Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrour University- Khenchela-
Natural and life sciences Faculty
Molecular and Cellular Biology Department

N° de série : ……..

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE MASTER ACADEMIQUE

Domaine : **Sciences de la nature et de la vie**

Filière : **Sciences Biologiques**

Spécialité : **Biochimie Appliquée**

Présenté par :

BARKA Hana ***HAKKAR Lina***

Thème

Développement d'une méthode de conservation des fruits et légumes contre la détérioration

Mémoire soutenu publiquement le 14 **/06/ 2026 Devant le jury composé de :**

Mme. BOUAKKAZ Amel
MCA, Université Abbas Laghrour – Khenchela, Président
Mme. DJEMIL Randa
MCA, Université Abbas Laghrour – Khenchela, Encadreur
Mme. LEKMINE Sabrina
MCB, Université Abbas Laghrour – Khenchela, Examinatrice

Année Universitaire 2025/2026


بسم الله الرحمن الرحيم

Remerciements

Nous exprimons notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre honorable encadrante, Mme Randa Djemil, qui a accepté d'encadrer ce travail de recherche. Elle l'a accompagné avec une grande rigueur scientifique depuis ses débuts jusqu'à son achèvement. Ses orientations pertinentes, ses conseils précieux et sa disponibilité constante ont été déterminants dans la réalisation de ce mémoire dans sa forme finale.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à l'Université Abbas Laghrour de Khenchela, ce haut lieu du savoir qui nous a accueillis et accompagnés tout au long de notre parcours académique, ainsi qu'à l'ensemble de nos enseignants du Département des Sciences de la Nature et de la Vie, chacun à son titre et à son rang, pour leurs efforts, leur dévouement et la qualité de leur enseignement.

Nous n'oublions pas d'exprimer notre reconnaissance aux membres du jury, chacun en son nom, pour avoir accepté d'évaluer ce travail, de le lire avec attention et de l'enrichir par leurs remarques pertinentes et constructives, qui ne peuvent que contribuer à améliorer sa qualité scientifique.

Enfin, nous rendons grâce à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail, par leur soutien, leurs encouragements ou leurs conseils. Ce projet est le fruit d'un effort collectif et d'un chemin parcouru avec persévérance et passion.



Dédicace

Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux.

Louange à Allah, une louange abondante, pure et bénie. Louange à Allah qui m'a accordé la réussite, m'a soutenue, et m'a donné la force, la patience et la détermination nécessaires pour accomplir ce travail. C'est uniquement grâce à Lui que j'ai pu avancer pas à pas et atteindre cette étape de mon parcours universitaire. Je Te remercie, ô Allah, pour Tes innombrables bienfaits, pour chaque réussite, chaque guidance et chaque facilité après les difficultés. Je remercie Allah, le Très-Haut, qui m'a accompagnée dans chaque moment de faiblesse, a illuminé mon chemin et m'a donné espoir et confiance jusqu'à l'achèvement de ce modeste travail. Je dédie ensuite ce travail avec tout mon amour, ma fierté et ma profonde gratitude à ma chère famille, qui a toujours été ma source de soutien et mon véritable appui dans cette vie, à ceux qui ont été la raison de ma persévérance et de ma réussite, et qui m'ont entourée d'amour, d'encouragements et de prières sincères. À mes très chers parents, dont les prières ont toujours été mon soutien et dont l'amour a été ma force. À ma chère mère, symbole de tendresse et de sacrifice, qui a illuminé mon chemin par sa patience et son attention. À mon cher père, source de fierté et de courage, qui m'a appris la valeur du travail, de la persévérance et de la détermination.

Je vous dédie ce modeste travail comme témoignage de mon amour et de ma reconnaissance, en priant Allah de vous préserver, de vous accorder santé et bonheur, car vous êtes la plus belle bénédiction et le plus grand soutien dans ma vie. Les mots ne suffiront jamais à exprimer la place que vous occupez dans mon cœur. Peu importe ce que j'écris ou ce que je dis, je ne pourrai jamais vous rendre tout ce que vous avez fait pour moi. Merci pour chaque sacrifice, chaque instant de patience et chaque prière qui m'a accompagnée tout au long de mon parcours. Vous êtes la lumière qui a illuminé ma vie et la force qui m'a poussée à continuer malgré toutes les difficultés.

À mes frères : Hibat Arrahmane, Haythem et Adam, merci pour votre présence constante à mes côtés, pour votre soutien à chaque étape, ainsi que pour l'amour et la sérénité que vous m'avez apportés. À mes amis ainsi qu'à toutes les personnes qui ont partagé avec moi les moments de fatigue et d'effort, merci pour chaque beau moment et pour tous les encouragements que vous m'avez accordés durant ce parcours. Enfin, je dédie ce modeste travail à toute personne qui a cru en ma capacité à réussir et à tous ceux qui ont fait partie de mon parcours universitaire, de près ou de loin.

Je demande à Allah que ce travail soit le début d'un avenir rempli de réussite, de bonheur et de succès dans ma vie scientifique et professionnelle, et qu'Il m'accorde davantage de volonté et d'ambition pour toujours atteindre le meilleur.

hana

Dédicace

Avant tout, je remercie Allah, Le Tout-Puissant, pour Ses innombrables bienfaits, pour Sa guidance et Sa miséricorde qui m'ont accompagnée tout au long de mon parcours. C'est grâce à Lui que j'ai trouvé la force de continuer, le courage de surmonter les difficultés et la patience d'atteindre cette étape importante de ma vie.

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents,

qui ont toujours été ma source de soutien, de tendresse et de motivation. Merci pour vos sacrifices, votre amour inconditionnel, vos encouragements et vos prières qui ont illuminé mon chemin. Sans vous, rien de tout cela n'aurait été possible. À mes chers frères : Fouzi, Issam et Ghani,

merci pour votre présence, votre soutien et votre confiance qui m'ont donné la force d'avancer malgré les obstacles. À mes chères sœurs : Houria et Souad,

merci d'avoir partagé avec moi mes joies comme mes peines, et d'avoir toujours été à mes côtés avec amour et bienveillance.

À mes très chères amies : Hanae et Wissal, merci pour cette belle amitié, pour tous les souvenirs inoubliables partagés durant notre parcours universitaire, ainsi que pour votre soutien et votre présence dans les moments difficiles comme heureux. À moi-même... pour avoir eu la patience de continuer malgré les difficultés, la force d'affronter les défis et les examens, et le courage de ne jamais abandonner. Ce travail est la preuve que la persévérance finit toujours par mener à la réussite.

J'adresse également mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à mon encadreuse, Madame Djemil Randa, pour son encadrement précieux, ses conseils avisés, sa disponibilité et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Merci d'avoir été une véritable source d'inspiration et un modèle de savoir et de bonnes valeurs. Enfin, je dédie ce travail à toutes les personnes qui m'ont soutenue, de près ou de loin, par un mot, un sourire, une prière ou une présence sincère

Lina

Résumé

Développement d'une méthode pour la conservation des fruits et légumes de la détérioration

Les fruits et légumes constituent des produits alimentaires hautement périssables en raison de leur forte teneur en eau ainsi que de la poursuite de l'activité physiologique et microbienne après la récolte, ce qui entraîne d'importantes pertes de qualité et de valeur nutritionnelle durant le stockage et la commercialisation. Dans un contexte marqué par l'orientation croissante vers l'utilisation de substances naturelles sûres en remplacement des conservateurs chimiques, cette étude vise à évaluer l'efficacité de certains extraits végétaux naturels dans la préparation d'un spray biologique contribuant à prolonger la durée de conservation des fruits et légumes et à limiter les phénomènes d'altération.

L'étude s'est appuyée sur l'utilisation de l'extrait de thé et de l'extrait de laurier (hydrolat) en raison de leur richesse en composés biologiquement actifs, notamment les composés phénoliques et les flavonoïdes reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Les extraits végétaux ont été préparés puis soumis à une série d'analyses chimiques et physiques afin de déterminer leurs caractéristiques et d'évaluer leur capacité biologique.

L'étude a inclus plusieurs tests chimiques portant sur la détermination de la teneur totale en composés phénoliques et en flavonoïdes, ainsi que sur l'évaluation de l'activité antioxydante à l'aide de méthodes analytiques appropriées, avec l'étude de certaines propriétés liées à la capacité de ces extraits à inhiber la dégradation oxydative et microbienne. Une formulation de spray naturelle a également été préparée à base de ces extraits, puis son effet sur la conservation de certains fruits et légumes durant la période de stockage a été testé.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait de thé et l'extrait de laurier contiennent des concentrations appréciables de composés actifs, avec l'enregistrement d'une activité antioxydante à des degrés variables entre les extraits étudiés. Le spray préparé a également contribué à réduire les manifestations d'altération et à préserver les caractéristiques sensorielles des produits traités par rapport aux échantillons non traités, notamment en limitant les changements de couleur, la perte d'humidité et la dégradation rapide durant le stockage.

Abstract

Development of a spray method to preserve fruits and vegetables from spoilage

Fruits and vegetables are highly perishable food products due to their high-moisture content and continued physiological and microbial activity after harvesting, leading to significant losses in quality and nutritional value during storage and marketing. Given the increasing trend towards using safe, natural alternatives to chemical preservatives, this study aims to evaluate the effectiveness of certain natural plant extracts in preparing a bio-spray that extends the shelf life of fruits and vegetables and reduces spoilage.

The study utilized tea extract and bay leaf extract due to their richness in bioactive compounds, particularly phenolic compounds and flavonoids, known for their antioxidant and antimicrobial properties. The plant extracts were prepared and subjected to a series of chemical and physical analyses to determine their properties and assess their biological activity.

The study included several chemical tests, such as estimating the total content of phenolic compounds and flavonoids, as well as evaluating antioxidant activity using appropriate analytical methods. It also investigated properties related to the ability of these extracts to inhibit oxidative and microbial degradation. A natural spray formulation was also prepared using these extracts, and its effect on preserving certain fruits and vegetables during storage was tested.

The results showed that tea extract and bay laurel extract (hydrosol) contain significant concentrations of active compounds, exhibiting varying degrees of antioxidant activity among the studied extracts. The prepared spray also contributed to reducing spoilage and preserving the sensory characteristics of the treated products compared to untreated samples, by minimizing discoloration, moisture loss, and rapid deterioration during storage.

الملخص

تطوير طريقة (بخاخ) لحفظ الفواكه والخضراوات من التلف

تُعد الخضر والفواكه من المنتجات الغذائية الحساسة سريعة التلف بسبب ارتفاع محتواها المائي واستمرار النشاط الفيزيولوجي والميكروبي بعد الجني، مما يؤدي إلى خسائر كبيرة في الجودة والقيمة الغذائية أثناء التخزين والتسويق. وفي ظل التوجه المتزايد نحو استعمال المواد الطبيعية الآمنة بدل المواد الحافظة الكيميائية، تهدف هذه الدراسة إلى تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية الطبيعية في تحضير بخاخ حيوي يساهم في إطالة مدة حفظ الخضر والفواكه والحد من مظاهر التلف.

اعتمدت الدراسة على استعمال مستخلص الشاي ومستخلص الرند نظرًا لغناهما بالمركبات النشطة بيولوجيًا، خاصة المركبات الفينولية والفلافونويدات المعروفة بخصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات. وقد تم تحضير المستخلصات النباتية وإخضاعها لسلسلة من التحاليل الكيميائية والفيزيائية من أجل تحديد خصائصها وتقييم قدرتها الحيوية.

شملت الدراسة عدة اختبارات كيميائية تمثلت في تقدير المحتوى الكلي للمركبات الفينولية والفلافونويدات، بالإضافة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستعمال الطرق التحليلية المناسبة، مع دراسة بعض الخصائص المرتبطة بقدرة هذه المستخلصات على تثبيط التدهور التأكسدي والميكروبي. كما تم تحضير تركيبة بخاخ طبيعية اعتمادًا على هذه المستخلصات واختبار تأثيرها على حفظ بعض الخضر والفواكه خلال فترة التخزين.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن مستخلص الشاي ومستخلص الرند يحتويان على تراكيز معتبرة من المركبات الفعالة، مع تسجيل نشاط مضاد للأكسدة بدرجات متفاوتة بين المستخلصات المدروسة. كما ساهم البخاخ المحضر في التقليل من مظاهر التلف، والمحافظة على الخصائص الحسية للمنتجات المعالجة مقارنة بالعينات غير المعالجة، وذلك من خلال الحد من تغير اللون وفقدان الرطوبة والتدهور السريع أثناء التخزين.

