



UNIVERSITE DES ANTILLES ET DE LA GUYANE

École doctorale pluridisciplinaire :  
Santé, Environnement et Sociétés dans les Amériques



### **Thèse de doctorat**

*Discipline* : Sciences de la vie

*Spécialité* : Sciences agronomiques, biotechnologies agro – alimentaires

Présentée par : **Armelle PEROUMAL**

---

**CARACTERISATION DES FRUITS ET DE LA PULPE DE SIX ACCESSIONS DE  
MAMMEA AMERICANA. APTITUDE A LA TRANSFORMATION DES FRUITS ET  
CARACTERISATION DES COMPOSES PHENOLIQUES DE LA PULPE**

---

Soutenue publiquement le 10 Janvier 2014

Thèse dirigée par : Mr Louis FAHRASMANE, UMR Qualitrop, INRA Guadeloupe

JURY :

- Présidente de jury/Rapporteur : **Mme Cristina RATTI**, Professeure des Universités, Université de Laval, Québec
- Rapporteur : **Mme Catherine RENARD**, Directeur de recherche, INRA, Avignon
- Examineur : **Mr Louis FAHRASMANE**, Ingénieur de Recherche HDR, INRA, Guadeloupe
- Examineur : **Mme Guylène AURORE**, Maître de Conférences, Université des Antilles et de la Guyane, INRA, Guadeloupe
- Invitée : **Mme Katia ROCHEFORT**, Directrice, Pôle Agroalimentaire Régional de Martinique, Martinique



## **Remerciements**

---

*Je tiens tout d'abord à remercier Mme Catherine RENARD, directrice de recherche à l'INRA, UMR Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale, et Mme Cristina RATTI, Professeure à l'Université de Laval pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail en qualité de rapporteurs.*

*J'adresse ma profonde gratitude à Mme Catherine RENARD, Directrice de recherche et à son équipe de l'UMR A408 Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale de l'INRA d'Avignon, en particulier à Carine LE BOURVELLEC, Chercheur CRI, et Michèle LOONIS, Ingénieur d'études, pour leur disponibilité et leur aide précieuse dans la réalisation des analyses HPLC-DAD et MS. Je tiens également à remercier Caroline GARCIA, Adjoint technique, pour m'avoir permis d'effectuer le test ORAC mis au point dans le chapitre 3 de la thèse.*

*Mes remerciements vont également à Mme Katia ROCHEFORT, Directrice du PARM, pour m'avoir donnée la chance de travailler sur ce sujet de thèse en m'accueillant au sein de son équipe. Un grand merci à Sandra ADENET, Responsable R&D, pour son soutien, sa disponibilité, sa réactivité et pour m'avoir guidée dans mon travail durant ces quatre années de thèse.*

*J'ai une pensée également pour toute l'équipe du PARM qui m'a chaleureusement accueillie : Corinne Bo., Patricia, Laureen, Françoise, Sonia, Corinne Bi., Saïda, Ketty. Un grand merci à tous et plus particulièrement, Nadine et Vanessa, pour leur bonne humeur et leur aide précieuse lors des analyses au laboratoire, Emy, pour son humour quotidien et ses conseils en tant que docteur aguerri. Sans oublier Mr GABRIEL-CALIXTE, pour m'avoir accompagnée et aidée lors de la récolte des fruits sur la parcelle et Mme MAUNIER pour sa gentillesse et ses délicieux gâteaux à la confiture d'abricot !*

*Je tiens également à remercier Charlyne, Marie-Kelly et Béatrice que j'ai eu la chance de rencontrer au PARM. Merci pour votre sympathie, les moments passés ensemble, nos échanges et nos discussions animées lors des pauses déjeuners.*

*Mes remerciements se tournent également vers Mme BERCION, Directrice de l'UMR Qualitrop de l'INRA de Petit-Bourg, et son équipe : Sarah, Rosan, Philippe, Colette, Marie-Laure et Dominique. Je remercie particulièrement Mr Louis FAHRASMANE, Ingénieur de*

*recherche HDR, pour m'avoir fait l'honneur de diriger mes travaux et pour ses conseils avisés. Je suis également très reconnaissante envers Mme Guylène AURORE, Directeur scientifique et co-encadrant de la thèse, pour son expertise pour ce projet, sa grande disponibilité, sa réactivité, le soutien précieux et permanent qu'elle m'a témoignée dans ce travail. Je suis admirative devant sa passion pour les polyphénols et son dévouement pour son travail, en tant que Maître de conférences en sciences des aliments. Je n'oublie pas Marie-Jo, à qui j'adresse ma profonde gratitude pour sa gentillesse, sa patience et sa disponibilité lors de mes séjours en Guadeloupe.*

*Je souhaite également remercier Joselle, ancienne doctorante au PARM, pour ses conseils, ainsi que Grégory, pour sa grande disponibilité et ses conseils avisés lors de mes passages au laboratoire de chimie de l'UAG.*

*Mes pensées vont également à ma mère et mon père, Marie-Andrée et Julien, sans qui je ne serais arrivée jusqu'ici. Un grand merci pour votre soutien, votre confiance en moi et votre patience, ainsi qu'à mes sœurs, Célia et Julie. Merci de m'avoir redonnée le sourire, l'énergie et la force nécessaire lorsque le cœur n'y était plus et que j'étais découragée. Je souhaite également remercier ma belle-famille pour leur gentillesse et leur soutien.*

*Je tiens à remercier du fond du cœur, mon conjoint, Patrick, qui a su m'épauler, me soutenir, être patient et m'encourager. Merci pour ton amour, ton investissement, ta joie de vivre, ces moments d'éclats de rire et d'humour pour me détendre dans les moments les plus durs. Pour finir, j'ai une pensée pour le fruit de notre amour, ce petit être qui grandit en moi et me donne du courage pour terminer cette thèse en beauté.*

# Avant-propos

---

Ce projet de thèse a été proposé par le Pôle Agroalimentaire Régional de Martinique (PARM) afin d'accroître les connaissances sur les potentialités de valorisation de l'abricot-pays (*Mammea americana* L.).

Ces travaux ont été réalisés avec la collaboration scientifique de :

- L'Unité Mixte de Recherches 1270, « Qualité et Valorisation des Produits Végétaux Tropicaux » (QUALITROP), reposant sur un partenariat entre le centre INRA de Petit-Bourg et l'Université des Antilles et de la Guyane (UAG)
- le PARM, créé à l'initiative du Conseil Régional.

Le Conseil Régional de Martinique a apporté une participation financière en octroyant une bourse de formation doctorale pour la réalisation de cette thèse.

Les travaux de thèse ont porté sur les points suivants :

- L'étude de caractérisation physique, physico-chimique et fonctionnelle de l'abricot-pays
- La caractérisation des composés phénoliques de la pulpe
- L'activité antioxydante de la pulpe
- L'optimisation de l'extraction des composés phénoliques de la pulpe par une technique d'éco-extraction assistée par ultrasons.

# Table des matières

---

INTRODUCTION.....	16
I. PRESENTATION SYNTHETIQUE DES TRAVAUX ANTERIEURS .....	19
I.1 Caractères généraux des CLUSIACEES J. Lindley (1836) nomen cons.....	19
I.2 Présentation du genre <i>Mammea</i> , Linn. ....	20
I.3 Présentation de l'espèce <i>Mammea americana</i> , Linn. ....	22
I.3.1 Origine et distribution géographique.....	22
I.3.2 Description botanique.....	23
I.3.3 Aspects agronomiques.....	25
I.3.3.1 Multiplication, variétés et sélection clonale.....	25
I.3.3.2 Culture, récolte et traitements post-récoltes .....	26
I.3.4 Aspects économiques .....	28
I.3.5 Composition phytochimique de <i>Mammea americana</i> .....	29
I.3.5.1 Composition nutritionnelle et constituants volatiles .....	29
I.3.5.2 Coumarines .....	30
I.3.5.3 Xanthones .....	34
I.3.5.4 Autres substances.....	34
I.3.6 Propriétés biologiques et utilisations de <i>Mammea americana</i> .....	35
I.3.6.1 Activité antioxydante, cytotoxique et induction de l'apoptose.....	35
I.3.6.2 Effet anti-ulcère.....	36
I.3.6.3 Activité trypanocidale .....	36
I.3.6.4 Activité antibactérienne .....	36
I.3.6.5 Activité molluscicide .....	36
I.3.6.6 Propriétés anti- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> .....	37
I.3.6.7 Effets des coumarines de <i>Mammea americana</i> sur l'activation du facteur HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor-1).....	37
I.3.6.8 Utilisations alimentaires.....	37
I.3.6.9 Utilisations non alimentaires.....	38
I.4. Généralités sur les composés phénoliques.....	39
I.4.1 Structure et classification .....	40
I.4.1.1 Les non flavonoïdes .....	40
I.4.1.1.a Les acides phénoliques .....	40
I.4.1.1.b Les stilbènes .....	41

I.4.1.1.c Les lignanes et les lignines .....	42
I.4.1.1.d Les tanins .....	42
I.4.1.2 Les flavonoïdes .....	44
I.4.1.2.a Les flavonoïdes au sens strict .....	45
I.4.1.2.b Les isoflavonoïdes .....	51
I.4.2 Biosynthèse de quelques composés phénoliques .....	53
I.4.2.1 Voies de biosynthèse des acides phénoliques .....	53
I.4.2.2 Biosynthèse des principales classes de flavonoïdes et de leurs dérivés .....	54
I.4.3 Localisation des composés phénoliques dans la plante .....	56
I.4.4 Rôles et intérêts des composés phénoliques .....	56
I.4.4.1 Chez les végétaux .....	56
I.4.4.2 Chez les humains .....	57
I.4.5 Antioxydants phénoliques .....	58
I.4.5.1 Mécanisme général d'action des antioxydants phénoliques .....	58
I.4.5.2 Caractéristiques structurales des antioxydants phénoliques .....	59
I.4.5.2.a Acides phénoliques .....	59
I.4.5.2.b Flavonoïdes .....	59
I.4.5.2.c Tanins condensés .....	60
I.4.6 Extraction des composés phénoliques .....	60
I.4.6.1 Méthode d'extraction conventionnelle .....	61
I.4.6.2 Méthodes d'éco-extraction .....	61
I.4.6.2.a Extraction assistée par ultrasons .....	61
I.4.6.2.b Extraction assistée par micro-ondes .....	63
I.4.6.2.c Extraction par fluide pressurisé .....	65
I.4.6.2.d Extraction par eau subcritique .....	66
I.4.6.2.e Extraction par fluide supercritique .....	66
I.4.6.2.f Extraction assistée par des enzymes pectolytiques .....	66
I.4.6.2.g Prétraitement par champs électriques pulsés .....	67
I.4.7 Conclusions .....	67
II. CARACTERISATION DES FRUITS ET DE LA PULPE DE <i>MAMMEA AMERICANA</i> L. ....	69
II.1 Matériels et méthodes .....	70
II.1.1 Matériels .....	70
II.1.1.1 Matériel végétal, site et conditions de récolte .....	70
II.1.1.2 Produits chimiques .....	71
II.1.2 Méthodes .....	71

II.1.2.1	Caractérisation nutritionnelle de la pulpe .....	71
II.1.2.1.a	Teneur en humidité (H) .....	72
II.1.2.1.b	Teneur en cendres (C) .....	72
II.1.2.1.c	Teneur en protéines totales (PT).....	73
II.1.2.1.d	Teneur en lipides totaux (LT).....	73
II.1.2.1.e	Teneur en glucides totaux (GT).....	74
II.1.2.1.f	Valeur énergétique (VE).....	75
II.1.2.2	Caractérisation physique des fruits.....	75
II.1.2.3	Caractérisation physico-chimique de la pulpe .....	79
II.1.2.3.a	Détermination du pH .....	79
II.1.2.3.b	Détermination de l'extrait sec soluble (ESS) .....	80
II.1.2.3.c	Détermination de l'acidité titrable (AT) .....	80
II.1.2.3.d	Rapport Extrait sec soluble / acidité titrable (ESS/AT).....	81
II.1.2.3.e	Teneur en matière sèche .....	81
II.1.2.4	Caractérisation fonctionnelle.....	81
II.1.2.4.a	Dosage des polyphénols totaux .....	81
II.1.2.4.b	Dosage des flavonoïdes totaux .....	83
II.1.2.4.c	Dosage des caroténoïdes totaux.....	83
II.1.2.4.d	Dosage de la vitamine C.....	84
II.1.2.5	Caractérisation des composés phénoliques de la pulpe .....	85
II.1.2.5.a	Analyses qualitatives et quantitatives des composés phénoliques bruts.....	86
II.1.2.5.b	Analyses qualitatives et quantitatives des composés phénoliques polymères par thiololyse.....	88
II.1.2.6	Evaluation de l'activité antioxydante .....	89
II.1.2.6.a	Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de pulpe par la méthode DPPH .....	90
II.1.2.6.b	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de pulpe par la méthode ORAC .....	92
II.1.2.7	Analyses statistiques.....	95
II.1.2.7.a	Boîte à moustaches .....	95
II.1.2.7.b	Test de Student .....	96
II.1.2.7.c	Analyse de variance.....	97
II.1.2.7.d	L'analyse en composantes principales (ACP).....	98
II.1.2.7.e	Présentation générale de la méthode de classification ascendante hiérarchique (CAH) .....	100
II.2	Résultats et discussion.....	101
II.2.1	Caractérisation nutritionnelle de la pulpe .....	101

II.2.2	Caractérisation physique, physico-chimique et fonctionnelle.....	102
II.2.2.1	Etude de la variabilité inter accessions basée sur les caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles .....	103
II.2.2.2	Caractéristiques physiques des accessions étudiées .....	104
II.2.2.3	Caractéristiques physico-chimiques des accessions étudiées .....	109
II.2.2.4	Caractéristiques fonctionnelles des accessions étudiées.....	111
II.2.2.5	Analyse en composantes principales sur les caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles.....	114
II.2.2.5.a	Choix du nombre d'axes.....	114
II.2.2.5.b	Etude des corrélations entre variables .....	115
II.2.2.5.c	Etude de la répartition des individus par rapport aux variables.....	115
II.2.2.6	Classification ascendante hiérarchique sur les caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles.....	118
II.2.2.7	Conclusions .....	122
II.2.3	Caractérisation des composés phénoliques de la pulpe.....	125
II.2.3.1	Analyses préliminaires.....	125
II.2.3.2	Analyses qualitatives des composés phénoliques bruts .....	126
II.2.3.3	Analyses quantitatives des composés phénoliques bruts .....	133
II.2.3.4	Analyses qualitatives et quantitatives des procyanidines par thiolysé.....	134
II.2.3.5	Conclusions .....	136
II.2.4	Evaluation de l'activité antioxydante.....	138
II.2.4.1	Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de pulpe par la méthode DPPH. 138	
II.2.4.1.a	Détermination du temps d'incubation .....	138
II.2.4.1.b	Résultats du test DPPH.....	139
II.2.4.1.c	Relation entre activité antiradicalaire et composés phénoliques .....	140
II.2.4.2	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de pulpe par la méthode ORAC .. 142	
II.2.4.2.a	Détermination du temps d'incubation et choix du solvant d'extraction .....	142
II.2.4.2.b	Résultats du test ORAC.....	142
II.2.4.2.c	Relation entre activité antioxydante et composés phénoliques .....	143
II.2.4.3	Comparaison des deux méthodes employées.....	144
II.2.4.4	Conclusions .....	144
II.3	Conclusions du chapitre 2 .....	146
III.	ESSAIS D'ECO-EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES DE LA PULPE DE <i>MAMMEA AMERICANA</i> .....	149
III.1	Matériels et méthodes .....	150
III.1.1	Matériels .....	150

III.1.1.1 Matériel végétal.....	150
III.1.1.2 L'extracteur à ultrasons.....	152
III.1.2 Méthodes d'étude pour l'optimisation d'extraction par ultrasons.....	152
III.1.2.1 Protocole d'extraction.....	153
III.1.2.2 Choix des réponses étudiées.....	153
III.1.2.3 Choix des facteurs.....	154
III.1.2.4 Choix du modèle et du plan d'expériences.....	155
III.1.2.5 Analyses statistiques.....	156
III.2 Résultats et discussion.....	157
III.2.1 Essais préliminaires.....	157
III.2.2 Résultats du plan d'expériences.....	158
III.2.3 Conditions optimales.....	164
III.2.4 Caractérisation de l'éco-extrait optimisé.....	164
III.2.4.1 Analyse par chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	165
III.2.4.2 Activité antioxydante et antiradicalaire.....	166
III.3 Conclusions et perspectives.....	167
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	170

# Table des illustrations

## Figures

Figure 1 : Cladogramme des Angiospermes selon l'Angiosperm Phylogeny Group (APG III 2009) ..	21
Figure 2 : Ordre des Malpighiales selon l'Angiosperm Phylogeny Group (APG III (2009)) .....	22
Figure 3: Distribution géographique de <i>Mammea americana</i> L. ....	23
Figure 4: (A) Abricotier pays et (B) Feuilles et fruit de <i>Mammea americana</i> L.....	24
Figure 5: (A) Fleur et (B) Jeune fruit de <i>Mammea americana</i> L. ....	24
Figure 6: (A) Fruits sur l'arbre et (B) graine de <i>Mammea americana</i> L.....	25
Figure 7: Structure moléculaire de base des coumarines .....	31
Figure 8: Structures moléculaires de base des 4-phénylcoumarine (A) et 4-alkylcoumarine (B).....	31
Figure 9: Structure moléculaire de quelques coumarines identifiées au sein de l'espèce <i>Mammea americana</i> .....	33
Figure 10: Structure moléculaire de base des xanthones.....	34
Figure 11: Structure moléculaire de la friedeline .....	35
Figure 12 : Classification des composés phénoliques .....	39
Figure 13: Voie de biosynthèse des acides phénoliques.....	54
Figure 14: Biosynthèse des principales classes de flavonoïdes et de leurs dérivés.....	55
Figure 15 : Fréquences des ondes sonores et leurs applications.....	62
Figure 16: Représentation des bulles de cavitation sous l'effet des ultrasons.....	62
Figure 17: Destruction de membrane cellulaire par l'implosion de bulles de cavitation .....	63
Figure 18: Les micro-ondes dans le spectre électromagnétique.....	63
Figure 19 : Oscillation des molécules polaires soumises à un champ électrique alternatif.....	64
Figure 20 : Schéma d'un système d'extraction par fluide pressurisé .....	65
Figure 21 : Traitement de la pulpe en vue des analyses .....	71
Figure 22 : Mesure de la fermeté du fruit entier.....	78
Figure 23 : Espace couleur C.I.E L*a*b*.....	79
Figure 24: Réaction de thioacidolyse .....	86
Figure 25: Structure du radical DPPH.....	90
Figure 26: Détermination de la valeur de la CI <sub>50</sub> .....	91
Figure 27: Principe du test ORAC .....	93
Figure 28 : Courbes de décroissance de la fluorescence de la fluorescéine en fonction du temps.....	94
Figure 29: Courbes de déclin de la fluorescence et droite d'étalonnage du trolox.....	94
Figure 30 : Représentation de boîtes à moustaches.....	96
Figure 31 : Boîtes à moustaches élaborées à l'aide de STATGRAPHICS Centurion XV version 15.2.06.....	104
Figure 32 : Couleur de la pulpe des accessions étudiées.....	107
Figure 33: Cercle des corrélations (A) et répartition des individus (B) pour le plan factoriel 1-2.....	116
Figure 34: Cercle des corrélations (A) et répartition des individus (B) pour le plan factoriel 1-3.....	117
Figure 35 : Cercle des corrélations (A) et répartition des individus (B) pour le plan factoriel 1-4.....	117
Figure 36 : Arbre de classification .....	119
Figure 37 : Arbre de classification (groupe I, nœud 344) .....	120
Figure 38 : Arbre de classification (Sous-groupe ii, nœud 346) .....	120
Figure 39 : Arbre de classification (Sous-groupes id et ic, nœuds 348 et 349).....	121
Figure 40: Chromatogrammes des extraits méthanol (A) et hydroacétonique (B) à différentes longueurs d'onde (accession pavé 11-Lézarde) .....	125
Figure 41 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanolique et hydroacétonique .....	126
Figure 42: Chromatogrammes de l'extrait méthanol de Pavé 11-Lézarde obtenus par analyse HPLC-DAD .....	127
Figure 43 : Composés identifiés dans l'extrait de pulpe de Pavé 11-Lézarde par.....	130
Figure 44 : Spectre de masse du trimère C1 .....	132
Figure 45 : Chromatogrammes obtenus après thiololyse de l'extrait de pulpe de Pavé 11-Lézarde.....	135

Figure 46 : Diminution de l'absorbance du milieu réactionnel au cours du temps .....	138
Figure 47 : Relation entre composés phénoliques et activité antiradicalaire des extraits étudiés .....	141
Figure 48 : Mécanisme réactionnel de régénération d'un ortho-diphénol.....	141
Figure 49 : Relation entre composés phénoliques et activité antioxydante des extraits étudiés .....	143
Figure 50 : Corrélation entre les valeurs $CI_{50}$ (DPPH) et les valeurs ORAC .....	144
Figure 51 : Sonde à ultrasons PEX 3N.....	152
Figure 52 : Diagramme des opérations pour l'extraction assistée par ultrasons .....	153
Figure 53 : Diagramme d'Ishikawa.....	154
Figure 54 : Effet du pourcentage d'éthanol dans la solution d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux extraits.....	157
Figure 55 : Graphique des effets moyens des facteurs pour l'aspect global .....	161
Figure 56 : (A) Graphique de Pareto et (B) Graphique des effets moyens des facteurs pour le goût .	161
Figure 57 : (A) Graphique de Pareto et (B) Graphique des effets moyens des facteurs pour l'odeur .	162
Figure 58 : (A) Graphique de Pareto et (B) Graphique des effets moyens des facteurs pour le rendement.....	163

## Tableaux

Tableau 1: Paramètres écologiques de <i>Mammea americana</i> .....	27
Tableau 2: Composition nutritionnelle de la pulpe de <i>Mammea americana</i> (pour 100g de portion comestible) (n.d : non déterminé).....	30
Tableau 3 : Principales coumarines identifiées dans le fruit.....	32
Tableau 4: Liste des xanthones identifiées dans la graine du fruit.....	34
Tableau 5: Principales classes de composés phénoliques .....	40
Tableau 6 : Propriétés biologiques des différentes familles de composés phénoliques .....	57
Tableau 7: Noms et origines des accessions sélectionnées .....	69
Tableau 8: Profil du gradient de concentration utilisé pour l'analyse HPLC.....	87
Tableau 9 : Caractéristiques nutritionnelles de la pulpe des fruits des accessions étudiées.....	101
Tableau 10 : Variables sélectionnées pour l'étude de caractérisation des différentes accessions de <i>mammea americana</i> .....	102
Tableau 11 : Variables statistiquement significatives et valeurs de probabilité obtenues à l'aide du logiciel STATGRAPHICS ® Centurion XV version 15.2.06.....	103
Tableau 12 : Données de caractérisation physiques des accessions étudiées.....	105
Tableau 13 : Récapitulatif des caractéristiques physiques des accessions étudiées .....	108
Tableau 14 : Données physico-chimiques des accessions étudiées.....	109
Tableau 15 : Caractéristiques fonctionnelles des accessions étudiées.....	111
Tableau 16: Récapitulatif des accessions présentant les caractéristiques fonctionnelles les plus élevées .....	113
Tableau 17: Variables sélectionnées pour l'analyse en composantes principales.....	114
Tableau 18 : Classification des accessions.....	121
Tableau 19 : Récapitulatif des points forts et points faibles des différentes accessions.....	122
Tableau 20 : Identification et caractéristiques spectrales des composés phénoliques présents dans les extraits de pulpe d'abricot-pays.....	128
Tableau 21 : Composés identifiés dans les extraits de pulpe d'abricot-pays par analyse HPLC- MS	131
Tableau 22 : Concentration des composés phénoliques contenus dans la pulpe des 5 accessions étudiées (Concentrations exprimées en mg/100 g de MF ; Rt : temps de rétention en minutes ; HCA : Acide HydroxyCinnamique) .....	133
Tableau 23 : Concentrations des procyanidines présentes dans la pulpe des 5 accessions étudiées ...	134
Tableau 24 : Proportions des unités constitutives des procyanidines et degré de polymérisation des 5 accessions étudiées .....	135
Tableau 25 : Activité antiradicalaire des 5 accessions étudiées .....	140
Tableau 26 : Activité antioxydante des 5 accessions étudiées .....	142
Tableau 27 : Détail de la notation.....	151

Tableau 28 : Grille de notation.....	151
Tableau 29 : Programmation des expériences (plan codé).....	155
Tableau 30 : Tableau récapitulatif des expériences et résultats du plan d'expériences.....	159
Tableau 31 : Photographies des extraits obtenus après lyophilisation .....	159
Tableau 32 : Analyse de la variance pour l'aspect global .....	160
Tableau 33 : Analyse de la variance pour le goût.....	161
Tableau 34 : Analyse de la variance pour l'odeur .....	162
Tableau 35 : Analyse de la variance pour le rendement.....	163
Tableau 36 : Conditions optimales par réponse et multipréponse.....	164
Tableau 37 : Composition et comparaison des extraits .....	166
Tableau 38 : Comparaison des extraits.....	166

# Abréviations

---

°C	Degré Celsius
µg	Microgramme
µl	Microlitre
µM	Micromolaire
2-HID	2-HydroxyIsoflavanone Deshydratase
2-HIS	2-HydroxyIsoflavanone Synthase
3GT	Anthocyanidin 3-GlucosylTransferase
AA	Acide acétique
AAO	Activité antioxydante
AAPH	2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride
AAR	Activité antiradicalaire
ACP	Analyse en composantes principales
AHC	Acide hydroxycinnamique
AlCl <sub>3</sub>	Trichlorure d'aluminium
ANOVA	Analyse de variance
ANS	Anthocyanidin Synthase
AT	Acidité titrable
atm	Atmosphère normale
AUC	Aire sous la courbe (Area Under the Curve)
BHA	Butyl Hydroxyanisole
BHT	Butyl-hydroxytoluène
C	Cendres
C4H	Cinnamate 4-Hydroxylase
CAH	Classification ascendante hiérarchique
CE/CL	Circonférence équatoriale / Circonférence longitudinale
CHI	CHalcone Isomérase
CHR	CHalcone Réductase
CHS	CHalcone Synthase
CIE	Commission internationale de l'éclairage
CIRAD	Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
cm	Centimètre
CO <sub>2</sub>	Dioxyde de carbone
CoA	Coenzyme A
COMT	Caféate-O-Méthyl Transférase
CT	Caroténoïdes totaux
CuSO <sub>4</sub>	Sulfate de cuivre
D	Facteur de dilution
DAD	Détecteur à barrettes de diodes (Diode Array Detector)
DDL	Degré de liberté
DFR	DihydroFlavonol Réductase
DMID	7,2'-Dihydroxy, 4'-MéthoxyIsoflavanol Déhydratase
DMP	Diméthylpyrane
DO	Densité optique
DP	Degré de polymérisation
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
dS	Décisiemens
E/S	Echantillon/solvant
EAG	Equivalent acide gallique
EB	Extrait brut
EL	Extrait lavé

EQ	Equivalent quercétine
ERO	Espèce Réactive de l'Oxygène
ESI	Ionisation par électrospray
ESS	Extrait sec soluble
ET	Equivalent trolox
Et_eau	Ethanol/eau
F3'5'H	Flavonoid 3'5'-Hydroxylase
F3'H	Flavonoid 3'-Hydroxylase
F3βH	Flavanone 3β-Hydroxylase
FAO	Food and Agricultural Organisation
FLS	FLavonol Synthase
FREDON	Fédération Régional de Défense contre les Organismes Nuisibles
FSI	Flavone Synthase I
FSII	Flavone Synthase II
FT	Flavonoïdes totaux
g	Gramme
GHz	Gigahertz
GMS	Grandes et Moyennes Surfaces
GT	Glucides totaux
h	Heure
H	Humidité
HCl	Acide Chlorhydrique
HLB	Hydrophilic-lipophilic-balanced
HPLC	Chromatographie liquide haute performance (High Performance Liquid Chromatography)
IFR	IsoFlavone Réductase
IFS	IsoFlavone Synthase
IOMT	Isoflavone O-MéthylTransferase
K	Kelvin
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfate de potassium
kcal	Kilocalorie
kg	Kilogramme
KHz	Kilohertz
kj	Kilojoule
LP/DP	Longueur du pédoncule / Diamètre du pédoncule
LT	Lipides totaux
m	Mètre
M	Molaire
m/z	Rapport masse/charge
MeOH	Méthanol
MF	Matière Fraîche
mg	Milligramme
MHz	Mégahertz
min	Minute
mm	Millimètre
MM	Masse molaire
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline
MS	Spectrométrie de masse (Mass Spectrometry)
MS	Matière Sèche
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méthicilline
N	Newton
N <sub>2</sub>	Azote
NaOH	Hydroxyde de sodium
nm	Nanomètre
O <sub>2</sub>	Oxygène

OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OMT	O-Méthyl Transférase
OPC	Oligomère ProCyanidolique
OPDA	Orthophénylène diamine
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PAC	Proanthocyanidine
PAL	Phénylalanine AmmoniaLyase
PC	Procyanidine
PE	Prise d'essai
pH	Potentiel Hydrogène
PPO <sub>c</sub>	Activité créolase de la PolyPhénol Oxydase
PPT	Polyphénols totaux
PT	Protéines totales
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
PVDF	Polyvinylidènefluorure
Rdt	Rendement
Rt	Temps de rétention
S_L	Solide/liquide
TiO <sub>2</sub>	Dioxyde de titane
UFLC	Chromatographie liquide ultra rapide (Ultra Fast Liquid Chromatography)
UPLC	Chromatographie Liquide Ultra Performante (Ultra Performance Liquid Chromatography)
USDA	United State Department of Agriculture
UV	Ultraviolet
v/v	Volume / volume
VE	Valeur énergétique
VR	Vestitone Réductase
W	Watt
w/w	Weight / Weight

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

La Martinique se situe au cœur de l'un des 35 hotspots mondiaux reconnus par la communauté scientifique internationale pour la richesse de leur biodiversité. Une meilleure connaissance des agro-ressources de Martinique est un pré-requis indispensable à une utilisation adaptée de celles-ci. Il existe de nombreux travaux à travers le monde sur les propriétés biologiques des fruits. A l'inverse, les fruits tropicaux constituent une bio-ressource encore trop peu exploitée, et dont les potentialités ont été encore peu recherchées.

L'abricot-pays est un fruit tropical consommé frais et également utilisé pour la fabrication de nectars, confitures et sorbets. Il est très peu diffusé en frais sur les marchés et dans les grandes et moyennes surfaces (GMS) de distribution. Le constat d'absence de culture dédiée entraîne une commercialisation inconstante.

Des connaissances physico-chimiques, nutritionnelles et fonctionnelles sont indispensables pour renforcer le processus de diversification de l'agriculture et répondre à la demande des consommateurs de produits naturels d'intérêt santé.

La recherche et l'innovation industrielle s'orientent aujourd'hui vers le bénéfice santé des aliments et l'utilisation de substances naturelles aussi bien dans le domaine de la nutrition que dans ceux de la cosmétique et de la pharmacie.

Dans ce contexte, les connaissances relatives aux potentialités de l'abricot-pays constituent un axe de recherche à explorer pour contribuer à la valorisation d'une ressource à dimension patrimoniale. Les travaux de thèse réalisés ont pour objectifs :

- D'améliorer les connaissances relatives aux caractéristiques nutritionnelle, physico-chimique et fonctionnelle des fruits
- D'établir les connaissances inexistantes relatives aux composés phénoliques et à la capacité antioxydante de la pulpe du fruit
- De pouvoir proposer aux agriculteurs et industriels les variétés les plus adaptées pour la vente en frais, la transformation ou pour la création de nouveaux produits tels que les compléments alimentaires, les ingrédients fonctionnels ou les produits cosmétiques et pharmaceutiques.

Les travaux de thèse présentés dans ce manuscrit sont développés en trois grandes parties.

La première partie s'attachera à présenter l'espèce *Mammea americana* L.. Il y est aussi abordé des généralités sur les composés phénoliques et les techniques d'éco-extraction.

La deuxième partie est consacrée à la caractérisation des variétés étudiées selon des critères technologiques, physico-chimiques et fonctionnels. Il s'agit également de caractériser les composés phénoliques de la pulpe du fruit, ainsi que sa capacité antioxydante.

La troisième partie de ce manuscrit concerne l'amélioration de l'extraction des polyphénols de l'abricot-pays au moyen d'une technologie d'éco-extraction assistée par ultrasons pour être valorisés en compléments alimentaires ou ingrédients fonctionnels.

CHAPITRE 1 : PRESENTATION  
SYNTHETIQUE DES TRAVAUX  
ANTERIEURS

## I. PRESENTATION SYNTHETIQUE DES TRAVAUX ANTERIEURS

### I.1 Caractères généraux des CLUSIACEES J. Lindley (1836) nomen cons.

Les Clusiacées sont principalement représentées dans les régions tropicales. Seuls les genres *Clusia*, *Triadenum* et *Hypericum* sont rencontrés aux Etats-Unis et/ou au Canada. Elle compte trente-huit genres et mille cent espèces. Les genres les plus rencontrés sont *Hypericum* (360 espèces), *Calophyllum* (200 espèces), *Clusia* (160 espèces) et *Mammea* (70 espèces) (Judd *et al.*, 2002). La famille des Clusiacées comprend des arbres, des arbustes, des herbes annuelles ou pérennes, parfois hémi-parasites et étrangleurs (*Clusia*) ou des lianes à sève résineuse souvent jaune pâle. Elle est anciennement appelée Guttiferae A.L. Jussieu (1789) nomen altern. (Guttifère signifiant « porte-gomme ») en référence à la présence de sève colorée et résineuse caractéristique du groupe (Judd *et al.*, 2002).

Les arbres ou arbustes de cette famille, souvent polygames ou dioïques, parfois épiphytes, laticifères (latex jaune ou orange) émettent des racines adventives ou des racines-échasses. Les stipules sont absentes. Les feuilles sont généralement persistantes, opposées ou verticillées. Elles présentent un pétiole et sont coriaces. Le limbe présente une marge entière et est souvent muni de glandes ou de canaux résinifères. Les inflorescences peuvent être terminales ou axillaires, réunies en cymes, en racèmes ou fascicules, ou formées de fleurs solitaires. Les pédicelles sont souvent composés de bractéoles sépaloïdes. Les fleurs de dimensions variables, régulières, rarement parfaites sont hermaphrodites ou unisexuées et actinomorphes. Le calice comprend des sépales décussés, valvaires et soudés ou très imbriqués. La corolle comporte des pétales imbriqués ou contortés. Les fleurs femelles sont souvent munies de staminodes. Elles présentent un ovaire supère, sessile, bi à pluriloculaire avec un à seize carpelles et des loges aussi nombreuses que les carpelles. Les ovules peuvent être nombreux par loges ou solitaires, organisés avec une placentation axile ou basale mais rarement pariétale. Les styles en nombre égal à celui des carpelles, sont distincts ou soudés en un seul mais rarement absents. Les stigmates, aussi nombreux que les loges de l'ovaire, sont lobés ou peltés. Les fleurs mâles contiennent de nombreuses étamines, libres ou plus ou moins soudées en faisceaux opposés aux pétales. Le fruit peut être une baie, une drupe ou une capsule septicide, en général charnu. Les graines de dimensions très variées sont souvent arillées et dépourvue d'albumen.

Ce sont principalement les abeilles et les guêpes qui contribuent à la pollinisation des grandes fleurs aux étamines voyantes de la famille des Clusiacées. Les espèces à fruits charnus

(*Mammea americana*, *Garcinia mangostana* et *Calophyllum inophyllum*) ou à capsules déhiscentes exposent des graines aux couleurs attractives disséminées par des oiseaux ou des mammifères. Les fruits sous formes de capsules sèches à petites graines (*Hypericum*) sont disséminés par l'eau et/ou par le vent.

Les genres et espèces appartenant à la famille des Clusiacées ont des utilisations diverses. L'espèce *Mammea americana* et certaines espèces de *Garcinia* sont cultivées pour leurs fruits forts appréciés. *Clusia* et *Hypericum* ont un usage ornemental pour leur port et leurs fleurs spectaculaires. *Calophyllum inophyllum*, *Mammea americana*, ou encore certaines espèces d'*Hypericum* ont un usage médicinal. Plusieurs genres peuvent fournir du bois d'œuvre (*Mesua*, *Cratoxylum*, *Calophyllum*...) (Judd *et al.*, 2002 ; Spichiger *et al.*, 2004).

## **I.2 Présentation du genre *Mammea*, Linn.**

On y dénombre une cinquantaine d'espèces, dont 30 en Asie tropicale jusqu'à la Nouvelle-Calédonie et 20 à Madagascar. Le continent Africain en compte 2, *Mammea africana*, et *Mammea usambarensis* Verdc.. L'Amérique Tropicale en abrite une, *Mammea americana* L. (Loupe, Oteng-Amoako et Brink, 2008). Selon la classification phylogénétique APG III (2009) établie par l'*Angiosperms Phylogeny Group*, le genre *Mammea* appartient à la classe des Core eudicots (ou dicotylédones vrais), la sous classe des Rosidées, l'ordre des Malpighiales (ordres des plantes dicotylédones) (Figure 1). Cet ordre comprend de nombreuses familles, notamment celles des Clusiacées. Quelques exemples de familles sont présentés dans la figure 2. Les espèces du genre *Mammea* sont souvent des arbres à racines-échasses présentant un bois et un latex jaunâtres. Les feuilles sont persistantes, très coriaces, à réticulation saillante avec un pétiole sans protubérance basale. Les bourgeons terminaux sont protégés par des écailles. Les fleurs polygames sont en position axillaires, solitaires ou fasciculées. Le calice d'abord gamosépale, éclate irrégulièrement en 2 lobes valvaires. Les étamines sont nombreuses, libres ou unies à la base. Elles comprennent des filets filiformes et des petites anthères érigées, biloculaires, à déhiscence longitudinale. L'ovaire est biloculaire, avec deux ovules par loge ou quadriloculaire, avec un ovule par loge. Il abrite un style court et un stigmate pelté, entier ou lobé. Les fleurs donnent naissance à une grosse drupe à péricarpe ferme et rugueux contenant 2 à 4 graines, à testa rugueux, réticulé et ligneux. Les cotylédons sont énormes.

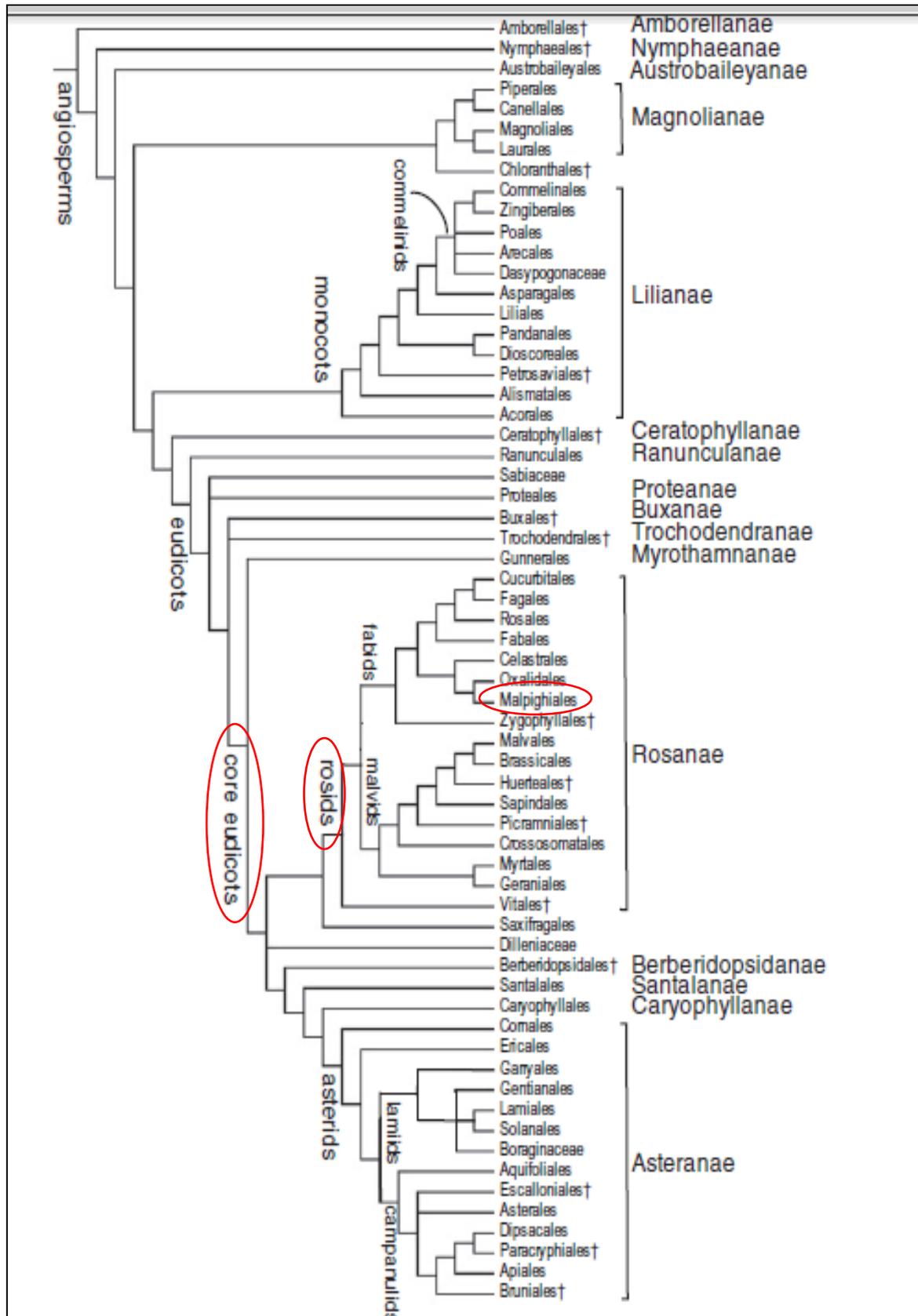
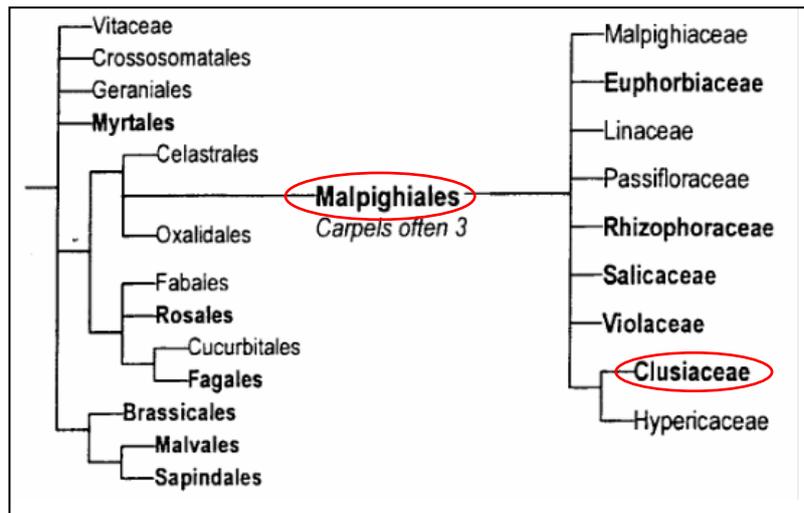


Figure 1 : Cladogramme des Angiospermes selon l'Angiosperm Phylogeny Group (APG III 2009) (Chase et Reveal, 2009)



**Figure 2 : Ordre des Malpighiales selon l'Angiosperm Phylogeny Group (APG III (2009))**  
 (<https://www.ulb.ac.be/sciences/bota/Lejoly%202005-Systematique-syllabus%20corrige%200705.pdf>)

### I.3 Présentation de l'espèce *Mammea americana*, Linn.

Il existe de nombreuses appellations vernaculaires de *Mammea americana* L.. On désigne le fruit communément sous le nom d'abricot-pays, d'abricot des Antilles, abricot d'Amérique ou d'abricot de Saint-Domingue, dans les pays francophones d'Amérique et de la Caraïbe. Ce nom français donné au fruit ne lui convient que pour la couleur de sa chair, car pour tout le reste, il est différent des fruits de l'abricotier commun (*Prunus armeniaca*). Dans les pays de langue anglaise, on l'appelle mamey, mamee ou mamee apple. En espagnol, on le connaît sous le nom de mamey de Santo Domingo ou mamey amarillo. Ce nom proviendrait du latin mamma qui signifie mamelle, rappelant la forme du fruit. En Portugais, il est appelé abricote, abricoto do Pará ou abricoto selvagem.

#### I.3.1 Origine et distribution géographique

*Mammea americana* Linn. (1753) est originaire des Petites Antilles et du nord de l'Amérique du Sud. Sa présence aux Petites Antilles y a toujours été mentionnée aussi loin que l'on puisse remonter dans le temps (Poupon et Chauvin, 1983). En 1693, dans ses chroniques aventureuses des Caraïbes, Le père Labat, écrivain, botaniste et ethnographe, décrit l'abricot-pays au cours de son voyage en Martinique (Labat, 1998). On le trouvait également au Panama dès 1514. L'historien, Gonzalo Fernandez de Oviedo, décrit l'arbre dans sa revue des fruits du nouveau monde en 1529 (Morton, 1987).

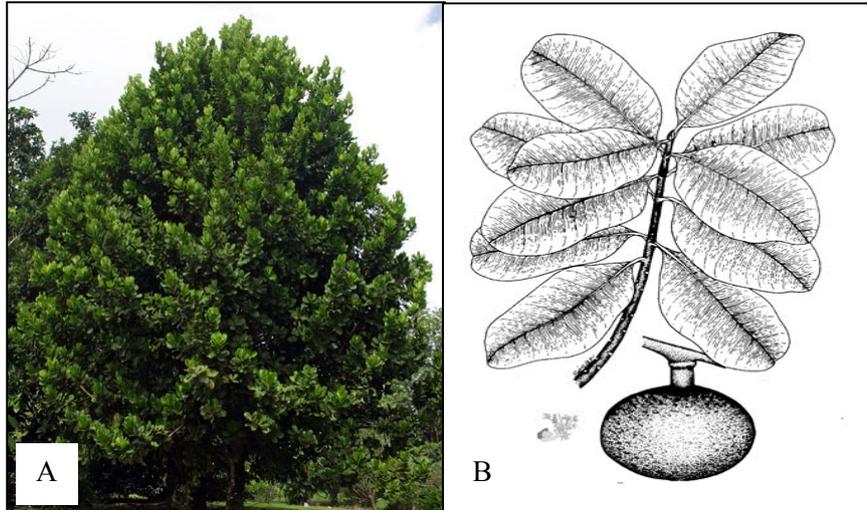
Il est répandu aujourd'hui dans l'ensemble de l'Amérique tropicale (de la Floride au Brésil) (Figure 3). On le rencontre fréquemment sur les côtes Pacifique du Costa Rica, du Salvador et du Guatemala où il est cultivé comme arbre fruitier, arbre d'alignement ou comme plante ornementale le long des routes. On le retrouve également, de façon spontanée, en Colombie, au Venezuela, au Guyana, au Suriname, en Guyane Française, en Equateur et au nord du Brésil. Il se développe bien dans les Grandes et Petites Antilles, aux Bermudes et dans les Bahamas. Par contre, *Mammea americana* L. est rare en Afrique de l'Ouest (notamment en Sierra Leone), en Zanzibar, en Asie du Sud-est, en Java, en Philippines et à Hawaii (Morton, 1987).



**Figure 3: Distribution géographique de *Mammea americana* L. (Francis, 1989)**

### **I.3.2 Description botanique**

*Mammea americana* L. est un grand arbre, assez commun, au feuillage vert sombre et brillant (Figure 4A). Il peut mesurer jusqu'à 25 mètres de hauteur et 1 mètre de diamètre. Ses feuilles (Figure 4B) sont elliptiques ou elliptico-ovales, glabres avec de nombreux points translucides et une nervation réticulée assez saillante sur les deux faces. Elles mesurent entre 9 et 25 cm de long et entre 4 et 11 cm de large (Fournet, 2002). Son apex est obtus ou arrondi et sa base peut être atténuée-cunéiforme, obtuse ou arrondie. Son pétiole articulée près de la base peut mesurer jusqu'à 1 cm de long.



**Figure 4: (A) Abricotier pays et (B) Feuilles et fruit de *Mammea americana* L.**  
 (TRAMILoteca : [http://www.tramil.net/fototeca/imageDisplay.php?id\\_elem=219&famil=CALOPHYLLACEAE](http://www.tramil.net/fototeca/imageDisplay.php?id_elem=219&famil=CALOPHYLLACEAE))

Le calice porte 2 sépales mesurant 10 à 15 mm de diamètre. Ses fleurs odorantes sont solitaires ou groupées par deux ou trois. Elles sont composées de 4 à 6 pétales blancs obovoïdes, mesurant jusqu'à 2 cm de long et 1,5 cm de large, d'un pistil et d'étamines jaunes (Figure 5A). Certains arbres ne portent que des fleurs mâles et sont donc improductifs. Les autres portent des fleurs hermaphrodites donnant naissance à de gros fruits. L'ovaire est constitué de deux carpelles et de deux locules, chacun contenant deux ovules. Celles-ci sont anatropes et présentent un seul tégument. Après fécondation, les pièces florales verticillées restent sur le jeune fruit. La corolle est la première à disparaître au cours de sa croissance alors que les sépales et les étamines demeurent pendant une partie du développement (Figure 5B). Le style persiste quelques fois sur le fruit mature.



**Figure 5: (A) Fleur et (B) Jeune fruit de *Mammea americana* L.**  
 Crédit photo Armelle Péroumal

L'abricot-pays est donc un fruit charnu, globuleux, apiculé, de 10 à 15 cm de diamètre et peut peser de 600 g à 2 kg (Figure 6A). Sa peau marron, de 0,5 à 1 cm d'épaisseur recouvre une fine membrane blanche et amère qui colle à la pulpe. Celle-ci est de couleur jaune à orange, juteuse et de texture ferme. Selon la variété, la pulpe est ou n'est pas adhérente à la graine. Le fruit contient 1 à 4 graines à testa fibreux de couleur brun-rougeâtre pouvant mesurer jusqu'à 7 cm de long et 5,5 cm de large. Les graines sont de forme ellipsoïde et dépourvues d'albumen. (Figure 6B). La classification du fruit de *Mammea americana* L. est très controversée. Selon Barroso *et al.*, (1999) le fruit serait une drupe présentant un péricarpe clairement différencié et un endocarpe qui se lignifie formant l'enveloppe du noyau entourant l'amande. Selon Mourão et Beltrati (2000) le fruit est une baie. L'endocarpe parenchymateux constitue la partie jaune-orangé, pulpeuse et comestible du fruit, et la partie lignifiée et fibreuse est le tégument de la graine.

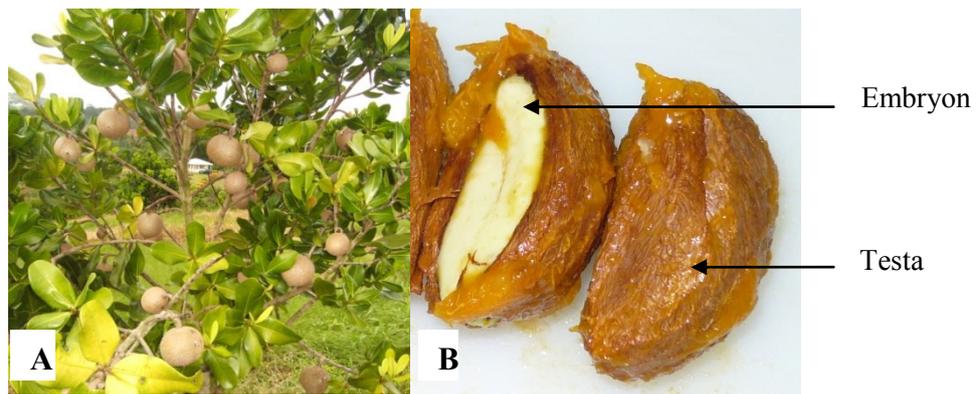


Figure 6: (A) Fruits sur l'arbre et (B) graine de *Mammea americana* L.  
Crédit photo Armelle Péroumal

### I.3.3 Aspects agronomiques

#### I.3.3.1 Multiplication, variétés et sélection clonale

La multiplication s'effectue généralement par semis des graines. Celles-ci germent en un à deux mois. Après un ou deux ans, la jeune pousse peut être transplantée lorsqu'elle atteint une hauteur de 20 à 30 cm. Les fruits apparaissent au bout de 6 à 8 ans. Bien que peu pratiquée, la propagation végétative est préférable pour éviter l'apparition de pieds mâles improductifs. Le greffage peut s'effectuer 9 à 10 mois après la germination des graines. Les plants obtenus par greffage fructifient en 3 ou 4 ans, restent de petite taille, sont productifs et permettent de

multiplier les meilleures variétés. De bons résultats sont obtenus avec un greffage en fente réalisé sous un léger ombrage (Longuefosse, 2007).

*Mammea americana* L. est surtout cultivé pour son fruit apprécié par la population d'Amérique centrale et de la Caraïbe. On le retrouve souvent dans les jardins des particuliers mais très rarement dans les pépinières.

Il n'existe pas de variétés. Chaque arbre est une accession donnant des fruits qui présentent des caractéristiques différentes telles que : le poids moyen du fruit, la couleur de la pulpe, le nombre de graines, l'adhérence de la pulpe à la graine, le taux de sucre et l'arôme. Les consommateurs ont généralement une préférence pour les fruits de gros calibre, contenant peu de graines et une pulpe attractive d'une belle couleur jaune orange, aromatisée et sucrée. Une sélection des meilleures accessions est nécessaire afin d'identifier celles qui présentent les atouts pour une diffusion en frais et/ou pour une valorisation par la transformation. Une collection de 14 accessions donnant des fruits de qualité supérieure existe en Floride du sud, au centre de ressource génétique Williams Groves (Campbell, 2005). Gervais et Lavigne (2007) ont également collecté, multiplié par greffage puis planté sur une parcelle agronomique expérimentale 10 accessions produisant des fruits de bonne qualité : fruits de gros calibre, gouteux, sucrés, contenant beaucoup de pulpe et peu de graines.

### 1.3.3.2 Culture, récolte et traitements post-récoltes

L'abricotier est un arbre facile à cultiver, très peu attaqué par les ravageurs. Ceci est probablement dû à ses propriétés insecticides. Cette espèce s'adapte aussi bien à des climats secs qu'humides. En dessous de 0°C, les jeunes arbres sont sensibles et il est difficile d'obtenir des arbres productifs (Campbell, 2005). *Mammea americana* croit principalement dans les forêts mésophiles et les horizons inférieurs des forêts hygrophiles (Fournet, 2002). L'abricotier affectionne les sols riches, profonds et bien drainés ainsi que les marnes sableuses. Les caractéristiques écologiques optimale et absolue sont conciliées dans le tableau 1. En Martinique, il croit sur les sols profonds du Nord Atlantique recevant annuellement 2 à 4 mètres de pluie. Le plus grand nombre d'arbres est retrouvé dans les communes du Gros Morne, de Saint-Joseph et de Sainte-Marie (Poupon et Chauvin, 1983).

La floraison de *Mammea americana* s'échelonne d'Avril à Septembre et la fructification a lieu de Juin à Août aux Antilles (Le Bellec, Leroy et Ternisien, 2002). Selon le pays, certains arbres donnent des fruits à d'autres périodes et peuvent en produire deux fois par an. A Porto Rico, les arbres fleurissent de Mai à Octobre et fructifient tout long de l'année (Navarrete-

Tindall et Orellana-Nunez, 2002). En Colombie, les arbres ont deux périodes de production : Juin et Décembre (Morton, 1987).

**Tableau 1: Paramètres écologiques de *Mammea americana***  
(FAO Ecocrop : <http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/dataSheet?id=1414>)

Caractéristique	Optimale		Absolue	
Profondeur du sol	Profond (>150 cm)		Peu profond (20 à 50 cm)	
Texture du sol	moyenne		Dure, moyenne, légère	
Fertilité du sol	élevée		modérée	
Salinité du sol	Faible (<4 dS/m)		Faible (<4 dS/m)	
Drainage du sol	Bien drainé		Bien drainé	
	Min	Max	Min	Max
Température (°C)	24	30	12	35
Niveau de précipitation annuel (mm)	1200	1800	800	2600
Latitude (degré)	-	-	20	29
Altitude (m)	-	-	-	1000
pH du sol	6	6.5	5.5	8
Intensité lumineuse	Très lumineux	Très lumineux	Très lumineux	nuageux
Climat	Tropical humide et sec, tropical humide, subtropical humide, subtropical sec (été), subtropical sec (hiver)			
Photopériode	Jour court (<12 heures), jour neutre (12 – 14 heures), jour long (>14 heures)			
Température à partir de laquelle les jeunes plantes sont sensibles	0°C			

La maturité des fruits est généralement déterminée par leur chute, ils peuvent donc présenter des meurtrissures. Elle peut-être évaluée par un grattage du fruit avec l'ongle. Si la peau découverte est verte le fruit n'est pas mûr si elle est jaune il l'est. Le point de maturité de l'abricot-pays reste néanmoins difficile à estimer (Morton, 1987).

Le fruit de *Mammea americana* est un fruit climactérique, c'est-à-dire que la maturation du fruit est associée à une activité respiratoire intense et une production d'éthylène. A 27°C, Le taux de respiration et la production d'éthylène sont respectivement de 14 à 20  $\mu\text{L}$  de  $\text{CO}_2$  /kg/h et 408  $\mu\text{L}$ /kg/h (Akamine et Goo, 1978). Les fruits peuvent être récoltés verts matures.

A ce stade, ils peuvent mûrir naturellement en trois à quatre jours après la récolte (Morean, 1991). Le stockage des fruits récoltés au stade vert mature à  $15 \pm 2^\circ\text{C}$  sous atmosphère contrôlée (5,1% de  $\text{CO}_2$ , 5,6% d' $\text{O}_2$ , 89,3% de  $\text{N}_2$ ) pendant deux semaines retarde le processus de maturation (Manzano-Mendez et Dris, 2001). L'allongement de leur durée de vie est un facteur intéressant pour la vente ou l'exportation de fruits de bonne qualité.

### **I.3.4 Aspects économiques**

Dans les pays d'Amérique Centrale, les fruits destinés à la consommation en frais et à l'exportation sous forme de pulpe congelée et de jus proviennent principalement des plantations du Costa Rica, de la République Dominicaine, du Honduras, du Salvador, du Guatemala, de l'Equateur, de la Colombie, du Venezuela et du Mexique. Selon les données chiffrées de l'USDA (United State Department of Agriculture), enregistrées entre 1983 et 1991, la quantité de pulpe congelée exportée vers les Etats-Unis serait en moyenne de 280 000 kg par an (Greenspan Gallo, Allee et Gibson, 1996). Au niveau international, ni la FAO (Food and Agricultural Organisation), ni l'USDA ne fournissent de chiffre de production plus récent sur ce fruit.

En Martinique l'abricot-pays est très peu diffusé en frais sur les marchés locaux et dans les grandes et moyennes surfaces (GMS) de distribution. L'absence de production agricole entraîne une commercialisation irrégulière et limitée. Néanmoins, des unités de fabrication industrialisées transforment l'abricot-pays en nectars et en sorbets. De plus, Les fruits produits par des arbres ici et là, sont souvent consommés par la population sans passer par les circuits formels ou informels de commercialisation.

### **I.3.5 Composition phytochimique de *Mammea americana***

L'étude phytochimique des fruits de *Mammea americana* a porté sur la composition en métabolites primaires tels que les protéines, les lipides et les glucides. Elle a également montré la présence, principalement de caroténoïdes, de vitamine C, de coumarines et de xanthones, réputés pour leurs propriétés biologiques notamment leur propriété antioxydante.

