

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**



**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**  
**Département des Sciences Agronomiques**

# **Mémoire**

**De fin de cycle en vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique**

**En Sciences Agronomiques.**

**Spécialité : Transformation et conservation des produits agricoles**

**Thème :**

**Contribution à la prévention du brunissement  
enzymatique**

**Cas de la purée de pomme**

**Réalisé par :** Mlle Adel Kamelia

Mlle Kherchaoui Fella

**Présenté devant le jury composé de Monsieur :**

Amir -Y. Professeur à l'UMMTO, Président.

Yahi-H. Professeur à l'UMMTO, Promoteur.

Messaoudi-Z. Directeur recherche et développement à NCA Rouiba, Co promoteur.

Bengana-M. Maitre de conférences. B à l'UMMTO, Examineur.

*Année Universitaire : 2016/2017*

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction .....	1
Chapitre I : Les Caractéristiques générales de la pomme.....	3
I.1. Description de la pomme.....	4
I.2. Reproduction.....	5
I.3. Caractérisation physico-chimique du fruit .....	6
I.4. Les bienfaits de la pomme .....	10
I.5. Transformation de la pomme en purée .....	11
Chapitre II : Composés phénoliques .....	14
II.1. Définition.....	14
II.2. Classification des composés phénoliques .....	14
II.3. Biosynthèse des polyphénols.....	17
II.4. Propriétés des composés phénoliques.....	18
Chapitre III : Le brunissement enzymatique .....	19
III.1. Définition de brunissement enzymatique .....	19
III.2. Mécanisme de brunissement enzymatique .....	20
III.2.1. Enzymes de brunissement.....	20
III.2.1.1. Polyphénoloxydases .....	20
III.2.1.2. Les peroxydases .....	21
III.2.2. Les composés phénoliques.....	21
III.2.3. Réactions du brunissement enzymatique .....	22
III.2.3.1. Formation de quinones.....	22
III.2.3.2. Réaction à partir de quinones.....	22
III.3. Les facteurs du brunissement enzymatique .....	23
III.4. Evaluation du brunissement enzymatique .....	24
III.4.1. La spectroscopie d'absorbance UV visible.....	24
III.4.2. La colorimétrie tristimulus et la réflectométrie .....	24

<b>Chapitre IV : La prévention du brunissement enzymatique .....</b>	<b>25</b>
<b>IV.1. Les méthodes de prévention.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.1.1. Les moyens physiques.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.1.1.1. Le blanchiment.....</b>	<b>25</b>
<b>IV.1.1.2. La congélation .....</b>	<b>25</b>
<b>IV.1.1.3. La déshydratation .....</b>	<b>26</b>
<b>IV.1.2. Les moyens chimiques .....</b>	<b>26</b>
<b>IV.1.2.1. Action sur les enzymes.....</b>	<b>26</b>
<b>IV.1.2.2. Action sur les substrats.....</b>	<b>27</b>
<b>IV.2.2.2.1. Les composés phénoliques.....</b>	<b>27</b>
<b>IV.2.2.2.2. L'oxygène.....</b>	<b>28</b>
<b>IV.2.2.3. Action sur les produits.....</b>	<b>28</b>
<b>IV.2.2.3.1. Les sulfites .....</b>	<b>28</b>
<b>IV.2.2.3.2. L'acide ascorbique.....</b>	<b>29</b>
<b>IV.2.2.3.3. Les acides aminés, peptides et protéines .....</b>	<b>30</b>
<b>Matériel et méthodes .....</b>	<b>31</b>
<b>I. Matériel.....</b>	<b>31</b>
<b>I.1. Appareillage et réactifs.....</b>	<b>31</b>
<b>II. Méthodes .....</b>	<b>32</b>
<b>II.1. Préparation du matériel végétal .....</b>	<b>32</b>
<b>II.2. Procédé de fabrication de la purée .....</b>	<b>32</b>
<b>II.3. Mise au point de protocole .....</b>	<b>33</b>
<b>II.3.1. Caractérisation physicochimique .....</b>	<b>33</b>
<b>II.3.1.1. Détermination du pH .....</b>	<b>33</b>
<b>II.3.1.2. Détermination de la teneur en composés solubles.....</b>	<b>33</b>
<b>II.3.1.3. Détermination du taux d'humidité et d'extrait sec.....</b>	<b>33</b>
<b>II.3.1.4. Détermination de la teneur en vitamine C.....</b>	<b>34</b>
<b>II.3.1.5. Détermination de la teneur de l'acidité.....</b>	<b>34</b>
<b>II.3.2. Evaluation du Brunissement enzymatique .....</b>	<b>35</b>
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>36</b>
<b>I. Caractérisation de la purée de pomme .....</b>	<b>36</b>
<b>II. Influence du blanchiment .....</b>	<b>36</b>