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

الملخص

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... **Erreur ! Signet non défini.**

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes 6

1.1. Préparation des extraits 6

1.2. Formulation du spray naturel 6

1.3. Application sur les fruits et légumes 6

1.4. Suivi expérimental 6

1.5. Évaluation des activités biologiques 7

2. Matériel biologique 7

2.1. Matériel végétal 7

2.2. Produits chimiques et appareillage 8

2.2.1. Produits chimiques 8

2.2.2. Appareillage 8

3. Méthodes 9

3.1. Préparation des extraits 9

3.1.1. Préparation des extraits éthanoliques 9

3.1.2. Détermination du rendement d'extraction 10

3.1.3. Préparation de l'hydrolat de laurier 10

3.2. Criblage phytochimique 11

3.2.1. Recherche des tanins 11

3.2.2. Recherche des saponines 11
3.2.3. Recherche des flavonoïdes 11
3.2.4. Recherche des coumarines 11
3.2.5. Recherche des composés réducteurs 11
3.2.6. Recherche des alcaloïdes 12
3.2.7. Recherche des terpènes et stéroïdes 12
3.2.8. Recherche des anthocyanes 12
3.3. Dosage des composés phénoliques 12
3.3.1. Dosage des polyphénols totaux 12
3.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux 13
3.4. Évaluation de l'activité antioxydante 13
3.4.1. Test DPPH 13
3.5. Test à la1,10- phénanthroline 15
3.6. Évaluation de l'activité antibactérienne 15
3.6.1. Méthode de diffusion sur disque 15
3.6.2. Préparation des souches bactériennes 15
3.6.3. Préparation de l'inoculum 15
3.6.4. Inoculation 16
3.6.5. Préparation des disques 16
3.6.6. Incubation et lecture 16
3.7. Préparation de la formulation conservatrice naturelle 17

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction 19
2.Criblage phytochimique 20
3.Analyse quantitative : Dosage des composés bioactifs 23
3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT) 23

3.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FT) 25

4.Évaluation de l'activité antioxydante in vitro 27

4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH 27

4.2. Test à la 1,10-phénanthroline 29

5. Activité antibactérienne 32

6. Application technologique 33

6.1. Rôle des composants de la formulation de la "Spray(FRUTEX)" 35

6.2. Matières premières utilisées dans la formulation 36

6.3. Préparation de la gomme arabique 37

6.4. Préparation des formulations du spray 37

6.5. Choix des produits végétaux testés 37

6.6. Application du spray sur les échantillons 37

6.7. Conditions de conservation 38

6.8. Paramètres d'évaluation 38

6.9. Suivi photographique 38

Conclusion ..... **Erreur ! Signet non défini.**

Référence bibliographique ..... **Erreur ! Signet non défini.**

Liste des figures

Figure 1: la zone de récolte la commune de Bouhmama Khenchela 7

Figure 2: Arbuste de laurier sauce (*Laurus nobilis*) au champ pour le prélèvement des feuilles. 8

Figure 3: Plante de thé (*Camellia sinensis*) dans son milieu naturel avant la récolte 8

Figure 4: Protocole d'extraction des plantes 9

Figure 5: Obtention de l'hydrolat des feuilles de laurier-sauce (*Laurus nobilis*) par hydrodistillation 11

Figure 6: Transformations de radical DPPH en DPPH 14

Figure 7. Étapes d'ensemencement et d'isolement microbiologique sur boîtes de Petri en zone stérile (sous bec Bunsen) 17

Figure 8: Traitement des fruits de tomate et fraise par pulvérisation d'extrait végétal à une dose spécifique 18

Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux 23

Figure 10: Teneur totale en composés phénoliques des différents extraits végétaux (*Thé, Laurier*, et Mélange) 24

Figure 11: Courbe d'étalonnage de la quercétine et teneur totale en flavonoïdes des extraits de *Thé et de Laurier* 26

Figure 12 : Activité antioxydante des extraits évalués par le test DPPH 28

Figure 13 : courbe d'étalonnage du compléx (ferreux-phénanthroline) …… …….. 30

Figure 14 : Présentation du produit final (FRUTEX), spray naturel destiné à la conservation des fruits et légumes…...……35

Liste des tableaux

Tableau 1. Formulations différentes ont été préparées selon des concentrations croissantes des composés actifs 18

Tableau 2 : Rendement d'extraction des extraits éthanoliques (*thé et laurier*)..... 19

Tableau 3. Profil phytochimique des extraits éthanoliques de *Camellia sinensis* et *Laurus nobilis* 21

Tableau 4. Absorbance des extraits végétaux étudiés par le test à la 1,10 phenanthroline (pouvoire réducteur)..... 30

Tableau 5. Activité antibactérienne du spray a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose..... 32

Tableau 6. Suivi photographique de l'evolution des fruits traités deJ0 à J6.....33

Tableau 7 : Évolution de la qualité des fruits traités en fonction de la dose appliquée. 34

Introduction

La chaîne alimentaire mondiale fait face à un défi majeur : les pertes post-récolte de fruits et légumes représentent approximativement 40 % de la production totale, attribuables principalement à la détérioration microbienne, aux dommages mécaniques et aux conditions environnementales défavorables durant le stockage et le transport (Speranza et al., 2025 ; FAO, 2023). Cette dégradation constitue une menace économique considérable et soulève des préoccupations sanitaires majeures, notamment par la prolifération de pathogènes alimentaires tels qu' (*Escherichia coli)* O157 :H7, (*Salmonella* spp)., (*Listeria monocytogenes)* et (*Staphylococcus aureu*s) (Entani et al., 1998 ; Mahmoud et al., 2024).

Les méthodes de conservation conventionnelles s'appuient largement sur des additifs synthétiques — benzoates, sorbates, nitrites et antioxydants chimiques — dont l'usage suscite des interrogations croissantes quant à leur impact sur la santé humaine et leur persistance environnementale (Perumalla et Hettiarachchy, 2011 ; Nikoo et al., 2018). Cette conjoncture explique l'intérêt scientifique porté aux stratégies de préservation alternatives, fondées sur des composés d'origine végétale présentant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes multifonctionnelles.

La technologie des barrières (*hurdle technology*) postule que l'association de plusieurs facteurs conservatoires à faible intensité peut produire des effets synergiques supérieurs à ceux de chaque traitement individuel, permettant une réduction des concentrations nécessaires tout en élargissant le spectre d'activité (Leistner, 2000). Dans ce cadre, les extraits végétaux émergent comme des candidats prometteurs. Les polyphénols, terpènes et acides organiques d'origine naturelle exercent leur activité antimicrobienne via des mécanismes distincts et complémentaires : perturbation de la membrane cytoplasmique, inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, interférence avec les systèmes de pompage efflux et génération d'espèces réactives de l'oxygène (Burt, 2004 ; Taylor et al., 2005 ; Cushnie et al., 2014).

Laurus nobilis L. (*Lauraceae*), communément appelé laurier, est une plante aromatique méditerranéenne dont l'huile essentielle et les extraits sont reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes, antifongiques et antioxydantes (Caputo et al., 2017; Fernández et al., 2018). La composition chimique de l'hydrolat de laurier, coproduit de la distillation par entraînement à la vapeur, est dominée par le 1,8-cinéol (eucalyptol), l'eugénol et le linalool, des monoterpènes oxygénés dotés d'une activité antimicrobienne documentée (Bouzouita et al., 2003 ; Ramos et al., 2012).

Plusieurs études ont démontré l'efficacité des extraits de *L. nobilis* contre un large panel de micro-organismes pathogènes d'origine alimentaire. L'hydrolat et l'huile essentielle de *laurier* inhibent significativement la croissance de (*Staphylococcus aureus)*, (*Listeria monocytogenes)*, (*Escherichia coli)*, (*Salmonella spp)*. et (*Pseudomonas aeruginosa)* (Merghni et al., 2016 ; Rafiq et al., 2016 ; Mssillou et al., 2020). Sur le plan antifongique, l'huile essentielle de *laurier* a montré une inhibition notable de (*Alternaria alternata)* sur tomates cerises, de (*Penicillium digitatum)* et de (*Aspergillus flavus)*, avec une réduction de 86 % de la production d'aflatoxine B1 en condition de fumigation (Xu et al., 2019 ; Belasli & al., 2020). L'hydrolat présente l'avantage d'une meilleure dispersibilité aqueuse et d'une plus grande compatibilité avec les matrices alimentaires fraîches que l'huile essentielle concentrée, tout en conservant une fraction significative de composés bioactifs (Aćimović et al., 2024).

Le thé vert, issu des feuilles de (*Camellia sinensis*) non oxydées, constitue l'une des sources les plus riches en polyphénols, principalement des catéchines : l'epigallocatéchine gallate (EGCG), l'epigallocatéchine (EGC), l'epicatéchine gallate (ECG) et l'epicatéchine (EC) (Friedman, 2007). L'EGCG, catéchine la plus abondante (~50 % du pool catéchinique), possède une activité antimicrobienne et antioxydante remarquable (Taylor et al., 2005 ; Nikoo et al., 2018).

Le mécanisme d'action antimicrobienne des catéchines repose sur plusieurs voies : (i) liaison au peptidoglycane de la paroi cellulaire des bactéries Gram-positive entraînant sa précipitation ; (ii) génération de peroxyde d'hydrogène et d'espèces réactives de l'oxygène via interaction avec la membrane cytoplasmique ; (iii) perturbation de la perméabilité membranaire par intercalation dans le double feuillet lipidique ; (iv) inhibition de la biofilm formation et de l'expression de facteurs de virulence (Ikigai et al., 1993 ; Xu et al., 2004 ; Reygaert, 2014). L'extrait de thé vert a démontré une activité inhibitrice contre (*E. coli)* O157:H7, (*S. aureus)* (y compris les souches MRSA), (*Bacillus cereu*s)et (*Listeria monocytogenes)*, avec des concentrations minimales inhibitrices compatibles avec une utilisation alimentaire (Stapleton et al., 2004 ; Friedman et al., 2006).

Sur le plan de la conservation post-récolte, les polyphénols de *thé* intégrés dans des revêtements comestibles à base d'alginate ont permis de réduire significativement le taux de respiration, les pertes électrolytiques et la teneur en malondialdéhyde de jujubes frais, tout en préservant les activités enzymatiques antioxydantes (Zhang et al., 2016). De même, le traitement par fumigation de polyphénols de *thé* combiné à un emballage microporeux a

démontré une efficacité supérieure dans le maintien de la qualité de patates douces feuillues, par modulation du métabolisme de l'oxygène réactif et réduction du taux de respiration (Zhang et al., 2025).

Le vinaigre de pomme, produit de la double fermentation alcoolique puis acétique des sucres présents dans le jus de pomme, contient de l'acide acétique (4–6 %) ainsi que des polyphénols, des flavonoïdes, des acides organiques mineurs et des métabolites issus de la fermentation (Budak et al., 2021 ; Xia et al., 2020). Son activité antimicrobienne repose principalement sur l'acidification du milieu extracellulaire et intracellulaire par la forme non dissociée de l'acide acétique, capable de traverser la membrane cytoplasmique et de perturber le potentiel de proton et l'homéostasie cellulaire (Entani et al., 1998).

Des études ont documenté l'efficacité du vinaigre contre (*E. coli)* O157:H7, (*Salmonella typhi)*, (*Staphylococcus aureus)* et (*Candida albicans),* avec une action bactéricide synergiquement potentialisée par le chlorure de sodium et la température (Yagnik et al., 2018 ; Entani et al., 1998). Sur le plan post-récolte, les vapeurs de vinaigre contenant 4,2–6,0 % d'acide acétique ont démontré une efficacité remarquable contre les pathogènes fongiques responsables de la pourriture des fruits : **Monilinia fructicola** (pourriture brune), **Botrytis cinerea** (moisissure grise) et **Penicillium expansum** (moisissure bleue), réduisant la détérioration de 100 % à moins de 1,4 % sur abricots, fraises et pommes (Sholberg et al., 2000). Cette approche par fumigation représente une alternative prometteuse aux biocides liquides conventionnels comme l'hypochlorite de sodium.

L'association de ces trois agents naturels dans une formulation unique s'inscrit dans une logique de complémentarité mécanistique et de synergie fonctionnelle. Les hydrolats végétaux fournissent des terpènes oxygénés lipophiles capables de disrupturer les membranes microbiennes ; les catéchines du *thé* vert offrent une activité antioxydante puissante et un mécanisme antimicrobien distinct par liaison au peptidoglycane et génération d'espèces réactives ; l'acide acétique du vinaigre de pomme assure une acidification contrôlée du milieu et une inhibition de la croissance microbienne par acidification intracellulaire (Burt, 2004 ; Taylor et al., 2005 ; Nikoo et al., 2018). Cette triple action sur des cibles cellulaires différentes — membrane, paroi, homéostasie acide — réduit le risque d'apparition de résistances et permet d'envisager des concentrations efficaces inférieures à celles requises pour chaque composé utilisé isolément, limitant ainsi

les impacts sur les propriétés organoleptiques des produits traités (Milagres de Almeida et al., 2023).

Les hydrolats, en tant que coproduits aqueux de la distillation, présentent une compatibilité intrinsèque avec les extraits hydrosolubles de thé vert et le vinaigre, facilitant la formulation d'un mélange homogène applicable par voie dipping ou pulvérisation (Değirmenci & Erkurt, 2020). Cette approche s'inscrit également dans une perspective d'économie circulaire et de développement durable, en valorisant des coproduits de l'industrie des huiles essentielles et des produits de fermentation.

Le présent travail vise à développer et à évaluer une formulation conservatrice naturelle, associant l'hydrolat de *Laurus nobilis L*., l'extrait de *Camellia sinensis L*. Kuntze et le vinaigre de pomme, pour la préservation post-récolte des fruits et légumes frais. Cette étude s'attachera à caractériser l'activité antimicrobienne et antioxydante du mélange, à déterminer son efficacité dans l'inhibition de la détérioration physiologique et microbienne, et à évaluer son innocuité ainsi que son impact sur les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits traités.

Ce mémoire est structuré en deux parties principales : La première partie est consacrée au cadre théorique. Elle porte sur une synthèse bibliographique relative aux concepts fondamentaux de la conservation post-récolte des fruits et légumes, aux mécanismes de détérioration physiologique et microbienne, ainsi qu'aux propriétés des conservateurs naturels. Une attention particulière est accordée aux caractéristiques phytochimiques et aux activités biologiques de *Laurus nobilis L., Camellia sinensis L*. Kuntze et du vinaigre de pomme, notamment leurs effets antimicrobiens et antioxydants.

La deuxième partie est dédiée à l'étude expérimentale. Elle décrit le matériel et les méthodes utilisés pour la préparation de la formulation conservatrice naturelle, ainsi que les protocoles adoptés pour évaluer son efficacité. Cette partie présente également les résultats obtenus concernant l'activité antimicrobienne et antioxydante du mélange, son effet sur la conservation des fruits et légumes traités, ainsi que son impact sur les qualités organoleptiques et nutritionnelles. Enfin, une discussion des résultats est proposée, suivie d'une conclusion générale mettant en évidence les perspectives d'application de cette formulation.

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

Ce travail expérimental vise à étudier la composition phytochimique ainsi qu'à évaluer les activités antioxydantes et antibactériennes des extraits éthanolique de deux plantes : *Camellia sinensis* et *Laurus nobilis*. L'étude a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques de l'Université Abbas Laghrour de Khenchela ainsi qu'au laboratoire de recherche de Hamma (khenchela).

