



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR - KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Master académique

FILIERE : Science biologique

OPTION : Biochimie appliquée

Thème

Exploration de l'activité antioxydante d'Arbutus
unedo L

Présenté par :

M^{elle} HANOU Hanane

M^{elle} ABDI Lemya

Encadré par:

BOUSSAA A.Elhalime

Setenu le 06/07/2017

Jury de soutenance :

Président : Dr. MAAMAR H. (M.C.B) Univ. Abbès Laghrou

Encadreur : Mr. BOUSSAA A. (M.A.A) Univ. Abbès Laghrou Khenchela

Examineur : Mr. Habibatni S (M.A.B) Univ. Abbès Laghrou-Khenchela

Le travail à été réalisé au laboratoire de Biologie à l'Université Abbès Laghrou
- Khenchela -



REMERCIEMENT

Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à remercier :

*Notre respecté encadreur **BOUSSAA Abd El Halime**, pour son encadrement, ses nombreux conseils et ses compétences scientifiques qui nous ont aidés tout au long de ce travail. Merci pour son soutien, ses nombreux encouragements et sa confiance.*

Les membres de jury, Que chacun d'entre eux soit vivement remercié de nous avoir fait l'honneur d'accepter, de participer à ce jury, et le plaisir d'assister à notre soutenance. Recevez, l'expression de notre respectueuse gratitude pour l'attention et l'intérêt qui a été porté à ce travail.

Nous adressons un grand remerciement à l'ensemble des étudiants de master 2 Biochimie, ainsi que tous les étudiants du département de biologie.

Nous tenons à remercier aussi,

Le personnel de l'institut universitaire de biologie de la wilaya de Khenchela.

Nos enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Enfin, nous n'oublions pas de dire merci à nos familles car sans eux ce travail n'aurait pas vu le jour, et à tout ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de notre profonde gratitude.

Merci à tous ...



Dédicace

À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ; Ma mère «**Naima**» qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

À mon cher père «**Abd El Aziz**» qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice, ses conseils et ses encouragements.

Je le dédie également à notre encadreur;

Monsieur «**BOUSSAÏ Abd El Halime**»

À mon frère «**Abd El Rahman**», À mes soeurs : **Fadwa, Rania, Wissal.**

Merci de l'irremplaçable et inconditionnel soutien.

À toute ma famille, surtout **Souhila, Nirmine** et **Assala** et Ma tante **Zahra** et mon oncle **Houcine** mes grandes mères **Fatma** et **Djamaa.**

À mes amis **Wissam** et **Widad** et **Khadidja** et **Sarra** et **Meriem** et **Faiza.**

À ma copine **Hanan**

ABDI Lemya

Dédicace:

À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie
J'ai pu réaliser ce travail que je dédie:

**mes très chers parents*

« Hafsia, Omar » pour leur sacrifice,
Et leur encouragement.

**A mes tous chères frères:*

Nour eddine, Cherif, Tayeb, Morad, Ibrahim, Ismaïl, Samir,
Salim, Ali.

*SPECIALLEMENT **NOUR ELDDINE ET CHERIF** qui
sont Mon plus haut exemple et Mon modèle de persévérance
pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour
son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la
vie et pour ses précieux conseils.*

*J'espère que ce mémoire sera à la hauteur de tes attentes et
qu'elle Soit l'accomplissement de tous tes efforts.*

** Mes soeurs:*

HIZIA, FADHMA, CHWIKHA, NOURA, a l'âme de ma sœur
zakia.

A ma sœur **Linda** qui m'a redonné le sourire et fait retrouver la
joie de vivre.

**A toute ma grande famille «HANOU»*

***** A mes COLLEQUES M2 Biochimie*

*Lesquelles ont partagée des bons moments de Bonheur et moment
les plus difficiles pendant toute la période passée aux études*

**** A Ma Copine lamia*

****je tiens à remercier vivement notre Encadreur*

*A EL HALIM BOUSSAA pour ses précieux conseils, son aide et
son suivi tout le long de Ce travail.*

HANANE HANOU

Résumé

Résumé

Dans le cadre de développement de nouveaux emballages bioactifs pour prolonger la durée de conservation des aliments et leur préservation contre l'oxydation des graisses, on a préparé des films à base de gélatine incorporés par l'extrait des fruits d'*Arbutus unedo* L. Les caractéristiques physicochimiques des films (l'opacité, la solubilité dans l'eau, la perméabilité à la vapeur d'eau et l'activité antioxydante) ont été étudiées. Ensuite, ces films ont été utilisés dans l'emballage du beurre. Pour suivre la qualité du beurre au cours de la conservation, des tests ont été réalisés à savoir le pH, l'acidité, l'indice de saponification, le TBARS et la teneur en peroxyde. Ces tests ont montré des variations d'effets entre les deux films testés et que le film de gélatine incorporé par l'extrait de la plante présente des effets positifs sur le beurre, donc dans la conservation du beurre contre l'oxydation.

Mots clé : Emballages bioactifs, *Arbutus unedo* L., bioconservation, antioxydant.

Abstract

Abstract

As a part of the development of new bioactive packaging, and aiming to increase the shelf life of the foodstuffs and their preservation against fat oxidation. Gelatin-based films incorporated with *Arbutus unedo L* fruits extract are prepared. The physicochemical characteristics of the films (opacity, water solubility, water vapor permeability and antioxidant activity) were studied. Then, gelatin Films were used in the packaging of butter. To pursuit butter quality during conservation, some tests were carried out, such as pH, acidity, saponification index, TBARS and Peroxide. These tests showed variation of effects between the two films and that the gelatin film incorporated by the plant extract present positive effects on the butter and therefore in the preservation of the butter against the oxidation.

Key words: bioactive packaging, *Arbutus unedo L*, antioxydant, bioconsevation.

مُفَصِّلٌ

ملخص

في إطار تطوير و اكتشاف تقنيات جديدة فعالة بيولوجيا للتعبئة و التغليف لإطالة العمر الافتراضي للزبدة و لتجنب أكسدة الدهون قمنا بإعداد نوعين من الأغلفة لتغطية الزبدة, النوع الأول يتكون من الجيلاتين و الجليسيرول أما الغلاف الثاني فيتم إضافة المستخلص الميثانولي لفاكهة *Arbutus unedo L* إلى المكونين السابقين .

لمتابعة درجة الحفاظ على الزبدة المغطاة بالغلافين المحضرين سابقا نقوم أولا بدراسة الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للأغلفة (التعتيم الذوبان في الماء نفاذية بخار الماء و النشاط المضاد للأكسدة) قبل استخدامها ثانيا و بعد تغطية الزبدة بالغلافين قمنا باختبارات درجة المحافظة خلال فترة التخزين لمدة يوم و التي تتمثل في الحموضة, ال pH, التصبن, كمية البيروكسيد و ال TBARS .

أثبتت هذه الاختبارات بعض الاختلافات في التأثير على الزبدة لكلا الغلافين و أن الغلاف الذي يحتوي على المستخلص له تأثير ايجابي في الحفاظ على الزبدة ضد الأكسدة مقارنة بالغلاف الذي لا يحتوي على المستخلص .

الكلمات المفتاحية : *Arbutus unedo L* , أكسدة الدهون , الجيلاتين, الأغلفة, الزبدة, الجليسيرول ,كمية البيروكسيد,

ال TBARS

Liste des abréviations

HR : humidité relative

IAA : industrie agroalimentaire

LDL: Lipoprotéines de faible densité

MDA : diméthyle acétale

pH : potentiel d'hydrogène

Rpm : rotation par minute

SFF : solution formant le film

TBARS : Thiobarbituric acid reactive substances

TCA: Trichloroacétique

Liste des figures

figure	Titre de figure	page
1	Arbutus unedo L. ; Arbuste (1), feuilles (2), fleurs (3), fruits (4) et écorce (5)	5
2	Répartition mondiale d'Arbutus unedo L	6
3	Structure chimique des différents alcaloïdes	9
4	Structure chimique du phénol simple et différents acides phénoliques	11
5	Structure de base des flavonoïdes	12
6	Structure de base des tanins	12
7	Les types d'emballage bioactif	17
8	emballage absorbeur d'oxygène	18
9	exemples de l'emballage actif : L'absorbeur / émetteur de d'eau	19
10	exemple d'emballage éliminant le lactose	20
11	exemple d'emballage éliminant le cholestérol	21
12	emballage émetteur d'éthanol	22
13	Photo du rota vapeur utilisé pour le séchage de l'extrait méthanolique	25
14	Aspect de film d'emballage préparé	32
15	Variation de l'acidité du beurre au cours de stockage réfrigéré	35
16	Variation de pH au cours de la conservation réfrigéré	36
17	Variation de l'indice de peroxyde du beurre au cours de stockage réfrigéré	37
18	Variation de l'indice de saponification du beurre au cours de la conservation réfrigéré	38
19	Courbe d'étalonnage de MDA	39
20	Variation de TBRAS au cours de conservation	40

LISTE DES TABLEAUX

TABEAU	TITRE	PAGE
1	Classification taxonomique de l'arbutus unedo L	3
2	Principales Classes des Polyphénols	10
3	Le rendement d'extraction méthanolique de fruits d'Arbutus unedo L	31
4	Les valeurs de permeabilité des films à base de gélatine	32
5	Opacité de films a base de gélatine	33
6	Solubilité des films préparés a base de gélatine	33
7	Reduction de DPPH par des films a base de gélatine	34

TABLE DE MATIERE

❖ Remerciements I
❖ Dédicace.....II
❖ Résumés.....III
❖ Liste des figuresIV
❖ Liste des tableaux V
❖ Liste des abbreviations..... VI
Introduction..... 1

Etude bibliographique

Chapitre 01: Caractéristiques d'Arbutus unedo L.

I.1. Description botanique d'Arbutus unedo L.....3
I.2. Noms vernaculaires3
I.3. Classification.....3
I.4. Caractéristiques botanique
I.4.1. Arbre.....4
I.4.2. Feuilles.....4
I.4.3. Fleurs.....4
I.4.4. Fruits4
I.4.5. Racine.....5
I.5. Habitat5
I.6. Répartition géographique
I.6.1. Dans le monde5
I.6.2. En Algérie.....6
I.7. Usage et propriétés d'Arbutus unedo L.
1-7-1. Utilisation en médecine traditionnelle6
1-7-2. Autres utilisations7
I.7.3. Activité antioxydante7
I.7.4. Activité antimicrobienne.....7

Chapitre II Les metabolites secondaires des plantes

II.1. Metabolites secondaires des plantes	
II.1.1. Terpénoïdes et les steroids.....	8
II.1.2. Alcaloïdes.....	8
II.1.3. Composés phénolique	9
II.1.3.1. Classification et structures.....	9
II.1.3.2. Phénol et acides phénoliques.....	11
II.1.3.3. Flavonoïdes.....	11
II.1.3.4. Les tannins	12
II.1.4. Activité antioxydante des polyphénols.....	13
II.2. Les composés phénolique d'Arbutus unedo L.....	13

Chapitre III Bioconservation et emballage alimentaire

III.1. La bio-conservation.....	15
III.2. Emballage alimentaire.....	15
III.3. Rôles d'emballage.....	15
III.4. Emballage bioactif	
III.4.2. Définition	16
III.4.3. Types d'emballage bioactif	16
III.4.3.1. type absorbant	
1. Absorbant d'oxygène.....	17
2. Absorbant d'éthylène	18
3. Absorbant d'eau.....	18
4. Absorbant de CO ₂	19
5. Absorbeurs d'odeurs	19
III.4.3.2. Type éliminant	
1.éliminant de lactose	19
2.éliminant de cholestérol	20
III.4.3. 3. Type régulateur de température	21
III.4.3.4. Type émetteurs	

1.émetteur d'éthanol.....	21
2. Emetteur de CO2.....	22
III.5. Oxydation des aliments et développement des emballages antioxydants.....	22

Chapitre IV	Matériel et méthodes
-------------	----------------------

Objectif.....	24
IV.1 Matériel	
IV. 1.1. Matériel vegetal.....	24
IV.1.2. Produits chimiques et réactifs.....	24
IV.1.3. Appareillage.....	24
IV.2. Méthodes	
IV.2.1. Extraction	
IV.2.1.1. Préparation de la plante.....	25
IV.2.2.2. Préparation de l'extrait méthanolique	
a) Préparation des extraits bruts.....	25
b) Calcul du rendement.....	26
IV.2.2.Préparation d'emballage à base de gélatine.....	26
IV.2.3.Propriétés physico-chimique de l'emballage	
IV.2.3.1. Perméabilité de la vapeur d'eau	26
IV.2.3.2. L'opacité du film.....	27
IV.2.3.3. La solubilité dans l'eau.....	27
IV.2.4. Activité antioxydante des films obtenues.....	28
IV.2.5. utilisation de l'extrait obtenu dans la bio-conservation	28
IV.2.5.1. Préparation des extraits.....	28
IV.2.5.2. préparation de l'échantillon à conserve.....	28
IV.2.5.3. Analyses physicochimiques du beurre pendant la conservation	
a) Détermination du pH	29
b) Détermination de l'acidité	29
c) Détermination de la teneur en peroxyde.....	29
d) Indice de saponification	30
e) Détermination de TBARS.....	30

V.1 Calcul du rendement d'extraction des composés phénoliques.....	31
V.2.Préparation d'emballage à base de gélatine.....	31
V.2.1. propriétés macroscopique des emballages préparés	31
V.2.2. Propriétés physico-chimique des emballages	
V.2.2.1. Test de la permeabilité.....	32
V.2.2.2. Test d'opacité	33
V.2.2.3.Test de solubilité.....	33
V.2.3. Activité antioxydant des emballages.....	34
V .3. Essai de conservation du beurre par l'extrait de fruit	
V.3.1. Détermination de l'acidité	34
V.3.2. Détermination du pH.	35
V.3.3.Détermination de teneur en peroxyde	37
V.3.4.Indice de saponification.....	38
V.3.5.Détermination de TBARS.....	39
Conclusion et perspectives.....	41
Références bibliographiques.....	42

Table des matières

Introduction
générale

Introduction

Les produits forestiers non ligneux, les plantes médicinales et les plantes alimentaires sont exploités à travers le monde sur environ 30 % des terres émergées (FAO ,2005). En particulier, la forêt tropicale humide et subtropicale renferme de nombreuses ressources en plantes médicinales et alimentaires (Priso et al ., 2011). Ces plantes sont indispensables pour la conservation de la biodiversité. Elles constituent des ressources précieuses pour une majorité des populations rurales des pays en développement notamment en Afrique où plus de 80% de cette population s'en sert pour assurer leur bien être. En effet, plusieurs milliers d'espèces sauvages peu connues ont un potentiel alimentaire indéniable (Apema et al .,2010 ;Thiombainn et al .,2010).

Actuellement, il est prouvé scientifiquement, que le régime méditerranéen favorise la bonne santé bien que certains aliments locaux restant encore peu étudiés. L'Arbousier (*Arbutus unedo* L. famille des *Éricacées*), dit aussi arbre à fraises, est en fait un arbrisseau essentiellement sauvage et typique de la région méditerranéenne. Il est par ailleurs utilisé comme source de nourriture et d'agents thérapeutique en médecine depuis l'époque grecque. Ces applications suscitent, ces dernières années, un intérêt toujours croissant auprès des scientifiques et même du grand public. Les baies de l'arbousier contiennent des quantités importantes de composés phytochimiques, y compris les polyphénols, qui sont connus pour réduire le risque de cancer, les maladies coronariennes et autre maladies dégénératives (Teofrasto, 1998 ;Celikel et al., 2008 ;Oliveira et al ., 2011).

