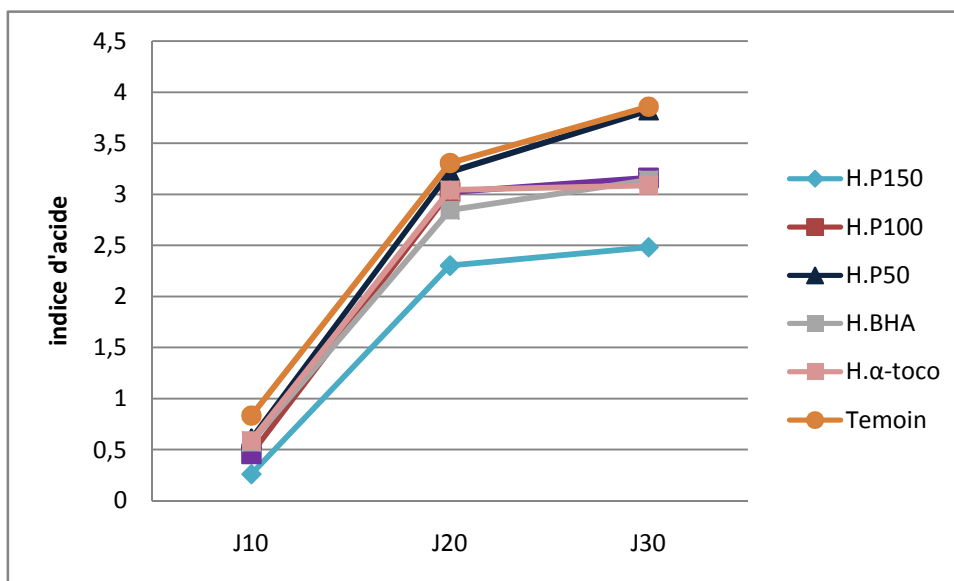


Figure 15 :Evolution de l'indice d'acide de l'huile de soja enrichie au cours de l'oxydation accélérée à 65°C de la pomme comparée au témoin et aux standards

Le degré de réduction de l'indice d'acide des différents échantillons suit l'ordre significatif suivant :

H.G150 >H.G100 >H.P150>H.α-tocophérol ≈ H.G50 ≈ H.BHA ≈ H.P100 >H.P50≈ H.témoin.

3.3. Activité antiradicalaire DPPH° de l'huile enrichie

Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 16.

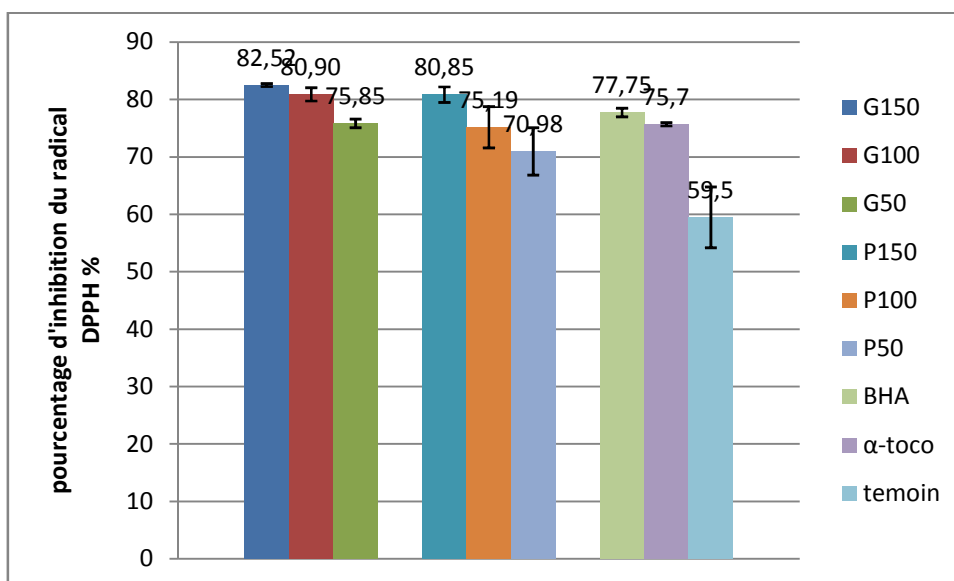


Figure16:Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de l'huile témoin et des huiles enrichie

Les résultats de notre travail (figure 16) indiquent que l'extrait de peau de grenade, aux concentrations (150 et 100ppm) montre une activité de piégeage du radical DPPH très élevée avec un pourcentage de 82.52% et 80.90%, respectivement, suivit de la concentration (150ppm) de l'extrait de peau de pomme avec un pourcentage de 80.85%.

Toutes ces activités peuvent être liées aux divers composés phénoliques présents dans la grenade, y compris les isomères de punicalagine, les dérivés d'acide ellagique et les anthocyanes (delphinidine, cyanidine et 3-glucosides de pélargonidine et 3,5-diglucosides). Ces composés sont connus pour leurs propriétés à piéger les radicaux libres et pour inhiber l'oxydation des lipides in vitro (**Gil et al., 2000**).

Quant aux antioxydants standards, la H.BHA montre une activité de piégeage plus faible (77.75%) par rapport aux concentrations (150 et 100ppm) de l'extrait de peau de grenade et à la concentration de (150 ppm) de l'extrait de peau de pomme. Cependant, elle exerce une meilleure activité antioxydante que celle du standard α -tocophérol 75.7%.

Le témoin montre la plus faible activité antioxydante par rapport aux extraits et aux standards avec un pourcentage de 59.5%. Ce qui implique que l'addition de l'extrait de peau de grenade et de pomme aux concentrations 50, 100 et 150 ppm améliore l'activité antiradicalaire de l'huile de soja.

Il ressort de notre étude que l'enrichissement de l'huile de soja avec les extraits phénolique d'écorces de grenade à 100 et 150ppm, ainsi que les pelures de pomme à 150 ppm, exercent une meilleure activité antiradicalaire par rapport aux standards (BHA et tocophérol à 100 ppm).