1.1. Préparation des extraits

Les feuilles de *Camellia sinensis* (*thé*) et de *Laurus nobilis* (*laurier*) ont été soigneusement lavées, séchées à température ambiante puis réduites en poudre fine. L'extraction a été réalisée par macération dans un solvant organique (éthanol) pendant 48 à 72 heures, sous agitation régulière. Les extraits obtenus ont ensuite été filtrés et concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis conservés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

1.2. Formulation du spray naturel

Une formulation expérimentale sous forme de spray conservateur a été préparée en combinant plusieurs composés naturels, notamment : la gomme arabique, le vinaigre de pomme , l'hydrolat de *laurier (Laurus nobilis),* ainsi que des extraits de *thé (Camellia sinensis)* riches en polyphénols. Plusieurs doses ont été testées en variant les concentrations afin d'optimiser l'efficacité du produit.

1.3. Application sur les fruits et légumes

Le spray obtenu a été appliqué sur des échantillons de fruits (*fraise)* et de légumes (*tomate*). Les échantillons ont été répartis en deux groupes : un groupe traité avec le spray et un groupe témoin non traité. Tous les échantillons ont été conservés dans les mêmes conditions de température ambiante.

1.4. Suivi expérimental

L'évolution de l'état des fruits et légumes a été suivie pendant une période de six jours. Les paramètres observés incluent : l'apparition de moisissures, les changements de texture, de couleur ainsi que l'altération globale.

1.5. Évaluation des activités biologiques

Les extraits ont été soumis à des tests d'activité antioxydante (méthode DPPH) ainsi qu'à des tests antibactériens contre certaines souches microbiennes, afin de confirmer leur potentiel conservateur naturel

2.Matériel biologique

2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des parties aériennes séchées de *Laurus nobilis L*. (*laurier*) et de *Camellia sinensis* (*thé vert*). Les échantillons ont été récoltés dans la région de Bouhmama, wilaya de Khenchela (Algérie). Après récolte, le matériel végétal a été séché à l'abri de la lumière et de l'humidité, puis réduit en poudre fine à l'aide d'un broyeur. Les poudres obtenues ont été conservées dans des récipients en verre hermétiques, à l'abri de l'humidité et de la lumière, jusqu'à leur utilisation dans les différentes analyses et préparations expérimentales.

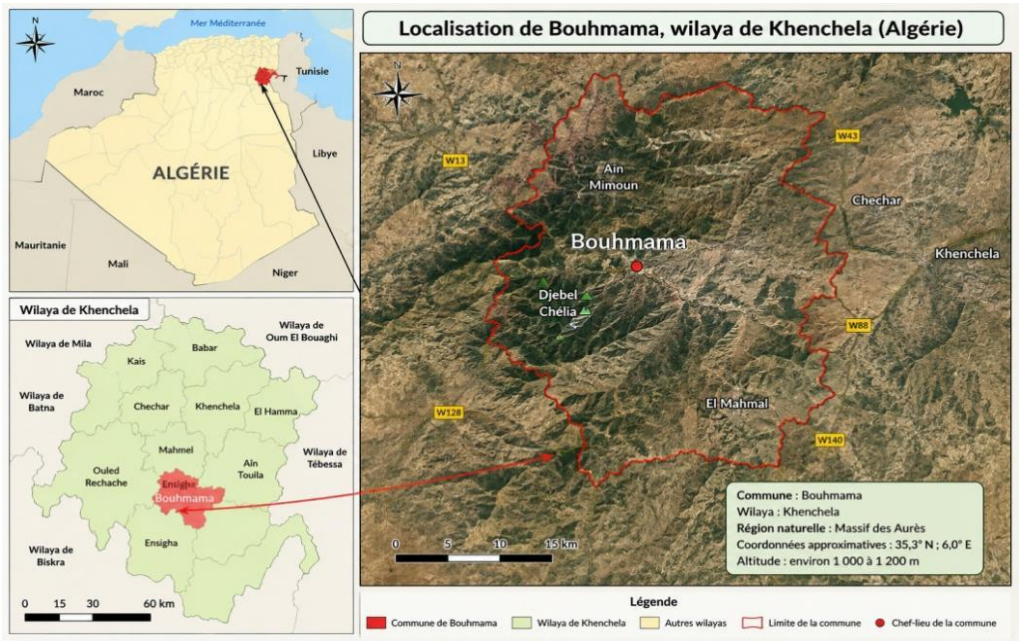


Figure 1: la zone de récolte la commune de Bouhmama Khenchela



Figure 2: Arbuste de laurier sauce (*Laurus nobilis*) au champ pour le prélèvement des feuilles.



Figure 3: Plante de thé (*Camellia sinensis*) dans son milieu naturel avant la récolte

2.2. Produits chimiques et appareillage

2.2.1. Produits chimiques

Les principaux réactifs, solvants et produits chimiques utilisés au cours de cette étude sont : chlorure ferrique ($FeCl_3$), acide chlorhydrique (HCl), acide acétique (CH_3COOH), hydroxyde de sodium (NaOH), hydroxyde d'ammonium (NH_4OH), iodure de potassium (KI), iode (I_2), chlorure de sodium (NaCl), chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), diméthylsulfoxyde (DMSO), quercétine ($C_{15}H_{10}O_7$), iodure mercurique (HgI_2), chloroforme ($CHCl_3$), toluène (C_7H_8), acétone (C_3H_6O), éthanol (C_2H_5OH), hexane (C_6H_{14}), réactif de Folin-Ciocalteu, DPPH, carbonate de sodium (Na_2CO_3), méthanol (CH_3OH), n-butanol ($C_4H_{10}O$), acétate d'éthyle ($C_4H_8O_2$), acide sulfurique (H_2SO_4), ammoniac (NH_3), acide ascorbique ($C_6H_8O_6$), acide gallique ($C_7H_6O_5$), ainsi que des plaques de chromatographie sur couche mince (CCM/TLC).

2.2.2. Appareillage

L'appareillage utilisé comprend : une balance analytique (OHAUS), une balance de précision (KERN PCB), un agitateur magnétique (SCILOGEX), un vortex (VELP), une plaque chauffante (LABTECH), un bain-marie (MEMMERT), une étuve universelle ventilée de 5 à 220 °C (MEMMERT), un autoclave (RAYPA), une centrifugeuse (EZ Swing 3K, Rotofix 32 A), un évaporateur rotatif (HAHNVAPOR), un spectrophotomètre UV-visible (SPECTRUM SP-UV 2005), une chambre d'observation UV 254/365 nm

(VILBER LOURMAT), un pH-mètre (HANNA INSTRUMENTS) ainsi qu'un réfrigérateur (LIEBHERR).

3. Méthodes

3.1. Préparation des extraits

3.1.1. Préparation des extraits éthanoliques

Les parties aériennes séchées de *Laurus nobilis* et *Camellia sinensis* ont été soumises à une macération dans un mélange hydroéthanolique pendant 24 heures à température ambiante. L'opération a été répétée deux fois avec renouvellement du solvant à chaque étape afin d'optimiser l'extraction des composés bioactifs.

Après filtration, le solvant a été éliminé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif réglé à 41 °C, permettant l'obtention des extraits éthanoliques bruts de *Laurus nobilis* (EE-L) et de *Camellia sinensis* (EE-C) (Tadeg,2005).

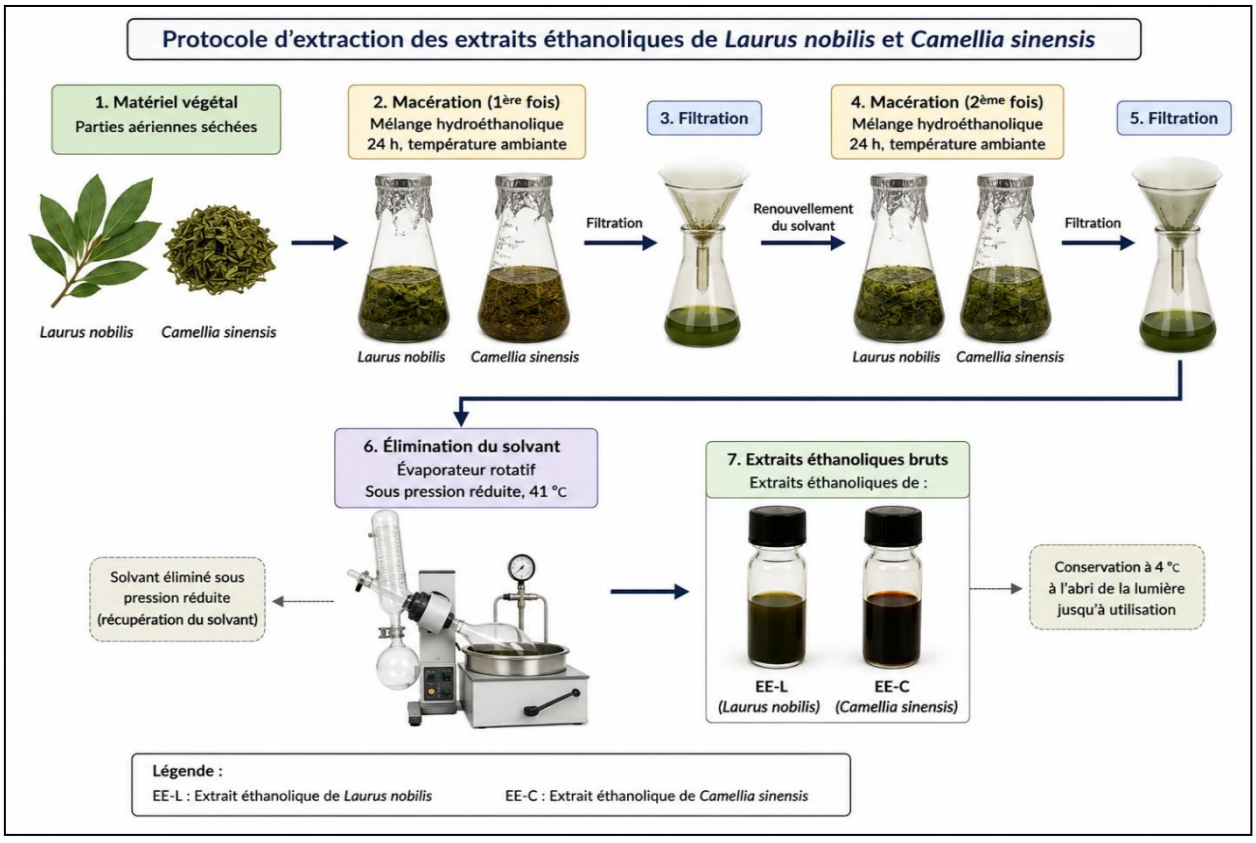


Figure 4: Protocole d'extraction des plantes

3.1.2. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction des extraits éthanoliques a été calculé selon la formule suivante :

(Sarker, 2012).

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{Ps}{Pp} \times 100$$

Avec :

- Ps : poids de l'extrait sec obtenu (g)
- Pp : poids de la poudre végétale utilisée (g)

3.1.3. Préparation de l'hydrolat de laurier

La matière végétale séchée de *Laurus nobilis* a été introduite dans un ballon en verre à fond rond contenant de l'eau distillée. Le mélange a ensuite été chauffé à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger. Sous l'effet de la vapeur d'eau, les composés volatils sont entraînés puis condensés dans un réfrigérant. Le distillat obtenu présente une phase huileuse correspondant à l'huile essentielle et une phase aqueuse constituant l'hydrolat. Après décantation, l'hydrolat de laurier a été récupéré, conditionné dans des flacons opaques et conservé au réfrigérateur jusqu'à son utilisation. **(Krajewska,2022)**

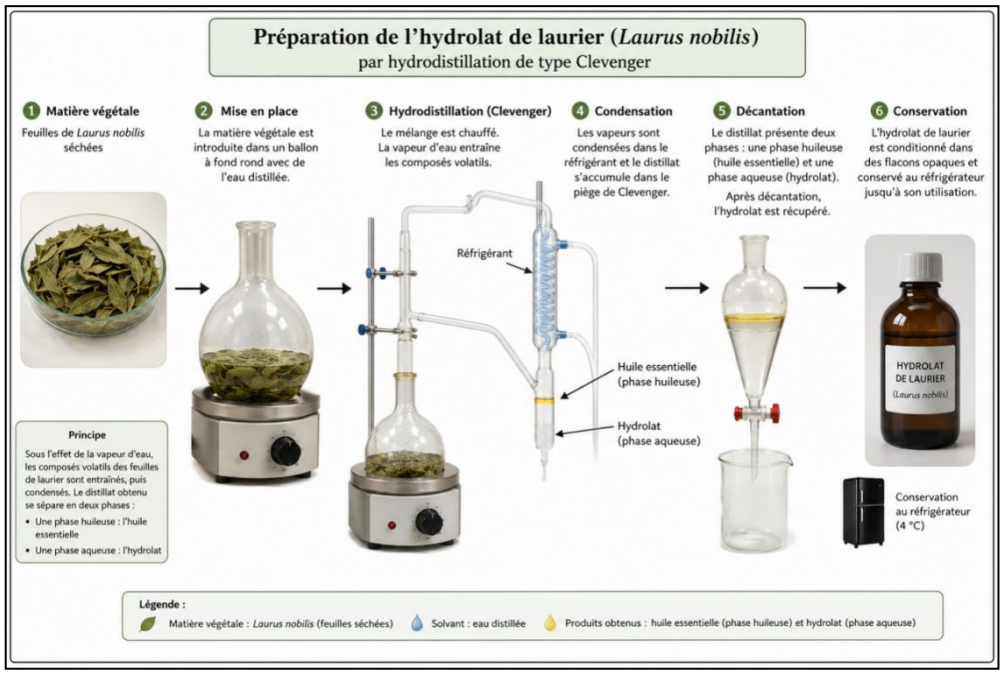


Figure 5: Obtention de l'hydrolat des feuilles de laurier-sauce (*Laurus nobilis*) par hydrodistillation

3.2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique a été réalisé afin d'identifier qualitativement certaines classes de métabolites secondaires présentes dans les extraits éthanoliques de *Laurus nobilis* et *Camellia sinensis* . Les résultats ont été interprétés comme positifs (+) ou négatifs (−) (Mujeeb et al, 2014).

3.2.1. Recherche des tanins

Deux à trois gouttes de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 2 % ont été ajoutées à 2 mL d'extrait. L'apparition d'une coloration bleu foncé accompagnée d'un précipité indique la présence de tanins (Trease et Evans, 1987).