L'arbose fruit de l'arbousier, reste peu connue en Algérie si l'on se réfère aux travaux qui lui ont été consacrés. Pourtant, les études scientifiques montrent sa grande valeur alimentaire grâce à sa composition en certains nutriments (glucides, vitamines et minéraux) et phytonutriments (polyphénols) (Teofrasto, 1998).

Pour maintenir son équilibre psychique, physique et pour assurer le bon fonctionnement de ses organes, l'homme doit s'alimenter convenablement (repas sain et équilibré). La nature offre une grande diversité de produits d'origines animale et végétale qui se détériorent très vite lorsqu'ils cessent d'appartenir aux organismes vivants. D'après Jeantet et al. (2006), la complexité et l'hétérogénéité du système formé par l'aliment seraient la base de sa grande instabilité aux plans thermodynamique, biologique et chimique. Aussi pour assurer sa survie en période de disette, l'homme a tout le temps recherché des méthodes de conservation des denrées alimentaires. (Nout et al., 2003) affirment précisément que le début

du développement de la science alimentaire fut stimulé par la nécessité de conserver les aliments. L'altération de la qualité organoleptique, hygiénique et nutritionnelle de ceux-ci (provoquée par les réactions chimiques, les réactions de lipolyse, de protéolyse et d'oxydation, la production de métabolite et le développement des enzymes et microorganismes au sein du produit) peut être freinée ou stoppée par certaines méthodes dites de conservation. Il a été observé dans un premier temps que certaines évolutions naturelles conduisaient à l'obtention de produits plus stables et d'intérêt gustatif (**Jeantet et al., 2006**).

Le beurre est un aliment énergétique, fragile et altérable par la chaleur ou par d'autres facteurs capables de nuire à sa qualité physicochimique, microbiologie et organoleptique. Donc, il est primordial d'assurer sa conservation dans les meilleures conditions possibles (**Makhloufi, 2013**).

Dans ce contexte, ce travail s'intéresse à l'extraction des composés bioactifs de fruit d'*Arbutus unedo* L. suivi par le développement d'un emballage à base de gélatine et de l'extrait de ce fruit afin de l'exploiter dans la conservation du beurre traditionnel.

Hormis l'introduction et la conclusion, Le présent travail est scindé en deux parties : une partie bibliographique, une autre expérimentale avec des résultats et une discussion.

Etude

Bibliographique

Chapitre I
caractéristique
d'Arbutus unedo L

I.1. Description botanique de « *Arbutus unedo* L. »

Le nom « *Arbutus* » : Diminutif du latin « Arbor », petit arbre ou du celtique Arbois, fruit raboteux (Férard, 2003).

L'Arbousier ou arbres aux fraises (*Arbutus unedo*), est un petit arbre du bassin méditerranéen occidental de la famille des *Ericaceae*, petit ligneux méridional, n'est en fait qu'un arbuste, voire un arbrisseau. Il est de croissance relativement lente, très décoratif par son écorce, son port, son feuillage persistant, sa floraison, et sa fructification et qui peut de temps en temps atteindre 9 mètres de long et 8 mètres de large, bien qu'il soit habituellement un peu plus petit (de 2 à 4 m de hauteur)

Bien que son fruit soit comestible, on ne cherchera pas particulièrement à le planter en tant qu'arbre fruitier (son nom d'espèce est tiré du latin unedo, "je n'en mange qu'une fois") (Quezel, 1963).

I.2. Noms vernaculaires

Le nom « *Arbutus* » : Diminutif du latin Arbor, petit arbre ou du celtique Arbois, fruit raboteux, il est connu sous le nom arbousier comme un nom commun (El Euch, 1995), strawberry-Tree en Anglais (Edward et al., 2006) et Lendj en arabe.

I.3. Classification

Selon les classifications botaniques, la position taxonomique de l'*Arbutus unedo* L est représentée dans le tableau 01.

Tableau 01 : Classification taxonomique de l'*Arbutus unedo* L (Mendes ,2010).

Rang taxonomique	signification
Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta (plantes vasculaires)</i>
Embranchement	<i>spermaphytes</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnolopsida (dicotylédones)</i>
Sous classe	<i>Dilleniidae</i>
Ordre	<i>Ericales</i>
Sous ordre	<i>Ericanae</i>
Famille	<i>Ericaceae</i>
Sous famille	<i>Arbutoideae</i>
Genre	<i>Arbutus</i>
Espèce	<i>Arbutus unedo</i> L

I.4. Caractéristiques botaniques

Arbutus unedo L est un arbre qui se caractérise par :

I.4.1. Arbre

L'arbousier est un arbre souvent formé de plusieurs troncs atteignant 3 à 4,50 m dans les jardins, jusqu'à 9-15 m à l'état naturel. Il possède une silhouette intéressante par ses branches tortueuses couvertes d'une écorce fibreuse et écailleuse brun gris tirant sur l'orangé et par sa frondaison dense vert sombre. Les branches secondaires et les pousses présentent un coloris rougeâtre (Boullard, 2001). Il a une durée de vie de 100-400 ans (Moris, 2007).

I.4.2. Feuilles

Les feuilles sont persistantes, ovales, oblongues-lancéolées, glabres, alternes, coriaces et luisantes. Elles mesurent de 5-11 cm de long et de 1,5- 4 cm de large (Quezel et Santa, 1963 ; Boullard, 1997 ; Boullard, 2001).

I.4.3. Fleurs

Les fleurs sont en forme de clochettes rassemblées en grappes rameuses et terminales, bisexuées, rétrécie au sommet du tube d'un blanc-rosé ou verdâtre, hermaphrodites, actinomorphes (régulières) et possèdent 10 étamines. Le calice gamosépale possède 5 lobes courts. La corolle gamopétale de 5 à 7 mm de longueur, forme un petit grelot de couleur blanchâtre qui devient caduque avant la fanaison de la fleur. Sa période de floraison : août à septembre (figure 01)(Quezel et Santa, 1963 ; Boullard, 1997 ; Boullard, 2001).

I.4.4.Fruits

Les fruits mettent un an pour arriver à maturité (Les baies à 5 loges sont mûres un an après la floraison). L'automne arrivé, les fleurs s'épanouissent et côtoient les fruits mûrs formés au cours de l'année précédente. Le fruit, appelé arbose de 2 cm de diamètre, jaunes puis rouge orangé à maturité. C'est un fruit charnu, sphérique avec une peau rugueuse couverte de petites pointes coniques (Tubercules pyramidaux-coniques) (figure 01). (Fiorentino et al ., 2007)

Chacune des loges renferme 4 ou 5 graines. C'est un fruit comestible qui est mûr en hiver, on peut le consommer cru, cuit sous forme de confiture ou le faire fermenter pour produire une boisson alcoolisé (Fiorentino et al ., 2007).

I.4.5. Racine

Les racines Pivotante qui en traversant les failles calcaires peut atteindre des longueurs impressionnantes. (Fiorentino et al ., 2007).

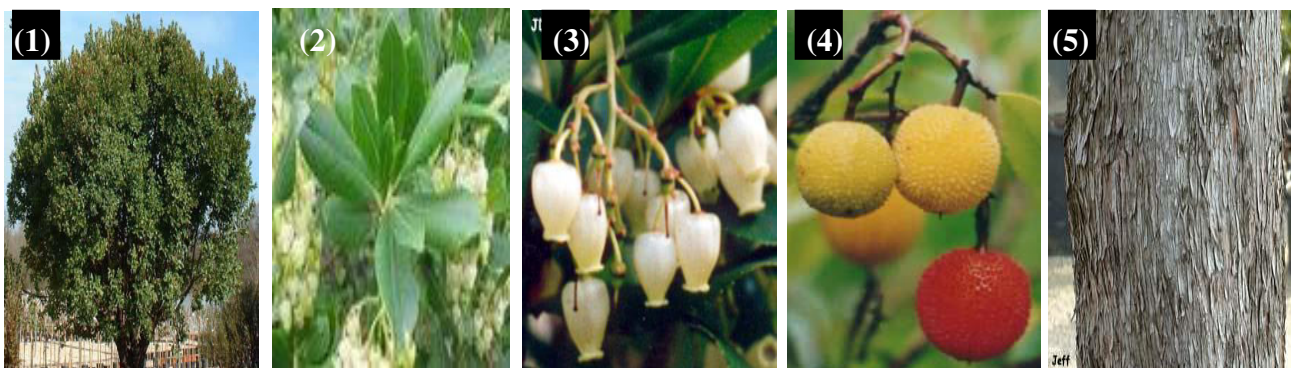


Figure 01 : *Arbutus unedo* L ; Arbuste (1), feuilles (2), fleurs (3), fruits (4) et écorce (5) (Fiorentino et al ., 2007).

I.5. Habitat

L'Arbousier préfère les terres acides, mais il peut supporter les sols alcalins (sols calcaires). Il se développe mieux dans les régions douces, quand il est planté en plein soleil ou partiellement à l'ombre, l'arbousier grandira à une allure lente. Cette espèce supporte les températures élevées, mais assez résistante au froid (Férard, 2003 ; Gilman et al ., 2006).

I.6. Répartition géographique

I.6.1. Dans le monde

Arbutus unedo L souvent appelé arbre aux fraises, se trouve dans l'ouest, le centre et le sud de l'Europe, au Nord –Est de l'Afrique, les îles canaries et en Asie occidentale prédominant (figure 02). La distribution d' *Arbutus unedo* L s'aperçoit principalement dans les zones côtières et intérieures avec des climats doux et sécheresse estivale méditerranéens notamment en Portugal ,Espagne ,France ,Italie ,Albanie ,Croatie ,Bosnie ,Grèce ,Turquie et les îles méditerranéennes à une altitude environ de 600 m au -dessus de niveau de la mer (Papoff et al ., 1993 ; Ayaz et al ., 2000 ; Torres et al ., 2002).

I.6. 2. En Algérie

L'arbousier en Algérie, est bien représenté dans le tell algérien (Guide to médicinal plants in north africa), surtout dans les forets de chêne liège (les régions de Jijel, Skikda et el taraf) (**Kirkaldyella et Siphoninus, 2000**).



Figure 02 : Répartition mondiale d'*Arbutus unedo* L (**Moussi, 2005**).

I.7. Usage et propriété d'*Arbutus unedo* L.

1-7-1. Utilisation en médecine traditionnelle

Les feuilles d'*Arbutus unedo* L sont utilisées comme diurétique, antiseptique urinaire, antidiarrhéique, anti-inflammatoires, astringent, dépuratif, contre la blennorragie et comme antihypertensif (**Férard, 2003**).

Le fruit peut-être consommé cru, être utilisé pour la confection de confitures et de pâtisseries, ou fermenté pour produire une boisson alcoolisée. Il possède une très légère toxicité consommé cru en trop grande quantité (**Moussi, 2005**).

I.7.3. Activité antioxydante

Les flavonoïdes (Flavonol glycosides) et les tannins sont responsables de l'activité antioxydante des fruits d'*Arbutus unedo* L grâce à leurs richesses en groupements hydroxyphenoliques (**Pabuccuoglu et al ., 2003**).

I.7.4. Activité antimicrobienne

Les études faites sur l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des fruits d'*Arbutus unedo* L selon la méthode de diffusion sur Muller-Hinton Agar vis-à-vis de 14 souches bactériennes tels que : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Acineto bacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus*

mirabilis, *Proteus vulgaris*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella typhi*, *Coryné bacterie*, et une levure : *Candida albicans* montrent que l'extrait exerce une activité bactériostatique et fongistatique très importante contre la majorité des germes testés (**Berahou et al ., 2004**).

Chapitre II

Les métabolites secondaires

II.1. Métabolites secondaires des plantes

Les métabolites secondaires ne sont pas nécessaires et non vitales pour l'organisme.

Les plantes produisent un grand nombre de ces composés, d'une variété structurale extraordinaire, souvent complexe et très différents selon les espèces (**Guette, 2000 ; Sophie et al ., 2006**).

Les métabolites secondaires peuvent être classés en plusieurs grands groupes ; parmi ceux-ci les terpènes et stéroïdes, les composés azotés dont les alcaloïdes et les composés phénoliques. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités biologiques (**Guette, 2000**).

II.1.1. Terpénoïdes et les stéroïdes

Issus des mêmes précurseurs d'unité isoprénique , et formés à partir de l'assemblage d'unités à 5 carbones ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène), les terpénoïdes et les stéroïdes constituent probablement la plus large classe de composés secondaires. Comme les dérivés des acides gras, les terpènes ont pour origine biosynthétique l'acétyl CoA ou le malonyl CoA. Néanmoins, ils ne sont pas spécifiques des végétaux puisque le squalène, le cholestérol ou encore des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent chez les animaux. Ils sont actifs contre les bactéries, les moisissures, les virus et les protozoaires (**Marjorie et Murphy, 1999 ; Krief, 2003**).

II.1.2. Alcaloïdes

Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative figure 3.

La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et lors de ces transferts ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine produite dans les racines migre vers les feuilles où elle est déméthylée (**Guette, 2000**).

Les alcaloïdes ont en général une activité biologique et à ce titre, ils entrent dans la composition de nombreux médicaments comme principe actif (**Guette, 2000**).

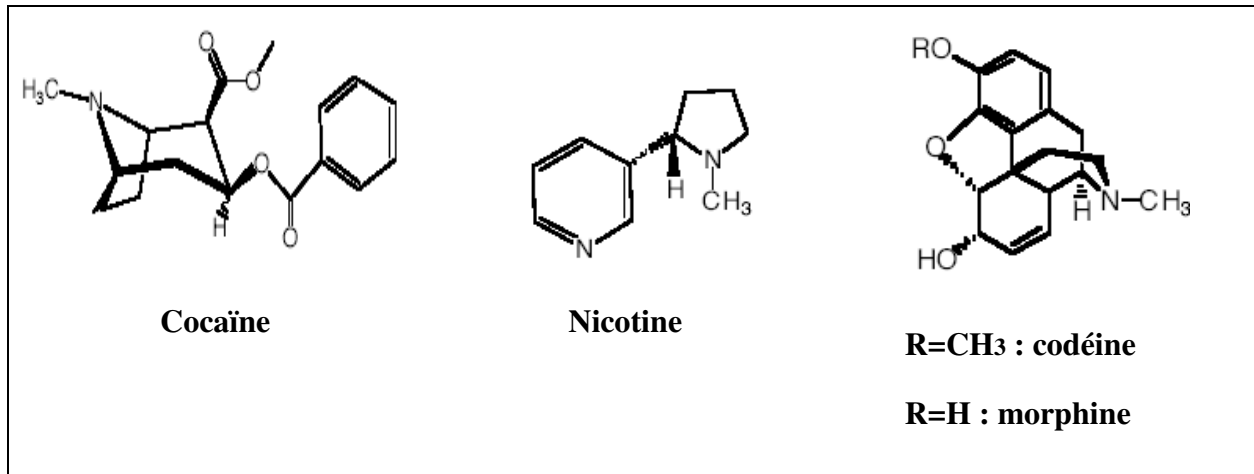


Figure 3 : Structure chimique des différents alcaloïdes (Krief, 2003).