L'analyse statistique montre une différence hautement significative ($P < 0.005$) entre tous les échantillons et le témoin, entre les concentrations (150ppm) et (50ppm) pour chaque extrait (grenade et pomme) et entre ces concentrations et les standards (BHA et α -tocophérol). Cependant aucune différence significative n'est observée entre le reste des échantillons.

Nos résultats concordent avec ceux de **Tehranifaret al. (2011)** qui ont montrés que l'extrait de peau de grenade exercent une meilleure activité que celle de la BHA.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Certains sous produit agro-industriels telles que les écorces de grenade et les pelures de pomme sont des sources importantes de composés phénoliques qui ont une bonne activité antioxydante. De cette étude nous pouvons ressortir les points suivants :

L'extrait de la peau de grenade à une activité antioxydante très élevée qui dépasse celle de l'extrait de peau de pomme et même celle des antioxydants synthétiques (la BHA et la vitamine E). Elle est hautement dépendante de la concentration en polyphénols.

Le pouvoir de piégeage du radical DPPH pour l'huile enrichie montre que l'extrait de peau de grenade 150ppm à le pourcentage d'inhibition le plus élevée (82.52%) par rapport à celui de la BHA (77.75%) et l' α -tocophérol (75.7%) et même aux autres échantillons d'huile enrichie.

L'huile enrichie avec l'extrait de pomme à 150ppm (80.85%), montre également une activité antiradicalaire plus élevée que celle des antioxydants standards. Contrairement à ce test DPPH effectué pour l'huile enrichie, celui effectué pour les pelures montre que la BHA a un pouvoir de piégeage plus élevé (0,06mg/ml) exprimé en IC50 par rapport à l'extrait de peau de grenade (0,35mg/ml) et celui de pomme (4,5mg/ml) ce qui confirme que l'activité antioxydante dépend de la concentration.

L'ajout de l'extrait d'écorce de grenade à l'huile de soja augmente sa durée de stockage en renforçant sa stabilité oxydative :

La stabilité de l'huile de soja avec 100ppm de BHA et 150ppm de l'extrait de peau de pomme est proche, cependant, l'ajout de l'extrait d'écorce de grenade à 100 et 150ppm donne une meilleure stabilité que ces derniers en provoquant une réduction de 38,4% et (44,23%) de l'indice de peroxyde et l'indice d'acide respectivement.

La stabilité oxydative de l'huile de soja est dépendante de sa composition en acide gras polyinsaturés tel que l'acide linoléique et l'acide linoléique qui sont très importants du point de vue nutritionnel. L'addition de l'extrait de peau de grenade à cette huile assure donc la stabilité de ces acides gras.

Sur la base de ces propriétés, il serait possible d'utiliser l'extrait d'écorce de grenade pour formuler de nouveaux produits à utiliser dans l'industrie alimentaire comme antioxydants naturels et également comme conservateurs naturels et dans l'étude pharmacologique.

Étant donné sa forte activité antioxydante évaluée dans ce présent travail, il serait très utile d'élargir nos connaissances sur l'extrait de peau de grenade, cela en effectuant d'autres tests tels que :

- Évaluer l'activité antioxydante par des essais *in vivo* sur des animaux comme les rats;
- Évaluer l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire ;
- Effectuer une analyse sensorielle pour l'huile enrichie ;
- Quantification et identification des composés phénoliques par HPLC ;

Il serait également intéressant d'évaluer la stabilité oxydative de l'huile témoin et des huiles enrichies par le test rancimat.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Al-Maiman, S. A., & Ahmad, D. (2002). Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. *Food chemistry*, 76(4), 437-441.
- Alais, C., & Linden, G. (1997). *Abrégé de biochimie alimentaire*. 4e éd: Paris: Masson.
- Allane, T., & Benamara, S. (2010). Activités antioxydantes de quelques fruits communs et sauvages d'Algérie. *Phytothérapie*, 8(3), 171-175.
- Asiedu, J. J. (1991). *La transformation des produits agricoles en zone tropicale: approche technologique*: KARTHALA Editions, p: 9-10.

B

- Banerjee, N., & de Langhe, E. (1985). A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (banana and plantain). *Plant cell reports*, 4(6), 351-354.
- Bauer, W., Badoud, R., Löliger, J., & Eturnaud, A. (2010). *Science et technologie des aliments: Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés*. 1ère Ed. PPUR Presses Polytechniques. Italie p: 105-216.
- Ben-Arie, R., Segal, N., & Guelfat-Reich, S. (1984). The maturation and ripening of the 'Wonderful' pomegranate. *Journal of the American Society for Horticultural Science (USA)*.
- Bendjabeur, s. (2012). *évaluation du pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits végétaux (cas de la grenade punica granatum l.) en vue de leur utilisation alimentaire*. ENSA p: 80-95 .
- Benyoub, O., & Madani, K. E. (2012). *Contrôle des paramètres physico-chimiques des deux huiles soja et tournesol Chimiquement raffinées*.
- Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Lognay, G., Drira, N., & Attia, H. (2004). Quality characteristics and oxidative stability of date seed oil during storage. *Food science and technology international*, 10(5), 333-338.
- Bonneuil, C., Demeulenaere, E., Thomas, F., Joly, P.-B., Allaire, G., & Goldringer, I. (2006). *Innover autrement? La recherche face à l'avènement d'un nouveau régime de production et de régulation des savoirs en génétique végétale*. *Dossiers de l'environnement de l'INRA*(30), 29-51.

Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.

C

Chekroun, N. (2013). Détermination de la capacité antioxydante des huiles végétales: Huile Afia.

Chilliard, Y., Rouel, J., & Leroux, C. (2006). Goat's alpha-s1 casein genotype influences its milk fatty acid composition and delta-9 desaturation ratios. *Animal Feed Science and Technology*, 131(3-4), 474-487.

Colin-Henrion, M. (2008). De la pomme à la pomme transformée: impact du procédé sur deux composés d'intérêt nutritionnel Caractérisation physique et sensorielle des produits transformés. Université d'Angers.