#### I.3.5.1 Composition nutritionnelle et constituants volatiles

Le tableau 2 résume la composition nutritionnelle de la pulpe du fruit. Celle-ci possède une teneur en eau élevée, environ 86%. Les chiffres sur la composition en métabolites primaires tels que les protéines, les lipides et les glucides, mentionnés par différentes références bibliographiques sont similaires. Les teneurs en protéines de la pulpe d'abricot-pays sont plus faibles que celles établies pour d'autres fruits tropicaux tels que la papaye (0,83 g/100g), la carambole (0,9 g/100g) et la banane dessert (1,1 g/100g) (Tripathi *et al.*, 2011 ; Clerici et Carvalho-Silva, 2011 ; Aurore, Parfait et Fährasmane, 2009). Tandis que les concentrations en lipides et glucides sont similaires à celles de la papaye et de la carambole. Le potassium est le composé minéral le plus abondant. Concernant la teneur vitamine C comprise entre 10,20 et 22 mg, 100 g de pulpe apporte plus de 15% des apports journaliers recommandés selon les données de l'organisation mondiale de la santé (OMS). Les teneurs en bêta-carotène retrouvées dans la littérature sont très variables. Elles sont comprises entre 0,04 et 0,25 mg/100g. La variabilité de la couleur de la pulpe peut être liée à la variabilité des teneurs en carotènes. En effet, le carotène, un pigment orange appartenant aux caroténoïdes, est responsable de la coloration externe et/ou interne de beaucoup de fruits. Le all-*trans*- $\beta$ -carotène est le caroténoïde majoritaire présent dans la pulpe du fruit (32,6% de la teneur en caroténoïdes totaux) (De Rosso et Mercadante, 2007). Les caroténoïdes contribuent significativement à la capacité antioxydante totale des fruits (Stahl et Sies, 2005). Ces composés ont également démontré une activité provitamine A, le all-*trans*- $\beta$ -carotène ayant l'activité la plus importante. Plusieurs études ont révélé que la déficience en vitamine A est une des principales carences nutritionnelles dans les pays en voie de développement (Rodriguez-Amaya, 1989).

La composition en composés volatiles de la pulpe du fruit est un mélange complexe de diverses classes de composés chimiques. Morales et Duque (2002) ont identifié 51 composés volatiles sous forme libre et 19 composés glycosylés. Les hydroxy esters sont les substances

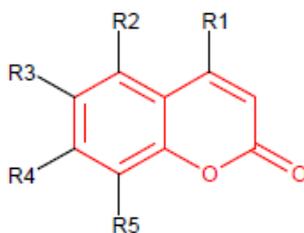
majoritaires. La saveur de la pulpe du fruit est agréable et très parfumée. 5 composés pourraient contribuer à la note sucrée, fruitée et florale de l'extrait volatile : méthyl-2-méthyl butanoate, méthyl-3-hydroxy-2(S)-méthyl propanoate, acide 2-méthyl butanoïque,  $\beta$ -ionol et farnesol.

**Tableau 2: Composition nutritionnelle de la pulpe de *Mammea americana* (pour 100g de portion comestible) (n.d : non déterminé)**

Constituants	Unités	Morton, 1987	CIQUAL – CNEVA, 1993	Souci et al., 2008	USDA, 2012
Energie	Kcal	44,5	49	55	51
Eau	g	86	86,2	86,5	86,2
Protéines	g	0,47	0,50	0,50	0,50
Lipides totaux	g	0,15	0,40	0,35	0,50
glucides	g	11,52	11,60	12,40	12,50
Fibres	g	0,80	1	n.d	n.d
Calcium	mg	4	12	11	11
Fer	mg	0,15	0,60	0,60	0,70
Magnésium	mg	n.d	n.d	n.d	16
Phosphore	mg	7,80-14,5	11	11	11
Potassium	mg	n.d	4	n.d	47
Sodium	mg	n.d	15	n.d	15
Zinc	mg	n.d	n.d	n.d	0,10
Cuivre	mg	n.d	n.d	n.d	0,08
Sélénium	$\mu$ g	n.d	n.d	n.d	0,60
Vitamine C	mg	10,2-22	14	14	14
Vitamine E	mg	n.d	n.d	n.d	0
Thiamine (Vitamine B1)	$\mu$ g	15-30	20	20	20
Riboflavine (Vitamine B2)	$\mu$ g	27-68	40	40	40
Niacine (Vitamine B3)	mg	0,16-0,74	0,40	n.d	0,40
Acide panthoténique (Vitamine B5)	mg	n.d	0,10	n.d	0,10
Acide folique (Vitamine B9)	$\mu$ g	n.d	n.d	n.d	14
Béta-carotène	mg	0,04-0,25	0,14	0,12	n.d

### I.3.5.2 Coumarines

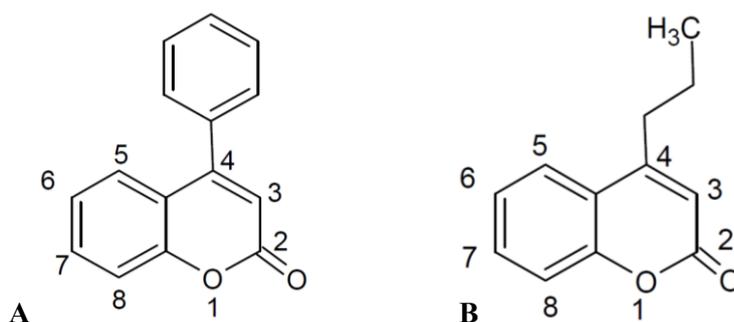
Ce sont des composés dont la structure comporte deux cycles à six atomes : un cycle benzénique aromatique et un hétérocycle de type lactone (Figure 7).



**Figure 7: Structure moléculaire de base des coumarines**

Au sein de l'espèce *Mammea americana*, la majorité des composés isolés portent comme substituant R1 (Figure 8):

- Soit un groupement phényle, dans ce cas ce sont des 4-phénylcoumarines (A)
- Soit un groupement alkyle, dans ce cas ce sont des 4-alkylcoumarines (B).



**Figure 8: Structures moléculaires de base des 4-phénylcoumarine (A) et 4-alkylcoumarine (B)**

Toutes les parties de la plante contiennent des coumarines (feuilles, écorce, graines, fruit) (Yang *et al.*, 2005) (Tableau 3). Elles ont montré une activité insecticide contre divers insectes nuisibles tels que : les chenilles, les pucerons, les cafards, les fourmis, les mouches, les moustiques, les scarabées, les poux et les tiques (Plank, 1944 ; Sievers *et al.*, 1949). La plupart des travaux scientifiques ont porté sur la graine du fruit, l'amande de la graine étant la partie la plus riche en coumarines insecticides (Jones et Plank, 1945). La pulpe du fruit contient quelques coumarines mais uniquement à l'état de trace.

**Tableau 3 : Principales coumarines identifiées dans le fruit**  
(Yang *et al.*, 2005 ; Yang *et al.*, 2006) (n.d : non détecté ; + coumarines identifiées)

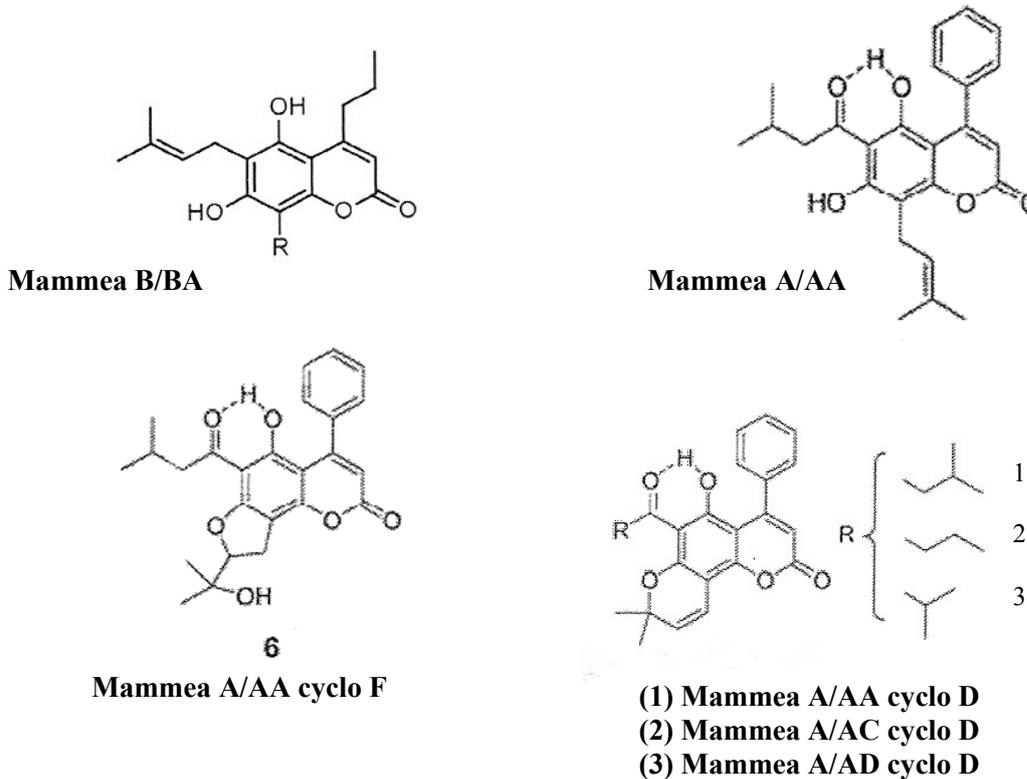
Coumarines et dérivées	Amande de la graine	Manteau de la graine	Peau du fruit	Pulpe du fruit	Racine	Feuille	Tige
Mammea E/BD	+	Traces	n.d	n.d	+	+	Traces
Mammea E/BC	+	Traces	n.d	n.d	Traces	+	n.d
Mammea E/BA	+	Traces	+	Traces	+	+	+
Mammea E/BB	+	Traces	+	Traces	+	+	+
Mammea B/BA hydroxyl cyclo F	+	Traces	+	Traces	+	+	+
Mammea B/BD	+	Traces	n.d	n.d	+	+	Traces
Mammea B/BC	+	Traces	n.d	n.d	+	+	Traces
Mammea B/BA	+	Traces	Traces	Traces	+	+	+
Mammea B/BB	+	Traces	Traces	Traces	+	+	+
Mammea B/BA cyclo F	Traces	n.d	n.d	n.d	+	Traces	n.d

Les coumarines de type *mammea* sont une large famille de composés bioactifs de type 5,7-dihydroxycoumarine isoprénylée. Les molécules identifiées dans le genre *Mammea* sont généralement désignées par un système de lettre en fonction du motif que comporte la structure des composés (Figure 9) (Crombie, Jones et Palmer, 1987). Les premières investigations scientifiques sur les coumarines présentes dans l'espèce *Mammea americana* ont eu lieu dans les années 1940. Une synthèse des principaux composés identifiés est présentée ci-après.

La mamméine ou mammea B/BA est la première coumarine bioactive isolée à partir de la graine séchée du fruit mûr de *Mammea americana* par Djerassi *et al.*, (1958) qui s'intéressaient à l'identification de nouveaux types chimiques d'insecticides. Ce composé est la principale 4-alkylcoumarine identifiée dans la plante. Crombie, Games et McCormick

(1966) découvrent que les extraits contenant de la mamméine se révèlent être un mélange de mamméine et de substances minoritaires telles que la néomamméine (ou mammea B/BB) et la normamméine (ou mammea B/BC). D'autres substances analogues à la mamméine, la neomamméine et à la normamméine ayant subi une isomérisation, une cyclisation intramoléculaire ou substituées en position 4 par un groupement acetoxy propyl ont également été identifiées dans la graine du fruit mûr (Crombie *et al.*, 1972 ; Crombie, Jones et Palmer, 1987 ; Yang *et al.*, 2005).

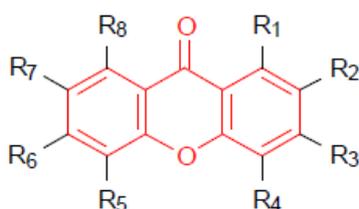
La mamméisine ou mammea A/AA a été isolée pour la première fois à partir de la peau du fruit par Finnegan, morris et Djerassi en 1961. Elle représente la 4-phénylcoumarine majoritaire retrouvée dans la plante. D'autres composés analogues sous forme d'isomères ou ayant subi une cyclisation intramoléculaire ont également été retrouvés dans la graine du fruit (Finnegan et Muller, 1965 ; Games, 1972 ; Crombie, 1966).



**Figure 9: Structure moléculaire de quelques coumarines identifiées au sein de l'espèce *Mammea americana* (Yang *et al.*, 2005 ; Reyes-Chilpa *et al.*, 2008)**

### I.3.5.3 Xanthones

Un deuxième type de métabolites a été identifié dans les graines du fruit de *Mammea americana*. Les xanthones possèdent une structure de base caractéristique tricyclique. Deux cycles benzéniques aromatiques sont reliés par un hétérocycle oxygéné (Figure 10).



**Figure 10: Structure moléculaire de base des xanthones**

Sept isomères de xanthones entrent dans la composition chimique de la graine du fruit :

- 2 hydroxyxanthones
- 4 di-hydroxyxanthones
- 1 méthoxyxanthone (Tableau 4).

**Tableau 4: Liste des xanthones identifiées dans la graine du fruit**

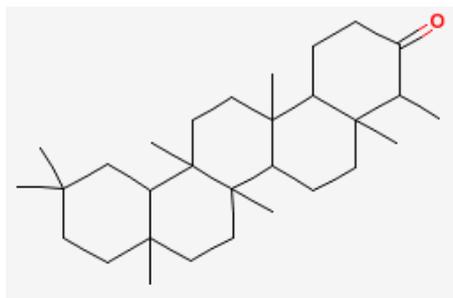
Type de xanthone	Substituant	Nom	Références
Mono-oxygéné	R <sub>2</sub> = OH	2-hydroxyxanthone	Finnegan et Muller, 1965
Mono-oxygéné	R <sub>4</sub> = OH	4- hydroxyxanthone	
Di-oxygéné	R <sub>1</sub> = OH et R <sub>7</sub> = OH	1,7-dihydroxyxanthone	Finnegan et Patel, 1972
Di-oxygéné	R <sub>1</sub> = OH et R <sub>5</sub> = OH	1,5-dihydroxyxanthone	
Di-oxygéné	R <sub>2</sub> = OH et R <sub>5</sub> = OH	2,5-dihydroxyxanthone	
Di-oxygéné	R <sub>4</sub> = OH et R <sub>5</sub> = OH	4,5-dihydroxyxanthone	
Mono-oxygéné	R <sub>2</sub> = O-CH <sub>3</sub>	2-méthoxyxanthone	Crombie, Games et McCormick, 1967

Les activités biologiques des xanthones isolées de la graine du fruit n'ont pas fait l'objet d'études approfondies.

### I.3.5.4 Autres substances

D'autres familles de molécules telles que les terpènes, et les flavanols ont pu être identifiées, mais leur activité biologique n'a pas été étudiée.

Un terpène est un composé qui comporte une chaîne carbonée à dix atomes de carbone. Les diterpènes et les triterpènes comportent donc une chaîne carbonée saturée de vingt et trente atomes de carbone respectivement présentant une structure pentacyclique. Finnegan et Muller (1965) ont pu obtenir la friedeline (triterpène) (Figure 11) et la mammeol (diterpène) à partir des graines du fruit.



**Figure 11: Structure moléculaire de la friedeline**

Yang *et al.*, (2005) ont découvert deux composés appartenant aux flavanols, une des principales classes des flavonoïdes : la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine dans la graine du fruit.

### **I.3.6 Propriétés biologiques et utilisations de *Mammea americana***

#### I.3.6.1 Activité antioxydante, cytotoxique et induction de l'apoptose

Les radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites lors du métabolisme rédox cellulaire. Lorsqu'ils sont présents en quantité importante, ils induisent un stress oxydatif qui peut être à l'origine de nombreuses maladies cardio-vasculaires et neurodégénératives. Les antioxydants sont des substances capables de piéger ces radicaux libres nocifs pour la santé humaine. La consommation d'antioxydants provenant de végétaux a montré des effets bénéfiques pour l'homme (Sen et Chakraborty, 2011). Selon Yang *et al.* (2005), les graines du fruit de *Mammea americana* présente une activité cytotoxique sur des lignées cellulaires du cancer du colon. Ils suggèrent que cette cytotoxicité serait due à la présence d'une chaîne latérale isoprénylée que comportent les molécules de coumarines extraites de la graine. Trois des coumarines isolées ont un effet dose-dépendant sur les cellules cancéreuses, ce qui induit l'apoptose. Elles ont également montré une forte activité antioxydante.

### I.3.6.2 Effet anti-ulcère

La muqueuse gastrique est souvent exposée à des agents potentiellement nocifs comme la pepsine, une enzyme sécrétée dans l'estomac, les bactéries *Helicobacter pylori*, l'alcool, les aliments épicés, le stress et les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens. Ces facteurs sont capables d'abimer la paroi de l'estomac s'ils sont ingérés ou sécrétés en quantité excessive (Rupesh Kumar *et al.*, 2011). Toma *et al.*, (2005) ont évalué l'effet antiulcer de trois extraits différents (éthanolique, méthanolique et dichlorométhanolique) obtenus à partir de l'écorce de *Mammea americana*. Les extraits éthanolique et dichlorométhanolique possèdent l'activité antiulcère la plus significative. Ils sont capables de réduire la lésion induite par un ulcère, de diminuer les sécrétions acides gastriques et ainsi augmenter le pH.

### I.3.6.3 Activité trypanocidale

Le protozoaire *Trypanosoma cruzi* est l'agent étiologique de la maladie de Chagas. Il peut être transmis à l'homme par les punaises appelées triatomes ou par transfusion de sang infecté. Mammea A/AA, isolée de la peau du fruit de *Mammea americana*, est nocive pour les formes épimastigotes et trypomastigotes de *Trypanosoma cruzi* (Reyes-Chilpa R. *et al.*, 2008). Cette activité est évaluée par la valeur MC<sub>100</sub> : c'est la concentration minimale à laquelle toutes les formes épimastigotes et trypomastigotes meurent après une incubation de 48 heures. Les valeurs MC<sub>100</sub> sont de 35µg/ml et 50µg/ml pour les formes épimastigotes et trypomastigotes respectivement.

### I.3.6.4 Activité antibactérienne

Selon Yasunaka *et al.*, (2005), les extraits hexane, acétate d'éthyle et acétone obtenu à partir de la peau du fruit et l'extrait méthanolique de la graine ont montré une forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* sensible à la méthiciline (MSSA). Tous les extraits venant de la peau du fruit, excepté la fraction insoluble de l'extrait acétate d'éthyle, se sont également révélés actifs contre les deux souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA) testées. Le composé Mammea A/AA obtenu à partir de la peau du fruit serait majoritairement responsable de cette activité.

### I.3.6.5 Activité molluscicide

Les produits ou substances ayant une activité molluscicide sont principalement employés pour protéger les cultures des limaces ou des escargots. Ils sont également utilisés dans les zones

tropicales pour lutter contre certaines parasitoses telles que la schistosomiase pour laquelle certains escargots d'eau douce sont des hôtes intermédiaires.

Meléndez et Capriles (2002) ont évalué 173 plantes tropicales pour dépister une activité molluscicide contre *Biomphalaria glabrata*, l'hôte intermédiaire de *Schistosoma mansoni*. *Mammea americana* fait parti des plantes les plus efficaces. Ses extraits de feuilles tuent 100% des escargots après une exposition de 24 heures.

### I.3.6.6 Propriétés anti-*Mycobacterium tuberculosis*

Frame *et al.*, (1998) ont étudié les effets inhibiteurs de plusieurs plantes tropicales de Porto Rico sur le principal agent de la tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*. L'extrait éthanolique de feuille de *Mammea americana* a présenté l'activité inhibitrice la plus importante. L'activité de cet extrait est comparable à celle de la streptomycine, utilisée comme contrôle positif.

### I.3.6.7 Effets des coumarines de *Mammea americana* sur l'activation du facteur HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor-1)

Le facteur HIF-1 a un rôle clé dans l'adaptation et la survie des cellules tumorales dans un milieu hypoxique. Selon Du *et al.*, (2010), mammea E/BB inhibe l'activation du facteur HIF-1. Les auteurs ont révélé également que cette coumarine empêche la sécrétion de protéines VEGF (vascular endothelial cell growth factor) de façon dose-dépendante. Mammea E/BB présente donc un effet inhibiteur dose-dépendant sur la prolifération et la viabilité des lignées cellulaires étudiées. Une étude plus récente menée par Du *et al.*, (2011) suggère que cette molécule agit en ralentissant le transport d'électron à travers la membrane mitochondriale.

### I.3.6.8 Utilisations alimentaires

La pulpe de l'abricot-pays se consomme bien mûre, après avoir ôté l'enveloppe blanchâtre qui l'entoure ou peut être servie avec de la crème ou macérée dans du vin et du sucre. Elle se conserve plusieurs jours sans altération de sa saveur. La pulpe sert également à la confection de jus, marmelade, confiture, gelée, compote, pâte de fruit, tartes, sorbet, fourrage, conserve. Aux Bahamas, la chair est plongée dans de l'eau légèrement salée pour lui enlever son amertume avant de la faire cuire avec du sucre lors de la confection de confiture. A Cuba et Porto Rico, la pulpe est utilisée pour faire des milk-shakes appelés « batidos de mamey » (Morton, 1987). Les produits transformés commercialisés en Martinique sont les nectars et plus récemment les sorbets. En saison de production, on trouve de l'abricot-pays frais sur quelques marchés locaux et dans les grandes et moyennes surfaces (GMS).

### I.3.6.9 Utilisations non alimentaires

Les utilisations non alimentaires de *Mammea americana* sont presque essentiellement «médicinales». Elles sont mises en œuvre dans la Caraïbe et l'Amérique tropicale. Toutes les parties de l'arbre sont utilisées.

Les feuilles peuvent être utilisées pour permettre la cicatrisation des plaies (Grenand *et al.*, 2004). En République Dominicaine, elles sont appliquées localement pour soulager les rhumatismes (Longuefosse, 2007). A Porto Rico, en infusion, sèches ou fraîches, elles sont efficaces pour faire tomber la fièvre (Morton, 1987). A Trinidad, en décoction, les feuilles sont employées pour réduire la pression sanguine et l'écorce, pour traiter la toux. Le latex de l'écorce peut être utilisé pour traiter l'inflammation des tissus ou extraire une épine du pied (Longuefosse, 2007). Aux Antilles Françaises, les fleurs distillées produisent une liqueur aromatique appelée « eau de créole » ou « crème de créole » qui sert de digestif (Morton, 1987). La pulpe râpée appliquée sur les plaies permet d'accélérer la cicatrisation. En décoction, la peau des fruits est efficace contre l'indigestion (Ouensanga, 1983).

Les autres utilisations non-alimentaires et non-médicinales sont peu nombreuses :

- Dans les îles vierges, les tanins présents dans l'écorce de l'arbre sont parfois employés pour traiter le cuir
- Son bois, bien qu'il soit lourd et dur, possède un grain fin et n'est pas difficile à travailler. Il est donc utile en ébénisterie (Morton, 1987).

#### I.4. Généralités sur les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux (8000 composés caractérisés) (Collin et Crouzet, 2011). Ils sont largement présents dans les fruits, les légumes, les céréales et les boissons telles que le thé, le café et le vin rouge (Hooper et Cassidy, 2006). La désignation « polyphénols » est très fréquemment utilisée pour nommer l'ensemble des composés phénoliques alors qu'elle ne devrait concerner que les molécules portant plusieurs fonctions phénols. Les monophénols pourtant abondants chez les végétaux seraient alors exclus. Donc le terme général « composés phénoliques » désigne à la fois les mono, les di et les polyphénols dont les molécules comportent respectivement une, deux ou plusieurs fonctions phénoliques. Ces molécules peuvent posséder ou non d'autres fonctions (alcoolique (OH), carboxylique (COOH)...). Les composés phénoliques possèdent une grande diversité de structures classées en flavonoïdes et non flavonoïdes (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006) (Figure 12).

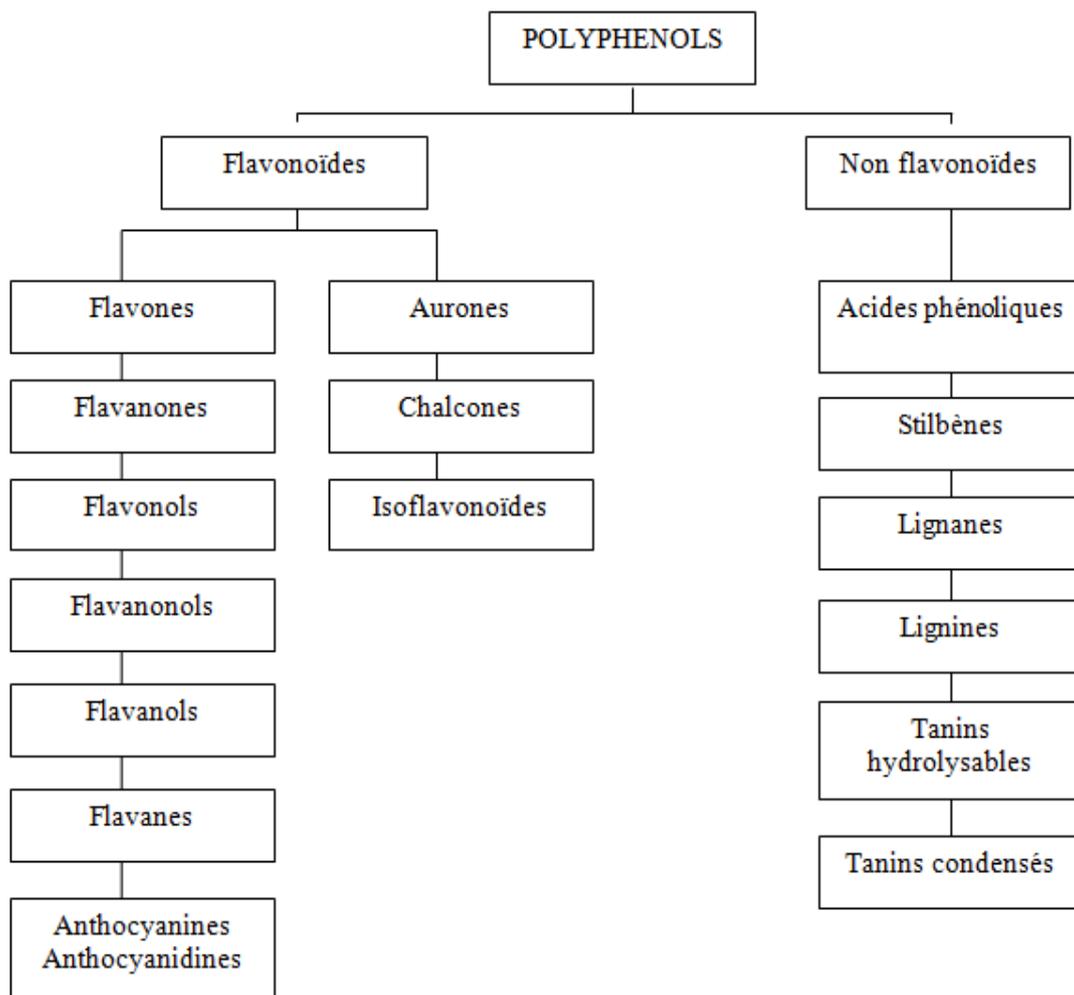


Figure 12 : Classification des composés phénoliques

### I.4.1 Structure et classification

Les différentes classes de composés phénoliques se différencient par leur squelette de base, pouvant aller du simple phénol en C<sub>6</sub> à des formes très polymérisées et pouvant comporter différents degrés de modification (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...). Ces molécules peuvent être également diversement substituées (glucides, lipides, protéines et autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques).

En s'appuyant sur la structure carbonée de base, on peut dégager les principales classes de composés phénoliques présentées dans le tableau 5.

**Tableau 5: Principales classes de composés phénoliques  
(Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)**

Classe	Squelette carbonée	Composé (exemple)	Végétal (exemple)
Acides phénoliques	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> (Acide hydroxybenzoïque)	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	Fraise
	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> (Acide hydroxycinnamique)	Acide caféique	Pomme
Stilbènes	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Resvératrol	Vigne
Flavonoïdes	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Quercétine	Oignon rouge
Isoflavonoïdes		Pinorésinol	Pin
Lignanes	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Matairésinol	Bois, Fruits à noyaux
Lignines	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>	prodelphinidine	Raisin
Tanins condensés	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Castalagine	Châtaignier
Tanins hydrolysables	(C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> ) <sub>n</sub>		

#### I.4.1.1 Les non flavonoïdes

Ce groupe comprend les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes et les lignines.

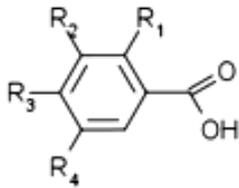
##### I.4.1.1.a Les acides phénoliques

Les acides phénoliques se déclinent en deux groupes : les dérivés de l'acide benzoïque (1) et ceux de l'acide cinnamique (2).

Les dérivés de l'acide benzoïque se présentent fréquemment sous forme libre. Ils peuvent être intégrés dans des structures complexes comme certains tanins.

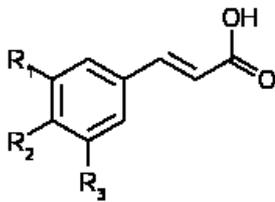
Les dérivés de l'acide cinnamique existent rarement à l'état libre. Ils se présentent généralement sous une forme estérifiée (par le glucose, l'acide quinique...) ou glycosylées. L'acide caféique est abondant chez les végétaux où il est souvent présent sous forme d'acide

chlorogénique (ou ester 5-caféoylquinine) (3) (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; Collin et Crouzet, 2011).



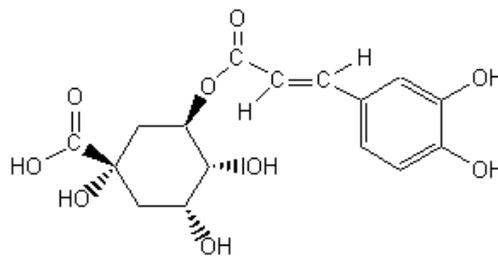
$R_1=R_2=R_3=R_4=H$  acide benzoïque (non phénolique)  
 $R_1=R_2=R_4=H$  et  $R_3=OH$  acide *p*-hydroxybenzoïque  
 $R_1=H$  et  $R_2=R_3=R_4=OH$  acide gallique  
 $R_1=R_4=H$ ,  $R_2=OCH_3$  et  $R_3=OH$  acide vanillique  
 $R_1=R_4=OH$ ,  $R_2=R_3=H$  acide gentistique

Structure de base des dérivés de l'acide benzoïque (1)



$R_1=R_2=R_3=H$  acide cinnamique (non phénolique)  
 $R_1=R_2=OH$  et  $R_3=H$  acide caféique  
 $R_1=R_3=OCH_3$  et  $R_2=OH$  acide sinapique  
 $R_1=R_2=R_4=H$  et  $R_3=OH$  acide *p*-coumarique  
 $R_1=R_3=R_4=H$  et  $R_2=OH$  acide *m*-coumarique

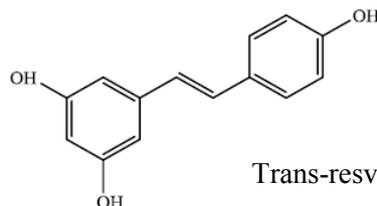
Structure de base des dérivés de l'acide cinnamique (2)



Acide chlorogénique (3)

#### I.4.1.1.b Les stilbènes

Plus de 30 stilbènes et glycosides de stilbènes existent naturellement chez les végétaux. La plupart de ces composés dérivent de l'unité de base *trans*-resvératrol (4). Les stilbènes sont peu abondants dans les aliments (Collin et Crouzet, 2011 ; Chong, Poutaraud et Huguency, 2009).



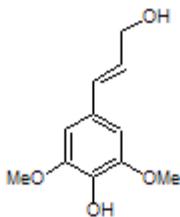
Trans-resvératrol (4)

I.4.1.1.c Les lignanes et les lignines

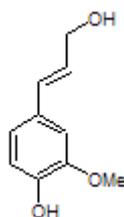
Les monolignols (C6-C3) (5) (6) (7), des dérivés de l'acide cinnamique, sont des monomères constitutifs des lignanes et des lignines.

Les lignanes sont élaborées par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférylique (5). Le terme lignane est employé lorsque la dimérisation implique une liaison (C8-C8) formée par les chaînes latérales propényles de deux unités d'alcool coniférylique liées (8). Le nom de néolignane concerne tous les autres types de liaisons. Lorsque les unités d'alcool sont liées par un atome d'oxygène d'éther, le composé est appelé oxynéolignane.

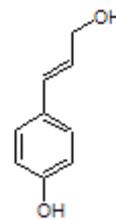
Les lignines sont présentes au niveau des vaisseaux conduisant la sève brute et sont responsables de la rigidité des fibres végétales. Elles constituent 15 à 35% du bois tendre des Gymnospermes et 15 à 35% du bois dur des Angiospermes. Les tissus végétaux présentant une forte résistance mécanique, comme le noyau des fruits, en contiennent également ainsi que les plantes herbacées. Les lignines résultent de la polymérisation tridimensionnelle de trois unités phénoliques monolignols (5) (6) (7) (Mohamad Ibrahim *et al.*, 2011 ; Buranov et Mazza, 2008).



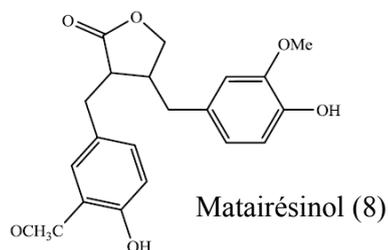
Alcool sinapylique (5)



Alcool coniférylique (6)



Alcool coumarylique (7)



Matairésinol (8)

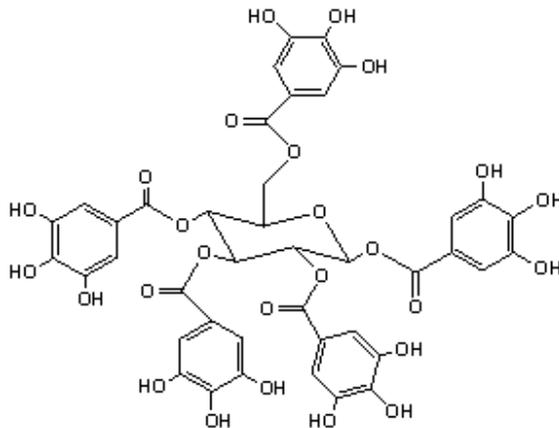
I.4.1.1.d Les tanins

Les tanins sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et de leurs produits dérivés. Cette astringence en bouche serait due à la précipitation des protéines

salivaires. Ce sont des composés à haut poids moléculaire. Il existe deux catégories de tanins qui diffèrent par leur réactivité chimique et leur composition : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Les tanins hydrolysables ou saponifiables sont des oligo- ou polyesters constitués d'une partie phénolique, souvent les acides gallique ou ellagique (correspondant à l'association de deux motifs gallique) et une partie non phénolique (souvent du glucose ou de l'acide quinique). Ils sont divisés en gallotanins et tanins ellagiques. Comme leur nom l'indique, ces tanins peuvent être facilement dégradés par hydrolyse chimique (acide ou basique), enzymatique ou par de l'eau chaude. Le pentagalloylglucose (9) est une des formes les plus simples de ce type de tanins. La plupart des structures complexes dérive de cette molécule.

Les tanins hydrolysables sont abondants dans le bois de nombreux arbres et arbustes (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).



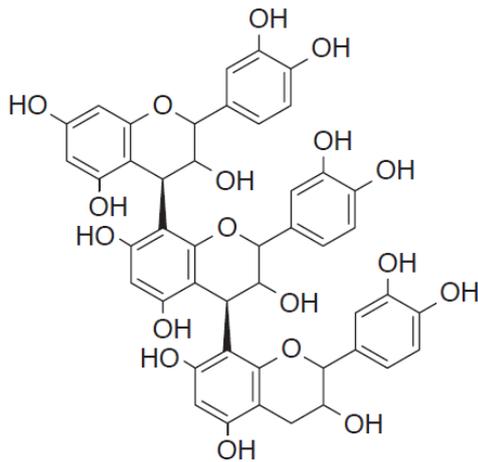
Pentagalloylglucose (9)

Les tanins condensés ou « procyanidoliques » sont des oligomères ou des polymères flavanoliqes, constitués d'unités de flavan-3-ols comme la (+) catéchine et/ou l'(-) épicatechine, liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent de type C<sub>4</sub>-C<sub>8</sub> ou C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>. Dans ce cas, les tanins sont dits de type B (10). Les tanins de la série A possèdent une liaison interflavanique supplémentaire de type éther C<sub>2</sub>-O<sub>7</sub> (11) (Prior et Gu, 2005).

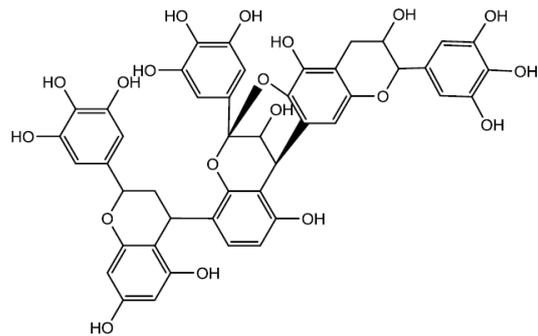
Seules des attaques chimiques fortes peuvent dégrader les tanins condensés. Ainsi, par chauffage en milieu acide, ces tanins libèrent un cation benzylique hautement oxydable, qui se transforme rapidement en cation flavylium, de couleur rouge. C'est un pigment anthocyanique

appelé cyanidol. C'est la raison pour laquelle, ces tanins sont encore appelés « tanins procyanidoliques » ou OPC (Oligomères ProCyanidoliques).

Ils sont présents avec des teneurs variées dans la plupart des parties aériennes des végétaux (feuille, tige, tronc et fruits) et dans les boissons fermentées ou non (vin, cidre, thé...) (Uclés Santos, Bakry et Brillouet, 2010).



Trimère de type B (10)



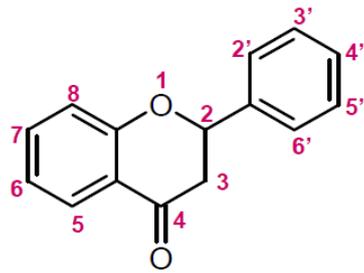
Prodelphinidine (type A) (11)

#### I.4.1.2 Les flavonoïdes

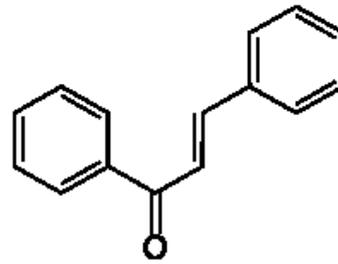
Les flavonoïdes représentent le principal groupe de composés phénoliques. Plus de 4000 flavonoïdes ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui chez les végétaux. Ces composés sont largement répandus dans les fruits, les légumes, les jus de fruits, le cacao, le thé et le vin (Heim, Tagliaferro et Bobilya, 2002 ; De Lourdes Mata Bilbao *et al.*, 2007).

Le squelette de base des flavonoïdes en C<sub>15</sub> (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) (12) est constitué de deux cycles benzéniques A et B. Les trois carbones servant de jonction entre ces deux noyaux forment généralement un hétérocycle oxygéné central C. Certaines molécules peuvent présenter un noyau central C qui n'est pas totalement cyclisé (13) (cas des chalcones et dérivés) ou ne présenter que cinq sommets (cas des auronnes).

Au sein des flavonoïdes, deux types de structures se distinguent: celles des flavonoïdes au sens strict dont le noyau aromatique B se trouve sur le carbone C<sub>2</sub> (12) et celles des isoflavonoïdes, isomères des flavonoïdes, portant le noyau aromatique B sur le carbone C<sub>3</sub>.



Structure générale des flavonoïdes (12)



Structure particulière des chalcones (13)

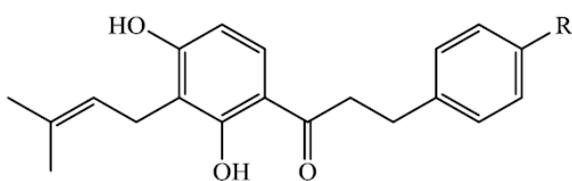
Les principales classes de flavonoïdes impliquent les flavonols, les flavones, les flavanones, les isoflavones, les anthocyanines et les flavanols. Elles diffèrent par le degré d'hydroxylation, le niveau de méthylation (groupements O-CH<sub>3</sub>) et/ou le niveau de glycosylation des différents cycles (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). A l'état naturel, les flavonoïdes existent très souvent sous forme d'hétérosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions phénols peuvent être glycosylées. La nature des sucres liés aux molécules de flavonoïdes et leur position sur le cycle varient. La quercétine glycosylée est l'hétéroside le plus rencontré chez les végétaux (Hollman Peter *et al.*, 1996).

#### I.4.1.2.a Les flavonoïdes au sens strict

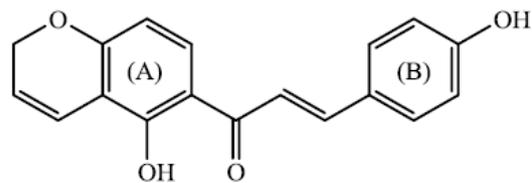
Ce groupe comprend les flavones, les flavanols, les flavanes, les flavanols, les flavanones, les flavanonols, les aurones et les chalcones.

##### ➤ Chalcones et dérivés

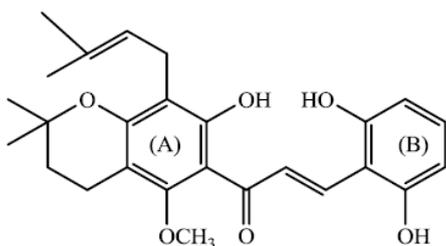
Les chalcones ne comportent pas d'hétérocycle C. Le noyau benzénique A présente souvent une prénylation qui peut être linéaire ou cyclique de type pyrano ou furano tandis que le noyau B est peu ou pas substitué (14-18). Certaines chalcones peuvent comporter une O-prénylation linéaire sur le noyau A (19, 20).



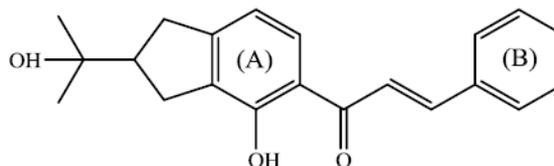
R=H Isocordoïne (14)  
R=OH 4-isobavachalcone (15)



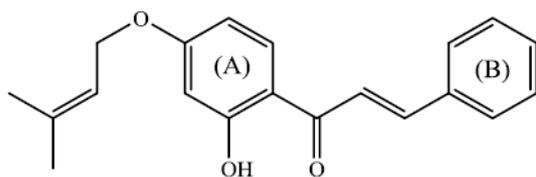
Isobavachromène (16)



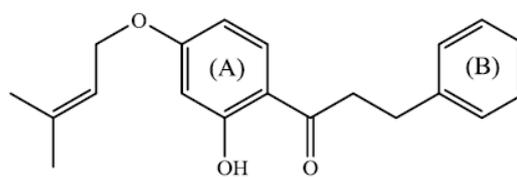
Orotinichalcone (17)



Flémitrictine B (18)



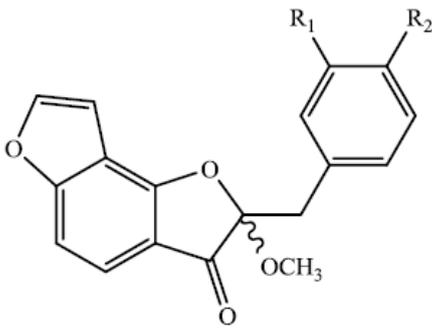
Cordoïne (19)



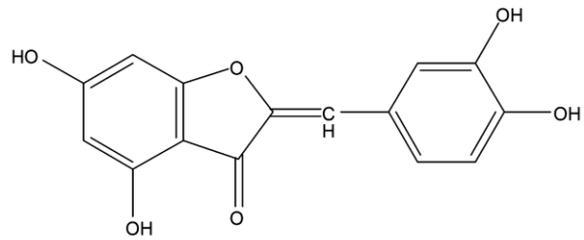
Dihydrocordoïne (20)

➤ Aurones et dérivés

Les aurones dérivent de la chalcone. Ce sont des isomères de structures des flavones. Les aurones ne présentent pas d'hétérocycle central C à six atomes mais comportent un cycle à cinq atomes. Quelques exemples de composés sont représentés ci-dessous (21, 22, 23).



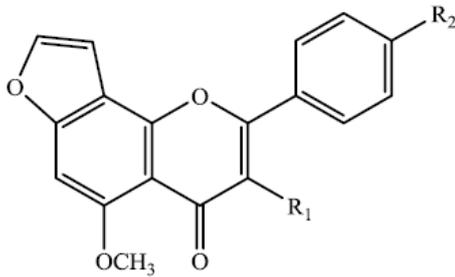
$R_1 = R_2 = H$  Castellène A (21)  
 $R_1 + R_2 = -OCH_2O-$  Castellène B (22)



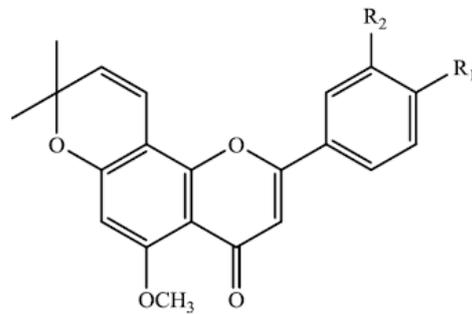
Aureusidine (23)

➤ Les flavones, les flavanones et les flavanes

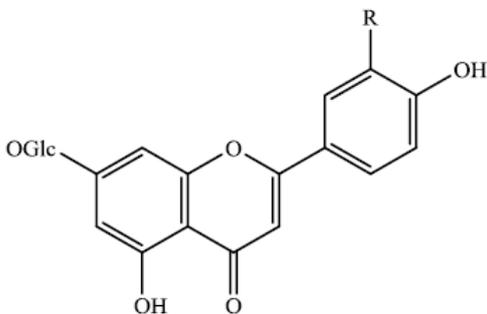
Les flavones présentent un hétérocycle oxygéné central C porteur d'un groupement carbonyle et d'une insaturation (24, 25, 26). Elles se rencontrent également sous forme glycosylées (C-glycosyl ou O-glycosyl flavonoïdes) (27, 28, 29).



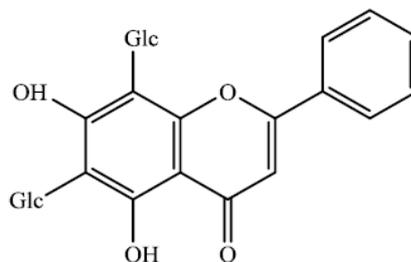
$R_1 = R_2 = H$  Lancéolatine B (24)  
 $R_1 = OCH_3$  ;  $R_2 = H$  Karanjiine (25)



$R_1 = R_2 = H$  Isopongaflavone (26)

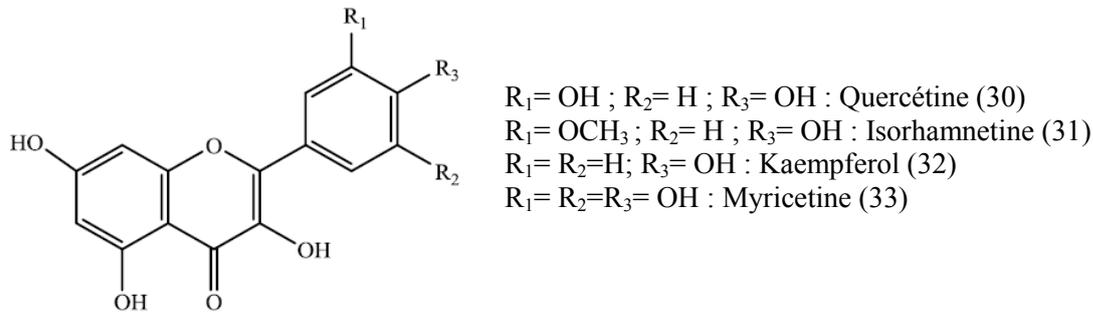


$R = H$  Apigénine-7-O-glucoside (27)  
 $R = OH$  Lutéoline-7-O-glucoside (28)



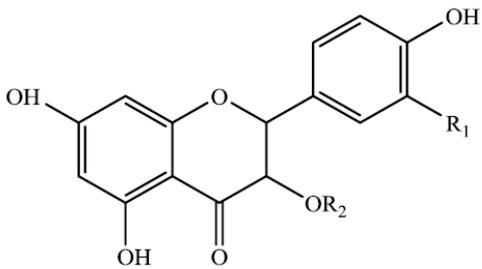
Vicimine-2 (29)

Les flavonols sont des dérivés hydroxylés des flavones. Ils sont caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle sur le carbone C3 et d'un groupement carbonyle en position 4. Ces composés sont largement répandus dans notre alimentation cependant leurs teneurs sont généralement faibles. La quercétine est le flavonol le plus répandu et le plus étudié (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). Quelques composés de cette classe sont présentés ci-dessous (30-33).



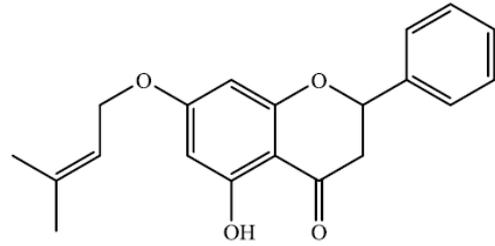
Les flavanones ont une structure similaire aux flavones mais ne possèdent pas d'insaturation au niveau de l'hétérocycle C. Les flavanonols correspondent aux dérivés hydroxylés des flavanones. Ces flavanoïdes sont responsables de la saveur amère de certains agrumes tels que les pamplemousses, les citrons et les oranges. Ils représentent les seules sources importantes de flavanones (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). Ces composés sont rencontrés sous forme simple (34) et sous forme glycosylée (35). Certaines peuvent présenter une ou plusieurs prénylations de différents types sur le noyau A, le noyau B étant peu ou pas substitué. Dans cette classe de composés, on distingue les prénylations suivantes :

- Une O-prénylation linéaire (36)
- Une C-prénylation linéaire (37)
- Une prénylation du type DMP (diméthylpyrane) (38, 39, 40)
- Une double prénylation (les molécules 38, 39 et 40 présentent une C-prénylation et une prénylation de type DMP)
- Une prénylation du type « furano » (41, 42).

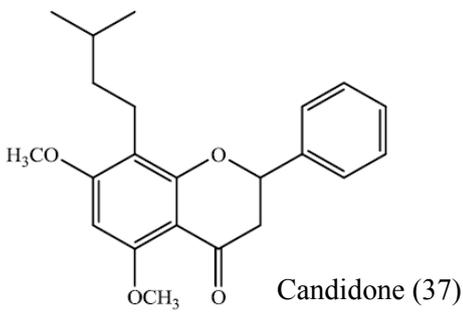


R<sub>1</sub> = OH ; R<sub>2</sub> = H : Taxifoline (34)

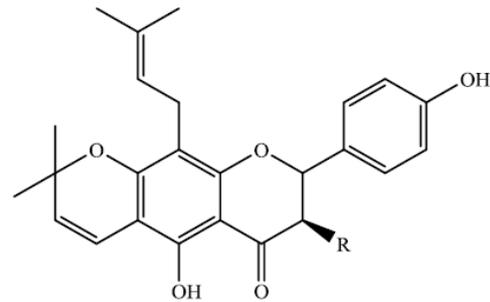
R<sub>1</sub> = H ; R<sub>2</sub> = Rhamnose : Astilbine (35)



Isoderricidine (36)



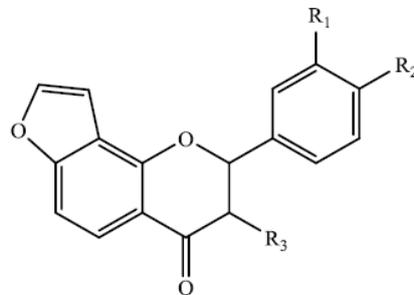
Candidone (37)



R = H : Lupinifoline (38)

R = OH : Lupinifolinol (39)

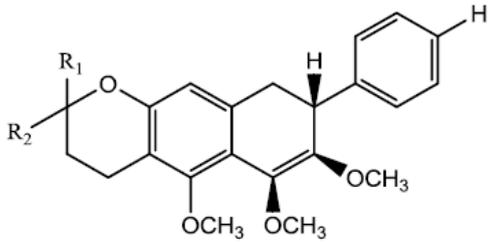
R = OCH<sub>3</sub> : 3-O-Méthyl-lupinifolinol (40)



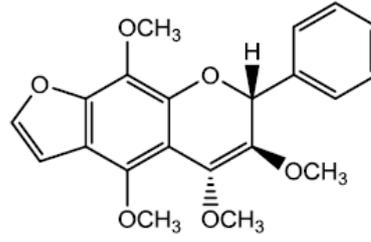
R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = H, R<sub>3</sub> = OCH<sub>3</sub> : 3-méthoxy- (2', 3', 7, 8) furanoflavanonol (41)

R<sub>1</sub> + R<sub>2</sub> = OCH<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, R<sub>3</sub> = H : 3', 4'- Méthylène-dioxy (2'', 3'', 7, 8) furanoflavanonol (42)

Les flavanes dérivent des flavones. Ces molécules sont caractérisées par un cycle central C très fortement réduit. Le noyau C est donc saturé et ne porte pas de groupement carbonyle. Toutes les flavanes présentent une prénylation de type DMP ou furano (43, 44).

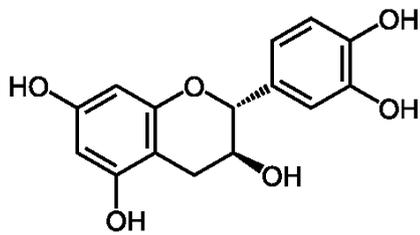


$R_1 = OH$  ;  $R_2 = OH$  : 3, 4, 5- Triméthoxy-4'-hydroxy-6'',6''-diméthylpyrano (2'', 3'', 7, 6) flavane (43)

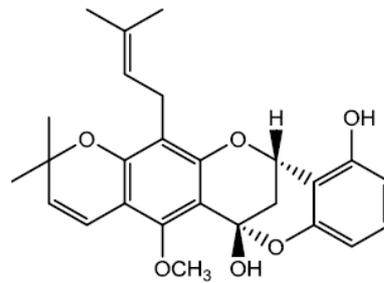


2, 3- trans, 4- trans 4, 5, 8-triméthoxy (2'', 3'', 7, 6) furanoflavane (44)

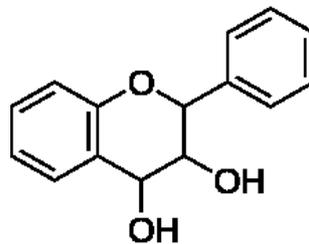
Les flavanols sont les dérivés hydroxylés des flavanes. Ils sont caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle au niveau du cycle C sur le carbone C<sub>3</sub> (flavan-3-ols) (45) ou C<sub>4</sub> (flavan-4-ols). Certains de ces composés peuvent comporter une double prénylation (cyclisée et linéaire) sur le noyau A et un pont époxy reliant les carbones 4 et 6' du noyau B (46). On distingue également les flavan-3,4-diols ou leucoanthocyanidines (47) qui sont des intermédiaires dans la biosynthèse des anthocyanidines (Collin et Crouzet, 2011).



(+) – Catéchine (45)



4,6'-Epoxyrotiniflavan-4-ol (46)

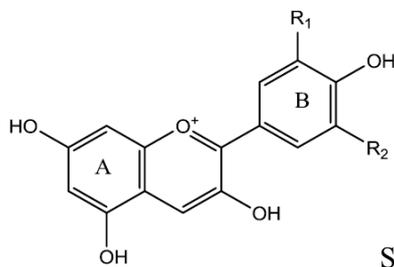


Squelette de base des leucoanthocyanidines (47)

➤ Les anthocyanes

Les anthocyanes regroupent les aglycones ou anthocyanidines et leurs dérivés glycosylés ou anthocyanines. Celles-ci sont généralement glucosylés en C<sub>3</sub> par une liaison de type C-O-C. Dans quelque cas plus rares, l'ose est lié au composé phénolique par une liaison de type C-C, beaucoup plus résistante. Les anthocyanes ont pour structure de base le cation flavylum porteur d'une charge sur l'oxygène de l'hétérocycle C (48). Ils sont responsables de la couleur rouge, bleue ou violette de nombreux produits végétaux. Le pH joue un rôle important dans le changement de couleur des anthocyanines. La forme flavylum, relativement stable, est de couleur rouge en milieu acide. Elle se transforme en base carbinol (incolore), en chalcone (jaune) ou en quinone (bleue) en milieu basique.

Les sources principales sont les baies, les fruits rouges et le vin rouge. On trouve également les anthocyanes dans les racines, les tiges, les graines et les feuilles (Collin et Crouzet, 2011 ; Sarni-Manchado et Cheynier, 2006). Quelques exemples d'anthocyanidines sont présentés ci-dessous (48).