II.1.3. Composés phénoliques

Le terme « phénol » regroupe un ensemble de molécules hydroxylées substituées, dérivées de benzène (phénols simples) et de ses homologues supérieurs (crésols) et de molécules à noyaux polycondensés (naphtols et naphtol sulfonés) (Anders, 2002).

Le terme « polyphénol » désigne des corps dont la molécule contient plusieurs fonctions Phénol. Ce sont des substances qui possèdent un ou plusieurs cycles aromatiques avec au moins un groupe hydroxyle (Anders, 2002).

Les polyphénols constituent un des plus répandus groupes de substances dans les plantes (Anders, 2002).

II.1.3.1. Classification et structures

Plusieurs classifications des composés phénoliques basées sur des critères différents ont été proposées :

- Selon le nombre de noyaux aromatiques qu'ils contiennent, et la nature de leur squelette carboné, les classes majeures des polyphénols sont (Pr. Augustin, 1999) :

- ✓ Acides phénoliques (C6-C3).
- ✓ Flavonoïdes (C6-C3-C6) ; sont eux-mêmes classés en fonction de leur degré d'oxydation en : Flavanols, Anthocyanidines, Flavones, Flavanones, Chalcones, Flavonols.
- ✓ Stilbènes (C6-C2).

✓ Lignanes (C6-C3)₂ (Middleton *et al.*, 2000).

- Selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base, la classification des polyphénols est la suivante Tableau 2

Tableau 02 : Principales Classes des Polyphénols selon **J. B. HARBORNE (1980)**.

Nombre d'atomes de carbone	Le squelette de base	Classe
6	C6	Phénols Simple Benzoquinones
7	C6-C1	Acides phénoliques
8	C6-C2	Acetophenones Tyrosine derivatives Acide Phenylacetique
9	C6-C3	Acide Hydroxycinnamique Phenylpropenes Coumarines Isocoumarines Chromones
10	C6-C4	Naphthoquinones
13	C6-C1-C6	Xanthones
14	C6-C2-C6	Stilbenes Anthraquinones
15	C6-C3-C6	Flavonoids Isoflavonoids
18	(C6-C3) ₂	Lignans Neolignans
30	(C6-C3-C6) ₂	Biflavonoids
n	(C6-C3) n (C6) n (C6-C3-C6) n	Lignins Catéchol mélanines Flavolans (Tannins condensés)

- Selon leur structure chimique, les polyphénols sont divisés en 4 classes majeures :

- ✓ Phénols.
- ✓ Acides phénoliques.
- ✓ Flavonoïdes.
- ✓ Tannins : se constituent de tannins hydrolysables et les tannins condensés (Anders, 2002).

II.1.3.2. Phénol et acides phénoliques

Les phénols simples sont rares dans la nature (catéchol, phloroglucinol) et les acides phénoliques sont tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Deux classes d'acides phénoliques peuvent être distinguées ; les dérivés de l'acide benzoïque (composés en C6-C1) tels que l'acide gallique, élément constitutif des tanins hydrolysables ou les dérivés de l'acide cinnamique (composés en C6-C3) comme l'acide caféique qui sont souvent estérifiés (Samadi, 2000 ; Krief, 2003).

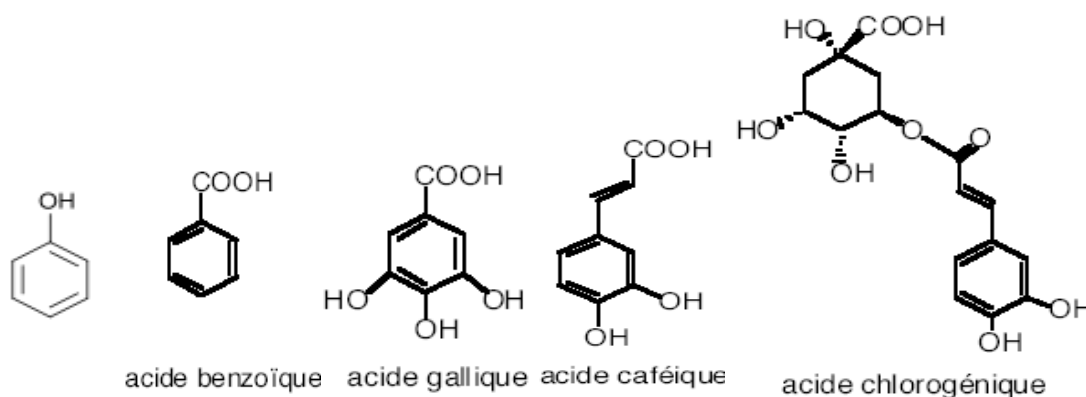


Figure 04 : Structure chimique du phénol simple et différents acides phénoliques (Krief, 2003).

II.1.3.3. Flavonoïdes

Ce sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C). Ce sont des dérivés du noyau flavane (noyau de base) portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides figure 5. On les trouve d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux (Milane, 2004).

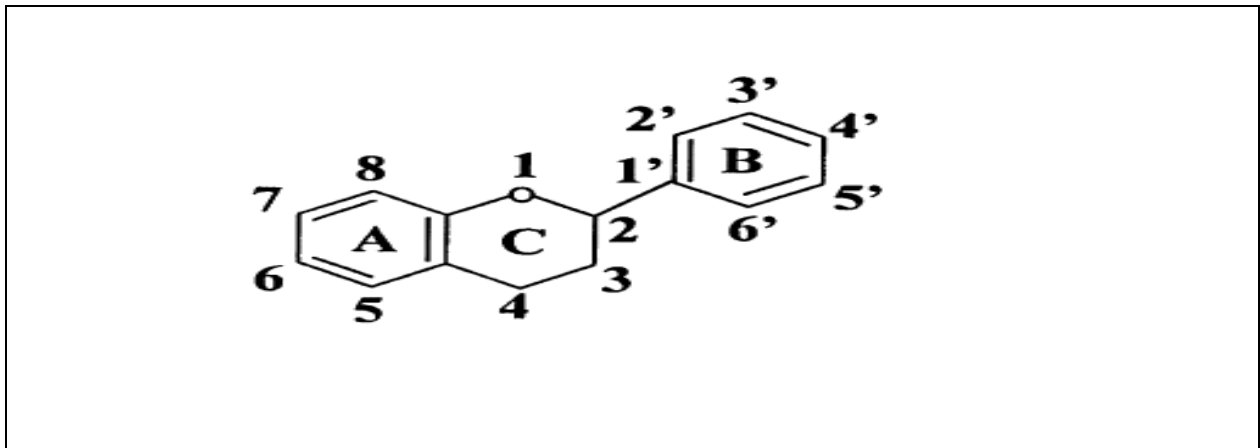


Figure 05 : Structure de base des flavonoïdes (Marfak, 2003).

II.1.3.4. Les tannins

Les tannins sont des composés polyphénoliques, solubles dans l'eau, avec des poids moléculaires très élevés (500-3000 Daltons). La caractéristique la plus déterminante des tannins est leur capacité de former des complexes (par précipitation) avec les polymères naturels comme les protéines nutritives, les enzymes digestives, les polysaccharides, les lipides, les acides nucléiques et les acides aminés. De plus, ils sont capables de capter les ions métalliques et particulièrement le fer, les alcaloïdes et les métaux lourds (Kumbasli, 2005 ; Peronny, 2005).

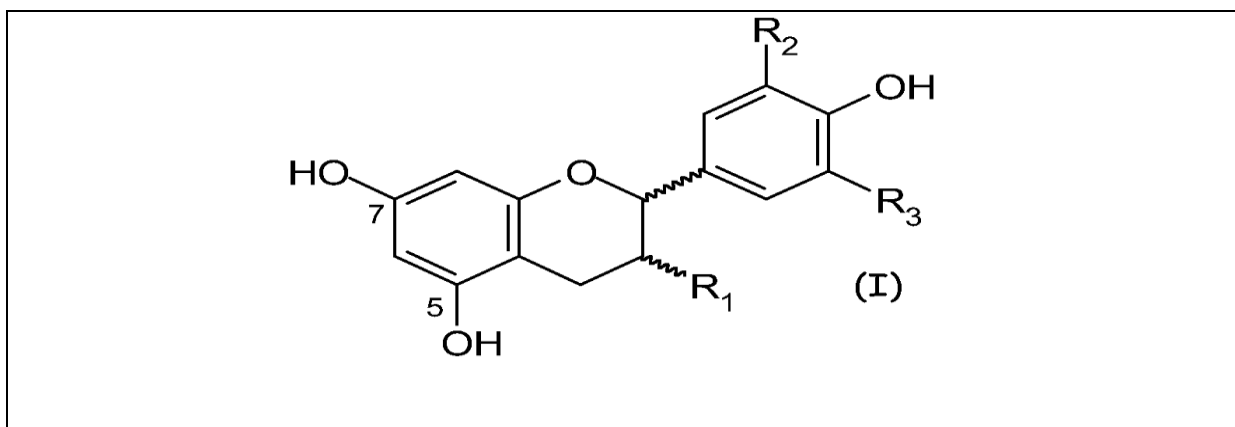


Figure 06 : Structure de base des tanins (Krief, 2003).

II.1.4. Activité antioxydante des polyphénols

Les radicaux libres sont des espèces chimiques présentant un ou plusieurs électrons célibataires (le radical hydroxyle OH[•], l'anion superoxyde O₂^{•-}, l'oxyde nitrique NO[•] ...), ils sont produits naturellement dans l'organisme (Milane, 2004).

L'intérêt métabolique des antioxydants alimentaires fait à l'heure actuelle l'objet d'un grand nombre de travaux, et parmi ces antioxydants les plus puissants, les flavonoïdes qui préviennent efficacement la peroxydation lipidique puisqu'ils peuvent réagir avec la plupart des radicaux libres susceptibles d'arracher un hydrogène sur le groupement CH₂ situé entre les deux doubles liaisons des acides gras poly insaturés pour former des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives. De plus, ils pourraient agir en chélatant les métaux de transition tels que le cuivre et le fer. Les flavonoïdes et en particulier la quercétine sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (Milane, 2004).

Une autre propriété antioxydante des polyphénols est leurs caractères puissants d'inhibition de l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotéine) (Milane, 2004).

II.2. Les composés phénolique d'*Arbutus unedo L*

L'analyse chimique des feuilles et des fruits d'*Arbutus unedo* dans la région de la Croatie a révélé la présence d'acides phénoliques et flavonoïdes (Males et al., 2006) .

Au niveau des feuilles ils ont révélé la présence d'acide caféique, quercitrin, rutin, quercetin, hyperoside, isoquercitrin, l'acide chlorogénique (Males et al., 2006), Flavonol glycosides, phénol glycosides, et tannins (Pabuccuoglu et al., 2003), plus précisément la constatation de la présence de tannins galliques en quantité très élevée, par contre une absence de tanins catéchiques (Pr. Lamnaouer, 2002).

Au niveau des fruits : la révélation seulement de la présence d'isoquercitrin.

La teneur et la concentration en ces composés varie en fonction de plusieurs facteurs : type et qualité du sol, les conditions climatiques, la position géographique, le site, l'âge, l'organe de la plante, et la date de la récolte des échantillons.

La détermination Spectrophotométrique des flavonoïdes a montré que les feuilles sont plus riches en flavonoïdes (0,52-2,00 %) que les fruits (0,10-0,29 %) (Males et al., 2006).

Les fruits d'*Arbutus unedo L* présentent sept composants phénoliques : arbutin, beta-D-glucogalline, gallic acid 4-O-beta-D-glucopyranoside, 3-O-galloylquinic acid, 5-O-galloylquinic acid, 3-O-galloylshikimic acid, and 5-O-galloylshikimic acid. Comme on a révélé la présence de trois anthocyanes : cyanidin 3-O-beta-D-galactopyranoside, delphinidin

3-O-beta-D-glucopyranoside et cyanidin 3-O-beta-D-arabinopyranoside (**Pawlowska et Leo ,2006**).

Chapitre III
Bioconservation et
emballage
Alimentaire

III.1. Bio-conservation

La bio-conservation ou biopréservation est une méthode de conservation des aliments faisant appel à des microorganismes ou à des «composés naturels» en opposition à l'utilisation de conservateurs dits « chimiques » classiquement utilisés dans les industries agro-alimentaire (IAA) (**Galvez et al., 2007**).

La bioconservation comme toute autre méthode de conservation doit permettre non seulement de maîtriser la croissance de flores pathogènes ou d'altération, mais également de préserver les qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit tout au long de sa durée de vie. Il existe différentes voies permettant la biopréservation. Ainsi, il est possible d'utiliser des micro-organismes tels que les bactéries lactiques. Ce procédé est connu depuis longtemps puisqu'il est traditionnellement utilisé pour la conservation des aliments au travers de la fabrication des produits fermentés (saucissons, fromages, végétaux...). Des substances issues du métabolisme de microorganismes peuvent également être utilisées afin de maîtriser le développement de bactéries indésirables. Il est également possible d'utiliser des systèmes enzymatiques naturels tels que le système lactoperoxydase (**Fine et Gervais, 2007**).

Par ailleurs, des études semblent montrer l'intérêt dans la biopréservation de molécules issues de végétaux telles que les huiles essentielles (**Briandet, 1999**).

III.2. Emballage alimentaire

L'emballage est un élément important de la nourriture que nous achetons, il ne sert pas seulement à protéger la nourriture d'une contamination externe ; il a également de nombreuses autres attributions (**Goossens, 2009**).

L'industrie de l'emballage se compose de différents secteurs en fonction des matières utilisées. On distingue par ordre décroissant selon l'utilisation ; le papier et le carton incluant notamment le carton ondulé et le carton plat (ex : boîtes de céréales), qui peuvent être recyclés, blanchis ou non blanchis. Le plastique (PE, PP, PET...selon la composition des polymères), contenants de boissons gazeuses, d'eau de source . Le verre transparent et coloré. Le métal et les contenants multicouches et composites, comme le carton de lait, de jus, de crème glacée en carton paraffiné et en fin le bois utilisé pour certains emballages de fromage ou certaines boîtes contenant des bouteilles d'alcool (**Becila, 2009**).

III.3. Rôles d'emballage

Ces derniers temps, les emballages alimentaires ont joué un rôle important dans la préservation des aliments, ils ont les objectifs suivants :

- Répondre aux exigences de sécurité alimentaire pour la protection de santé des consommateurs ;
- Assure une protection efficace contre les contaminations par des produits chimiques et microbiologiques ;
- Pour fournir au consommateur des informations sur la qualité et l'histoire de son contenu ;
- Pour optimiser la durée de conservation (**Giuseppe et al ., 2015**).

III.4. Emballage bioactif

III.4.1. Définition

L'emballage actif est la nouvelle technologie d'emballage qui modifie le paquet ou le revêtement de manière à avoir des effets positifs sur la santé du consommateur. Différentes techniques sont connues pour conserver les propriétés caractéristiques des biopolymères et employés dans cette nouvelle approche d'emballage comprennent l'encapsulation enzymatique, nanoencapsulation, microencapsulation et immobilisation d'enzymes. Tenir compte des propriétés fonctionnelles requises des composants bioactifs particuliers, fonctionnels ou bioactifs, l'emballage a le potentiel de maintenir une activité bioactive pour les substances dans les proportions souhaitées jusqu'à leur contrôle ou diffusion rapide dans les aliments emballés pendant leur stockage ou avant sa consommation (**Lopez et al ., 2006**).