<b>II.1. Caractéristiques physicochimiques .....</b>	<b>36</b>
<b>II.2. Evaluation du pH et d'absorbance .....</b>	<b>37</b>
<b>III. Effets des agents de conservation .....</b>	<b>38</b>
<b>III.1. Effets des additifs seuls.....</b>	<b>39</b>
<b>III.1.1. Cas de l'acide ascorbique.....</b>	<b>39</b>
<b>III.1.1.1.Caractéristiques physico-chimiques .....</b>	<b>39</b>
<b>III.1.1.2.Evolution du pH.....</b>	<b>39</b>
<b>III.1.1.3. Evaluation de l'absorbance.....</b>	<b>40</b>
<b>III.1.2. Cas de chlorure de calcium.....</b>	<b>41</b>
<b>III.1.2.1.Caractéristiques physico-chimiques .....</b>	<b>41</b>
<b>III.1.2.2.Evolution du pH.....</b>	<b>41</b>
<b>III.1.2.3. Evaluation de l'absorbance.....</b>	<b>42</b>
<b>III.1.3. Cas de métabisulfite de sodium .....</b>	<b>43</b>
<b>III.1.3.1.Paramètres physico-chimiques .....</b>	<b>43</b>
<b>III.1.3.2.Evolution du pH.....</b>	<b>43</b>
<b>III.1.3.3.Evaluation de l'absorbance.....</b>	<b>44</b>
<b>III.2. Effets des additifs combinés.....</b>	<b>44</b>
<b>III.2.1.Effet d'une combinaison binaire de réactifs.....</b>	<b>44</b>
<b>III.2.1.1.Caractéristiques physico chimiques.....</b>	<b>45</b>
<b>III.2.1.2.Evolution du pH et de l'absorbance.....</b>	<b>45</b>
<b>III.2.2.Effet d'une combinaison ternaire de réactifs .....</b>	<b>46</b>
<b>III.2.2.1.Caractéristiques physico chimiques.....</b>	<b>47</b>
<b>III.2.2.2.Evolution du pH et de l'absorbance.....</b>	<b>47</b>
<b>III.2.3.Effet d'une combinaison quaternaire de réactifs.....</b>	<b>48</b>
<b>III.2.3.1.Caractéristiques physico chimiques.....</b>	<b>48</b>
<b>III.2.3.2.Evolution du pH et de l'absorbance.....</b>	<b>49</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>50</b>
<b>Références bibliographiques</b>	

# Remerciements

On tient à remercier à travers ces quelques lignes les nombreuses personnes qui ont contribué à notre succès par la confiance, la patience, la disponibilité et l'amitié qu'ils ont manifestée à notre égard ;

On pense en premier lieu à notre promoteur **Mr H. Yahy**, d'avoir accepté de nous encadrer de nous guider tout au long de ce travail ;

Nous désirant aussi remercier **Mr Z. Messaoudi**, notre superviseur de stage effectué à la NCA Rouïba, qui nous a fourni les outils et les conseils nécessaires à la réussite de notre démarche d'analyse ;

On remercie vivement **Mr Y. Amir**, qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider le jury.

On veut également exprimer nos sincères remerciements à **Mr M. Bengana**, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Remerciements et reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation à travers le savoir qu'ils nous ont transmis et leurs soutiens permanents.

Nos remerciements vont également à toute la promo de master **Transformation et Conservation des Produits Agricoles** 2016/2017

# Dédicaces

*A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

*A mes frères Tarik, Said, Rafik et ma sœur Mina, pour leurs encouragements incessants, leurs précieuses recommandations et leur présence tout au long de mon parcours d'étudiante.*

*A toute ma famille et à tous mes amis, pour leur soutien infailible.*

*A toute ma promotion TCPA, 2016/2017 et ma binôme Fella.*

*Que ce travail soit l'accomplissement des vœux des personnes qui me sont chères et le fruit de la confiance qu'elles m'ont toujours accordée.*

*Kamelia*

# Dédicaces

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédie cet humble travail à :

**Mes très chers parents Yamina et Amar ;** qui n'ont jamais cessé de, formuler mes prières à mon égard, de me soutenir pour que je puisse atteindre mes objectifs ; je ne saurais exprimer mon amour, mon respect, et ma considération.

A mon frère **Redha**, mes sœurs **Hayet** et **Yasmine** ;

A mon fiancé **Ghiles** et toute sa famille ;

A toutes mes copines ;

A mon binôme **Kamelia** ;

Et enfin a toutes la promotion 2016/2017 **Transformation** et **Conservation** des **Produits Agricoles**.