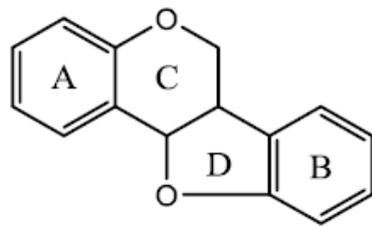
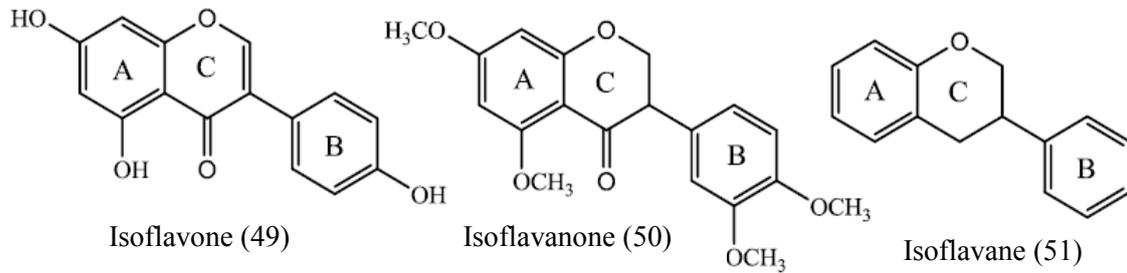
R<sub>1</sub>= O-CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>= H : Péonidine  
 R<sub>1</sub>= OH, R<sub>2</sub>= OH : Delphinidine  
 R<sub>1</sub>= O-CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>= O-CH<sub>3</sub> : Malvidine  
 R<sub>1</sub>= OH, R<sub>2</sub>= H : Cyanidine  
 R<sub>1</sub>= O-CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>= OH : Pétunidine

Structure générale des anthocyanidines (48)

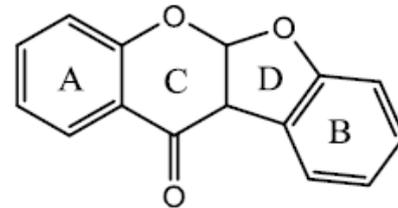
I.4.1.2.b Les isoflavonoïdes

Les isoflavonoïdes sont divisés en différentes sous-classes impliquant les structures suivantes : les isoflavones, les isoflavanes, les isoflavanones, les roténoïdes, les ptérocarpanes, les coumaronechromones, les 3-Arylcoumarines et les coumestanes. Ces catégories se distinguent par leur degré d'oxydation et la présence ou non d'hétérocycles supplémentaires. Les isoflavones non glycosylées sont les plus largement répandues chez les végétaux. Les isoflavones glycosylées existent, mais sont plus rares. Les ptérocarpanes et leurs dérivés ainsi que les coumaronechromones possèdent un cycle supplémentaire D, à cinq atomes, résultant de la cyclisation du dérivé 2'-hydroxylé. Les coumestanes et leurs dérivés proviennent de l'oxydation d'une isoflavène. Les roténoïdes possèdent également un cycle

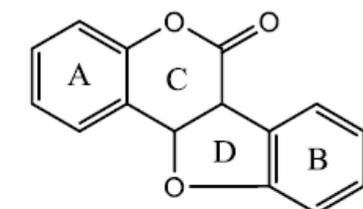
supplémentaire D, à six atomes, résultant d'une cyclisation oxydative de la 2'-méthoxyisoflavone. Les isoflavonoïdes sont majoritairement présents dans les légumineuses (Prokudina *et al.*, 2012). Les structures des différentes sous-classes des isoflavonoïdes sont représentées ci-dessous :



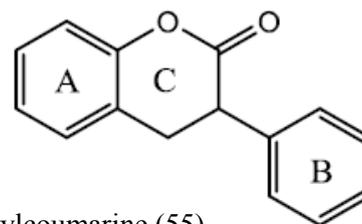
Ptérocarpane (52)



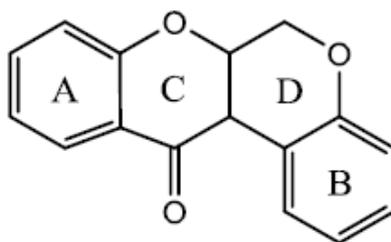
Coumaronechromone (53)



Coumestane (54)



3-Arylcoumarine (55)



Roténoïde (56)

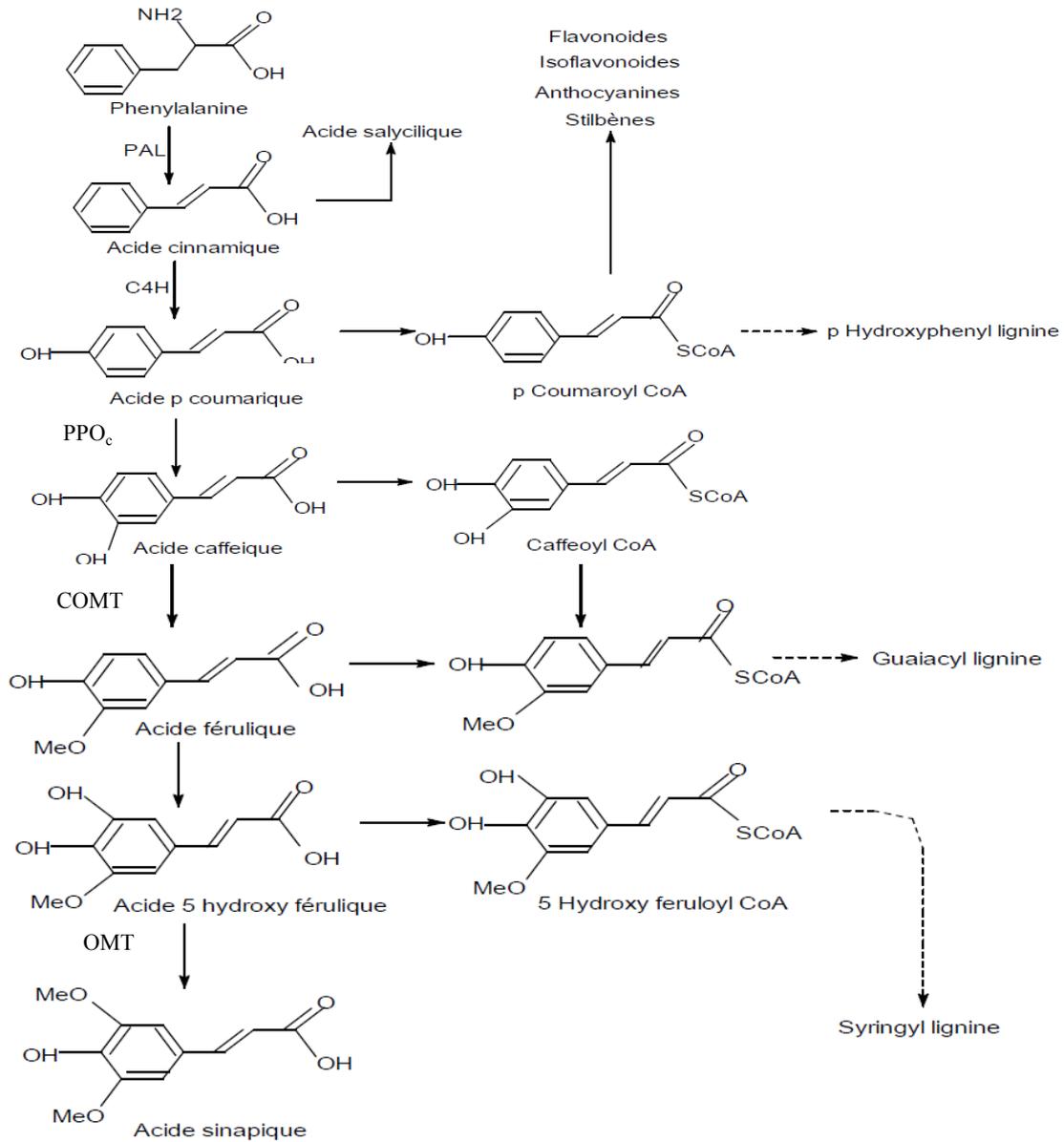
### **I.4.2 Biosynthèse de quelques composés phénoliques**

La phénylalanine et la tyrosine sont à l'origine de la formation de la plupart des composés phénoliques chez les végétaux. Ils sont formés à partir de la voie de l'acide shikimique, conduisant à la formation du précurseur immédiat des phénols, l'acide cinnamique.

#### I.4.2.1 Voies de biosynthèse des acides phénoliques

L'acide cinnamique permet la formation des principaux acides hydroxycinnamiques : acides coumarique, caféique, férulique, et sinapique (Figure 13). Ces molécules sont généralement présentes dans le matériel végétal sous forme d'esters avec le coenzyme A (esters coumaroyl-, caféoyl-, féruloyl-, sinapoyl CoA) ou de glucosides. Ces esters permettent la synthèse des principales classes de composés phénoliques.

Les acides de la série benzoïque (acide p-hydroxybenzoïque, salicylique, gallique...) résultent d'une réaction de  $\beta$ -oxydation de l'acide cinnamique.



**Figure 13: Voie de biosynthèse des acides phénoliques**

(Hoffmann *et al.*, 2004) (Abréviations des principales enzymes : PAL : phénylalanine ammonialyase ; C4H : cinnamate 4-hydroxylase ; PPOc : activité crésolase de la polyphénol oxydase ; COMT : caféate-O-méthyl transférase ; OMT : O-méthyl transférase)

#### I.4.2.2 Biosynthèse des principales classes de flavonoïdes et de leurs dérivés

Les flavonoïdes sont synthétisés par la voie de la phénylalanine/polymalonate (Figure 14). Le cycle A provient de la condensation de trois molécules d'acétyl CoA. Le cycle B et l'hétérocycle C dérivent d'une molécule de p-coumaroyl-CoA. Cette condensation, catalysée par la chalcone synthase conduit à la formation d'un précurseur des flavonoïdes, la chalcone. Par l'action d'enzymes, les différentes classes de flavonoïdes sont synthétisées par un



### **I.4.3 Localisation des composés phénoliques dans la plante**

A l'échelle cellulaire, les composés phénoliques sont principalement localisés dans la paroi cellulaire, où sont présentes les lignines (et quelquefois certains flavonoïdes) et dans la vacuole (tanins, flavonols, anthocyanes, acide chlorogénique...).

Au niveau tissulaire, les composés phénoliques sont inégalement répartis. Les esters hydroxycinnamiques peuvent s'accumuler préférentiellement dans les parties les plus externes du fruit (cas de la poire), ou dans le cœur du fruit (cas de la pomme) ou dans les tubercules (cas de la pomme de terre). Chez certains fruits, comme l'ananas, des concentrations croissantes d'esters p-coumaroylquiniques sont observées de l'intérieur vers l'extérieur et du sommet vers la base du fruit. Les flavonoïdes, tels que les anthocyanes et les flavonols, sont généralement présents dans les couches cellulaires externes des organes de la plante, en particulier les épidermes des fruits et des feuilles.

Les différents organes d'une plante donnée présentent également des différences très importantes. Chaque partie du végétal peut être caractérisée par son profil phénolique (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

### **I.4.4 Rôles et intérêts des composés phénoliques**

#### I.4.4.1 Chez les végétaux

Les composés phénoliques sont des molécules issues du métabolisme secondaire. Ils sont impliqués dans la physiologie de la plante ainsi que dans ses relations avec son environnement.

Les lignines interviennent dans la rigidification des parois cellulaires des vaisseaux du bois. Les composés phénoliques sont également impliqués dans l'organogenèse et la croissance de la plante. Les flavonoïdes régulent la croissance de la plante en agissant sur l'activité de l'auxine-oxydase. Les acides phénoliques, en particulier l'acide férulique, participe à la régulation de la croissance pariétale en modifiant le niveau de réticulation des polymères protéiques ou osidiques des parois. D'autre part, les antioxydants phénoliques sont impliqués dans l'équilibre rédox des cellules (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006 ; Havsteen, 2002).

Certains composés phénoliques participent à la coloration des organes végétaux et jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement. Les organes colorés attirent les insectes et les oiseaux, qui peuvent assurer la dissémination des fruits et la

pollinisation des fleurs. Les molécules phénoliques sont également impliquées dans la protection des plantes contre :

- Les prédateurs (leur métabolisme et leur digestion sont perturbés)
- Les micro-organismes pathogènes (en synthétisant des formes toxiques de l'oxygène et en inhibant les enzymes et protéines du pathogène)
- Les radiations solaires (en absorbant les rayonnements UV) (Petti et Scully, 2009).

Les flavonoïdes interviennent dans un phénomène de symbiose existant entre des bactéries capables de fixer l'azote et des légumineuses. Ainsi, si les végétaux manquent de substances azotées, ils libèrent dans le sol un exsudat contenant des flavonoïdes intervenant dans la régulation des gènes de nodulation chez les bactéries symbiotiques (Havsteen, 2002).

#### I.4.4.2 Chez les humains

Les activités biologiques des composés phénoliques ont été évaluées dans plusieurs travaux de recherche. Le rôle des molécules phénoliques est largement démontré dans la protection contre les maladies dégénératives comme les cancers et les maladies cardio-vasculaires. Cependant, le bénéfice antioxydant que pourraient apporter les polyphénols à la santé humaine est sans cesse remis en question et leur biodisponibilité est encore mal connue. Des études, tant pharmacologiques que cliniques, sont donc encore nécessaires. Quelques exemples de composés phénoliques et les activités biologiques qui leur sont associées sont repris dans le Tableau 6.

**Tableau 6 : Propriétés biologiques des différentes familles de composés phénoliques**

Composés phénoliques	Activités biologiques	Références bibliographiques
<b>Tanins condensés</b>	Antioxydante, neuroprotectrice, antibactérienne, antivirale, antitumorale, antimutagène, neuroprotecteur	De Bruyne <i>et al.</i> , 1999 ; Ebrahimi et Schluesener, 2012
<b>Acides phénoliques</b>	Antioxydante, Antibactériennes, anti-ulcéreuses, antiparasitaires antifongiques,	Sannomiya <i>et al.</i> , 2005 ; De Barros <i>et al.</i> , 2008 ; Gurbuz, Yesilada et Ito, 2009
<b>Stilbènes</b>	Antioxydante, anti-inflammatoire, anticancer, antitumorale, neuroprotecteur	Csuk <i>et al.</i> , 2012 ; Ebrahimi et Schluesener, 2012
<b>Flavonoïdes</b>	Antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobien, protection contre les maladies cardio-vasculaires, analgésique, neurostimulateur, hypotenseur, améliore les symptômes du diabète mellitus, effet sur les allergies et l'asthme, antitumoral, antiviral, effet sur les maladies rhumatismales, anti-ulcéreux, neuroprotecteur	Havsteen, 2002 ; Martini, Katerere et Eloff, 2004 ; Tripoli <i>et al.</i> , 2007 ; Mladěnka <i>et al.</i> , 2010

### **I.4.5 Antioxydants phénoliques**

Le phénomène d'oxydation est à l'origine du vieillissement des tissus biologiques et des organismes ainsi que de nombreuses pathologies. Il est également mis en cause dans les dégradations affectant les qualités nutritionnelles et sensorielles des aliments.

Les principaux agents oxydants sont les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO). Toutes les cellules sont capables d'en produire. Ils font parti du système de défense de l'organisme. De nombreuses situations physiologiques entraînent la libération des ERO comme messagers secondaires ou comme moyen de lutte contre les micro-organismes et les cellules tumorales. Lorsqu'ils sont en excès, ces molécules sont désactivées par diverses enzymes et des agents antioxydants. Ce déséquilibre entre production et neutralisation des ERO serait à l'origine de certaines pathologies comme les maladies cardio-vasculaires, les cancers, le diabète, l'arthrite et l'athérosclérose (Berger, 1997).

Le terme antioxydant comprend une large gamme de composés qui peuvent être divisés en antioxydants endogènes et exogènes. Les cellules de l'organisme renferment des enzymes de détoxification (lipoxygénase, superoxyde dismutase...), des protéines d'oxydoréduction (thiorédoxine), des hormones (mélatonine, estradiol) et des lipides comme l'acide lipoïque et l'alcool périllique. L'alimentation, en particulier les fruits et légumes, apportent une grande variété d'antioxydants : des vitamines, des polyphénols, des caroténoïdes et des minéraux.

Les antioxydants alimentaires sont définis comme « des substances capables de neutraliser les Espèces Réactives de l'Oxygène et de l'azote (ERO et ERN) en bloquant les réactions de propagation ou en inhibant les radicaux libres formés » (Huang, Ou et Prior, 2005). Ces antioxydants présentent un intérêt grandissant depuis les années 1990. Ainsi, de nouvelles méthodes de détermination ont fait leur apparition pour établir le pouvoir antioxydant de ces molécules.

#### I.4.5.1 Mécanisme général d'action des antioxydants phénoliques

Les composés phénoliques comportent un ou plusieurs groupements hydroxyles greffés sur un noyau benzénique. La fonction phénol peut perdre facilement un proton  $H^+$  pour former un ion phénoxy. La perte d'un hydrogène entraîne la formation d'un radical capable de se stabiliser par mésomérie. C'est cette particularité structurale et cette réactivité chimique qui confèrent aux composés phénoliques leur caractère antioxydant.

Les substances phénoliques peuvent agir comme des antioxydants « primaires » ou « antiradicalaires ». Ils sont capables de bloquer les réactions de propagation de la chaîne

d'oxydation des lipides en cédant un hydrogène aux peroxydes lipidiques formés. Les polyphénols peuvent aussi intervenir de façon indirecte, en désactivant l'oxygène singulet, oxydant très puissant des acides gras insaturés, ou en chélatant les métaux de transition ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^+$ ) qui accélèrent fortement l'autoxydation des lipides. Enfin, certains inhibent l'activité des enzymes d'oxydation telles que la lipoxygénase ou la cyclo-oxygénase.

### I.4.5.2 Caractéristiques structurales des antioxydants phénoliques

Les relations existant entre les caractéristiques structurales et l'activité antioxydante des différentes classes de composés phénoliques ont été démontrées *in vitro*. Cependant il n'existe pas de test universel pour établir le pouvoir antioxydant des molécules. Une multitude de méthodes existent, basées sur des principes très divers, utilisant des conditions opératoires différentes. Quelques classes de composés phénoliques sont présentées ci-après.

#### I.4.5.2.a Acides phénoliques

Les dérivés de l'acide cinnamique présentent une activité antiradicalaire supérieure à celles des dérivés de l'acide benzoïque. Les dérivés de l'acide cinnamique seraient plus actifs en raison de la participation du groupe  $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$  fixé sur le noyau benzénique, à la stabilisation du radical par résonance (Cuvelier, 1992). Les acides caféique, sinapique, férulique et *p*-coumarique sont respectivement plus actifs que les acides protocatéchique, syringique, vanillique et *p*-hydroxybenzoïque.

Un second hydroxyle sur le cycle renforce l'activité des acides phénoliques et la position des OH joue un rôle sur son efficacité : *para* > *ortho* > *méta* (Thumann et Herrmann, 1980).

Les acides phénoliques ont également une action inhibitrice sur l'activité de la lipoxygénase. Les acides protocatéchique et vanillique sont les plus puissants (Richard-Forget *et al.*, 1995).

#### I.4.5.2.b Flavonoïdes

Les flavonoïdes agissent principalement comme antioxydants primaires en neutralisant les radicaux peroxydiques. Trois types de structures interviennent dans la capacité des flavonoïdes à inhiber l'oxydation des lipides : la présence d'une structure *o*-diphénols (ou catéchol) sur le cycle B, une double liaison entre les carbones 2 et 3 conjuguée avec une fonction 4-oxo (c'est-à-dire une fonction cétone présente conjointement avec une fonction aldéhyde) et la présence d'un hydroxyle libre sur le carbone 3 (Van Acker *et al.*, 1996). Ils

peuvent aussi désactiver les espèces réactives oxygénés (ERO), l'oxygène singulet ou le radical OH<sup>•</sup>, désactiver la lipoxygénase ou chélater les métaux.

Les flavonols sont réputés être les antioxydants les plus puissants de tous les flavonoïdes, grâce à la présence d'une fonction cétone sur le carbone 4 et d'un groupement hydroxyle sur le carbone 3. Lors de la chélation des métaux, un site idéal de complexation a été observé : il s'agit de la fonction cétone du carbone 4 et du groupement OH du carbone 3 ou 5 formant un complexe avec des métaux tels que le fer ou le manganèse. Au sein des flavonols, les composés les plus efficaces par ordre décroissant seraient : quercétine, myricétine, morine, quercitrine et kaempferol. Ces résultats restent très controversés en raison de la difficulté de comparer des pouvoirs antioxydants lorsque les mesures ne sont pas effectuées dans les mêmes conditions (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

### I.4.5.2.c Tanins condensés

Parmi les tanins condensés, les formes esters galliques et dimériques sont en général les plus puissantes. Par ailleurs, les dimères procyanidiques B1 et B3 sont des inhibiteurs efficaces de la peroxydation des lipides et des désactivateurs des radicaux libres tels qu'OH<sup>•</sup> ou l'anion superoxyde (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

### **I.4.6 Extraction des composés phénoliques**

L'analyse et l'identification des composés phénoliques comprennent différentes étapes, notamment l'étape d'extraction. De nos jours, beaucoup de procédés de fabrication dans l'industrie agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique utilisent, directement ou indirectement, l'extraction. Celle-ci est généralement de type solide-liquide, c'est-à-dire qu'un solide, la matrice végétale, est mis en contact avec un liquide, le solvant d'extraction. Une méthode dite conventionnelle comme la macération était jusqu'ici utilisée. Cependant, ce procédé est long à mettre en œuvre et nécessite de grande quantité de solvant organique. Ces dernières années ont été marquées par l'utilisation de procédés d'extraction alternatifs, efficaces et durables, faisant intervenir des techniques comme l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction assistée par micro-ondes, l'électrotechnologie (champs électriques pulsés) et les traitements enzymatiques ou qui impliquent des fluides compressés comme solvant d'extraction tels que l'extraction par fluide pressurisé, l'extraction par eau subcritique ou l'extraction par fluide supercritique. Ces techniques offrent de nombreux avantages d'un point de vue du rendement d'extraction, du temps d'extraction, de la consommation en

énergie et en solvant. De plus ces procédés de chimie « verts » rendent possible le recours à des solvants qui sont respectueux de l'environnement et de la santé humaine. Le solvant « vert » le plus utilisé actuellement est l'éthanol en raison de sa disponibilité, sa pureté, son faible coût et son caractère non toxique et biodégradable.

### I.4.6.1 Méthode d'extraction conventionnelle

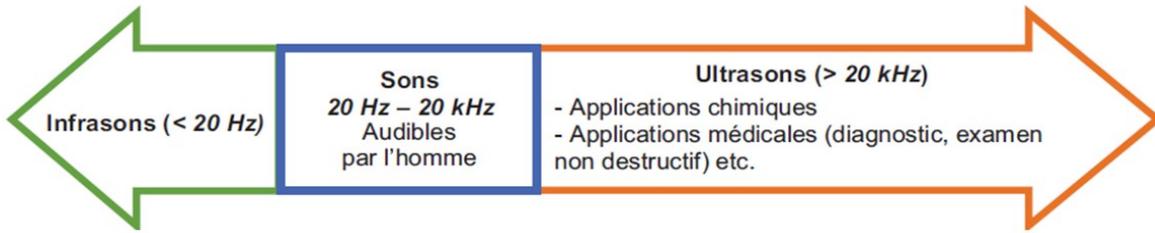
La macération consiste à mettre en contact le matériel végétal avec le solvant d'extraction, avec ou sans agitation, à température ambiante ou à 4°C pour empêcher l'action des polyphénoloxydases qui dégraderaient les composés phénoliques, pour une durée déterminée. Cette technique repose sur la solubilité des substances dans un solvant d'extraction. Elle est influencée par différents facteurs incluant la nature du matériel végétal, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction etc. Pour une meilleure extraction, la matrice végétale est généralement broyée et le choix du solvant doit être adéquat. Les polyphénols sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte tels que l'éthanol, le méthanol ou l'acétone purs ou en présence d'eau.

### I.4.6.2 Méthodes d'éco-extraction

Face à l'apparition de nouvelles contraintes techniques et réglementaires, plusieurs chercheurs et professionnels se sont réunis, en 2010, pour définir l'éco-extraction. La définition suivante a été adoptée : « l'éco-extraction est basée sur la découverte et la conception de procédés d'extraction permettant de réduire la consommation énergétique, mais aussi l'utilisation de solvants alternatifs et des ressources végétales renouvelables, tout en garantissant un produit/extrait sûr et de qualité » (Chemat, 2011).

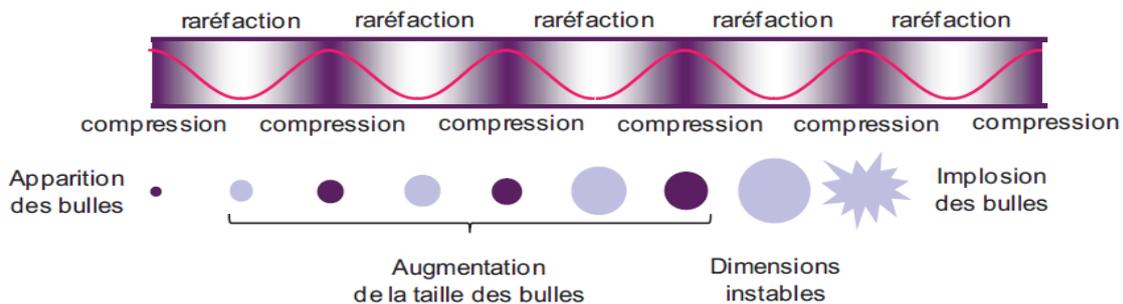
#### I.4.6.2.a Extraction assistée par ultrasons

Les ultrasons sont des ondes mécaniques caractérisées par une fréquence supérieure à celle audible par les êtres humains et qui peuvent se propager dans les liquides, les solides et les gaz (Figure 15).



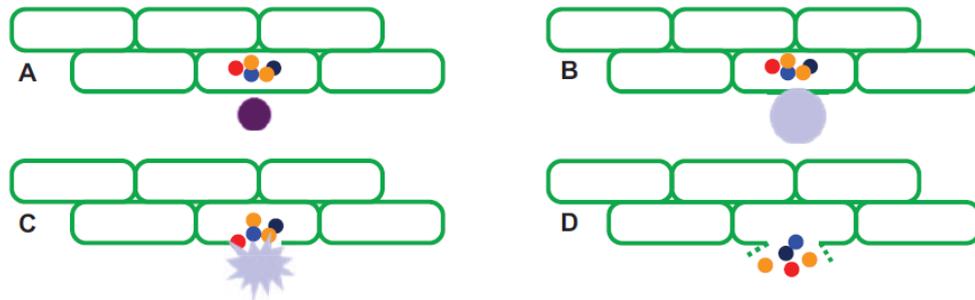
**Figure 15 : Fréquences des ondes sonores et leurs applications (Grigoraş, 2012)**

Dans les liquides, la propagation des ondes entraîne des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression). Cette différence de pression induit un mouvement à l'intérieur du fluide. Lors d'un cycle de raréfaction, des bulles de cavitations vont se former à partir de noyaux gazeux existant dans le fluide (Figure 16). L'effet de tension sur le fluide produit de nouvelles cavités. Lorsque les bulles atteignent une dimension instable, elles implosent pendant le cycle de compression libérant des énergies très importantes.



**Figure 16: Représentation des bulles de cavitation sous l'effet des ultrasons (Mason et Paniwnyk, 2000)**

Lorsque les bulles de cavitation sont générées à proximité de la surface du matériel végétal, l'implosion qui en résulte produit des jets de liquide projetés à très grande vitesse (Figure 17). Une augmentation locale de la pression (1000 atm) et de la température (5000 K) induit la destruction des parois cellulaires de la matrice végétale permettant ainsi la libération des molécules d'intérêt dans le milieu environnant (Chemat, Zill-e-Huma et Khan, 2011).



**Figure 17: Destruction de membrane cellulaire par l'implosion de bulles de cavitation (Walker, 1978)**

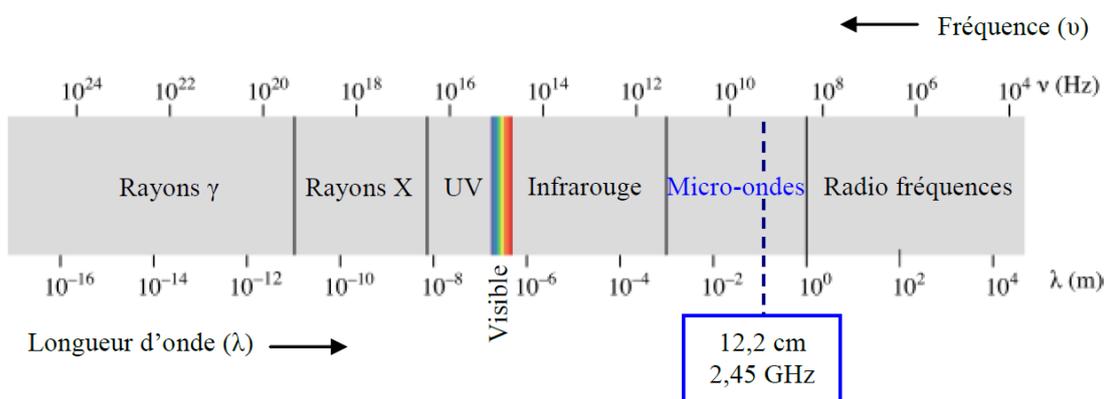
Deux types d'équipement à ultrasons sont couramment employés à l'échelle du laboratoire :

- Le bain de nettoyage à ultrasons, facile à manipuler et économiquement avantageux
- La sonde à ultrasons, plus puissante que le bain à ultrasons.

L'extraction assistée par ultrasons peut être utilisée sur diverses matrices végétales pour l'extraction des antioxydants, notamment les composés phénoliques. Généralement, le rendement et la cinétique d'extraction sont améliorés avec les ultrasons (Chemat, 2011).

#### I.4.6.2.b Extraction assistée par micro-ondes

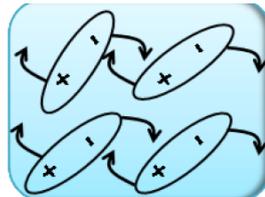
Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques de haute fréquence allant de 300 MHz à 300 GHz entre les ondes radio et infrarouges (Figure 18).



**Figure 18: Les micro-ondes dans le spectre électromagnétique (Michel, 2011)**

Deux phénomènes interviennent simultanément lors du chauffage du matériel végétal par les micro-ondes :

- La conduction ionique est due au déplacement des ions dans un champ électromagnétique. Les chocs entre les molécules fixes libèrent de la chaleur par effet Joules.
- La rotation de dipôles repose sur le fait que les molécules sont dipolaires avec des extrémités positives et négatives (Figure 19). Lorsque celles-ci sont soumises à l'effet d'un champ électrique alternatif, le mouvement des dipôles pour suivre la direction du champ entraîne des frictions créant ainsi un échauffement.



**Figure 19 : Oscillation des molécules polaires soumises à un champ électrique alternatif (Michel, 2011)**

Sous l'action des micro-ondes, les molécules vibrent en libérant de la chaleur rapidement conduisant à une augmentation importante de la température à l'intérieur du matériel végétal et provoquant finalement la rupture des cellules. Les composés à extraire sont alors libérés vers l'extérieur et peuvent soit constituer directement l'extrait (cas de l'extraction assistée par micro-ondes sans solvant) soit se mélanger avec le solvant environnant (cas de l'extraction assistée par micro-ondes avec solvant). L'échauffement rapide de la matière constitue l'une des spécificités du chauffage micro-onde. Le transfert de chaleur s'effectue de l'intérieur vers l'extérieur du matériel végétal, au contraire des chauffages classiques par conduction, ce qui induit une cinétique d'extraction plus courte pour le chauffage par micro-ondes.

L'extraction assistée par micro-ondes fait appel à des équipements spécifiques dont les principaux éléments constitutifs sont :

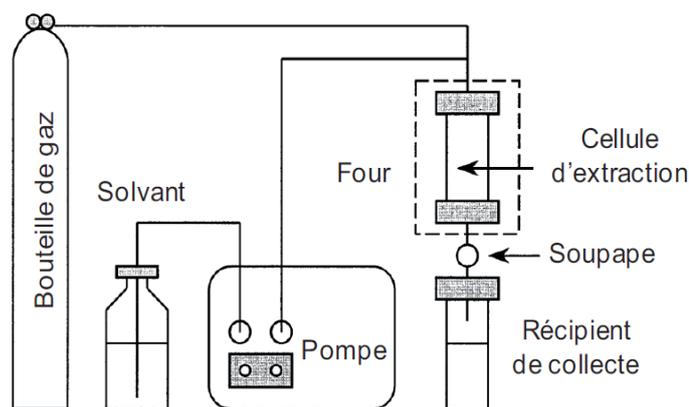
- Le magnétron qui génère les micro-ondes à partir d'énergie électrique
- Un guide d'ondes métalliques qui oriente les micro-ondes du magnétron vers l'échantillon
- Un réacteur transparent aux micro-ondes dans lequel se trouve l'échantillon
- Une cavité protectrice (ou four) contenant le réacteur.

L'applicateur de l'irradiation micro-onde peut être de type monomode, dans ce cas l'échantillon introduit dans un récipient est placé dans le guide d'ondes. Lorsque l'applicateur est multi-mode, l'échantillon, placé à l'intérieur de la cavité, est agité ou mis en mouvement de manière à ce que tout le contenu soit irradié de manière homogène.

L'extraction assistée par micro-ondes est une technique adaptée pour l'obtention de composés antioxydants, notamment les polyphénols, à partir de diverses matrices végétales. Plusieurs études comparatives ont montré que la technique d'extraction par micro-ondes permet de réduire le volume de solvant utilisé tout en assurant un meilleur rendement par rapport aux méthodes d'extraction classiques (Chemat, 2011).

#### I.4.6.2.c Extraction par fluide pressurisé

Cette technique d'extraction solide-liquide emploie les mêmes solvants que la macération mais à des pressions (100 à 140 atm) et températures (40 à 200°C) plus élevées pendant un temps court (5 à 15 minutes) (Garcia-Salas et al., 2010). Cette combinaison de hautes pressions et de températures situées au dessus du point d'ébullition du solvant favorise la diminution de la viscosité du solvant, du temps d'extraction et la désorption de solutés de la matrice végétale. La figure 20 illustre le schéma d'un système d'extraction par fluide pressurisé.



**Figure 20 : Schéma d'un système d'extraction par fluide pressurisé (Bjorklund, Nilsson et Bowadt, 2000)**

L'échantillon solide est placé dans une cellule d'extraction et mis en contact avec le solvant d'extraction pendant un temps défini. Le processus d'extraction peut être réalisé en mode :

- statique : un volume fixe de solvant d'extraction est employé
- dynamique : le solvant est continuellement au contact de l'échantillon
- statique-dynamique : les deux modes précédents sont combinés (Luque-García et Luque de Castro, 2003).

En fin d'extraction, l'extrait est récupéré dans un récipient de collecte par un flux de gaz comprimé, en général de l'azote. Le processus d'extraction peut être répété plusieurs fois avec

du solvant frais, ce qui permet d'améliorer le transfert des composés à extraire et le rendement d'extraction.

### I.4.6.2.d Extraction par eau subcritique

L'extraction par eau subcritique est une variante de la technique d'extraction par fluide pressurisé. Elle nécessite le même équipement que l'extraction par fluide pressurisé et peut fonctionner également en mode statique ou dynamique. L'eau chaude maintenue sous sa forme liquide grâce à l'utilisation de hautes pression et température est appelée eau subcritique. Lorsque l'eau est chauffée à 250 °C à une pression supérieure à 40 atm, sa constante diélectrique ( $\epsilon=27$ ) est comparable à celle de l'éthanol ( $\epsilon=24$ ) et du méthanol ( $\epsilon=33$ ) (Luque-García et Luque de Castro, 2003). Ainsi l'extraction par eau subcritique permet d'extraire des composés moyennement polaires à non polaires contrairement à l'eau à température et pression ambiantes.

### I.4.6.2.e Extraction par fluide supercritique

Dans des conditions de températures et de pressions supérieures aux valeurs de ses points critiques, le fluide est dit supercritique et présente un état à la fois proche d'un gaz et d'un liquide. Le dioxyde de carbone est le solvant le plus largement utilisé en raison de ses conditions critiques facile à atteindre (31,1 °C and 73,8 MPa), sa non toxicité, sa disponibilité. Il est également peu couteux, non inflammable et chimiquement stable (Garcia-Salas et al., 2010). Lors de l'extraction, le solvant passe de manière continue à travers l'échantillon et les molécules d'intérêts sont obtenues sous forme concentrées après élimination du CO<sub>2</sub> sous forme gazeuse. Ce type de solvant ne convient pas pour l'extraction des polyphénols en raison de leur faible polarité. L'ajout d'un co-solvant comme l'éthanol ou le méthanol est nécessaire.

### I.4.6.2.f Extraction assistée par des enzymes pectolytiques

Les préparations enzymatiques commerciales contiennent principalement des pectinases, des cellulases, des hémicellulases, des glucanases ou encore des tannases. Ces enzymes sont couramment utilisées pour fragiliser ou dégrader les parois cellulaires facilitant ainsi la libération du contenu intracellulaire. Elles servent donc principalement à améliorer l'extraction des polyphénols. Cependant, c'est une technique onéreuse en raison du coût des enzymes employées (El Darra, N., 2013).

### I.4.6.2.g Prétraitement par champs électriques pulsés

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'amélioration des composés phénoliques en utilisant des champs électriques pulsés. Cette technique consiste à exposer les membranes des cellules végétales à un champ électrique de moyenne intensité (environ 0,1 kV/cm). Cette exposition provoque des pores au niveau de la membrane cellulaire. Ce phénomène est appelé « électroporation » ou « électroperméabilisation ». Par ailleurs, cette méthode présente l'avantage d'être courte, peu coûteuse et permet de réduire l'utilisation de solvants nocifs pour l'environnement et la santé humaine (El Darra, N., 2013).

### **I.4.7 Conclusions**

Cette étude bibliographique révèle que *Mammea americana* est un arbre facile à cultiver, très peu attaqué par les ravageurs. On le retrouve souvent dans les jardins des particuliers où son fruit est très apprécié par la population pour sa pulpe attractive d'une belle couleur jaune orange, aromatisée et sucrée. L'étude phytochimique a mis en évidence que la pulpe de l'abricot-pays contient des composés antioxydants tels que des caroténoïdes et de la vitamine C. De plus, la plupart des travaux scientifiques ont porté sur la graine du fruit, contenant des coumarines insecticides. La pulpe présente uniquement des traces de quelques coumarines. Il apparaît clairement qu'elle a été très peu valorisée. La consommation humaine de la pulpe de l'abricot-pays qui est séculaire n'a pas fait l'objet de rapports sur une éventuelle toxicité. C'est pour cela que nous n'avons pas porté d'intérêt aux coumarines. Quelques travaux ont également montré que *Mammea americana* présente des propriétés biologiques bénéfiques pour la santé telles qu'une activité antioxydante, un effet antiulcère ou encore une activité antibactérienne. Généralement, les propriétés antioxydantes des extraits végétaux sont attribuées à la présence de composés antioxydants, notamment les composés phénoliques. A ce jour, les substances phénoliques de la pulpe du fruit n'ont fait l'objet d'aucune étude scientifique. Nous allons donc chercher, dans le chapitre qui va suivre, à caractériser ces composés, évaluer leur activité antioxydante et améliorer les connaissances relatives à la composition nutritionnelle, physico-chimique et fonctionnelle du fruit dans l'optique de compléter les connaissances existantes. Les ultrasons, souvent employés comme prétraitement pour l'extraction des composés phénoliques, est une technique simple à mettre en œuvre. Nous nous intéresserons donc à l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques à l'aide d'une technique d'éco-extraction assistée par ultrasons dans le chapitre 3.

CHAPITRE 2 : CARACTERISATION  
DES FRUITS ET DE LA PULPE DE  
*MAMMEA AMERICANA L.*

## II. CARACTERISATION DES FRUITS ET DE LA PULPE DE *MAMMEA AMERICANA* L.

En 2005, des prospections réalisées sur tout le territoire de la Martinique par le CIRAD (Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement) ont permis de sélectionner 10 accessions produisant des fruits de qualité supérieure : fruits de gros calibre, rendement en pulpe élevée, graines peu nombreuses, pulpe non adhérente aux graines, fruits gouteux, sucrés... Ces accessions ont été multipliées par greffage et plantées sur la station de Rivière-Lézarde, localisée dans la commune de Saint-Joseph, en 2006 (Gervais et Lavigne, 2007). Les noms des 10 accessions sélectionnées et les communes d'où elles proviennent sont présentés dans le tableau 7. En Octobre 2011, le CIRAD a transféré à la FREDON (Fédération Régionale de défense contre les organismes nuisibles) une partie de sa station expérimentale de Rivière-Lézarde, notamment la parcelle des abricotiers-pays.

**Tableau 7: Noms et origines des accessions sélectionnées  
(Gervais et Lavigne, 2007)**

<b>Accession</b>	<b>Commune</b>
Belleville	Le Prêcheur
Charité	Trinité
Antonio	Saint-Joseph
Coco	Saint-Esprit
Galion	Trinité
Escouët	Rivière-Pilote
Lézarde	Saint-Joseph
Pavé 11	Saint-Joseph
Sonson	Saint-Esprit
Ti-Jacques	Rivière-Pilote

Les abricots-pays, récoltés sur le site expérimental de Rivière-Lézarde dont nous disposons pour notre étude, se sont donc développés dans les mêmes conditions agropédoclimatiques. De plus, les accessions greffées présentent l'avantage d'être de petite taille avec des fruits à portée de main, ce qui a facilité leur récolte. Dans ce chapitre, les objectifs sont d'évaluer les caractéristiques nutritionnelles, technologiques et fonctionnelles des fruits afin de mettre en

évidence les accessions les plus prometteuses pour la vente en frais, la transformation ou l'obtention d'extraits à intégrer dans diverses formulations agroalimentaires ou pharmaceutiques. Il s'agira également d'établir les connaissances inexistantes sur la pulpe du fruit en termes de composés phénoliques et de capacité antioxydante.

### **II.1 Matériels et méthodes**

#### **II.1.1 Matériels**

##### II.1.1.1 Matériel végétal, site et conditions de récolte

La maturité des fruits est généralement déterminée par leur chute. Au cours de la période de production, des filets ont été disposés autour des arbres afin de réceptionner les fruits mûrs et ainsi éviter les meurtrissures.

La période d'échantillonnage s'est étalée sur 6 mois, de Février 2011 à Juillet 2011. 30 fruits ont été collectés par accession, issus de plusieurs arbres de la station expérimentale, pour assurer un effectif minimum permettant la validité statistique des résultats. Six accessions ont pu fournir un nombre suffisant de fruits : Antonio, Ti Jacques, Escouët, Lézarde, Sonson et Pavé 11.

Après la récolte, une partie des analyses physiques (poids, circonférences, taille du pédoncule) est effectuée directement sur les fruits frais entiers. Ils ont ensuite été pelés manuellement à l'aide d'un couteau, coupés en quartiers, puis la pulpe a été séparée des graines. Après avoir réalisé l'ensemble des analyses physiques, les fruits sont congelés dans l'azote liquide puis conservés à - 80°C jusqu'aux analyses. Pour les analyses nutritionnelles, physico-chimiques et fonctionnelles, la pulpe sera décongelée, à 4°C pendant 24 heures, puis broyée. Pour les analyses spécifiques des polyphénols et les activités antioxydantes, la pulpe sera lyophilisée et réduite en poudre. La figure 21 indique les différentes étapes du traitement de la pulpe avant la réalisation des analyses.

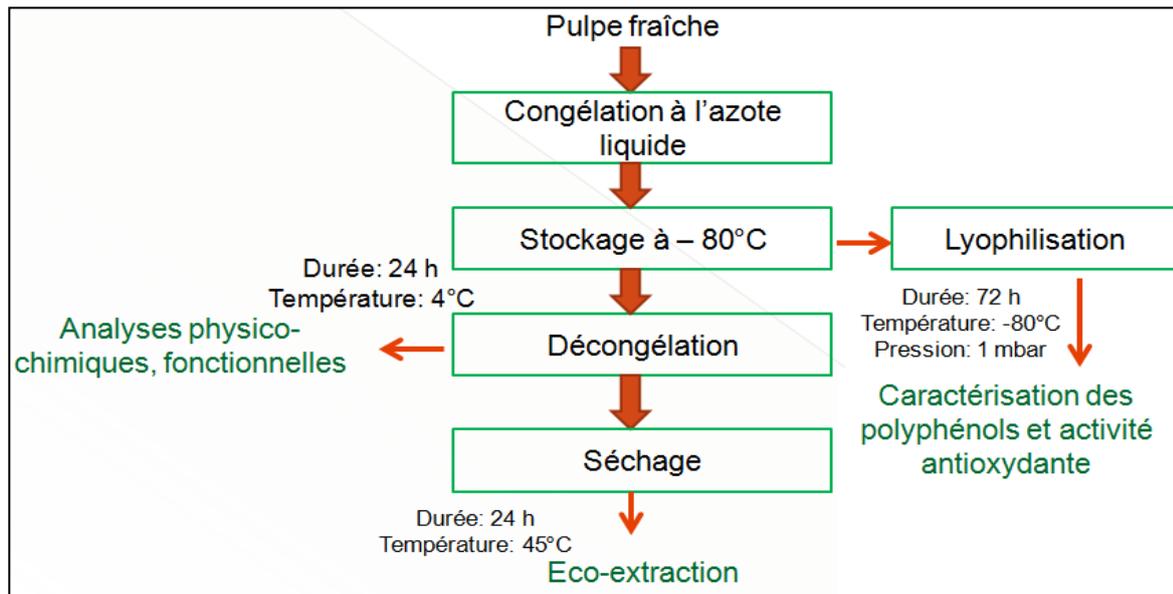


Figure 21 : Traitement de la pulpe en vue des analyses

### II.1.1.2 Produits chimiques

Tous les solvants utilisés pour les extractions et pour la chromatographie sont de pureté analytique et ont été fournis par Fisher Scientific (Illkirch, France).

Les réactifs utilisés pour nos expérimentations ont été acquis chez Sigma-Aldrich Co. (Allemagne). Le toluène- $\alpha$ -thiol provient de Merck (Allemagne).

L'eau utilisée pour préparer la phase mobile des analyses spécifiques des polyphénols, est une eau de haute pureté (18M $\Omega$ ) obtenue à l'aide d'un système eau milli-Q (Etats-Unis).

L'eau distillée utilisée pour les autres analyses provient d'un bi-distillateur (Autostill, D-Ionstill). Les standards analytiques employés ont été acquis chez Sigma-Aldrich Co. (Allemagne) et Extrasynthese SA (France).

## II.1.2 Méthodes

### II.1.2.1 Caractérisation nutritionnelle de la pulpe

La caractérisation nutritionnelle comporte une série de déterminations telles que :

- La teneur en humidité
- La teneur en cendres
- La teneur en protéines totales
- La teneur en lipides totaux.

Ces différentes déterminations permettent de calculer la teneur en glucides totaux (incluant notamment les sucres, les fibres alimentaires et l'amidon) et la valeur énergétique. Chacune des analyses est répétée trois fois.

#### II.1.2.1.a Teneur en humidité (H)

Il s'agit de déterminer par gravimétrie la proportion d'eau contenue dans le fruit en mesurant la perte de masse à la dessiccation des échantillons. Pour ce faire, environ 2 g de pulpe fraîche sont pesées dans une capsule en aluminium, puis placées dans une étuve à 70°C sous pression réduite (-1 bar) pendant 5 heures. La teneur en humidité est exprimée en g/100g de matière fraîche. Elle est donnée par la relation suivante :

$$\text{Teneur en humidité (g/100g)} = \left( \frac{M_2 - (M_3 - M_1)}{M_2} \right) \times 100$$

Où :

$M_1$  est la masse de la capsule,

$M_2$  est la masse de l'échantillon,

$M_3$  est la masse de la capsule et de l'échantillon après dessiccation.

#### II.1.2.1.b Teneur en cendres (C)

La teneur en cendres, obtenue par gravimétrie, correspond à la masse du résidu obtenu après incinération des échantillons. Elle reflète donc la quantité de matières minérales présentes dans le fruit. Environ 2 g de pulpe fraîche sont pesés dans un creuset à incinération en porcelaine. L'échantillon est incinéré dans un four à une température de  $525 \pm 25^\circ\text{C}$  durant 5 heures, jusqu'à l'obtention de cendres grises et spongieuses. Il est ensuite refroidi dans un dessiccateur puis le résidu est pesé. La teneur en cendres est exprimée en g/100g de matière fraîche et se calcule comme suit :

$$\text{Teneur en cendres (g/100g)} = \left( \frac{M_3 - M_1}{M_2} \right) \times 100$$

Où :

$M_1$  est la masse du creuset à incinération,

$M_2$  est la masse de l'échantillon,

$M_3$  est la masse du creuset et de l'échantillon après incinération.

#### II.1.2.1.c Teneur en protéines totales (PT)

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de Kjeldahl. La matière organique azotée est minéralisée en présence d'un catalyseur et d'acide sulfurique en sels d'ammonium. Ceux-ci sont ensuite distillés par ajout de soude, puis le distillat obtenu est dosé.

Environ 2 g d'échantillon sont pesés et minéralisés dans 25 ml d'acide sulfurique à 96% et en présence d'un catalyseur (pastille : 5 g  $K_2SO_4$  + 0,15 g  $CuSO_4$  + 0,15 g  $TiO_2$ ) dans un minéralisateur Turbotherm (Gerhardt Laboratory Systems, Königswinter, Allemagne). Le minéralisat est distillé par un ajout de soude (NaOH) à 32% dans un distillateur Vapodest (Gerhardt Laboratory Systems, Königswinter, Allemagne). La soude est ajoutée à l'échantillon par palier, le premier étant fixé à 100% de NaOH pour amener l'échantillon à ébullition rapidement puis :

- 70 % de NaOH durant 60 min
- 0 % de NaOH durant 2 min
- 51 % de NaOH durant 6 min
- 70 % de NaOH durant 130 min
- 70 % de NaOH durant 60 min.

Le distillat est ensuite piégé dans 40 ml d'acide borique à  $40 \text{ g.L}^{-1}$  en présence de quelques gouttes d'indicateur de Tashiro (mélange de solution d'alcool saturée de rouge de méthyl et quelques gouttes de bleu de méthylène 1 %). Puis il est titré par une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 0,1N jusqu'à persistance du point de virage de la couleur violette à la couleur verte. Les résultats sont exprimés en g / 100 g de pulpe fraîche. La teneur en protéines s'obtient par le calcul suivant :

$$\text{Teneur en protéines (g/100g)} = \frac{MM \times V_{\text{HCl}} \times 100}{PE} \times 6,25$$

Où :

MM est la masse molaire de l'azote (14 g/mol),

$V_{\text{HCl}}$  est le volume de HCl versé (ml),

PE est la prise d'essai de l'échantillon (g),

6,25 est le coefficient de conversion de l'azote en protéine.

#### II.1.2.1.d Teneur en lipides totaux (LT)

La teneur en lipides est déterminée par gravimétrie et comprend deux étapes :

- l'hydrolyse de l'échantillon à chaud par un acide
- l'extraction des lipides par un solvant apolaire.

Environ 2 g d'échantillon sont pesés dans un erlenmeyer et ajoutés à 20 ml d'acide chlorhydrique 8N. L'ensemble est chauffé sur une plaque chauffante, puis filtré sur des papiers filtres plissés (190 mm) une heure après le début de l'ébullition. L'insoluble, séparé par filtration, est ensuite rincé à l'eau distillée bouillante jusqu'à ce que l'eau soit claire (600 ml) et le pH neutre. Les filtres sont séchés à température ambiante au moins 12 heures. Ils sont ensuite placés dans un extracteur Soxtherm, (Gerhardt Laboratory Systems, Königswinter, Allemagne) en présence de 140 ml d'éther de pétrole (VWR-Prolabo, France). L'extrait obtenu est ensuite pesé après évaporation du solvant à l'aide d'une étuve à 101°C pendant 2 heures. Les résultats sont exprimés en g/100g de matière fraîche et se calcule par la formule suivante :

$$\text{Teneur en lipides totaux (g/100g)} = \left( \frac{M_3 - M_1}{M_2} \right) \times 100$$

Où :

$M_1$  est la masse du bécher,

$M_2$  est la masse de l'échantillon,

$M_3$  est la masse du bécher et de l'extrait après évaporation du solvant.

#### II.1.2.1.e Teneur en glucides totaux (GT)

La teneur en glucides totaux est déterminée par un calcul différentiel et est exprimée en g/100g de matière fraîche. Elle est donnée par la formule suivante :

$$\text{Glucides totaux (g/100g)} = 100 - (H + LT + PT + C)$$

Où :

H est la teneur en humidité (g/100g),

LT, la teneur en lipides totaux (g/100g),

PT, la teneur en protéines totales (g/100g)

Et C, le teneur en cendres (g/100g).

### II.1.2.1.f Valeur énergétique (VE)

Il s'agit de la quantité d'énergie apportée par l'ensemble des protéines totales (PT), des lipides totaux (LT) et des glucides totaux (GT) définis précédemment et contenus dans les aliments. Elle peut s'exprimer en kilocalories ou en kilojoules pour 100g de matière fraîche. Elle s'obtient par les formules suivantes :

$$VE \text{ (kcal/100g)} = 9LT + 4GT + 4PT$$

$$VE \text{ (kj/100g)} = 37LT + 17GT + 17PT$$

### II.1.2.2 Caractérisation physique des fruits

Les producteurs et les consommateurs ont généralement une préférence pour les fruits de gros calibre, présentant beaucoup de pulpe et peu de graines. Les caractéristiques physiques des fruits constituent donc des critères de sélection post-récolte importants. La détermination de ces caractéristiques fournit des informations utiles pour l'aptitude à la transformation (adhérence de la pulpe aux graines, calibre du fruit, nombre de graines...), pour l'amélioration variétale et pour l'évaluation de la maturité des fruits à la récolte (couleur de la pulpe, fermeté des fruits, calibre...). Elle donne également les moyens de comparer les variétés entre elles.

L'évaluation des caractéristiques physiques, sur les fruits frais après récolte des différentes accessions étudiées, a porté sur les éléments suivants :

- Le poids des fruits
- Les circonférences équatoriale et longitudinale
- La taille du pédoncule
- Le nombre de graines
- Le poids de la pulpe, des graines et des peaux
- La fermeté du fruit entier
- La couleur de la pulpe
- L'adhérence de la pulpe aux graines.

Dans un souci de synthèse des résultats, nous avons effectué des ratios à partir de certaines données morphologiques des fruits. Ainsi, le ratio circonférence équatoriale / circonférence longitudinale renseigne sur la forme plus ou moins sphérique des fruits analysés. Le ratio longueur du pédoncule / diamètre du pédoncule tient compte de la taille du pédoncule des fruits. Les rapports poids pulpe / poids du fruit, poids des graines / poids du fruit et poids des

peaux / poids du fruit permettent d'établir le rendement en pulpe, le rendement d'égrainage et de pelage du fruit. Ces critères sont intéressants en termes de valorisation par la transformation.

➤ *Circonférences équatoriale et longitudinale*

Les circonférences équatoriale et longitudinale sont déterminées à l'aide d'un mètre ruban ( $\pm 0,1$  mm). La circonférence équatoriale est mesurée perpendiculairement à l'axe longitudinal et la circonférence longitudinale est mesurée perpendiculairement à l'axe transversal. Les circonférences sont exprimées en centimètre. Le ratio circonférence équatoriale / circonférence longitudinale (CE/CL) est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Ratio CE/CL} = \frac{\text{Circonférence équatoriale (cm)}}{\text{Circonférence longitudinale (cm)}}$$

➤ *Diamètre et longueur du pédoncule*

Le pédoncule est la pièce florale qui porte la fleur puis après la fécondation, le fruit. Lorsque le fruit mûr tombe au sol, il se détache avec son pédoncule. Le diamètre du pédoncule est mesuré au niveau de la partie supérieure qui est en contact avec la branche. Le diamètre et la longueur du pédoncule sont déterminés à l'aide d'un pied à coulisse. Ils sont exprimés en centimètre. Le ratio longueur du pédoncule / diamètre du pédoncule (LP/DP) est donnée par la formule suivante :

$$\text{Ratio LP/DP} = \frac{\text{Longueur du pédoncule (cm)}}{\text{Diamètre du pédoncule (cm)}}$$

➤ *Poids du fruit entier*

Chaque fruit entier est pesé avec son pédoncule à l'aide d'une balance Precisa XB 12000D SCS (max 12100 g – min 5 g / e = 1g – d = 0,1g). Le poids des fruits est exprimé en gramme.

➤ *Poids de la pulpe, de la peau et des graines*

Les fruits sont pelés, coupés en quartier à l'aide d'un couteau puis la pulpe est séparée des graines manuellement. La pulpe, la peau et les graines de chaque fruit sont récupérées et pesées séparément à l'aide d'une balance Precisa XB 12000D SCS (max 12100 g – min 5 g /

$e = 1g - d = 0,1g$ ). Les poids des fruits, de la pulpe, des peaux et des graines permettent de calculer les rendements en pulpe, d'égrainage et de pelage.

Le rendement en pulpe (%) est donné par la formule suivante :

$$\text{Rendement en pulpe (\%)} = \frac{\text{Poids de la pulpe (g)}}{\text{Poids du fruit (g)}} \times 100$$

Le rendement d'égrainage (%) est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Rendement d'égrainage(\%)} = \frac{\text{Poids des graines (g)}}{\text{Poids du fruit (g)}} \times 100$$

Le rendement de pelage (%) se calcule par la formule suivante :

$$\text{Rendement de pelage(\%)} = \frac{\text{Poids des peaux (g)}}{\text{Poids du fruit (g)}} \times 100$$

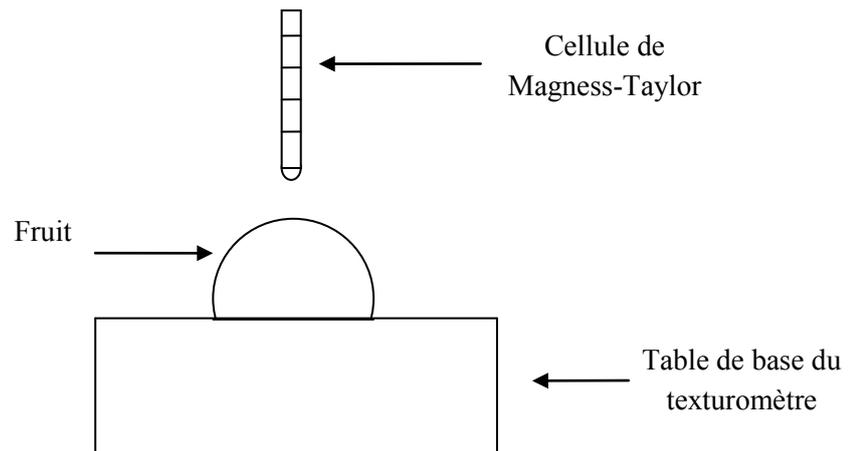
➤ *Nombre de graines*

Le nombre de graines de chaque fruit est compté après la découpe du fruit. Les fruits peuvent contenir une à quatre graines (Morton, 1987).

➤ *Fermeté du fruit entier*

La fermeté est déterminée à l'aide d'un texturomètre LLOYD INSTRUMENTS TA plus <sup>TM</sup>. Les sondes de Magness-Taylor sont couramment utilisées pour les fruits et légumes fermes à durs (Abbott, 1999). Nous avons donc choisi ce type de sonde pour estimer la fermeté des fruits entiers à analyser. La cellule de Magness-Taylor mesure la force maximale nécessaire pour pénétrer jusqu'à une distance précise à l'intérieur du produit.

Une tranche de onze centimètres d'épaisseur est effectuée sur l'une des faces du fruit afin de le stabiliser sur la table de base de l'appareil lors de la mesure (Figure 22). La fermeté des fruits avec leur épiderme est mesurée par un test de pénétration de 3 mm de profondeur dans les fruits avec une sonde de Magness-Taylor à bout rond de 8 mm de diamètre fixée au capteur de force de 10 Newtons. La sonde se déplace à une vitesse de 30 mm.min<sup>-1</sup> et effectue une seule pression sur la face du fruit. La fermeté des fruits entiers est exprimée en newton (N). Trois répétitions sont réalisées pour chaque fruit.



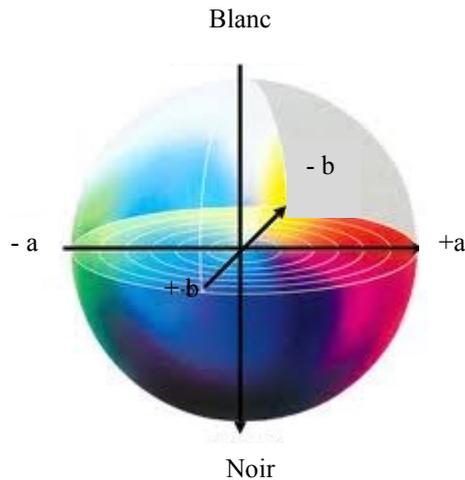
**Figure 22 : Mesure de la fermeté du fruit entier**

➤ *Couleur de la pulpe*

La couleur est une propriété de la lumière (ou ondes électromagnétiques). La fréquence de ces ondes donne leur couleur. L'ensemble des couleurs peut être représenté dans un espace CIE  $L^*a^*b^*$ , un modèle de représentation des couleurs développé par la Commission Internationale de l'Eclairage (C.I.E), en 1976 (Figure 23). Il est actuellement le plus utilisé en colorimétrie et permet de chiffrer la couleur perçue dans les échantillons à l'aide de trois coordonnées :

- La clarté ou luminance ( $L^*$ ) allant de 0 pour le noir à 100% pour le blanc absolu.
- La composante  $a^*$  correspond au couple antagoniste vert-rouge et varie de -60 à +60
- La composante  $b^*$  varie également de -60 à +60 mais correspond au couple antagoniste bleu-jaune.

La couleur de la pulpe des fruits est déterminée au moyen d'un colorimètre Konica MINOLTA <sup>TM</sup> CR410. Le tube de protection lumineuse (sans plaque de verre) du colorimètre est posé sur la surface du fruit tranché et les mesures sont réalisées en deux points différents, avec une répétition de trois mesures en chaque point. La moyenne des valeurs obtenues pour chaque composante est effectuée et les résultats sont exprimés en  $L^*a^*b^*$ .



**Figure 23 : Espace couleur C.I.E L\*a\*b\***  
(<http://lemo.irht.cnrs.fr/45/organisation-spatiale-couleurs.htm>)

➤ *Adhérence de la pulpe aux graines*

L'adhérence de la pulpe aux graines est évaluée lorsque la pulpe est séparée manuellement des graines. Elle peut être nulle, partielle ou totale. L'adhérence de la pulpe aux graines est défini par le système de notation suivant: 5 pour une forte adhérence, 2,5 pour une adhérence partielle et 0 pour une pulpe qui n'adhère pas aux graines.

II.1.2.3 Caractérisation physico-chimique de la pulpe

Le pH, l'extrait sec soluble (ESS) et l'acidité titrable (AT) sont des caractéristiques qualitatives qu'il importe d'évaluer pour le producteur et le transformateur afin d'identifier le stade de maturité des fruits à la récolte. Les valeurs d'ESS et d'acidité titrable sont également analysées sous forme de ratio. Le ratio ESS / Acidité titrable permet d'évaluer la palatabilité des fruits étudiés. Ainsi, la détermination de ces caractéristiques physico-chimiques à la récolte donne les moyens de programmer efficacement la récolte, le conditionnement et la commercialisation des fruits. Les analyses physico-chimiques sont effectuées sur la pulpe décongelée.