3.2.2. Recherche des saponines

À 5 mL d'extrait ont été ajoutés 10 mL d'eau distillée. Après agitation vigoureuse pendant deux minutes, la persistance d'une mousse stable après 15 minutes indique la présence de saponines (Karumi et al., 2004).

3.2.3. Recherche des flavonoïdes

À 1 mL d'extrait ont été ajoutées quelques gouttes d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH). L'apparition d'une coloration jaune intense indique la présence de flavonoïdes. Cette coloration persiste après l'addition de quelques gouttes d'un acide dilué (Karumi et al., 2004).

3.2.4. Recherche des coumarines

Le résidu sec a été dissous dans de l'eau distillée sous chauffage puis refroidi. La solution a été répartie dans deux tubes à essai. Le second tube a reçu 0,5 mL d'hydroxyde d'ammonium à 10 %. L'apparition d'une fluorescence verte ou bleue sous lumière UV à 365 nm révèle la présence de coumarines (Harborne, 2005).

3.2.5. Recherche des composés réducteurs

Le test de Keller-Killiani a été utilisé. À 1 mL d'extrait ont été ajoutés 5 mL d'acide acétique contenant des traces de chlorure ferrique puis 5 mL d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une phase brun rougeâtre à l'interface ainsi qu'une coloration bleu verdâtre indique un résultat positif (Harborne, 2005).

3.2.6. Recherche des alcaloïdes

Dix grammes de poudre végétale ont été macérés pendant 24 heures dans 50 mL d'acide sulfurique à 10 % (v/v). Après filtration, quelques gouttes du réactif de Dragendorff ont été ajoutées à 1 mL du filtrat. La formation d'un précipité orange indique la présence d'alcaloïdes (Harborne, 2005).

3.2.7. Recherche des terpènes et stéroïdes

Deux millilitres d'extrait filtré ont été dissous dans 2 mL de chloroforme, puis 1 mL d'acide sulfurique concentré a été ajouté lentement le long de la paroi du tube. L'apparition d'une coloration brun rougeâtre après léger chauffage indique un résultat positif selon le test de Salkowski (Harborne, 2005).

3.2.8. Recherche des anthocyanes

Traiter 2 ml d'extrait avec 2 ml d'HCl, puis ajouter quelques gouttes d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH). Si une coloration rose-rouge apparaît initialement, puis vire progressivement au bleu-violet, cela indique la présence d'anthocyanes. (Jiang,2013)

3.3. Dosage des composés phénoliques

3.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur totale en polyphénols a été déterminée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Les composés phénoliques réduisent le réactif de Folin-Ciocalteu en milieu alcalin, entraînant l'apparition d'une coloration bleue proportionnelle à leur concentration. L'absorbance a été mesurée à 765 nm.(Yadav et al., 2011)

Protocole expérimental

Deux cents microlitres d'extrait dissous dans le méthanol ont été mélangés à 1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu à 10 %. Après agitation pendant 4 minutes, 800 µL de carbonate de sodium (7,5 g/L) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé à l'obscurité pendant 2 heures, puis l'absorbance a été mesurée à 765 nm.

Expression des résultats

La teneur en polyphénols totaux a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) (Müller et al .,2010).

3.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Principe

La méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium repose sur la formation d'un complexe entre les ions Al^{3+} et les flavonoïdes. Ce complexe produit une coloration jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en flavonoïdes. (Djeridane. 2007)

Protocole expérimental

Un millilitre d'extrait dissous dans le méthanol a été mélangé à 1 mL d'$AlCl_3$ à 2 %. Après agitation et incubation pendant 10 minutes à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 415 nm.

Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été réalisée à l'aide d'une courbe d'étalonnage utilisant la quercétine comme standard. Les résultats sont exprimés en µg équivalent quercétine par mg d'extrait (mg EQ/g d'extrait) **(**Hasim et al .,2017)

3.4. Évaluation de l'activité antioxydante

3.4.1. Test DPPH

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par le test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). En présence d'antioxydants, la couleur

violette du DPPH diminue progressivement en raison de sa réduction. (Khalaf et al,. (2008).

Protocole expérimental

La solution de DPPH a été préparée dans le méthanol. Des dilutions successives des extraits ont été réalisées à partir d'une solution mère de 0,5 mg/mL.

Dans chaque tube, 200 µL d'extrait ont été mélangés à 900 µL de solution de DPPH puis incubés pendant 30 minutes à l'obscurité à température ambiante.

L'absorbance a ensuite été mesurée à 517 nm. Le méthanol a été utilisé comme témoin négatif et l'acide ascorbique comme témoin positif.

Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition a été calculé selon la formule suivante :

$$PI(\%) = \{A_0 - A_1\}/\{A_t\} \times 100$$

Avec :

- A0 : absorbance du témoin négatif
- A1 : absorbance de l'échantillon

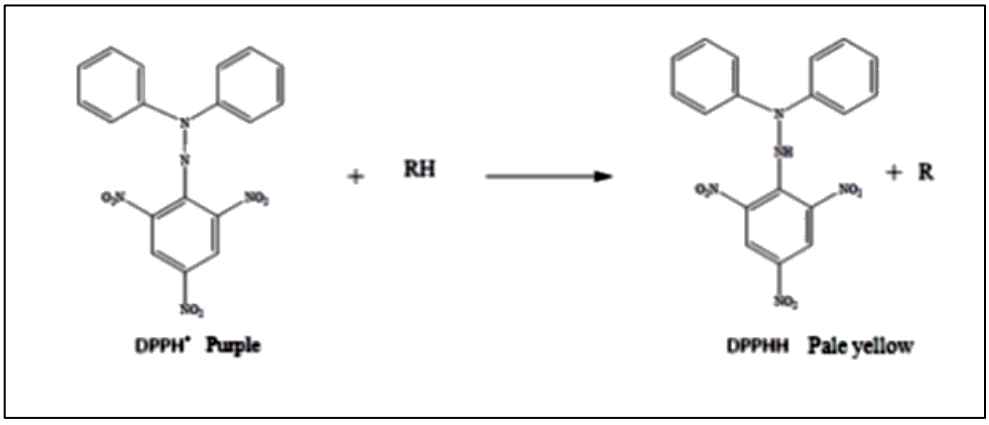


Figure 6: Transformations de radical DPPH en DPPH **(Parejo et al ,2003)**

3.5. Test à la phénanthroline

Principe

Le test à la 1,10-phénanthroline repose sur la réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) en présence de composés antioxydants. Le complexe ferreux formé produit une coloration orange-rouge mesurée entre 508 et 510 nm.

Protocole expérimental

Des solutions témoins de phénanthroline, de $FeCl_3$ et d'acide ascorbique ont été préparées.Les extraits testés comprenaient l'hydrolat de *laurier*, l'extrait de *Camellia sinensis* ainsi que le mélange final contenant la gomme arabique, le vinaigre de cidre, l'hydrolat de *laurier* et l'extrait de *thé.*

Un millilitre de solution de phénanthroline et 1 mL de $FeCl_3$ ont été ajoutés à chaque échantillon. Après incubation, l'absorbance a été mesurée à 510 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

3.6. Évaluation de l'activité anti bactérienne

3.6.1. Méthode de diffusion sur disque

L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque sur gélose Mueller-Hinton. Cette méthode consiste à déposer des disques imprégnés d'extraits sur une gélose préalablement inoculée avec les souches bactériennes étudiées. Après incubation, l'activité antibactérienne est estimée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition autour des disques. (*Khameneh et al.;2019)*

3.6.2. Préparation des souches bactériennes

Les souches bactériennes de référence ont été repiquées sur gélose Mueller-Hinton puis incubées pendant 18 à 24 heures à 37 °C afin d'obtenir des colonies isolées.

3.6.3. Préparation de l'inoculum

L'inoculum bactérien a été préparé à partir d'une culture pure de 24 heures dans une solution saline physiologique stérile. La densité bactérienne a été ajustée à 0,08 selon les recommandations du CA-SFM.

3.6.4. Inoculation

Dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum, l'ensemencement a été réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile sur gélose Mueller-Hinton solidifiée. L'écouvillon a été étalé sur toute la surface de la gélose par stries successives afin d'obtenir une répartition homogène de l'inoculum. (*Marlène et al., 2022)*

3.6.5. Préparation des disques

Les disques de papier filtre Whatman de 6 mm ont été stérilisés à l'autoclave pendant 15 minutes à 120 °C. Chaque disque a ensuite été imprégné de 15 µL d'extrait dissous dans le DMSO.

3.6.6. Incubation et lecture

Les boîtes ont été pré-incubées pendant 30 minutes à température ambiante puis incubées à 37 °C pendant 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres et interprétés comme suit :

D < 8 mm : souche résistante (-)

9 mm ≤ D < 14 mm : souche sensible (+)

15 mm ≤ D < 19 mm : souche très sensible (++)

D ≥ 20 mm : souche extrêmement sensible (+++) (Lekmine, 2022**)**

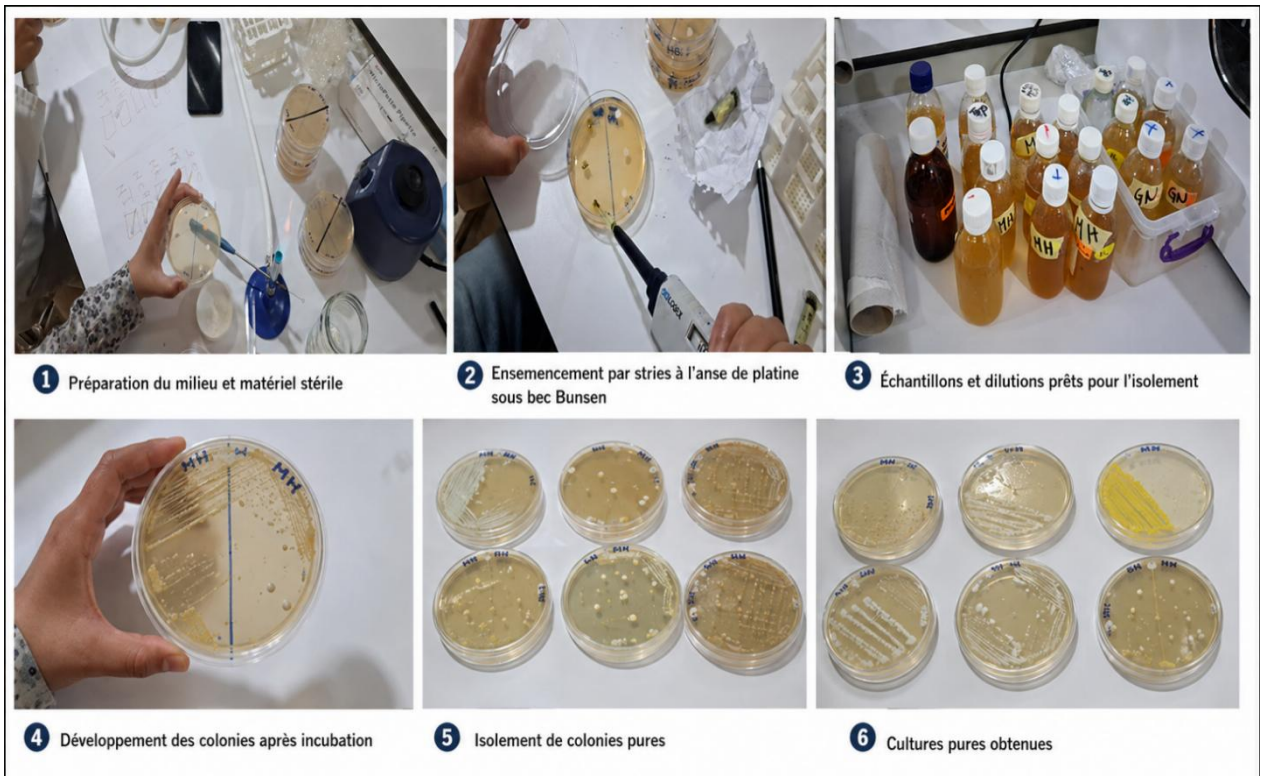


Figure 7. Étapes d'ensemencement et d'isolement microbiologique sur boîtes de Petri en zone stérile (sous bec Bunsen)

3.7. Préparation de la formulation conservatrice naturelle

Dans le cadre de cette étude, une formulation naturelle destinée à la conservation des fruits et légumes a été élaborée à partir de plusieurs ingrédients naturels, notamment : la gomme arabique, le vinaigre de pomme naturel commercialisé par un distributeur local, l'extrait hydroéthanolique de *Camellia sinensis* obtenu par évaporation rotative (rota vapeur), ainsi que l'hydrolat de *Laurus nobilis* obtenu par hydrodistillation.