III.4.2. Types d'emballage bioactif

L'industrie recherche constamment de nouvelles techniques d'emballage capables d'agir activement sur l'air enveloppant les aliments. Certaines techniques permettent de ralentir considérablement le processus de dégradation tout en améliorant le contrôle de la fraîcheur.

Les emballages deviennent ainsi de plus en plus sophistiqués. L'utilisation du " Smart Packaging " connaît ces dernières années une croissance continue, contribuant ainsi à éviter le gaspillage alimentaire (**Goossens, 2009**).

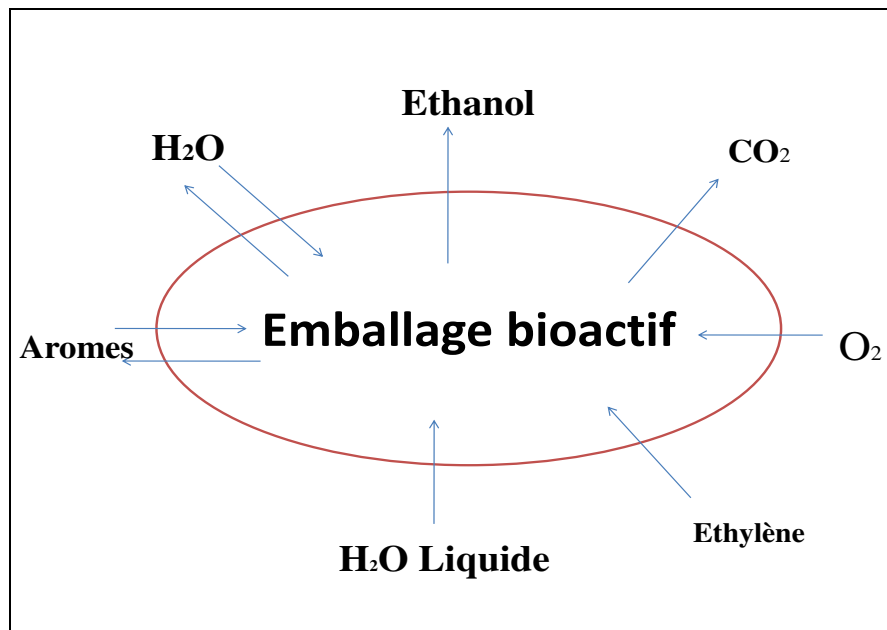


Figure 07 : Les types d'emballage bioactif (Coma, 2001).

III.4.2.1. type absorbant

➤ Absorbant d'oxygène

La présence d'oxygène dans un aliment emballée est souvent un facteur clé qui limite la durée de conservation d'un produit. L'oxydation peut entraîner des changements dans la saveur, la couleur et l'odeur, ainsi que détruire le nutriment et faciliter la croissance des bactéries aérobies, des moisissures et des insectes. Par conséquent, la suppression d'O₂ à partir d'emballage et de la solution dans les aliments liquides et boissons, a longtemps été la cible des scientifiques de l'emballage alimentaire. La détérioration de la qualité des produits sensibles à l'O₂ peut être minimisée en recourant aux piègeurs d'O₂ qui enlève l'O₂ résiduel après l'emballage. Les technologies existantes d'élimination d'O₂ sont basées sur l'oxydation d'un ou plusieurs des éléments suivants : poudre de fer, acide ascorbique, colorants photosensibles, enzymes (comme le glucose oxydase et éthanol oxydase), acides gras insaturés (tels que les acides oléique, linoléique), extrait de riz ou levures immobilisé sur un support solide (Floros et al., 1997).



Figure 08 : Emballage absorbant d'oxygène (Floros et al . ,1997)

➤ **Absorbant d'éthylène**

L'éthylène est produit par le métabolisme des végétaux. Il contribue à la maturation des fruits et légumes mais aussi à leur sénescence (perte de fermeté, brunissement...). La détérioration des fruits et légumes conditionnés dans des enceintes fermées est parfois liée à l'accumulation d'éthylène. Une première solution est l'utilisation de permanganate de potassium (KMnO_4) très efficace, mais potentiellement nocive (ce composé ne doit pas rentrer en contact direct avec l'aliment emballé). D'autres systèmes minéraux sont utilisés pour leurs propriétés de sorption : zéolites, les argiles, les aluminosilicates (Smolander, 2003).

➤ **Absorbant d'eau**

Le but principal du contrôle de l'eau liquide est de réduire l'activité de l'eau, du produit, supprimant ainsi la croissance des microorganismes sur la denrée alimentaire (Vermeiren et al ., 1999).

Les aliments à haute température nécessitent l'utilisation de matières plastiques avec un additif antibrouillard qui abaisse la tension interfaciale entre l'aliment emballée et le film. Cela contribue à la transparence des films et permet au client de voir clairement la nourriture emballée bien que cela n'affecte pas la quantité d'eau liquide présente à l'intérieur du paquet (Rooney, 1995).

Les matériaux hydrophiles utilisés sont des minéraux ou des polymères organiques à savoir le polyacrylate, le gel de silice, l'argile et l'oxyde de calcium (Vermeiren et al ., 1999).

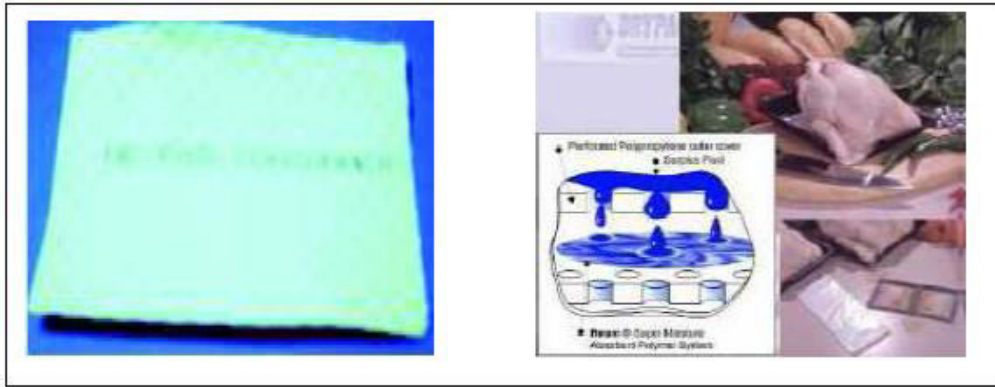


Figure 09 : Exemples de l'emballage actif : Absorbant / émetteur d'eau (Vermeiren et al, 1999)

➤ **Absorbant de CO₂**

Il est nécessaire de réduire le CO₂ qui est un produit résultant de la réaction de respiration. Les concepts sont semblables au piégeage d'O₂ mais le matériau utilisé est différent ; dans ce cas, le CaO est utilisé avec des agents hydratants dans un sachet qui réagit. Le résultat est le CaCO₃ avec de l'eau (Vermeiren et al, 1999).

➤ **Absorbant d'odeurs**

Le charbon actif est le plus utilisé et son emploi vise les produits à fort potentiel aromatique, les aliments déshydratés et ceux qui sont sensibles ou confrontés lors d'un stockage à la contamination par des odeurs étrangères (Coma, 2001).

III.4.2.2. Type éliminant

➤ **Éliminant du lactose**

L'intolérance au lactose est un problème alimentaire qui affecte une mineur fraction de la population. Les personnes concernées par ce problème souffrent d'un manque de lactase dans leur paroi intestinale. Cette enzyme est nécessaire pour casser le lactose, ou le sucre du lait, en glucose et galactose. Un brevet britannique attribué à Tetra Pak International décrit l'incorporation de lactase dans le lait pasteurisé ou stérilisé avant l'emballage pour diviser le lactose après l'emballage. Plutôt, une solution d'enzyme est ajoutée directement au paquet juste avant le scellage. Cependant, cette approche souligne qu'un processus enzymatique actif peut être effectué dans un récipient scellé. Budny, chez Pharma-Cal, Ltd. (1990) a incorporé la lactase, en utilisant une technologie exclusive de PharmaCal, Ltd., de sorte que 30 à 70%

du lactose a été enlevé dans 24-36 heures à 3-4 ° C. PharmaCal, Ltd. possède des modèles exclusifs et des approches pour commercialiser cet emballage actif (**Anon., 1977**).

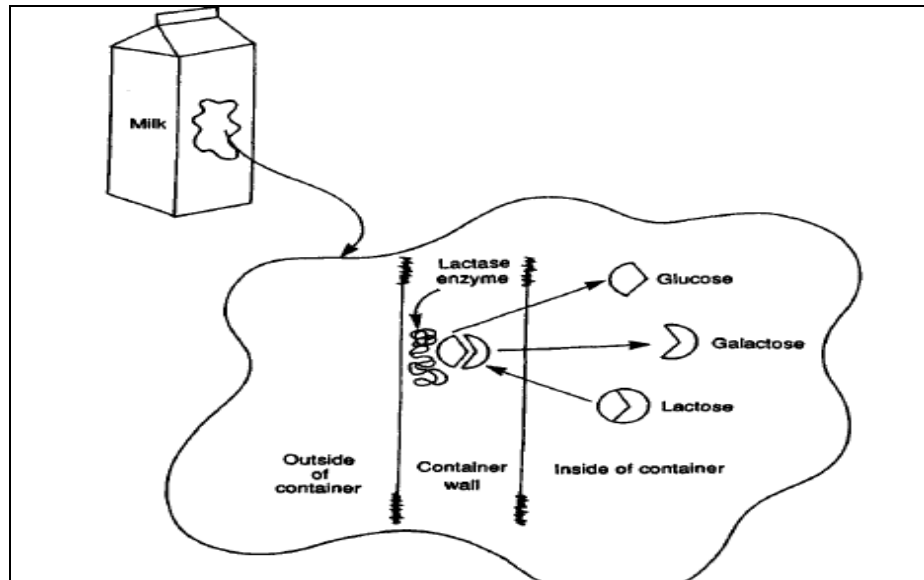


Figure 10 : Mécanisme d'élimination du lactose par l'emballage actif (**Anon, 1977**).

➤ **Éliminant du cholestérol**

Budny (1990) suggère l'élimination du cholestérol qui est présent dans le lait entier en incorporant l'enzyme, la cholestérol-réductase dans les emballages. Utilisant la même technologie propriétaire de PharmaCal, Ltd., tel qu'il employait pour l'élimination enzymatique de l'oxygène ou le lactose. La fraction liquide du lait est exposé à l'enzyme pour convertir le cholestérol au coprostérol qui n'est pas absorbé par l'intestin. Ce système, illustré à la figure 11. Plutôt, les emballages actifs et la technologie de PharmaCal, Ltd. permet de conditionner le lait liquide non traité (**Budny, 1990**).

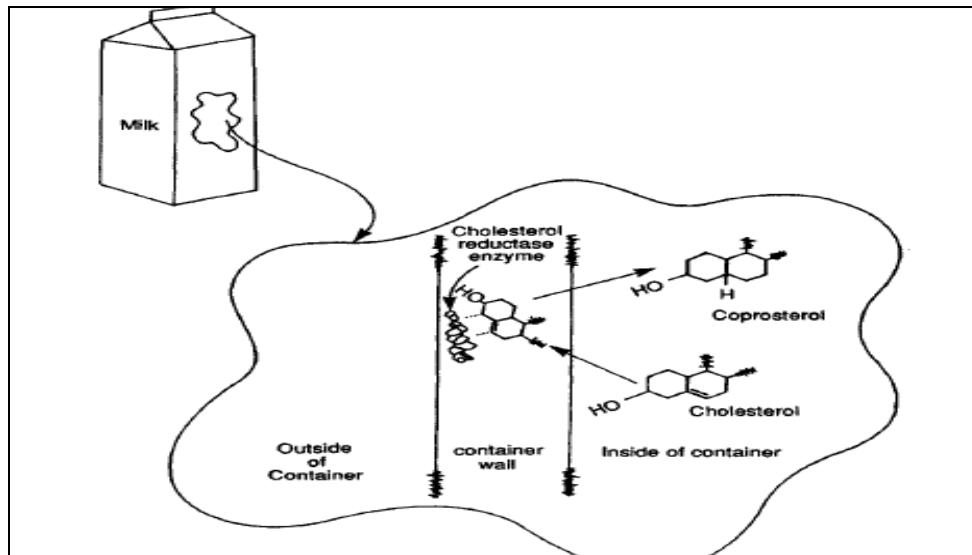


Figure 11 : Mécanisme d'élimination du cholestérol par l'emballage actif (Budny, 1990).

III.4.2.3. Type régulateur de température

Un autre défi est de développer des films qui peuvent tolérer les fluctuations de température pendant le stockage et la distribution. Le problème des films sont le décalage des énergies d'activation pour la respiration et la perméation : les taux de respiration des produits sont fortement affectés par la température, mais les perméabilités des films d'emballage existants ne sont que affectées légèrement par la température. Dans certains cas, même une petite augmentation de la température entraînera une accumulation rapide de CO₂ et d'épuisement de l'O₂ dans l'emballage, une situation susceptible d'endommager le produit à l'heure actuelle. Des recherches sont menées pour développer une nouvelle classe de films avec activation de la perméation. Cette classe de films présente des changements spectaculaires dans la perméabilité en transformant la matrice polymère de manière réversible de l'état de cristallisation à un état amorphe lorsque la température augmente au-dessus de la température commutateur. Cette température de commutation peut être contrôlée à ± 2 °C par changement des chaînes latérales de polymère (Kader, 1987).

III.4.2.4. Type émetteurs

➤ Emetteur d'éthanol

Une méthode novatrice de production de vapeur d'éthanol a été développée par les Japonais, est l'utilisation de sachets ou bandes de production de vapeur d'éthanol. Ceux-ci contiennent de l'éthanol absorbé ou encapsulé dans un matériau porteur et inclus dans des films

d'emballage de perméabilités sélectives qui permettent la libération lente ou rapide de la vapeur d'éthanol (**Smith et al ., 1987**).

L'éthanol s'est avéré prolonger la durée de vie de pain, des gâteaux et pizza lorsqu'il est pulvérisé sur les surfaces du produit avant l'emballage (**Seiler, 1989**).

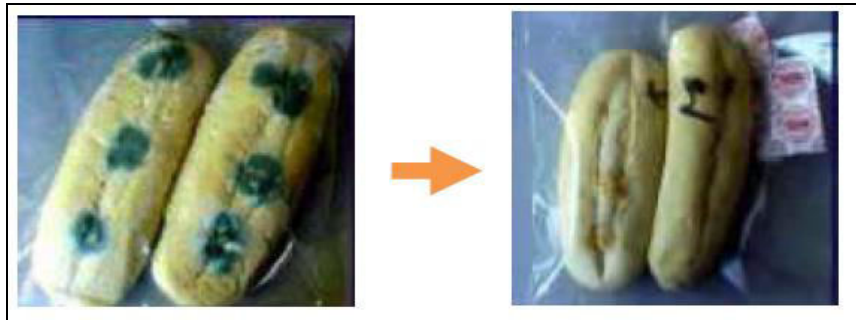


Figure 12 : Emballage émetteur d'éthanol (**Seiler, 1989**)

➤ **Emetteur de CO₂**

Par sublimation, ils sont très utilisés dans le domaine de la conservation sous atmosphère modifiée permettant de lutter contre le transfert de CO₂ à travers le film et contre la dépression dans l'emballage après mise sous atmosphère (**Coma, 2001**).