II.1.2.3.a Détermination du pH

La mesure du pH est déterminée à l'aide d'un pH-mètre INOLAB™ (précision à 0,05 unité de pH) préalablement étalonné avec des solutions standards à pH 4 et 7. La sonde de mesure utilisée étant adaptée pour les mesures directes, le pH est déterminé directement sur la pulpe

broyée et non diluée. Trois mesures sont effectuées par fruit. Le résultat, exprimé en unité de pH, est la moyenne des trois déterminations de pH.

#### II.1.2.3.b Détermination de l'extrait sec soluble (ESS)

Les fruits renferment généralement un grand nombre de composés solubles dans l'eau tels que les sucres, les acides, la vitamine C, les acides aminés et les pectines. Ces composés constituent l'extrait sec soluble du fruit, les sucres étant les principaux composants. La teneur en extrait sec soluble reflète donc la teneur en sucre de l'échantillon. La mesure de l'ESS est réalisée à l'aide d'un réfractomètre électronique (Bellingham + Stanley Ltd RFM 340™) (précision à 0,03°brix près), à 20 °C (thermostat Huber™), sur la pulpe broyée et non diluée. Trois mesures sont effectuées sur chaque fruit et les résultats sont exprimés en degré brix (°Brix).

#### II.1.2.3.c Détermination de l'acidité titrable (AT)

L'acidité titrable est l'acidité dosable par la soude en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré ou à l'aide d'un pH-mètre. Dans le protocole suivant, elle est déterminée au moyen d'une méthode potentiométrique. L'acidité libre totale est neutralisée par une solution décimolaire d'hydroxyde de sodium. Le dosage s'arrête lorsque le pH de la solution est égal à  $8,1 \pm 0,2$  (point de virage de la phénolphthaléine). Les analyses d'acidité titrable sont réalisées sur la pulpe diluée dans de l'eau distillée. 10 grammes de pulpe sont homogénéisés avec 40 ml d'eau distillée (Bartolomé, Rupérez et Fuster, 1995). Le mélange est filtré sous vide. L'acidité titrable est déterminée sur le filtrat obtenu. Pour ce faire, 25 ml de filtrat sont transvasés dans une fiole jaugée de 250 ml, puis elle est complétée jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. Le mélange est homogénéisé puis filtré. Les dosages sont réalisés trois fois. L'acidité titrable du filtrat est donnée par la relation:

$$\text{Acidité titrable du filtrat (meq/100ml)} = \left(\frac{100}{V_0}\right) \times \left(\frac{V_1}{D}\right) \times \left(\frac{250}{m}\right)$$

Où

V1 est le volume de la solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N (ml)

V0, le volume de la prise d'essai (ml)

D, le facteur de dilution

m, la masse de la prise d'essai (g).

L'acidité titrable de la pulpe du fruit est obtenue par la formule suivante :

$$\text{Acidité titrable de la pulpe (meq/100ml)} = \text{acidité titrable du filtrat} \times 5$$

### II.1.2.3.d Rapport Extrait sec soluble / acidité titrable (ESS/AT)

Ce rapport permet d'apprécier la palatabilité ou l'appétence des fruits. Il est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Rapport ESS/AT} = \frac{\text{Taux d'ESS(°Brix)}}{\text{Acidité titrable (méq/100ml)}}$$

Ce rapport est utilisé pour juger de la saveur des fruits. La saveur est entre autres, un équilibre entre la teneur en sucres et en acides. Lorsque le rapport est supérieur à 1, la qualité gustative des fruits est acceptable ou satisfaisante. Si ce rapport est inférieur à 1, elle est inacceptable ou insatisfaisante.

### II.1.2.3.e Teneur en matière sèche

Les échantillons sont traités comme dans le protocole détaillé au chapitre 2, paragraphe II.1.2.1.a. La valeur de la matière sèche s'exprime en g/100g de matière fraîche et s'obtient à partir de celle de l'humidité par la formule suivante :

$$\text{Teneur en matière sèche (g/100g)} = 100 - \text{teneur en humidité}$$

### II.1.2.4 Caractérisation fonctionnelle

Nous nous intéresserons essentiellement aux microconstituants antioxydants d'intérêt fonctionnel. Les polyphénols, la vitamine C, les flavonoïdes et les caroténoïdes ont été dosés. Ces composés sont réputés pour apporter des bienfaits physiologiques et ainsi prévenir les maladies dites de civilisation (cancers, maladies dégénératives, maladies cardiovasculaires...). Les analyses fonctionnelles sont effectuées sur la pulpe décongelée à 4°C pendant 24 heures.

#### II.1.2.4.a Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux sont dosés par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965 ; Georgé S. *et al.*, 2005). Cette méthode est basée sur la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu, constitué d'acides phosphotungstique et phosphomolybdique, en milieu légèrement alcalin, par les ions phénolates. Les produits de réduction (tungstène et molybdène) présentent

une coloration bleue et absorbe à 760 nm. Cette coloration reflète généralement la quantité de phénols exprimés en équivalent acide gallique. Cette méthode est une des méthodes de dosage global des phénols la plus utilisée.

5 grammes de pulpe fraîche sont ajoutés à 50 ml de solvant d'extraction acétone/eau (70/30, v/v). L'ensemble est placé dans un bain à ultrasons (Bioblock Scientific T460 H) pendant 30 minutes, à 4°C pour empêcher l'action des polyphénoloxydases qui dégraderaient les composés phénoliques. La solution est ensuite filtrée sur papier (filtre Whatman 0,45 µm) et le filtrat obtenu constitue l'extrait brut.

Lors du dosage des composés phénoliques dans les extraits végétaux, le réactif de Folin-Ciocalteu peut réagir avec d'autres composés interférents réducteurs tels que l'acide ascorbique et les sucres réducteurs. Les phénols sont donc séparés des substances interférentes par une extraction phase-solide. L'extrait brut, contenant les composés phénoliques et les substances interférentes, est passé sur une cartouche (HLB OASIS de Waters) contenant un copolymère sur lequel les polyphénols s'adsorbent spécifiquement. La cartouche est rincée avec de l'eau distillée et l'extrait obtenu est appelé « extrait lavé » afin de le différencier de l'extrait brut. L'extrait lavé contient uniquement les substances interférentes (vitamine C, sucres réducteurs...).

L'extrait brut et l'extrait lavé sont soumis au dosage de Folin-Ciocalteu. 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué au 1/10<sup>ème</sup>) sont ajoutés à l'extrait brut dilué (dilution au 1/2) et à l'extrait lavé. Le mélange est incubé pendant 2 minutes à température ambiante. Puis 2 ml de carbonate de sodium (75 g/l) sont ajoutés à la solution. L'absorbance des extraits est mesurée à 760 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible EZ301 Perkin Elmer, après 15 minutes d'incubation à 50°C. Les dosages sont répétés trois fois pour chaque fruit analysé.

La gamme étalon est réalisée avec l'acide gallique. La solution mère est à 5000 mg/l. Les concentrations varient entre 0 et 600 mg/l. Chaque solution de la gamme étalon (diluée au 1/10) est traitée comme décrit ci-dessus.

La teneur en composés phénoliques totaux est exprimée en mg d'équivalent acide gallique (EAG) pour 100g de matière fraîche.

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits bruts (EB) et lavés (EL) se calculent par la formule suivante :

$$C_{EB/EL}(\text{mg}/100\text{g}) = \left( \frac{DO \times V_{EB/EL}}{\text{pente} \times m} \right) \times 100$$

Où :

C est la concentration en polyphénols totaux (mg/100g)

DO, la densité optique

$V_{EB/EL}$ , le volume de l'extrait brut ou lavé (l)

Pente, la valeur de la pente de la droite d'étalonnage

m, la masse de la prise d'essai (g).

#### II.1.2.4.b Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux dans les échantillons est évaluée par la méthode du trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) (Lamaison et Carnet, 1990). 2 grammes de pulpe fraîche sont ajoutés à 50 ml de solvant d'extraction acétone/eau (70/30, v/v). L'ensemble est homogénéisé puis placé à 4°C et soumis aux ultrasons pendant 30 minutes. Le mélange est filtré sur papier (filtre Whatman 0,45  $\mu$ m) et le filtrat obtenu constitue l'extrait brut. A 1 ml d'extrait brut est ajouté 1 ml d' $AlCl_3$  hexahydraté à 2% dans du méthanol (w/w). L'ensemble est homogénéisé puis incubé 10 minutes à température ambiante. L'absorbance de la solution est lue à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible EZ301 Perkin Elmer.

Une gamme étalon est réalisée avec de la quercétine. La solution mère est à 1250 mg/l. Les concentrations varient entre 0 et 70 mg/l. Chaque solution de la gamme étalon (diluée au 1/10) est traitée comme décrit ci-dessus.

La teneur en flavonoïdes totaux (FT) est exprimée en mg d'équivalent quercétine (EQ) pour 100g de matière fraîche. Elle s'obtient par la relation suivante :

$$\text{Teneur en FT (mg/100g)} = \left( \frac{DO \times V_{EB}}{\text{pente} \times m} \right) \times 100$$

Où :

DO est la densité optique

$V_{EB}$ , le volume de l'extrait brut (l)

Pente, la valeur de la pente de la droite d'étalonnage

m, la masse de la prise d'essai (g).

#### II.1.2.4.c Dosage des caroténoïdes totaux

La détermination de la teneur en caroténoïdes totaux comprend tous les caroténoïdes à l'exception du lycopène qui absorbe à 470 nm. 2 grammes d'échantillon sont pesés puis additionnés à 100 ml d'un solvant ternaire hexane/éthanol/acétone (50/25/25 ; v/v/v). Le

mélange est mis sous agitation pendant 30 minutes puis filtré sous vide. L'extrait obtenu est placé dans une ampoule à décanter où il est lavé trois fois à l'eau distillée afin d'éliminer l'acétone et l'éthanol. Le volume d'extrait restant est placé dans une fiole jaugée de 50 ml complétée avec de l'hexane. L'absorbance de la solution est lue à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible EZ301 Perkin Elmer. La teneur en caroténoïdes totaux (CT) est exprimée en µg/100g et s'obtient par la formule suivante :

$$\text{Teneur en CT (}\mu\text{g/100g)} = \left( \frac{\text{DO} \times \text{MM} \times \text{V} \times 100}{\epsilon \times l \times m} \right) \times 1000$$

Où :

DO : Absorbance de l'échantillon

MM : Masse molaire du β-carotène (g/mol)

V : Volume d'extrait total (ml)

ε: Coefficient d'extinction du β-carotène (l/mol/cm)

l : longueur de la cuve (cm)

m : masse de la prise d'essai (g).

#### II.1.2.4.d Dosage de la vitamine C

2 grammes d'échantillon sont pesés dans une fiole jaugée de 50 ml complétée avec de l'acide trichloroacétique à 0,3 M. Le mélange est agité puis filtré sur papier. L'acide ascorbique est oxydé en acide déhydroascorbique par l'ascorbate oxydase à une température d'incubation de 37°C pendant 10 minutes. Une réaction de dérivation par l'orthophénylène diamine (OPDA) à 0,1% permet d'obtenir un composé fluorescent. Celui-ci est filtré à travers un filtre PVDF (0,45 µm, 13 mm) puis introduit dans un vial pour être injecté puis analysé par chromatographie liquide de haute performance (HPLC).

Le dosage de la vitamine C a été réalisé à l'aide d'une chaîne analytique HPLC HP Agilent 1100 series (Allemagne) comprenant les éléments suivants : une pompe isocratique (G1310A), une colonne RESTEK C-18 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) équipée d'une pré-colonne C-18 (30 mm × 4,6 mm, 5 µm), un dégazeur (G1322 A) et un détecteur à fluorescence (G1321A). Les échantillons sont élués en mode isocratique par une phase mobile constituée d'hydrogénophosphate de di-potassium à 0,1 M, de dihydrogénophosphate de potassium à 0,08 M et de méthanol pur (qualité HPLC). Le débit est de 0,5 ml/min et le volume d'injection est de 10 µl. Les analyses sont réalisées à une longueur d'onde d'excitation de 305 nm et une longueur d'onde d'émission de 430 nm.

Une gamme étalon est réalisée avec une solution mère d'acide ascorbique à 0,4 mg/ml. Les concentrations varient entre 2,39 µg/ml et 7,16 µg/ml. Chaque solution de la gamme étalon est traitée comme décrit ci-dessus. La teneur en vitamine C est exprimée en mg pour 100g de matière fraîche et s'établit à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Teneur en vitamine C (mg/100g)} = \frac{\left( \frac{(A - b) \times 1,3 \times V \times 100}{\text{Pente} \times m} \right)}{1000}$$

Où

A représente l'aire du pic chromatographique

b, la valeur b de l'équation de la droite d'étalonnage

V, le volume d'extrait total (ml)

Pente, la pente de la droite d'étalonnage

m, la masse de la prise d'essai (g).

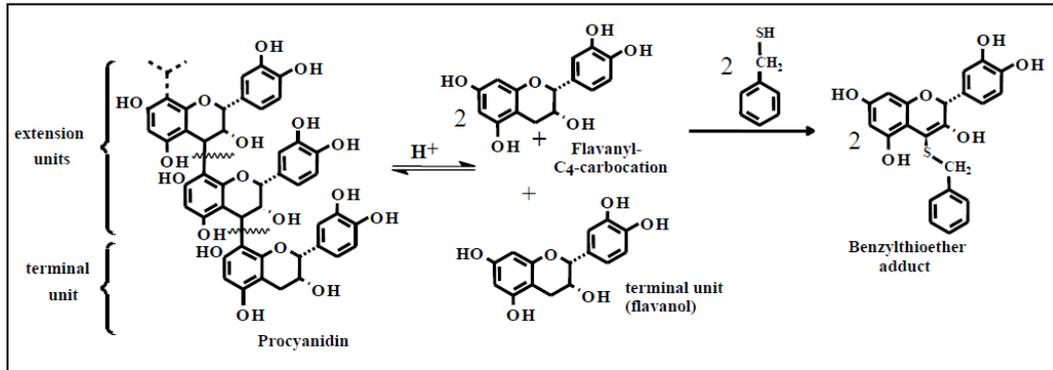
#### II.1.2.5 Caractérisation des composés phénoliques de la pulpe

La séparation et la quantification des composés phénoliques des extraits de pulpe des 5 accessions étudiées (Pavé11-Lézarde, sonson, Escouët, Ti Jacques et Antonio) ont été réalisées par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). La phase utilisée pour ce dosage est une phase inverse constituée de silice greffée par des chaînons alkyles (surtout C18). Elle a donc un caractère apolaire. Dans ce cas, les composés polaires sont élués en premier car la phase mobile est de plus en plus apolaire (gradient de solvant).

L'analyse par HPLC en phase inverse ne permet pas de séparer les composés phénoliques polymères. Une réaction de thioacidolyse est nécessaire pour les dépolymériser, ce qui facilite leur analyse en HPLC en phase inverse et permet de les quantifier. Cette réaction s'applique de manière spécifique aux procyanidols. Après un traitement par la thiololyse, il n'y a aucune distinction entre les monomères natifs présents naturellement dans les échantillons et les monomères provenant de la libération des unités terminales des procyanidols. Une analyse sans réaction de thiololyse est donc nécessaire.

Lors de la réaction de thioacidolyse (Figure 24), les liaisons interflavanes liant les unités constitutives des procyanidols sont rompues en milieu acide induisant la formation de 4-flavanyl-carbocations à partir des unités d'extension (ou unités intermédiaires) tandis que les unités terminales des polymères sont relarguées dans le milieu sous leurs formes flavan-3-ols. Les 4-flavanyl-carbocations, composés intermédiaires instables, sont piégés par un réactif

nucléophile, le toluène- $\alpha$ -thiol pour former un adduit stable, le 4-benzyl-thioéther de flavan-3-ol. La réaction de thioolyse s'applique à des substrats lyophilisés et s'effectue en milieu anhydre car la présence d'eau dans le milieu réactionnel induit des réactions parasites et la formation de phlobaphènes.



**Figure 24: Réaction de thioacidolyse**  
(Thompson *et al.*, 1972)

L'analyse par HPLC en phase inverse du milieu réactionnel renseigne sur l'identification et la quantification des unités d'extension et des unités terminales, la teneur en flavanols de l'échantillon et le degré de polymérisation (DP) moyen des procyanidols qui se calcule suivant la formule :

$$DP = \frac{([Cat_t] - [Cat_m]) + ([Epi_t] - [Epi_m]) + [EpiGall] + [EpiSR] + [EpiGallSR]}{([Cat_t] - [Cat_m]) + ([Epi_t] - [Epi_m]) + [EpiGall]}$$

Où :

[EpiSR] est la concentration en (-)-épicatéchine intermédiaire

[EpiGallSR] est la concentration en (-)-épicatéchine-3-O-gallate intermédiaire

[Cat<sub>t</sub>] est la concentration en (+)-catéchine totale

[Cat<sub>m</sub>] est la concentration (+)-catéchine monomère

[Epi<sub>t</sub>] est la concentration en (-)-épicatéchine totale

[Epi<sub>m</sub>] est la concentration en (-)-épicatéchine monomère

[EpiGall] est la concentration en (-)-épicatéchine-3-O-gallate terminale.

#### II.1.2.5.a Analyses qualitatives et quantitatives des composés phénoliques bruts

On entend par composés phénoliques bruts, les composés présents naturellement dans l'échantillon.

➤ *Méthode d'extraction*

A 400 mg de pulpe lyophilisée, pesées dans un tube eppendorf, sont additionnés 1200 µl de méthanol : acide acétique glacial (99 : 1 ; v/v). L'ensemble est agité au vortex puis soumis aux ultrasons pendant 15 minutes, à température ambiante (30°C). Le mélange est centrifugé à 10 000 tour/min pendant 15 minutes. Après filtration (PTFE 0,45 µm), l'échantillon est injecté (20 µl) dans la chaîne HPLC. Les analyses sont réalisées deux fois.

➤ *Conditions chromatographiques*

Les analyses qualitatives et quantitatives des extraits de pulpe d'abricot-pays lyophilisés ont été réalisées à l'aide d'une chaîne analytique UFLC (Ultra Fast Liquid Chromatography) Shimadzu Prominence (Kyoto, Japan) comprenant les éléments suivants : deux pompes LC-20AD Prominence, une colonne analytique : Lichrocart Lichrospher PR-18 (250 mm x 4 mm, 5µm) (Merck, Darmstadt, Germany) équipée d'une pré-colonne (Lichrospher PR-18, 5 µm), (Merck, Darmstadt, Germany), un dégazeur DGU-20A5 Prominence, un passeur automatique d'échantillon SIL-20AHT Prominence, un détecteur à barrette de diodes SPD-M20A Prominence, un système d'acquisition LC Solution software (Shimadzu, Kyoto, Japan).

Les composés à séparer sont élués par un gradient de concentration constitué de :

- Solvant A : eau : acide acétique (97,5 : 2,5 ; v/v)
- Solvant B : acétonitrile.

Le profil du gradient utilisé est présenté dans le tableau 8.

**Tableau 8: Profil du gradient de concentration utilisé pour l'analyse HPLC**

Temps (minutes)	Nature des solvants et composition en %	
	A	B
<b>0</b>	97	3
<b>5</b>	91	9
<b>15</b>	84	16
<b>45</b>	50	50
<b>48</b>	10	90
<b>52</b>	10	90
<b>55</b>	97	3
<b>60</b>	97	3

Le débit est de 1 ml/min, le volume d'injection de 20 µl, la température de colonne est de 30°C et la plage de détection est comprise entre 200 et 800 nm. Les échantillons et les solutions standards sont maintenus à 4°C avant injection. Les analyses sont réalisées à trois

longueurs d'onde différentes : 280 nm pour détecter les monomères de flavan-3-ols et les dérivés thioéthers, à 320 nm pour les acides hydroxycinnamiques et à 350 nm pour les flavonols. Des solutions standards à 4 g/l sont préparées puis injectées dans la chaîne HPLC dans les conditions décrites ci-dessus. L'identification des pics des chromatogrammes obtenus pour les différents extraits se fait par comparaison de leur temps de rétention et de leur spectre UV-visible avec ceux des standards analytiques. La quantification des composés est réalisée, selon un étalonnage externe, par intégration des pics du chromatogramme obtenu.

Afin d'obtenir des informations supplémentaires et de s'assurer qu'il n'y a pas de phénomène de co-élution concernant les composés phénoliques identifiés, nous avons utilisé un couplage UPLC-MS. Un appareil Acquity Ultra Performance LC™ (UPLC™) de Waters, équipé d'un détecteur à barrette de diodes a été couplé avec un spectromètre de masse Bruker Daltonics (Bremen, Germany) avec une source d'ionisation electrospray (ESI) employée en mode négatif. Les caractéristiques de la colonne analytique sont les mêmes que celle citées précédemment. La phase mobile est constituée d'eau : acide formique (99,95 : 0,05 ; v/v) (solvant A) et d'acétonitrile (solvant B). Le programme d'élution est similaire à celui utilisé pour l'analyse HPLC-DAD. Le débit est de 1 ml/min et le volume d'injection des échantillons, de 2 µl. Les analyses ont été effectuées à 280 nm, 320 nm et 350 nm. Les spectres de masse sont générés en mode ultra scan avec des rapports  $m/z$  compris entre 100 et 900. L'azote est utilisé comme gaz de nébulisation. Les données sont collectées et traitées par un système d'acquisition Bruker Compass Data Analysis software. L'identification des composés repose sur l'analyse des temps de rétention et des fragmentations acquises par spectrométrie de masse.

### II.1.2.5.b Analyses qualitatives et quantitatives des composés phénoliques polymères par thiolyse

#### ➤ *Réaction de thiolyse (ou thioacidolyse)*

400 mg de pulpe lyophilisée sont pesées dans un tube eppendorf et additionnées de 400 µl de méthanol anhydre acidifié par l'acide chlorhydrique (3N) et 800 µl d'une solution de toluène- $\alpha$ -thiol à 5% (v/v) préparée dans du méthanol anhydre. Le mélange est vortexé puis porté à 40°C pendant 30 minutes avec une agitation toutes les 5 minutes. La réaction de thiolyse est arrêtée par abaissement de la température dans de la glace pilée pendant au moins 5 minutes.

Après filtration (PTFE 0,45  $\mu\text{m}$ ), le mélange réactionnel (20  $\mu\text{l}$ ) est injecté extemporanément dans la chaîne HPLC. Les analyses sont répétées deux fois.

### ➤ *Conditions chromatographiques*

Les composés phénoliques polymères sont identifiés et quantifiés après thioacidolyse par HPLC-DAD dans les mêmes conditions décrites précédemment.

#### II.1.2.6 Evaluation de l'activité antioxydante

Le stress oxydatif est à l'origine du vieillissement des tissus biologiques et de nombreuses pathologies chroniques comme les maladies neuro-dégénératives, les maladies cardiovasculaires, les cancers ou le diabète mellitus de type 2 (Wootton-Beard et Ryan, 2011). Très contestés, de nombreux travaux ont largement démontré l'intérêt des antioxydants dans la prévention contre ces pathologies. Il existe plusieurs antioxydants synthétiques comme le butyl-hydroxytoluène (BHT) et butyl-hydroxyanisole (BHA) mais ils sont remis en question en raison de leur toxicité (Kaur *et al.*, 2006). Ces vingt dernières années, de nombreuses études ont montré que les antioxydants phénoliques naturels extraits de plantes pouvaient avoir une forte activité antioxydante (Céspedes *et al.*, 2008).

Il est important de distinguer les notions d'activité antioxydante et antiradicalaire, même si elles sont étroitement liées. L'activité antiradicalaire reflète la capacité d'un composé à neutraliser un radical libre en lui cédant un hydrogène (cas le plus fréquent) afin de le stabiliser. Le radical libre est ainsi transformé en composé non réactif et le composé antioxydant ou antiradicalaire est stabilisé par résonance. L'activité antioxydante est définie par la capacité d'un composé à retarder, voire à arrêter une chaîne de réactions oxydatives et à prévenir la formation de dommages oxydatifs.

Plusieurs méthodes permettent d'évaluer l'activité antiradicalaire et antioxydante d'échantillons variés. L'activité antiradicalaire est mesurée par des méthodes indirectes utilisant des radicaux libres colorés qui absorbent dans le domaine visible. On parle d'activité antiradicalaire par don de proton. Elle ne renseigne donc pas directement sur l'activité antioxydante d'un échantillon. A l'inverse, l'activité antioxydante est évaluée par des méthodes directes utilisant des modèles biologiques ou biochimiques comme des protéines, des acides nucléiques, des lipides, les LDL ou des membranes biologiques.

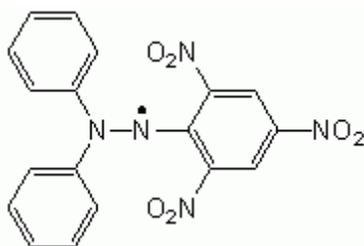
Un seul test ne peut refléter la capacité antiradicalaire et antioxydante totale d'un échantillon. Il est préférable d'utiliser au moins deux tests (Du, Li et Liang, 2009). Essentiellement deux techniques, directe (ORAC) et indirecte (DPPH), ont été mises en place dans le cadre de nos

travaux. Le test DPPH s'avère facile et rapide à mettre en œuvre. La méthode ORAC, nécessitant un équipement plus onéreux et un temps plus long, reste commode d'un point de vue technique. Son avantage majeur est de proposer une mesure standardisée (Zulueta, Esteve et Frígola, 2009). Dans cette partie, Il s'agira d'évaluer l'activité antiradicalaire et antioxydante *in vitro* de la pulpe du fruit et d'observer les éventuelles corrélations entre les composés antioxydants et ses activités.

#### II.1.2.6.a Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de pulpe par la méthode DPPH

##### ➤ *Principe de la méthode DPPH*

Le test DPPH est la méthode indirecte la plus ancienne. Le principe de cette méthode repose sur la réduction du radical DPPH<sup>•</sup> par un antioxydant phénolique donneur d'hydrogène. Le DPPH (Figure 25) est un radical libre de couleur violet présentant un maximum d'absorption vers 517 nm. Quand il est recombéné, le DPPH se décolore. La diminution de l'absorbance du mélange réactionnel est donc proportionnelle à la recombinaison du radical. Il est donc très aisé de suivre cette diminution par spectrophotométrie visible. Le transfert d'un hydrogène de l'échantillon testé vers le radical libre est très fréquemment exprimé en CI<sub>50</sub> (Roginsky et Lissi, 2005). Il s'agit de la concentration en échantillon entraînant la recombinaison de cinquante pour cent des radicaux.



**Figure 25: Structure du radical DPPH**

##### ➤ *Méthode d'extraction des composés antiradicalaires*

3 grammes de pulpe lyophilisée sont pesées et ajoutées à une quantité suffisante pour 10 ml de solvant d'extraction constitué de méthanol à 1% d'acide acétique glacial. L'ensemble est mélangé au vortex puis soumis aux ultrasons à l'aide d'un bain à ultrasons (Bioblock Scientific T460 H) pendant 15 minutes. Le mélange est ensuite centrifugé à 10 000 g durant 15 minutes, à 4°C. Le surnageant obtenu constitue l'extrait brut.

➤ *Mode opératoire*

Dans un premier temps, plusieurs solutions d'extrait brut de concentrations différentes et connues sont préparées. 2 ml de DPPH à 100  $\mu\text{M}$  dans du méthanol sont introduits dans une cuve en quartz et l'absorbance de cette solution, notée  $A_0$  est mesurée à 517 nm contre un blanc (méthanol). 100  $\mu\text{l}$  de chaque solution d'extrait brut sont ajoutés à la solution de DPPH. L'absorbance du mélange réactionnel est mesurée toutes les 0,01 minutes à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible Varian Cary 50 piloté par le logiciel Cary WinUV. Le module kinetics de ce logiciel permet d'obtenir un premier graphique : Absorbance =  $f(t)$ . L'absorbance finale obtenue après 30 minutes d'incubation est notée  $A_f$ . Le temps d'incubation de nos échantillons a été établi lors des analyses préliminaires.

Les absorbances  $A_0$  et  $A_f$  obtenues permettent de calculer pour chaque solution préparée le pourcentage d'activité antiradicalaire (AAR) correspondant selon la formule suivante :

$$AAR (\%) = \frac{A_0 - A_f}{A_0} \times 100$$

Nous avons pu tracer ensuite un second graphique : AAR =  $f(\text{concentration des solutions})$  (Figure 26) à partir duquel une courbe de tendance de type linéaire est établie, avec pour équation  $ax+b$ , où « a » représente la pente et « b » l'ordonnée à l'origine. La valeur de la  $CI_{50}$  est alors calculée à partir de l'équation de la courbe de tendance. La  $CI_{50}$  est la concentration d'extrait réduisant 50% des radicaux DPPH. Elle est exprimée en mg d'extrait sec / ml. Les données obtenues sont des moyennes de trois répétitions par échantillon.

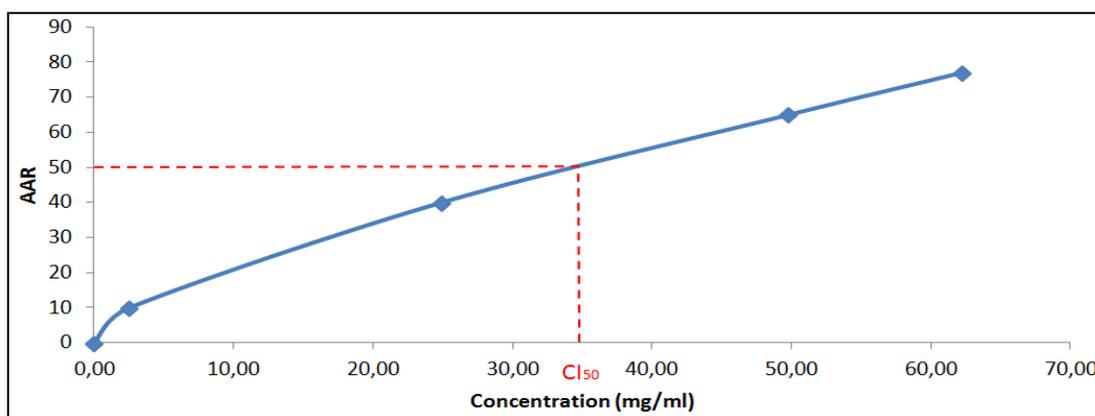


Figure 26: Détermination de la valeur de la  $CI_{50}$

### ➤ *Analyses préliminaires*

La mise au point du protocole du test de recombinaison de DPPH s'est déroulée en deux étapes. Nous avons d'abord défini le solvant à employer pour l'extraction des composés antiradicalaires. Nous avons ensuite déterminé le temps d'incubation optimal à l'aide d'expériences de cinétiques de recombinaison du DPPH.

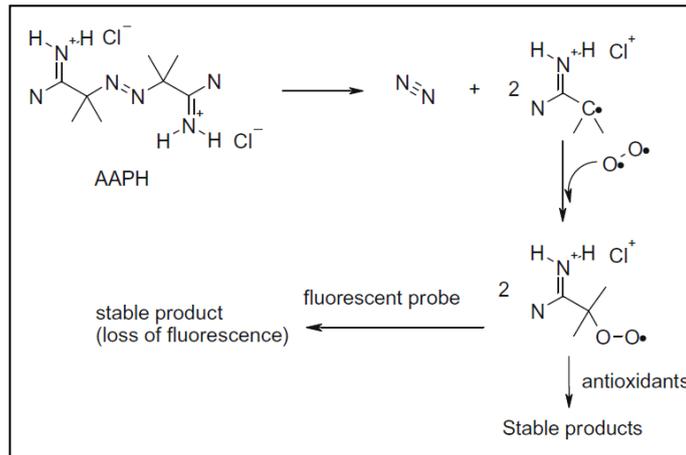
Les solvants utilisés pour l'extraction des composés antiradicalaires sont variés. Ce sont souvent des solvants méthanoliques ou éthanoliques qui sont employés. Pour notre part, nous avons choisi d'extraire les composés antioxydants à l'aide d'un solvant constitué de méthanol pur acidifié avec 1% d'acide acétique glacial. Ce type de solvant permet d'extraire les différentes classes de composés phénoliques, notamment les procyanidines réputées pour leur forte activité antioxydante (Céspedes *et al.*, 2008).

Le suivi cinétique est réalisé pendant un temps d'incubation suffisamment long pour s'assurer de la recombinaison d'un maximum de radicaux libres DPPH. Le test de recombinaison prend fin lorsqu'un plateau est atteint sur le graphique : Absorbance = f(t). Tous les radicaux libres DPPH sont alors recombinaisonnés.

### II.1.2.6.b Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de pulpe par la méthode ORAC

#### ➤ *Principe de la méthode ORAC*

Le test ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) consiste à évaluer la capacité d'un échantillon à retarder l'oxydation de la fluorescéine par des radicaux libres peroxydes. Ces derniers sont générés à partir de l'AAPH (Figure 27) (2,2-azobis-(2-amidinopropane) dihydrochlorure), un composé azoté thermolabile hydrophile. Le taux de radicaux libres produits est proportionnel à la concentration d'AAPH utilisé (Roginsky et Lissi, 2005). La décroissance de la fluorescence de la fluorescéine est visualisée et mesurée à l'aide d'un spectrofluorimètre au cours du temps en présence de l'échantillon à tester ou d'un antioxydant de référence. Les résultats sont calculés en utilisant la technique de l'aire sous la courbe (AUC) et exprimés en équivalent de l'antioxydant de référence choisi. Généralement il s'agit du trolox.



**Figure 27: Principe du test ORAC (Zulueta, Esteve et Frígola, 2009)**

➤ *Méthode d'extraction des composés antioxydants*

3 grammes d'échantillon sont pesés et ajoutés à une quantité suffisante pour 10 ml de solvant d'extraction constitué d'acétone/eau (70:30, v/v). L'ensemble est mélangé au vortex puis soumis aux ultrasons à l'aide d'un bain à ultrasons (Bioblock Scientific T460 H) pendant 15 minutes. Le mélange est ensuite centrifugé à 10 000 g durant 15 minutes, à 4°C. Le surnageant obtenu constitue l'extrait brut. L'acétone est évaporée au Rotavap puis l'extrait est repris dans l'eau.

➤ *Mode opératoire*

1825 µl de fluorescéine à 68,6 nM et 100 µl de tampon phosphate (pH 7,4) (blanc tampon) ou 100 µl de solvant d'extraction (contrôle) ou 100 µl d'extrait brut sont introduits dans une cuve en quartz thermostatée (37°C). Le mélange est agité, puis 150 µl d'AAPH à 0,512 M sont ajoutés. L'émission de fluorescence de la fluorescéine est mesurée toutes les secondes pendant 60 minutes à l'aide d'un spectrofluorimètre SAFAS flx-Xenius (λ émission : 514 nm ; λ excitation : 493 nm).

Une gamme étalon est réalisée avec une solution mère de trolox à 100 µM. Les concentrations étalons varient entre 0 et 50 µM. Chaque solution étalon est traitée comme décrit ci-dessus.

Les valeurs ORAC sont exprimées en µM d'équivalent trolox pour 100 g de pulpe lyophilisée (µM ET/100g pulpe lyophilisée). Les résultats sont déterminés en utilisant l'aire sous la courbe (ou AUC) qui se calcule selon la formule suivante :

$$AUC = 1 + \sum \frac{f_i}{f_0}$$

$f_0$  est la fluorescence initiale et  $f_i$ , la fluorescence au temps  $i$ .

A partir de chaque AUC obtenu pour les solutions étalons ou les échantillons, nous avons calculé l'AUC<sub>net</sub> (Figure 28).

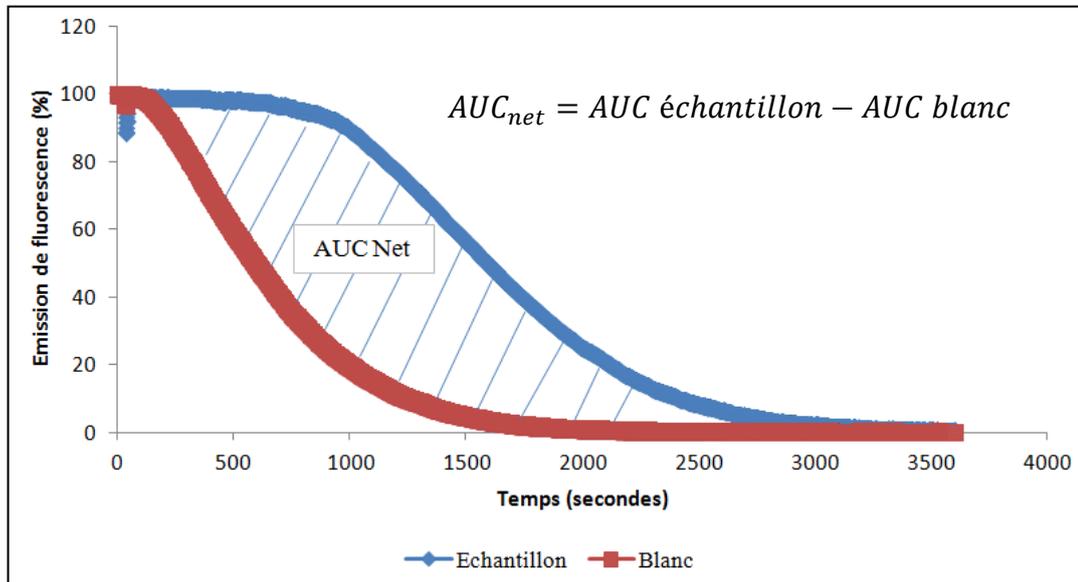


Figure 28 : Courbes de décroissance de la fluorescence de la fluorescéine en fonction du temps

Les AUC<sub>net</sub> déterminés pour chaque solution étalon permettent d'obtenir une droite d'étalonnage grâce à laquelle nous avons exprimé les valeurs ORAC des échantillons en équivalent trolox (Figure 29).

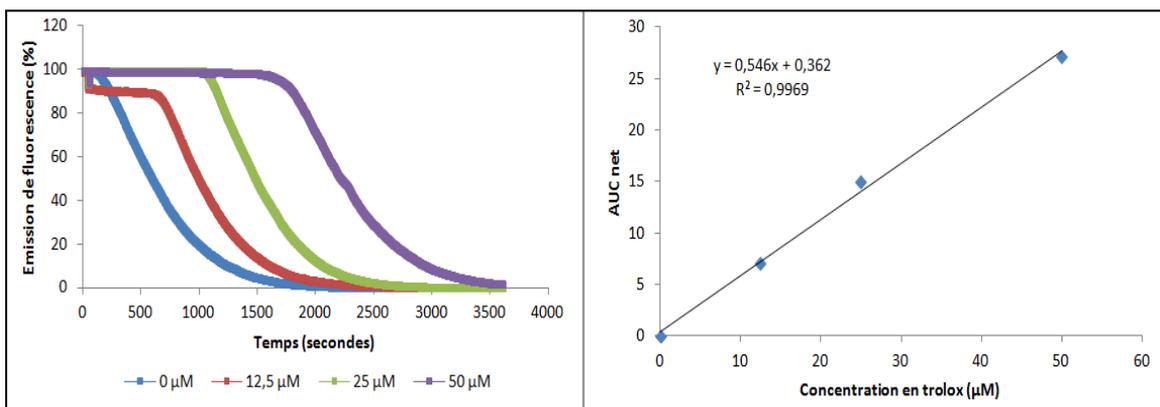


Figure 29: Courbes de déclin de la fluorescence et droite d'étalonnage du trolox

### ➤ *Analyses préliminaires*

Les analyses préliminaires du test ORAC nous ont permis d'identifier dans un premier temps le temps d'incubation optimal lors des expériences de cinétique. Le suivi de la diminution de la fluorescence de la fluorescéine prend fin lorsque le trolox ou l'antioxydant à tester est entièrement consommé. La fluorescéine est alors rapidement oxydée par les radicaux libres et le pourcentage de fluorescence atteint 0%.

Nous avons également testé trois solvants d'extraction de nature et de compositions différents :

- Un solvant méthanol pur
- Un solvant méthanol acidifié à 1% d'acide acétique glacial
- Un solvant acétone/eau (70/30, v/v).

Ces essais préliminaires nous ont permis de déterminer quel est le solvant le mieux adapté au test et aux échantillons utilisés.

### II.1.2.7 Analyses statistiques

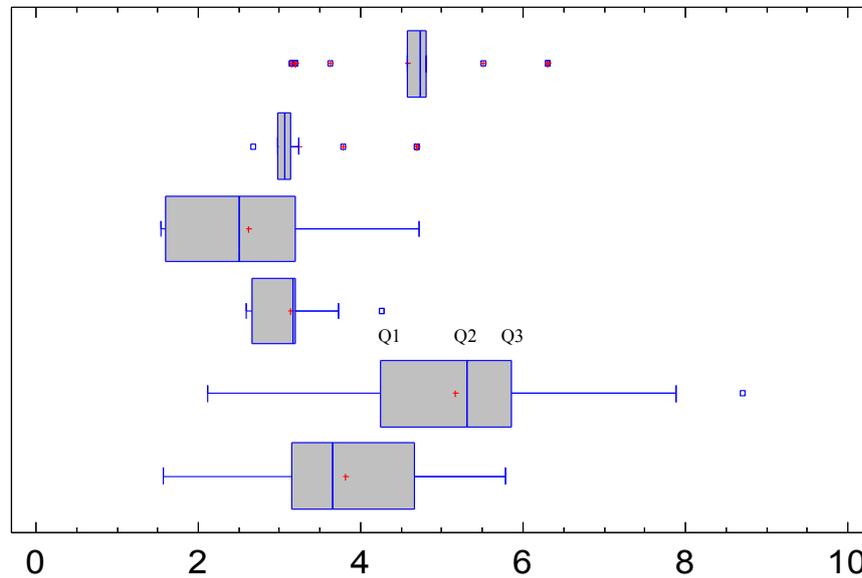
#### II.1.2.7.a Boîte à moustaches

Il s'agit d'un diagramme permettant de comparer les données quantitatives de plusieurs populations de tailles différentes.

Il se présente comme suit (Figure 30) :

- Un rectangle s'étend du premier quartile (Q1) au troisième quartile (Q3) de l'échantillon. Cet intervalle (Q1-Q3), appelé distance interquartile, contient 50% des données centrales et est utilisé comme indicateur de dispersion.
- La médiane (Q2) est représentée par une ligne verticale et la moyenne de l'échantillon correspond à un signe + de couleur rouge. Des moustaches sont tracées à partir des bords de la boîte pour rejoindre la plus grande valeur des données et la plus petite valeur des données.
- Les valeurs inhabituelles très éloignées de la boîte sont appelées points suspects. Ils sont situés à plus de 1,5 fois la distance interquartile à gauche ou à droite de la boîte et sont indiqués par un symbole de point.

- Les points extrêmes situés à plus de 3 fois la distance interquartile à gauche ou à droite de la boîte. Ces points sont représentés par un symbole de point contenant un signe + de couleur rouge.



**Figure 30 : Représentation de boîtes à moustaches**

#### II.1.2.7.b Test de Student

Le test de Student (t) permet de comparer les moyennes de deux échantillons indépendants de taille égale. Les conditions suivantes sont nécessaires pour utiliser ce test :

- Les deux échantillons sont indépendants entre eux et aléatoires
- La variable aléatoire suit une loi normale
- Les variances des échantillons sont égales.

Les deux dernières conditions ne sont pas indispensables pour des échantillons de taille égale avec des effectifs suffisants. En pratique la valeur de 30 est souvent retenue pour assurer la quasi-normalité des distributions d'échantillonnage des moyennes (<http://calamar.univ-ag.fr/uag/staps/cours/stat/stat.htm>).

Les hypothèses à tester sont :

- hypothèse nulle :  $H_0 : \mu_1 = \mu_2$
- hypothèse alternative bilatérale :  $H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$ .

Le principe de ce test est de calculer la valeur t observé ( $t_{obs}$ ) qui suit une variable aléatoire de Student à  $v = n_1 + n_2 - 2$  degrés de liberté :

$$t_{obs} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{2S_p^2}{n}}}$$

Où  $\bar{x}_1$  et  $\bar{x}_2$  sont les moyennes des deux échantillons,  $S_p^2$  la variance commune et n la taille des échantillons. On rejette  $H_0$  au seuil de signification  $\alpha$  si la valeur absolue de  $t_{obs}$  est supérieure à la valeur  $t_{n_1+n_2-2, 1-\alpha/2}$  prise dans la table de Student.

### II.1.2.7.c Analyse de variance

L'analyse de variance ou ANOVA, de l'anglais ANalysis Of VAriance, est une méthode statistique de décomposition de la variance totale observée permettant la comparaison de plusieurs moyennes. Elle permet de comparer les moyennes de plusieurs populations supposées normales et de même variances à partir d'échantillons aléatoires, simples et indépendants les uns des autres. Il existe plusieurs types d'analyse de variance qui se différencient par le nombre de facteurs étudiés, la nature du facteur (qualitatif ou quantitatif) et la nature des modalités qui peuvent être associées au facteur qualitatif (modèle fixe, aléatoire...). Dans tous les cas, la variable aléatoire étudiée doit être quantitative de type continu et suivre une loi normale. Nous utiliserons le cas de l'analyse de variance à un facteur.

En pratique le but de l'ANOVA est de tester si un facteur a un effet sur les variables quantitatives étudiées. Elle est basée sur les hypothèses suivantes :

- Hypothèse nulle ( $H_0$ ): les échantillons proviennent de différentes populations dont les moyennes sont égales
- Hypothèse alternative ( $H_1$ ) : les moyennes des populations ne sont pas toutes égales entre elles.

Lors de l'application d'une analyse de variance, des conditions d'utilisation doivent être vérifiées au préalable:

- Les échantillons sont aléatoires, simples et indépendants les uns des autres
- La normalité des échantillons est vérifiée à l'aide d'un test de normalité des résidus (i.e. l'écart entre une valeur et la moyenne des valeurs observées)
- L'homogénéité des variances. Le test des variances permet de comparer les écarts-types inter-populations.

Toutefois, les hypothèses de normalité et d'égalité des variances ne sont pas essentielles lorsque les effectifs des échantillons sont égaux et suffisants. Dans ces conditions, l'analyse de variance est un test robuste (<http://calamar.univ-ag.fr/uag/staps/cours/stat/stat.htm>).

Le test de l'ANOVA repose sur une comparaison de deux composantes de la variabilité totale (SCE<sub>Totale</sub>) :

- La variabilité inter-population SCE<sub>INTER</sub> : représente l'écart entre chacune des moyennes des populations et la moyenne globale
- La variabilité intra-population SCE<sub>INTRA</sub> : est la variabilité naturelle entre individus ou variabilité non contrôlée.

L'équation de décomposition de l'analyse de variance s'écrit :

$$\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \bar{y})^2 = \sum_{i=1}^p n_i (\bar{y}_i - \bar{y})^2 + \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2$$

SCE<sub>TOTALE</sub>                      SCE<sub>INTER</sub>                      SCE<sub>INTRA</sub>

Où  $y_{ij}$  désigne la  $j^{\text{ème}}$  observation de l'échantillon extrait de la  $i^{\text{ème}}$  population,  $\bar{y}$  est la moyenne de l'ensemble des échantillons,  $\bar{y}_i$  est la moyenne d'un échantillon,  $n_i$  représente l'effectif des échantillons et  $p$  le nombre de population.

Si le rapport entre SCE<sub>INTER</sub> et SCE<sub>INTRA</sub>, appelé valeur  $F_{\text{obs}}$ , est supérieure à  $F_{\text{seuil}}$  lue dans la table de Fisher-Snedecor,  $H_0$  est rejetée au seuil de signification de 5%. Au moins une des moyennes est significativement différente des autres. Dans ce cas, il y a un effet significatif du facteur sur les variables étudiées. Le rejet de l'hypothèse nulle ne signifie pas que toutes les moyennes sont différentes entre elles. Des tests des étendues multiples permettent de déterminer quelles sont les moyennes, prises 2 à 2, qui sont significativement différentes au seuil de signification de 5%. Nous avons choisi le test de Duncan couramment employé dans la littérature.

#### II.1.2.7.d L'analyse en composantes principales (ACP)

L'analyse en composantes principales est une méthode statistique qui permet d'étudier les données multidimensionnelles, lorsque toutes les variables sont de type numérique et de préférence dans les mêmes unités. Son objectif est de présenter sous forme graphique, le maximum de l'information contenue dans un tableau de données. Elle permet ainsi d'explorer les liaisons entre variables et les ressemblances entre individus.

Le tableau de données comporte  $n$  individus pour lesquels ont été mesurés  $p$  variables quantitatives. L'ensemble des observations définit un tableau de  $n$  lignes et  $p$  colonnes encore appelé matrice  $X$  ( $n,p$ ). Les  $n$  individus correspondent à un nuage de points dans un espace à  $p$  dimensions. Il serait impossible de voir le nuage de points dans un espace à  $p$  dimensions dès que  $p > 3$ . L'ACP permet donc d'obtenir une représentation la plus fidèle que possible du nuage de points en le projetant sur un espace de faible dimension. Les espaces retenus seront généralement à deux dimensions. Les  $p$  variables quantitatives initiales sont transformées en  $k$  nouvelles variables. Elles sont appelées composantes principales et les axes qu'elles déterminent sont les axes principaux.

Les résultats de l'ACP sont influencés par l'ordre de grandeur des variables. Il est donc recommandé de donner la même importance aux différentes variables en les transformant en données centrées-réduites. Chaque valeur de  $X$  est déduite de la moyenne de la colonne de variable. La valeur obtenue est ensuite divisée par l'écart-type de la colonne.

Une matrice des corrélations est ensuite obtenue à partir de ces variables normées. Elle indique les corrélations positives et négatives entre les variables. Le coefficient de corrélation ( $r$ ) est compris entre -1 et 1. Les variables sont :

- corrélées positivement si la valeur du coefficient est proche de 1
- corrélées négativement si la valeur du coefficient est proche de -1
- sans relations si la valeur du coefficient est proche de 0.

L'étape suivante, la diagonalisation, fournit essentiellement deux matrices :

- La matrice des vecteurs propres : ces vecteurs propres contiennent les coefficients des combinaisons linéaires des  $p$  variables initiales. Ils permettront le calcul des composantes principales.
- La matrice diagonale contenant les valeurs propres : elles représentent les variances des individus sur les axes principaux correspondants.

Chaque axe est défini par un vecteur propre. Les nouveaux axes sont choisis de la façon suivante :

- Le premier axe principal ou la première composante principale sera celui ou celle présentant la variance maximale. Une certaine proportion de la variation totale des individus est expliquée par cette composante principale.

- Une deuxième composante principale fournissant la plus grande information possible complémentaire de la première.

Le processus se déroule jusqu'à l'obtention de la  $p^{\text{ième}}$  et dernière composante principale. Les parts d'information expliquées par chacune d'elles deviennent de plus en plus faibles.

### II.1.2.7.e Présentation générale de la méthode de classification ascendante hiérarchique (CAH)

C'est une méthode de classification itérative qui permet de construire une partition d'un ensemble d'individus en classe. Les individus appartenant à une même classe sont proches alors que les individus appartenant à des classes différentes sont éloignés. Les variables s'expriment avec des unités différentes et prennent leurs valeurs sur des échelles difficilement comparables. Il est donc préférable de représenter les individus à l'aide de variables centrées réduites.

Le principe de la méthode de classification hiérarchique est simple. Une première étape consiste à choisir une mesure de « dissimilarité » ou « distance » entre les individus. La distance euclidienne est le type de distance le plus couramment utilisé. Il s'agit d'une distance géométrique dans un espace multidimensionnel. Les deux éléments les plus proches sont agrégés et constitue un nouvel élément.

Pour poursuivre la méthode, il faut faire le choix d'un indice d'agrégation c'est-à-dire d'une « distance » entre un individu et un groupe (ou entre groupes). La méthode utilisée est celle de Ward, méthode dite des voisins réciproques. C'est une méthode ascendante. A chaque itération, un ou plusieurs individus ou classes sont regroupés de façon à ce que l'agrégation entraîne la diminution minimale de l'inertie inter-classes. Ce processus est réitéré jusqu'à épuisement de l'ensemble des éléments. La dernière opération regroupe l'ensemble des éléments dans une classe unique.

Cette méthode de classification permet d'obtenir un dendrogramme ou arbre de classification indiquant le regroupement progressif des données. On peut visualiser également le nombre adéquat de classes dans lesquelles les données peuvent être regroupées, ainsi que leur composition.

## II.2 Résultats et discussion

### II.2.1 Caractérisation nutritionnelle de la pulpe

Les résultats de la composition nutritionnelle de la pulpe des abricots-pays mûrs des différentes accessions étudiées figurent dans le tableau 9.

**Tableau 9 : Caractéristiques nutritionnelles de la pulpe des fruits des accessions étudiées**  
(Les valeurs présentées dans le tableau sont une moyenne de 3 analyses indépendantes  $\pm$ écart-type. Les lettres (a-c) d'une même colonne du tableau indique les différences significatives ( $P < 0,05$  ; test de Duncan))

Accessions	Humidité (g/100g)	Cendres (g/100g)	Protéines totales (g/100g)	Lipides totaux (g/100g)	Glucides totaux (g/100g)	Valeur énergétique (kcal /100g)
Sonson	88 $\pm$ 3,5 <sup>c</sup>	0,11 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,40 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	Traces (< 0,20) <sup>a</sup>	12 $\pm$ 3,4 <sup>a</sup>	49 $\pm$ 13,9 <sup>a</sup>
Pavé 11	85 $\pm$ 1,8 <sup>b</sup>	0,17 $\pm$ 0,08 <sup>ab</sup>	0,40 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	Traces (< 0,20) <sup>a</sup>	14 $\pm$ 1,9 <sup>b</sup>	58 $\pm$ 7,3 <sup>b</sup>
Lézarde	86 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup>	0,14 $\pm$ 0,07 <sup>ab</sup>	0,42 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	Traces (< 0,20) <sup>a</sup>	13 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup>	56 $\pm$ 7,1 <sup>b</sup>
Ti Jacques	84 $\pm$ 2,5 <sup>a</sup>	0,18 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	0,42 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	Traces (< 0,20) <sup>a</sup>	16 $\pm$ 2,5 <sup>c</sup>	65 $\pm$ 10,1 <sup>c</sup>
Antonio	87 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	0,17 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,43 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	Traces (< 0,20) <sup>a</sup>	12 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	54 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
Escouët	86 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	0,22 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>	0,47 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	Traces (< 0,20) <sup>a</sup>	13 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>	54 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>

L'eau est le principal composant de ce fruit pulpeux qu'est l'abricot-pays. La teneur moyenne est de 85,95%. Parmi les accessions que nous avons étudiées, nous constatons que Sonson produit les fruits les plus riches en eau (88 %) alors que Ti Jacques produit les fruits les moins riches en eau (84 %). Les fruits de l'accession Escouët renferment une teneur en cendres plus élevées, ils sont donc plus riches en composés minéraux.

Les accessions étudiées présentent de faibles teneurs en protéines (environ 0,40 g/100g) et en lipides (<0,20 g/100g). Nous n'observons pas de différences statistiquement significatives entre ces teneurs. Généralement les fruits comestibles possèdent une faible teneur en protéines (inférieure à 5 g/100g) et en lipides (inférieure à 2 g/100g) (Cemeroglu et Acar, 1986). Les teneurs en protéines obtenues sont plus faibles que celles établies pour d'autres fruits et légumes tropicaux tels que la papaye (0,83 g/100g), la carambole (0,9 g/100g), la banane dessert (1,1 g/100g), le fruit à pain (1,12 g/100g) ou la pomme cannelle (1,22 g/100g) (Tripathi et al., 2011 ; Clerici et Carvalho-Silva, 2011 ; Aurore, Parfait et Fahrasmane, 2009 ; Nacitas, 2012).

L'abricot-pays est consommé comme fruit de dessert du fait de son goût sucré. Les glucides totaux constituent le second constituant de la pulpe de ce fruit. Les accessions que nous avons étudiées présentent une gamme de variation de la moyenne en glucides totaux comprise entre 12 et 16 g/100g. L'accession Ti Jacques est caractérisée par les fruits les plus riches en glucides totaux et les plus énergétiques.

Les données nutritionnelles que nous avons obtenues sont similaires à celles retrouvées dans la littérature (Souci, Fachmann et Kraut, 2008 ; USDA, 2012), excepté la teneur en glucides totaux et donc la valeur énergétique qui sont plus élevées. Les accessions Pavé 11, Lézarde et Ti Jacques présentent des fruits plus riches en glucides totaux (entre 13 et 16 g/100g) et plus énergétiques (entre 56 et 65 kcal/100g). Ce constat nous amène à supposer que ces différences avec les données de la littérature peuvent être dues aux accessions étudiées, aux effets pédoclimatiques, aux évolutions post-récolte et/ou au stade de maturité plus ou moins avancé des fruits.

### II.2.2 Caractérisation physique, physico-chimique et fonctionnelle

L'étude de caractérisation basée sur les critères physiques, physico-chimiques et fonctionnels a été menée dans l'objectif d'acquérir des connaissances sur la qualité et les potentialités des différentes accessions d'abricotiers étudiés. Dans cette partie, l'ensemble des données collectées, pour les accessions Sonson, Pavé 11, Lézarde, Escouët, Antonio et Ti Jacques, est interprété et représenté à l'aide de techniques statistiques multivariées telles que l'analyse de variance (ANOVA), les boîtes à moustaches, l'analyse en composante principale (ACP) et la classification ascendante hiérarchique (CAH). Les variables étudiées sont reprises dans le tableau 10.

**Tableau 10 : Variables sélectionnées pour l'étude de caractérisation des différentes accessions de *mammea americana***

Variables physiques	Variables physico-chimiques	Variables fonctionnelles
- Ratio Circonférence équatoriale / circonférence longitudinale	- pH	- Teneur en polyphénols totaux
- Ratio longueur du pédoncule / diamètre du pédoncule	- Extrait sec soluble (ESS)	- Teneur en caroténoïdes totaux
- Poids du fruit	- Acidité titrable (AT)	- Teneur en vitamine C
- Nombre de graines	- ESS/AT	- Teneur en flavonoïdes totaux
- Rendement en pulpe	- Teneur en matière sèche	
- Rendement d'égrainage		
- Rendement de pelage		
- Fermeté du fruit		
Couleur de la pulpe (L*, a*, b*)		
- Adhérence de la pulpe aux graines		

II.2.2.1 Etude de la variabilité inter accessions basée sur les caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles

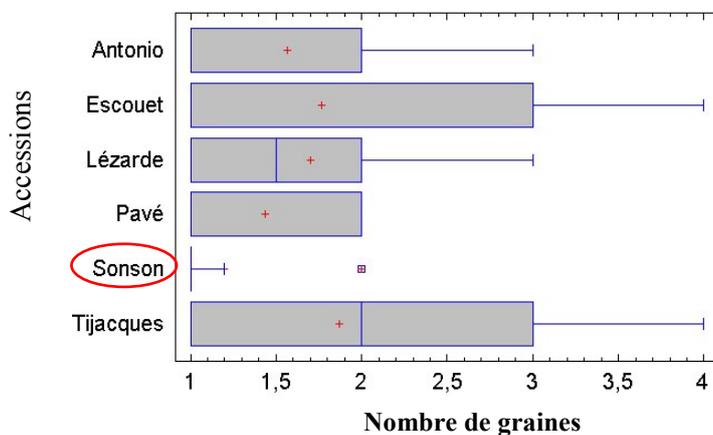
Une analyse de variance (ANOVA) à un facteur est appliquée à l'ensemble des observations obtenues à partir des 21 variables et des 6 accessions (Sonson, Pavé 11, Lézarde, Ti Jacques, Antonio, Escouët) étudiées. Les résultats de l'analyse statistique mettent en évidence que les moyennes des accessions ne sont pas toutes égales entre elles (hypothèse alternative  $H_1$ ) (Tableau 11). Il y a une différence statistiquement significative entre les moyennes des différentes accessions pour chacune des variables étudiées, exceptée pour la variable nombre de graines.