La gomme arabique a été utilisée comme agent filmogène naturel permettant la formation d'un revêtement protecteur à la surface des fruits et légumes. L'extrait de *thé* et l'hydrolat de *laurier* ont été incorporés pour leurs propriétés antioxydants et antibactériennes, tandis que le vinaigre de cidre naturel a été utilisé comme agent acidifiant et conservateur naturel

Trois formulations différentes ont été préparées selon des concentrations croissantes des composés actifs (Tableau1) :

Tableau 1. Formulations différentes ont été préparées selon des concentrations croissantes des composés actifs

Échantillon A (faible concentration)	**Échantillon B (concentration moyenne**	**Échantillon C (forte concentration**
• 40 mL de solution de gomme arabique • 1 mL de solution d'extrait de thé • 5 mL d'hydrolat de laurier • 1 mL de vinaigre de pomme	• 40 mL de solution de gomme arabique • 2 mL de solution d'extrait de thé • 10 mL d'hydrolat de laurier • 1 mL de vinaigre de pomme	• 40 mL de solution de gomme arabique • 3 mL de solution d'extrait de thé • 15 mL d'hydrolat de laurier • 1 mL de vinaigre de pomme



Figure 8: Traitement des fruits de tomate et fraise par pulvérisation d'extrait végétal à une dose spécifique

Résultats et discussions

Cette étude vise à évaluer les activités antioxydantes et antibactériennes, ainsi qu'à analyser la composition phytochimique in vitro des extraits éthanoliques issus des parties aériennes de deux plantes, *Camellia sinensis* et *Laurus nobilis*, en plus de l'hydrolat de *Laurus nobilis*. Elle a également pour objectif de mettre en évidence le potentiel biologique de ces extraits naturels à travers des tests in vitro, afin de déterminer leur richesse en composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes et autres métabolites secondaires. Dans ce cadre appliqué, les résultats obtenus sont orientés vers la formulation d'un spray naturel destiné à la conservation des fruits et des légumes, permettant de limiter leur altération et de prolonger leur durée de stockage, sans visée pharmaceutique ou cosmétique. Enfin, cette recherche s'inscrit dans une démarche de valorisation des substances végétales comme alternative naturelle aux conservateurs chimiques dans le domaine agroalimentaire

1. Rendement d'extraction

La variation des rendements entre les deux espèces est tributaire de facteurs intrinsèques tels que la composition génétique, le stade phénologique de la plante, et les conditions environnementales pré-récolte

Le tableau ci-dessous présente le rendement d'extraction des extraits éthanoliques obtenus à partir du *thé* et du *laurier*, ainsi que leurs caractéristiques organoleptiques et physiques, notamment la couleur et l'aspect :

Tableau 2 : Rendement d'extraction des extraits éthanoliques (*thé et laurier*)

PLANTE	EXTRAIT	COULEUR	POIDS DU MATERIEL VEGETALE EN G	POIDS DE L EXTRITS EN G	ASPECT	RENDEMENT
CAMELLIA SINENSIS 	EE-C	Vert	50g	10,05g	Extrait pâteux brun foncé a verdâtre, odeur caractéristique	**20,10 %**
LAURUS NOBILIS	EE-L	Vert	50g	8,31g	Extrait semi pâteux vert	**16,62 %**

					brunâtre ,odeur aromatique prononce	

Les résultats de l'extraction éthanolique des composés phénoliques du *thé* et du *laurier* ont révélé des rendements respectifs de 20,10 % et 16,62 %, avec des masses d'extraits bruts secs de 10,05 g et 8,32 g. Cette différence peut être expliquée par la variabilité de la composition phytochimique propre à chaque espèce végétale, notamment la teneur en polyphénols, flavonoïdes et autres métabolites secondaires extractibles par l'éthanol.

Dans la présente étude, l'extraction a été réalisée par macération à froid, une méthode largement employée pour l'isolement des composés bioactifs à partir des plantes médicinales. Cette technique permet de préserver les molécules thermolabiles et d'obtenir des extraits riches en substances phénoliques tout en limitant leur dégradation. Selon (Azwanida,2015), le rendement d'extraction dépend fortement de la méthode utilisée, du temps de contact entre le solvant et le matériel végétal ainsi que des propriétés physicochimiques du solvant.

L'éthanol a été choisi comme solvant d'extraction en raison de sa capacité à solubiliser efficacement une large gamme de composés phénoliques grâce à sa polarité intermédiaire. (Dai &Mumper,2010) ont souligné que l'éthanol figure parmi les solvants les plus utilisés pour l'extraction des polyphénols végétaux en raison de son efficacité et de sa faible toxicité.

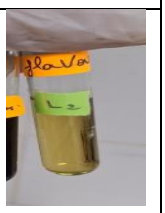
Toutefois, la comparaison des rendements obtenus avec ceux rapportés dans la littérature reste difficile, car plusieurs facteurs influencent l'efficacité de l'extraction. Ces facteurs comprennent l'espèce végétale, l'organe utilisé, les conditions de récolte, le séchage, le stockage, la granulométrie du matériel végétal ainsi que la nature et la polarité du solvant. Ces paramètres peuvent entraîner des variations importantes des rendements d'une étude à une autre (Azwanida,2015 ; Dai & Mumper,2010).

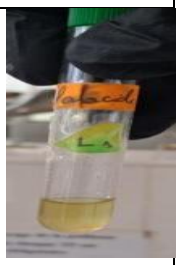
2.Criblage phytochimique

Analyse phytochimique qualitative (Screening Phytochimique) Les tests de coloration et de précipitation spécifiques ont permis de dresser le profil phytochimique des deux extraits. Les résultats de ce screening sont consignés dans le tableau suivant

Profil phytochimique des extraits éthanoliques de *Camellia sinensis* et *Laurus nobilis*. (Tableau3) :

Tableau 3. Profil phytochimique des extraits éthanoliques de *Camellia sinensis* et *Laurus nobilis*

Test phytochimique			**Resultats et observation**		
Tanins	$FeCl_3$	EE-C	++	Bleu foncé	
		EE-L	++	Bleu foncé	
Saponines	Test de la mousse	EE-C	-	Aucun mousse après 15 min	
		EE-L	-	Aucun mousse après 15 min	
Flavonoides	$AlCl_3$	EE-C	++	Apparition d'une coloration jaune	
		EE-L	+	Apparition d'une coloration jaune	
Coumarines	Hydroxyde d'ammonium à 10 %.	EE-C	-	Aucune couleur bleu-violet n'apparaît sous la lumière ultraviolette	
		EE-L	-		

Compose Reducteurs	$FeCl_3$\ d'acide acétique et acide sulfurique	EE-C	+	L'apparition de deux couches : brun rougeâtre et vert bleuâtre	
		EE-L	+		
Alcaloïdes	Meyer	EE-C	+	La formation d'un précipité blanc jaunâtre	
		EE-L	+	La formation d'un précipité blanc jaunâtre	
Terpènes et stéroïdes	Chloroforme acide sulfurique concentre	EE-C	++	L'apparition d'une coloration brune	
		EE-L	++	L'apparition d'une coloration brune	

Les Anthocyanes	Hcl+ Hydroxyde d'ammonium NH4OH	EE-C	+	Une couleur rose-rouge apparaît, puis vire progressivement au violet	
		EE-L	+		

NB : (+) : Réaction positive (Présence) ; (-) : Réaction négative (Absence)

L'analyse du Tableau 3 montre une forte dominance des composés phénoliques (tanins, flavonoïdes) ainsi que des alcaloïdes et des terpénoïdes et les composés réducteurs dans les deux matrices végétales. En revanche, les saponines, les coumarines n'ont pas été détectés sous nos conditions expérimentales. Cette hétérogénéité moléculaire justifie l'intérêt pharmacologique et biologique de ces deux plantes (Edeoga et al., 2005).

3.Analyse quantitative : Dosage des composés bioactifs

3.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Le dosage des composés phénoliques totaux a été réalisé en utilisant une courbe d'étalonnage linéaire (y = ax + b) obtenue à partir de solutions étalons d'acide gallique de concentrations connues. La teneur en polyphénols totaux des extraits a été calculée à partir de cette courbe et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/g). Cette méthode permet d'estimer quantitativement la concentration globale des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux

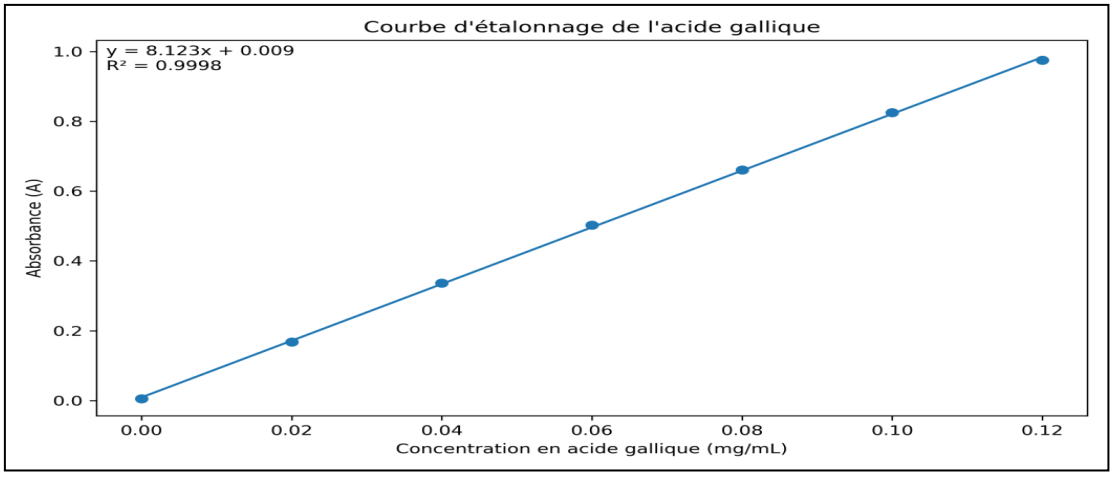


Figure 9: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

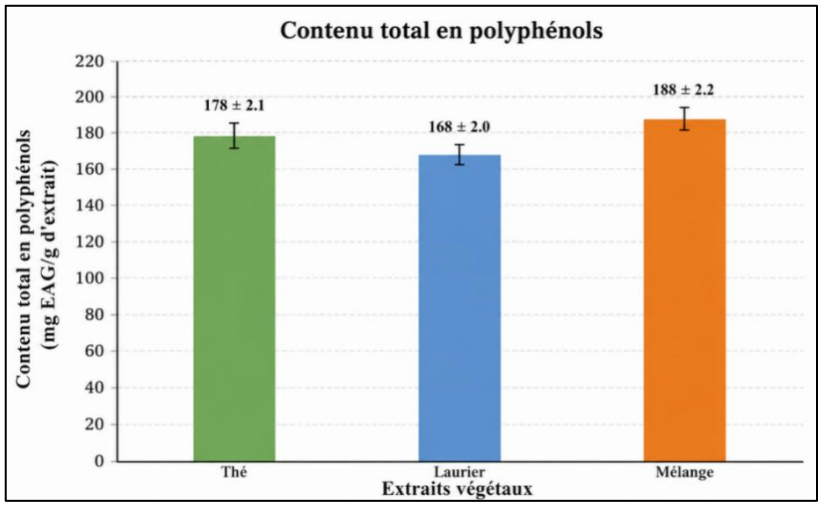


Figure 10: Teneur totale en composés phénoliques des différents extraits végétaux (*Thé*, *Laurier*, et Mélange)

Avec un coefficient de détermination élevé (R^2 = 0.9992), confirmant la parfaite linéarité de la réponse spectrophotométrique à 765nm. Les teneurs en polyphénols totaux, exprimées en milligrammes d'équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait}), sont illustrées dans la

- **Extrait de *Thé* (*C. sinensis*) :** 178 \pm 2,1{ mg EAG/g}.
- **Extrait de *Laurier* (*L. nobilis*) :** 168 \pm 2,0{ mg EAG/g}.
- **Mélange (*Thé* + *Laurier*) :** 188 \pm 2,2{ mg EAG/g}.

Les résultats obtenus pour la teneur totale en polyphénols ont révélé des différences notables entre les extraits étudiés. L'extrait éthanolique du *thé* a présenté la concentration la plus élevée en composés phénoliques, suivi par l'extrait éthanolique du laurier *(Laurus nobilis*), tandis que les hydrolats ont montré des teneurs plus faibles. Cette différence peut être expliquée par l'efficacité de l'éthanol dans l'extraction des composés phénoliques, grâce à sa polarité intermédiaire qui favorise la solubilisation d'un large éventail de métabolites secondaires bioactifs (Singleton et al., 1999).

Les valeurs élevées observées dans l'extrait de *thé(Camellia sinensis*) sont en accord avec les travaux de (Balentine et al. ,1997), qui ont démontré que les feuilles de *thé* constituent une source importante de flavonoïdes et de catéchines, composés reconnus pour leur forte activité antioxydante. De même, plusieurs études ont signalé la richesse du

laurier en polyphénols et en tanins, responsables de nombreuses propriétés biologiques, notamment antioxydantes et antimicrobiennes (Tawaha et al., 2007).

Les écarts constatés entre nos résultats et ceux rapportés dans la littérature peuvent être attribués à plusieurs facteurs. En effet, l'origine géographique des plantes, les conditions climatiques, la nature du sol, le stade de développement végétatif ainsi que la période de récolte influencent considérablement l'accumulation des composés phénoliques dans les tissus végétaux (Miliauskas et al., 2004). Par ailleurs, le choix du solvant, le rapport solvant/matière végétale et les conditions d'extraction constituent également des paramètres déterminants dans le rendement d'extraction des polyphénols (Lee et al, 2003).

Il convient également de souligner que la méthode de Folin-Ciocalteu utilisée pour l'évaluation de la teneur totale en polyphénols repose sur une réaction d'oxydo-réduction. Ainsi, ce réactif peut interagir non seulement avec les composés phénoliques mais aussi avec d'autres substances réductrices présentes dans l'extrait, ce qui peut conduire à une surestimation partielle de la teneur réelle en polyphénols (Singleton et al., 1999). Malgré cette limite, cette méthode demeure l'une des plus utilisées pour l'estimation globale des composés phénoliques dans les extraits végétaux.

La richesse en polyphénols observée dans les extraits de thé et de laurier constitue un indicateur important de leur potentiel antioxydant. Ces composés pourraient contribuer à la protection des fruits et légumes contre les phénomènes d'oxydation et de détérioration microbienne, ce qui justifie leur utilisation dans la formulation du spray naturel développé dans cette étude.