Cossut, j., Humbert, s., Defrenne, b., Roelstraete, l., Desmedt, c., Vanuxeem, m., Vidal, d. (2002). *Les Corps Gras: Entre Tradition et Modernité. Projet réalisé dans le cadre du DESS QUALIMAPA.*[En ligne]. Lille: Université des sciences et technologies de Lille.

Curl, A. L. (1964). The Carotenoids of Several Low-Carotenoid Fruits. *Journal of Food Science*, 29(3), 241-245.

D

D'Abrosca, B., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C., & Fiorentino, A. (2007). 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Food chemistry*, 104(4), 1333-1337.

Dastmalchi, K., Dorman, H. D., Oinonen, P. P., Darwis, Y., Laakso, I., & Hiltunen, R. (2008). Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT-Food science and Technology*, 41(3), 391-400.

Debruyne, I. (2001). Soybean: processing and industrial aspects. *Techniques de l'Ingénieur. Agroalimentaire* (France).

Delgado-Pelayo, R., Gallardo-Guerrero, L., & Hornero-Méndez, D. (2014). Chlorophyll and carotenoid pigments in the peel and flesh of commercial apple fruit varieties. *Food Research International*, 65, 272-281.

- Denis, M. C., Furtos, A., Dudonne, S., Montoudis, A., Garofalo, C., Desjardins, Y., . . . Levy, E. (2013). Apple peel polyphenols and their beneficial actions on oxidative stress and inflammation. *PLoS One*, 8(1), e53725.
- Dorman, H., Peltoketo, A., Hiltunen, R., & Tikkanen, M. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food chemistry*, 83(2), 255-262.
- Duh, P.-D., & Yen, G.-C. (1997). Antioxidant efficacy of methanolic extracts of peanut hulls in soybean and peanut oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 74(6), 745.

E

- Evrard, J., Pagès-Xatart-Pares, X., Argenson, C., & Morin, O. (2007). Procédés d'obtention et compositions nutritionnelles des huiles de tournesol, olive et colza. *Cahiers de Nutrition et de diététique*, 42, 13-23.

F

- FAO, (2009): Agriculture indices (FAOSTAT). <http://faostat.fao>
- Feliciano, R. P., Antunes, C., Ramos, A., Serra, A. T., Figueira, M., Duarte, C. M., . . . Bronze, M. R. (2010). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1–Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *Journal of functional foods*, 2(1), 35-45.
- Fournier, P. (1948). *Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France (Vol. 25): P. Lechevalier.*
- Franconi, F., Coinu, R., Carta, S., Urgghe, P. P., Ieri, F., Mulinacci, N., & Romani, A. (2006). Antioxidant effect of two virgin olive oils depends on the concentration and composition of minor polar compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(8), 3121-3125.
- Frénot, M., & Vierling, E. (2002). *Biochimie des aliments. Diététique du sujet bien portant-2e édition.*

G

- Gharby, S., Harhar, H., Bouzoubaa, Z., Roudani, Z., Chafchaoui, I., Kartah, B., & Charrouf, Z. (2014). Effet des Polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol (Effect of polyphenols extracts from margins on the stability of sunflower oil). *J. Mater. Environ. Sci*, 5(2), 464-469.

- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(10), 4581-4589.
- Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86(3), 345-391.
- Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., & Jiang, Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research*, 23(12), 1719-1726.

H

- Hernandez, F., Melgarejo, P., Tomas-Barberan, F., & Artes, F. (1999). Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. *European Food Research and Technology*, 210(1), 39-42.
- Holland, D., Hatib, K., & Bar-Ya'akov, I. (2009). Pomegranate: botany, horticulture, breeding. *Horticultural Reviews*, Volume 35, 127-191.
- Hubert, J. (2006). Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja: étude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. Institut National Polytechnique de Toulouse.

I

- Iqbal, M. W. (2008). Street children: An overlooked issue in Pakistan. *Child Abuse Review*, 17(3), 201-209.
- ISO 660/1996 (F).
- ISO 3960/ 2007 (F).

J

- Jayaprakasha, G. K., & Rao, L. J. (2000). Phenolic constituents from the lichen *Parmotrema stippeum* (Nyl.) Hale and their antioxidant activity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(11-12), 1018-1022.

K

- Kahle, K., Kraus, M., & Richling, E. (2005). Polyphenol profiles of apple juices. *Molecular nutrition & food research*, 49(8), 797-806.

L

- Laguerre, M., Lopez Giraldo, L. J., Lecomte, J., Pina, M., & Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. *OCL. Oléagineux Corps gras Lipides*, 14(5), 278-292.
- Lambropoulos, I., & Roussis, I. G. (2007). Antioxidant activity of red wine phenolic extracts towards oxidation of corn oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(6), 623-628.
- Lansky, E. P., & Newman, R. A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 177-206.
- Léger, C. L. (2006). "Anti-oxydants d'origine alimentaire: diversité, modes d'action antioxydante, interactions." *Oléagineux, Corps gras, Lipides* **13**(1): 59-69.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food chemistry*, 96(2), 254-260.

M

- Madhavi, D. L., Deshpande, S., & Salunkhe, D. K. (1995). *Food antioxidants: Technological: Toxicological and health perspectives*: CRC Press.
- Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *médecine/sciences*, 20(4), 458-463.
- Massias, A., Boisard, S., Baccaunaud, M., Calderon, F. L., & Subra-Paternault, P. (2015). Recovery of phenolics from apple peels using CO₂+ ethanol extraction: kinetics and antioxidant activity of extracts. *The Journal of Supercritical Fluids*, 98, 172-182.
- Massonnet, C. (2004). Variabilité architecturale et fonctionnelle du système aérien chez le pommier (*Malus domestica* Borkh.): comparaison de quatre cultivars par une approche de modélisation structure-fonction. *Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier-AGRO M*.
- Mazza, G., Kay, C. D., Cottrell, T., & Holub, B. J. (2002). Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(26), 7731-7737.