**Tableau 11 : Variables statistiquement significatives et valeurs de probabilité obtenues à l'aide du logiciel STATGRAPHICS® Centurion XV version 15.2.06**

Variable	Probabilité	Significativité
Circonférence équatoriale/ circonférence longitudinale	0,0000	Oui
Longueur pédoncule/ diamètre pédoncule	0,0000	Oui
Poids du fruit	0,0000	Oui
Nombre graines	0,0518	Tendance
Rendement en pulpe	0,0001	Oui
Rendement d'égrainage	0,0001	Oui
Rendement de pelage	0,0001	Oui
Fermeté du fruit	0,0000	Oui
L*	0,0000	Oui
a*	0,0000	Oui
b*	0,0000	Oui
Adhérence pulpe	0,0000	Oui
Caroténoïdes totaux	0,0000	Oui
Polyphénols totaux	0,0000	Oui
Flavonoïdes totaux	0,0000	Oui
Vitamine C	0,0000	Oui
pH	0,0000	Oui
Extrait sec soluble	0,0000	Oui
Acidité titrable	0,0000	Oui
ESS/AT	0,0000	Oui
Matière sèche	0,0000	Oui

Concernant la variable nombre de graines, la valeur de probabilité (0,0518) est très proche de 0,05. De plus, les boîtes à moustaches présentées en figure 31 montrent que l'accession

Sonson se démarque clairement des autres. En effet la majorité des fruits récoltés au niveau de cette accession renferme une seule graine. Aux vues de ces graphiques, nous concluons que l'accession Sonson tend à se différencier des autres accessions, par un nombre de graines moindre.



**Figure 31 : Boîtes à moustaches élaborées à l'aide de STATGRAPHICS Centurion XV version 15.2.06**

### II.2.2.2 Caractéristiques physiques des accessions étudiées

Les données de caractérisation physique obtenues sont présentées dans le tableau 12. Le test de Duncan, test des étendues multiples, a permis de déterminer quelles sont les moyennes qui sont significativement différentes au seuil de signification de 5%.

#### ➤ *Ratio circonférence équatoriale / circonférence longitudinale*

Toutes les accessions forment un groupe homogène, excepté Pavé 11. Antonio, Lézarde, Sonson, Escouët et Ti Jacques présentent des ratios proches ou égaux à 1. Leurs fruits sont donc de forme ronde. Tandis que Pavé 11 est caractérisé par des fruits présentant un ratio plus élevé. La circonférence équatoriale des fruits est donc supérieure à la circonférence longitudinale. La production de Pavé 11 présente donc une forme elliptique.

#### ➤ *Poids des fruits*

Le poids moyen des fruits entiers pour les six accessions varie entre  $567 \pm 268$  g et  $1104 \pm 620$  g. Lézarde, Sonson et Pavé 11 produisent des fruits de plus gros calibre que ceux d'Antonio, Escouët et Ti Jacques. Lézarde se distingue avec des fruits ( $1104 \pm 620$  g) presque deux fois plus gros que ceux d'Antonio ( $567 \pm 268$  g). Dans le cas de notre étude, nous rappelons que

les fruits récoltés proviennent d'accessions greffées. Ces fruits ont un poids moyen supérieur à celui des accessions sauvages (Poids moyens variant entre  $335 \pm 101$  g et  $858 \pm 407$  g) (Gervais et Lavigne, 2007).

**Tableau 12 : Données de caractérisation physiques des accessions étudiées**

(Les valeurs présentées dans le tableau sont une moyenne de 3 analyses indépendantes  $\pm$ écart-type. Les lettres d'une même colonne du tableau indique les différences significatives ( $P < 0,05$  ; test de Duncan) ; CE/CL : Circonférence équatoriale/Circonférence longitudinale ; LP/DP : Longueur du pédoncule/Diamètre du pédoncule)

Variables physiques	Antonio	Lézarde	Sonson	Escouët	Ti jacques	Pavé 11
Ratio CE / CL	$1,02 \pm 0,04^a$	$1,01 \pm 0,04^a$	$0,99 \pm 0,02^a$	$1,00 \pm 0,04^a$	$1,01 \pm 0,07^a$	$1,05 \pm 0,04^b$
Ratio LP / DP	$2,48 \pm 0,72^c$	$1,61 \pm 0,59^a$	$1,39 \pm 0,54^a$	$2,08 \pm 0,72^b$	$1,68 \pm 0,53^b$	$1,36 \pm 0,37^a$
Poids du fruit (g)	$567 \pm 268^a$	$1104 \pm 620^b$	$935 \pm 399^b$	$649 \pm 292^a$	$613 \pm 246^a$	$864 \pm 264^b$
Nombre de graines	$1,57 \pm 0,73^b$	$1,70 \pm 0,79^c$	$1,20 \pm 0,41^a$	$1,77 \pm 1,07^{bc}$	$1,87 \pm 0,97^c$	$1,43 \pm 0,50^b$
Rendement en pulpe (%)	$53 \pm 11^c$	$64 \pm 14^b$	$64 \pm 12^b$	$49 \pm 15^d$	$60 \pm 10^b$	$67 \pm 20^a$
Rendement d'égrainage (%)	$14 \pm 4^b$	$12 \pm 5^c$	$7 \pm 2^d$	$21 \pm 10^a$	$15 \pm 7^b$	$10 \pm 3^c$
Rendement de pelage (%)	$20 \pm 4^c$	$21 \pm 6^c$	$24 \pm 7^a$	$22 \pm 5^b$	$20 \pm 5^c$	$27 \pm 6^a$
Fermeté (N)	$56 \pm 12^{bc}$	$64 \pm 9^d$	$51 \pm 9^{ab}$	$58 \pm 10^c$	$46 \pm 12^a$	$59 \pm 12^{cd}$
L*	$68 \pm 3^{ab}$	$72 \pm 3^c$	$72 \pm 4^c$	$67 \pm 3^a$	$67 \pm 3^a$	$69 \pm 2^b$
a*	$22 \pm 4^a$	$23 \pm 4^a$	$19 \pm 6^a$	$20 \pm 5^a$	$28 \pm 4^b$	$26 \pm 7^b$
b*	$61 \pm 3^a$	$74 \pm 3^d$	$77 \pm 5^c$	$68 \pm 6^b$	$72 \pm 5^{bc}$	$73 \pm 4^{cd}$
Adhérence de la pulpe	$3,33 \pm 1,90^a$	$3,17 \pm 1,96^a$	$1,58 \pm 1,54^a$	$4,75 \pm 0,76^b$	$2,75 \pm 1,78^a$	$3,75 \pm 1,27^a$

➤ *Ratio longueur du pédoncule / diamètre du pédoncule*

Nous remarquons que les pédoncules des fruits de gros calibre des accessions Sonson, Pavé 11 et Lézarde sont plus larges que long et inversement pour Ti Jacques, Antonio et Escouët, produisant des fruits de petit calibre. En effet, le pédoncule, la pièce florale qui porte le fruit après la fécondation, doit être suffisamment large pour supporter les fruits de gros calibre jusqu'à leur maturité.

➤ *Nombre de graines*

Concernant la variable nombre de graines, trois groupes distincts sont obtenus. Sonson se distingue par des fruits contenant très peu de graines (en moyenne  $1,20 \pm 0,41$ ). Antonio et Pavé 11 sont caractérisés par des fruits renfermant un nombre de graine un peu plus élevé (en moyenne  $1,57 \pm 0,73$  et  $1,43 \pm 0,50$  respectivement). Tandis que Ti Jacques, Lézarde et Escouët produisent des fruits contenant un nombre de graines plus élevé (en moyenne  $1,87 \pm 0,97$  ;  $1,70 \pm 0,79$  ;  $1,77 \pm 1,07$  respectivement). Les valeurs moyennes pour Sonson, Antonio et Pavé 11 sont plus faibles que celles publiées par Mourão et Beltrati, (2000) (en moyenne  $1,70 \pm 0,98$ ). D'autre part, les accessions de notre étude (accessions greffées) produisent des fruits renfermant plus de graines que ceux des accessions sauvages. Leur nombre moyen de graines est compris entre  $1,00 \pm 0,00$  et  $1,60 \pm 0,90$  (Gervais et Lavigne, 2007). Cependant les fruits produits par les accessions sauvages sont généralement de plus petit calibre.

➤ *Rendement en pulpe, d'égrainage et de pelage*

Concernant le rendement en pulpe, Pavé 11, Lézarde et Sonson possèdent un pourcentage de pulpe plus élevé que celui des autres accessions avec les valeurs moyennes suivantes :  $67 \pm 20\%$ ,  $64 \pm 14\%$  et  $64 \pm 12\%$  respectivement. Ces trois accessions présentent également le rendement d'égrainage le plus faible avec les valeurs moyennes suivantes :  $10 \pm 3\%$ ,  $12 \pm 5\%$  et  $7 \pm 2\%$  pour Pavé 11, Lézarde et Sonson respectivement. Le rendement de pelage pour l'ensemble des accessions, compris entre  $20 \pm 4\%$  et  $27 \pm 6\%$ , varie peu d'une accession à l'autre.

Ce sont donc les accessions produisant les fruits de plus gros calibre telles que Sonson, Pavé 11 et Lézarde qui possèdent la quantité la plus importante de pulpe disponible pour la consommation en frais ou la transformation. Globalement nos valeurs de rendement en pulpe sont légèrement inférieures à celles établies pour les fruits des accessions sauvages (Gervais et Lavigne, 2007). Comparés à d'autres fruits, le pourcentage de pulpe de *Mammea americana*

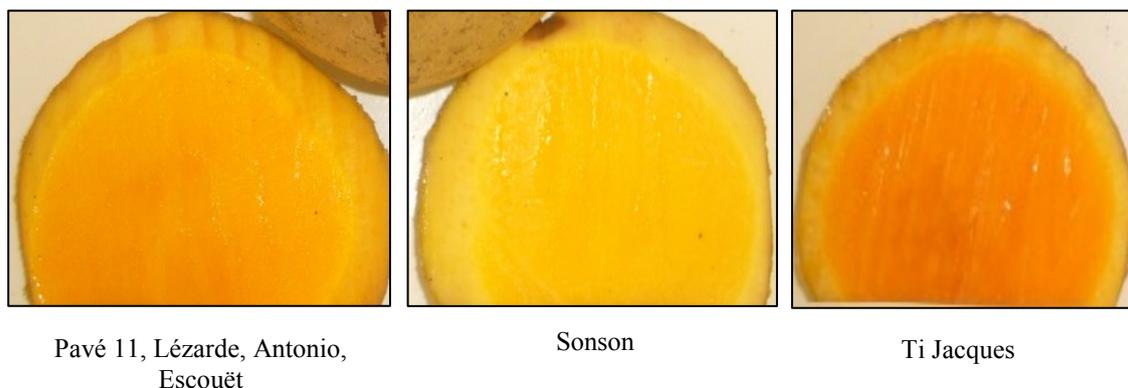
est supérieur à celui du melon (56%) (Villanueva et al., 2004), comparable à celui de la banane (57 – 60%) (CIQUAL-CNEVAL, 1993) mais inférieur à celui de la mangue (71 ±3%) (Liu *et al.*, 2013), de l'orange (65 – 88%) (CIQUAL-CNEVAL, 1993) et de la pomme (86 – 89%) (Aurore, Parfait et Fahrasmane, 2009).

➤ *Fermeté des fruits entiers*

La fermeté des fruits entiers varient entre  $46 \pm 12$  et  $64 \pm 9$  N. Lézarde, suivie de Pavé 11, Escouët et Antonio donnent les fruits les plus fermes avec les valeurs moyennes suivantes :  $64 \pm 9$ ,  $59 \pm 11$  et  $58 \pm 10$  N et  $56 \pm 12$  N respectivement. Les valeurs de fermeté de ces accessions sont comparables aux données établies pour la pomme (Gala) ( $57,7 \pm 18,1$  N) (Hoehn *et al.*, 2003). Les fruits de *Mammea americana* sont des fruits de texture ferme lorsqu'ils sont récoltés à maturité au même titre que la pomme. Lézarde, Pavé 11, Escouët et Antonio sont donc les accessions les plus aptes à la manutention et au transport.

➤ *Couleur de la pulpe*

La couleur de la pulpe du fruit est jaune à orange. Lézarde et Sonson présentent les pulpes les plus lumineuses, avec un paramètre L supérieur à 70. La couleur orange correspond à des valeurs élevées du paramètre  $a^*$  tandis que la couleur jaune est représentée par des valeurs élevées du paramètre  $b^*$ . Les fruits des accessions Pavé 11, Lézarde, Antonio et Escouët sont caractérisés par une pulpe de couleur jaune orange. Tandis que ceux de Sonson se distinguent avec des fruits dont la pulpe est jaune (valeur moyenne de  $b^*$  égale à  $77 \pm 5$ ) et ceux de Ti Jacques, par une pulpe orange (valeur moyenne de  $a^*$  égale à  $28 \pm 4$ ) (Figure 32).



**Figure 32 : Couleur de la pulpe des accessions étudiées**

➤ *Adhérence de la pulpe aux graines*

Toutes les accessions forment un groupe homogène pour la variable adhérence de la pulpe aux graines, hormis Escouët. En effet, cette accession se distingue avec des fruits dont la pulpe adhère totalement aux graines ( $4,75 \pm 0,75$ ). Les autres accessions donnent des fruits dont la pulpe adhère partiellement aux graines, avec des valeurs comprises entre  $2,75 \pm 1,78$  et  $3,75 \pm 1,27$ .

Le tableau 13 récapitule les principales caractéristiques physiques mises en évidence pour l'ensemble des accessions.

**Tableau 13 : Récapitulatif des caractéristiques physiques des accessions étudiées**

Caractéristiques	Accessions	Description
Forme des fruits	Antonio, Escouët, Ti Jacques, Lézarde, Sonson	Forme ronde
	Pavé 11	Forme elliptique
Taille du pédoncule	Sonson, Pavé 11, Lézarde	Pédoncule plus large que long
	Escouët, Ti Jacques, Antonio	Pédoncule plus long que large
Poids du fruit	Sonson, Pavé 11, Lézarde	Fruits de plus gros calibre (>800 g)
	Escouët, Ti Jacques, Antonio	Fruits de plus petit calibre (<700g)
Rendement en pulpe	Sonson, Pavé 11, Lézarde	60% - 70%
	Escouët, Ti Jacques, Antonio	50% - 60%
Fermeté des fruits entiers	Lézarde, Pavé 11, Escouët, Antonio	Fruits plus fermes (> 55 N)
	Sonson, Ti Jacques	Fruits moins fermes (< 55 N)
Adhérence de la pulpe aux graines	Sonson, Pavé 11, Lézarde, Ti Jacques, Antonio	Adhérence partielle
	Escouët	Adhérence totale
Couleur de la pulpe	Pavé 11, Lézarde, Antonio, Escouët	Jaune orange
	Sonson	Jaune
	Ti Jacques	Orange

Ces premiers résultats montrent que Sonson, Pavé 11 et Lézarde se différencient avec des fruits de plus gros calibre, un rendement en pulpe plus élevé et un pourcentage de graine plus faible que les autres accessions. Elles sont donc plus aptes à la transformation. L'étude de caractérisation du fruit et de la pulpe de *Mammea americana* s'appuie également sur des paramètres physico-chimiques établis dans la section suivante.

### II.2.2.3 Caractéristiques physico-chimiques des accessions étudiées

Les caractéristiques physico-chimiques sont données dans le tableau 14. Le test de Duncan, test des étendues multiples, a permis de déterminer quelles sont les moyennes qui sont significativement différentes au seuil de signification de 5%.

**Tableau 14 : Données physico-chimiques des accessions étudiées**

(Les valeurs présentées dans le tableau sont une moyenne de 3 analyses indépendantes  $\pm$ écart-type. Les lettres d'une même colonne du tableau indique les différences significatives ( $P < 0,05$  ; test de Duncan) ; ESS : extrait sec soluble exprimé en °Brix ; AT : acidité titrable exprimée en meq/100 ml ; MS : teneur en matière sèche exprimée g/100g)

Variables physico-chimiques	Antonio	Lézarde	Sonson	Escouët	Ti jacques	Pavé 11
pH	3,41 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	3,86 $\pm$ 0,13 <sup>c</sup>	3,42 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	3,80 $\pm$ 0,05 <sup>c</sup>	3,63 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	3,78 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>
ESS	10,39 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	11,15 $\pm$ 1,85 <sup>c</sup>	9,09 $\pm$ 1,47 <sup>a</sup>	11,09 $\pm$ 0,37 <sup>c</sup>	13,64 $\pm$ 1,74 <sup>d</sup>	9,95 $\pm$ 2,04 <sup>b</sup>
AT	4,57 $\pm$ 0,88 <sup>d</sup>	2,62 $\pm$ 1,00 <sup>a</sup>	5,16 $\pm$ 1,41 <sup>c</sup>	3,23 $\pm$ 0,51 <sup>b</sup>	3,82 $\pm$ 0,95 <sup>c</sup>	3,13 $\pm$ 0,47 <sup>b</sup>
ESS/AT	2,36 $\pm$ 0,52 <sup>b</sup>	4,99 $\pm$ 2,21 <sup>c</sup>	1,99 $\pm$ 0,99 <sup>a</sup>	3,49 $\pm$ 0,39 <sup>c</sup>	3,87 $\pm$ 1,49 <sup>d</sup>	3,25 $\pm$ 0,82 <sup>b</sup>
MS (g/100g)	13,39 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	14,89 $\pm$ 2,24 <sup>c</sup>	11,69 $\pm$ 1,72 <sup>a</sup>	13,51 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	16,33 $\pm$ 2,48 <sup>d</sup>	14,03 $\pm$ 1,68 <sup>c</sup>

#### ➤ pH

Les valeurs moyennes de pH sont comprises entre 3,41 $\pm$ 0,01 et 3,86  $\pm$ 0,13. Les fruits de *Mammea americana* ont un pH inférieur à 4, ils font donc partie des fruits dits acides. Ce type de fruit présente un intérêt au niveau de la transformation car il ne nécessite pas l'ajout d'acidifiants supplémentaires. De plus, à un pH inférieur à 4, le développement de certains micro-organismes est limité. Les fruits de *Mammea americana* sont donc intéressants également en termes de conservation. Nos valeurs de pH sont en accord avec les données

mentionnées par Manzano-Mendez et Dris (2001) (pH moyen égal à 3,7). Les valeurs de pH établies pour *Mammea americana* sont comparables à celles de l'ananas (3,49) (Bartolomé, Rupérez et Fuster, 1995), de l'orange ( $3,62 \pm 0,03$ ) (Topuz *et al.*, 2005) et de l'acérola (3,70) (Vendramini et Trugo, 2000).

### ➤ *Teneurs en extrait sec soluble (ESS)*

Les teneurs en extrait sec soluble reflètent le taux de sucre dans les fruits. Ces teneurs varient entre  $9,09 \pm 1,47$  et  $13,64 \pm 1,74$  °brix. Ti Jacques présente les fruits les plus sucrés, tandis que Sonson est l'accession qui produit les fruits les moins sucrés. Les teneurs obtenues sont en accord avec les valeurs publiées par Manzano-Mendez et Dris (2001) (teneur moyenne égale à 13,1). Globalement, les teneurs en extrait sec soluble de nos échantillons sont plus faibles que celles établies pour les accessions sauvages (Gervais et Lavigne, 2007). Comparés à d'autres fruits, les teneurs en extrait sec soluble des accessions étudiées sont proches de celles mentionnées pour l'ananas (10,33 °brix) (Bartolomé, Rupérez et Fuster, 1995), la pomme (12,20 °brix) (Do Amarante, Steffens et Argenta, 2011) et l'orange (10,90 – 12,40 °brix) (Topuz *et al.*, 2005).

### ➤ *Acidité titrable (AT)*

En ce qui concerne l'acidité titrable, elle est comprise entre  $2,62 \pm 1,00$  et  $5,16 \pm 1,41$  meq/100ml. Lézarde est caractérisé par des fruits peu acides ( $2,62 \pm 1,00$  meq/100ml) contrairement aux accessions Sonson ( $5,16 \pm 1,41$  meq/100ml) et Antonio ( $4,57 \pm 0,88$  meq/100ml). Les fruits provenant des accessions étudiées (greffées) sont généralement moins acides que les fruits produits par les accessions sauvages pour lesquelles les acidités titrables moyennes sont comprises entre 4,4 et 8,5 meq/100 ml (Gervais et Lavigne, 2007).

### ➤ *Rapport ESS/AT*

Le rapport ESS / AT évalue la palatabilité des fruits. Elle est acceptable pour l'ensemble des échantillons. Lézarde ( $4,99 \pm 2,21$ ) et Ti Jacques ( $3,87 \pm 1,49$ ) semblent produire des fruits plus gouteux que ceux des autres accessions.

### ➤ *Teneurs en matière sèche*

Les teneurs en matière sèche s'étendent de  $11,69 \pm 1,72$  à  $16,33 \pm 2,48$  g/100g. Ces observations sont en accord avec les valeurs retrouvées dans les tables de composition

nutritionnelle pour *mammea americana* (Souci, Fachmann et Kraut, 2008). Ti Jacques est caractérisé par des fruits avec une teneur élevée en matière sèche (16,33 ±2,48 g/100g). Tandis que Sonson produit des fruits avec une faible teneur en matière sèche (11,69 ±1,72 g/100g), donc une teneur en humidité plus élevée (87,60 ±3,50 g/100g). La teneur en matière sèche est généralement assimilable à la teneur en sucre des fruits. Sonson est donc caractérisée par les fruits les moins sucrés. Nos valeurs sont similaires à celles établies pour certaines variétés d'abricot (*Prunus armeniaca*) (Ali, Masud, et Abbasi, 2011) et de pomme (Vieira *et al.*, 2009).

Nos résultats montrent que les fruits de *Mammea americana* sont des fruits à pulpe acide présentant un intérêt pour la transformation et la conservation. Lézarde et Ti Jacques sont caractérisés par des fruits plus gouteux (ESS/AT égal à 4,99 et 3,87 respectivement), et des teneurs en matière sèche et en extrait sec soluble plus élevées que ceux des autres accessions. Elles semblent donc appropriées pour une valorisation par la transformation ou comme variétés de bouche, en particulier Lézarde qui présente des fruits de gros calibre.

Dans la section suivante, nous avons également cherché à établir les teneurs en antioxydants de nos échantillons.

#### II.2.2.4 Caractéristiques fonctionnelles des accessions étudiées

Les caractéristiques fonctionnelles des accessions étudiées sont données dans le tableau 15. Le test de Duncan, test des étendues multiples, a permis de déterminer quelles sont les moyennes qui sont significativement différentes au seuil de signification de 5%.

**Tableau 15 : Caractéristiques fonctionnelles des accessions étudiées**

(Les valeurs présentées dans le tableau sont une moyenne de 3 analyses indépendantes ±écart-type. Les lettres d'une même colonne du tableau indique les différences significatives (P <0,05 ; test de Duncan);  
CT : caroténoïdes totaux ; PPT : polyphénols totaux ; FT : Flavonoïdes totaux)

Variables fonctionnelles	Sonson	Lézarde	Pavé 11	Antonio	Escouët	Ti jacques
Teneur en CT (mg/100g)	2,88 ±1,10 <sup>a</sup>	2,91 ±0,93 <sup>b</sup>	4,63 ±1,74 <sup>bc</sup>	2,28 ±0,36 <sup>a</sup>	2,46 ±0,62 <sup>a</sup>	3,94 ±1,14 <sup>c</sup>
Teneur en PPT (mg/100g)	90 ±20 <sup>a</sup>	129 ±41 <sup>b</sup>	137 ±30 <sup>bc</sup>	122 ±9 <sup>b</sup>	143 ±8 <sup>c</sup>	129 ±20 <sup>b</sup>
Teneur en FT (mg/100g)	2,60 ±1,15 <sup>a</sup>	4,10 ±1,54 <sup>c</sup>	5,08 ±1,56 <sup>d</sup>	3,41 ±0,22 <sup>c</sup>	3,11 ±0,15 <sup>b</sup>	9,90 ±2,86 <sup>e</sup>
Teneur en vitamine C (mg/100g)	7,28 ±2,92 <sup>c</sup>	7,49 ±1,70 <sup>bc</sup>	4,97 ±1,29 <sup>ab</sup>	4,33 ±0,57 <sup>a</sup>	5,33 ±0,15 <sup>bc</sup>	5,29 ±2,69 <sup>ab</sup>

### ➤ *Teneurs en caroténoïdes*

Les teneurs en caroténoïdes totaux des accessions étudiées varient entre  $2,28 \pm 0,36$  et  $4,63 \pm 1,74$  mg/100g. Ti Jacques et Pavé 11 produisent les fruits les plus riches en caroténoïdes ( $3,94 \pm 1,14$  mg/100g et  $4,63 \pm 1,74$  mg/100g respectivement). Cependant, les teneurs obtenues sont plus faibles que celles établies pour des abricots (*Mammea americana*) provenant de la région amazonienne (teneur moyenne égale à  $6,25$  mg/100g) (De Rosso et Mercadante, 2007). Les pigments caroténoïdes sont responsables de la coloration externe et/ou internes de beaucoup de fruits. Les valeurs en caroténoïdes totaux de Ti Jacques et Pavé 11 sont plus élevées que celles mentionnées pour un fruit coloré comme l'acérola ( $1,40$  mg/100g) (Rufino *et al.*, 2010).

### ➤ *Teneurs en polyphénols totaux*

Concernant les concentrations en polyphénols totaux, elles sont comprises entre  $90 \pm 20$  et  $143 \pm 8$  mg/100g. Trois groupes d'accessions se distinguent et Escouët, suivi de Pavé 11 sont les accessions donnant les fruits les plus riches en polyphénols totaux ( $143 \pm 8$  et  $137 \pm 30$  mg/100g respectivement). Selon Scalzo *et al.*, (2005), le génotype des plantes peut affecter la teneur en composés phénoliques des fruits. Les différences significatives observées entre les accessions sont probablement dues à leur génotype car elles se sont développées dans les mêmes conditions écologiques et selon le même mode de culture.

Sur un ensemble de 24 fruits tropicaux et tempérés analysés, cinq fruits, tels que la fraise, le letchi, le raisin, l'abricot et la pomme, présentent des concentrations en polyphénols supérieures à celles des six accessions de notre étude (teneurs comprises entre  $179$  mg/100g et  $264$  mg/100g) (Brat *et al.*, 2006). Cependant, la concentration en polyphénols des accessions étudiées est supérieure à celles établies pour des fruits tropicaux comme le fruit de la passion ( $72$  mg/100g), la mangue ( $68$  mg/100g), la banane ( $51$  mg/100g), l'ananas ( $47$  mg/100g), pour des fruits tempérés tels que la poire ( $69$  mg/100g), la nectarine ( $73$  mg/100g), la pêche jaune ( $59$  mg/100g), et pour les agrumes suivants : lime, citron, orange et clémentine (teneurs comprises entre  $30$  mg/100g et  $45$  mg/100g) (Brat *et al.*, 2006).

### ➤ *Teneurs en flavonoïdes totaux*

Les flavonoïdes sont les composés phénoliques les plus répandus dans les fruits et légumes. Ces composés sont réputés pour leurs propriétés antioxydantes

Sonson est l'accession présentant les teneurs les plus faibles en flavonoïdes totaux, tandis que Ti Jacques possède les fruits les plus riches. Sa concentration moyenne en flavonoïdes est supérieure à celle établie pour l'ananas (3,24 mg EQ/100g), l'acérola (9,6 mg EQ/100g), la prune mombin (7,1 mg EQ/100g), et inférieure à celle des fruits suivants : l'açaï (91,3 mg EQ/100g), la banane (23,7 mg EQ/100g), la goyave (40,6 mg EQ/100g), la pomme de cajou (63,8 mg EQ/100g) et la pomme (16 mg EQ/100g) (Rufino *et al.*, 2010; Alothman, Bhat et Karim, 2009 ; D'Abrosca *et al.*, 2007).

➤ *Teneurs en vitamine C*

Sonson se distingue des autres accessions avec une teneur plus élevée en vitamine C. Les concentrations en vitamine C des accessions étudiées sont supérieures à celles recensées pour le tamarin, le corossol, la sapotille, le fruit du dragon, la carambole, la banane et la grenade (teneurs moyennes comprises entre 1,42 mg AA/100g et 3,9 mg AA/100g). Cependant, les résultats obtenus sont nettement inférieurs à ceux de fruits reconnus comme principale source en vitamine C tels que la mangue, la papaye, l'ananas, la goyave, le kiwi et le raisin (teneurs moyennes comprises entre 35,5 mg AA/100g et 65,8 mg AA/100g) (Almeida *et al.*, 2011 ; Valente *et al.*, 2011 ; FAO, 2002).

Le tableau 16 récapitule les accessions dont les paramètres fonctionnels sont les plus élevés.

**Tableau 16: Récapitulatif des accessions présentant les caractéristiques fonctionnelles les plus élevées**

Paramètres fonctionnels	Accessions
Caroténoïdes totaux	Ti Jacques et Pavé 11
Polyphénols totaux	Escouët et Pavé 11
Flavonoïdes totaux	Ti Jacques et Pavé 11
Vitamine C	Sonson et Lézarde

Les concentrations en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux de la pulpe de l'abricot-pays n'avaient jamais été établi jusqu'ici. L'accession Pavé 11 se distingue avec les fruits les plus riches aussi bien en caroténoïdes totaux (4,63 mg/100g) qu'en polyphénols (136 mg/100g) et flavonoïdes totaux (5,08 mg/100g).

Dans les paragraphes suivants, nous avons également cherché à classer les accessions en fonction de l'ensemble des paramètres étudiés précédemment à l'aide de deux méthodes

statistiques multivariées : l'analyse en composante principale (ACP) et la classification ascendante hiérarchique (CAH).

### II.2.2.5 Analyse en composantes principales sur les caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles

Une analyse en composantes principales a été effectuée à l'aide du logiciel XLStat 2013.5.03 (Addinsoft) afin de classer les accessions. Elle a permis de mettre en évidence quelles sont les variables qui sont associées, celles qui s'opposent et les ressemblances entre les accessions. Le tableau de données comprend 6 lignes (moyenne des trente répétitions pour chaque accession) et 21 colonnes (variables) (Tableau 17).

**Tableau 17: Variables sélectionnées pour l'analyse en composantes principales**

<b>Variables physiques</b>	<b>Variables physico-chimiques</b>	<b>Variables fonctionnelles</b>
- Ratio Circonférence équatoriale / circonférence longitudinale (CE/CL)	- pH	- Teneur en polyphénols totaux (PPT)
- Ratio longueur du pédoncule / diamètre du pédoncule (LP/DP)	- Extrait sec soluble (ESS)	- Teneur en caroténoïdes totaux (CT)
- Poids du fruit (PDS FRUIT)	- Acidité titrable (AT)	- Teneur en vitamine C (VIT C)
- Nombre de graines (NB GRAINES)	- ESS/AT	- Teneur en flavonoïdes totaux (FT)
- Rendement en pulpe (RDT PULPE)	- Teneur en matière sèche (MS)	
- Rendement d'égrainage (RDT EGRAINAGE)		
- Rendement de pelage (RDT PELAGE)		
- Fermeté du fruit		
Couleur de la pulpe :		
- L*		
- a*		
- b*		
- Adhérence de la pulpe (ADH PULPE)		

#### II.2.2.5.a Choix du nombre d'axes

Le critère de Kaiser (Kaiser, 1960) a été appliqué pour déterminer le nombre d'axes à sélectionner pour l'ensemble des données dans cette analyse. Selon ce critère, seuls les axes ayant une valeur propre supérieure ou égale à 1 seront retenus.

Les quatre premiers axes sont sélectionnés. Les résultats montrent que ces quatre axes expliquent 95,84 % de la variance totale. Une part importante de l'information contenue dans le tableau de données est donc conservée.

Avant l'exploitation des résultats obtenus, il convient de s'assurer de la qualité de représentation des variables et des individus. Les proximités entre les points observés sur les axes peuvent être artificiellement créées par l'opération de projection.

### II.2.2.5.b Etude des corrélations entre variables

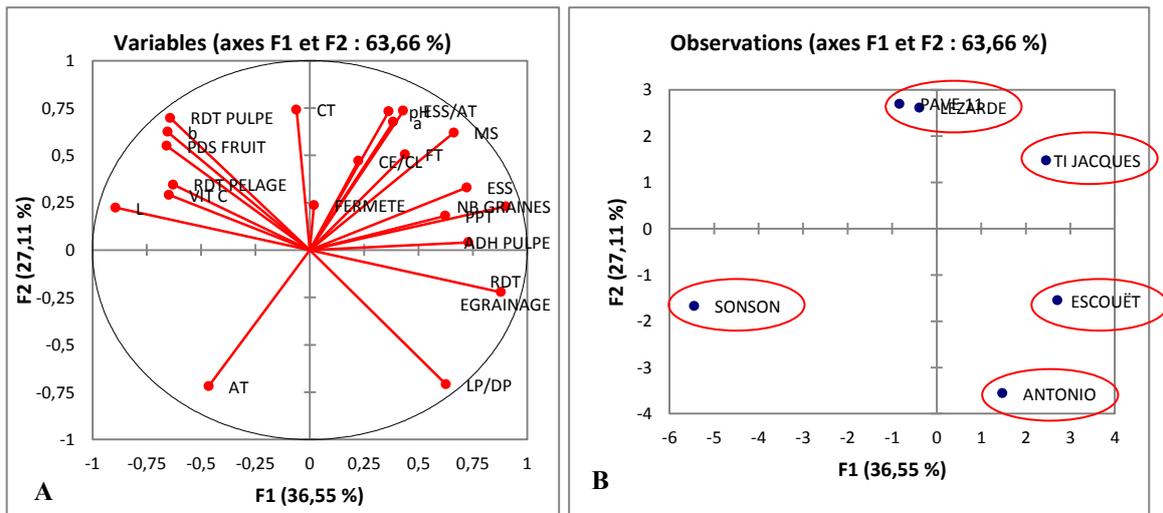
L'analyse de la matrice des corrélations des variables a permis de mettre en évidence les variables qui s'associent et celles qui s'opposent en s'appuyant sur la valeur du coefficient de corrélation ( $r$ ).

Les corrélations entre variables les plus pertinentes sont présentées ci-après.

Le poids des fruits est fortement corrélé à la teneur en vitamine C ( $r=0,85$ ). Les fruits de gros calibre sont donc plus riches en vitamine C. La fermeté des fruits entiers est corrélée à la teneur en polyphénols totaux ( $r=0,78$ ). La composante  $a^*$  est fortement corrélée aux teneurs en flavonoïdes totaux ( $r=0,89$ ) et polyphénols totaux ( $r=0,80$ ). Ces fortes corrélations suggèrent que la variabilité de la couleur de la pulpe peut être due à la variabilité des teneurs en flavonoïdes et polyphénols totaux. Les teneurs en flavonoïdes totaux et en extrait sec soluble sont associées avec la teneur en matière sèche ( $r>0,80$ ). Ainsi, la teneur élevée en matière sèche ou la faible teneur en eau des fruits de certaines accessions pourrait expliquer qu'ils soient plus riches en flavonoïdes totaux et en extrait sec soluble.

### II.2.2.5.c Etude de la répartition des individus par rapport aux variables

L'ensemble des variables étudiées sont bien représentées sur les composantes principales 1, 2, 3 et 4. Le cercle des corrélations (F1-F2) indique les variables qui contribuent à la formation des composantes principales 1 et 2 (Figure 33). Le nombre de graines, le rendement d'égrainage, la luminosité ( $L^*$ ) de la pulpe, l'adhérence de la pulpe aux graines et la teneur en extrait sec soluble sont principalement corrélés à la composante 1. Tandis que, le rendement en pulpe, les composantes  $a^*$  et  $b^*$ , la teneur en caroténoïdes totaux, le pH, l'acidité titrable et le rapport ESS/AT contribuent à la formation de la composante 2.



**Figure 33: Cercle des corrélations (A) et répartition des individus (B) pour le plan factoriel 1-2**

La distribution des accessions sur le plan factoriel 1-2 est donnée dans la figure 33. L'ensemble des accessions est bien représenté sur ce plan factoriel. Pavé 11 et Lézarde se distinguent car ils forment un groupe homogène. La composante 1 oppose Sonson, caractérisée par des fruits contenant peu de graines dont la pulpe est lumineuse, à Ti Jacques et Escouët dont les fruits sont plus sucrés. L'analyse en composantes principales apporte une information supplémentaire concernant l'adhérence de la pulpe aux graines. L'accession Sonson est anti-corrélée à cette variable. Elle se distingue donc avec une pulpe très peu adhérente aux graines comparée aux autres accessions. La composante 2 oppose Pavé 11 et Lézarde, produisant des fruits plus pulpeux, plus sucrés et plus riches en caroténoïdes totaux, à Antonio.

Sonson, Escouët et Ti Jacques sont bien représentées sur le plan factoriel 1-3 (Figure 34). La fermeté et les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux contribuent à la formation de la composante 3 (Figure 34). Escouët est fortement corrélée avec la variable polyphénols totaux, Ti Jacques, avec la teneur en flavonoïdes totaux. Ti Jacques produit les fruits les moins fermes car elle est anti-corrélée à la variable fermeté.

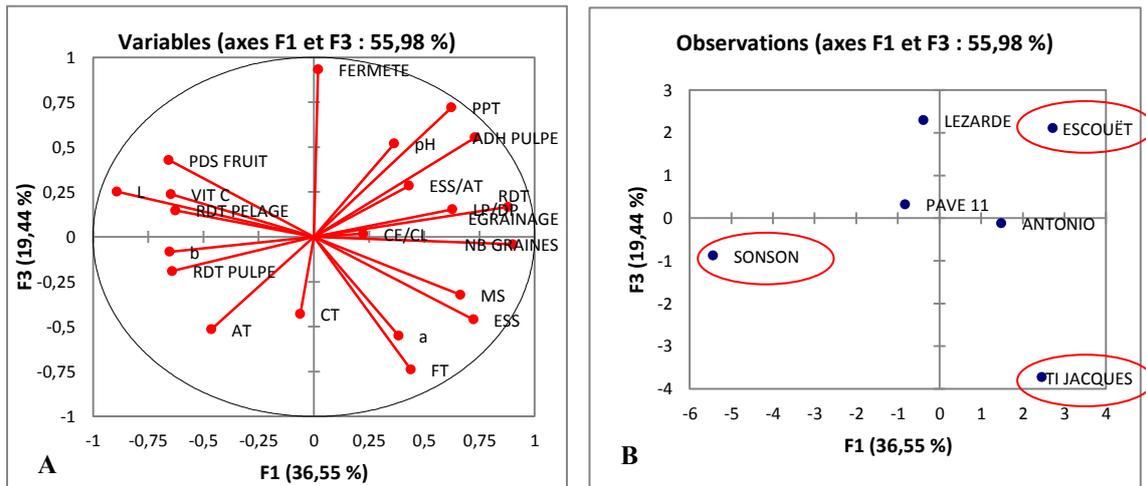


Figure 34: Cercle des corrélations (A) et répartition des individus (B) pour le plan factoriel 1-3

Sonson, Escouët et Pavé 11 sont bien représentées sur le plan factoriel 1-4 (Figure 35). La variable CE/CL et la teneur en vitamine C sont bien représentées sur la composante 4 (Figure 35). Pavé 11, caractérisé par des fruits de forme elliptique, est corrélée à CE/CL. La composante 4 oppose Sonson, qui produit des fruits plus riches en vitamine C, à Escouët.

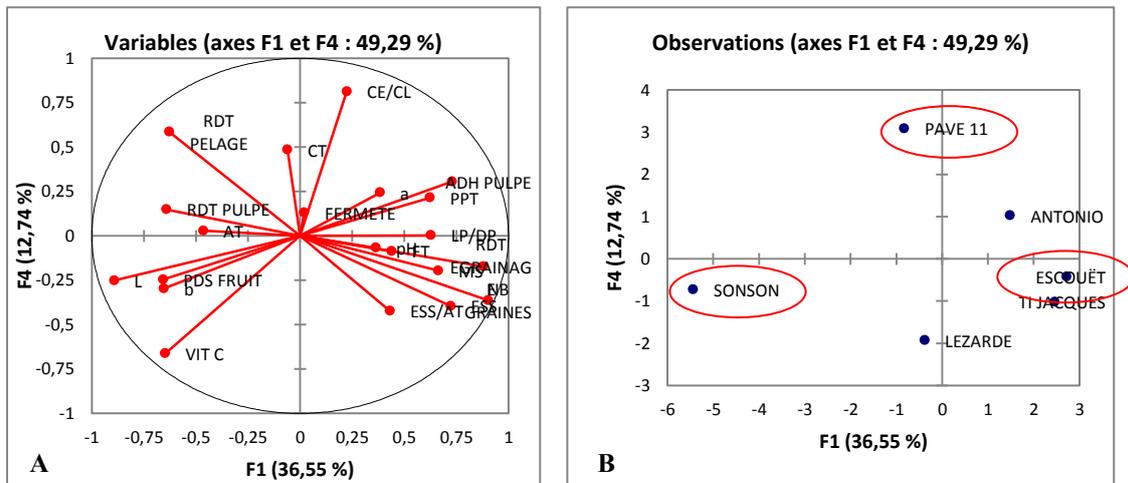


Figure 35 : Cercle des corrélations (A) et répartition des individus (B) pour le plan factoriel 1-4

Sur l'ensemble des 6 accessions étudiées, seules Pavé 11 et Lézarde forment un groupe homogène (Figure 33). Leurs fruits présentent donc des caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles similaires. L'analyse en composantes principales met également en évidence la forte variabilité existant entre les fruits produits par les accessions Sonson, Ti Jacques, Antonio et Escouët.

### II.2.2.6 Classification ascendante hiérarchique sur les caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles

La CAH a été établie, au moyen du logiciel UNIWIN Plus version 6.1, à partir d'un tableau de données à double entrée comprenant 21 variables et 180 observations (30 fruits collectés par accession) (Tableau 17).

Cette dernière méthode d'analyse statistique a permis d'obtenir un classement des accessions. La figure 36 présente l'arbre de classification obtenu. Les figures 37, 38 et 39 indiquent les individus constituant chacune des classes obtenues. Chacun des individus a été nommé par l'initial de l'accession suivi d'un chiffre de un à trente.

Deux groupes se différencient :

- un groupe I incluant Pavé 11, Lézarde, Ti Jacques, Escouët et Antonio
- un groupe II comprenant l'accession Sonson.

Le poids du fruit contribue à 92% à la formation de ces deux groupes. La teneur en polyphénols y contribue également mais dans une moindre mesure (7%).

Le groupe II (nœud 344) comprend une majorité des fruits collectés (72%) pour l'accession Sonson (Figure 37). Elle se distingue clairement des autres accessions (groupe I, nœud 352). Ce comportement s'explique par sa teneur moyenne en polyphénols (91 mg/100g) qui est inférieure à celle du groupe I (129 mg/100g). Nous observons également que la majorité des fruits de Sonson pèse en moyenne 911 grammes. Sa production est donc constituée de fruits de gros calibre mais moins riches en polyphénols que les autres accessions.

Le groupe I comporte deux sous-groupes (i et ii). Dans ce groupe I, Antonio (ii, nœud 346) se différencie de Pavé 11, Lézarde, Escouët et Ti Jacques (Figure 38). Antonio est caractérisé par des fruits de petit calibre (pesant en moyenne 509 grammes) avec une teneur élevée en polyphénols (126 mg/100g en moyenne).

Dans le sous-groupe i, plus de la moitié des fruits récoltés (66%) pour l'accession Ti Jacques (ib) se démarque de ceux de Pavé 11, Lézarde et Escouët, par rapport au petit calibre des fruits (pesant en moyenne 589 grammes) (Figure 39).

Les accessions Pavé 11, Lézarde et Escouët se scindent en deux groupes (ic et id, nœuds 348 et 349) :

- un groupe (ic) incluant une majorité de la production d'Escouët et Lézarde, dont les fruits sont riches en polyphénols (en moyenne 145 mg/100g)
- un groupe (id) comprenant une majorité de fruits provenant de l'accession Lézarde qui sont de gros calibre (pesant en moyenne 1033 grammes).

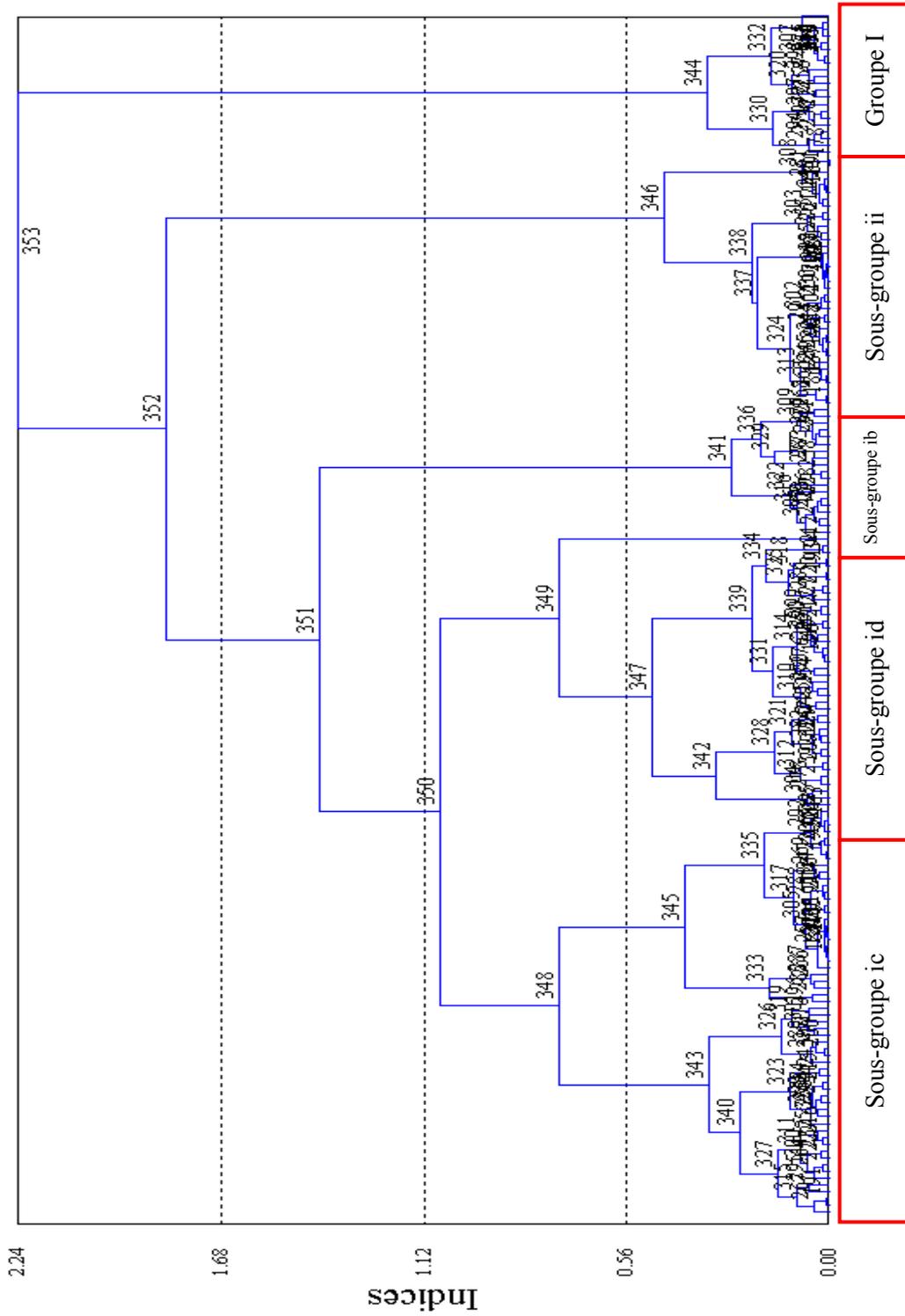


Figure 36 : Arbre de classification

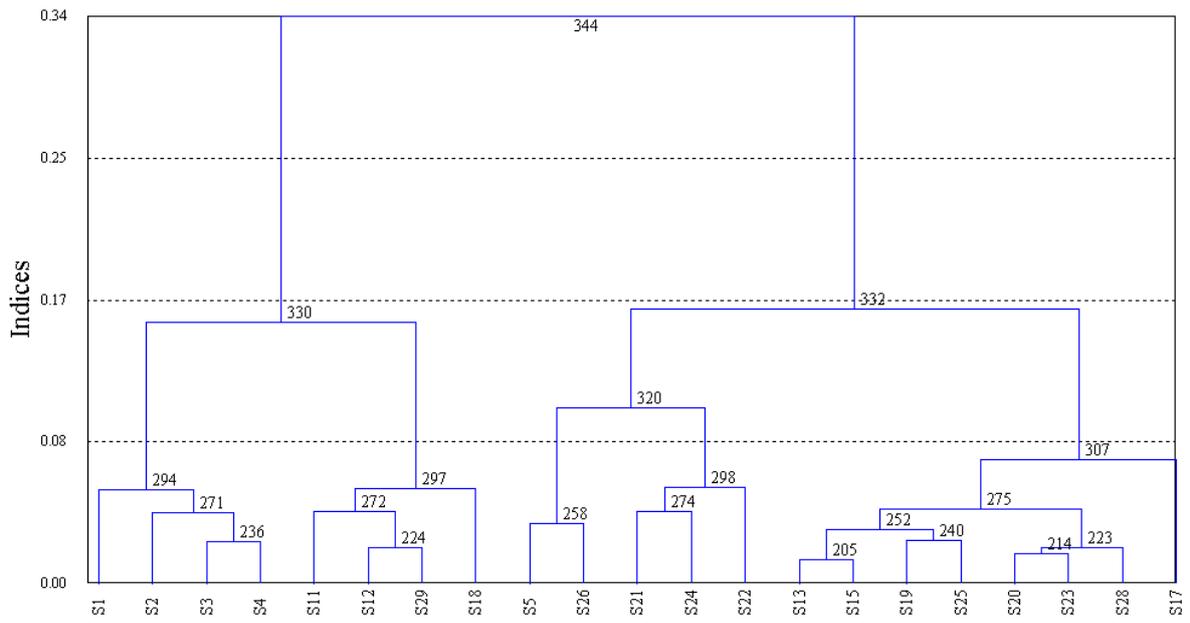


Figure 37 : Arbre de classification (groupe I, nœud 344)

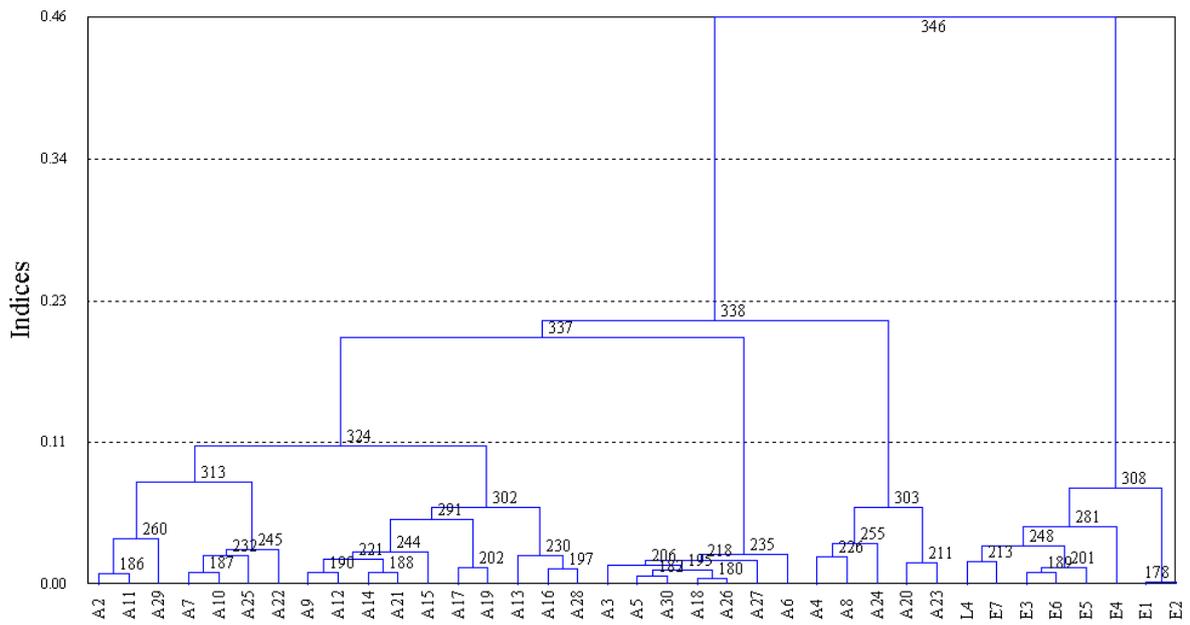


Figure 38 : Arbre de classification (Sous-groupe ii, nœud 346)

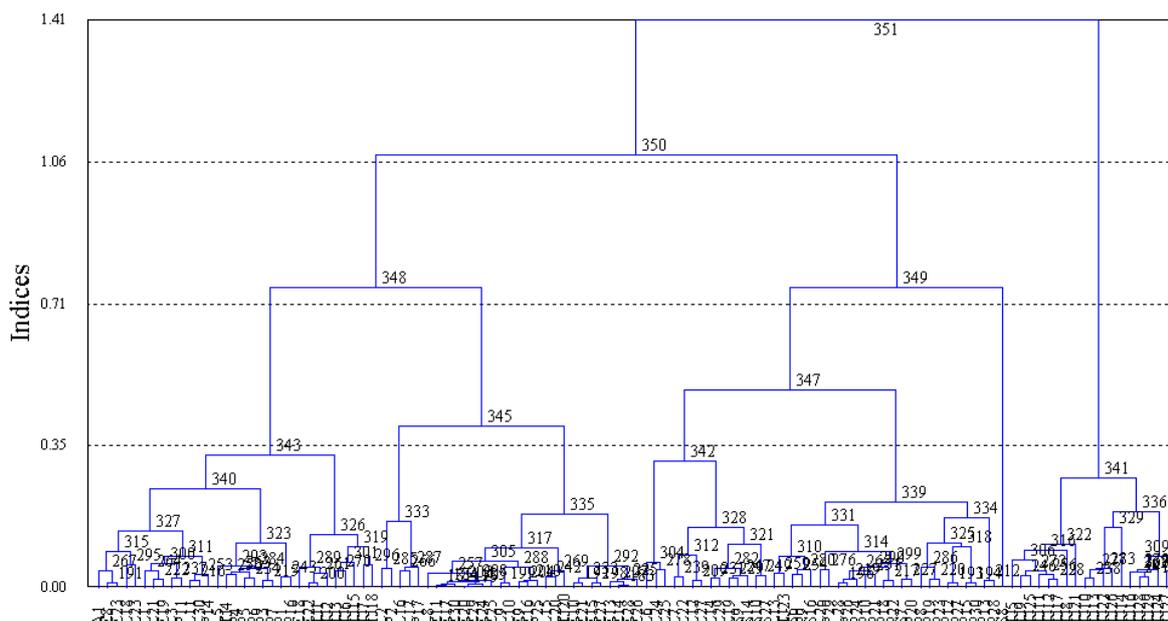


Figure 39 : Arbre de classification (Sous-groupes id et ic, nœuds 348 et 349)

En conclusion, l’arbre de classification met en évidence 5 groupes regroupés dans deux ensembles et qui se différencient par le poids des fruits et la teneur en polyphénols totaux (Tableau 18).

Tableau 18 : Classification des accessions

Groupe/ sous-groupe	Accession	Pourcentage de fruits récoltés	Poids moyen des fruits (g)	Teneur moyenne en polyphénols totaux (mg EAG/100g)
<b>II</b>	Sonson	72%	911	91
	Antonio	97%		
<b>ii</b>	Lézarde	3%	509	126
	Escouët	24%		
	Escouët	76%		
<b>ic</b>	Lézarde	54%	824	145
	Pavé 11	40%		
	Ti Jacques	31%		
	Antonio	3%		
<b>ia</b>	Pavé 11	60%	1033	112
	Lézarde	43%		
	Sonson	28%		
	Ti Jacques	3%		
<b>ib</b>	Ti jacques	66%	589	123

La classification ascendante hiérarchique a révélé que la majorité des fruits récoltés pour Sonson, Antonio et Ti jacques forment trois groupes distincts, ce qui confirme les résultats obtenus par l'analyse en composantes principales. Ces accessions ne sont donc pas homogènes. Par contre la majorité des fruits récoltés pour les accessions Escouët, Lézarde et Pavé 11 se retrouvent dans un même groupe. Elles présentent donc des caractéristiques similaires en particulier le poids des fruits et la teneur en polyphénols totaux.

### II.2.2.7 Conclusions

Des différences statistiquement significatives, en termes de caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles, ont été observées entre les accessions étudiées. Ces différences peuvent être dues essentiellement à leur génotype car elles se sont développées dans les mêmes conditions écologiques et selon le même mode de culture. Une étude de diversité génétique serait à envisager dans le prolongement de ces travaux, afin de valider cette hypothèse.

Le tableau 19 récapitule les points forts et points faibles des différentes accessions :

**Tableau 19 : Récapitulatif des points forts et points faibles des différentes accessions**

	Points forts	Points faibles
Lézarde	Fruit de gros calibre et pulpeux Fruit ferme Pulpe sucrée	Fruit contenant beaucoup de graines
Sonson	Fruit de gros calibre et pulpeux Faible adhérence de la pulpe aux graines Fruit contenant peu de graines Teneur en vitamine C	Teneur en polyphénols totaux Teneur en flavonoïdes totaux
Pavé 11	Fruit de gros calibre et pulpeux Pulpe sucrée Teneur en caroténoïdes Teneur en polyphénols totaux Teneur en flavonoïdes totaux	Nombre de graines
Escouët	Teneur en polyphénols totaux	Fruit contenant beaucoup de graines Fruit de petit calibre Forte adhérence de la pulpe aux graines
Ti Jacques	Pulpe de couleur orange Teneur en caroténoïdes Teneur en flavonoïdes totaux Pulpe sucrée	Fruit de petit calibre Fruit contenant beaucoup de graines
Antonio	Pulpe jaune orange	Fruit de petit calibre

Pavé 11, Lézarde et Sonson se différencient principalement par leurs fruits pulpeux et de gros calibre. Les poids moyen des fruits, variant entre 864 et 1104 grammes, sont supérieurs aux valeurs mentionnées dans la littérature. Ces accessions produisent également des fruits dont

la pulpe adhère peu aux graines. Sonson se distingue clairement des autres accessions avec des fruits présentant un rendement élevé en pulpe et un faible rendement d'égrainage.

Le pH, l'acidité titrable, les teneurs en extrait sec soluble et en matière sèche sont des indicateurs clés de la maturité qu'il convient d'établir sur les fruits à la récolte. Ainsi, l'évaluation de ces paramètres permet aux producteurs et aux transformateurs de s'assurer que les fruits parviennent aux consommateurs avec une qualité gustative optimale. Le ratio Extrait sec soluble / acidité titrable correspondant aux fruits produits par Pavé 11 et Lézarde est 3 à 4 fois plus élevé que celui de Sonson. Leurs fruits sont donc plus gouteux et moins acides que ceux de Sonson. Les résultats obtenus mettent en évidence une forte adaptabilité à la transformation pour Sonson, Pavé 11 et Lézarde.

Lézarde et Pavé 11 peuvent donc être préconisées pour la consommation en frais ou pour la fabrication de boissons. Sonson, qui produit des fruits plus acides, peut être valorisée sous forme de confiture. En effet, l'acidité favorise la gélification et assure une meilleure conservation.

Antonio, Escouët et Ti Jacques sont caractérisés par des fruits de plus petit calibre avec un rendement en pulpe plus faible que ceux de Sonson, Pavé 11 et Lézarde. Cependant le poids moyen de leurs fruits, compris entre 567 et 649 grammes, reste comparable aux valeurs retrouvées dans la littérature. Ti Jacques se différencie d'Escouët et Antonio par rapport à ses fruits dont la pulpe est sucrée. Cette accession peut donc être préconisée pour une valorisation en frais.

Par ailleurs, la couleur de la pulpe constitue un critère visuel essentiel qui déterminera l'acceptabilité du produit par le consommateur (Abbott, 1999). Les résultats de l'analyse en composantes principales ont montré que la variabilité de la couleur de la pulpe peut être due à la variabilité des teneurs en caroténoïdes. Ti Jacques est la seule accession produisant des fruits dont la pulpe est de couleur orange, ce qui constitue un atout supplémentaire pour la consommation en frais.

La fermeté du fruit entier est un critère important permettant d'évaluer la sensibilité des fruits aux dommages qui peuvent survenir tout au long du processus de commercialisation (Kramer, 1964). Les fruits produits par Antonio, Escouët, Pavé 11 et Lézarde sont plus fermes que ceux de Sonson et Ti Jacques. Ces accessions sont donc plus aptes à la manutention, au transport et au stockage.