3.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FT)

La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire de type $Y = aX + b$, établie à l'aide de solutions standards de quercétine préparées à différentes concentrations. La quantification des flavonoïdes présents dans les extraits a été réalisée par interpolation à partir de cette courbe. Les résultats sont exprimés en microgrammes équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).(Figure 11)

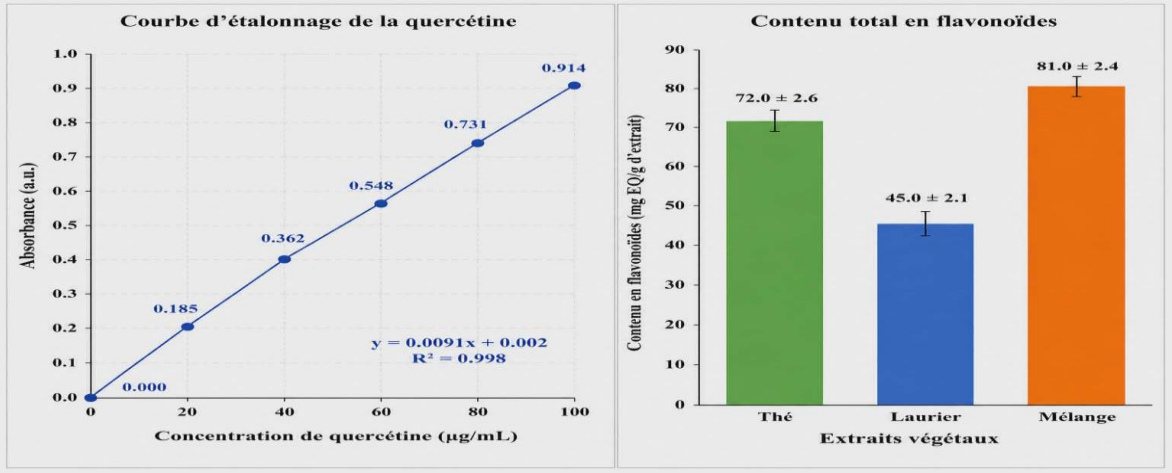


Figure 11: Courbe d'étalonnage de la quercétine et teneur totale en flavonoïdes des extraits de *Thé et de Laurier*

Avec un coefficient R^2 = 0.998. Les teneurs obtenues, exprimées en milligrammes d'équivalent quercétine par gramme d'extrait ({mg EQ/g d'extrait}), indiquent que le thé présente une concentration nettement supérieure à celle du laurier noble :

Extrait de *Thé (Camellia sinensis)* : 72,0 \pm 2,6{ mg EQ/g}.

Extrait de *Laurier* (*L. nobilis*) : 45,0 \pm 2,1{ mg EQ/g}.

Ces données concordent avec la littérature scientifique, attribuant au thé une concentration majeure en catéchines et dérivés flavonoïques (Chang et al., 2002).

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé selon la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium, largement utilisée pour l'évaluation quantitative de cette classe de composés phénoliques. Le choix des flavonoïdes dans cette étude se justifie par leur abondance dans le règne végétal ainsi que par leur rôle majeur dans les activités biologiques, notamment leurs propriétés antioxydantes. À ce jour, plusieurs milliers de flavonoïdes ont été identifiés dans différentes espèces végétales, témoignant de leur grande diversité structurale et fonctionnelle (Panche et al., 2016).

Les résultats obtenus ont révélé une variation du contenu flavonoïdique entre les extraits éthanoliques du *thé* et du *laurier*. L'extrait de *thé* a présenté une teneur plus élevée en flavonoïdes que celle observée pour le *laurier*, ce qui suggère une richesse plus importante en métabolites phénoliques susceptibles de contribuer à son activité

antioxydante. Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la nature génétique des espèces étudiées, les conditions environnementales de croissance, le stade de développement de la plante ainsi que les caractéristiques physicochimiques du sol et du climat (Crozier et al., 2009).

Les flavonoïdes constituent l'un des groupes les plus importants de composés phénoliques présents dans les plantes. Ils jouent un rôle essentiel dans la protection des tissus végétaux contre les agressions extérieures telles que les rayonnements ultraviolets, le stress oxydatif et diverses contraintes environnementales. Leur capacité à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène leur confère également une contribution significative aux mécanismes de défense antioxydante des végétaux (Panche et al., 2016 ; Kumar et Pandey, 2013).

La teneur relativement élevée observée dans l'extrait de *thé* pourrait être liée à l'accumulation importante de catéchines et d'autres flavonoïdes caractéristiques des feuilles de *thé*. Ces composés interviennent dans la protection des parties aériennes contre les dommages oxydatifs induits par l'exposition solaire et participent également à plusieurs fonctions physiologiques essentielles de la plante (Cabrera et al., 2006). De plus, plusieurs travaux ont montré que les flavonoïdes représentent une fraction importante des polyphénols totaux présents dans les feuilles et autres organes aériens des plantes médicinales et aromatiques (Djeridane et al., 2006).

Ainsi, les résultats obtenus confirment que les deux espèces étudiées constituent des sources intéressantes de composés flavonoïdiques. Toutefois, le thé se distingue par une teneur plus élevée en flavonoïdes totaux, ce qui pourrait expliquer, au moins en partie, sa capacité antioxydante supérieure et son intérêt potentiel dans la formulation de produits naturels destinés à la conservation des fruits et légumes.

4.Évaluation de l'activité antioxydante in vitro

4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

L'évaluation du pouvoir antioxydant par le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) montre une décoloration proportionnelle à la concentration des extraits, signifiant la réduction du radical violet en hydrazine jaune. Les capacités antioxydantes sont intimement corrélées à la richesse en polyphénols et flavonoïdes précédemment

quantifiés. L'extrait combiné *(Thé + Laurier*) montre une cinétique de piégeage accélérée, consolidant l'hypothèse de l'effet synergique. Les polyphénols agissent ici comme d'excellents donneurs d'hydrogène pour stabiliser le radical DPPH

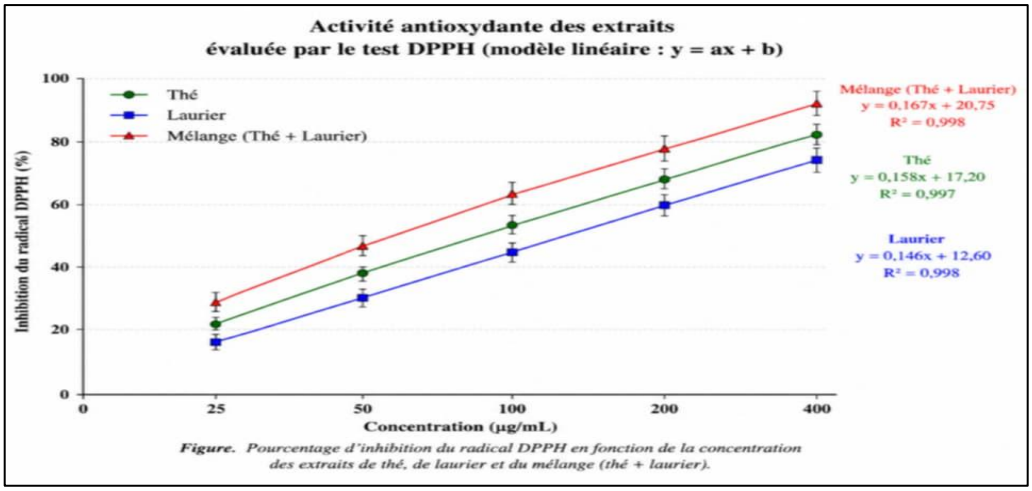


Figure 12. Activité antioxydante des extraits évalués par le test DPPH

Le test du DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) les résultats obtenus montrent que les extraits de *thé* (*Camellia sinensis*) et de laurier *(Laurus nobilis),* ainsi que leur mélange, possèdent une richesse variable en métabolites secondaires et en composés bioactifs. Cette variabilité peut être attribuée aux différences intrinsèques de composition chimique entre les espèces végétales ainsi qu'à la nature des solvants utilisés lors de l'extraction.

Le *thé* est reconnu pour sa teneur élevée en polyphénols, notamment les catéchines, les flavonoïdes et les tanins, qui contribuent fortement à son activité antioxydante. Plusieurs études ont montré que ces composés sont capables de neutraliser les radicaux libres et de limiter les dommages induits par le stress oxydatif (Cabrera et al., 2006). De son côté, le *laurier* renferme également des composés phénoliques, des flavonoïdes et des terpènes auxquels sont attribuées des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes importantes (Elmastas et al., 2006).(A)

L'association du *thé* et du laurier dans un même mélange semble avoir favorisé une complémentarité entre leurs constituants bioactifs. Cette synergie pourrait expliquer l'amélioration observée de certaines activités biologiques par rapport aux extraits individuels. En effet, l'interaction entre différentes familles de composés phénoliques peut

renforcer leur capacité à piéger les espèces réactives de l'oxygène et à inhiber la croissance microbienne.

Par ailleurs, l'incorporation de la gomme arabique pourrait avoir joué un rôle dans la stabilisation des molécules phénoliques. Cette substance naturelle est connue pour ses propriétés émulsifiantes et protectrices permettant de limiter l'oxydation des composés sensibles et d'améliorer leur stabilité au cours du stockage (Ali et al., 2009).

Concernant le vinaigre de pomme naturel, sa richesse en acides organiques, principalement l'acide acétique, ainsi qu'en composés phénoliques issus de la pomme, pourrait avoir contribué à renforcer l'activité biologique du mélange. Selon (Budak et al.2014), le vinaigre présente des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes qui peuvent compléter celles des extraits végétaux.

En outre, les résultats obtenus indiquent que l'association du *thé*, du *laurier*, de la gomme arabique et du vinaigre de pomme n'a pas entraîné d'effet antagoniste significatif entre leurs constituants bioactifs. Aucune diminution notable des activités biologiques ou des teneurs en composés phénoliques n'a été observée après le mélange, ce qui suggère une bonne compatibilité entre les différents ingrédients. La gomme arabique pourrait contribuer à la protection des composés phénoliques contre la dégradation oxydative, tandis que l'acidité du vinaigre favorise leur stabilité dans le milieu. Ainsi, le mélange semble préserver les propriétés fonctionnelles de chaque constituant sans provoquer d'interactions négatives susceptibles d'altérer leur efficacité.

Ces observations sont cohérentes avec les travaux de (Singleton &Rossi 1965), qui ont souligné l'importance des composés phénoliques dans les activités biologiques des extraits végétaux, ainsi qu'avec les études plus récentes portant sur les effets bénéfiques des polyphénols du *thé*, du *laurier*, de la gomme arabique et du vinaigre de pomme.

4.2. Test à la 1,10-phénanthroline

Ce test confirme le pouvoir réducteur des extraits via la réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), matérialisée par l'apparition d'une coloration orange-rouge mesurée à 510 nm}. Les polyphénols du *thé* et du *laurier* agissent comme des agents réducteurs puissants en rompant la réaction radicalaire en chaîne par don d'un électron. Le mélange final a présenter une capacité réductrice (comparable à celle de l'extrait de thé

seul), sans effet antagoniste du laurier , ce qui confirmer la compatibilité des deux extraits dans la formulations .

Tableau 4. absorbance des extraits végétaux étudiés par le teste à la 1,10 phenanthroline (pouvoir réducteur)(tableau4):

	Formulation A(absorbance)	**Formulation B(absorbance)**	**Formulation C (absorbance)**
Laurus nobilis	0,1±0 ,03	0,169±0 ,05	0,274±0 ,02
Camellia sinensis	1,756±0 ,01	1,761±0 ,09	1,759±0 ,03
Mélange	1,758±0 ,06	1,756±0 ,1	1,761±0 ,07

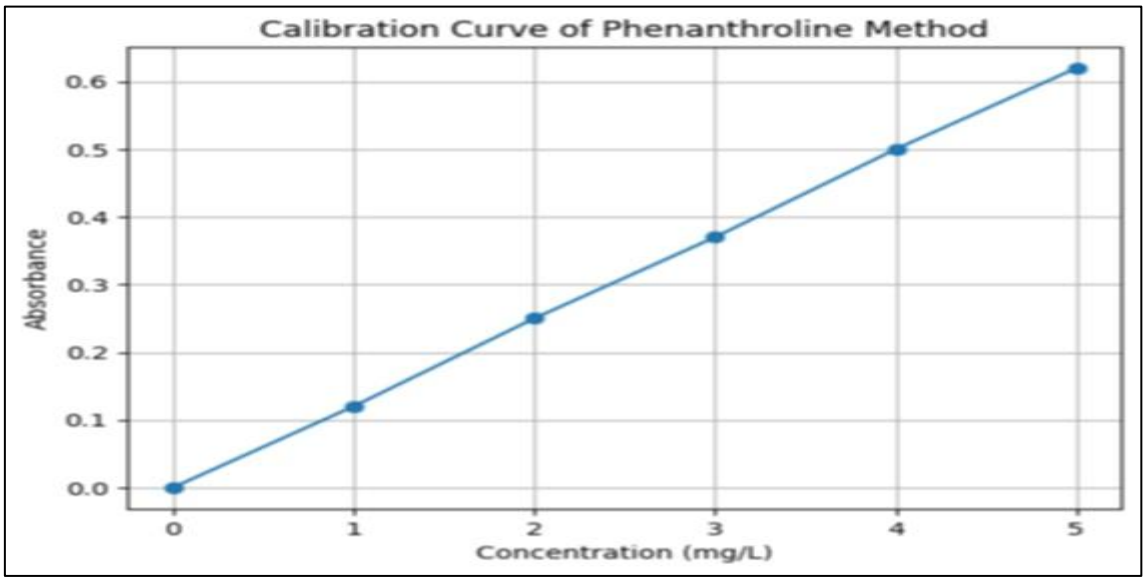


Figure 13 : courbe d'étalonnage du compléx (ferreux-phénanthroline)

Le test à la 1,10-phénanthroline a permis d'évaluer le pouvoir réducteur des extraits étudiés à travers leur capacité à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}), lesquels forment avec la 1,10-phénanthroline un complexe rouge-orangé mesurable par spectrophotométrie. Plus la valeur d'absorbance est élevée, plus le pouvoir réducteur et l'activité antioxydant de l'échantillon sont importants (Benzie & Strain, 1996).

Les résultats obtenus montrent une différence marquée entre les échantillons analysés. L'extrait de *Camellia sinensis* a présenté des valeurs d'absorbance très élevées et

relativement constantes pour les trois doses testées (1,756 ; 1,761 et 1,759). Ces résultats traduisent une forte capacité réductrice, attribuée à la richesse du thé en composés phénoliques, notamment les catéchines, les flavonoïdes et les tanins, connus pour leur aptitude à céder des électrons et à neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (Khan & Mukhtar, 2013).