- Melgarejo, P., Salazar, D. M., & Artes, F. (2000). Organic acids and sugars composition of harvested pomegranate fruits. *European Food Research and Technology*, 211(3), 185-190.
- Mena, P., García-Viguera, C., Navarro-Rico, J., Moreno, D. A., Bartual, J., Saura, D., & Martí, N. (2011). Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Spain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(10), 1893-1906.
- Merrien, A., Morice, J., Pouzet, A., Morin, O., Sultana, C., Helme, J., . . . Wuidart, W. (1992). Sources et monographies des principaux corps gras. *Manuel des corps gras*, 116-180.
- Mohdaly, A. A. A., Sarhan, M. A., Mahmoud, A., Ramadan, M. F., & Smetanska, I. (2010). Antioxidant efficacy of potato peels and sugar beet pulp extracts in vegetable oils protection. *Food chemistry*, 123(4), 1019-1026.

N

- Noda, Y., Kaneyuki, T., Mori, A., & Packer, L. (2002). Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), 166-171.

O

- Oreopoulou, V., & Tzia, C. (2007). Utilization of plant by-products for the recovery of proteins, dietary fibers, antioxidants, and colorants Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry (pp. 209-232): Springer.
- Oukabli, A., Bellaji, M., Chahbar, A., Elkacemi, A., Lahlou, M., & Allabou, M. (2004). Comportement de clones locaux et de variétés étrangères de grenadier (*Punica granatum* L.) conduits dans la région de Meknès. *Al Awama*, 3, 111.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315.

P

- Platon J. F., 1988. Raffinage de l'huile de soja. *American Soybean Association*, 19: 3-30.
- Platon J. F., 2009 Raffinage de l'huile de soja, ASA, USB. Consulté en Mars :30.
- Pan, Y., Zhang, X., Wang, H., Liang, Y., Zhu, J., Li, H., . . . Wu, Q. (2007). Antioxidant potential of ethanolic extract of *Polygonum cuspidatum* and application in peanut oil. *Food chemistry*, 105(4), 1518-1524.

Pokorny, J., L. Parkanyiova, et al. (2003). "Changes on storage of peanut oils containing high levels of tocopherols and beta-carotene." Czech Journal of Food Sciences-UZPI (Czech Republic).

Poyrazoğlu, E., Gökmen, V., & Artık, N. (2002). Organic acids and phenolic compounds in pomegranates (*Punica granatum L.*) grown in Turkey. *Journal of food composition and analysis*, 15(5), 567-575.

Pratt, C. (1988). Apple flower and fruit: morphology and anatomy. *Horticultural Reviews*, Volume 10, 273-308.

Pratt, C. (1990). Apple trees: morphology and anatomy. *Horticultural Reviews*, Volume 12, 265-305.

Prior, E. (2003). Usage des corps gras alimentaires dans les différents secteurs de la technologie alimentaire. *Lipides et corps gras alimentaires*, 87-147.

Q

Quettier-Deleu, C., Gressier, B., Vasseur, J., Dine, T., Brunet, C., Luyckx, M., . . . Trotin, F. (2000). Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum Moench*) hulls and flour. *Journal of ethnopharmacology*, 72(1-2), 35-42.

R

Rasolohery, C. A. (2007). Étude des variations de la teneur en isoflavones et de leur composition dans le germe et le cotylédon de la graine de soja [*Glycine max (L.) Merrill*].

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, 20(7), 933-956.

Robinson, J. P., Harris, S. A., & Juniper, B. (2001). Taxonomy of the genus *Malus* Mill.(Rosaceae) with emphasis on the cultivated apple, *Malus domestica* Borkh. *Plant Systematics and Evolution*, 226(1-2), 35-58.

Romani, A., Pinelli, P., Cantini, C., Cimato, A., & Heimler, D. (2006). Characterization of Violetto di Toscana, a typical Italian variety of artichoke (*Cynara scolymus L.*). *Food chemistry*, 95(2), 221-225.

S

- Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A., Sökmen, M., Polissiou, M., . . . Özer, H. (2004). Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food control*, 15(7), 549-557.
- Salta, J., Martins, A., Santos, R. G., Neng, N. R., Nogueira, J. M., Justino, J., & Rauter, A. P. (2010). Phenolic composition and antioxidant activity of Rocha pear and other pear cultivars—A comparative study. *Journal of functional foods*, 2(2), 153-157.
- Sanchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.
- Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R., & Ebadi, A. (2006). RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) genotypes. *Scientia Horticulturae*, 111(1), 24-29.
- Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M., & Toth-Markus, M. (2005). Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38(8-9), 1023-1029.
- Servili, M., & Montedoro, G. (2002). Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9-10), 602-613.
- Singh, R., Chidambara Murthy, K., & Jayaprakasha, G. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), 81-86.
- SOLTANI, N., SEMIR, H., & DJEBBAR, M. (1986). Contribution à l'étude de *Cydia pomonella* L.(Lepidoptera, Tortricidae), essai comparatif des pièges et cycle évolutif à Annaba.
- Spichiger, R.-E., Savolainen, V. V., Figeat-Hug, M., & Jeanmonod, D. (2002). *Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales*: PPUR presses polytechniques.
- Storey, T. (2007). La grenade, le fruit médicament, *Magazine NEXUS. Santé*, 51, 46-54.
- Sultana, B., Anwar, F., Asi, M. R., & Chatha, S. A. S. (2008). Antioxidant potential of extracts from different agro wastes: Stabilization of corn oil. *Grasas y aceites*, 59(3), 205-217.

Références bibliographique

Tehranifar, A., Selahvarzi, Y., Kharrazi, M., & Bakhsh, V. J. (2011). High potential of agro-industrial by-products of pomegranate (*Punica granatum* L.) as the powerful antifungal and antioxidant substances. *Industrial Crops and Products*, 34(3), 1523-1527.

Trillot M., Masseron A., Mathieu V., Bergougnoux F., Hutin C., Lespinasse Y. (2002) *Le pommier*. CTIFL, Paris, 292 pages.

Tsao, R., Yang, R., Young, J. C., & Zhu, H. (2003). Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(21), 6347-6353

V.