Concernant la teneur en matière sèche, Ti Jacques présente la teneur moyenne la plus élevée suivie d'Antonio et Escouët, puis Pavé 11 et Lézarde. C'est une valeur qu'il est nécessaire

d'identifier d'un point de vue technologique pour la conduite de nombreux procédés de transformation.

Concernant la composition des accessions en antioxydants, Pavé 11 se distinguent avec des fruits dont la pulpe est riche aussi bien en caroténoïdes, qu'en polyphénols et en flavonoïdes totaux.

Aux vues des résultats de l'étude de caractérisation, Pavé 11 et Lézarde représentent le meilleur compromis. En effet, elles sont aptes à être transformées et possèdent des caractéristiques fonctionnelles intéressantes. Elles peuvent être également valorisées par la vente en frais.

Les polyphénols présents dans les fruits de *Mammea americana* n'ont fait l'objet d'aucune étude. Il s'agira donc dans les sections suivantes, d'identifier et de quantifier les polyphénols spécifiques de la pulpe des fruits des six accessions dans un premier temps, puis évaluer leur capacité antioxydante.

Selon les résultats de l'analyse en composantes principales et de la classification ascendante hiérarchique, Pavé 11 et Lézarde se trouvent dans un même groupe homogène. Elles seront donc regroupées dans un même ensemble pour la suite des analyses (Caractérisation des composés phénoliques et activité antioxydante).

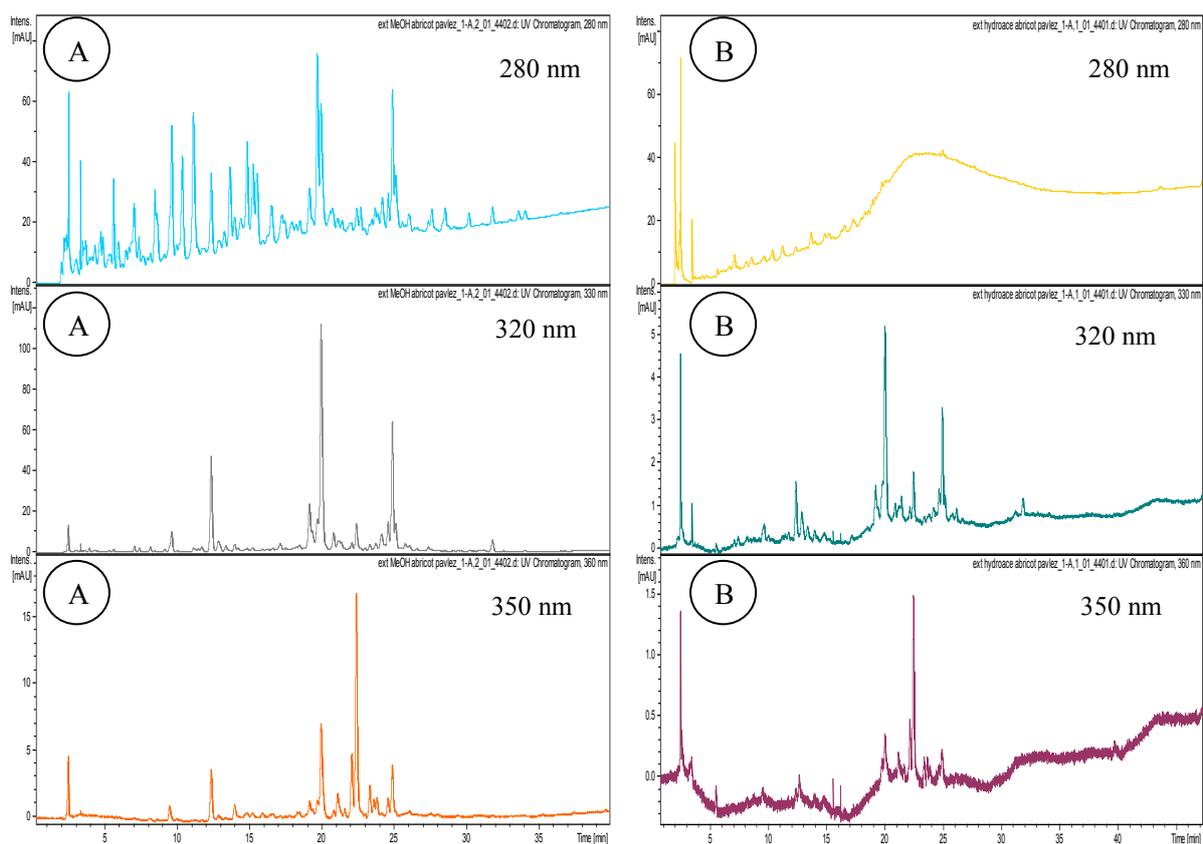
## II.2.3 Caractérisation des composés phénoliques de la pulpe

### II.2.3.1 Analyses préliminaires

La composition du solvant est un paramètre qui peut influencer fortement l'efficacité de l'extraction, ainsi que la résolution des pics chromatographiques. Les solvants méthanolique, acétonique, éthanolique ou sans ajout d'eau sont les plus employés (Sun et Ho, 2005). Nous avons donc mis en place des analyses préliminaires afin de déterminer le solvant le plus adapté pour l'analyse chromatographique de nos échantillons. Deux solvants de natures différentes sont testés :

- Un solvant méthanol : acide acétique (99 : 1 ; v/v)
- Un solvant acétone : eau : acide acétique (70 : 29 : 1 ; v/v/v).

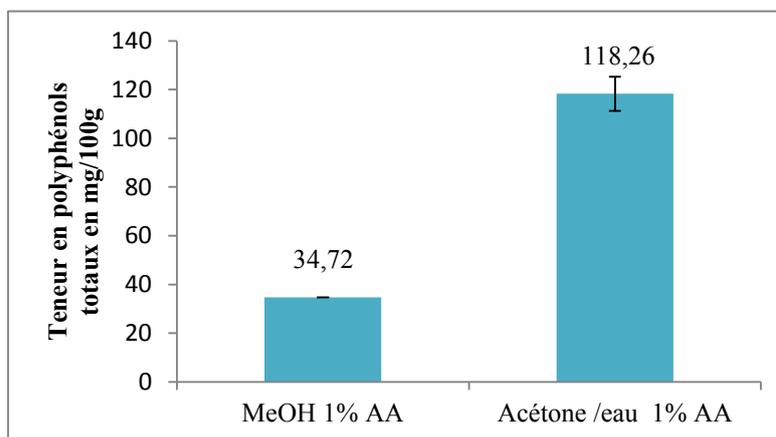
Les profils chromatographiques des extraits au méthanol et hydroacétonique sont présentés dans la figure 40.



**Figure 40: Chromatogrammes des extraits méthanol (A) et hydroacétonique (B) à différentes longueurs d'onde (accession pavé 11-Lézarde)**

Nous observons que les pics chromatographiques de l'extrait méthanol (A) sont bien résolus aux différentes longueurs d'ondes analysées. Par contre, le profil d'éluion de l'extrait

hydroacétonique (B) à 280 nm, 320 nm et 350 nm présente une mauvaise séparation des pics chromatographiques rendant ainsi l'analyse qualitative et quantitative relativement difficile. En effet, les chromatogrammes sont caractérisés par une augmentation de la ligne de base sur la majeure partie du profil, en particulier à 280 nm. Nous avons réalisé un dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu sur les deux extraits selon le protocole décrit dans la section II.1.2.4.a. Le dosage est répété trois fois et les résultats sont exprimés en mg d'équivalent acide gallique pour 100 g de matière fraîche (Figure 41). Nous notons que la teneur en composés phénoliques totaux de l'extrait hydroacétonique est au moins trois fois plus élevée que celle de l'extrait méthanol. D'un point de vue quantitatif, les polyphénols sont donc mieux extraits dans le solvant hydroacétonique. Les objectifs de notre étude étant non seulement quantitatif mais aussi qualitatif, nous retenons le solvant méthanol donnant une meilleure résolution des pics chromatographiques pour l'analyse par HPLC des extraits.

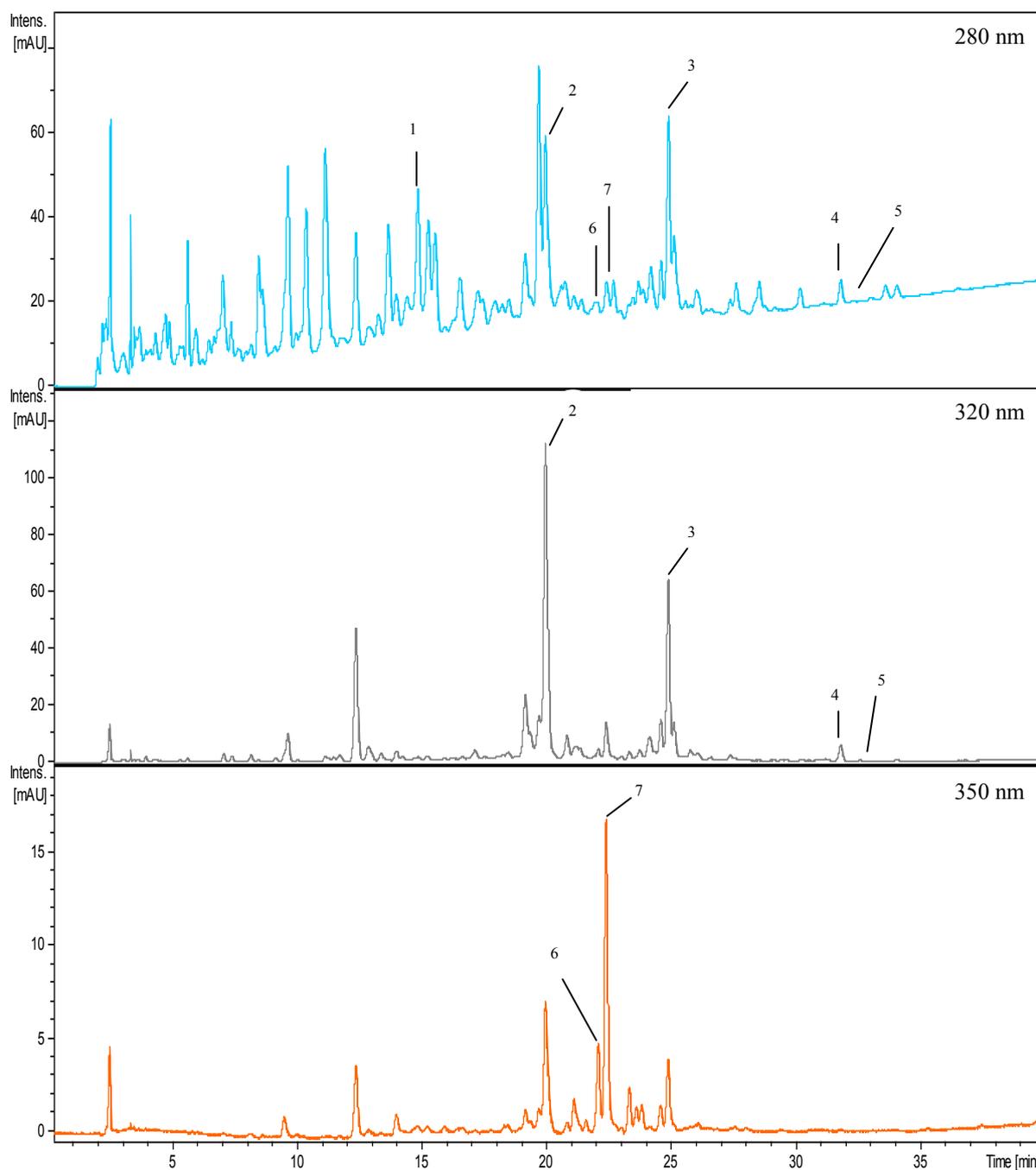


**Figure 41 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits méthanolique et hydroacétonique (MeOH 1% AA : méthanol : acide acétique (99 : 1 ; v/v) ; Acétone/eau 1% AA : acétone : eau : acide acétique (70 : 29 : 1 ; v/v/v))**

### II.2.3.2 Analyses qualitatives des composés phénoliques bruts

L'identification des composés présents dans les extraits de pulpe des différentes accessions par HPLC-DAD est basée sur la comparaison de leur spectre d'absorption et de leur temps de rétention avec ceux des standards analysés dans les mêmes conditions. Vu la grande similarité de composition phénolique des différents échantillons, seul le profil d'éluion de l'accession Pavé 11-Lézarde sera présenté ci-dessous (Figure 42). Le profil chromatographique des composés issus des extraits a été suivi à 280 nm, la longueur d'onde caractéristique des composés phénoliques. En effet, le cycle phénolique se caractérise par un pic d'absorption maximum à 280 nm. Le cycle B des flavones et des flavonols est caractérisé généralement par

un pic d'absorption qui se situe dans un intervalle compris entre 300 nm et 380 nm. Les acides hydroxycinnamiques présentent un pic d'absorption maximum à 320 nm. C'est la raison pour laquelle les chromatogrammes aux longueurs d'onde caractéristiques de 320 nm et 350 nm ont été aussi analysés.



**Figure 42: Chromatogrammes de l'extrait méthanol de Pavé 11-Lézarde obtenus par analyse HPLC-DAD**

(1 : (-)-épicatéchine ; 2 : Dérivé hexoside de l'acide sinapique ; 3 : Acide hydroxycinnamique 1 ; 4 : Acide hydroxycinnamique 2 ; 5 : Acide hydroxycinnamique 3 ; 6 : Quercétine-3-O-galactoside (ou Hyperoside) ; 7 : Quercétine-3-O-glucoside (ou Isoquercitrine))

Les sept composés caractérisés se regroupent en trois classes de composés phénoliques selon les profils et les maxima d'absorption des spectres (Tableau 20) :

- La première classe comprend un flavan-3-ol, la (-)-épicatéchine (**1**), correspondant à un composé polaire
- La deuxième classe de composés correspond aux acides hydroxycinnamiques, à savoir un dérivé hexoside de l'acide sinapique (**2**) et trois composés (**3**, **4** et **5**) qui n'ont pas pu être identifiés
- La troisième classe est celle des flavonols avec la quercétine-3-O-galactoside (**6**) et la quercétine-3-O-glucoside (**7**).

Les mêmes composés sont observés pour les autres échantillons (Sonson, Escouët, Antonio et Ti Jacques) avec des différences relatives d'intensité de pics.

**Tableau 20 : Identification et caractéristiques spectrales des composés phénoliques présents dans les extraits de pulpe d'abricot-pays**

Pic N°	Composés	Classe phénolique	Longueur d'onde de quantification (nm)	Temps de rétention (min)
1	(-)-épicatéchine	Flavan-3-ol	280	15,2
2	Dérivé hexoside de l'acide sinapique	Acide hydroxycinnamique	320	19,9
3	Acide hydroxycinnamique 1		320	24,8
4	Acide hydroxycinnamique 2		320	31,5
5	Acide hydroxycinnamique 3		320	32,28
6	quercétine-3-O-galactoside	Flavonol	350	22
7	quercétine-3-O-glucoside		350	22,4

Les acides hydroxycinnamiques, retrouvés dans nos échantillons, sont une classe majoritaire des composés phénoliques. Ils sont très répandus dans le règne végétal et connus pour leurs effets biologiques importants (Tapiero *et al.*, 2002). Par contre, trois autres composés tels que la (-)-épicatéchine, la quercétine-3-O-galactoside et la quercétine-3-O-glucoside ont été clairement identifiées dans nos extraits. On les retrouve également dans la pomme, le raisin rouge, l'abricot et la mangue (Guyot *et al.*, 2002 ; Dragovic-Uzelac *et al.*, 2007 ; Alonso Borbalán *et al.*, 2003 ; Schieber, Ullrich et Carle, 2000). Ces molécules sont généralement présentes dans beaucoup de fruits, légumes et boissons. Ils possèdent de nombreuses propriétés biologiques avec notamment un effet antioxydant important.

Concernant les anthocyanes, l'analyse des chromatogrammes obtenus à 520 nm a révélé que ces composés sont absents de nos échantillons.

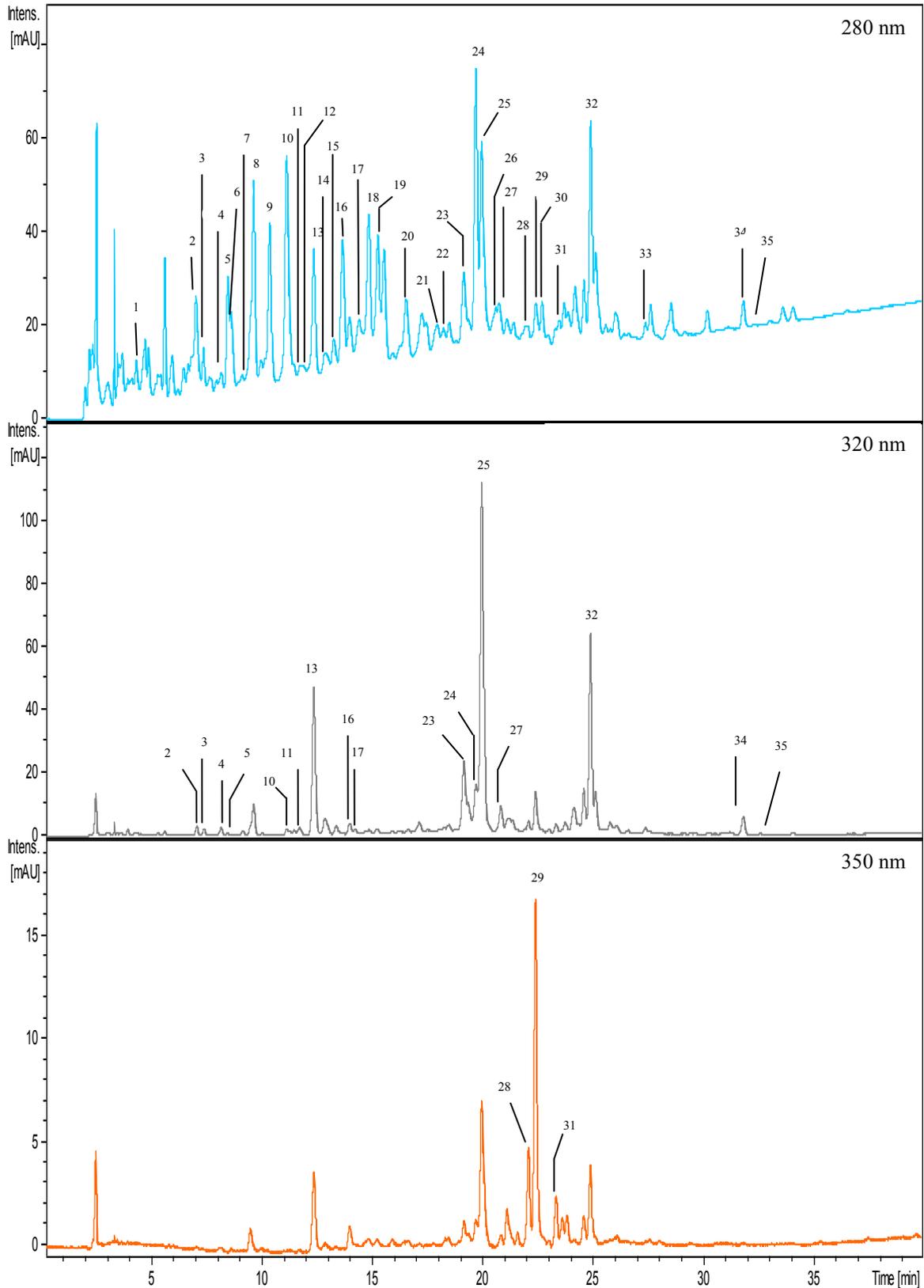
Afin de confirmer les composés identifiés (1, 2, 6 et 7), de tenter d'identifier les molécules 3, 4 et 5 et de caractériser les autres pics chromatographiques, nous avons décidé de coupler l'HPLC-DAD à la spectrométrie de masse (MS).

Après analyse des temps de rétention, des caractéristiques spectrales et des fragmentations acquises par HPLC-MS-ESI, nous avons identifié ou tenté d'identifier 33 composés dans les extraits de pulpe d'abricot-pays (Figure 43). Les données analytiques enregistrées par MS pour chaque pic chromatographique sont présentées dans le tableau 21. Les classes phénoliques retrouvées dans nos échantillons sont les suivantes : 10 acides hydroxycinnamiques glycosylés et quelques dérivés (pics n° 4, 10, 11, 12, 13, 16, 23, 25, 26, 32), 6 acides hydroxybenzoïques glycosylés et quelques dérivés (pics n° 2, 3, 5, 9, 17, 24), 7 flavan-3-ols dont un composé monomérique et 6 sous-forme de dimère ou trimère (pics n° 8, 14, 15, 18, 20, 21, 33) et 3 flavonols glycosylés (pic n° 28, 29, 31).

Les acides phénoliques représentent un tiers des phénols alimentaires. Ils sont généralement retrouvés dans presque toutes les plantes sous forme libres ou liés à une molécule de sucre ou par une liaison de type éther, ester ou acétale à une autre molécule. Ces composés présentent un intérêt grandissant et sont de plus en plus étudiés pour leur activité antioxydante *in vitro* (Zadernowski, Czaplicki et Naczka, 2009). Nous observons que les acides phénoliques caractérisant nos extraits sont généralement glycosylés. D'autre part, l'acide caféique est le composé majoritaire représentatif des acides hydroxycinnamiques. On le retrouve dans les aliments principalement sous forme d'acide chlorogénique (ou acide 5-caféoylquinique) (Tapiero *et al.*, 2002). Dans le cas de nos échantillons, il est présent uniquement sous forme glycosylé. Par ailleurs, les analyses effectuées en couplant l'HPLC au MS ont permis de :

- Confirmer la présence d'un dérivé hexoside de l'acide sinapique (pic n° 25) qui serait lié à un composé caractérisé par un rapport  $m/z$  égal à 216
- Mettre en évidence la présence de l'acide sinapique hexoside (pic n°32).

Les deux autres acides hydroxycinnamiques détectés par HPLC-DAD précédemment, aux temps de rétention 31,5 et 32,28 minutes (pic n° 34 et 35 sur la figure 41), n'ont pas pu être identifiés par HPLC-MS. D'autre part, nous avons remarqué que pour des temps de rétention compris entre 19 et 20,5 min, nous obtenons beaucoup d'acides phénoliques liés à un composé ayant un rapport  $m/z$  égal à 216.



**Figure 43 : Composés identifiés dans l'extrait de pulpe de Pavé 11-Lézarde par analyse HPLC-MS**  
 (Composés 1 à 33 présentés dans le tableau 21)

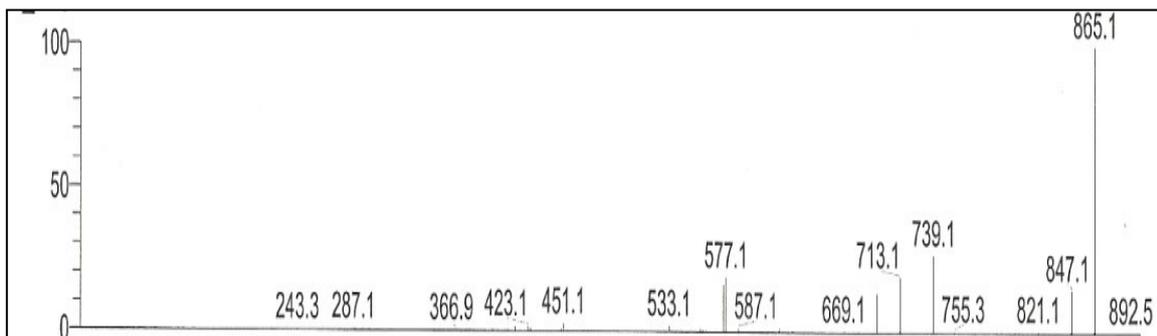
**Tableau 21 : Composés identifiés dans les extraits de pulpe d'abricot-pays par analyse HPLC-MS**  
**(Rt : temps de rétention ; n.i : non identifié)**

Pic N°	Rt (min)	$\lambda$ max (nm)	[M-H] <sup>-</sup> (m/z)	MS <sup>2</sup> (m/z)	MS <sup>3</sup> (m/z)	Propositions des structures
1	4,3	285	277	161, 233	143, 113	n.i
2	7	279	331	169		Acide gallique hexoside
3	7,3	254-287	315	153		Acide protocatechuique hexoside
4	8,1	272	165	153	150	Acide hydroxyphenyl propionique
5	8,4	263-299	359	197		Acide syringique hexoside
6	8,55	271	495	297	253, 177	n.i
7	9,4	275-330	479	281, 237	237, 171, 207	n.i
8	10	270	577	425, 407, 289		Procyanidine B1
9	10,3	268	313	295, 255, 181		Syringaldehyde pentoside
10	11,1	283	243	163, 199		Dérivé de l'acide coumarique
11	11,6	274-320	341	179	135	Cafféoyl glucose
12	12,3	315	325	163		Coumaroyl hexoside
13	12,8	285-308	369	223, 205		Sinapoyl deoxyhexose
14	13,2	278	865	695, 577, 407	289, 405, 451, 677	Procyanidine trimère
15	13,6	280	577	425, 407, 289	285, 389	Procyanidine B2
16	13,8	275	355	193, 217, 175	133, 177	Feruloyl glucose
17	14,8	278-320	557	359, 197	197	Dérivé hexoside de l'acide syringique
18	15,2	279	289	245, 205	203	(-)-Epicatechine
19	15,5	270	281	237, 171	171, 189, 207	n.i
20	16,4	279	865	695, 577, 407	289, 405, 451, 677	Procyanidine trimère
21	17,8	276-320	865	695, 577, 407	289, 405, 451, 677	Procyanidine C1
22	18,2	276-315	385			n.i
23	19	280-313	583	385	223, 179	Acide sinapique hexoside + 216
24	19,6	280-319	557	521	359	Acide syringique hexoside + 216
25	19,9	318	583	385	223, 179	Acide sinapique hexoside + 216
26	20,5	275	583	385	223, 179	Acide sinapique hexoside + 216
27	20,7	258-278-302	527	377, 257	257	n.i
28	22	254-354	463	301	300, 179, 151	Quercétine hexoside (hyperoside)
29	22,3	249-350	463	301	300, 179, 151	Quercétine hexoside (isoquercitrine)
30	22,6	255	289			n.i
31	23,2	250-354	433	301	179, 151	Quercétine pentoside
32	24,8	259-315	385	223, 179	179	Acide sinapique hexoside
33	27,3	270	577	425, 407, 289		Procyanidine B5

Concernant la classe des flavan-3-ols, nous avons clairement identifié l'(-)-épicatéchine, très souvent présente dans les fruits comme le raisin et également dans le thé (Heim, Tagliaferro, et Bobilya, 2002 ; Perestrelo *et al.*, 2012).

Les rapports  $m/z$  (577) des ions moléculaires  $[M-H]^-$  des composés 8, 15 et 33 indiquent que ce sont des procyanidines sous forme de dimères de type B. Ces composés sont détectés à des temps de rétention différents à cause des molécules qui les constituent ou de leur stéréochimie. Nos analyses nous ont permis d'identifier les procyanidines B1 (épicatéchine-4 $\beta$ ,8-catéchine), B2 (épicatéchine-4 $\beta$ ,8-épicatéchine) et B5 (épicatéchine-4 $\beta$ ,6-épicatéchine) dans nos extraits de pulpe par comparaison des temps de rétention et des caractéristiques spectrales avec ceux des standards analytiques. Le vin rouge contient également des procyanidines B1 et B2 (Sun *et al.*, 2007). Nous n'avons pas retrouvé de procyanidines de type A dans nos échantillons.

Les rapports  $m/z$  (865) des ions moléculaires  $[M-H]^-$  des composés 14, 20 et 21 caractérisent les procyanidines sous formes de trimères (Figure 44). Nous avons pu clairement identifier le trimère C1 (épicatéchine-4 $\beta$ ,8-épicatéchine-4 $\beta$ ,8-épicatéchine) dans la pulpe d'abricot-pays. C'est un composé présent également dans le vin rouge (Carando, Teissedre et Cabanis, 1999). Les deux autres trimères n'ont pas pu être déterminés. Cependant, nous pouvons émettre l'hypothèse que le trimère (pic n°14) élué avant le trimère C1 (pic n°21) pourrait être constitué de deux unités épicatéchines et d'une unité catéchine le rendant plus polaire que le trimère C1.



**Figure 44 : Spectre de masse du trimère C1**

Les flavonols sont généralement représentés dans les fruits par la myricétine, la quercétine et le kaempférol. La quercétine, présente dans beaucoup de fruits, légumes et boissons, est le flavonol majoritaire de notre alimentation (Tapiero *et al.*, 2002). Deux des flavonols détectés (pics n°28 et 29) ont été clairement caractérisés : la quercétine-3-O-galactoside et la

quercétine-3-O-glucoside. Nous avons également détecté une quercétine liée à un pentose (pic n°31).

En nous appuyant sur les schémas de fragmentation et les caractéristiques spectrales rapportés dans la littérature, nous avons tenté de proposer des structures pour les composés n°1 et 3. Selon Liu *et al.*, (2013), la méranzine hydraté, appartenant à la famille des coumarines, présente le même schéma de fragmentation que le composé n°1 contenu dans nos échantillons ( $m/z [m-H]^- = 277$  et  $m/z MS^2 = 233$ ). En se basant sur le schéma de fragmentation obtenu par Perestrelo *et al.*, (2012), le composé n°3 serait un acide protocatéchique lié à une molécule de glucose ( $m/z [m-H]^- = 315$  et  $m/z MS^2 = 153$ ).

### II.2.3.3 Analyses quantitatives des composés phénoliques bruts

Les résultats des analyses quantitatives des composés phénoliques monomères sont donnés dans le tableau 22. Notons qu'au cours de nos analyses tous les composés n'ont pas été quantifiés car il n'y a pas d'étalons commerciaux.

**Tableau 22 : Concentration des composés phénoliques contenus dans la pulpe des 5 accessions étudiées (Concentrations exprimées en mg/100 g de MF ; Rt : temps de rétention en minutes ; HCA : Acide HydroxyCinnamique)**

Pic n°	Rt (min)	Composés	Coefficient de réponse (mole/uDO)	Ti Jacques	Pavé11-Lézarde	Antonio	Escouët	Sonson
18	15,2	(-)-épicatéchine	$4,98 \times 10^{-15}$	2,40 $\pm 0,01$	1,96 $\pm 0,03$	2,47 $\pm 0,05$	2,38 $\pm 0,01$	2,16 $\pm 0,02$
25	19,9	Dérivé de l'acide sinapique hexoside	$9,62 \times 10^{-16}$ ( $\text{éq. acide chlorogénique}$ )	2,25 $\pm 0,00$	1,96 $\pm 0,01$	1,30 $\pm 0,01$	1,12 $\pm 0,00$	1,56 $\pm 0,02$
32	24,8	Acide sinapique hexoside	Eq. acide chlorogénique	0,90 $\pm 0,00$	1,12 $\pm 0,01$	0,65 $\pm 0,00$	0,42 $\pm 0,00$	0,72 $\pm 0,02$
34	31,5	AHC 2	Eq. acide chlorogénique	0,30 $\pm 0,00$	0,28 $\pm 0,00$	0,39 $\pm 0,00$	0,42 $\pm 0,00$	0,48 $\pm 0,00$
35	32,28	AHC 3	Eq. acide chlorogénique	0,12 $\pm 0,00$	0,12 $\pm 0,01$	0,05 $\pm 0,00$	0,12 $\pm 0,02$	0,06 $\pm 0,00$
28	22	Hyperoside	$1,45 \times 10^{-15}$ ( $\text{éq. quercétine}$ )	0,06 $\pm 0,00$	0,04 $\pm 0,00$	0,06 $\pm 0,01$	0,04 $\pm 0,00$	0,03 $\pm 0,00$
29	22,3	Isoquercitrine	Eq. quercétine	0,19 $\pm 0,02$	0,18 $\pm 0,01$	0,08 $\pm 0,00$	0,14 $\pm 0,03$	0,06 $\pm 0,00$

Parmi les 7 composés monomères quantifiés, nous observons que l'(-)-épicatéchine (pic n°18), suivi du dérivé de l'acide sinapique hexoside (pic n°25) sont les composés majoritaires des extraits de pulpe. Antonio et Ti Jacques sont les extraits contenant les concentrations les plus élevées en (-)-épicatéchine (2,47 mg/100g MF) et en dérivé de l'acide sinapique hexoside (2,25 mg/100g MF) respectivement. L'(-)-épicatéchine se trouve en quantité plus importante dans la pomme (golden) avec une teneur de 5,9 mg/100g MF (Guyot *et al.*, 2002). Parmi les 2 flavonols quantifiés, l'isoquercitrine (pic n°29) est le composé majoritaire avec des valeurs trois fois plus élevées que celles de l'hyperoside (pic n°28). Seuls Antonio et Sonson se distinguent avec des concentrations très faibles d'isoquercitrine comparées à celles des autres accessions.

Les résultats des analyses quantitatives des procyanidines dimériques et trimériques identifiés dans nos échantillons sont conciliés dans le tableau 23.

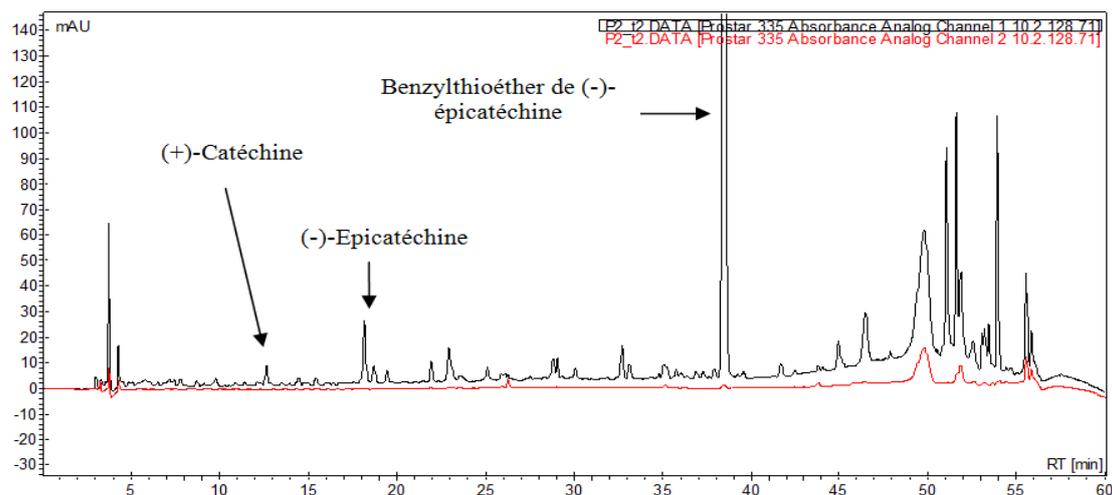
**Tableau 23 : Concentrations des procyanidines présentes dans la pulpe des 5 accessions étudiées (Concentrations exprimées en mg eq. épicatéchine/100 g de MF)**

Accessions	B1	B2	B5	C1
Antonio	0,43 ±0,03	0,04 ±0,00	0,11 ±0,02	3,42 ±0,03
Escouët	0,59 ±0,05	0,06 ±0,01	0,09 ±0,00	3,48 ±0,02
Pavé 11-Lézarde	0,78 ±0,00	0,07 ±0,00	0,12 ±0,00	0,50 ±0,00
Sonson	0,63 ±0,01	0,07 ±0,00	0,05 ±0,00	3,08 ±0,02
Ti Jacques	0,42 ±0,00	0,02 ±0,00	0,11 ±0,01	3,59 ±0,00

Parmi les procyanidines détectées, le trimère C1 est le composé majoritaire des extraits de pulpe. Seul Pavé11-Lézarde présente une teneur environ sept fois moins élevée (0,50 mg/100g MF) que celle des autres accessions. Concernant les dimères identifiés, le dimère B1 est le plus abondant. Nous observons que la pulpe de Pavé 11-Lézarde est la plus riche en dimères B1, B2 et B5. La pomme (golden) contient des teneurs en procyanidines B2 bien plus élevées (7,2 mg/100g MF) que celles de nos échantillons (Guyot *et al.*, 2002).

#### II.2.3.4 Analyses qualitatives et quantitatives des procyanidines par thiolyse

Les chromatogrammes obtenus par HPLC-DAD à 280 nm et 360 nm après thiolyse sont illustrés en figure 45.



**Figure 45 : Chromatogrammes obtenus après thiolysé de l'extrait de pulpe de Pavé 11-Lézarde (Tracé noir : 280 nm ; Tracé rouge : 360 nm)**

Vu la grande similarité de composition des différents échantillons, seul le profil d'éluion de l'accession Pavé 11-Lézarde sera présenté. Les composés identifiés et quantifiés après la réaction de thiolysé sont renseignés dans le tableau 24.

**Tableau 24 : Proportions des unités constitutives des procyanidines et degré de polymérisation des 5 accessions étudiées (Concentrations exprimées en mg/100g de MF ; DPn : Degré de polymérisation moyen ; Rt : temps de rétention en minutes)**

Composés	Rt (min)	Coefficient de réponse (mole/uDO)	Ti Jacques	Pavé 11-Lézarde	Antonio	Escouët	Sonson
(+)-Catéchine	12,64	$5,05 \times 10^{-15}$	$0,6 \pm 0,0$	$0,4 \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,0$	$0,6 \pm 0,0$
(-)-Epicatechine	18,90	$4,98 \times 10^{-15}$	$6,0 \pm 0,0$	$4,2 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,1$	$5,6 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,1$
Benzylthioether de (-)-epicatechine	38,48	Equivalent epicatechine	$96 \pm 5$	$98 \pm 2$	$91 \pm 0$	$80 \pm 3$	$73 \pm 2$
	<b>DPn</b>		$25 \pm 0,2$	$33 \pm 0,1$	$19 \pm 0,3$	$24 \pm 0,0$	$18 \pm 0,4$

Nous observons que les procyanidines contenues dans nos échantillons correspondent à des polymères de catéchine et d'épicatéchine sans galloylation. La (+)-catéchine est retrouvée uniquement comme unité terminale alors que l'(-)-épicatéchine peut constituer aussi bien une unité d'extension qu'une unité terminale. Selon Guyot *et al.*, 2002, c'est également le cas de la pomme (Golden). Les résultats des analyses révèlent que Pavé11-Lézarde suivie de Ti Jacques possèdent les concentrations les plus élevées en benzylthioéther de (-)-épicatéchine.. De plus, nous observons que selon les accessions, le DPn varie de 18 à 33. Pavé 11-Lézarde se distingue avec le DP le plus élevé (33).

Les procyanidines contenues dans la pulpe d'abricot-pays sont donc essentiellement constituées d'(-)-épicatéchine, avec un DP moyen d'environ 24. Cette valeur est quatre fois plus élevée que celle de la pomme (Golden) ce qui indique que nos échantillons contiendraient une concentration plus importante en procyanidines oligomères.

### II.2.3.5 Conclusions

Une étude bibliographique réalisée sur l'abricot-pays a montré que l'on ne disposait d'aucune information sur la caractérisation des composés phénoliques de la pulpe du fruit. Notre étude s'est donc focalisée sur l'identification et la quantification de ces composés présents sous forme monomères et polymères. Nous avons appliqué une méthodologie essentiellement basée sur la combinaison de moyens de spectroscopie UV-Visible, de spectroscopie de masse et de méthode de chromatographie (HPLC, UPLC).

Les résultats montrent que nos 5 extraits contiennent trois grandes classes de composés phénoliques : les flavan-3-ols sous forme de monomères, dimères et trimères, les acides phénoliques (acides hydroxycinnamiques et acides hydroxybenzoïques) et les flavonols. Ce sont des composés naturellement présents dans beaucoup de fruits et connus pour leurs effets biologiques importants. Sur l'ensemble des accessions étudiées, Pavé11-Lézarde se distingue avec la pulpe la plus riche en dimères B1, B2, et B5 et avec le degré de polymérisation le plus élevé (33,0). Antonio et Ti Jacques se différencient également avec des extraits caractérisés par des concentrations plus élevées en (-)-épicatéchine et en dérivé hexoside de l'acide sinapique respectivement.

La complexité des extraits et l'absence d'information dans la littérature sur les composés phénoliques de la pulpe du fruit ne nous a pas permis d'identifier tous les composés détectés. Ainsi, des études postérieures sont à réaliser à l'aide d'autres outils d'analyses (LC/MS, RMN) afin de :

- confirmer les résultats obtenus
- Approfondir les élucidations structurales commencées
- Permettre la localisation et la détermination des sucres présents.

## II.2.4 Evaluation de l'activité antioxydante

L'évaluation du potentiel antiradicalaire et antioxydant des extraits de pulpe a été entreprise dans le but de disposer de données objectives pour valoriser l'abricot-pays. Nous avons donc mis en place deux méthodes couramment employées : les tests DPPH et ORAC. Nous avons également cherché à :

- établir une relation entre les teneurs des composés phénoliques et les activités antiradicalaire et antioxydante des accessions étudiées
- positionner l'abricot-pays par rapport aux autres fruits connus.

Toutes les analyses ont été réalisées en triplicata. L'ensemble des données brutes collectées a fait l'objet d'un traitement statistique afin d'infirmier ou confirmer les différences significatives de nos résultats.

### II.2.4.1 Evaluation de l'activité antiradicalaire des extraits de pulpe par la méthode DPPH

#### II.2.4.1.a Détermination du temps d'incubation

Le temps d'incubation a été déterminé à partir d'un extrait de pulpe de l'une des accessions à étudier, à savoir Antonio. Six solutions réalisées à partir des extraits bruts et de concentrations différentes (191 mg/ml, 95 mg/ml, 38 mg/ml, 19 mg/ml, 4 mg/ml et 2 mg/ml) sont préparées. Nous avons suivi la décroissance de l'absorbance du milieu réactionnel pendant 60 minutes pour chacune des ces solutions. Les résultats des cinétiques réalisées sont présentés dans la figure 46.

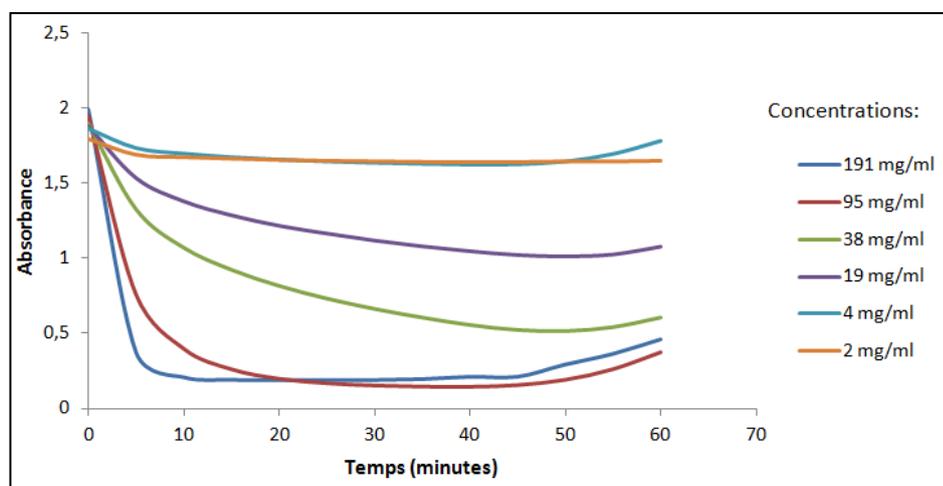


Figure 46 : Diminution de l'absorbance du milieu réactionnel au cours du temps

Nous remarquons qu'en présence de l'extrait de pulpe le plus concentré (191 mg/ml), la totalité des radicaux libres DPPH est recombinaé après 10 minutes d'incubation. Pour les autres solutions, 40 minutes d'incubation sont nécessaires pour l'inhibition d'un maximum de radicaux libres. En se basant sur les résultats des cinétiques présentées en figure 44, nous avons choisi un temps d'incubation de 30 minutes. Malgré le fait qu'aucun plateau ne soit atteint après 30 minutes d'incubation en particulier pour les solutions de concentrations 95 mg/ml, 38 mg/ml et 19 mg/ml, la quantité de radicaux DPPH recombinaés varie très faiblement. De plus, le temps d'incubation sélectionné n'est pas excessif, il reste adéquat d'un point de vue technique et en accord avec les données retrouvées dans la littérature (Lim, Lim et Tee, 2007 ; Céspedes *et al.*, 2008).

Nous observons, après 40 à 45 minutes d'incubation, une augmentation de l'absorbance du milieu réactionnel pour l'ensemble des solutions de concentrations différentes testées, exceptée pour la solution de concentration la plus faible (2 mg/ml). Les extraits testés présentent donc un effet pro-oxydant à partir de 4 mg/ml. Certaines molécules telles que la vitamine C, les caroténoïdes et les flavonoïdes sont très réputées pour leur pouvoir antioxydant. Ces mêmes composés peuvent, selon l'environnement chimique et les conditions expérimentales, présenter un effet pro-oxydant en formant des espèces réactives oxydantes (Rietjens *et al.*, 2002). Dans le cas de notre étude, ces observations sont probablement dues à la teneur en caroténoïdes (en moyenne 3183 µg/100g MF) et en flavonoïdes (en moyenne 4,7 mg/100g MF) présentes dans la pulpe du fruit.

### II.2.4.1.b Résultats du test DPPH

Les données obtenues ont fait l'objet d'une analyse de variance (ANOVA) à un facteur, complétée par un test de Duncan. Les résultats sont consignés dans le tableau 25. Nous remarquons que les valeurs des  $CI_{50}$  des extraits varient entre 19,43 mg/ml et 35,52 mg/ml. L'extrait de pulpe de Ti jacques se révèle être le plus actif avec une valeur  $CI_{50}$  de 19,43 mg/ml. Les extraits de pulpe d'Antonio et Escouët sont moyennement actifs (30,84 mg/ml et 32,78 mg/ml respectivement) suivi par Pavé 11/Lézarde et Sonson (34,11 mg/ml et 35,52 mg/ml respectivement).

**Tableau 25 : Activité antiradicalaire des 5 accessions étudiées**

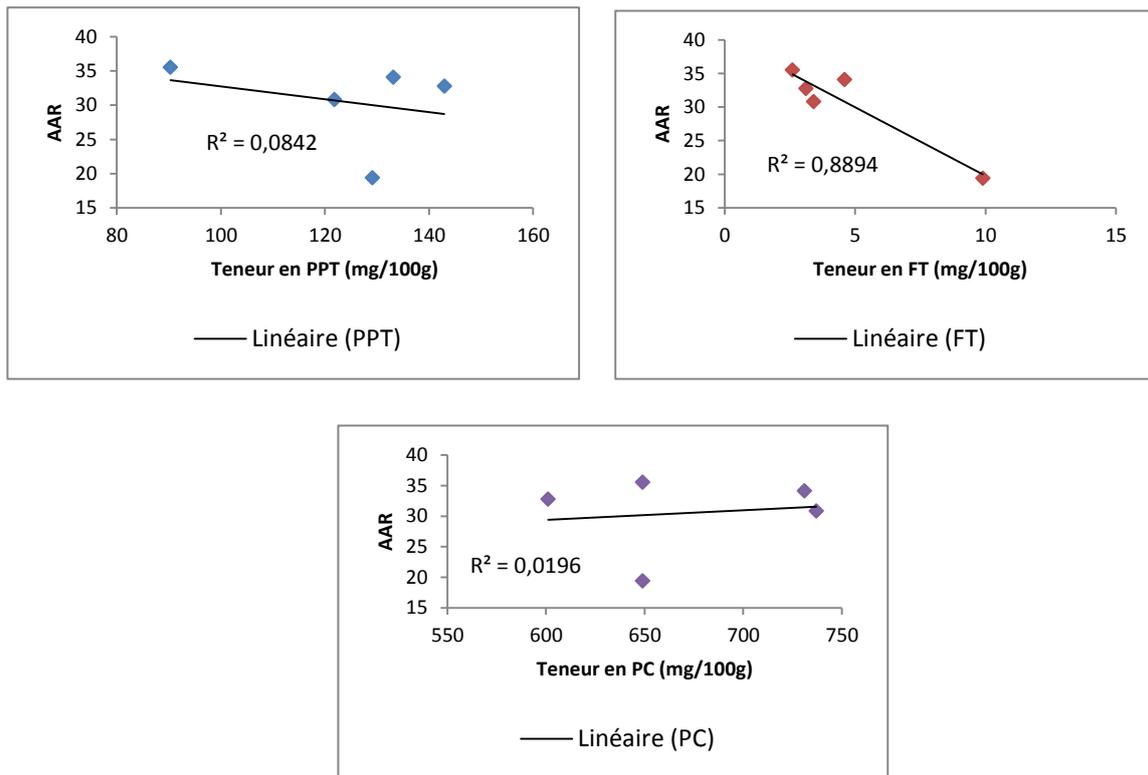
(Les valeurs présentées dans le tableau sont une moyenne de 3 analyses indépendantes  $\pm$ écart-type. Les lettres (a-c) indiquent les différences significatives ( $P < 0,05$  ; test de Duncan))

Accessions	CI <sub>50</sub> (mg/ml)
Ti Jacques	19,43 $\pm$ 1,03 <sup>a</sup>
Antonio	30,84 $\pm$ 2,43 <sup>b</sup>
Escouët	32,78 $\pm$ 1,05 <sup>bc</sup>
Pavé 11/Lézarde	34,11 $\pm$ 1,97 <sup>c</sup>
Sonson	35,52 $\pm$ 1,22 <sup>c</sup>

#### II.2.4.1.c Relation entre activité antiradicalaire et composés phénoliques

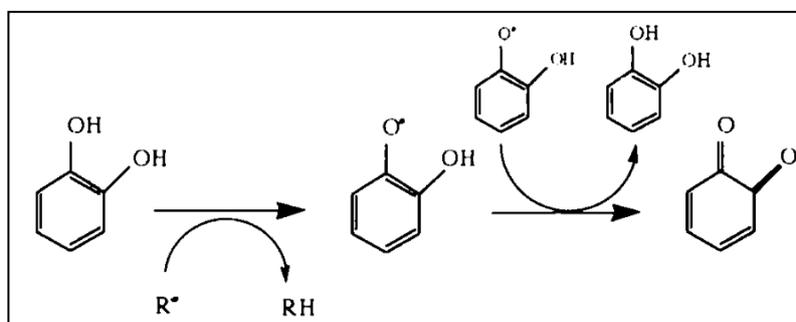
Dans cette partie nous avons cherché à établir la relation existant entre les teneurs des composés phénoliques et l'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques étudiés. Sur la figure 47, une très bonne corrélation linéaire a été établie entre les teneurs en flavonoïdes totaux (FT) des extraits et leur activité antiradicalaire (AAR) ( $R^2 = 0,8894$ ). Par contre, la régression linéaire entre les teneurs en polyphénols totaux (PPT), les procyanidines (PC) et l'activité antiradicalaire donne des corrélations extrêmement faibles ( $R^2 = 0,0842$  et  $R^2 = 0,0196$  respectivement).

Dans le cas de notre étude, nous observons que les flavonoïdes contribuent fortement à l'activité antiradicalaire des 5 extraits étudiés. Nos résultats restent cohérents avec ceux cités dans la littérature (Prior *et al.*, 1998). Sur l'ensemble des accessions, Ti Jacques se différencie avec la pulpe la plus riche en flavonoïdes (teneur moyenne : 9,90mg/100g), ce qui explique que son extrait de pulpe se soit révélé le plus actif lors du test DPPH.



**Figure 47 : Relation entre composés phénoliques et activité antiradicalaire des extraits étudiés**  
 (AAR : Activité antiradicalaire (CI<sub>50</sub> en mg/ml), PPT : Polyphénols totaux (mg/100g MF), FT : Flavonoïdes totaux (mg/100g MF), PC : Procyanidines (mg/100g MS))

Il est à noter que les flavonoïdes comportant un composé aromatique de type ortho ou para-diphénol présentent un haut pouvoir antioxydant (et antiradicalaire) (Brand-Williams, Cuvelier et Berset, 1995). Leur efficacité réside dans la capacité de ce type de composé à fournir un hydrogène au radical DPPH et à se stabiliser par liaison avec un hydrogène ou par effet mésomère du noyau aromatique (Figure 48). L'extrait de pulpe de Ti Jacques serait donc plus riche en composés de ce type.



**Figure 48 : Mécanisme réactionnel de régénération d'un ortho-diphénol**  
 ( $R^\bullet$  : DPPH $^\bullet$  et  $RH$  : DPPH-H ; Brand-Williams, Cuvelier et Berset, 1995)

### II.2.4.2 Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de pulpe par la méthode ORAC

#### II.2.4.2.a Détermination du temps d'incubation et choix du solvant d'extraction

Nous avons choisi un temps d'incubation d'une heure en nous assurant que le pourcentage de fluorescence atteint 0% pour l'ensemble des extraits testés en particulier pour la solution étalon la plus concentrée (50  $\mu$ M).

Les résultats des essais préliminaires révèlent que les solvants testés composés de méthanol (méthanol pur et méthanol/eau (50/50, v/v)) retardent l'oxydation de la fluorescéine et donc agissent comme un antioxydant. Par contre, le solvant acétonique (acétone/eau, (70/30, v/v)) ne présente pas ce comportement, il est donc plus adapté au test employé. C'est ce solvant que nous avons retenu pour l'extraction des composés phénoliques antioxydants.

#### II.2.4.2.b Résultats du test ORAC

Une analyse de variance (ANOVA) à un facteur, complétée par un test de Duncan a été effectuée sur l'ensemble des données collectées. Les valeurs ORAC obtenues sont réunies dans le tableau 26. L'extrait de pulpe de Ti Jacques est le plus actif (162,59  $\pm$ 16,90  $\mu$ M d'ET/100g MF), suivi d'Escouët (109,04  $\pm$ 3,54  $\mu$ M d'ET/100g MF) et Pavé11/Lézarde (104,27  $\pm$ 0,70  $\mu$ M d'ET/100g MF). Nous remarquons une grande variabilité entre les unités ORAC de Ti Jacques et Sonson. En effet, l'extrait de pulpe de Ti Jacques est deux fois plus actif que celui de Sonson.

**Tableau 26 : Activité antioxydante des 5 accessions étudiées**

(Les valeurs présentées dans le tableau sont une moyenne de 3 analyses indépendantes  $\pm$ écart-type. Les lettres (a-d) indiquent les différences significatives (P <0,05 ; test de Duncan))

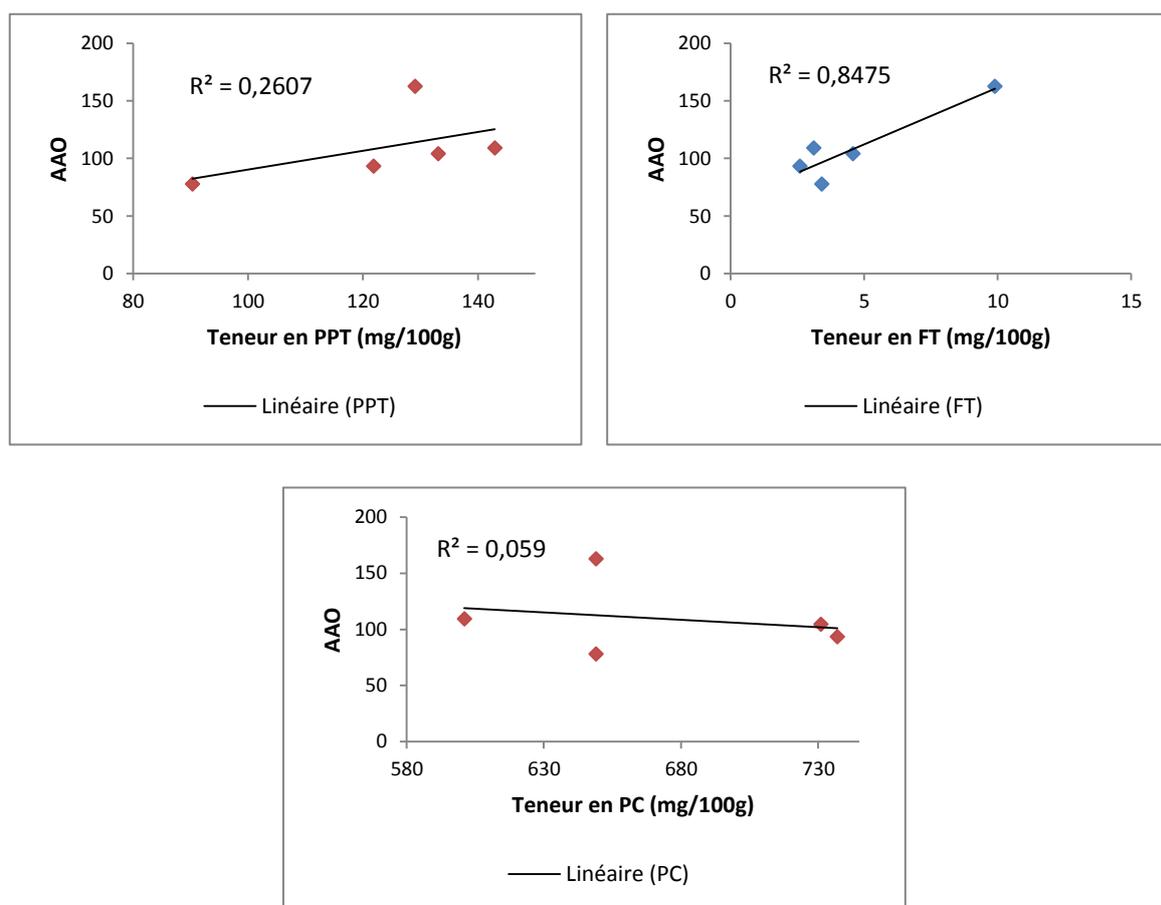
<b>Accessions</b>	<b>Unités ORAC (<math>\mu</math>M d'ET/100g MF)</b>
Ti Jacques	162,59 $\pm$ 16,90 <sup>a</sup>
Escouët	109,04 $\pm$ 3,54 <sup>b</sup>
Pavé 11/Lézarde	104,27 $\pm$ 0,70 <sup>b</sup>
Antonio	93,24 $\pm$ 9,04 <sup>c</sup>
Sonson	77,95 $\pm$ 4,56 <sup>d</sup>

Nous avons comparé nos résultats aux valeurs citées dans la littérature afin de positionner l'abricot-pays par rapport à d'autres fruits connus. Les valeurs ORAC obtenues pour nos

extraits sont supérieures ou similaires à celles de certains fruits tropicaux comme le citron (82  $\mu\text{M}$  d'ET/100g MF) et le melon cantaloupe (148  $\mu\text{M}$  d'ET/100g MF) (Isabelle *et al.*, 2010 ; Floegel *et al.*, 2011). Par contre nos résultats restent bien inférieurs aux unités ORAC établies pour la pomme (3082  $\mu\text{M}$  d'ET/100g MF) et la goyave (1306  $\mu\text{M}$  d'ET/100g MF) (Isabelle *et al.*, 2010 ; Floegel *et al.*, 2011).

#### II.2.4.2.c Relation entre activité antioxydante et composés phénoliques

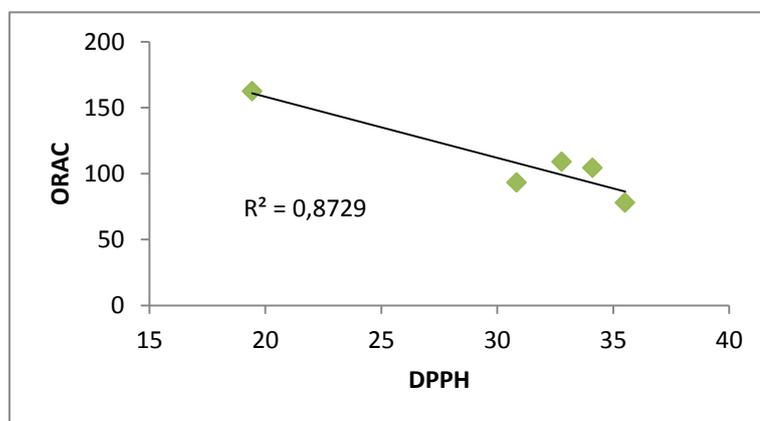
Nous avons cherché à démontrer la corrélation entre la présence des composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits hydroacétoniques étudiés. Sur la figure 49, nous observons une bonne corrélation entre la teneur en flavonoïdes totaux des extraits et leur activité antioxydante ( $R^2=0,8475$ ). Par contre, les teneurs en polyphénols totaux et en procyanidines sont très faiblement liées aux activités antioxydantes des extraits ( $R^2= 0,2607$  et  $R^2= 0,059$  respectivement). Les flavonoïdes sont les principaux contributeurs aux activités antioxydantes des 5 accessions étudiées.