III.5. Oxydation des aliments et développement des emballages antioxydants

L'oxydation des graisses est l'un des mécanismes les plus importants menant à la détérioration des aliments, qui ne dépend que de la croissance des microorganismes. L'oxydation des lipides dans les aliments entraîne une réduction de la durée de conservation en raison des changements de goût et / ou d'odeur, de la détérioration de la texture et de la fonctionnalité des aliments musculaires et de la réduction de la qualité nutritionnelle (**Pereira et al., 2010**).

L'oxydation des aliments peut être évitée grâce à des agents antioxydants dans l'emballage. Un tel emballage est destiné à prévenir ou ralentir les réactions d'oxydation qui affectent la qualité de la nourriture (**Pereira et al., 2010**). Cependant, les radicaux principalement oxo, hydroxyle et superoxyde, proviennent de l'oxygène se sont les principaux initiateurs de l'oxydation. Ainsi, l'oxydation peut être évitée en éliminant les radicaux dès qu'ils sont formés (**Nerin et al ., 2008**).

Un vernis à l'antioxydant naturel de l'extrait de romarin, qui agit comme un agent piègeur radical, soit en phase vapeur, soit par contact direct, peut éliminer ou retarder l'oxydation des

aliments à l'intérieur du paquet alimentaire. Cela élimine la nécessité d'ajouter des antioxydants au paquet ou à la nourriture (**Nerin et al., 2008**).

L'utilisation de films antioxydants actifs dans la conservation de la viande fraîche peut améliorer la stabilité de la myoglobine et de la viande fraîche contre les processus d'oxydation. La teneur en antioxydant diminue pendant le stockage en raison de la diffusion de l'antioxydant à travers le film et de son évaporation subséquente à la surface. Cette diminution de la concentration de l'antioxydant peut être évitée en ajoutant une couche supplémentaire de film. Les antioxydants peuvent être utilisés pour l'huile, les noix, le beurre, la viande fraîche, les dérivés de la viande, les produits de boulangerie, les fruits et les légumes (**Yam et al., 2005**).

L'utilisation de composés naturels dans la préparation d'un emballage actif avec des propriétés antioxydants est une approche relativement nouvelle du problème de la conservation des produits à base de viande. L'antioxydant peut être ajouté pour la conservation du polymère contre l'oxydation ou pour la conservation des aliments emballés (**Ozdemir et Floros, 2004**).

Etude
expérimentale

Chapitre IV
Matériel et
Méthodes

Objectif

L'étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de Biochimie, Université Abbés Laghrour – Khenchela. Elle a pour but l'exploration de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *Arbutus unedo L.*

IV.1 Matériel

IV. 1.1. Matériel végétal

Il est constitué des fruits d'*Arbutus unedo L* récoltés au cours du mois de novembre 2016 de la région de Texenna, wilaya de JIJEL.

IV.1.2. Produits chimiques et réactifs

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés, parmi ces produits: Gélatine, Glycérol, gel de silice, chloroforme, Chlorure d'hydrogène (HCl), amidon, iodure de potassium (KI), Acide acétique, Thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2 \text{S}_2\text{O}_3$), Phénolphtaléine a 1% dans l'éthanol, Hydroxyde de potassium (KOH), acide trichloroacétique (TCA), acide thiobarbiturique, Toluène, Ethanol, Méthanol, Barium de sodium (Br Na).

IV.1.3. Appareillage

L'appareillage utilisé est le suivant :

- ✓ Rotavapeur (Hanvapor (KIT LAB)).
- ✓ Spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau (Jenway 6305 UV/VIS).
- ✓ Bain Marie (Memmert (31702/uk)).
- ✓ Bain Marie à agitation (14/22 litres) (Memmert).
- ✓ Etuve (Memmert).
- ✓ pH-mètre (Hanwa Ainstrument).
- ✓ Balance analytique (OHAUS).
- ✓ agitateur magnétique (Scilogex MS7-H550-pro).
- ✓ Vortex (Velp Scientifica).

- ✓ Dessiccateur.
- ✓ Centrifugeuse.

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Extraction

IV.2.1.1. Préparation des fruits

Les fruits fraîchement récoltés sont conservés au congélateur. Au laboratoire, l'Arbouse mature a été séché dans une étuve réglée à 40°C pendant 72 h puis broyés dans un broyeur électrique pour l'obtention d'une poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation, la poudre obtenue a été placée dans un flacon en verre fermé hermétiquement.

IV.2.2.2. Préparation de l'extrait méthanolique

a) Préparation des extraits bruts

Les extraits ont été préparés selon la technique décrite par (Isbilir et *al.*, 2012) avec quelques modifications; une prise d'essai de 2g de poudre de la plante a été mise à macérer dans 10ml de solvant sous agitation douce pendant une nuit à température ambiante. L'extrait alcoolique a été récupéré après filtration à l'aide de papier filtre, puis centrifugé à 3500 rpm/5min et filtré pour une deuxième fois. Le méthanol est éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite en utilisant un rotavapeur à la température 40°C permettant ainsi d'obtenir l'extrait méthanolique qui est conservé à +4°C.



Figure13 : Photo du rota vapeur utilisé pour sécher l'extrait méthanolique

b) Calcul du rendement

Nous pouvons déterminer le rendement en extrait sec par le rapport entre le poids de l'extrait sec déjà calculé (en gramme), avec le poids du matériel végétal utilisé pour l'extraction en gramme. Les rendements sont calculés par rapport à 100g de matière végétale sèche.

Le pourcentage en extrait bruts sec méthanolique a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = M / M_0 \times 100$$

Où :

R (%) : Rendement exprimé en %.

M : Masse en grammes de l'extrait sec résultant.

M₀ : Masse en grammes du matériel végétal à traiter.

IV.2.2. Préparation d'emballage à base de gélatine

La gélatine (de concentration finale dans la solution formant le film de 4 g/100 ml) a été dans un premier temps dissous dans l'eau distillée dans un rapport de 4 g/50 ml basés sur l'étude rapportée par (**Thomazine et al . , 2005**) avec quelques modifications, le glycérol (0.3g /g de gélatine) a été ajouté comme plastifiant. Après un mélange approprié, l'extrait de fruit a été incorporé à un rapport 1:1 (gélatine dissous : extrait). Aucune précipitation de protéine n'a été observée suite à l'addition de méthanol ou des polyphénols. Les SFF sans extrait supplémentaire étaient préparé en dissolvant la gélatine (4 g) en 100 ml d'eau distillée et ajouter le plastifiant décrit ci-dessus.

Tous les mélanges ont été chauffés et agités à 40°C pendant 15 minutes pour obtenir un mélange homogène , les films ont été préparés en moulant une quantité de 53.357 ml dans des plateaux de 23.3 cm sur 22.9 centimètres pour obtenir un film de 0.1 mm d'épaisseur , sécher après dans un four à air forcé à 45°C pour 15 h pour obtenir une épaisseur uniforme dans tous les cas. Les films ont été conditionnés dans un dessiccateur en présence d'une solution saturée de BrNa (humidité relative 58%) à 22°C pendant 2 jours.

IV.2.3. Propriétés physico-chimiques de l'emballage

IV.2.3.1. Perméabilité de la vapeur d'eau

La perméabilité de la vapeur d'eau (WV P) des films était mesurée en utilisant une méthode modifiée d'ASTM (1989) comme décrite par (**Shiku et al . , 2004**). Des films ont été scellés

sur une tasse de perméation en verre contient le gel de silice (HR de 0%). Les tasses étaient alors placées dans un dessiccateur saturé avec de la vapeur d'eau à 30°C.

Les tasses ont été pesées à intervalles de 1 h sur une période de 7 h et WVP des films a été calculé comme suit (McHugh *et al.*, 1993) :

$$WVP = \frac{W}{XA} t^{-1} (P_2 - P_1)^{-1}$$

Où :

W : poids de tasse ;

X : épaisseur du film (m) ;

A : la surface exposée du film (m²);

t ; temps (s) ;

(P₂-P₁) : pression différentielle de la vapeur à travers le film

IV.2.3.2. L'opacité du film

Les films ont été coupés en morceau de rectangle et directement placés dans une cuve de spectrophotomètre, en utilisant une autre cuve vide comme référence. L'index d'opacité des films a été calculé en suivant l'équation suivante (Han et Floros, 1997) :

$$O = \text{Abs}_{600} / x$$

Où Abs 600 est la valeur de l'absorbance à 600 nm et x est l'épaisseur de film (millimètre).

IV.2.3.3. La solubilité dans l'eau

Des morceaux de film de 4 cm² ont été pesés et placés dans des béchers avec 15 ml d'eau distillée et alors scellés et doucement secoués à 22° pendant 15 h. La solution a été alors filtrée à l'aide du papier Whatman N° 1 pour récupérer le film non dissous restant, qui était desséché à 105°C/24 h. La solubilités de film a été calculée selon l'équation suivante (Gómez-Estaca *et al.*, 2009).

$$FS (\%) = ((W_0 - W_f) / W_0) \times 100$$

Où :

W₀ est le poids initial du film exprimé comme la matière sèche et W_f est le poids du résidu desséché non dissous de film.

IV.2.4. Activité antioxydante des films obtenus

Les films ont été solidifiés par congélation et broyé. 0.1 g de films broyé ont été mélangé avec 2ml de méthanol puis agité vigoureusement pendant 3 heures et centrifugé à 5500 rpm/10 min. le surnageant obtenu a été utilisé pour le test de DPPH.

➤ Détermination de la réduction du radical DPPH

La réduction de radical DPPH a été déterminé selon la méthode de (Yen et Hsieh, 1995) avec quelques modification ; 500µl d'extrait méthanolique ont été mélangé avec 2ml de solution méthanolique de DPPH à 0.06mM. Le mélange a été agité puis conservé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 30 min. l'absorbance a été mesurée à 517 nm. Le contrôle a été préparé de la même manière sauf que le méthanol doit être utilisé au lieu de l'échantillon. La réduction de radical DPPH a été calculée comme suit (Singh et Ragini, 2004) :

$$\text{Réduction de DPPH (\%)} = (1 - (A_{\text{échantillon}} / A_{\text{contrôle}})) \times 100$$

Où : $A_{\text{échantillon}}$ est l'absorbance d'échantillon et $A_{\text{contrôle}}$ est l'absorbance du contrôle.

IV.2.5. Utilisation de l'extrait obtenu dans la bio-conservation

IV.2.5.1. Préparation des extraits

A partir des extraits bruts, un extrait de concentration de 2 mg/ml a été préparé dans l'eau distillée.

IV.2.5.2. préparation de l'échantillon à conserver

Le beurre traditionnel a été coupé en morceaux homogène dont le poids varie entre 30g et 250g ces morceaux ont été répartis dans un plateau dont 1/4 est recouvert par l'extrait de fruit déjà préparé, 1/4 est recouvert par l'emballage sans extrait, 1/4 est recouvert par l'emballage avec extrait et l'autre partie est utilisée comme témoin. Les échantillons ont été stockés au réfrigérateur à 4°C.

IV.2.5.3. Analyses physicochimiques du beurre pendant la conservation

Les analyses ont été réalisées en répétitions chaque trois jours.

a) Détermination du pH

La mesure a été réalisée en plongeant l'électrode du pH mètre dans le beurre liquéfié. La valeur du pH est enregistrée sur l'écran du pH mètre.

b) Détermination de l'acidité

L'acidité est mesurée selon la norme (AFNOR, 1984). 6g de la matière grasse est dissout dans 100ml de mélange éthanol/toluène (V/V), puis titré sous agitation avec la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 0.5N en présence de 0.3ml de la solution de phénolphaléine à 1% dans l'éthanol, jusqu'au virage de l'indicateur (coloration rose).

L'acidité, exprimée en pourcentage est égale à :

$$\text{Acidité} = (V \times C \times M) / (10 \times m)$$

Où :

V : est le volume en ml de solution titrée de KOH utilisé.

C : est la concentration exacte, en moles / litre, de la solution titrée de KOH utilisé.

M : est le poids molaire, en g/mole, de l'acide adopté pour l'expression de résultat (=282).

m : est la prise d'essai en grammes.

c) Détermination de la teneur en peroxyde

La teneur en peroxyde (PV) était mesurée selon la méthode d'IUPAC (1979). L'échantillon (1-4 g) était mélangé avec 25 ml de mélange d'acide acétique : chloroforme (3:2, v/v), suivi par l'addition d'une solution saturée de l'iodure de potassium (1 ml). Le mélange réactionnel est conservé pendant 5 minutes dans l'obscurité. L'eau distillée (75 ml) a été ajoutée au mélange puis titré avec une solution de thiosulfate de sodium à 0.01M et 1ml d'amidon à 1% comme indicateur.

Le PV était exprimé en meq/kg d'échantillon en utilisant l'équation suivante :

$$PV = (a-b) \times N \times 100/W$$

Qu' a et b sont le volume (ml) de thiosulfate de sodium utilisé pour la titration de blanc et de l'échantillon respectivement. N est la concentration de thiosulfate de sodium (normal) et W est le poids de l'échantillon (g).

d) Indice de saponification

L'indice de saponification est déterminé selon la méthode décrite par (Lecoq ,1965) Pour cela, à 1g de la matière grasse a été ajouté 25ml de potasse alcoolique (0.5 mol /L), après agitation, le mélange a été porté à ébullition pendant 15à 30 minutes en agitant de temps en temps. Après refroidissement, nous avons additionné 5 gouttes de phénol phtaléine au mélange. L'excès de potasse a été titré par l'acide chlorhydrique 0.5N jusqu'à décoloration. Un blanc a été effectué dans les mêmes conditions que précédemment décrite mais sans matière grasse pour titrer la solution de potasse en jeu. L'indice de saponification est exprimé par la formule suivante :

$$I_s = (V_{\text{blanc}} - V_{\text{essai}}) \times N_{\text{HCl}} \times P_{\text{MKOH}} / P$$

Avec :

P : prise d'essai (g).

V_{blanc} : volume de l'HCl 0.5N utilisé lors de la réaction du blanc.

V_{essai} : volume de l'HCl 0.5N utilisé lors de la réaction de l'essai.

HCl=0.5N : normalité de l'HCl.

KOH =56.1g/mol : poids moléculaire de potasse alcoolique.

e) Détermination de TBARS

La valeur de TBARS de l'échantillon sans et avec le film était déterminée selon la méthode de (Buege et Aust ,1978). 0.1 g de l'échantillon était mélangé avec 5 ml de solution TBA (0.375 g d'acide thiobarbiturique, 15 g de l'acide trichloroacétique, et 0.875 ml de l'acide hydrochlorique mélangé en 100 ml d'eau distillée).

Le mélange était chauffé pendant 10 minutes dans un bain d'eau bouilli (95-100°C) jusqu'à le développement d'une couleur rose, refroidi sous l'eau du robinet puis centrifugé à 7500 t/mn pendant 10 minutes. L'absorbance est mesurée à 532 nm. Une courbe d'étalonnage a été préparée en utilisant malonaldehyde bis (dimethyle acétale) (MDA) à concentration de 0 à 1000 µM.

La valeur de TBARS dans chaque échantillon était exprimée en MDA/ Kg d'échantillon en utilisant la courbe d'étalonnage.

Chapitre V
Résultats et
discussions

Le présent travail porte sur l'exploration de l'activité antioxydant d'*Arbutus unedo L.* dans la bioconservation du beurre.

V.1 Calcul du rendement d'extraction des composés phénoliques

L'extrait méthanolique de fruit d'*Arbutus unedo L.* a été préparé à partir de la poudre de ce fruit sec dont le rendement est représenté dans le tableau 03.