Vasanth Rupasinghe, H., & Kean, C. (2008). Polyphenol concentrations in apple processing by-products determined using electrospray ionization mass spectrometry. *Canadian journal of plant science*, 88(4), 759-762.

Vierling, E. (2008). *Aliments et boissons. Filières et produits-3e édition*

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., & Pérez-Álvarez, J. A. (2011). Antioxidant properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) bagasses obtained as co-product in the juice extraction. *Food Research International*, 44(5), 1217-1223.

W

Wanasundara, P. and F. Shahidi (2005). "Antioxidants: science, technology, and applications." *Bailey's industrial oil and fat products*.

Z

Zschau W. Bleaching of fats and oil. *European Journal of lipid science and technology*. 2001. 103:499-558.

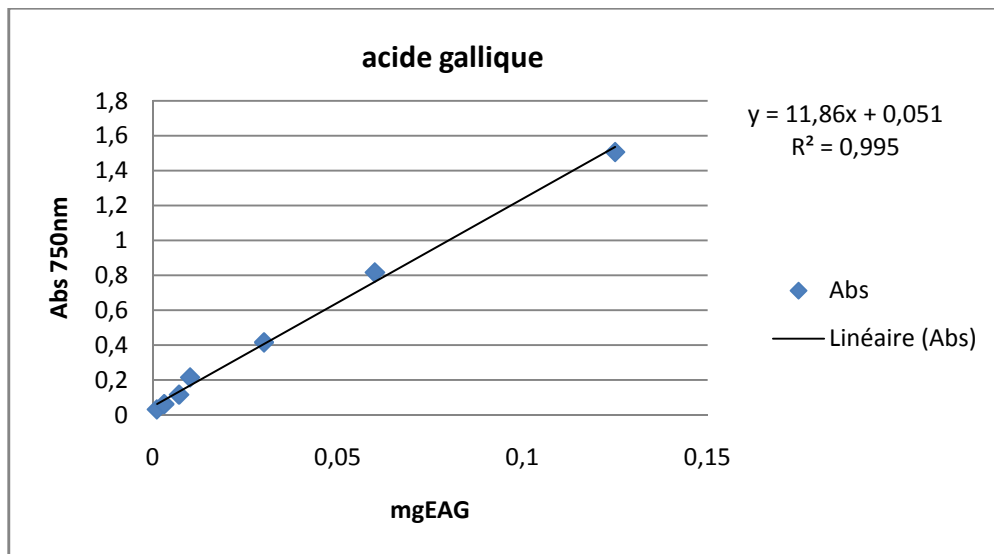
ANNEXES

Annexe I : tableau des composés éliminés durant le raffinage.

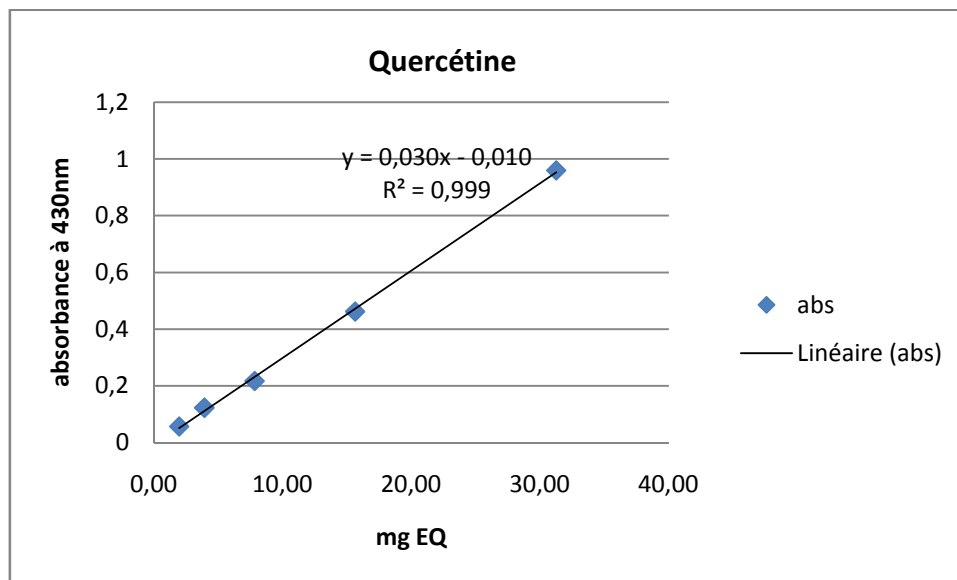
opération	Composants éliminés	Composants parasites introduit
Stockage	-	Acide gras libre
Dégommage	phosphatides, glycolipides, La chlorophylle est partiellement éliminée particulièrement lorsque l'acide phosphorique est utilisé.	Eau
Neutralisation	Acides gras libres, phosphatides résiduels, composés métallique, insecticides Organophosphorés. Savon,	Savon Eau
Lavage		Eau
Séchage	Savon, traces de soude, phosphatides Résiduels	-
Décoloration	Pigments (caroténoïdes, chlorophylles), savon, hydrocarbures polycycliques (si le traitement est réalisé au chardon actif)	Destruction des peroxydes et formation d'isomères à double liaison conjuguées d'acides gras libres.
Décirage	Cires et substance insolubles à basse Température	Formation d'isomères géométrique de Dimères
Désodorisation	Acides gras libres, substance volatiles responsable de l'odeur et du goût, pigments, pesticides organochlorés, stérols et tocophérols	