**Figure 49 : Relation entre composés phénoliques et activité antioxydante des extraits étudiés (AAO : Activité antioxydante ( $\mu\text{M}$  ET/100g MF)), PPT : Polyphénols totaux (mg/100g MF), FT : Flavonoïdes totaux (mg/100g MF), PC : Procyanidines (mg/100g MS))**

### II.2.4.3 Comparaison des deux méthodes employées

Les résultats obtenus par les méthodes DPPH et ORAC sont similaires, excepté pour l'accession Antonio. La régression linéaire entre les valeurs de  $CI_{50}$  (DPPH) et les valeurs ORAC donne une forte corrélation ( $R^2 = 0,8729$ ) (Figure 50). Dans le cas du test DPPH, Antonio se révèle être l'extrait le plus actif après celui de Ti Jacques. Tandis que dans le cas du test ORAC, son activité est plus faible que celle de Ti Jacques, Escouët et Pavé 11-Lézarde. Des réactions chimiques différentes interviennent lors de la mise en place de ces deux méthodes. Le test DPPH reflète la capacité de l'échantillon testé à céder un hydrogène afin de stabiliser le radical libre. Il a été démontré que les flavonoïdes et les acides aromatiques contenant plus d'un groupement OH sur le noyau aromatique B neutralisent plus rapidement les radicaux libres DPPH (Roginsky et Lissi, 2005). L'extrait Antonio contient probablement plus de composés de ce type, ce qui expliquerait qu'il soit l'extrait le plus actif après Ti Jacques dans le test DPPH. En nous basant sur les 7 composés quantifiés par HPLC-DAD (Tableau 22), Antonio n'est pas l'accession la plus riche en flavonoïdes (Epicatechine, hyperoside et quercitrine) et en acides phénoliques. Sa plus forte activité antiradicalaire mesurée par DPPH est probablement due à d'autres composés de mêmes classes que nous n'avons pas pu identifier et quantifier.



**Figure 50 : Corrélation entre les valeurs  $CI_{50}$  (DPPH) et les valeurs ORAC**

### II.2.4.4 Conclusions

Ce travail a permis d'évaluer l'activité antiradicalaire par le test DPPH et antioxydante par le test ORAC des 5 accessions suivantes : Pavé 11-Lézarde, Sonson, Ti Jacques, Antonio et Escouët. Globalement les résultats obtenus par les deux méthodes employées sont cohérents, exceptés pour l'accession Antonio. Pour chaque méthode, de nombreuses réactions chimiques

et différents mécanismes sont mis en jeu. Chacune de ces méthodes ne fournit donc qu'une estimation de la capacité antiradicalaire ou antioxydante totale de l'échantillon testé. D'où l'intérêt de mettre en place au moins deux méthodes différentes pour déterminer avec fiabilité le potentiel antioxydant de nos échantillons.

A part une étude sur l'activité antioxydante d'un extrait de caroténoïdes obtenu à partir de la pulpe d'abricot-pays (Rodrigues *et al.*, 2012), aucune autre activité antiradicalaire ou antioxydante n'a été rapportée. Dans nos conditions expérimentales, Ti Jacques s'est révélé être l'extrait le plus actif avec une valeur  $CI_{50}$  la plus faible ( $CI_{50} = 19,43 \pm 1,03$  mg/ml) et une valeur ORAC la plus élevée ( $162,59 \pm 16,90$   $\mu$ M ET/100g MF). Il est à noter que les flavonoïdes sont connus pour être les principaux composés phytochimiques responsables de la capacité antioxydante des fruits (Ma *et al.*, 2011). Ces éléments sont cohérents avec nos résultats. En effet la régression linéaire établie entre les teneurs en flavonoïdes totaux des échantillons et les activités antioxydante et antiradicalaire donne une forte corrélation ( $R^2 > 0,80$ ).

Par ailleurs, nous avons observé que l'activité antioxydante des extraits déterminée par le test ORAC montre une variabilité entre les unités ORAC de Ti Jacques et Sonson. En effet, Ti Jacques présente une activité antioxydante deux fois plus élevée que celle de Sonson. Cette variabilité observée peut s'expliquer par une différence génotypique. Des différences génotypiques similaires ont été reportées pour la fraise, la pomme (Scalzo *et al.*, 2005) et la mangue (Ma *et al.*, 2011).

### II.3 Conclusions du chapitre 2

L'abricot-pays, consommé comme fruit de dessert, est très apprécié par la population pour son goût sucré et son arôme prononcé. L'eau est le principal constituant de ce fruit pulpeux. Sa teneur moyenne est de 86 %. Les glucides totaux constituent le second composant de la pulpe de ce fruit avec une teneur moyenne de 13 g/100g. 100 g de pulpe d'abricot-pays apporte une quantité d'énergie moyenne de 56 kcals. Les données nutritionnelles que nous avons obtenues pour les accessions étudiées sont similaires à celles retrouvées dans la littérature (Souci, Fachmann et Kraut, 2008 ; USDA, 2012), exceptées la teneur en glucides totaux et donc la valeur énergétique qui sont plus élevées.

L'abricot-pays présente généralement une forme ronde, une texture ferme (fermeté moyenne égale à 56 N) et un poids moyen de 789 g. La pulpe du fruit est de couleur jaune à orange selon les accessions et adhère partiellement aux graines. Elle représente plus de la moitié du fruit entier. Le rendement en pulpe moyen de l'abricot-pays (59 %) est comparable à celui de la banane (57 à 60%) (CIQUAL-CNEVA, 1993).

Le fruit de *Mammea americana* fait parti de la catégorie des fruits dits acides avec un pH moyen égal à 3,65. Cependant ses fruits présentent une palatabilité très acceptable à maturité. En effet, le rapport ESS/AT moyen, égal à 3,32, est largement supérieur à 1.

Concernant la composition de la pulpe en composés antioxydants, nos résultats ont montré que 100g de pulpe apportent en moyenne 3,18 mg de caroténoïdes, 125 mg de polyphénols totaux, 4,70 mg de flavonoïdes totaux et 5,78 mg de vitamine C. Cette teneur en vitamine C couvre environ 13 % des apports journaliers recommandés par l'OMS. Ces concentrations en composés antioxydants sont comparables, voire supérieures à celles établies pour certains fruits tropicaux comme la banane, l'ananas et la mangue.

Des différences statistiquement significatives, en termes de caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles ont été observées entre les accessions étudiées. Ces différences peuvent être dues essentiellement à leur génotype car elles se sont développées dans les mêmes conditions agropédoclimatiques. L'étude de caractérisation a porté sur six accessions : Sonson, Pavé 11, Lézarde, Ti jacques, Antonio et Escouët. Les résultats obtenus mettent en évidence une forte adaptabilité à la transformation pour Sonson, Pavé 11 et lézarde. Ces derniers, ainsi que Ti jacques, peuvent également être préconisés pour la vente en frais. Les accessions Pavé 11 et Lézarde représentent le meilleur compromis car elles ont un intérêt aussi bien technologique que fonctionnelle. De plus, les analyses statistiques ont

montré que ces accessions sont homogènes en termes de critères physiques, physico-chimiques et fonctionnelles. Elles ont donc été considérées comme un même échantillon.

Par ailleurs, aucune étude n'a porté sur la caractérisation des composés phénoliques de la pulpe du fruit. Dans ce chapitre, nous nous sommes donc attachés également à identifier et quantifier les composés phénoliques bruts et sous forme de polymères à l'aide d'analyses par HPLC-DAD et UPLC-MS. Les résultats ont montré que les accessions étudiées renferment trois grandes classes de composés phénoliques : les flavan-3-ols, les acides phénoliques et les flavonols, connus pour leurs effets bénéfiques pour la santé. Pavé 11-Lézarde se différencie avec des fruits dont la pulpe renferme des concentrations plus élevées en dimères B1, B2 et B5 et avec le degré de polymérisation le plus élevé (DP= 33). Antonio et Ti Jacques se démarquent également avec des teneurs plus élevées en (-)-épicatéchine et en dérivé hexoside de l'acide sinapique respectivement.

Ce travail de thèse a permis également de mettre en évidence les activités antiradicalaire, par le test DPPH, et antioxydante, par le test ORAC, des accessions étudiées. Dans nos conditions expérimentales, Ti Jacques est l'extrait le plus actif avec une valeur de  $CI_{50}$  la plus faible (19,43 mg/ml) et une valeur ORAC la plus élevée (162,59 mg/100g MF). La régression linéaire établie a montré que les flavonoïdes totaux sont les principaux composés phytochimiques responsables de ces activités.

CHAPITRE 3 : ESSAIS D'ECO-  
EXTRACTION DES COMPOSES  
PHENOLIQUES DE LA PULPE DE  
*MAMMEA AMERICANA*

### **III. ESSAIS D'ECO-EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES DE LA PULPE DE *MAMMEA AMERICANA***

Dans le chapitre précédent, l'étude du fruit a révélé que la pulpe est une source de composés phénoliques présentant des propriétés antioxydantes intéressantes. De nombreuses études ont largement démontré l'impact bénéfique, pour les consommateurs de la prise alimentaire de fruits et légumes contenant des composés phénoliques antioxydants, dans la prévention et la lutte contre les pathologies dégénératives associées au stress oxydatif. Les procédés d'éco-extraction efficaces et durables des composés d'intérêt des produits végétaux présentent donc un intérêt croissant dans les secteurs de l'agroalimentaire, de la cosmétique et de la pharmacie.

Les méthodes d'extraction classiques telles que l'extraction au Soxhlet ou par macération ne sont pas toujours adaptées pour des extractions et/ou productions à l'échelle industrielle. De plus, ces techniques sont longues à mettre en œuvre et consomment beaucoup d'énergie et de solvant qui posent problème en termes de durabilité. L'extraction assistée par ultrasons vise à intensifier le processus d'extraction, réduire les quantités de solvant, les consommations énergétiques et la durée de l'extraction, et à rendre possible le recours à des solvants qui ne posent pas de problème environnemental. L'application des ultrasons permet également de préserver les composés les plus thermolabiles, notamment les polyphénols, des réactions de dégradations traditionnelles. De plus, ce procédé dit « propre » répond aux critères environnementaux imposés par la réglementation et à la demande grandissante du consommateur pour des produits d'origine naturelle et sains.

Dans ce chapitre, nous avons pour objectifs :

- D'optimiser l'extraction des composés phénoliques de la pulpe du fruit à l'aide d'une sonde à ultrasons
- D'analyser et évaluer le profil phénolique et l'activité antioxydante des extraits optimisés
- De mettre en évidence les potentialités des extraits obtenus.

### III.1 Matériels et méthodes

#### III.1.1 Matériels

##### III.1.1.1 Matériel végétal

La pulpe utilisée lors des essais préliminaires, des essais du plan d'expériences ainsi que lors des essais optimisés a été séchée puis réduite en poudre. Le séchage est une technique de conservation des échantillons permettant de les rendre disponible sur une longue durée et d'assurer une bonne stabilité de ses composés bioactifs.

Dans cette partie, nous avons cherché à réaliser une sélection de l'accession ou des accessions présentant un fort potentiel pour l'extraction des composés d'intérêt ainsi que des atouts nutritionnels et fonctionnels. Pour ce faire, une grille de notation comprenant 8 critères de sélection avec un barème de pondération est définie. L'accession ou les accessions qui totalisent le plus grand nombre de points seront retenues. Les critères sélectionnés sont les suivants :

- Le poids du fruit (noté sur 10, 10 pour un fruit de gros calibre)
- Le nombre de graines (noté sur 5, 5 pour un fruit contenant peu de graines)
- L'adhérence de la pulpe aux graines (notée sur 10, 10 pour une pulpe peu adhérente)
- Teneur en sucre (notée sur 5, 5 pour une pulpe très sucrée)
- Teneur en caroténoïdes totaux (notée sur 10, 10 pour une pulpe riche en caroténoïdes)
- Teneur en flavonoïdes totaux (notée sur 10, 10 pour une pulpe riche en flavonoïdes)
- Teneur en vitamine C (notée sur 10, 10 pour une pulpe riche en vitamine C)
- Teneur en polyphénols totaux (notée sur 10, 10 pour une pulpe riche en polyphénols totaux).

Le détail de la notation définie et la grille de notation obtenue sont présentés dans les tableaux 27 et 28. Pavé 11 et Lézarde sont les accessions qui totalisent le plus grand nombre de points. Ces dernières sont caractérisées par des fruits de gros calibre dont la pulpe adhère partiellement aux graines et est plus riche que les autres en composés d'intérêt nutritionnel et fonctionnel. D'après le traitement statistique effectué au chapitre 2, section II.2.2.5.c, les accessions Pavé 11 et Lézarde sont homogènes. Les notes obtenues pour ces derniers (Tableau 28) nous le confirment. Les essais du plan d'expériences et les essais optimisés seront donc réalisés à partir d'un mélange de la pulpe lyophilisée de Pavé 11 et Lézarde.

**Tableau 27 : Détail de la notation**  
(CT : Caroténoïdes totaux ; FT : Flavonoïdes totaux, PPT : Polyphénols totaux)

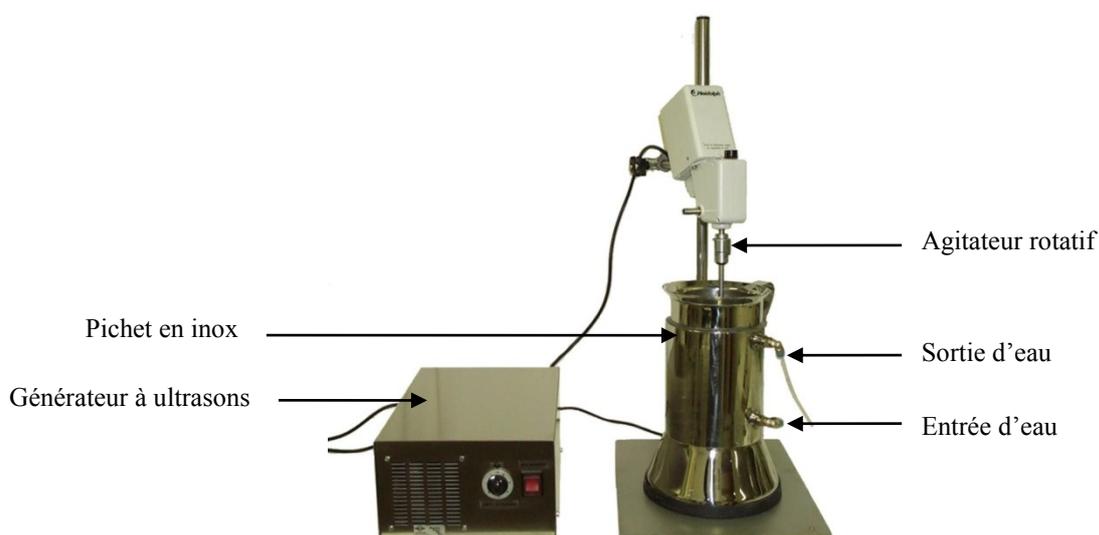
Critères de sélection	Notes	Détail de la notation
Poids du fruit	10	>1000
	8	1000-900
	6	900-800
	4	800-700
	2	700-600
	0	600-500
Nombre de graines	5	1-1,20
	4	1,20-1,40
	3	1,40-1,60
	2	1,60-1,80
	1	< 1,80
Adhérence de la pulpe	10	1,0-2,0
	8	2,0-3,0
	6	3,0-4,0
	4	4,0-5,0
	2	égal à 5
Teneur en sucre	5	>12
	4	11,0-12,0
	3	11,0-10,0
	2	10,0-9,0
	1	9,0-8,0
	0	< 8,0
Teneur en CT	10	4500-5000
	8	4000-4500
	6	4000-3500
	4	3500-3000
	2	3000-2500
	0	2500-2000
Teneur en FT	10	10,00-8,00
	7	6,00-4,00
	4	4,00-2,00
	1	2,00-0,00
Teneur en vitamine C	10	8,00-7,00
	8	7,00-6,00
	6	6,00-5,00
	4	5,00-4,00
	2	<4,00
Teneur en PPT	10	>140
	9	140-135
	8	135-130
	7	130-125
	6	125-120
	5	120-115
	4	115-100
	3	< 100

**Tableau 28 : Grille de notation**  
(CT : Caroténoïdes totaux ; FT : Flavonoïdes totaux, PPT : Polyphénols totaux)

Accessions	Poids du fruit	Nombre de graines	Adhérence pulpe	Teneur en sucre	Teneur enCT	Teneur en FT	Teneur en Vitamine C	Teneur en PPT	TOTAL (/70)	TOTAL (/20)
Pavé 11	8	3	6	2	10	7	4	9	49	14,00
Lézarde	10	2	6	4	2	7	10	7	48	13,71
Ti Jacques	2	1	8	5	6	10	6	7	45	12,86
Sonson	8	4	10	2	2	4	10	3	43	12,29
Escouët	2	2	4	4	0	4	6	10	32	9,14
Antonio	0	3	6	3	0	4	4	6	26	7,43

### III.1.1.2 L'extracteur à ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons est réalisée à l'aide d'une sonde à ultrasons PEX 3 N (R.E.U.S, France), composée d'un pichet en inox (33 × 22 cm), d'un agitateur à vitesse réglable et d'un transducteur à la base de la sonde. Le système produit des ultrasons à une fréquence de 25 kHz avec une puissance maximale de 150 W. L'extracteur à ultrasons est également équipé d'une double enveloppe permettant la circulation d'eau froide afin de contrôler la température du milieu réactionnel. L'appareil est présenté en figure 51. Le principal avantage de ce type d'extracteur est que les ultrasons sont directement appliqués sur l'échantillon mélangé au solvant d'extraction (Chemat, Zill-e-Huma et Khan, 2011).



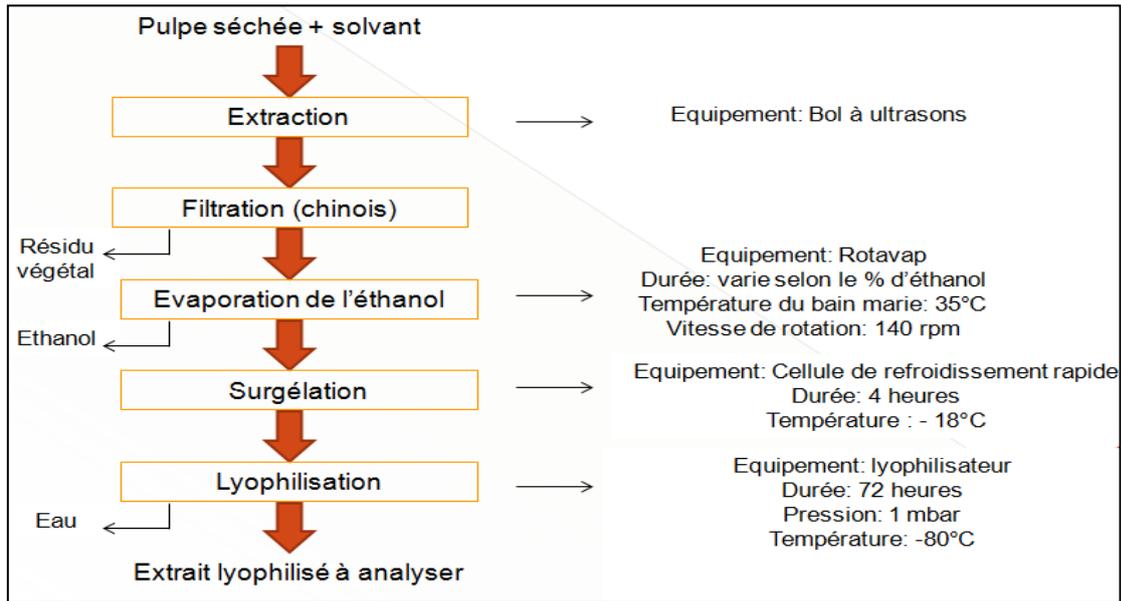
**Figure 51 : Sonde à ultrasons PEX 3N**

### **III.1.2 Méthodes d'étude pour l'optimisation d'extraction par ultrasons**

Plusieurs paramètres susceptibles d'influencer l'extraction des composés phénoliques ont été évalués et optimisés en appliquant un plan d'expérimentation. Au cours de cette étude, nous avons fait le choix d'employer un solvant d'extraction tel que l'éthanol car c'est un solvant non nocif pour l'environnement. Nous nous attacherons donc à comparer les résultats des extraits optimisés à ceux obtenus par la méthode chimique conventionnelle d'extraction.

### III.1.2.1 Protocole d'extraction

Le diagramme des opérations réalisé pour l'extraction est présenté dans la figure 52.



**Figure 52 : Diagramme des opérations pour l'extraction assistée par ultrasons**

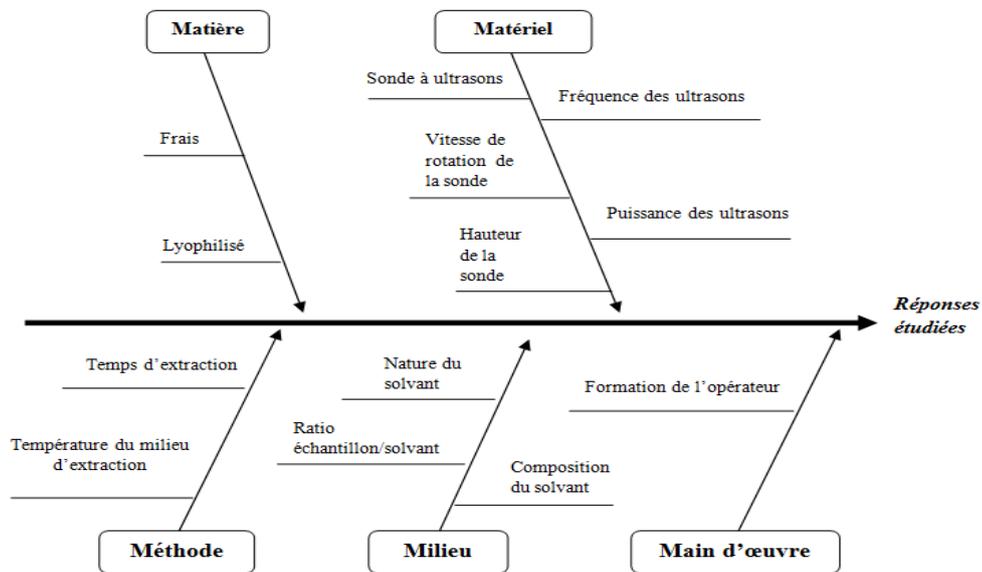
### III.1.2.2 Choix des réponses étudiées

Les réponses sélectionnées sont les suivantes :

- Les teneurs en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux (en mg/100g d'extrait lyophilisé). Ce sont des réponses facilement et rapidement mesurables et qui caractérisent l'optimisation d'extraction des composés phénoliques par ultrasons. Ces analyses sont réalisées sur l'extrait lyophilisé comme décrit au chapitre 2, section II.1.2.4.a et b.
- Le rendement (%) correspondant au poids de l'extrait lyophilisé obtenu après extraction par rapport au poids de la prise d'essai.
- L'aspect global, la couleur, l'odeur et le goût de l'extrait lyophilisé sont des caractéristiques à prendre en compte également pour son orientation de valorisation. Les extraits obtenus ont été évalués par 4 personnes à l'aide d'un système de notation allant de 1 à 7 (1 : je n'aime pas et 7 : j'aime beaucoup) pour chacun des critères.

III.1.2.3 Choix des facteurs

Le diagramme d'Ishikawa ou méthode des 5 M (Matière, Matériel, Méthode, Milieu, Main d'œuvre) nous permet de recenser les facteurs susceptibles d'être influents sur les réponses étudiées (Figure 53). D'après les éléments rapportés par la littérature, la température du milieu d'extraction, la puissance des ultrasons, le temps d'extraction, la nature du solvant, la composition du solvant ainsi que le ratio échantillon/solvant seraient les principaux facteurs significatifs (Herrera et Luque de Castro, 2005 ; Japón-Luján, Luque-Rodriguez et Luque de Castro, 2006 ; Pingret *et al.*, 2012).



**Figure 53 : Diagramme d'Ishikawa**

En nous appuyant sur les données de la littérature, nous avons sélectionné les facteurs suivants :

- Le ratio éthanol/eau
- Le ratio échantillon/solvant (ou ratio solide/liquide)
- Le temps d'extraction.

Les autres facteurs, telles que la température du milieu d'extraction et la puissance des ultrasons seront figés au cours du plan d'expérimentation. Des essais préliminaires ont été mis en place afin de définir la température la plus adaptée et déterminer les bornes à appliquer au plan d'expériences.

III.1.2.4 Choix du modèle et du plan d'expériences

L'utilisation d'une méthode multivariée nous permet :

- D'optimiser le nombre d'expériences
- D'identifier la combinaison optimale répondant au mieux aux objectifs
- D'identifier les effets des facteurs et de leurs interactions.

Le plan d'expériences choisi est un plan factoriel complet comportant  $2^3$  expériences et 2 essais au centre du domaine expérimental. Chacun des 3 facteurs étudiés (ratio éthanol/eau, ratio échantillon/solvant, temps d'extraction) comprend 2 niveaux (-1 : niveau bas ; +1 : niveau haut) et un point au centre (0). Le tableau 29 présente le plan d'expérimentation défini.

**Tableau 29 : Programmation des expériences (plan codé)**

Expérience	Ratio éthanol/eau	Ratio échantillon/solvant	Temps d'extraction
1	+1	-1	+1
2	+1	-1	-1
3	0	0	0
4	-1	+1	+1
5	0	0	0
6	-1	-1	+1
7	-1	+1	-1
8	+1	+1	-1
9	-1	-1	-1
10	+1	+1	+1

Le plan d'expérimentation sélectionné est intéressant en termes de nombre d'essais. Il présente un faible nombre de degré de liberté (ddl= 3) permettant d'estimer l'erreur expérimentale. Le plan sera exécuté en un seul bloc et l'ordre des expériences a été entièrement randomisé.

Les plans factoriels à deux niveaux permettent d'estimer les coefficients d'un modèle du 1<sup>er</sup> degré avec au moins une interaction. De plus, il convient de disposer d'essais supplémentaires

placés au centre du domaine expérimental pour tester le degré du modèle (Norme AFNOR, 2003).

Le modèle retenu est un modèle polynomiale d'ordre 1 et s'écrit comme suit :

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1.X_2$$

où:

Y est une des réponses étudiées

$a_0$  est la constante du modèle

$X_1, X_2, X_3$  représentent les niveaux -1, +1 ou 0 pris par chacun des facteurs 1, 2 et 3

$a_1, a_2, a_3$  sont les coefficients du modèle qui traduisent l'effet de chacun des facteurs 1, 2 et 3 (effet linéaire)

$a_{12}$  est le coefficient du modèle qui traduit l'interaction entre les facteurs 1 et 2.

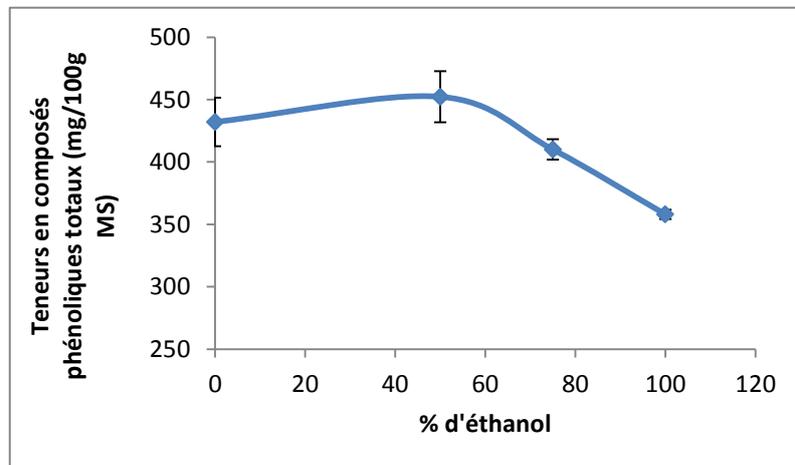
#### III.1.2.5 Analyses statistiques

Le plan d'expériences, les coefficients du modèle et les graphiques ont été obtenus et interprétés à l'aide du logiciel STATGRAPHICS Centurion XV version 15.2.06. Les résultats du plan d'expérimentation sont les moyennes d'analyses réalisées en triple exemplaire.

## III.2 Résultats et discussion

### III.2.1 Essais préliminaires

Avant d'avoir recours à un plan d'expériences, il est nécessaire de mettre en place des essais préliminaires afin de déterminer les bornes à appliquer à ce plan. En ce qui concerne la composition de la solution d'extraction, les plus employées sont souvent constituées d'un mélange éthanol/eau ou méthanol/eau. Dans le cas de notre étude, nous avons opté pour un solvant éthanol/eau non nocif pour l'environnement et compatible avec les produits alimentaires (Khan, Abert-Vian et Fabiano-Tixier, 2010). Dans un premier temps nous avons testé 4 ratios éthanol/eau différents dans les mêmes conditions expérimentales (Température ambiante, temps d'extraction : 30 minutes, 10 g d'échantillon pour 100 ml de solution d'extraction). Les résultats sont présentés dans la figure 54. Nous observons que les teneurs maximales en polyphénols totaux sont obtenues avec un pourcentage d'éthanol de 0% et 50%. Nous avons donc choisi pour ce facteur un domaine expérimental compris entre 0% et 50% afin d'extraire un maximum de substances phénoliques. De plus, les essais au centre du domaine nous apporteront une information sur la teneur en polyphénols avec 25% d'éthanol.



**Figure 54 : Effet du pourcentage d'éthanol dans la solution d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux extraits**

Nous avons également testé l'effet de 2 températures initiales de traitement (température ambiante et 4°C) sur les teneurs en composés phénoliques totaux (en mg/100g de MS). Il s'agit des températures du milieu réactionnel et ce paramètre sera figé au cours du plan d'expérimentation. Les composés phénoliques sont des molécules thermolabiles, il convient donc de choisir une température appropriée afin d'éviter la destruction des composés à extraire. De plus, la température sélectionnée doit pouvoir être transposable à l'échelle

industrielle et permettre une utilisation efficace des ultrasons. Selon la littérature, les températures choisies n'excèdent pas 50°C. Nous avons donc contrôlé la température du milieu réactionnel à la fin de l'extraction afin de s'assurer qu'elle ne dépasse pas 50°C. Nos résultats révèlent qu'il n'y a pas de différences statistiquement significatives des teneurs en polyphénols totaux pour les 2 températures testées. Par contre lorsque l'extraction est réalisée à température ambiante (environ 27°C), nous constatons que la température du milieu réactionnel augmente fortement (plus de 50°C) en fin d'extraction. Nous avons donc choisi d'effectuer les extractions à température ambiante en faisant circuler de l'eau froide (4°C) dans la double paroi de l'extracteur afin d'éviter l'échauffement du milieu réactionnel.

Concernant le ratio échantillon/solvant, 3 ratios différents, exprimés en g d'échantillon / 100 ml de solvant) sont testés (10%, 20% et 30%). Seul l'extrait obtenu avec un ratio de 10% a pu être filtré et analysé, les 2 autres extraits étant trop dense. De plus, nous observons que de tels ratios (20% et 30%) altèrent l'homogénéité du mélange et ne favorisent pas la cavitation ultrasonique. Nous avons donc choisi de placer le domaine d'étude pour ce facteur entre 10% et 15%.

Un des principaux avantages de l'extraction assistée par ultrasons est de permettre une réduction du temps d'extraction comparée à une extraction classique. En effet, certaines compagnies italiennes telles que GIOTTI ou Moliserb s.r.l, emploient la technique des ultrasons pour l'obtention d'extraits à intégrer dans des formulations alimentaires ou pharmaceutiques (Chemat, Zill-e-Huma et Khan, 2011). Le temps de sonication doit également être avantageux lorsque le procédé est transposé à l'échelle industrielle. Nous avons donc sélectionné des bornes temporelles comprises entre 15 min et 30 min.

En définitive, nous avons retenu trois facteurs avec 2 niveaux pour chacun d'eux :

- Ratio éthanol/eau (v/v) [0/100 – 50/50]
- Ratio échantillon/solvant [10% - 15%]
- Temps d'extraction [15 min – 30 min].

### III.2.2 Résultats du plan d'expériences

Le récapitulatif des 10 lignes d'expériences (plan décodé) et les réponses obtenues pour chaque ligne d'essai sont présentés dans le tableau 30. Certaines réponses obtenues montrent une grande variabilité d'une ligne d'essai à l'autre. Les teneurs en polyphénols totaux varient

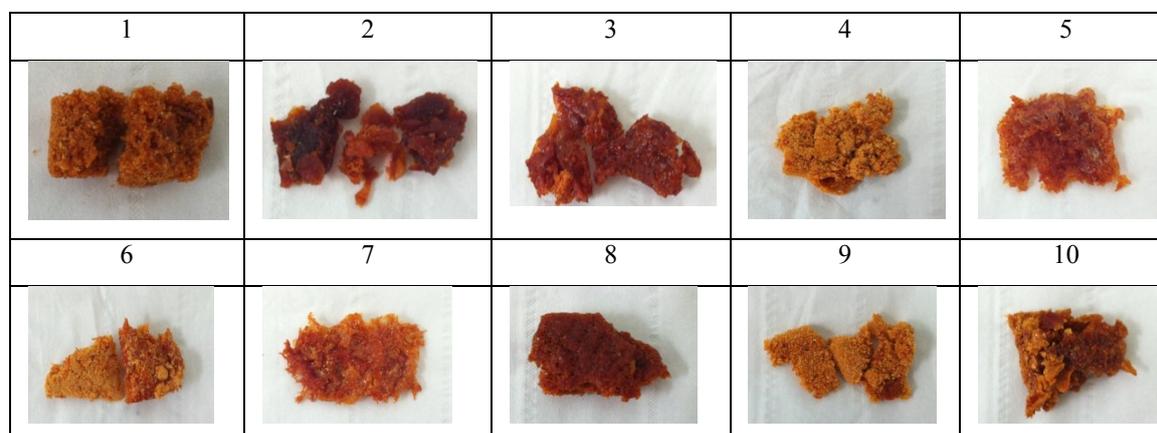
de 282 à 554 mg/100g MS. Les teneurs en flavonoïdes totaux s'étendent de 23 à 45 mg/100g de MS. Les rendements varient de 18 à 63 %.

**Tableau 30 : Tableau récapitulatif des expériences et résultats du plan d'expériences (Ratio E/S : Ratio échantillon/solvant, PPT : Teneurs en polyphénols totaux exprimées en mg eq acide gallique/100g de MS, FT : Teneurs en flavonoïdes totaux exprimées en mg eq quercétine/100g de MS, Rdt : Rendement)**

Essais	% d'éthanol	Ratio E/S (g/100ml)	Temps (min)	PPT	FT	Rdt (%)	Aspect global	Couleur	Odeur	Goût
1	50	10	30	554 ±47	43 ±2	45 ±1	2,7 ±1,0	4,2 ±1,0	1,7 ±1,0	2,5 ±2,0
2	50	10	15	282 ±14	41 ±0	63 ±1	2,0 ±1,4	2,5 ±1,3	1,7 ±1,0	2,5 ±1,0
3	25	12,5	22,5	504 ±31	40 ±3	28 ±0	4,0 ±0,	4,5 ±1,3	2,0 ±1,4	4,5 ±1,0
4	0	15	30	465 ±36	38 ±0	28 ±2	3,7 ±1,5	4,2 ±1,3	3,0 ±1,8	5,2 ±2,0
5	25	12,5	22,5	485 ±25	26 ±0	37 ±0	2,0 ±1,4	4,2 ±1,3	2,0 ±1,4	3,7 ±1,0
6	0	10	30	381 ±8	32 ±2	37 ±1	3,0 ±2,2	4,0 ±1,8	3,0 ±2,4	5,0 ±2,0
7	0	15	15	454 ±6	33 ±0	24 ±0	4,0 ±1,6	4,5 ±1,9	2,5 ±1,7	5,5 ±1,0
8	50	15	15	510 ±0	31 ±2	31 ±0	3,5 ±1,7	3,5 ±1,9	2,7 ±2,1	2,0 ±1,0
9	0	10	15	343 ±32	23 ±0	18 ±0	2,7 ±1,5	4,0 ±1,4	2,5 ±1,3	4,7 ±1,0
10	50	15	30	441 ±0	45 ±0	44 ±1	4,0 ±2,2	3,7 ±1,5	1,5 ±0,6	2,2 ±1,0

Le tableau 31 présente l'aspect général des extraits obtenus pour chaque ligne d'essai.

**Tableau 31 : Photographies des extraits obtenus après lyophilisation**



Une analyse de variance (ANOVA) est appliquée afin de tester la pertinence du plan d'expériences effectué et la signification statistique de chacun des effets des facteurs en comparant la moyenne quadratique par rapport à une estimation de l'erreur expérimentale (DDL). Lorsque la valeur de la probabilité est inférieure à 0,05, l'effet influence de façon significative la réponse étudiée au niveau de confiance de 95%. De plus, la statistique de  $R^2$  permet d'indiquer le degré de corrélation entre les réponses prédites par le modèle et les réponses observées lors des essais du plan d'expériences. Nos résultats sont également représentés sous forme du graphique de Pareto qui classe les effets contribuant à chacune des réponses par ordre décroissant d'importance (du plus significatif au moins significatif). Les barres verticales représentent la valeur minimale à partir de laquelle les effets sont considérés comme étant statistiquement significatif à un niveau de confiance de 95 %. Dans notre cas, les effets des interactions ont été supprimés car ils n'ont pas d'influence significative sur les réponses étudiées.

Le ratio échantillon/solvant est le seul facteur influençant de façon significative l'aspect global des extraits au niveau de confiance de 95% (Tableau 32). Le coefficient de régression ( $R^2=57,02\%$ ) explique plus de la moitié de la variabilité de la réponse étudiée.

**Tableau 32 : Analyse de la variance pour l'aspect global**

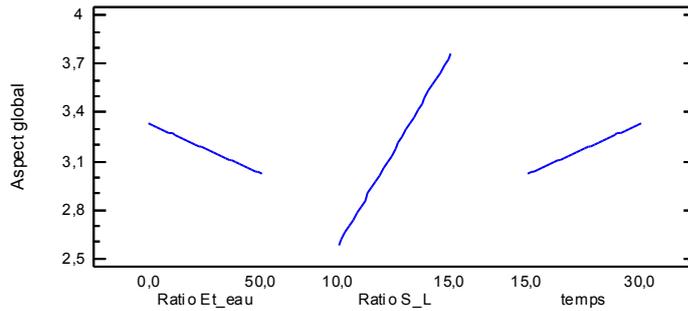
Source	Somme des carrés	DDL	Moyenne quadratique	Rapport F	Probabilité
A:Ratio Et eau	0,195313	1	0,195313	0,48	0,5126
B:Ratio S L	2,82031	1	2,82031	6,99	0,0383
C:temps	0,195313	1	0,195313	0,48	0,5126
Erreur totale	2,42031	6	0,403385		
Total (corr.)	5,63125	9			

R-carré = 57,02 pourcent(s) R-carré (ajusté pour les ddl) = 35,53 pourcent(s)

Les résultats du plan d'expériences ont permis d'estimer les coefficients du modèle et les effets des facteurs :

$$Y (\text{Aspect global}) = -0,10625 - 0,00625 * \% \text{ d'éthanol} + 0,2375 * \text{Ratio E/S} + 0,0208333 * \text{temps}$$

Comme le montre la figure 55, nous observons que le ratio échantillon/solvant influence de façon linéaire l'aspect global des extraits.



**Figure 55 : Graphique des effets moyens des facteurs pour l'aspect global**

Concernant le goût des extraits, le ratio éthanol/eau est le seul paramètre qui influence de façon significative le goût des extraits au niveau de confiance de 95% (Tableau 33). La statistique de  $R^2$  ( $R^2 = 93,98\%$ ) indique un degré de corrélation très élevé entre les réponses prédites par le modèle et les réponses observées lors des essais du plan d'expériences.

**Tableau 33 : Analyse de la variance pour le goût**

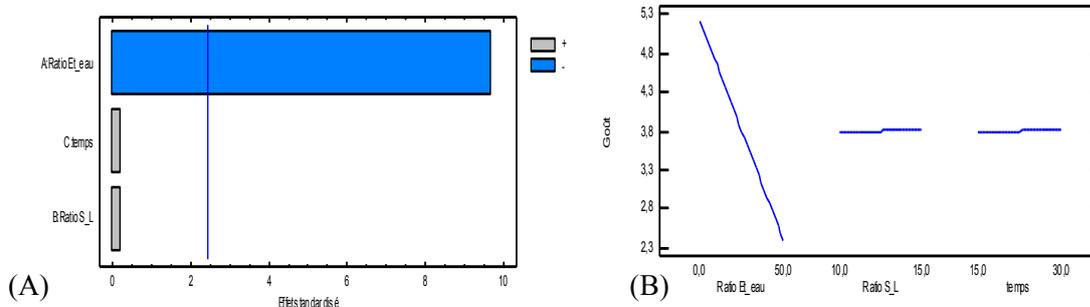
Source	Somme des carrés	DDL	Moyenne quadratique	Rapport F	Probabilité
A:Ratio Et_eau	15,8203	1	15,8203	93,61	0,0001
B:Ratio S_L	0,0078125	1	0,0078125	0,05	0,8369
C:temps	0,0078125	1	0,0078125	0,05	0,8369
Erreur totale	1,01406	6	0,16901		
Total (corr.)	16,85	9			

R-carré = 93,9818 pourcent(s) et R-carré (ajusté pour les ddl) = 90,9727 pourcent(s)

L'équation du modèle obtenue est la suivante :

$$Y (\text{Goût}) = 4,95625 - 0,05625 * \% \text{ d'éthanol} + 0,0125 * \text{Ratio E/S} + 0,00416667 * \text{temps}.$$

L'analyse de la figure 56 montre que le ratio éthanol/eau est très significatif et influence de façon linéaire le goût des extraits. Nous observons que les extraits à l'eau, au goût fruité et sucré, ont une meilleure notation que les extraits éthanoliques en raison de leur arrière-goût amer et alcoolisé persistant en bouche.



**Figure 56 : (A) Graphique de Pareto et (B) Graphique des effets moyens des facteurs pour le goût**

Comme pour le goût des extraits, le ratio éthanol/eau est le seul facteur qui a une influence statistiquement significative sur l'odeur des extraits au niveau de confiance de 95% (Tableau 34). La statistique  $R^2$  ( $R^2 = 52,15\%$ ) explique plus de la moitié de la variabilité de la réponse étudiée.

**Tableau 34 : Analyse de la variance pour l'odeur**

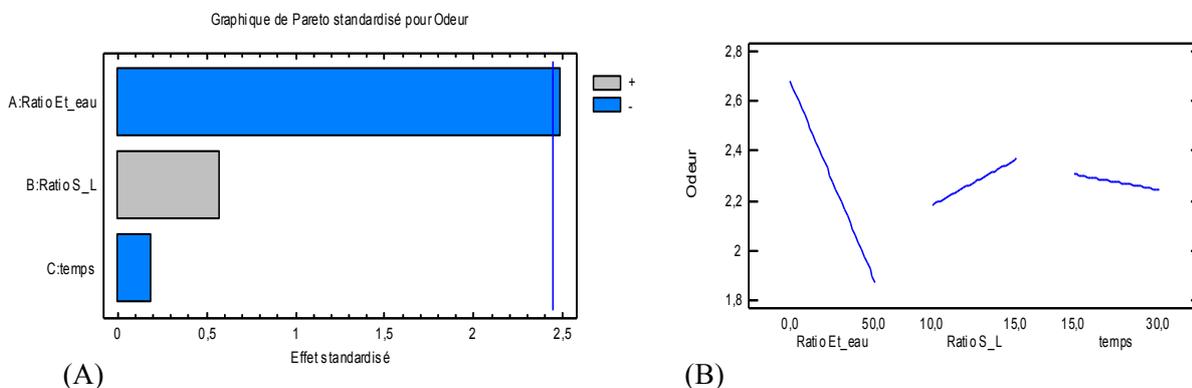
Source	Somme des carrés	DDL	Moyenne quadratique	Rapport F	Probabilité
A:Ratio Et_eau	1,32031	1	1,32031	6,18	0,0475
B:Ratio S_L	0,0703125	1	0,0703125	0,33	0,5872
C:temps	0,0078125	1	0,0078125	0,04	0,8547
Erreur totale	1,28281	6	0,213802		
Total (corr.)	2,68125	9			

R-carré = 52,1562 pourcent(s) et R-carré (ajusté pour les ddl) = 28,2343 pourcent(s)

L'équation du modèle s'écrit comme suit :

$$Y (\text{Odeur}) = 2,30625 - 0,01625 * \% \text{ d'éthanol} + 0,0375 * \text{Ratio E/S} - 0,00416667 * \text{temps}$$

Comme le montre la figure 57, le ratio éthanol/eau a une influence moindre sur l'odeur des extraits comparée à celle obtenue pour le goût. Ce facteur influence également de façon linéaire l'odeur des extraits. Nous remarquons que les extraits à l'eau, à l'odeur légèrement fruité, sont mieux notés que les extraits éthanoliques présentant une odeur de solvant.



**Figure 57 : (A) Graphique de Pareto et (B) Graphique des effets moyens des facteurs pour l'odeur**

Le ratio éthanol/eau est aussi un paramètre influençant de façon significative le rendement au niveau de confiance de 95% (Tableau 35). Le coefficient de régression ( $R^2 = 61,29\%$ ) explique plus de la moitié de la variabilité de la réponse étudiée.

**Tableau 35 : Analyse de la variance pour le rendement**

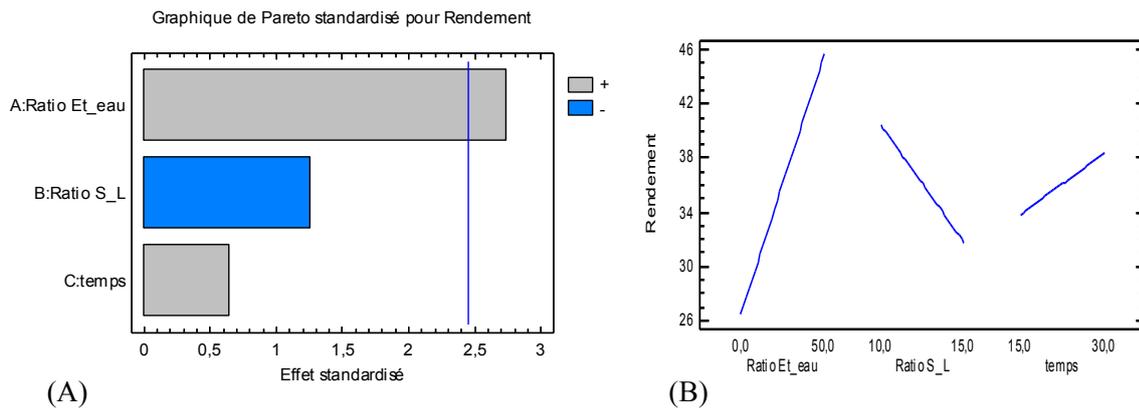
Source	Somme des carrés	DDL	Moyenne quadratique	Rapport F	Probabilité
A:Ratio Et_eau	737,088	1	737,088	7,51	0,0337
B:Ratio S_L	154,968	1	154,968	1,58	0,2557
C:temps	40,455	1	40,455	0,41	0,5446
Erreur totale	589,023	6	98,1705		
Total (corr.)	1521,53	9			

R-carré = 61,2875 pourcent(s) et R-carré (ajusté pour les ddl) = 41,9313 pourcent(s)

Les résultats du plan d'expériences ont permis d'estimer les coefficients du modèle et les effets des facteurs :

$$Y (\text{Rendement}) = 41,7502 + 0,38395 * \% \text{ d'éthanol} - 1,7605 * \text{Ratio E/S} + 0,299833 * \text{temps.}$$

L'analyse de la figure 58 montre que le ratio éthanol/eau est significatif et influence de façon linéaire le rendement en extrait lyophilisé. Ainsi, plus le pourcentage d'éthanol composant le solvant est élevé, plus le rendement en extrait augmente.



**Figure 58 : (A) Graphique de Pareto et (B) Graphique des effets moyens des facteurs pour le rendement**

Concernant les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux, aucun des paramètres étudiés n'a d'influence sur ces réponses. Ces résultats sont surprenants étant donné la grande variabilité des teneurs obtenues. Les choix du domaine expérimental, pour les facteurs de notre étude (ratio éthanol/eau, ratio échantillon/solvant et temps d'extraction), sont probablement trop restreints pour avoir une influence significative sur les réponses polyphénols et flavonoïdes totaux. Cependant, nos valeurs pour les polyphénols totaux (comprises entre 282,23 et 554,16 mg EAG/100 poids sec) sont similaires à celles obtenues pour le moût de pomme (valeurs allant de 257 à 460 mg eq catéchine/100g de poids sec) (Pingret *et al.*, 2012).

### III.2.3 Conditions optimales

Le tableau 36 présente les conditions optimales qui maximisent le rendement en extrait, l'aspect global, le goût et l'odeur des extraits.

**Tableau 36 : Conditions optimales par réponse et multiréponse**

	Rendement (%)	Aspect global	Odeur	Goût	Optimum multiréponse
% d'éthanol	50	0	0	0	7
Ratio E/S (g/100ml)	10	15	10	15	15
Temps (min)	15	15	30	15	30

Concernant l'aspect organoleptique (aspect global et goût), les valeurs optimales sont 0% d'éthanol (donc 100% d'eau), 15 g d'échantillon/100 ml de solvant et 15 minutes d'extraction. Nous remarquons que les extraits à l'eau présentent un goût et une odeur plus agréables car ils sont plus sucrés avec une odeur fruitée. L'extraction en présence d'eau donne un extrait de couleur jaune orangée sous forme d'une poudre un peu collante, après lyophilisation, en raison de la présence de sucre dans la pulpe du fruit.

Les conditions optimales qui maximisent le rendement en extrait sont 50% d'éthanol, 10g d'échantillon/100 ml de solvant et 15 minutes d'extraction. De meilleurs rendements sont obtenus en présence d'éthanol, cependant l'aspect des extraits finaux après lyophilisation est peu satisfaisant. En effet, l'extrait, plus pâteux, plus collant et plus élastique, a l'aspect d'un caramel. Nous supposons que ces extraits sont plus riches en sucre étant donné que les sucres se solubilisent facilement dans l'éthanol.

Les propriétés organoleptiques du produit final sont à prendre en compte pour son positionnement comme complément ou additif alimentaire. Nous avons donc retenu l'optimum multiréponse représentant le meilleur compromis avec 7% d'éthanol, 15 g d'échantillon/100 ml de solvant et 30 minutes d'extraction.

### III.2.4 Caractérisation de l'éco-extrait optimisé

Dans cette section nous avons cherché à :

- Caractériser et quantifier les composés phénoliques de l'éco-extrait optimisé par HPLC (DAD et SM)

- Evaluer son activité antiradicalaire et antioxydante par les méthodes DPPH et ORAC
- Comparer le profil phénolique et le potentiel antioxydant de l'éco-extrait éthanolique à ceux de l'extrait obtenu par la méthode conventionnelle.

Les solvants d'extraction couramment impliqués lors d'une extraction conventionnelle des composés phénoliques sont des solvants nocifs tels que le méthanol ou l'acétone. Dans cette partie, lors de l'éco-extraction, les polyphénols sont extraits au moyen d'une sonde à ultrasons pendant 30 minutes, dans un solvant hydroéthanolique (Eau/éthanol, 93/7, v/v). Dans le cas de l'extraction dite conventionnelle, les substances phénoliques sont extraites à l'aide d'un solvant couramment employé, acétone/eau (70/30, v/v) et d'un bain à ultrasons pendant 30 minutes.

### III.2.4.1 Analyse par chromatographie liquide haute performance (HPLC)

Les composés phénoliques de l'éco-extrait sont analysés et quantifiés avec le même appareillage et dans les mêmes conditions d'analyses décrits antérieurement au chapitre 2, section II.1.2.3.a.

Le tableau 37 indique la composition de chacun des extraits obtenus par extraction conventionnelle et éco-extraction. Nous remarquons que les teneurs en acides phénoliques et en flavonols sont à peu près similaires dans les deux extraits. Ces teneurs sont de 25 mg/100g MS pour les acides phénoliques et 1,6 mg/100g MS pour les flavonols dans le cas de l'extraction conventionnelle et respectivement 26 mg/100g MS et 0,9 mg/100g de MS pour l'éco-extraction. Celle-ci n'affecte donc pas l'extraction de ces deux familles de polyphénols. En revanche, les concentrations en flavan-3-ols et procyanidines diminuent de plus de moitié dans l'éco-extrait. L'extraction conventionnelle permet d'extraire une concentration en flavan-3-ols de 746 mg/100g MS et 731 mg/100g MS pour les procyanidines. Par contre ces teneurs sont respectivement de 296 mg/100g MS et 296 mg/100g MS dans le cas de l'éco-extraction. Cette différence est probablement due au solvant éthanolique qui extrait moins bien les familles de polyphénols telles que les flavan-3-ols et les procyanidines que le solvant méthanolique. Cependant nos résultats sont comparables à ceux établis pour le moût de pomme, en particulier les teneurs en flavan-3-ols et procyanidines, (301 mg/100g MS et 266 mg/100g MS respectivement) (Virot *et al.*, 2010). Concernant le degré de polymérisation (DP) des proanthocyanidines (PAC), il varie très peu d'une méthode d'extraction à l'autre. Quelque soit la méthode d'extraction employée, les liaisons interflavanes ne sont pas rompues et donc nous n'observons pas de phénomène de dégradation des PAC.

**Tableau 37 : Composition et comparaison des extraits**

(Les teneurs sont exprimées en mg/100g MS ; DP PAC : Degré de Polymérisation des ProAnthoCyanidines)

Classes de composés phénoliques	Extraction conventionnelle	Eco-extraction
Acides phénoliques	25 ±0	26 ±0
Flavonols	1,6 ±0,0	0,9 ±0,0
Flavan-3-ols	746 ±2	296 ±3
Procyanidines	731 ±2	296 ±1
DP PAC	33 ±0	30 ±0

#### III.2.4.2 Activité antioxydante et antiradicalaire

Les activités antiradicalaire et antioxydante ont été évaluées sur l'éco-extrait optimisé puis comparées à celles de l'extrait obtenu par la méthode conventionnelle (Tableau 38). Pour la mise en œuvre de cette dernière, nous avons employé un solvant méthanolique pour le test DPPH et un solvant acétonique pour le test ORAC. Les tests sur l'extrait issu de l'éco-extraction ont été réalisés dans les mêmes conditions décrites au chapitre 2, section II.1.2.4.

**Tableau 38 : Comparaison des extraits**

	Extraction conventionnelle	Eco-extraction
Valeur ORAC ( $\mu\text{M ET}/100\text{g MS}$ )	744 ±5	432 ±14
DPPH ( $\text{CI}_{50}$ en mg/ml)	34 ±1	129 ±1

Nous observons que l'éco-extrait présente un potentiel antiradicalaire ( $\text{CI}_{50} = 129 \pm 1 \text{ mg/ml}$ ) et antioxydant (Valeur ORAC =  $432 \pm 14 \mu\text{M ET}/100\text{g MS}$ ). Cependant son activité est moindre comparée à celle de l'extrait obtenu par extraction conventionnelle ( $\text{CI}_{50} = 34 \pm 1 \text{ mg/ml}$  et valeur ORAC =  $744 \pm 5 \mu\text{M ET}/100\text{g MS}$ ). Ceci est probablement dû à la nature du solvant employé. En effet, les extraits végétaux issus de solvant méthanolique ou acétonique favorisent, de façon générale, une plus grande libération des molécules à caractère antioxydant (Khan, Abert-Vian et Fabiano-Tixier, 2010 ; Wallace et Giusti, 2010).

### III.3 Conclusions et perspectives

Dans les industries agroalimentaires, l'utilisation des ultrasons est un phénomène qui prend de l'ampleur. L'extraction assistée par ultrasons est généralement employée pour l'analyse directe de polyphénols et d'autres antioxydants.

Dans ce chapitre nous nous sommes attachés à mettre au point une méthode d'éco-extraction assistée par ultrasons à partir de la pulpe du fruit. Nous avons utilisé une technique d'extraction qui s'inscrit dans une démarche de chimie « verte », évitant l'utilisation de solvants nocifs pour la santé humaine et l'environnement. L'eau, solvant le plus abondant, et l'éthanol, moins toxique et plus économique que les autres solvants organiques, ont constitué le solvant d'extraction.

Le plan d'expérimentation mis en œuvre nous a permis de connaître les conditions optimales qui maximisent les réponses quantitatives. Ainsi nos études ont montré que 7% d'éthanol, 15 g d'échantillon/100 ml de solvant et 30 minutes d'extraction peuvent assurer l'obtention d'un extrait riche en polyphénols (teneurs supérieures à 500 mg EAG/100g) avec de bonnes qualités organoleptiques. C'est un résultat qui nous semble intéressant pour un extrait obtenu avec un solvant constitué majoritairement d'eau. D'autre part, les analyses effectuées sur l'éco-extrait optimisé par HPLC (DAD et SM) nous ont permis d'identifier la présence de deux classes majoritaires de composés : les flavan-3-ols et les procyanidines. Les tests DPPH et ORAC mis en place sur l'éco-extrait ont permis également de mettre en évidence son potentiel antiradicalaire et antioxydant.

Les résultats de l'éco-extraction montrent que l'extrait obtenu est riche en polyphénols et renferment les mêmes concentrations en acides phénoliques et flavanols comparé à celui obtenu par la méthode d'extraction conventionnelle. De plus, l'extrait obtenu à l'aide d'un solvant non nocif possède de bonnes propriétés organoleptiques pour une orientation de valorisation comme complément alimentaire.

D'autre part, dans le processus d'extraction réalisé, l'étape de lyophilisation constitue une étape limitante car elle induit un coût. Cependant c'est une technique de conservation nécessaire capable d'assurer une bonne stabilité des composés bioactifs du matériel végétal et de l'extrait final, ainsi qu'une forme disponible sur une longue durée de la matière première.

La zéodratation pourrait constituer une bonne alternative à la lyophilisation car elle consomme moins d'énergie. Elle est caractérisée par une évaporation sous vide (avec un apport modéré en énergie thermique) et par l'utilisation de zéolites dont les pores (< 2 nm) adsorbent la vapeur d'eau émise par le produit. Par conséquent, la zéodratation ne nécessite

pas d'étape préliminaire de congélation, ni de système de réfrigération pour capter la vapeur d'eau émise par le matériel végétal. Cette technique de conservation pourrait être envisagée mais reste à évaluer et à comparer avec la lyophilisation.

La méthode d'extraction par sonication est une des méthodes les plus efficaces, mais actuellement, de nombreux travaux se consacrent à d'autres méthodes telles que la méthode d'extraction par micro-onde. Cette technique est basée sur l'effet de l'irradiation électromagnétique sur l'eau constitutive du fruit qui servira ainsi de solvant d'extraction pour tous les composés d'intérêt. La pulpe d'abricot-pays, contenant une teneur en élevée en humidité (environ 80%) pourrait donner des résultats prometteurs.

CONCLUSION GENERALE ET  
PERSPECTIVES

## CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'abricot-pays est un fruit tropical consommé frais et également employé pour la fabrication de nectars, confitures et sorbets. L'absence de culture dédiée entraîne une commercialisation en frais inconstante sur les marchés et dans les grandes et moyennes surfaces de distribution.

L'étude bibliographique menée sur le fruit de *Mammea americana* a mis en évidence que la pulpe contient des composés antioxydants tels que des caroténoïdes et de la vitamine C. De plus, la majorité des études scientifiques ont porté sur la graine du fruit, contenant des coumarines insecticides. Quelques travaux ont également montré que *Mammea americana* présente des propriétés biologiques bénéfiques pour la santé telles qu'une activité antioxydante, un effet antiulcère ou encore une activité antibactérienne.