Tableau 03 : Le rendement d'extraction méthanolique de fruit d'*Arbutus unedo L.*

Poids du matériel végétal (g)	Poids de l'extrait (g)	Rendement (%)
50g	4.066g	8.132

Le rendement d'extraction par une macération sous agitation du matériel végétal d'*Arbutus unedo L.* à l'aide du solvant polaire ; le méthanol, atteint 8.13%, cette opération a permis d'obtenir un résidu sec d'extrait brut orange très foncée avec un aspect collant.

D'après **Kaplan (1984)**, le rendement d'extraction n'est pas relatif ; varie en fonction de la localisation géographique de l'espèce végétale, le degré de la maturité, la génétique, le climat, la période de récolte et l'organe utilisé dans l'extraction, les conditions de séchage, le contenu de chaque espèce en métabolites, la nature du solvant utilisé dans l'extraction ou le fractionnement et de sa polarité.

V.2.Préparation d'emballage à base de gélatine

V.2.1. propriétés macroscopiques des emballages préparés

Le film préparé à partir de gélatine est de couleur transparente ou légèrement jaune, sans odeur, d'une épaisseur de 0.1mm avec un certains caractère de flexibilité. L'aspect de cet emballage est représenté dans la figure 14.



Figure 14 : Aspect de film d'emballage préparé.

V.2.2. Propriétés physico-chimiques des emballages

V.2.2.1. Test de la perméabilité

La perméabilité à la vapeur d'eau (WVP) est l'une des propriétés les plus importantes dans l'emballage alimentaire en raison du rôle notable de l'eau dans les réactions dégradantes et la croissance microbienne (**Qin et al ., 2006**).

Les résultats de la perméabilité de l'eau des films préparés à base de la gélatine incorporés ou non de l'extrait d'arbousier sont représentés dans le tableau **04**.

Tableau 04 : Les valeurs de perméabilité des films à base de gélatine.

Type du film	Film sans extrait	Film avec extrait
Perméabilité ($\text{g mm}^{-1} \text{h}^{-1} \text{Pa}^{-1}$)	$8.98 \times 10^{-9} \pm 0.413$	$10.026 \times 10^{-9} \pm 0.219$

L'analyse de ce tableau montre que la perméabilité la plus élevée est enregistrée pour le film avec extrait ($10.026 \times 10^{-9} \pm 0.219 \text{ g mm}^{-1} \text{h}^{-1} \text{Pa}^{-1}$), tandis que la perméabilité du film sans extrait prend la valeur de $8.98 \times 10^{-9} \pm 0.413 \text{ g mm}^{-1} \text{h}^{-1} \text{Pa}^{-1}$.

Ces résultats obtenus sont inférieurs aux résultats trouvés par **Sobral et al. (2001)** avec une valeur de $2 \times 10^{-8} \text{ g m}^{-1} \text{h}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ et aussi largement inférieur au résultat obtenu par **Jongjareonrak et al. (2006)** avec une valeur de $6 \times 10^{-8} \text{ g m}^{-1} \text{h}^{-1} \text{Pa}^{-1}$.

Cette différence peut être due au poids moléculaire de la gélatine et leur source, la quantité de plastifiant ajouté, la composition, la taille et la forme du plastifiant

influence aussi sa capacité à interagir avec les chaînes protéiques et à se lier avec les molécules d'eau (Sothornvit et Krochta, 2001).

V.2.2.2. Test d'opacité

Les résultats obtenus pour la détermination d'opacité des films sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau 05 : Opacité des films à base de la gélatine.

Type de film	Sans extrait	Avec extrait
Opacité (mm^{-1})	0.207±0.035	0.215±0.0005

L'analyse de ce tableau montre que l'opacité la plus élevée est enregistrée pour le film avec extrait ($0.215\pm 0.357 \text{ mm}^{-1}$). En outre, l'opacité du film sans extrait prend la valeur de $0.207\pm 0.005 \text{ mm}^{-1}$.

L'incorporation de l'extrait d'arbousier a causé une augmentation d'opacité de film, améliorant de ce fait les propriétés des films en tant que barrière de lumière. En effet, l'augmentation des propriétés de barrière de lumière des films de la gélatine par suite d'addition des agents antioxydants a été précédemment rapportée par plusieurs auteurs (Gómez-Guillén *et al.*, 2007 ;Gómez-Estaca *et al.*, 2008, 2009).

Les résultats de Jongjareonrak *et al.* (2005) confirment que la différence dans les transmissions de la lumière des films pourrait être expliquée par les différentes interactions des molécules antioxydants avec la gélatine.

V.2.2.3. Test de solubilité

Le tableau 06 regroupe les résultats relatifs aux valeurs de la solubilité des films avec et sans extrait dans l'eau.

Tableau 06 : Solubilité des films préparés à base de la gélatine.

Type de film	Sans extrait	Avec extrait
Solubilité (%)	53.133±7.548	48.926±9.355

D'après les résultats de ce tableau, il est clair que le film avec extrait est moins soluble dans l'eau que celui sans extrait avec des valeurs de solubilité de $48.926\pm 9.355 \%$ et $53.133\pm 7.548 \%$ respectivement.

Par comparaison avec d'autres travaux, nos résultats sont révélés supérieurs à ceux trouvés par **Bertan et al. (2005)** qui ont enregistré une valeur de solubilité égale à 30%, cependant, ils sont inférieurs à ceux trouvés par **Pérez-Mateos et al. (2009)** qui ont enregistré une valeur comprise entre 90 et 100 %.

Cette variabilité est due selon **Gomez-Estaca et al., (2009)** à la différence de la composition du film en composés polyphénoliques.

V.2.3. Activité antioxydant des emballages

Pour détecter l'activité anti-radicalaire des emballages préparés, nous avons utilisé le 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), un radical stable, violet en solution et présentant un maximum d'absorption caractéristique à 517 nm. Le protocole appliqué repose sur la disparition de ce maximum lorsque le DPPH est réduit par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration (**Markowicz Bastos et al., 2007**).

Les résultats expérimentaux de la réduction de DPPH par les deux types de films préparés sont mentionnés dans le tableau 07.

Tableau 07 : Réduction du DPPH par des films à base de la gélatine

Type de film	Sans extrait	Avec extrait
réduction du radical DPPH (%)	15%	29%

Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire révèlent que le film avec extrait a une activité anti-radicalaire plus élevée (29%) que celui sans extrait (15%).

L'utilisation d'extraits antioxydants à partir de sources naturelles, semble être un moyen plus prometteur pour l'amélioration de la propriété antioxydante des films comestibles (**Li et al., 2007**).

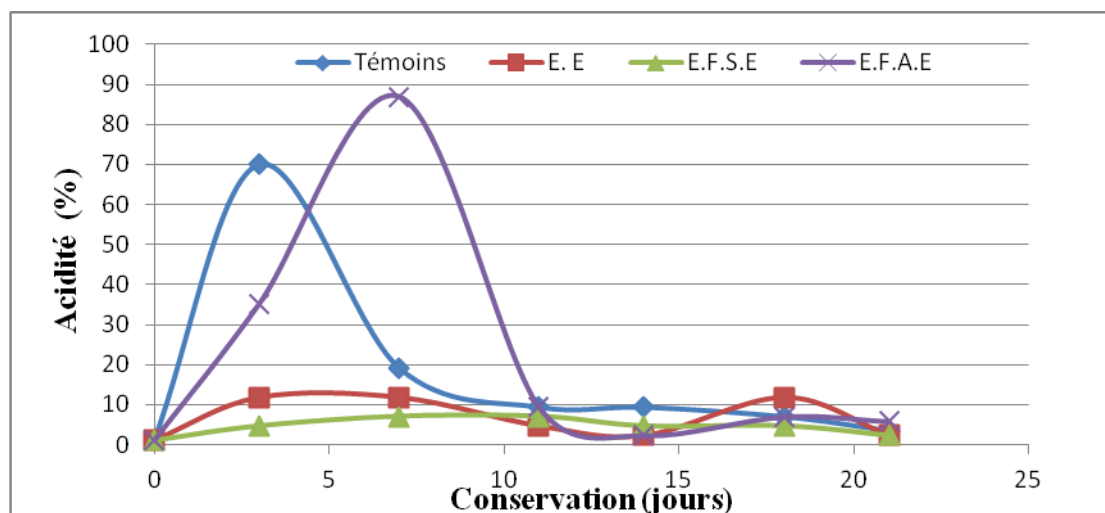
V.3. Essai de conservation du beurre par l'extrait de fruit

V.3.1. Détermination de l'acidité

L'intensité de l'hydrolyse de la matière grasse, est plus élevée d'un échantillon à l'autre. Cette augmentation est le témoin d'une forte lipolyse. Au cours de l'évolution de la matière grasse en fonction de la durée de conservation, les acides gras à courte

chaîne sont plus facilement libérés et l'acide butyrique est préférentiellement hydrolysé (El-marrakchi *et al.*, 1986).

La répartition des valeurs d'acidité pour les échantillons du beurre est présentée dans la figure 15.



E.E : échantillon étalé par l'extrait, **E.F.S.E**: échantillon couvert par emballage sans extrait, **E.F.A.E** : échantillon couvert par emballage avec extrait.

Figure 15 : variation de l'acidité du beurre au cours du stockage réfrigéré.

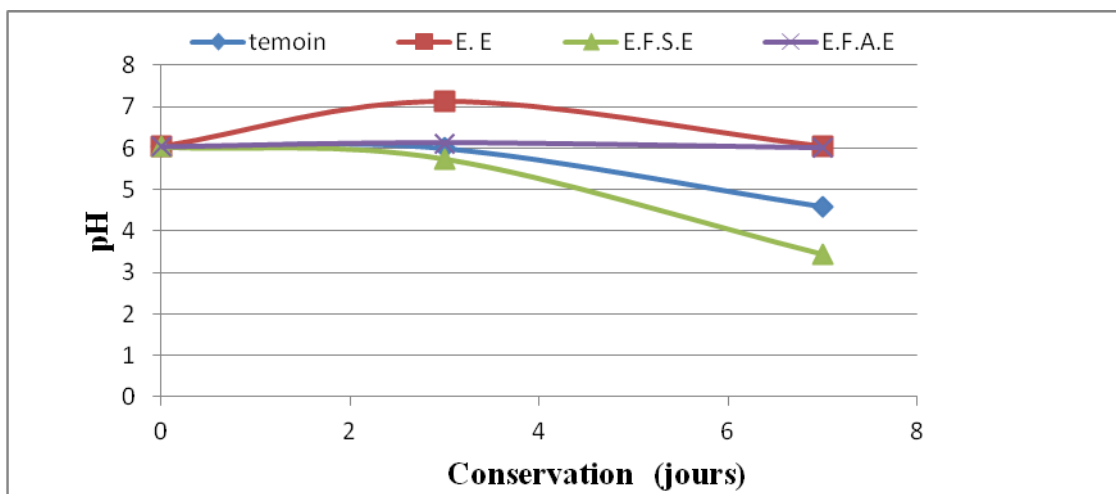
L'analyse de la figure ci-dessus montre qu'au cours de la conservation, l'acidité de beurre témoin augmente de 1.175 ± 24.033 % à 70.5 ± 24.033 % , et de 1.175 ± 4.978 % à 11.75 ± 4.978 % pour les ceux étalée avec extraits pendant les premier trois et sept jours de conservation respectivement. Par ailleurs, ces valeurs d'acidité chutent directement à partir de ces jours pour atteindre au dernier jour de conservation les valeurs de 3.52 ± 24.033 % et de 2.35 ± 4.978 pour le beurre témoin et étalé par l'extrait respectivement.

Concernant les échantillons couvert par l'emballage avec et sans extrait, l'acidité de beurre a connue une légère augmentation qui se traduit par une variation de 1.175 ± 31.228 % à 86.95 ± 31.228 % et de 1.175 ± 2.190 à 7.05 ± 2.190 % respectivement pendant toute la période de stockage.

V.3.2. Détermination du pH

La variabilité en pH est généralement liée à la présence de différents acides phénoliques et acides gras dans la composition du beurre. Il faut également noter que

le degré d'acidité du beurre augmente avec la durée de leur stockage, favorisant ainsi les réactions d'auto-oxydation et de polymérisation qui transforment les alcools phénoliques en acides phénoliques ce qui induit un changement de leur coloration initiale vers un noir très sombre (Eroglu *et al.*, 2008).



E.E : échantillon étalé par l'extrait, **E.F.S.E**: échantillon couvré par emballage sans extrait, **E.F.A.E** : échantillon couvré par emballage avec extrait.

Figure 16 : variation du pH au cours de la conservation réfrigérée.

Les résultats concernant l'évolution du pH durant les 7 premiers jours du stockage sont groupés dans la figure 16. Selon ces résultats, on remarque une diminution du pH des lots témoins de 6.03 ± 0.828 à 4.58 ± 0.828 . Cet abaissement du pH du produit témoin est dû à une fermentation importante au sein de ce dernier.

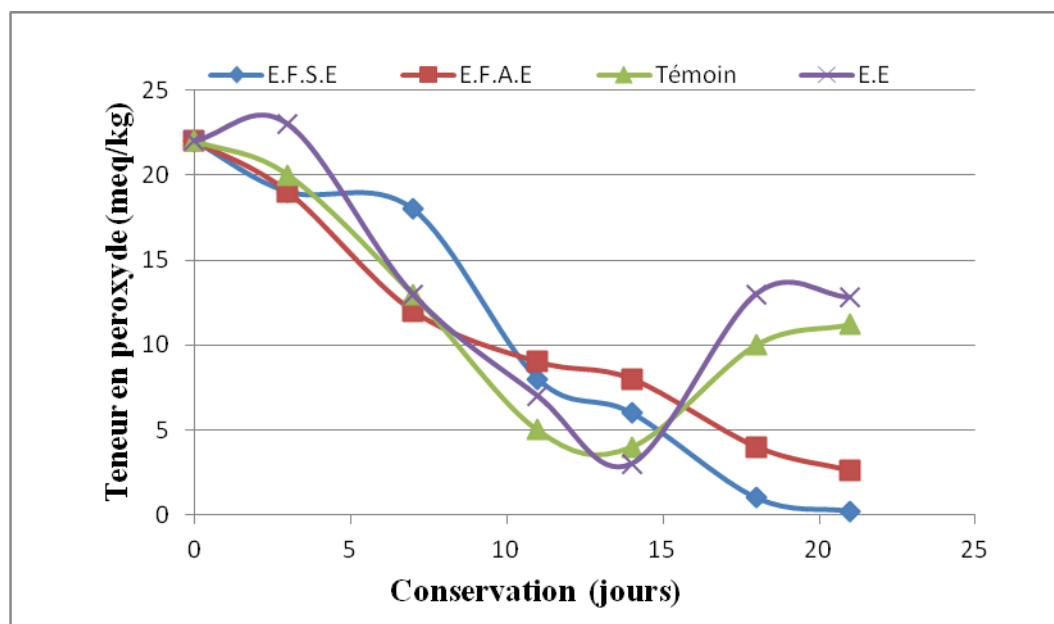
Pour les échantillons traités par l'extrait, on observe également une diminution du pH dès le premier jour de conservation de 7.12 ± 0.629 pour atteindre une valeur du pH de 6.03 ± 0.629 au dernier jour du stockage, cette diminution est moins importante que celle du témoin.