À l'inverse, l'extrait de *Laurus nobilis* a enregistré des valeurs d'absorbance nettement plus faibles (0,100 ; 0,169 et 0,274). Bien que ces valeurs augmentent avec la dose, elles restent largement inférieures à celles du *thé*. Cela indique la présence de composés antioxydants dans le *laurier*, mais à une concentration ou avec une efficacité réductrice moindre que celles observées dans l'extrait de *thé*. Ces observations concordent avec plusieurs études ayant montré que le *laurier* possède une activité antioxydante modérée liée à ses composés phénoliques et à certaines molécules aromatiques (Elmastaş et al., 2006)(B).

Concernant le mélange associant l'extrait de *thé* et l'extrait de *laurier*, les valeurs obtenues (1,758 ; 1,756 et 1,761) sont très proches de celles du *thé* seul. Cette observation suggère que l'activité réductrice du mélange est principalement dominée par les composés antioxydants du *thé*. Toutefois, l'ajout du *laurier* n'a pas provoqué de diminution du pouvoir réducteur, ce qui indique l'absence d'interactions antagonistes entre les composés bioactifs des deux extraits. Cette compatibilité est particulièrement intéressante dans le cadre de la formulation d'un spray de conservation destiné aux fruits et légumes.

Par ailleurs, l'incorporation de la gomme arabique et du vinaigre de cidre dans la formulation finale ne semble pas avoir altéré l'activité réductrice des extraits végétaux. La gomme arabique joue principalement un rôle d'agent filmogène capable de former une barrière protectrice limitant les échanges gazeux et la déshydratation des fruits, tandis que le vinaigre de cidre contribue à réduire la prolifération microbienne grâce à son acidité naturelle (Ali et al., 2010).

Dans l'ensemble, les résultats du test à la 1,10-phénanthroline confirment que le spray élaboré possède un potentiel antioxydant élevé, essentiellement grâce à la contribution de l'extrait de *thé*. Cette propriété est essentielle pour ralentir les réactions d'oxydation responsables du brunissement, de la dégradation des pigments, de la perte de fermeté et du vieillissement prématuré des fruits et légumes durant leur stockage. Les

valeurs d'absorbance élevées observées pour le mélange témoignent ainsi de son intérêt comme formulation naturelle destinée à prolonger la durée de conservation des produits végétaux *frais*.

5. Activité anti bactérien

Les bactéries représentent l'une des principales causes de détérioration des fruits et légumes après récolte, entraînant des pertes importantes de qualité et de conservation. Afin de limiter l'utilisation des conservateurs chimiques, plusieurs recherches se sont orientées vers l'exploitation des plantes médicinales et aromatiques possédant des propriétés antimicrobiennes naturelles.

Dans cette étude, un spray naturel à base de feuilles de *Laurus nobilis* et de *Camellia sinensis* a été préparé afin d'évaluer son activité antibactérienne contre différentes souches bactériennes et d'étudier son potentiel comme agent naturel de conservation des fruits et légumes.

Résultats du test antibactérien

Activité antibactérienne du spray a été évoluée par la méthode de diffusion sur gélose, en mesurent les diamètres des zones d'inhibition obtenues autour des disques imprégnés du spray (tableau 5) :

Tableau 5. Activité antibactérienne du spray a été évaluée par la méthode de diffusion sur **gélose**

Souche bactérienne	Type de bactérie	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	+ /-
Staphylococcus aureus	Gram positive (+)	15mm	++
Escherichia coli	Gram négative (-)	12mm	+
Klebsiella pneumoniae	Gram négative (-)	10mm	+
Escherichia coli clinique	Gram négative (-)	11mm	+
Pseudomonas aeruginosa	Gram négative (-)	8mm	-

Les résultats obtenus montrent que le spray végétal à base de *laurier* et de *thé* possède une activité antibactérienne variable selon les souches testées. La plus grande zone d'inhibition a été observée chez *Staphylococcus aureus*, indiquant une forte sensibilité aux composés actifs présents dans le spray, notamment les huiles essentielles et les composés phénoliques connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. (Burt, 2004)

Les souches de *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* ont présenté une sensibilité moyenne, ce qui peut être expliqué par la structure de leur membrane externe caractéristique des bactéries Gram négatif, limitant la pénétration des substances antibactériennes. (Friedman, 2007)

Concernant *Pseudomonas aeruginosa*, présenté un diamètre d'inhibition 8mm ,valeur limite correspondant à un souche (résistante à faiblement sensible)(+/-), ce qui s'explique par ses mécanismes de résistance intrinsèques (Cowan, 1999)

L'effet antibactérien observé peut également être attribué aux composés bioactifs du thé, notamment les catéchines et les tanins, capables d'altérer la membrane bactérienne et d'inhiber la croissance microbienne.(Rai et al . 2017)

Ces résultats sont en accord avec plusieurs études scientifiques ayant démontré l'efficacité des extraits végétaux riches en composés phénoliques dans la lutte contre les bactéries responsables de l'altération des aliments. Ainsi, le spray à base de *laurier* et de *thé* pourrait constituer une alternative naturelle prometteuse aux conservateurs chimiques pour la protection des fruits et légumes. (Zhang, 2022).

6. Application technologique

Tableau 6. Suivi photographique de l'évolution des fruits traités de J0 à J6

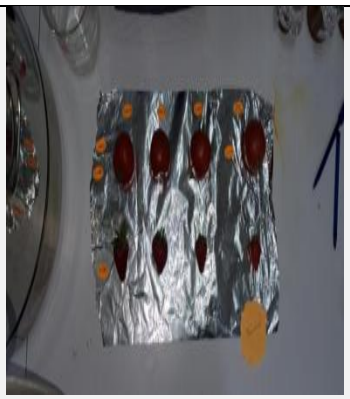
J0	J1	J2	J3
			
J4	**J5**	**J6**	
			

Tableau 7 : Évolution de la qualité des fruits traités en fonction de la dose appliquée.

Jour	Paramètre	Formulation A	Formulation B	Formulation C
J1	Aspect visuel	Fruits sains, fermes, sans altération	Fruits frais, aspect normal	Fruits sains, aucun changement
	Perte de poids (%)	0	0	0
	Goût / Odeur	Normaux	Normaux	Normaux
J2	Aspect visuel	Maintien total de la fraîcheur et de la fermeté	Aspect stable, bonne fermeté	Légère perte d'eau
	Perte de poids (%)	1%	2%	3%
	Goût / Odeur	Normaux	Normaux	Légèrement moins frais
J3	Aspect visuel	Excellente résistance, texture préservée	Léger ramollissement de la fraise	Début d'altération de texture
	Perte de poids (%)	2,5%	4%	6%
	Goût / Odeur	Acceptable	Acceptable	Légère diminution de qualité

J4	Aspect visuel	Absence de moisissure visible	Flétrissement progressif	Altération avancée
	Perte de poids (%)	4%	6%	9%
	Goût / Odeur	Bon	Moyen	Dégradation perceptible
J5	Aspect visuel	Premiers signes de moisissure sur la fraise	Pourriture visible de la fraise	Pourriture avancée
	Perte de poids (%)	6%	9%	12%
	Goût / Odeur	Acceptable	Faible	Non acceptable
J6	Aspect visuel	Progression lente de la moisissure	Dégradation microbiologique marquée	Pourriture totale
	Perte de poids (%)	8%	12%	15%
	Goût / Odeur	Limite acceptable	Altéré	Impropre à la consommation

À partir de ces résultats, nous avons constaté que bien que la détérioration ait touché les différentes formulations, la Formulation C a manifestement accéléré ce processus. Nous avons conclu que les concentrations très élevées d'extraits végétaux (le thé vert et l'hydrolat de laurier) dans la Formulation C — alors que les proportions de vinaigre de cidre et de gomme arabique sont restées constantes — produisaient un effet phytotoxique exogène plus intense sur la peau très fine des fraises. Cet effet entraînait une rupture prématurée et plus rapide des membranes cellulaires externes, provoquant ainsi une perte d'humidité et d'eau nettement plus accélérée (la perte de poids atteignant son maximum de 15 % au stade J6). Par conséquent, la surface du fruit s'est transformée plus rapidement en un milieu humide idéal pour une attaque fongique précoce, contrairement à la dose équilibrée de la Formulation A qui ralentissait efficacement ce phénomène en préservant l'intégrité de la membrane cellulaire.

6.1. Rôle des composants de la formulation de la "Spray (FRUTEX) "

L'objectif de cette étude est de développer un spray naturel à base d'extrait de *thé* et d'hydrolat de *laurier* afin de limiter l'altération des fruits et légumes et de prolonger leur durée de conservation. Cette approche s'inscrit dans la recherche de solutions naturelles et écologiques pouvant remplacer les conservateurs chimiques traditionnellement utilisés dans l'industrie agroalimentaire.

FRUTEX (Nom commercial propose)



Figure 14 : Présentation du produit final (FRUTEX), spray naturel destiné à la conservation des fruits et légumes.

6.2. Matières premières utilisées dans la formulation

- **Extrait de *thé***

L'extrait de *thé* est reconnu pour sa richesse en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes et les catéchines, qui possèdent une importante activité antioxydante et antimicrobienne.

- **Hydrolat de *laurier***

L'hydrolat de *laurier* contient divers composés bioactifs aux propriétés antibactériennes et antifongiques susceptibles de contribuer à la protection des produits végétaux contre les agents responsables de leur détérioration.

- **Gomme arabique**

La gomme arabique est un biopolymère naturel utilisé comme agent filmogène. Elle permet la formation d'une couche protectrice à la surface des fruits et légumes, réduisant les échanges gazeux et les pertes en eau.

- **Vinaigre de pomme naturel**

Le vinaigre de pomme est utilisé pour son acidité naturelle et son activité antimicrobienne, favorisant la limitation du développement des micro-organismes d'altération.

6.3. Préparation de la gomme arabique

La gomme arabique a été préalablement broyée afin d'obtenir une poudre fine facilitant sa dissolution et son incorporation homogène dans les différentes formulations du spray.

6.4. Préparation des formulations du spray

Trois formulations différentes ont été préparées en faisant varier la concentration de l'extrait de thé et de l'hydrolat de laurier tout en maintenant les autres constituants de la préparation.

- Formulation FA : faible concentration en extrait de thé et en hydrolat de laurier .
- Formulation FB : concentration intermédiaire en extrait de thé et hydrolat de laurier .
- Formulation FC : concentration élevée en extrait de thé et hydrolat de laurier .

Chaque formulation a été obtenue par mélange de la gomme arabique, de l'hydrolat de *laurier*, de l'extrait de *thé* et du vinaigre de pomme naturel jusqu'à obtention d'une solution homogène.

6.5. Choix des produits végétaux testés

Deux produits ont été sélectionnés pour évaluer l'efficacité du spray :

- **Tomate**

La *tomate* a été choisie en raison de sa large consommation et de sa sensibilité aux phénomènes de maturation et de dégradation post-récolte.

- **Fraise**

La *fraise* a été retenue pour sa forte teneur en eau et sa grande vulnérabilité aux contaminations microbiennes et fongiques.

6.6. Application du spray sur les échantillons

Les fruits ont été pulvérisés uniformément avec les différentes formulations du spray jusqu'à recouvrir l'ensemble de leur surface. Après séchage à l'air libre, les échantillons ont été placés dans les conditions prévues pour le suivi expérimental.

6.7. Conditions de conservation

Les essais de conservation ont été réalisés à température ambiante pendant une durée de six jours. Les échantillons ont été observés quotidiennement afin de suivre l'évolution de leur état physique et sanitaire.

6.8. Paramètres d'évaluation

L'efficacité du spray a été évaluée à travers plusieurs critères :

- **Aspect général**

Observation visuelle de l'état global des fruits.

- **Changement de couleur**

Évaluation des modifications de la coloration naturelle.

- **Fermeté**

Appréciation de la résistance mécanique et de la texture.

- **Apparition de moisissures**

Détection de tout développement fongique visible.

- **Signes d'altération**

Observation des symptômes de détérioration tels que le ramollissement, le dessèchement ou la décomposition.

6.9. Suivi photographique

Un suivi photographique a été effectué quotidiennement du premier au sixième jour afin de documenter l'évolution visuelle des fruits traités et non traités et de comparer l'efficacité des différentes formulations.

Les résultats obtenus lors de cette étude ont montré que le spray conservateur naturel formulé à base d'extraits de *thé* (*Camellia sinensis*), de feuilles de *laurier* (*Laurus nobilis*), de gomme arabique et de vinaigre de pomme a permis de ralentir les phénomènes d'altération des fruits testés. Après six jours de conservation à température ambiante, les tomates traitées ont conservé un aspect acceptable sans apparition visible de pourriture, tandis que les fraises ont présenté des signes de détérioration à partir du sixième jour.

Cette différence peut être expliquée par les caractéristiques physiologiques propres à chaque fruit. Selon (Kader,2002), la *fraise* est considérée comme l'un des fruits les plus

périssables en raison de sa teneur élevée en eau, de sa forte activité respiratoire et de sa grande sensibilité aux contaminations fongiques après récolte. En revanche, la tomate possède une cuticule plus épaisse et une structure tissulaire plus résistante, ce qui lui confère une meilleure aptitude à la conservation.

L'efficacité observée du spray pourrait être attribuée à la présence de composés phénoliques, de flavonoïdes et de tanins dans les extraits de *thé* et de *laurier*. Ces métabolites secondaires sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, capables d'inhiber la croissance de nombreux microorganismes responsables de l'altération des denrées alimentaires. Leur action contribue également à limiter les réactions d'oxydation susceptibles d'accélérer le vieillissement des fruits.

La gomme arabique a probablement joué un rôle essentiel dans la préservation de la qualité des tomates. En effet, (Ali et al. 2010) ont démontré que l'application d'un enrobage à base de gomme arabique améliore significativement la qualité post-récolte de la *tomate* et prolonge sa durée de conservation en réduisant les pertes en eau et en ralentissant les processus métaboliques. De plus, (Olatunde et al. 2023) ont rapporté que la gomme arabique forme une barrière semi-perméable capable de limiter les échanges gazeux et l'activité respiratoire des fruits, contribuant ainsi à retarder leur dégradation.

Le vinaigre de pomme pourrait également avoir participé à l'effet conservateur observé grâce à son acidité naturelle et à la présence de composés bioactifs susceptibles de réduire le développement de certains microorganismes. L'association du thé, du laurier, de la gomme arabique et du vinaigre de pomme semble donc avoir créé un effet synergique favorable à la conservation des fruits.