(-) : pas de composés à éliminer

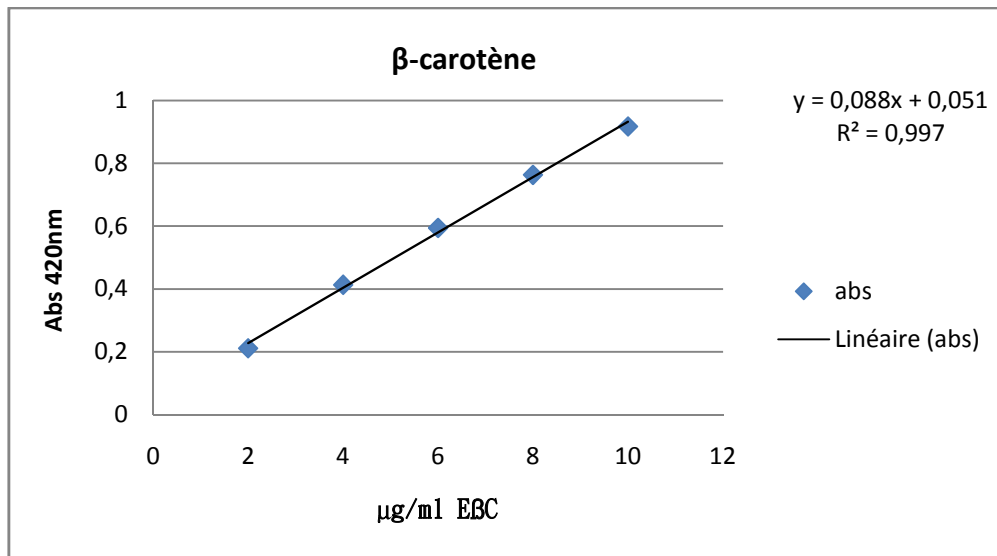
Annexe II : Courbe d'étalonnage acide gallique