Pour les échantillons emballés par des films avec et sans extrait, on remarque une diminution de pH de 6.03 ± 0.058 à 6 ± 0.058 et de 6.03 ± 1.424 à 3.43 ± 1.424 respectivement. Cette différence observée entre les deux échantillons peut être due à l'effet de l'extrait de fruit.

V.3.3. Détermination de teneur en peroxyde

Les valeurs d'indice de peroxyde des échantillons étudiés sont illustrées par la figure 17.

En raison de l'importance de l'oxydation des matières grasses sur le plan nutritionnel et sensoriel, l'indice de peroxyde doit être contrôlé. Il donne une évaluation sur la qualité de peroxyde présent dans un corps, c'est ce qui indique en fait la quantité d'acide gras déjà rancé (Deiana et al., 2002 ; Delmi-Bouras, 2004).



E.E : échantillon étalé par l'extrait, **E.F.S.E**: échantillon couvré par emballage sans extrait, **E.F.A.E** : échantillon couvré par emballage avec extrait.

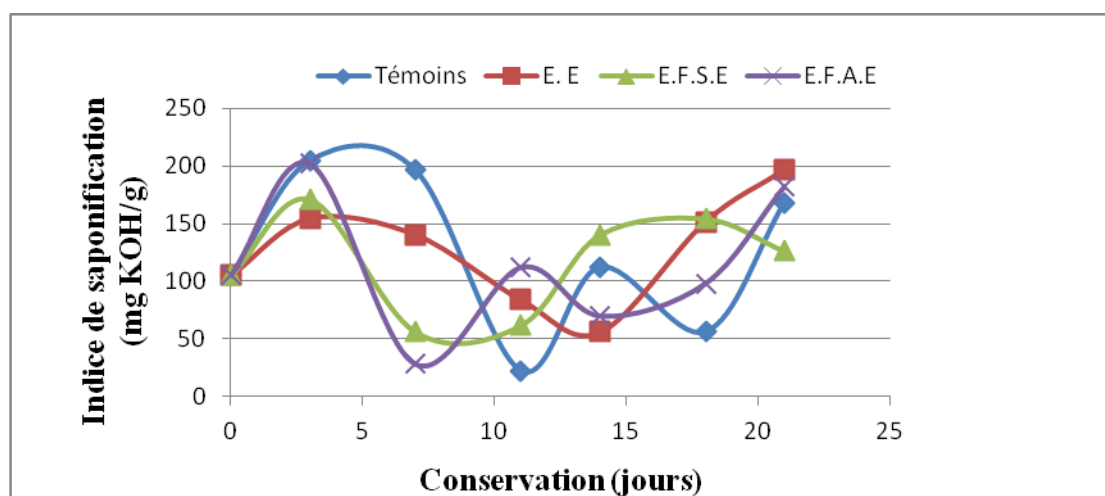
Figure 17 : Variation de l'indice de peroxyde du beurre au cours du stockage réfrigéré.

Selon la figure 17, les teneurs en peroxyde des quatre échantillons présentent une diminution d'une façon continue au cours des deux premières semaines de stockage. En effet, les valeurs de ces teneurs chutent de 20 ± 6.860 meq/Kg à 4 ± 6.860 meq/Kg pour le témoin et de 23 ± 7.256 meq/K à 3 ± 7.256 meq/Kg pour l'échantillon étalés par extrait. Pour les échantillons emballés par des emballages avec et sans extrait, les teneurs en peroxyde diminuent de 18 ± 7.286 meq/Kg à 6 ± 7.286 meq/Kg et de 19 ± 8.977 meq/Kg à 8 ± 8.977 meq/Kg respectivement. Par la suite un taux d'augmentation notable à été remarqué pour le beurre étalé par l'extrait et celui témoin, les valeurs enregistrées à la fin de la conservation sont 13 ± 7.256 meq/Kg et 10 ± 6.860 meq/Kg respectivement.

Par comparaison avec la littérature et selon **Boselli et al., 2005** l'incorporation des antioxydants n'a montré aucun changement de l'indice de peroxyde au cours du temps de conservation. Ces résultats montrent que les films incorporés des antioxydants ne présentaient aucune différence dans la prévention d'oxydation.

V.3.4. Indice de saponification

Cet indice nous a permis d'estimer la longueur moyenne de la chaîne des acides gras du beurre, puisque sa valeur est d'autant plus élevée que les acides gras sont de plus faible poids moléculaire (**Adrian et al., 1998**).



E.E : échantillon étalé par l'extrait, **E.F.S.E**: échantillon couvré par emballage sans extrait, **E.F.A.E** : échantillon couvré par emballage avec extrait.

Figure 18 : Variation d'indice de saponification au cours de la conservation réfrigérée.

Selon les résultats présentés dans la figure **18**, on constate que les valeurs d'indice de saponification varient de 204.765 ± 69.686 mg de KOH/g à 168.3 ± 69.686 mg de KOH/g pour les témoins et de 154.275 ± 47.725 mg de KOH/g à 196.35 ± 47.725 mg de KOH/g pour les échantillons traités par l'extrait de fruit d'arbousier.

Pour le beurre emballé par le film avec extrait les valeurs varient entre 201.96 ± 60.573 mg de KOH/g et 182.325 ± 60.573 de KOH/g, et pour celui emballé avec un film sans extrait, l'indice de saponification varié entre 171.105 ± 44.432 mg de KOH/g et 126.225 ± 44.432 mg de KOH/g.

Selon **Lecoq (1965)**, l'indice de saponification peut atteindre 220 à 232 mg de KOH/g pour la graisse du beurre industriel, les résultats trouvés lors de cette étude sont très loin de ces valeurs.

V.3.5. Détermination de TBARS

TBARS est aujourd'hui considéré comme un marqueur standard pour la peroxydation des lipides induite par le stress oxydatif (Tsai et Huang, 2015).

Les valeurs de TBARS des échantillons de beurre témoin, étalé par l'extrait et recouvert par l'emballage avec ou sans extrait durant le stockage au froid pendant 21 jours de conservation sont représentés dans la figure 20.

La figure 19 représente la courbe d'étalonnage de malonaldehyde bis (diméthyle acétale) (MDA) utilisée pour la détermination des concentrations de TBARS des différents échantillons de beurre pendant la conservation :

$$Y = 1.4167x + 0.0785 \text{ avec } R^2 = 0.999$$

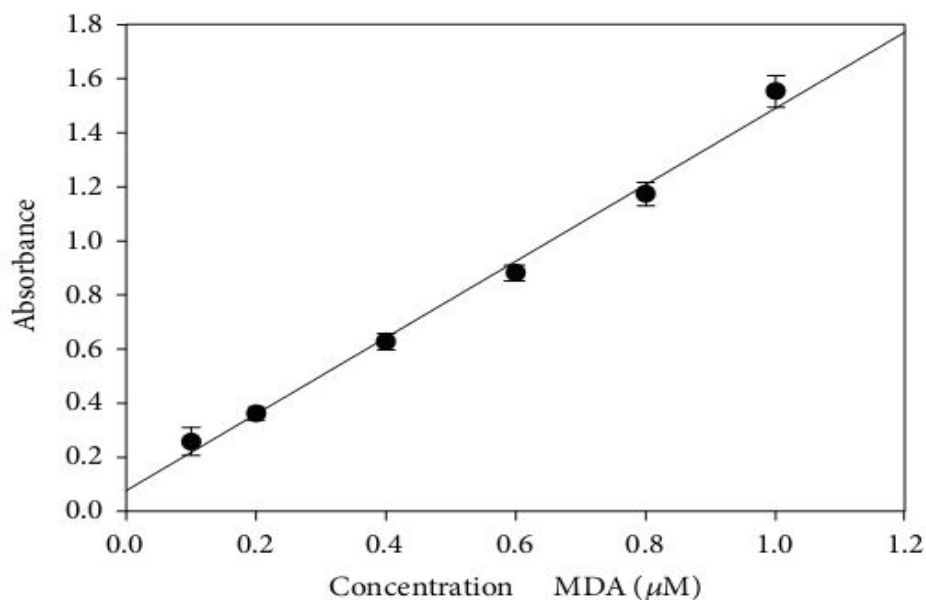
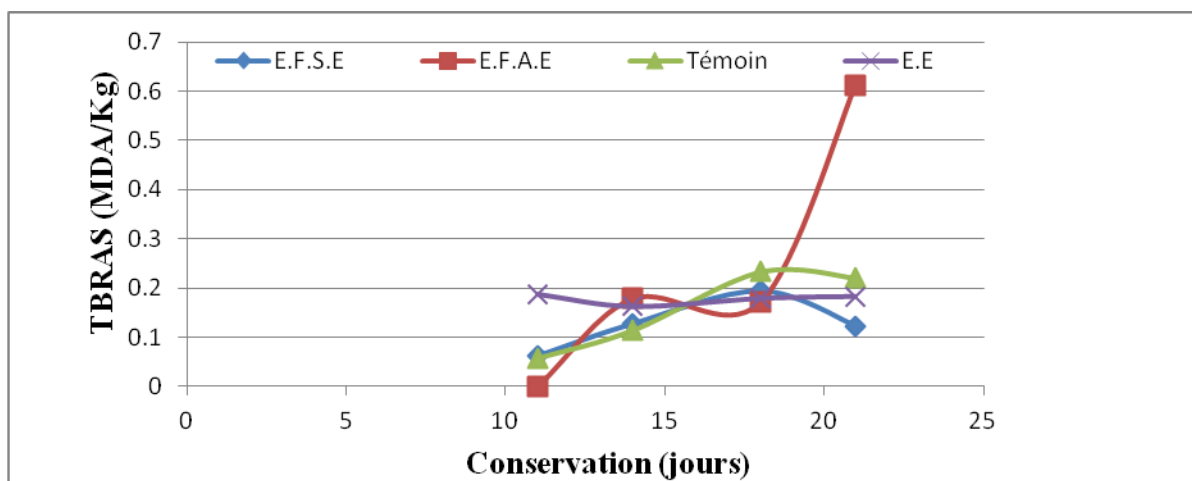


Figure 19 : Courbe d'étalonnage de MDA (Alam et Ullah, 2016).



E.E : échantillon étalé par l'extrait, **E.F.S.E**: échantillon couvert par emballage sans extrait, **E.F.A.E** : échantillon couvert par emballage avec extrait.

Figure 20 : Variation de TBARS au cours de la conservation.

Les résultats mentionnés dans la figure précédente, représente la variation de TBARS au cours du temps de stockage, les valeurs de TBARS des quatre échantillons augmentent de façon continue de 0.061 ± 0.054 MDA/Kg à 0.194 ± 0.054 MDA/Kg pour le beurre avec emballage sans extrait, de 0.163 ± 0.010 MDA/Kg à 0.186 ± 0.010 MDA/Kg pour le beurre étalé par l'extrait, de 0.05 ± 0.084 MDA/Kg à 0.221 ± 0.084 MDA/Kg pour le témoin et de 0.00035 ± 0.261 MDA/Kg à 0.613 ± 0.261 MDA/Kg pour le beurre emballé par le film avec extrait.

Généralement, l'augmentation de TBARS des échantillons emballés par des films contenant des antioxydants est faible par rapport au TBARS de ceux sans antioxydants. Le film de gélatine peut jouer un rôle comme une barrière à la perméabilité d'oxygène sur la surface d'échantillon donc une petite quantité peut pénétrer à la surface qui va provoquer une oxydation légère (**Jardine et al., 2002**).

Selon **Wessling et al. (2000)**, l'incorporation des composés hydrophobiques (les antioxydants) aux films exerce des effets négatifs sur la transmission d'oxygène.

*Conclusion
générale*

Conclusion et perspectives

L'utilisation des emballages bioactif dans la conservation des aliments a fait l'objet de plusieurs études récentes. Les films bioactif à base des polymères tels que la gélatine et le chitosane additionné des antioxydants (acide gallique, BHT et α -tocophérol) ou des extraits de plantes sont considéré une nouvelle approche pour la bioconservation.

Dans ce travail nous avons préparé des films à base de la gélatine et du glycérol comme plastifiant. L'ajout de l'extrait méthanolique de fruits d'*Arbutus unedo L* nous a permis de tester l'aptitude du film dans le processus de conservation

L'étude des caractéristiques physicochimiques des films nous a donné des résultats proches à ceux motionnés dans des travaux précédents.

Le film ajouté d'extrait des fruits d'*Arbutus unedo L* a été utilisé comme emballage pour la conservation du beurre traditionnel. Comparant au film non additionné de l'extrait et au beurre non emballé, le film bioactif a montré une capacité à prévenir l'oxydation du beurre au cours du stockage, traduite par la stabilité du pH de l'acidité et la diminution de l'indice de saponification.

Sur la lumière des résultats trouvés, on peut conclure que les fruits d'*Arbutus unedo L* constituent un potentiel important peut être exploité dans le domaine de la bioconservation et les emballages bioactifs.

Nos résultats restent préliminaires et méritent d'être approfondis par :

- ✓ l'étude de spectre d'absorption du film par Infrarouge à transformé de fourrier.
- ✓ l'étude de l'architecture du film en utilisant le microscope électronique à balayage.
- ✓ identification des composés phénolique par HPLC-MS... etc

- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A., Dauvillier, P.(1998).** Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaire. Ed .Tec& Doc Lavoisier, Paris, p.50, 51,254.
- Akkasit, J., Soottawat, B., Wonnop, V., Munehiko, T. (2008).** Antioxidative activity and properties of fish skin gelatin films incorporated with BHT and a –tocopherol. *Food Hydrocolloids* 22 (2008) 449 – 458.
- Alam, Z., Ullah, F.(2016).** A Simple Spectrophotometric Method for the determination of Thiobarbituric Acid Reactive Substances in Fried Fast Foods. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*; 1-5.
- Anders, B (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. University of Toronto. Canada; anders. 13(2):184-196.
- Anon.(1977).** Packaged foods and drinks in containers coated internally with polymer carrying enzyme with sterilising action. German Patent DE2817854A.
- Apema, R., Mouzouloua, D., Madiapevo, S. (2010).** Inventaire préliminaire des fruits sauvage comestibles vendus sur les marchés de Bangui. In : X. van der Burgt. J. van der
- AFNOR (Association Française de Normalisation), (1984).** Corps gras –graines oléagineuses- produits dérivés, 4ème édition, Paris, p. 459.
- Ayaz, F.A., Kucukislamoglu,M., Reunanen,M.(2000).** Sugar,Non-volatile and Phenolic Acids Composition of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Fruits, *J.Food Composition and Analysis* 13 : 171-177.
- Bennick, A. (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. University of Toronto. Canada; anders. 13(2):184-196.
- Berahou, A., Auhmani, A., Jana, M. et Benharref, A.** Etude de l'activité antibactérienne et anti-fongique de l'écorce de quercus ilex et des feuilles d'Arbutus unedo. Thèse de doctorat
- Bertan, L. C., Tanada-Palmu, P. S., Siani, A. C., & Grosso, C. R. F. (2005).** Effect of fatty acids and 'Brazilian elemi' on composite films based on gelatin. *Food Hydrocolloids*, 19, 73–82.
- Boullard, B.(1997)** Dictionnaire: Plantes et Champignons, Edition ESTEM, p 55.
- Boullard, B.(2001)** Plantes Médicinales du Monde; Réalités et Croyances, Edition ESTEM, p50, 80

- Boubaker, A., Kayouli C . (2004).**Buldgen: Composition chimique et teneur en composés phénoliques des espèces arbustives du nord-ouest de la Tunisie. INAT, Tunisie
- Bravo, L. (1998).** Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 56(11): 317-333.
- Briandet, R. (1999),** Maîtrise de l'hygiène des surfaces par la création de biofilms – aspects physicochimiques ; thèse de doctorat. p 170
- Budny, J. (1990).** Presentation at Pack Alimentaire, San Francisco, California, May.
- Buege, J ., Aust, S. (1978).** Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, 52, 302–310.
- Celikyel ,G ., Demirso, L., Demirsoy, H. (2008).** The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Scientia Horticulturae*. 118 :115-119.
- Coma, V ., Sebti, I ., Pardon, P ., Pichavant, F ., Deschamps, A. (2001).** Antimicrobial edible packaging based on cellulosic ethers, fatty acid and nisine incorporation to inhibit *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Protection*, **64**, 470-475
- Edward, F., Gilman., Dennis, G. (2006).** *Arbutus unedo*: Strawberry-Tree. IFAS (Institute of Food and Agricultural Sciences). University of Florida.
- El Euch, F. (1995).** Le sylvopastoralisme en Tunisie. *Direction Générale des Forêts* : 161-164.
- ELMarrakchi, A., Berrada, M., Chahboun, M., Benbouhou, M.(1986).** Etude chimique du smen marocain. Département d'Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale (HIDAOA), Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, B.P. 6202-Rabat-Instituts, Maroc. Section de Technologie alimentaire du même Institut. *Le Lait*, 66 (2) 117-120.
- FAO. (2005).** Situation des forêts du monde en 2005.Rome, Italie.
- Fang, Y., Tung, M., Britt, I ., Yada, S., Dalgleish, D. (2002).**Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins.*Journal of Food Science*, 67, 188–193.