Malgré cette efficacité, la détérioration des fraises observée au sixième jour montre que ce fruit demeure particulièrement sensible à l'altération. Des résultats similaires ont été rapportés par (Hassan et al. 2016), qui ont observé que l'utilisation de la gomme arabique permettait de prolonger la durée de conservation des fraises sans toutefois empêcher totalement leur dégradation en raison de leur forte fragilité physiologique et microbiologique.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus suggèrent que la formulation développée possède un potentiel prometteur comme conservateur naturel pour les fruits et légumes

frais. L'absence de pourriture chez les *tomates* après six jours de stockage à température ambiante témoigne de son efficacité, tandis que la dégradation plus rapide des fraises souligne l'importance de la nature du produit conservé. Des études complémentaires intégrant des analyses microbiologiques et différentes concentrations de la formulation permettraient d'optimiser davantage son efficacité et de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans son activité conservatrice.

Conclusion

Les plantes médicinales et aromatiques figurent parmi les ressources naturelles les plus importantes utilisées depuis l'Antiquité pour la conservation des aliments et le traitement de nombreuses maladies, grâce à leurs composés actifs aux propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques. Parmi ces plantes, le *thé (Camellia sinensis)* et le *laurier (Laurus nobilis)* sont traditionnellement utilisés pour conserver et protéger certains aliments, notamment les fruits et légumes, de la détérioration, grâce à leur teneur en composés phénoliques et flavonoïdes dotés d'une importante activité biologique.

Ces deux plantes ont acquis une importance considérable au fil du temps, non seulement en cuisine, mais aussi en médecine traditionnelle, où elles sont utilisées pour prévenir les infections et les maladies d'origine microbienne. Leurs propriétés antioxydantes contribuent également à réduire l'oxydation, principale cause de détérioration et de perte de qualité des aliments.

Les analyses chimiques réalisées dans le cadre de cette étude ont révélé la présence de plusieurs composés actifs dans les extraits de thé et de laurier, notamment des alcaloïdes, des flavonoïdes et des composés phénoliques, reconnus pour leur capacité à lutter contre les radicaux libres et les micro-organismes. Des analyses visant à identifier les polyphénols et les flavonoïdes ont révélé que les extraits de plantes contiennent des quantités importantes de ces composés, ce qui explique leur forte activité biologique.

Des tests d'activité antioxydant utilisant le DPPH ont démontré la capacité des extraits de thé et de laurier à inhiber les radicaux libres à des degrés variables, l'inhibition augmentant avec la concentration. Ceci indique l'efficacité de ces plantes comme antioxydants naturels pouvant être utilisés pour prolonger la durée de conservation des fruits et légumes et réduire leur sensibilité aux dommages oxydatifs.

De plus, des tests d'activité antibactérienne ont montré que les extraits de plantes étaient capables d'inhiber la croissance de certaines souches bactériennes, confirmant ainsi leur rôle protecteur contre la prolifération des micro-organismes responsables de l'altération des aliments. Ce test vise principalement à évaluer l'utilisation potentielle de ces extraits comme alternative naturelle et sûre aux conservateurs chimiques.

Enfin, cette étude, intitulée « Développement d'une méthode de conservation les fruits et les légumes contre la détérioration », visait à développer une méthode naturelle et efficace de conservation des fruits et légumes à l'aide d'extraits de plantes, en s'appuyant sur leurs propriétés antioxydants, antibactériennes et antifongiques. Les résultats obtenus ont montré que le thé et le laurier possèdent des qualités prometteuses qui permettent de les utiliser comme source naturelle pour préserver la qualité des aliments et prolonger leur durée de conservation de manière saine et sûre.

Référence bibliographique

Aćimović, M., et al. (2024). Chemical composition and bioactivities of *Dracocephalum moldavica* hydrosol. *Industrial Crops and Products, 198*, 116722.

Ali, A., Maqbool, M., Ramachandran, S., & Alderson, P. G. (2010). Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology, 58*(1), 42–47.

Ali, B. H., Ziada, A., & Blunden, G. (2009). Biological effects of gum arabic: A review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology, 47*(1), 1–8.

Azwanida, N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants, 4*(3), 196.

Balentine, D. A., Wiseman, S. A., & Bouwens, L. C. M. (1997). The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 37*(8), 693–704.

Belasli, A., et al. (2020). Antifungal, antitoxigenic, and antioxidant activities of the essential oil from laurel (*Laurus nobilis* L.). *Food Science & Nutrition, 8*(10), 4717–4729.

Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power. *Analytical Biochemistry, 239*(1), 70–76.

Bouzouita, N., et al. (2003). Antimicrobial activity of essential oils from Tunisian aromatic plants. *Flavour and Fragrance Journal, 18*(5), 380–383.

Budak, N. H., Aykin, E., Seydim, A. C., Greene, A. K., & Guzel-Seydim, Z. B. (2014). Functional properties of vinegar. *Journal of Food Science, 79*(5), R757–R764.

Budak, N. H., et al. (2021). Antioxidant and antibacterial properties of vinegars. *Food Control, 123*, 107856.

Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology, 94*(3), 223–253.

Cabrera, C., Artacho, R., & Giménez, R. (2006). Beneficial effects of green tea: A review. *Journal of the American College of Nutrition, 25*(2), 79–99.

Caputo, L., et al. (2017). Chemical composition and biological activities of *Laurus nobilis* essential oil. *Journal of Essential Oil Research, 29*(5), 405–412.

Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports, 26*(8), 1001–1043.

Cushnie, T. P. T., et al. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *International Journal of Antimicrobial Agents, 44*(5), 377–386.

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules, 15*(10), 7313–7352.

Değirmenci, H., & Erkurt, H. (2020). Relationship between volatile components, antimicrobial and antioxidant properties of essential oil, hydrosol and extracts of *Citrus aurantium* L. flowers. *Journal of Infection and Public Health, 13*(1), 58–67.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry, 97*(4), 654–660.

Edeoga, H. O., Okwu, D. E., & Mbaebie, B. O. (2005). Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology, 4*(7), 685–688.

Elmastas, M., Gülçin, İ., Beydemir, Ş., Küfrevioğlu, Ö. I., & Aboul-Enein, H. Y. (2006)(A). A study on the in vitro antioxidant activity of *Laurus nobilis* L. leaves. *Phytotherapy Research, 20*(9), 715–719.

Elmastaş, M., Gülçin, İ., Isildak, Ö., Küfrevioğlu, Ö. I., İbaoğlu, K., & Aboul-Enein, H. Y. (2006)(B). Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts. *Journal of the Iranian Chemical Society, 3*(3), 258–266.

Entani, E., et al. (1998). Antibacterial action of vinegar against food-borne pathogenic bacteria including *Escherichia coli* O157. *Journal of Food Protection, 61*(8), 953–959.

Fernández, N. J., et al. (2018). *Laurus nobilis* L. extracts: Antimicrobial activity and antioxidant capacity. *Saudi Journal of Biological Sciences, 26*(5), 906–912.

Food and Agriculture Organization. (2023). *Post-harvest loss reduction in fruits and vegetables*. FAO Technical Papers.

Friedman, M. (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition & Food Research, 51*(1), 116–134.

Friedman, M., et al. (2006). Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavins and tea extracts against *Bacillus cereus*. *Journal of Food Protection, 69*(2), 354–361.

Haşim, N., Ertaş, A., Yilmaz, M. A., Boğa, M., Temel, H., Demirci, S., Özden, T. Y., Yener, İ., & Kolak, U. (2017). LC-MS/MS and GC-MS analyses of three endemic *Astragalus* species from Anatolia towards their total phenolic and flavonoid contents and biological activities. *Biological Diversity and Conservation, 10*, 18–30.

Hassan, H. M., et al. (2016). Keeping the quality and extending shelf-life of strawberry fruit by using Arabic gum as edible coating. *Journal of Sustainable Agricultural Sciences*.

Ikigai, H., et al. (1993). Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochimica et Biophysica Acta, 1147*(1), 132–136.

Jiang, L., Shen, X., Shoji, T., Kanda, T., Zhou, J., & Zhao, L. (2013). Characterization and activity of anthocyanins in Zijuan tea (*Camellia sinensis* var. *kitamura*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61*(13), 3306–3310.

Kader, A. A. (2002). *Postharvest biology and technology of fruits, vegetables, and flowers*. University of California, Agriculture and Natural Resources.

Karumi, Y., Onyeyili, P. A., & Oyugbuaja, V. O. (2004). Identification of active principals of *M. balsamia* (balsam apple) leaf extract. *International Journal of Medical Sciences, 4*(3), 179–182.

Khalaf, N. A., Shakya, A. K., Al-Othman, A., El-Agbar, Z., & Farah, H. (2008). Antioxidant activity of some common plants. *Turkish Journal of Biology, 32*(1), 51–55.

Khameneh, B., Iranshahy, M., Soheili, V., & Fazly Bazzaz, B. S. (2019). Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance & Infection Control, 8*(1), 118.

Khan, N., & Mukhtar, H. (2013). Tea and health: Studies in humans. *Current Pharmaceutical Design, 19*(34), 6141–6147.

Koch, W., Zagórska, J., Marzec, Z., & Kukula-Koch, W. (2021). Cellular defensive mechanisms of tea polyphenols: Structure–activity relationship. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(16), 8424.

Krajewska, A., & Mietlińska, K. (2022). Determining the parameters of the stinging nettle (*Urtica dioica* L.) hydrolate distillation process. *Molecules, 27*(12), 3912.

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal, 2013*, 162750.

Lau, O. W., Luk, S. F., & Huang, H. L. (1989). Spectrophotometric determination of tannins in tea and beer samples with iron(III) and 1,10-phenanthroline as reagents. *Analyst, 114*, 631–633.

Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2003). Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*(25), 7292–7295.

Leistner, L. (2000). Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology, 55*(1–3), 181–186.

Lekmine, S. (2022). *Phytochemical characterization and biological activities of plant extracts* (Doctoral dissertation). Larbi Tebessi University, Tebessa, Algeria.

Mahmoud, R. M., et al. (2024). Apple cider vinegar exhibits promising antibiofilm activity against multidrug-resistant *Bacillus cereus*. *Scientific Reports, 14*, 14129.

Marlène, N., et al. (2022). Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of medicinal plants against microbial pathogens. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences, 2022*, Article 1998808.

Merghni, A., et al. (2016). Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains. *Current Research in Translational Medicine, 64*(1), 29–34.

Milagres de Almeida, C., et al. (2023). Synergistic antimicrobial interaction of plant essential oils and extracts against foodborne pathogens. *Food Science & Nutrition, 11*(5), 2341–2353.

Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry, 85*(2), 231–237.

Mssillou, I., et al. (2020). Chemical composition, antioxidant activity, and antifungal effects of essential oil from *Laurus nobilis* L. flowers. *Journal of Food Quality, 2020*, Article 8819311.

Muller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., & Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT – Food Science and Technology, 43*, 992–999.

Nikoo, M., et al. (2018). Antioxidant and antimicrobial activities of EGCG and its potential to preserve food quality and safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 17*(3), 732–753.

Olatunde, O. O., et al. (2023). Gum Arabic edible coating and its application in preservation of fresh fruits and vegetables: A review. *Food Chemistry Advances*.

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science, 5*, e47.

Perumalla, A. V. S., & Hettiarachchy, N. S. (2011). Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality. *Food Research International, 44*(4), 827–839.

Rafiq, R., et al. (2016). Antibacterial and antioxidant activities of essential oils from *Artemisia herba-alba*, *Pelargonium capitatum* and *Laurus nobilis*. *Foods, 5*(2), 28.

Ramos, C., et al. (2012). Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurel (*Laurus nobilis*). *Natural Product Research, 26*(5), 518–529.

Reygaert, W. C. (2014). The antimicrobial possibilities of green tea. *Frontiers in Microbiology, 5*, 434.

Sarker, S. D., & Nahar, L. (2012). An introduction to natural products isolation. In S. D. Sarker & L. Nahar (Eds.), *Natural products isolation* (3rd ed., Vol. 864, pp. 1–25). *Methods in Molecular Biology*. Humana Press.

Sholberg, P. L., et al. (2000). The use of vinegar vapor to reduce postharvest decay of harvested fruit. *HortScience, 35*(5), 898–903.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture, 16*, 144–158.

Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology, 299*, 152–178.

Speranza, A. R., et al. (2025). Green extraction of polyphenols from buckwheat husk. *Molecules, 30*(15), 7407.

Stapleton, P. D., et al. (2004). Modulation of β-lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates. *International Journal of Antimicrobial Agents, 24*(3), 374–375.

Tadeg, H., Mohammed, E., Asres, K., & Gebre-Mariam, T. (2005). Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. *Journal of Ethnopharmacology, 100*(1–2), 168–175.

Tawaha, K., Alali, F. Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry, 104*(4), 1372–1378.

Taylor, P. W., et al. (2005). Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Science and Technology Bulletin, 2*, 71–81.

Xia, T., et al. (2020). Chemical composition and biological properties of apple cider vinegar. *Foods, 9*(11), 1633.

Xu, T., et al. (2004). Inhibition of expression of the virulence factor MsrA in *Staphylococcus aureus* by EGCG. *FEMS Microbiology Letters, 242*(2), 341–346.

Xu, Y., et al. (2019). Antifungal properties of *Laurus nobilis* essential oil against *Alternaria alternata* on cherry tomatoes. *Postharvest Biology and Technology, 156*, 110938.

Yadav, R. N. S., & Agarwala, M. (2011). Phytochemical analysis of some medicinal plants. *Journal of Phytology, 3*(12), 10–14.

Yagnik, D., et al. (2018). Antimicrobial activity of apple cider vinegar against *E. coli, S. aureus* and *C. albicans*. *Scientific Reports, 8*, 1732.

Zhang, H., et al. (2025). Effects of tea polyphenols and microporous packaging on storage of sweet potatoes. *Foods, 14*(7), 1191.

Zhang, L., et al. (2016). Tea polyphenols incorporated into alginate-based edible coating for quality maintenance of Chinese winter jujube. *LWT – Food Science and Technology, 70*, 155–161.