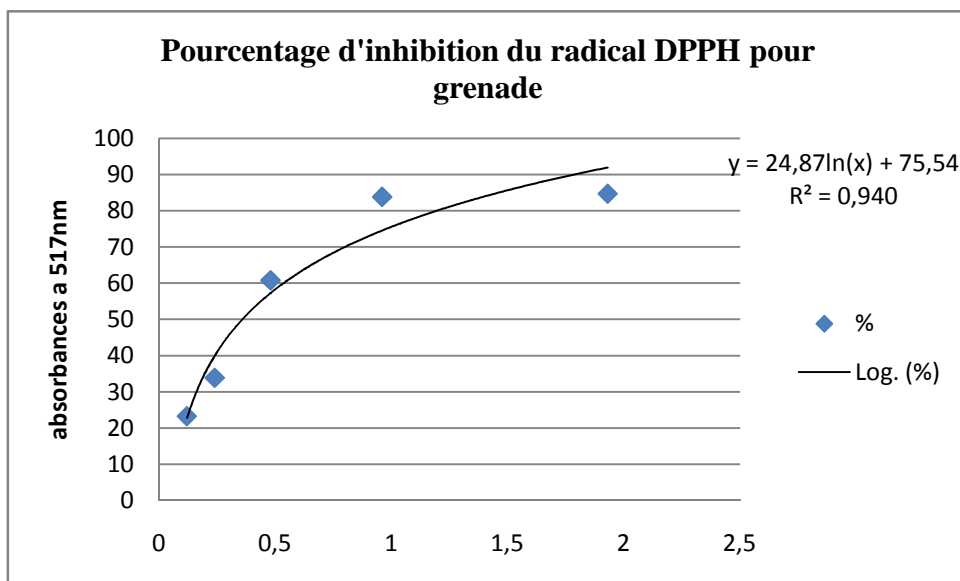
Annexe III : courbe de quercétine



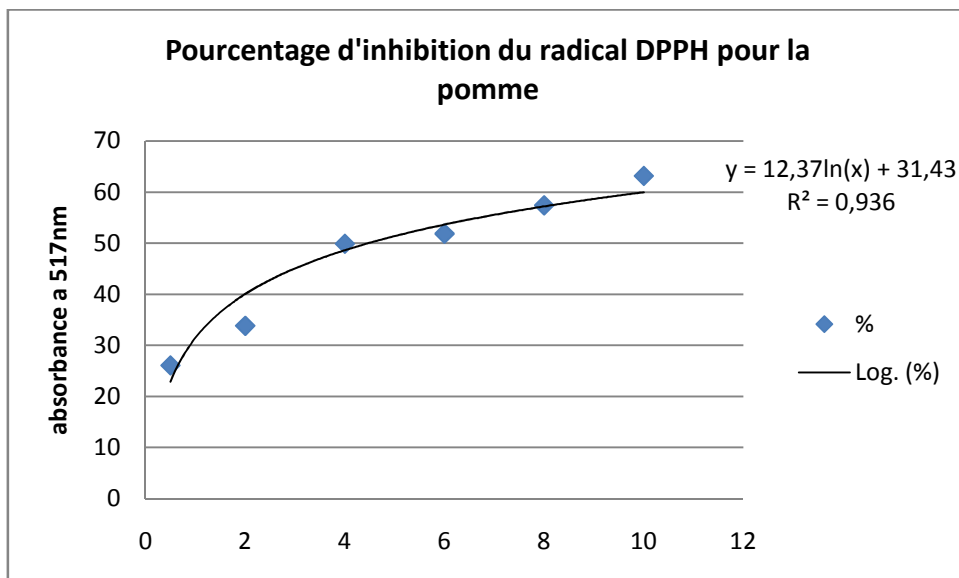
Annexe IV : courbe de β -carotène



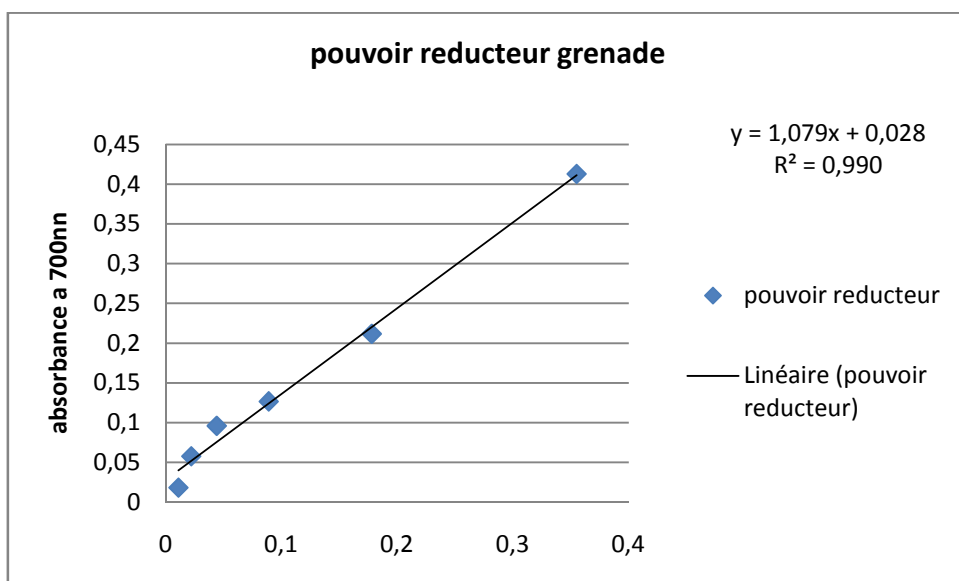
Annexe V : pourcentage d'inhibition du radical DPPH pour la grenade



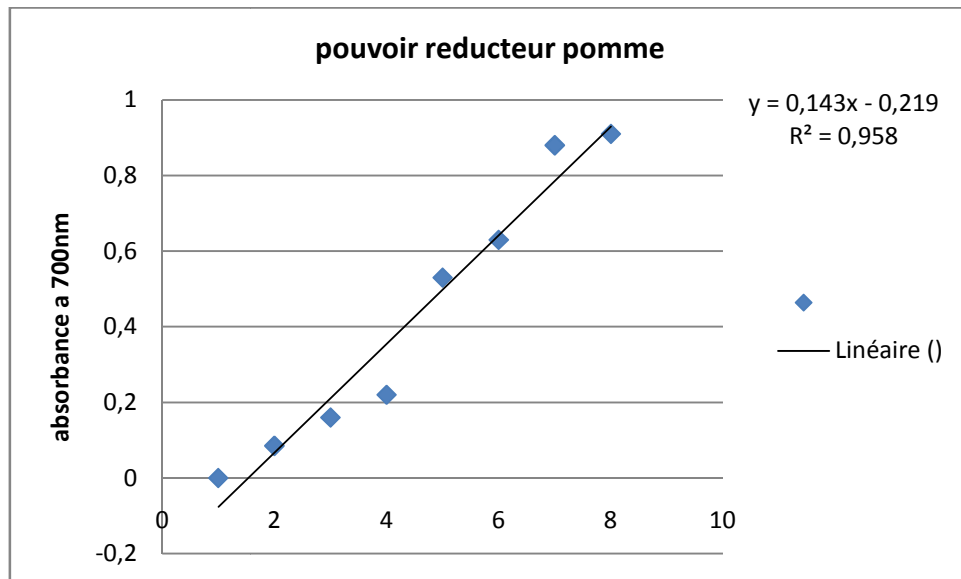
Annexe VI : pourcentage d'inhibition du radical DPPH pour la pomme



Annexe VII : pouvoir réducteur grenade



Annexe VIII : pouvoir réducteur pomme



Annexe IX : matériels



Figure 1 : Pelures de la pomme sèches



Figure 2 : Ecorces de grenade sèches

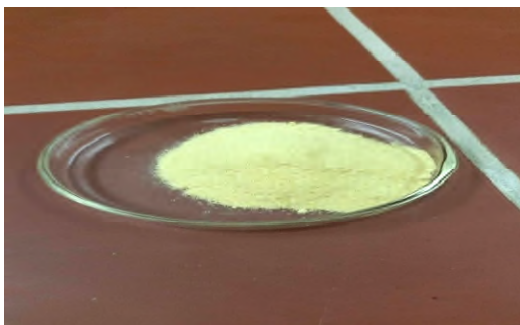


Figure 3 : Poudre des pelures de pomme



Figure 4 : Poudre des écorces de grenade



Figure 5 : Evaporateur rotatif (rotavapeur)

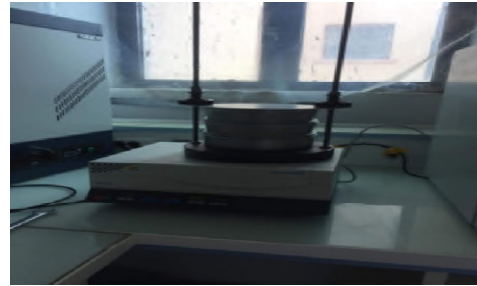


Figure 6 : Tamiseur



Figure 7 : Etuve à 65°C



Figure 8 : Sonicateur

Annexe X : Préparation des réactifs

- Folin –Ciocalteu 1/10 : Composition du réactif

Folin pure	—————>	1ml
Eau distillée	—————>	9ml

- Chlorure d'aluminium à 10% : Composition de réactif

Chlorure d'aluminium	—————>	10mg
Eau distillé	—————>	100ml

- Tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) : Composition de réactif

NAH ₂ PO ₄ 2.4g	—————>	100ml d'eau distillé
NA ₂ HPO ₄ 2.8g	—————>	100ml d'eau distillé

- Acide trichloracétique à 10% : Composition du réactif

Acide trichloracétique	—————>	10mg
Eau distillé	—————>	100ml

- Chlorure ferrique (FeCl₃) à 0.1% : Composition de réactif :

Chlorure ferrique → 0,1mg
 Eau distillé → 100ml

➤ Solution méthanolique DPPH : Composition de réactif

Poudre de DPPH → 2mg
 Méthanol → 10ml

➤ Hexacyanoferrate de potassium :

$K_3Fe(CN)_6$ → 1g
 Eau distillé → 100ml

Annexe XI : ANOVA groupe homogène (dosage et activité)

Test LSD ; variable PPT (dosage) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 73826,, dl = 4,0000				
Cellule N°	Matrice	PPT Moyenne	b	a
2	P	310,10	****	
1	G	11253,51		****

Test LSD ; variable Flav (dosage) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 528,21, dl = 4,0000				
Cellule N°	Matrice	Flav Moyenne	b	a
2	P	15,7616	****	
1	G	732,2695		****