- Férard, P. (2003).** La nature est une source d'inspiration importante dans la pratique photographique. Seve Info (service des espaces verts et de l'environnement de la ville de Nante), n° 1256.
- Fine, F., Gervais P. (2007)** .Décontamination des produits déshydratés à usage alimentaire Techniques de l'ingénieur F1136 .
- Fiorentino, A., Castaldi, S., D'Abrosca, B., Natale, A., Carfora,A., Messere, A., Monaco,P.(2007)** .Polyphenols from the hydroalcoholic extract of *Arbutus unedo* living in a monospecific Mediterranean woodland, *Biochemical, Systematics and Ecology* 35 : 809-811,.
- Floros, J., Dock, L., Han, J. (1997).** Active packaging technologies and applications. Food Cosmet Drug Package 20(1):10-7.
- Galvez, A., Abriouel, H., Lopez, R., Omar, N. (2007).** Bacteriocin-based strategies for food preservation. J. of Food Microbiology 120: 51-70
- Gilman et Watson (2006).** *Arbutus unedo*: Strawberry-Tree. IFAS (Institute of Food and Agricultural Sciences). University of Florida.
- Gómez-Estaca, J., Montero, P., Giménez, B., Gómez-Guillén, M. C. (2007).** Effect of functional edible films and high pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry*, 105, 511–520.
- Gomez-Estaca, J., Bravo, L., Gomez-Guillen, M. C., Alema' n, A., et Montero, P. (2009).**Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extract. *Food Chemistry*, 112(1), 18–25.
- Gómez-Estaca, B., Giménez, P., Montero, M., Gómez-Guillén.(2009)** Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering* 92; 78–85
- Goossens, J. février. (2009)** .Fost Plus asbl, pdf
- Guette, C. (2000).** Les alcaloïdes. Centre de lutte contre le cancer Paul Papin.
- Han, J., Floros, J. (1997).** Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. *Journal of Plastic Film and Sheet* 13, 287–298.
- Harry, A., Alden. (1995).** Hardwoods of north america. Forest Service (USA), 136 P.

Idoui, T., Benhamada, N., Leghouchi, E. (2010). Microbial quality, physicochemical characteristics and fatty acid composition of a traditional butter produced from cows' milk in East Algeria. Laboratory of Pharmacology and Phytochemistry, University of Jijel, vol.61 (3), p. 232-236.

Imran, M. (2011). Enrobages actifs contenant des peptides antimicrobiens nano-vectorisés .Thèse de doctorat

Isbilir, S.S., Orak, H.H., Yagar, H., Ekinci, N.(2012) Determination of antioxidant activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) flowers and fruits at different ripening stages. *Acta Sci. Pol.*, 11, 223–237.

IUPAC. (1979). In Standard methods for the analysis of oils, fat and derivatives (6th ed., Part 1). Paris: Pergamon Press.

J.Harborne (1980). Advances in Flavonoid Research since 1992, *Phytochemistry* 55: 481-504 .

JEANTET ,R., CROGUENNEC, T., SCHUCH, P. et BRULÉ G., (2006), Science des aliments : Biochimie-Microbiologie-Procédés-Produits, Vol 1 : Stabilisation biologique et physico-chimique, Tech & Doc, Paris, P 383 .

Jongjareonrak, A., Benjakul, S., Visessanguan, W., Prodpran, T., Tanaka, M. (2006). Characterization of edible films from skin gelatin of brownstripe red snapper and bigeye snapper. *Food Hydrocolloids*, 20, 492–501.

Kader, A. (1987). Respiration of gas exchange in vegetables. In: *Post Harvest Physiology of Vegetables*, J. Weichmann (ed.), Marcel Dekker, New York, Chapter 3.

Kaplan,A.urea.(1948). clin chemthe c.v.1257-1260.437and418 .1984.

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Muséum National d'Histoire Naturelle. Thèse de doctorat.

Kumbasli, M .(2005). Études sur les composés polyphénoliques en relation avec l'alimentation de la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana* (Clem.)). Université Laval Québec. Thèse de doctorat.

- Lecoq, R. (1965).** Manuel d'analyses alimentaires et d'expertises usuelles. Ed. Doin, p. 1304-1311.
- Li, A ., Chen , J ., Zhu, W ., Jiang ,T., Zhang ,X .(2007).** Antibacterial activity of gallic acid from the flowers of *Rosa chinensis* Jacq. Against fish pathogens. *Aquac Res* 38(10):1110-2.
- LI H. Q., LLOYD R. J. et WANG J. D.(2007).**b- Effect of Astragalus polysaccharides on Erythrocyte Immune Adherence of Chickens Inoculated with Infectious Bursa1 Disease Virus. *Agricultural Sciences in China*, vol. 6: 1402-1408.
- Lopez, R.L.(2006),** Bacteriocin-based strategies for food preservation. *J. of Food Microbiology* 120 : 51-70
- Makhloufi, A. (2013).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Th. Doct. UNIVERSITE ABOUBAKER BELKAID, Tlemcen, p. 67.
- Males, Z et al (2006).** Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of the strawberry tree-*Arbutus unedo* L. (Ericaceae). *Acta Pharm.* 56: 245–250.
- Marfak, A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. Université de Limoges. Thèse de doctorat.
- Markowicz Bastos, D. H., Saldanha, L. A., Catharino, R. R., Sawaya, A.C.H. F., Cunha,I**
- Marjorie, M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews.* 12 (4):564–582.
- McHugh, T. H., Avena-Bustillos, R., et Krochta, J. M. (1993).**Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vaporpermeability and explanation of thickness effects. *Journal of Food Science*, 58, 899–903.
- Middleton, E. et al., (2000).** The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart, disease, and cancer. *Pharmacological review.* 52 (4): 673-751.

- Milane, H. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Université Louis Pasteur (Strasbourg). Thèse de doctorat.
- Mendes, L., de Freitas, V., Baptista, P.; Carvalho, P.(2010).** Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf and fruit. *Food Chem. Toxicol.*, 49, 2285–2291.
- Morris, R. (2007)**Plante for a future, Edible, Medicinal and Useful plants for Healthier World valable online sur: <http://www.pfaf.org/database/plants>., Nève, J., Optimisation of dietary intake of antioxidants, Nutrition clinique
- Moussi , K. (2005).** Etude des interactions protéines-polyphénols. Etude de cas : extrait de *Lavandula stoechas* avec la protéine Sérum Bovine Albumine. Université Abderahmane Mira-Béjaia. Thèse de magister
- Mr BECILA, A. (2009),** titre de mémoire Préventions Des Altérations et Des Contaminations Microbiennes des Aliments, B. Comportement des microorganismes en milieu alimentaire.
- Nafti, Y. (2008).** Contribution à l'étude de la cinétique déliberation d'un principe actif:oxacilline sodique encapsulé en vue de déterminer les conditions de conservation. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'État en biologie.
- Nerin, C., Tovar, L., Salafranca, J. (2008)** Behaviour of a new antioxidant active film versus oxidizable model compounds. *J. Food Eng.*, 84, 313–320.
- NOUT, R., HOUNHOUGAN J. D. et BOEKEL T. V. (2003).** Les aliments Transformation, Conservation et Qualité, Backhuys publishers, Germany, 257pp.
- Oliveira, I., Baptista, P., Malheiro, R., Casal, S., Bento, A., et Pereira, J. (2011).** Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Research International*, 44: 1401-1407.
- Ozdemir, M., Floros, J. (2004)** Active food packaging technologies. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*, 44, 185–193.
- Pabuccuoglu, A., Kivcak, B., Bas., M., et Mert T. (2003).** Antioxidant activity of *Arbutus unedo* leaves. *Turkey. Fitoterapia*. 74 : 597–599.

- Pawlowska et Leo . (2006).** Phenolics of *Arbutus unedo* L. (Ericaceae) fruits: identification of anthocyanins and gallic acid derivatives. Italy. 54(26):10234-8.
- Pereira, D., Losada, P., Maroto, J. Cruz, J. (2010)** Lipid damage during frozen storage of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fillets packaged with an active packaging film containing antioxidants. Food Chem, 126, 315–320.
- Pérez-Mateos, M., Montero, P., Gómez-Guillén, M.C., (2009).** Formulation and stability of biodegradable films made from cod gelatin and sunflower oil blends. Food Hydrocolloids 23, 53–61.
- Peronny, S. (2005).** La perception gustative et la consommation des tannins chez les Maki. Muséum National d’Histoire Naturelle. Thèse de doctorat.
- Phillippe, F (2003).** La nature est une source d’inspiration importante dans la pratique photographique. Seve Info (service des espaces verts et de l’environnement de la ville de Nante), n° 1256.
- Priso, R ., Nnanga, F ., Etame, J ., Din , N ., Amougou, A. (2011).** Les produits forestiers non ligneux d’origine végétales : valeur et importance dans quelques marchés de la région du Littoral-Cameroun. Journal of Applied Biosciences. 40 : 2715-2726 .
- Pr. Augustin, S. (1999)** Alimentation et vieillissement. Colloque Clermont-Ferrand.
- Gilman et Watson ,G.(2006)** *Arbutus unedo*: Strawberry-Tree. IFAS (Institute of Food and Agricultural Sciences). University of Florida.
- Pr. Scalbert, A. (1999).** Alimentation et vieillissement. Colloque Clermont-Ferrand.
- Pr. Lamnaouer, D. (2002).** Composition chimiques et activités biologiques de quelques plantes médicinales du PNT.
- Qin, Y., Yuan, M et al.(2006) Li, L; Guo, S; Yuan, M; Li, W; Xue, J.(2006).** Use of polylactic acid/polytrimethylene carbonate blends membrane to prevent postoperative adhesions. J. Biomed. Mater Res. B, 79, 312–319.
- Quezel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle Flore de l’Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, TOME II, *Centre National de la recherche scientifique*, France, Paris.,

Ravishankar, S., Zhu ,L ., Olsen ,C., McHugh, T., Friedman A. (2009). Edible Apple Film Wraps Containing Plant Antimicrobials Inactivate Foodborne Pathogens on Meat and Poultry Products. *Journal of food science* 74(8):M440-M5.

Rooney, M. (1995). Active packaging in polymer films. In: Rooney ML, editor. *Active food packaging*. Glasgow: Blackie Academic and Professional. P 74-110.

Samadi, A. (2000). Etude de l'extrait chloroformique d'Oudneya africana. Université El Hadj Lakhdar Batna. Thèse de magister.

Seiler, D. (1989). Modified atmosphere packaging of bakery products. In: Brody AL, editor. *Controlled/ modified atmosphere/vacuum packaging of foods*. Trumbull, Conn.: Food and Nutrition Press, Inc. p 119-34.

Shiku Y, Hamaguchi PY, Benjakul S, Visessanguan W, Tanaka M .(2004). *Food Chem* 86:493–499 15. McHugh TH, Avena-Bustillos R, Krochta JM (1993) *J Food Sci* 58:899–903

Singh, N., Ragini, P. (2004). Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. *Food Chemistry* , 85, 611–616.

Smith , J ., Ooraikul , B., Koersen, W ., Jackson , E ., Lawrence ,R. (1987). Shelf-life extension of a bakery product using ethanol vapor. *Food Microbiol* 4(4):329-37.

Smolander, M. (2003). The use of freshness indicators in packaging. In R. Ahvenainen (Ed.), *Novel food packaging techniques*. (p. 128–143) Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd.

Sobral, P. J. A., Menegalli, F. C., Hubinger, M. D., et Roques, M.(2001). Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films. *Food Hydrocolloids*, 15(4–6), 423–432

Sophie,A., Anne-Charlotte, V . (2006). Les métabolites secondaires.

Sothornvit, R et Krochta, J. M. (2001). Plasticizers in edible films and coatings. In H. H. Jung (Ed.), *Innovations in food packaging* (pp. 403–433). London: Academic Press.

Tanaka, T. Structure, property, and function of plant polyphenol. School of Pharmaceutical Sciences, Nagasaki University 1-14, Bunkyo- machi, Nagasaki 852-8521, Japan.

Teofrasto, R .(1988) . *Historia de las plantas*. Spanish translation of the original Greek work written by Theophrastus in the 3rd century B.C. Madrid: Editorial Gredos.

Thiombiano, D ., Lamien, N ., Dibong, S ., Boussim, I. (2010). Etat des peuplements des espèces ligneuses de soudure des communes rurales de Pobé-Mengao et de Nobéré(Burkina Faso). *Journal of Animal and Plant Sciences*.9 (1): 1104-1116.

Thomazine, M., Carvalho, R., Sobral, P. (2005). Physical properties of gelatin films plasticized by blends of glycerol and sorbitol. *Journal of Food Science* 70, 172–176.

Tsai, M.-C. Huang, T.-L. (2015) .“Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) is a state biomarker of oxidative stress in bipolar patients in a manic phase,” *Journal of Affective Disorders*, vol.173,no.1,p.22–26,.

Urquiaga, I ., Leighton, F. (2000). Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol. Res.*33 (2).

Vermeiren, L., Devlieghere, F., van Beest, M; Kruijf, N; et Debevere, J. (1999) Developments in the active packaging of foods. *J, Trends in food science and technolgh* (10)77-86.

Wessling, C., Nielsen, T et Leufvén, A. (2000). The influence of a-tocopherol concentration on the stability of linoleic acid and the properties of low-density polyethylene. *Packaging Technology and Science*, 13, 19-28.

Yam, K., Takhistov, P., Miltz, J. (2005) Intelligent packaging: concepts and applications. *J. Food Sci*, 70, 1–10.

Yen, G., Hsieh, P.(1995). Antioxidative activity and scavenging effects on active oxygen of xylose-lysine Maillard reaction products.*Journal of the Science of Food and Agriculture* , 67, 415–420.