Les producteurs et les consommateurs ont généralement une préférence pour les fruits de gros calibre, présentant beaucoup de pulpe, peu de graines, au goût sucré. Une sélection des meilleures accessions d'abricotier-pays est donc nécessaire afin d'identifier celles qui sont les plus prometteuses. La détermination des caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles fournit des informations utiles pour l'aptitude à la transformation, à la vente en frais, l'évaluation de la maturité des fruits à la récolte, une programmation efficace de la récolte, du conditionnement et de la commercialisation des fruits.

L'étude de caractérisation a porté sur six accessions (Sonson, Pavé 11, Lézarde, Antonio, Escouët, Ti jacques). Des différences statistiquement significatives, en termes de caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles, ont été observées entre les accessions étudiées. Ces différences peuvent être dues essentiellement à leur génotype car elles se sont développées dans les mêmes conditions écologiques et selon le même mode de culture. Ces observations pourraient ouvrir de nouvelles perspectives de travail, qui consisteraient à réaliser une étude de diversité génétique afin de valider cette hypothèse.

Sur l'ensemble des accessions étudiées, Pavé 11, Lézarde et Sonson se distinguent avec des fruits présentant un rendement en pulpe plus élevé (supérieur à 60%), un faible rendement d'égrainage (inférieur à 15%), et une pulpe qui adhère partiellement aux graines. Avec un ratio extrait sec soluble/ acidité titrable 3 à 4 fois plus élevé, Pavé 11 et Lézarde sont caractérisées par des fruits plus gouteux et moins acides que ceux de Sonson. Les résultats obtenus mettent en évidence une forte adaptabilité à la transformation pour Sonson, Pavé 11 et Lézarde.

Lézarde et Pavé 11 peuvent donc être préconisées pour la consommation en frais ou pour la fabrication de boissons. Sonson, qui produit des fruits plus acides, peut être valorisée sous

forme de confiture. En effet, l'acidité favorise la gélification et assure une meilleure conservation.

Antonio, Escouët et Ti Jacques sont caractérisés par des fruits de plus petit calibre avec un rendement en pulpe plus faible que ceux de Sonson, Pavé 11 et Lézarde. Cependant le poids moyen de leurs fruits, compris entre 567,35 et 649,44 grammes, reste comparable aux valeurs retrouvées dans la littérature. Ti Jacques présente des atouts pour la vente en frais comme un rendement en pulpe élevé (environ 60%), une pulpe sucrée (teneur en extrait sec soluble égale à 13,64 °brix), de couleur orange.

Concernant la composition des accessions en antioxydants, Pavé 11 se différencie avec des fruits dont la pulpe est riche aussi bien en caroténoïdes, qu'en polyphénols et en flavonoïdes totaux comparée aux autres accessions. Par ailleurs, les résultats de l'analyse en composantes principales a montré une forte corrélation entre les teneurs en flavonoïdes et caroténoïdes totaux et la composante a<sup>\*</sup>. Ces pigments sont donc responsables de la couleur jaune à orange de la pulpe des fruits.

Aux vues des résultats de l'étude de caractérisation, Pavé 11 et Lézarde représentent le meilleur compromis. En effet, elles sont les plus prometteuses car elles présentent des atouts pour la transformation, la vente en frais et possèdent des caractéristiques fonctionnelles intéressantes. Les analyses statistiques multivariées (ACP et CAH) ont montré que seules les accessions Pavé 11 et Lézarde forment un groupe homogène dont les fruits présentent des caractéristiques très proches. Les fruits produits par ces deux accessions seront donc de même qualité, ce qui constitue un atout pour les producteurs et les transformateurs.

L'étude bibliographique sur l'abricot-pays a montré que la pulpe, qui présente uniquement des coumarines sous forme de traces, mais surtout des substances antioxydantes comme les caroténoïdes et la vitamine C, a été très peu valorisée. Aucune étude n'a été rapportée sur le profil phénolique et l'activité antioxydante de la pulpe du fruit. Notre étude s'est donc focalisée sur l'identification et la quantification des composés phénoliques et les évaluations du potentiel antiradicalaire et antioxydant par les méthodes DPPH et ORAC des extraits de la pulpe du fruit.

En ce qui concerne la caractérisation des polyphénols de la pulpe, nous avons utilisé les méthodes chromatographiques HPLC-DAD et LC-SM. L'analyse des temps de rétention, les caractéristiques spectrales et les fragmentations acquises par HPLC-MS-ESI nous ont permis d'identifier clairement 15 composés sur 33 composés détectés. Nos résultats montrent que les

accessions contiennent différentes familles de composés phénoliques telles que des acides phénoliques liés à une molécule de sucre (acide gallique, acide syringique, acide protocatéchique, acide sinapique), des flavan-3-ols, des flavonols (épicatéchine, quercétine glycosylée) et des dimères et trimères procyanidoliques.

Parmi les 7 monomères quantifiés, l'(-)-épicatéchine est le composé majoritaire des extraits de pulpe (en moyenne 2,27 mg/100g MF). Antonio et Ti Jacques contiennent les teneurs les plus élevées. Parmi les procyanidines identifiées, le trimère C1 est le principal composé de nos échantillons, excepté pour Pavé 11-Lézarde.

L'analyse qualitative des procyanidines par thiolysse révèle que les procyanidines des extraits de pulpe correspondent à des polymères de catéchine et d'épicatéchine sans galloylation. L'(-)-épicatéchine peut constituer aussi bien une unité d'extension qu'une unité terminale alors que la (+)-catéchine est retrouvée uniquement comme unité terminale. Pavé 11-Lézarde se distingue avec le degré de polymérisation des procyanidines le plus élevé (DP= 33). L'absence d'information dans la littérature sur les composés phénoliques de la pulpe du fruit et la complexité des extraits ne nous ont pas permis d'identifier la totalité des composés détectés. Le prolongement de ces travaux de thèse pourrait se faire en confirmant les composés identifiés, et en cherchant à approfondir les élucidations structurales commencées et à localiser et déterminer les sucres présents à l'aide d'autres outils d'analyses (LC/MS, RMN).

A part une étude sur l'activité antioxydante d'un extrait de caroténoïdes obtenu à partir de la pulpe d'abricot-pays (Rodrigues *et al.*, 2012), aucune autre activité antiradicalaire ou antioxydante n'a été rapportée. Nos travaux ont donc permis d'établir le pouvoir antioxydant de l'abricot-pays (valeur ORAC moyenne égale à 109,42 mg/100g MF).

Dans nos conditions expérimentales, Ti Jacques est l'extrait le plus actif avec une valeur  $CI_{50}$  de 19,43 mg/ml et une valeur ORAC égale à 162,59 mg/100g MF. La teneur en flavonoïdes totaux et les activités antioxydante et antiradicalaire sont fortement corrélées. Les flavonoïdes sont donc les principaux composés phytochimiques responsables de pouvoir antioxydant et antiradicalaire de nos extraits.

Globalement, sur l'ensemble des accessions étudiées, Pavé 11 et Lézarde sont intéressants d'un point de vue technologique et fonctionnel. Elles se différencient par leur teneur en procyanidines oligomères avec un degré de polymérisation élevé (DP= 33). Ti Jacques présentent également des atouts pour la vente en frais. Sa pulpe de couleur orange et sucrée

est plus riches en (-)-épicatéchine. Elle se distingue avec un pouvoir antioxydant et antiradicalaire plus élevés que les autres accessions.

De nombreuses études ont largement démontré l'effet bénéfique pour la santé des composés phénoliques antioxydants. Les procédés d'extraction des produits végétaux présentent donc un intérêt croissant dans les secteurs de l'agroalimentaire, de la cosmétique et de la pharmacie.

Nous avons donc cherché à améliorer l'extraction des composés phénoliques de la pulpe assistée par ultrasons. Trois paramètres ont été testés: Le ratio éthanol/eau, le ratio échantillon/solvant, le temps d'extraction.

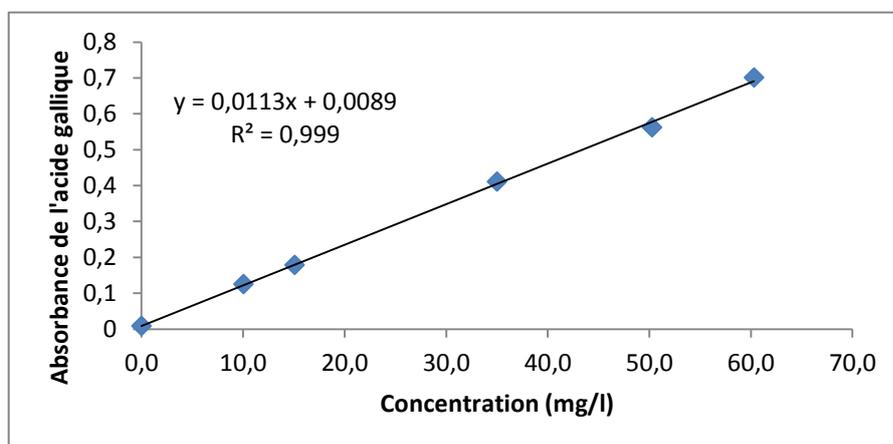
Le plan d'expérimentation mis en œuvre nous a permis de connaître les conditions optimales qui maximisent les réponses quantitatives. Ainsi nos études ont montré que 7% d'éthanol, 15 g d'échantillon/100 ml de solvant et 30 minutes d'extraction peuvent assurer l'obtention d'un extrait riche en polyphénols (teneurs supérieures à 500 mg EAG/100g) avec de bonnes qualités organoleptiques. C'est un résultat qui nous semble intéressant pour un extrait obtenu avec un solvant constitué majoritairement d'eau. D'autre part, la caractérisation des éco-extraits optimisés par HPLC (DAD et SM) nous ont permis d'identifier la présence de deux classes majoritaires de composés : les flavan-3-ols et les procyanidines. Les tests DPPH et ORAC mis en place sur l'éco-extrait ont permis également de mettre en évidence son potentiel antiradicalaire et antioxydant. Cependant, les essais d'éco-extraction n'ont pas été satisfaisants. Ils ne nous ont pas permis d'améliorer le rendement d'extraction des composés phénoliques de notre extrait, ni d'augmenter sa capacité antioxydante comparés à une extraction conventionnelle.

Il semble nécessaire d'envisager une autre technique d'éco-extraction, notamment la méthode d'extraction par micro-onde. La pulpe d'abricot-pays, contenant une teneur en élevée en humidité (environ 80%) pourrait donner des résultats prometteurs.

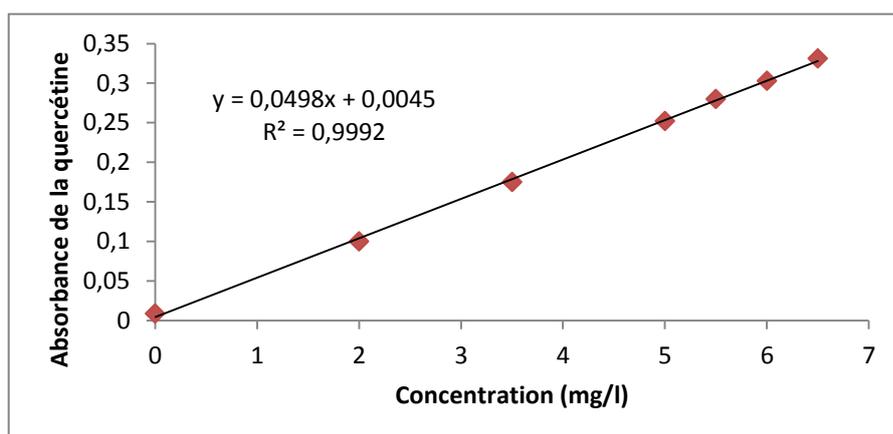
# Annexes

## Annexe 1

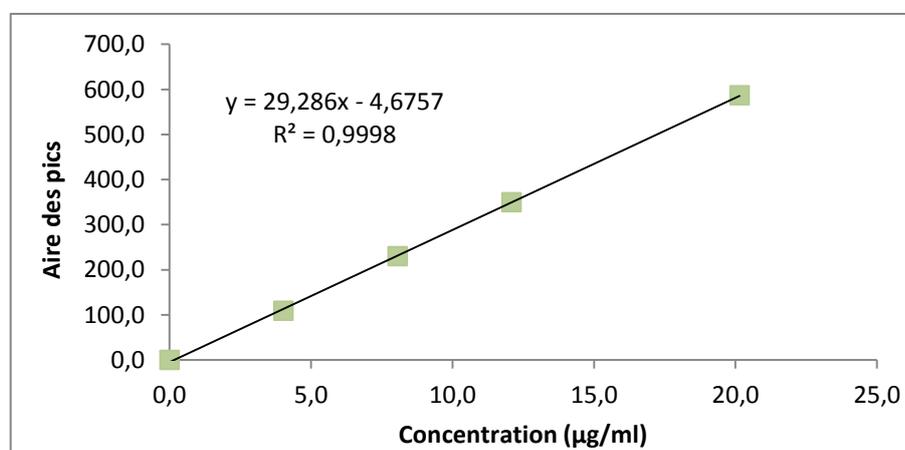
- Droite d'étalonnage des polyphénols totaux



- Droite d'étalonnage des flavonoïdes totaux

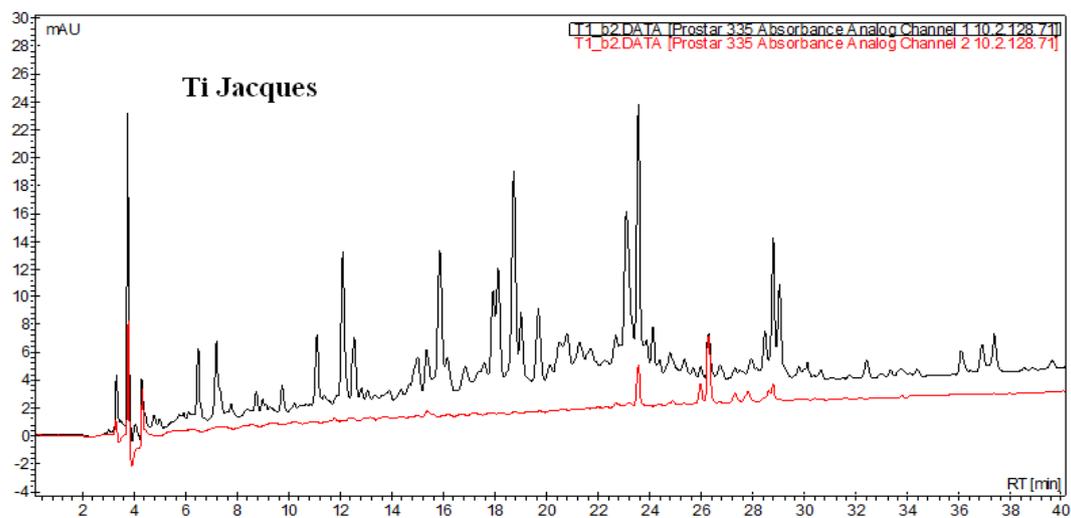
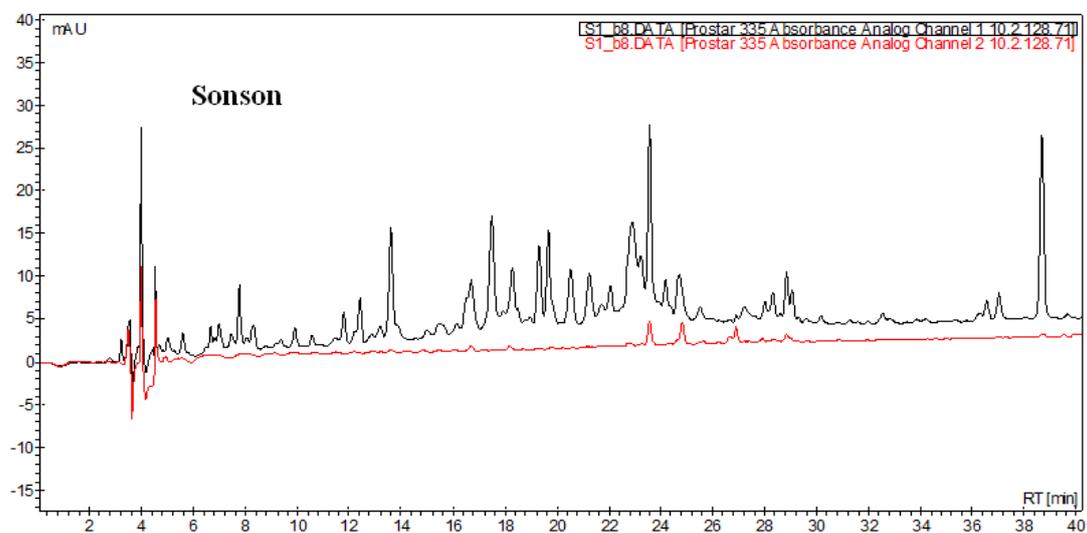


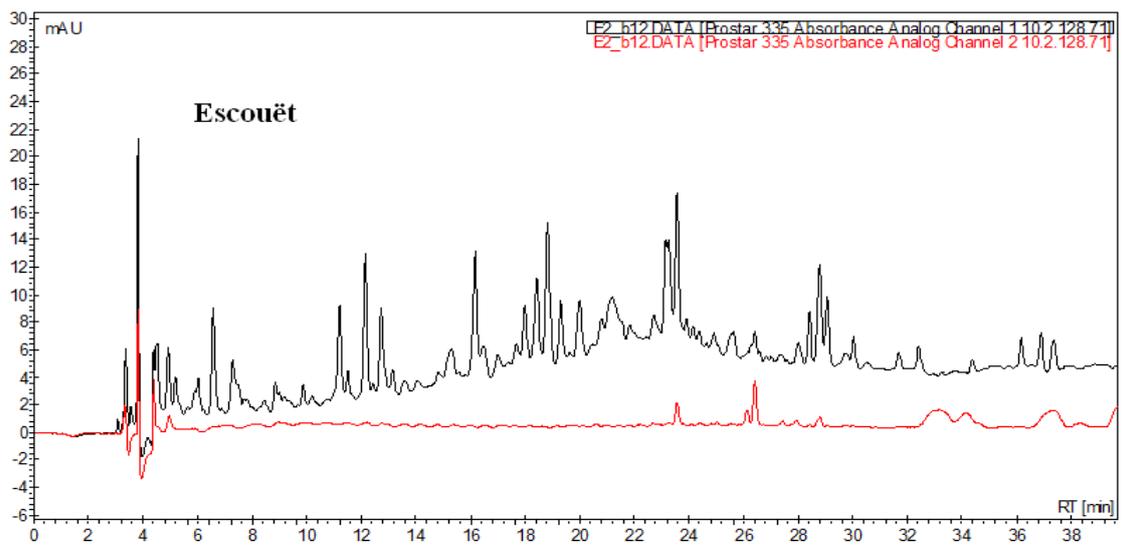
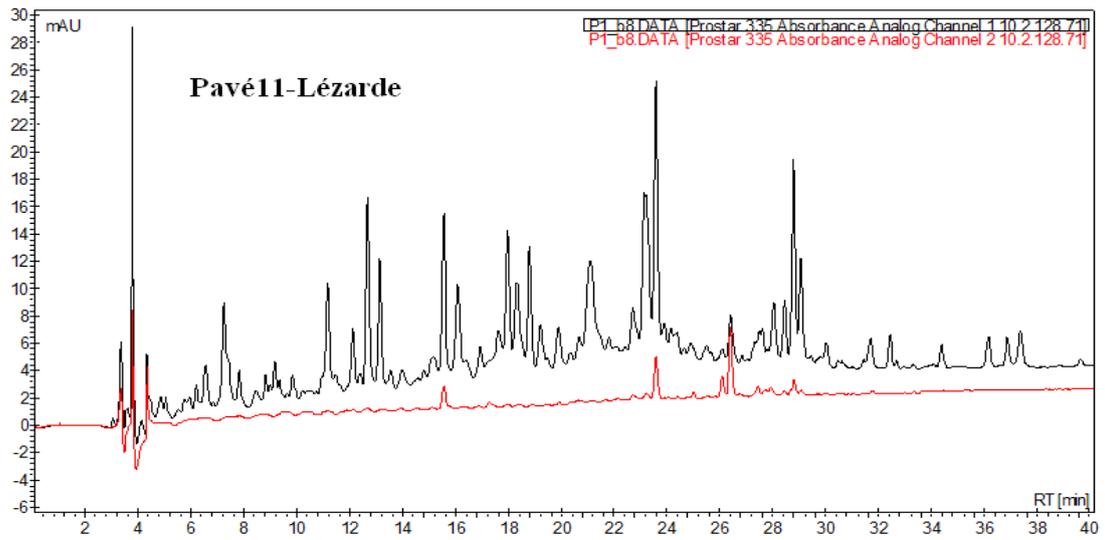
- Droite d'étalonnage de la vitamine C

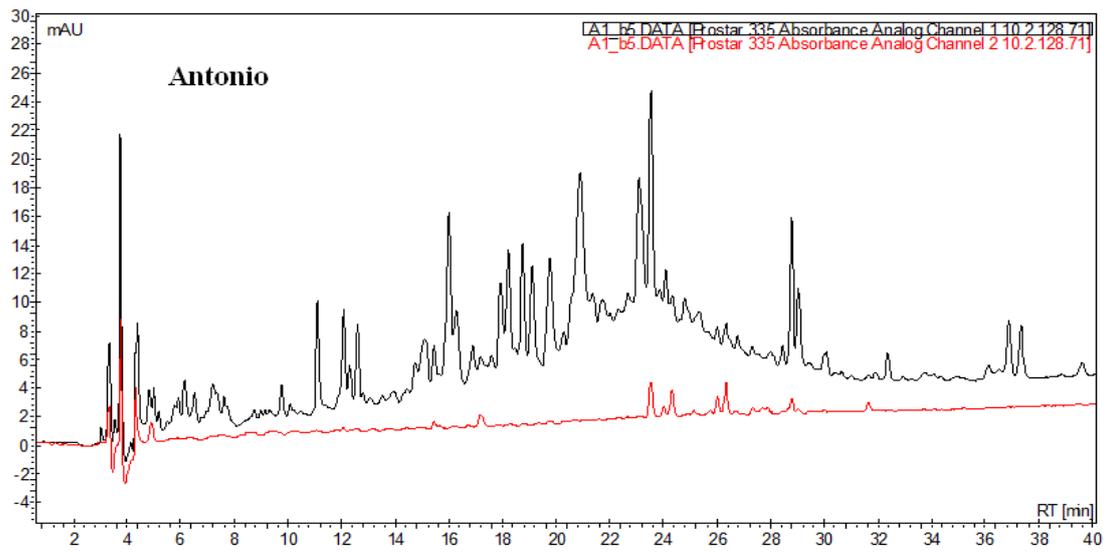


## Annexe 2

Chromatogrammes des extraits de pulpe d'abricot-pays (Tracé noir : 280 nm ; tracé rouge : 350 nm)

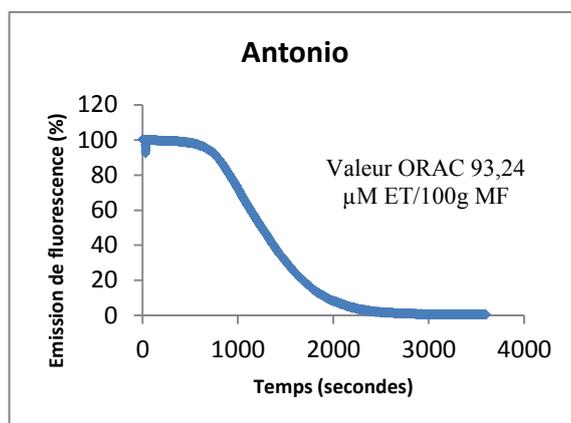
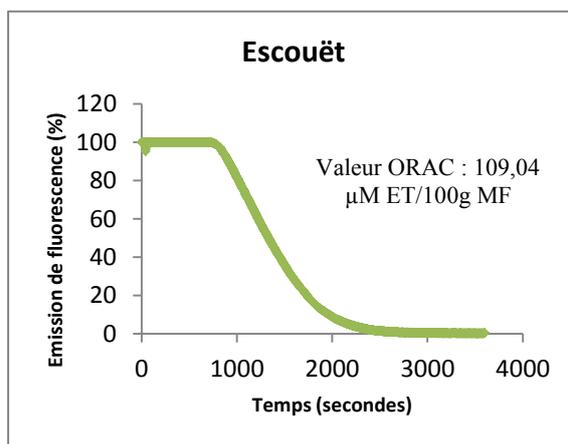
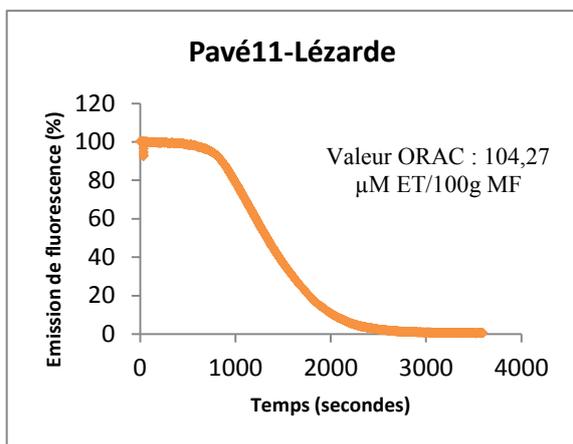
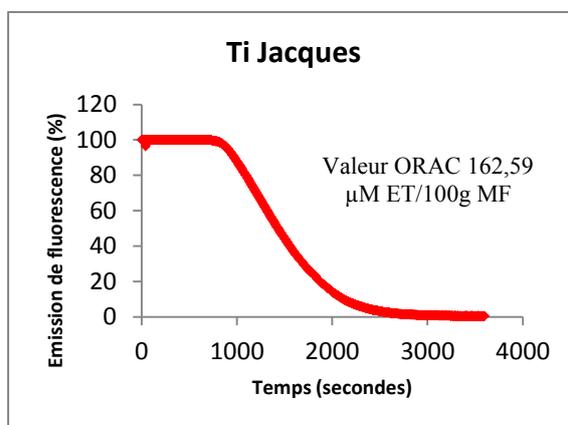
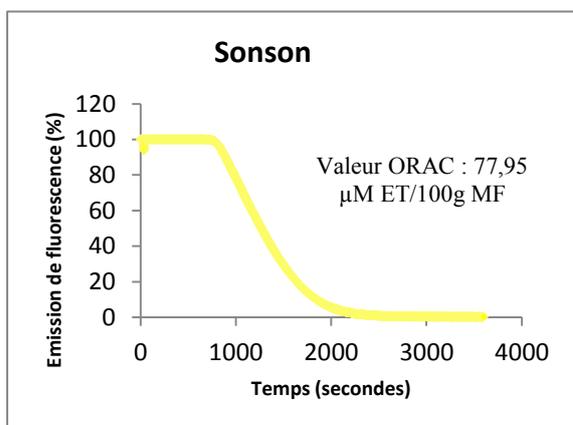






## Annexe 3

Courbes de décroissance de la fluorescence de la fluorescéine en fonction du temps :



## Références bibliographiques

---

Abbott, J.A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 15, 207-225.

Akamine, E.K. et Goo, T. 1978. Respiration and ethylene production in Mammee apple (*Mammea americana* L.). *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 103, 308-310.

Ali, S., Masud, T. et Abbasi, K.S. 2011. Physico-chemical characteristics of apricot (*Prunus armeniaca* L.) grown in Northern Areas of Pakistan. *Scientia Horticulturae*, 130, 386-392.

Almeida, M.M.B., de Sousa, P.H.M., Arriaga, A.M.C., do Prado, G.M., de Carvalho Magalhães, C.E., Maia, G.A. et de Lemos, T.L.G. 2011. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 44, 2155-2159.

Alonso Borbalán A.M., Zorro, L., Guillén, D.A. et Barroso, C.G. 2003. Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power. *Journal of chromatography A*, 1012, 31-38.

Alothman, M., Bhat, B. et Karim, A.A. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115, 785-788.

Aurore, G., Parfait, B., Fahrasmane, L. 2009. Bananas, raw materials for making processed food products. *Trends in Food Sciences and Technology*, 20, 78-91.

Barroso, G.M., Morim, M.P., Peixoto, A.L. et Ichaso, C.L.F. 1999. Frutos e sementes, morfologia aplicada à sistemática de dicotiledônas. UFV Viçosa éditions. Brésil.

Bartolomé, A.P., Rupérez, P. et Fuster, C. 1995. Pineapple fruit: morphological characteristics, chemical composition and sensory analysis of Red Spanish and Smooth Cayenne cultivars. *Food Chemistry*, 53, 75-79.

Berger, M.M. 1997. Rôle antioxydant des micronutriments : pertinence en épidémiologie et en réanimation. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 11, 125-132.

Björklund, E., Nilsson, T. et Bøwadt, S. 2000. Pressurised liquid extraction of persistent organic pollutants in environmental analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 19, 434-445.

Brand-Williams, B., Cuvelier, M.E. et Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 25-30.

Brat, P., Georgé S., Bellamy, A., Du Chaffaut, L., Scalbert, A., Mennen, L., Arnault, N. et Amiot, M.J. 2006. Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *The journal of nutrition*, 136, 2368-2373.

- Buranov, A. U. et Mazza, G. 2008. Lignin in straw of herbaceous crops. *Industrial Crops and Products*, 28, 237-259.
- Campbell, R.J. 2005. Collecting *Mammea americana* L. in tropical America: potential for Florida. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 118, 242-243.
- Carando, S., Teissedre, P.L. et Cabanis, J.C. 1999. Estimation de l'apport en catéchines et procyanidines relatif à une consommation modérée et régulière de vins en France. *Bulletin de l'Office International de la Vigne et du vin*, vol. 72, n°815-816, 72-86.
- Cemeroglu, B. et Acar, J. 1986. Fruit and vegetable processing technology. *Food Technology Association*, Publication No: 6, Ankara, 1-507.
- Céspedes, C.L., El-Hafidi, M., Pavon, N. et Alarcon, J. 2008. Antioxidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpacee), Maqui. *Food Chemistry*, 107, 820-829.
- Chase, M.W et Reveal, J.L. 2009. A phylogenetic classification of the land plants to accompany APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161, 122-127.
- Chemat, F. 2011. Eco-extraction du végétal, Procédés innovants et solvants alternatifs. Dunod éditions. France.
- Chemat, F., Zill-e-Huma et Khan, M.K. 2011. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 813-835.
- Chong, J., Poutaraud, A. et Hugueney, P. 2009. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*, 177, 143-155.
- CIQUAL – CNEVAL, 1993. Répertoire général des aliments Table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. (Tome 3). ORSTOM/Tec & Doc Lavoisier éditions, INRA. France.
- Clerici, M.T.P.S. et Carvalho-Silva, L.B. 2011. Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Research International*, 44, 1658-1670.
- CNRS, consulté le 20 Juillet 2011, <http://lemo.irht.cnrs.fr/45/organisation-spatiale-couleurs.htm>.
- Collin, S. et Cruzet, J. 2011. Polyphénols et procédés. Tec & Doc éditions. France.
- Crombie, D.E., Games, N.J. et McCormick, A. 1966. Extractives of *Mammea americana* L. Part. I. The 4-n-alkylcoumarins. Isolation and structure of mammea B/BA, B/BB, B/BC and C/BB. *Tetrahedron Lett.*, 151-156.
- Crombie, D.E., Games, N.J. et McCormick, A. 1967. Extractives of *Mammea americana* L. Part. I. The 4-n-alkylcoumarins. Isolation and structure of mammea A/AA, A/AA cyclo D, A/BA, A/AB and A/BB. *Tetrahedron Lett.*, 2553-2559.

Crombie, L., Games, D.E., Haskins, N.J., Reed, G.F., 1972. Extractives of *Mammea americana* L. Part V. The insecticidal compounds. *J. Chem. Soc., Perkin Tans. 1.*, 18, 2255-2260.

Crombie, L., Jones, R.C.F. et Palmer, C.J., 1987. Synthesis of the mammea coumarins. Part III. The insecticidal coumarins of the Mammea E series, Mammea D/BB, and a dihydrocoumarin of the Mammea C series. *J. Chem. Soc., Perkin Tans.*, 1. 345-351.

Csuk, R., Albert, S., Siewert, B. et Schwarz, S. 2012. Synthesis and biological evaluation of novel (E) stilbene-based antitumor agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 54, 669-678.

Cuvelier, M-E. 1992. Mesure de l'efficacité des antioxygènes d'origine végétale. Recherche des composés actifs de la sauge. Thèse de sciences alimentaires, ENSIA de Massy, France.

D'abrosca, D., Pacifico, S., Cefarelli, G., Mastellone, C. et Fiorentino, A. 2007. 'Limoncella' apple, an Italian apple cultivar: Phenolic and flavonid contents and antioxidant activity. *Food chemistry*, 104, 1333-1337.

De Barros, M. P. d., Lemos, M., Maistro, E. L., Leite, M. F., Sousa, J. P. B., Bastos, J. K., et Andrade, S. F. d. 2008. Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in brazilian green propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, 120, 372-377.

De Bruyne, T. D., Pieters, L., Deelstra, H. et Vlietinck, A. 1999. Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27, 445-459.

De Lourdes Mata Bilbao, M., Andrés-Lacueva, C., Jáuregui, O. et Lamuela-Raventós, R. M. 2007. Determination of flavonoids in a citrus fruit extract by LC–DAD and LC–MS. *Food Chemistry*, 101, 1742-1747.

De Rosso, V.V. et Mercadante, A.Z. 2007. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from amazonian fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 5062-5072.

Dixon, R. A. et Steele, C. L. 1999. Flavonoids and isoflavonoids – a gold mine for Metabolic engineering. *Trends in Plant Science*, 4, 394-400.

Djerassi, C., Eisenbraun, E.J., Gilbert, B., Lemin, A.J., Marfey, S.P. et Morris, M.P. 1958. Naturally occurring oxygen heterocyclics. II. Characterization of an insecticidal principle from *Mammea americana* L. *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 3686-3691.

Do Amarante, C.V.T, Steffens, C.A. et Argenta, L.C. 2011. Yield and fruit quality of 'Gala' and 'Fuji' apple trees protected by white anti-hail net. *Scientia Horticulturae*, 129, 79–85.

Dragovic-Uzelac, V., Levaj, B., Mrkic, V., Bursac, D. et Boras, M. 2007. The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. *Food chemistry*, 102, 966-975.

Du, G., Li, M. et Liang, D. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and vitamin C in *Actinidia* fruits. *Food Chemistry*, 113, 557-562.

Du, L., Mahdi, F., Jekabsons, M.B., Nagle, D.,G. et Zhou, Y.D. 2010. Mammea E/BB, an isoprenylated dihydroxycoumarin protonophore that potently uncouples mitochondrial electron transport, disrupts hypoxic signaling in tumor cells. *J. Nat. Prod.*, 73, 1868-1872.

Du, L., Mahdi, F., Jekabsons, M.B., Nagle, D.,G. et Zhou, Y.D. 2011. Natural and semisynthetic mammea-type isoprenylated dihydroxycoumarins uncouple cellular respiration. *J. Nat. Prod.*, 74, 240-248.

Ebrahimi, A. et Schluesener, H. 2012. Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: Potentials and pitfalls. *Ageing Research Reviews*, 11, 329-345.

El Darra, N. 2013. Les composés phénoliques des raisins : étude du potentiel qualitatif et des procédés émergents d'extraction. Thèse de doctorat, Université de Technologie de Compiègne (UTC).

FAO Ecocrop, 2001, consulté le 15 Juin 2011  
<http://ecocrop.fao.org/ecocrop/srv/en/dataSheet?id=1414>.

FAO, 2002. Archives de documents de la FAO: Agriculture, alimentation et nutrition en Afrique, consulté le 16 Juillet 2012. <http://www.fao.org/docrep/008/w0078f/w0078f00.htm>.

Finnegan, R.A. et Mueller, W.H. 1965. Constituents of *Mammea americana* L. IV. The structure of mammeigin. *J. Org. Chem.*, 30, 2342-2344.

Finnegan, R.A. et Patel, J.K. 1972. Constituents of *Mammea americana* L. Part X. The isolation of some mono- and dihydroxyxanthenes. Observations on the synthesis of 1,5-,3,5-,1,6- and 1,7-dihydroxyxanthone. *J. Chem. Soc., Perkin Tans. 1.*, 1896-1901.

Finnegan, R.A., Morris, M.P. et Djerassi, C. 1961. Naturally occurring oxygen heterocyclics 4-phenyl-5,7-dihydroxy-6-isovaleryl-8-isopentenylcoumarin. *J. Org. Chem.*, 26, 1180-1183.

Floegel, A., Kim, D-O., Chung, S.J., Koo, S.I. et Chun, O.K. 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 1043-1048.

Fournet, J. 2002. Flore illustrée des phanérogames de la Guadeloupe et de la Martinique. Nouvelle édition revue et augmentée, 1, Cirad. Gondwana éditions. France.

Frame, A.D., Ríos-Olivares, E., De Jesús, L., Ortiz, D., Pagán, J. et Méndez, S. 1998. Plants from Puerto Rico with anti-*Mycobacterium tuberculosis* properties. *PR Health Sci. J.*, 19, 243-252.

Francis, J.K. 1989. *Mammea americana* L. Mamey, mammee-apple. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. New Orléans, LA, Etats-Unis.

- Games, D.E. 1972. Identification of 4-phenyl and 4-alkylcoumarins in *mammea americana* L., *mammea Africana* G. and *calophyllum inophyllum* by gas chromatography – mass spectrometry. *Tetrahedron Lett.*, 13, 3187-3190.
- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A. et Fernández-Gutiérrez, A. 2010. Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules*, 15, 8813-8826.
- Georgé, S., Brat, P., Alter, P. et Amiot, M.J. 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1370-1373.
- Gervais, L. et Lavigne, C. 2007. Mamey (*Mammea americana* L.) in Martinique Island: an inheritance to be developed. *Fruits*, 62, 135-142.
- Greenspan Gallo, L., Allee, L.L. et Gibson, D.M., 1996. Insecticidal effectiveness of *Mammea americana* (*Guttiferae*) extracts on larvae of *Diabrotica Virgifera virgifera* (*Coleoptera: Chrysomelidae*) and *Trichoplusia Ni* (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Econ Bot.* 50, 236-242.
- Grenand, P., Moretti, C., Jacquemin, H. et Prévost, M-F. 2004. Pharmacopées traditionnelles en Guyane, IRD éditions. Paris, France.
- Grigoraș, C-G., 2012. Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse en chimie et génie de l'environnement, Université d'Orléans et de « Vasile Alecsandri » de Bacău, France/Roumanie.
- Gurbuz, I., Yesilada, E. et Ito, S. 2009. An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from *equisetum palustre* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 121, 360-365.
- Guyot, S., Le Bourvellec, C., Marnet, N. et Drilleau, J.F. 2002. Procyanidins are the most abundant polyphenols in dessert apples at maturity. *LWT- Food Science and Technology*, 35, 289-291.
- Havsteen, B. H. 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96, 67-202.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. et Bobilya, D. J. 2002. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- Herrera, M.C. et Luque de Castro, M.D. 2005. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *Journal of chromatography A*, 1100, 1-7.
- Hoehn, E., Gasser, F., Guggenbuhl, B. et Kunsch, B. 2003. Efficacy of instrumental measurements for determination of minimum requirements of firmness, soluble solids, and

acidity of several apple varieties in comparison to consumer expectations. *Postharvest Biology and Technology*, 27, 27-37.

Hoffmann, L., Besseau, S., Geoffroy, P., Ritzenthaler, C., Meyer, D., Lapierre, C. et Legrand, M. 2004. Silencing of hydroxycinnamoyl-coenzyme A Shikimate/Quinate hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. *The Plant Cell*, 16, 1446-1465.

Hollman, P. C. H., Gaag, M. V. D., Mengelers, M. J. B., Van Trijp, J. M. P., De Vries, J.H.M. et Katan, M. B. 1996. Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. *Free Radical Biology and Medicine*, 21, 703-707.

Hooper, L. et Cassidy, A. 2006. A review of the health care potential of bioactive compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 1805-1813.

Huang, D., Ou, B. et Prior, L.R. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.

Isabelle, M., Lee, B.L., Lim, M.T., Koh, W-P, Huang, D. et Ong, C.N. 2010. Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. *Food Chemistry*, 123, 77-84.

Japón-Luján, R., Luque-Rodriguez, J.M. et Luque de Castro, M.D. 2006. Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of chromatography A*, 1108, 76-82.

Jones, M.A. et Plank, H.K., 1945. Chemical nature of the insecticidal principle in mamey seed. *J. Am. Chem. Soc.* 67, 2266-2267.

Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A. et Stevens, P. 2002. Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. Traduction et révision scientifique de la 1<sup>ère</sup> édition américaine. De Boeck Université éditions. France.

Kaiser, H.F. 1960. The application of electronic computers to factor analysis. *Educ. Psycho.Meas.*, 20, 141-51.

Kaur, G., Jabbar, Z., Athar, M. et Alam, M.S. 2006. *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 984-993.

Khan, M.K., Abert-Vian, M. et Fabiano-Tixier, A-S. 2010. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119, 851-858.

Kramer, A. 1964. Definition of texture and its measurement in vegetable products. *Food Technol.*, 46-49.

Labat, J-B. 1998. Voyage aux isles : Chronique aventureuse des Caraïbes, 1693-1705. Phébus éditions.

- Lamaison, J.L.C. et Carnet, A. 1990. Teneurs en principaux flavonoids des fleurs de *Crataegus monogyna* Jacq et de *Crataegus laevigata* (Poiret D. C) en fonction de la vegetation. *Pharm. Acta. Helv.*, 65, 315-320.
- Le Bellec, F., Leroy, E. et Ternisien, A. 2002. Mon jardin tropical. Collection Guide de jardinage, Orphies éditions. France.
- Lim, Y.Y., Lim, T.T. et Tee, J.J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry*, 103, 1003-1008.
- Liu, W-Y., Zhou, C., Yan, C-M., Xie, S-L., Feng, F., Wu, C-Y. et Xie, N. 2013. Characterization and simultaneous quantification of multiple constituents in Aurantii Fructus Immaturus extracts by HPLC-DAD-ESI-MS/MS. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10, 456-463.
- Longuefosse, J.L. 2007. Plantes médicinales caribéennes, Tome 1. Orphies éditions. France.
- Loupe, D., Oteng-Amoako, A.A. et Brink, M. 2008. Bois d'œuvre 1 : Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Backhuys Publishers CTA PROTA éditions.
- Luque-García, J.L., Luque de Castro, M.D. 2003. Comparison of the static, dynamic and static-dynamic pressurized liquid extraction modes for the removal of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons from soil with on-line filtration-preconcentration. *Journal of Chromatography A*, 1010, 129-140.
- Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., Xing, S. et Zhou, Y. 2011. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129, 102-107.
- Manzano-Mendez, J.E. et Dris, R. 2001. Effect of storage atmosphere and temperature on soluble solids in mamey amarillo (*Mammea americana* L.) fruits. Ben-Arie, R., Philosoph-Hadas, S. éditions, Proc. 4<sup>th</sup> Int. Conf. on Postharvest, Acta Hort.
- Martini, N. D., Katerere, D. R. P. et Eloff, J. N. 2004. Biological activity of five antibacterial flavonoids from Combretum erythrophyllum (combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 93, 207-212.
- Mason, T.J. et Paniwnyk, L. 2000. Ultrasound as a preservation technology. Zeuthen, P., Bogh-Sorensen, L. éditions, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Angleterre.
- Melédez, P.A. et Capriles, V.A. 2002. Molluscicidal activity of plants from Puerto Rico. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 96, 209-218.
- Michel, T. 2011. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse en chimie analytique et phytochimie, Université d'Orléans, France.

- Mladěnka, P., Zatloukalová, L., Filipský, T. et Hrdina, R. 2010. Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 49, 963-975.
- Mohamad Ibrahim, M. N., Zakaria, N., Sipaut, C. S., Sulaiman, O. et Hashim, R. 2011. Chemical and thermal properties of lignins from oil palm biomass as a substitute for phenol in a phenol formaldehyde resin production. *Carbohydrate Polymers*, 86, 112-119.
- Morales, A.L. et Duque, C. 2002. Free and glycosidically bound volatiles in the mammee apple (*Mammea americana*) fruit. *Eur. Food Res. Technol.*, 215, 221-226.
- Morean, F. 1991. Mammee Apple. An under exploited fruit in Trinidad and Tobago. *Fruits*, 46, 699-702.
- Morton, J.F. 1987. Mamey, Fruits of warm climates. Curtis, F. Dowling Jr éditions. Miami.
- Mourão, K.S.M. et Beltrati, C.M. 2000. Morphology and anatomy of developing fruits and seeds of *Mammea americana* L. (CLUSIACEAE). *Revista Brasileira de Biologia*, 60, 701-711.
- Nacitas, J. 2012. Composition du fruit à pain récolté sur un territoire contrasté structure, propriétés et aptitude technologique de son amidon. Thèse de doctorat, Université des Antilles et de la Guyane, école pluridisciplinaire Santé, Environnement et Sociétés des Amériques.
- Navarrete-Tindall, N. et Orellana Nunez, M.O. 2002. *Mammea americana* L., Tropical tree seed manual: part II – Species description. USAD Forest service, Vozzo, J.A. éditions. Washington.
- Norme AFNOR (FD X 06-081), 2003. Plans d'expériences Guide pour le choix d'un plan d'expériences. Association Française de Normalisation. France.
- Ouensanga, C. 1983. Plantes médicinales et remèdes créoles. Desormeaux éditions. Martinique.
- Perestrelo, R., Lu, Y., Santos, S.A.O., Silvestre, A.J.D., Neto, C.P., Câmara, J.S. et Rocha, S.M. 2012. Phenolic profile of Sercial and Tinta Negra *Vitis vinifera* L. grape skins by HPLC–DAD–ESI-MS Novel phenolic compounds in *Vitis vinifera* L. grape. *Food Chemistry*, 135, 94–104.
- Petti, S. et Scully, C. 2009. Polyphenols, oral health and disease: A review. *Journal of Dentistry*, 37, 413-423.
- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A-S., Le Bourvellec, C., Renard, C.M.G.C. et Chemat, F. 2012. Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace. *Journal of food engineering*, 111, 73-81.
- Plank, H.K., 1944. Insecticidal properties of mamey and other plants in Puerto Rico. *J. Econ. Entomo.* 37, 737-739.

- Poupon, J. et Chauvin, G. 1983. Les arbres de la Martinique. Office national des forêts, Direction régionale pour la Martinique. France.
- Prior, R. L. et Gu, L. 2005. Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the american diet. *Phytochemistry*, 66, 2264-2280.
- Prior, R.L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E. et McEwen, J. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* species. *J. Agric. Food Chem.*, 46, 2686-2693.
- Prokudina, E. A., Havlíček, L., Al-Maharik, N., Lapčík, O., Strnad, M. et Gruz, J. 2012. Rapid UPLC–ESI–MS/MS method for the analysis of isoflavonoids and other phenylpropanoids. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26, 36-42.
- Reyes-Chilpa, R., Estrada-Muñiz, E., Vega-Avila, E., Abe, F., Kinjo, J. et Hernández-Ortega, S. 2008. Trypanocidal constituents in plants. 7. Mammea-type coumarins. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 103, 431-436.
- Richard-Forget, F.C., Gaillard, F., Hugues, M., Thiry, J-M., Boivin, P. et Nicolas, J. 1995. Inhibition of horse bean and germinated barley lipoxygenases by some phenolic compounds. *Journal of Food Science*, 60, 1325-1329.
- Rietjens, I.M.C.M., Boersma, M.G., de Haan, L., Spenkelink, B., Awad, H.M., Cnubben, N.H.P., van Zande, J. J., van der Woude, H., Alink, G.M. et Koeman, J.H. 2002. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11, 321-333.
- Rodrigues, E., Mariutti, L.R.B., Chisté, R.C. et Mercadante, A.Z. 2012. Development of a novel micro-assay for evaluation of peroxy radical scavenger capacity: Application to carotenoids and structure-activity relationship. *Food Chemistry*, 135, 2103-2111.
- Rodriguez-Amaya, D.B. 1989. Critical review of provitamin A determination in plant foods. *Journal of Micronutrient Analysis*, 5, 191-225.
- Roginsky, V. et Lissi, E.A. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry*, 92, 235-254.
- Rufino, M.S.M., Alves, R.E., de Brito, E.S. et Pérez-Jiménez, J. 2010. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.0370.
- Rupesh Kumar, M., Mohamed Niyas, R., Tamizh Mani, T., Fasaly Rahiman, O.M. et Satya Kumar, B. 2011. A review on medicinal plants for peptic ulcer. *Der Pharmacia Lettre*, 3, 180-186.
- Sannomiya, M., Fonseca, V. B., da Silva, M. A., Rocha, L. R. M., dos Santos, L. C., Hiruma-Lima, C. A. et Vilegas, W. 2005. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 97, 1-6.

- Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V. 2006. *Les polyphénols en agroalimentaire*. Tec & Doc éditions. France.
- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B. et Battino, M. 2005. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21, 207-213.
- Schieber, A., Ullrich, W. et Carle, R. 2000. Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1, 161-166.
- Sen, S. et Chakraborty, R. 2011. The role of antioxidants in human health, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy. Andreescu, S., *et al.* editions. ACS Symposium Series, American Chemical Society. Washington, DC.
- Setiawan, B., Sulaeman, A., Giraud, D.W. et Driskell, J.A. 2001. Carotenoid content of selected Indonesian fruits. *J Food Compost Anal.*, 14, 169-176.
- Sievers, A. F., Archer, W.A., Moore, R.H., McGovern, E.R., 1949. Insecticidal tests of plants from tropical America. *J. Econ. Entomo.* 42, 549-551.
- Singleton, V. L. et Rossi, J. A. 1965. Colorimetry of total phenols with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Souci, S.W., Fachmann, W. et Kraut, H. 2008. Food composition and nutrition tables, seventh revised and completed ed. MedPharm Scientific Publishers, Germany.
- Spichiger, R-E., Savolainen, V.V., Figeat, M. et Jeanmonod, D. 2004. Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Troisième édition revue et corrigée. PPUR presses polytechniques éditions. France.
- Sun, J., Liang, F., Bin, Y., Li, P. et Duan, C. 2007. Screening Non-colored Phenolics in Red Wines using Liquid Chromatography/Ultraviolet and Mass Spectrometry/Mass Spectrometry Libraries. *Molecules*, 12, 679-693.
- Sun, T. et Ho, C. 2005. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*, 90, 743-749.
- Tapiero, H., Tew, K.D., Nguyen Ba, G. et Mathé, G. 2002. Polyphenols : do they play a role in the prevention of human pathologies ?. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56, 200-207.
- Thompson, R. S., Jacques, D., Haslam, E. et Tanner, R. J. N. 1972. Plant proanthocyanidins. Part I. Introduction ; the isolation, structure and distribution in nature of plant procyanidins. *Journal of the Chemical Society Perkins Transactions*, 1387-1399.
- Thumann, V.F. et Herrmann, K. 1980. Über die antioxidative Wirkung von Hydroxizimtsäuren und Hydroxibenzoensäuren. *Deut Lebensm-Rundsch*, 76, 344-347.

Toma, W., Hiruma-Lima, C.A., Guerrero, R.O. et Souza Brito, A.R.M. 2005. Preliminary studies of *Mammea americana* L. (*Guttiferae*) bark/latex extract point to an effective antiulcer effect on gastric ulcer models in mice. *Phytomedicine*, 12, 345-350.

Topuz, A., Topakci, M., Canakci, M., Akinci, I. et Ozdemir, F. 2005. Physical and nutritional properties of four orange varieties. *Journal of Food Engineering*, 66, 519-523.

TRAMILoteca, consulté le 04 Mars 2011

[http://www.tramil.net/fototeca/imageDisplay.php?id\\_elem=219&famil=CALOPHYLLACEAE](http://www.tramil.net/fototeca/imageDisplay.php?id_elem=219&famil=CALOPHYLLACEAE)  
E.

Tripathi, S., Suzuki, J.Y., Carr a, J.B., McQuate, G.T., Ferreira, S.A., Manshardt, R.M., Pitz, K.Y., Wall, M.M. et Gonsalves, D. 2011. Nutritional composition of Rainbow papaya, the first commercialized transgenic fruit crop. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 140-147.

Tripoli, E., Guardia, M. L., Giammanco, S., Majo, D. D. et Giammanco, M. 2007. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chemistry*, 104, 466-479.

Uclés Santos, J., Bakry, F. et Brillouet, J. 2010. A preliminary chemotaxonomic study on the condensed tannins of green banana flesh in the musa genus. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, 1010-1017.

Université des Antilles et de la Guyane, consulté le 30 Septembre 2011, <http://calamar.univ-ag.fr/uag/staps/cours/stat/stat.htm>.

Université Libre de Bruxelles, consulté le 02 Juillet 2011

[https://www.ulb.ac.be/sciences/bota/Lejoly%202005-Systematique syllabus%20corrigé%200705.pdf](https://www.ulb.ac.be/sciences/bota/Lejoly%202005-Systematique%20syllabus%20corrigé%200705.pdf)

USDA (United State Department of Agriculture), Nutrient database for standard reference, Release 25, 2012, consulté le 03 Mars 2012

<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2287?qlookup=mammea+americana&fg=&format=&man=&facet=&max=25&new=1>.

Valente, A., Albuquerque, T.G., Sanches-Silva, A. et Costa, H.S. 2011. Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Research International*, 44, 2237-2242.

Van Acker, S.A.B.E., Van den Berg, D-J., Tromp, M.N.J.L., Griffioen, D.H., Van Bennekom, W.P., Van der Vijgh, W.J.F. et Bast, A. 1996. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20, 331-342.

Vendramini, A.L. et Trugo, L. C. 2000. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. *Food Chemistry*, 71, 195-198.

- Vieira, F.G.K., Borges, G.D.S.C., Copetti, C., Amboni R.D.D.M.C., Denardi, F. et Fett, R. 2009. Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. *Scientia Horticulturae*, 122, 421-425.
- Villanueva, M.J., Tenorio, M.D., Esteban, M.A. et Mendoza, M.C. 2004. Compositional changes during ripening of two cultivars of muskmelon fruits. *Food Chemistry*, 87: 179-185.
- Virost, M., Tomao, V., Le Bourvellec, C., Renard, C.M.C.G. et Chemat, F. 2010. Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound-assisted extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 1066-1074.
- Wallace, T. C. et Giusti, M.M. 2010. Extraction and normal-phase HPLC-fluorescence-electrospray MS characterization and quantification of procyanidins in cranberry extracts. *Journal of Food Science*, 75, 690-696.
- Wootton-Beard, P.C. et Ryan, L. 2011. Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Research International*, 44, 3135–3148.
- Yang, H., Protiva, P., Gil, R.R., Jiang, B., Baggett, S., Basile, M.J., Reynertson, K.A., Weinstein, I.B. et Kennelly, E.J. 2005. Antioxidant and cytotoxic isoprenylated coumarins from *Mammea americana*. *Planta Med.*, 71, 852-860.
- Yasunaka, K., Abe, F., Nagayama, A., Okabe, H., Lozada-Pérez, L., López-Villafranco, E., Estrada-Muñiz, E., Aguilar, A. et Reyes-Chilpa, R. 2005. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes. *J. Ethnopharmacol.*, 97, 293-299.
- Zadernowski, R., Czaplicki, S. et Naczek, M. 2009. Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chemistry*, 112, 685-689.
- Zulueta, A., Esteve, M.J. et Frígola, A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114, 310-316.

## Résumé / Abstract

---

L'abricot-pays est un fruit tropical consommé frais et également utilisé pour la préparation de nectars, confitures et sorbets. Il existe peu de produits transformés à partir de ce fruit. Sa pulpe est appréciée pour sa saveur et sa couleur attractive, jaune à orange. La plupart des travaux scientifiques ont porté sur la graine du fruit, une source riche en coumarines insecticides. Quelques travaux ont également montré que *Mammea americana* présente des propriétés biologiques telles qu'une activité antioxydante, cytotoxique, antibactérienne et antiulcère. Peu d'études portent sur la pulpe du fruit et sa teneur en composés phénoliques. Nous nous sommes donc intéressés aux propriétés physiques et chimiques de six accessions de *Mammea americana* afin de pouvoir identifier les accessions les plus prometteuses pour la vente en frais ou la transformation. Nous avons également cherché à évaluer l'activité antioxydante de la pulpe, identifier et quantifier ses composés phénoliques et optimiser leur extraction à l'aide de la technique assistée par ultrasons.

Nos résultats montrent que les accessions étudiées présentent des caractéristiques physiques, physico-chimiques et fonctionnelles significativement différentes. Pavé 11, Lézarde et Ti Jacques sont intéressants pour la vente en frais, en raison de leurs fruits sucrés avec une teneur élevée en caroténoïdes et composés phénoliques totaux. Sonson, Pavé 11 et Lézarde présentent une adaptabilité à la transformation. De plus, les résultats de l'ACP ont montré que les flavonoïdes et les caroténoïdes sont des pigments qui contribuent significativement à la couleur orange de la pulpe des fruits. La composition polyphénolique de la pulpe déterminée par HPLC-DAD et UPLC-MS, a mis en évidence la présence d'acides phénoliques, de tanins condensés, de flavonols et flavanols dans nos échantillons. Les pulpes de Pavé 11-Lézarde se distinguent avec une teneur en tanins condensés B1, B2 et B5 plus élevée. D'autre part, les tests d'activité antioxydante (DPPH et ORAC) révèlent que Ti Jacques est l'extrait le plus actif. Les flavonoïdes, classes phénoliques connues pour ses nombreuses propriétés biologiques, sont principalement responsables de cette activité. Les méthodes d'extraction conventionnelles sont longues à mettre en œuvre et consomment beaucoup d'énergie et de solvant. Un plan d'expérimentation a été mis en œuvre afin d'optimiser l'extraction des polyphénols à l'aide d'une technique d'extraction assistée par ultrasons. Les résultats montrent que l'extrait obtenu est riche en polyphénols et contient les mêmes teneurs en acides phénoliques et flavonols comparé à celui obtenu par la méthode conventionnelle. De plus, l'extrait obtenu à l'aide d'un solvant « vert » possède de bonnes propriétés organoleptiques.

Mots-clés : *Mammea americana*, caractéristiques physiques, caractéristiques chimiques, activité antioxydante, polyphénols, HPLC, UPLC-MS, extraction assistée par ultrasons.

---

Mamey apple is a tropical fruit which is eaten fresh and also used for preparing beverages, jelly and sorbets. There are few industrially processed products derived from this tropical fruit. Its pulp is appreciated for its flavor and attractive yellow to orange color. Most studies have been carried out on the kernel of the mature seeds, which is a rich source of insecticidal coumarins. Different parts of *Mammea americana* were also investigated for their antioxidant, cytotoxic, antibacterial and antiulcer activities. Few reports deal with mamey fruit pulp and its phenolic compounds content. Our work focuses on the physical and chemical properties of six mamey apple cultivars in order to select elite cultivars suitable for food processing or as table fruit. The antioxidant activity of the fruit pulp, the identification and quantification of the polyphenols responsible for it, and ultrasound assisted extraction method were also investigated.

According to our results, the postharvest routes for every cultivar could be different. Pavé 11, Lézarde and Ti Jacques were found to be good for consumption, giving sweeter fruits with high total phenolic and carotenoid contents. Sonson, pavé 11 and Lézarde had suitable characteristics for the manufacturing of mamey products. Additionally, the PCA results indicated that the total carotenoid and flavonoid contents significantly contributed to the orange color of the mamey pulp. The polyphenolic composition of the pulp determined by HPLC-DAD and UPLC-MS showed the presence of phenolic acids, condensed tannins, flavonols and flavanols. Pavé 11-Lézarde pulps were characterized by the highest condensed tannins content B1, B2 and B5. The results of the antioxidant test (DPPH and ORAC) point out that the most antioxidant cultivar was Ti Jacques. This antioxidant activity is due to the total flavonoid content, phenolic class of a chemical family known for its numerous biological activities. Conventional extraction methods are known for their large amount of toxic solvent, time utilization and high energy consumption. The design and optimization of the ultrasound assisted extraction method has done for polyphenols extraction. The results showed that the polyphenols rich extract contains the same content of phenolic acids and flavonols in comparison to the conventional method. Additionally, the dry extract obtained with a “green” solvent, had good organoleptic properties.

Keywords: *Mammea americana*, Physical characteristics, chemical characteristics, antioxidant activity, polyphenols, HPLC, UPLC-MS, ultrasound assisted extraction.