Test LSD ; variable Carot (dosage) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,26907, dl = 4,0000				
Cellule N°	Matrice	Carot Moyenne	b	a
1	G	6,481061	****	
2	P	8,113636		****

Test LSD ; variable RP (dosage) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,00166, dl = 4,0000				
Cellule N°	Matrice	RP Moyenne	a	b
1	G	0,440695	****	
2	P	4,643492		****

Test LSD ; variable DPPH (dosage) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,11562, dl = 4,0000				
Cellule N°	Matrice	DPPH Moyenne	a	b
1	G	0,354896	****	
2	P	4,542409		****

Annexe XII : ANOVA pour l'indice de peroxyde (IP)

Test LSD ; variable J7 (indice) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,02067, dl = 18,000								
Cellule N°	ECH	J7 Moyenne	1	2	3	4	5	6
1	G150	1,04500C			****			
4	P150	1,50500C				****		
2	G100	1,87500C	****					
5	P100	1,99000C	****	****				
3	G50	2,04500C	****	****				
7	BHA	2,09000C	****	****				
8	a-toco	2,15500C		****				
6	P50	2,45500C					****	
9	Temoin	2,87000C						****

Test LSD ; variable J14 (indice) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,00169, dl = 18,000									
Cellule N°	ECH	J14 Moyenne	1	2	3	4	5	6	7
1	G150	3,47500C	****						
2	G100	3,90500C		****					
4	P150	4,76500C			****				
3	G50	5,39000C				****			
7	BHA	5,50000C					****		
8	a-toco	5,58500C						****	
5	P100	5,67500C							****
6	P50	6,08000C							
9	Temoin	6,84000C							

Annexe XIII : ANOVA pour l'indice d'acide (IA)

Test LSD ; variable J10 (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,00049, dl = 18,000								
Cellule N°	ECH	J10 Moyenne	1	2	3	4	5	6
1	G150	0,06000C		****				
4	P150	0,13000C			****			
2	G100	0,18500C				****		
5	P100	0,23000C					****	
7	BHA	0,28000C	****					
3	G50	0,28000C	****					
8	a-toco	0,29500C	****					
6	P50	0,30500C	****					
9	Temoin	0,41000C						****

Test LSD ; variable J20 (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,00493, dl = 18,000								
Cellule N°	ECH	J20 Moyenne	1	2	3	4	5	6
1	G150	0,68500C					****	
2	G100	0,91000C						****
4	P150	1,05500C		****				
3	G50	1,09500C		****				
5	P100	1,44000C	****					
7	BHA	1,44000C	****					
8	a-toco	1,48500C	****		****			
9	Temoin	1,58000C			****	****		
6	P50	1,62000C				****		

Test LSD ; variable J30 (Feuille de données1) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = ,00164, dl = 18,000							
Cellule N°	ECH	J30 Moyenne	1	2	3	4	5
1	G150	1,08500C			****		
4	P150	1,24500C				****	
2	G100	1,35000C					****
8	a-toco	1,55000C	****				
3	G50	1,56500C	****				
7	BHA	1,57500C	****				
5	P100	1,58500C	****				
6	P50	1,89000C		****			
9	Temoin	1,95000C		****			

Résumé

Le but de ce travail est d'évaluer l'effet de l'ajout des extraits phénoliques d'écorce de grenade et de pelures de pomme la stabilité oxydative de l'huile de soja au cours du stockage à 65°C.

Les extraits phénoliques de ces deux fruits sont obtenus par macération. Des dosages des phénols totaux, des flavonoïdes et des caroténoïdes sont réalisés. Leurs activités antioxydantes sont évaluées avec le test de DPPH et du pouvoir réducteur du fer Ferrique Fe³⁺. Ces extraits sont ensuite incorporés dans l'huile de soja à différentes concentrations pour évaluer leurs effets sur sa stabilité.

Les résultats de la stabilité oxydative de l'huile de soja indiquent que l'extrait de l'écorce de grenade aux concentrations 100 et 150 ppm, montre une activité antioxydante plus élevée avec des pourcentages de (82.52%) et (80.90%), respectivement que celle de la HG50 (75.85%) et celle de l'extrait de pelures de pomme aux concentrations 50, 100 et 150 ppm avec des pourcentages de (70.98%), (75.19%) et (80.85%) respectivement, celle de BHA (77.75%) et α -tocophérols(75.7%) à 100 ppm et par rapport au témoin (59.5%).

Ces résultats montrent l'importance de ces extraits, notamment la grenade, à préserver l'huile de soja ainsi qu'ouvrent une voie prometteuse pour leur utilisation dans la protection de la matière grasse en industrie agroalimentaire.

Mots clé : extraits phénoliques, écorce de grenade, pelure de pomme, activité antioxydante, stabilité oxydative, huile de soja.

Abstract

The purpose of this work was to evaluate the effect of the addition of phenolic extracts of pomegranate bark and apple peel oxidative stability of soybean oil during storage at 65 ° C.

Phenolic compounds of these two fruits was obtained by maceration in organic solvents. Total phenols, flavonoids and carotenoids were determined. Furthermore, their antioxidant activities were evaluated by DPPH and reducing power assays. These extracts were then incorporated in soybean oil in order to evaluate its stability during storage at 65°C.

The results of the oxidative stability of soybean oil indicate that pomegranate bark extract at concentrations of 100 and 150 ppm, showed a higher antioxidant activity with percentages of 82.52% and 80.90%, HG50 75.85% and that of apple peel extract at concentrations of 50, 100 and 150 ppm with 70.98%, 75.19% and 80.85% respectively, BHA 77.75% and α -tocopherols 75.7% at 100 ppm and compared to the control 59.5%.

These results highlighted the importance of these two extracts, especially pomegranate one, in oil protection against peroxidation, hence its support their use to preserve fats in agrofood industry

Keywords: phenolic extracts, pomegranate bark, apple peel, antioxidant activity, oxidative stability, soybean oil.