**Fella kherchaoui**

## Liste des abréviations

**BE** : Brunissement enzymatique.

**BNE** : Brunissement non enzymatique.

**FDA**: Food and Drug Administration. « Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux ».

**PO**: Peroxydases.

**PPO**: Polyphénoloxydases.

**AA** : Acide ascorbique.

**AC** : Acide citrique.

**CC** : Chlorure de calcium.



## Liste des figures

Figure 1 : Les variétés de pommes .....	04
Figure 2 : Coupe transversale de la pomme .....	05
Figure 3 : Les composés phénoliques de la pomme .....	07
Figure 4 : Les acides hydroxycinnamiques de la pomme .....	08
Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes .....	08
Figure 6 : Les catéchines .....	09
Figure 7 : Structure du procyanidine.....	09
Figure 8 : Les dihydrochalcones .....	09
Figure 9 : Les flavanols.....	10
Figure 10 : procédé de transformation de la pomme en purée .....	11
Figure 11 : Structure des acides hydroxbenzoïques et hydroxycinnamiques.....	15
Figure 12 : Structure du stilbène .....	16
Figure 13 : La réaction de brunissement enzymatique.....	19
Figure 14 : Schéma simplifié des deux activités d'oxydation de la PPO .....	21
Figure 15 : Les facteurs du brunissement enzymatique .....	23
Figure 16 : Les effets de la cystéine sur l'oxydation enzymatique d'o-diphénols .....	30
Figure 17 : Effet de blanchiment sur l'absorbance de la purée de pomme .....	38
Figure 18 : Effet de l'acide ascorbique sur l'absorbance de la purée de pomme.....	40
Figure 19 : Effet du chlorure de calcium sur l'absorbance de la purée de pomme.....	42
Figure 20 : Effet du métabisulfite de sodium sur l'absorbance de la purée de pomme .....	44
Figure 21 : Effet des combinaisons (1,2) sur l'absorbance de la purée de pomme.....	45
Figure 22 : Effet des combinaisons (3, 4, 5) sur l'absorbance de la purée de pomme.....	47
Figure 23 : Effet des combinaisons (6, 7, 8, 9) sur l'absorbance de la purée de pomme .....	49

## Liste des tableaux

Tableau 1: Composition chimique de la pomme .....	06
Tableau 2: Activités biologiques des polyphénols .....	18
Tableau 3: Substrats phénoliques de PPO de différentes origines végétales: .....	22
Tableau 4: quantités maximales de sulfites autorisées dans les aliments à base de fruits et de légumes .....	29
Tableau 5: Liste des appareils utilisés .....	31
Tableau 6 : Liste des réactifs utilisés .....	32
Tableau 7 : résultats des analyses physico-chimique de l'échantillon témoin de la purée de pomme .....	36
Tableau 8 : résultats des analyses physico-chimiques de la purée de pomme avec et sans blanchiment .....	37
Tableau 9: Effet de blanchiment sur le pH et l'absorbance de la purée de pomme .....	37
Tableau 10: Résultats des analyses physico-chimique de la purée de pomme avec addition d'acide ascorbique.....	39
Tableau 11: Effet de l'acide ascorbique sur le pH de la purée de pomme .....	39
Tableau 12: Résultats de l'absorbance avec l'addition de l'acide ascorbique .....	40
Tableau 13: Résultats des analyses physico-chimique de la purée de pomme avec l'addition du chlorure de calcium .....	41
Tableau 14: Effet du chlorure de calcium sur le pH de la purée de pomme .....	41
Tableau 15: Résultats de l'absorbance avec l'addition du chlorure de calcium .....	42
Tableau 16: Résultats des analyses physico-chimique de la purée de pomme avec l'addition du métabisulfite de sodium .....	43
Tableau 17: Effet du métabisulfite de sodium sur le pH de la purée de pomme .....	43
Tableau 18: Effet du métabisulfite de sodium sur le BE de la purée de pomme .....	44
Tableau 19: Résultats des analyses physico-chimique de la purée de pomme avec l'addition des réactifs combinés (1,2).....	45
Tableau 20: Effet des combinaisons (1,2) sur le pH et l'absorbance de la purée de pomme ..	45
Tableau 21 : schéma des combinaisons ternaires (3, 4, 5) .....	46
Tableau 22: Résultats des analyses physico-chimique de la purée de pomme avec l'addition des réactifs combinés (3, 4,5).....	47
Tableau 23: Effet des combinaisons (3, 4,5) sur le pH et l'absorbance de la purée de pomme .....	47
Tableau 24 : schéma des combinaisons quaternaires (6, 7 , 8, 9) .....	48
Tableau 25: Résultats des analyses physico-chimique de la purée de pomme avec l'addition des réactifs combinés (6, 7, 8, 9) .....	48
Tableau 26: Effet des combinaisons (6, 7,8, 9) sur le pH et l'absorbance de la purée de pomme .....	49

## **Introduction**

La consommation de fruits et légumes est considérée comme un enjeu de santé publique en raison de leurs valeurs nutritionnelles indispensables au bien être de l'organisme humain. C'est également un enjeu économique pour les producteurs et les industries agro-alimentaires de transformation et de conservation des produits agricoles.

Parmi les fruits les plus consommés dans le monde, la pomme vient en quatrième position après les agrumes, la banane et le raisin.

La pomme est reconnue pour sa teneur élevée essentiellement en fibres alimentaires (polysaccharide, cellulose, hémicellulose, pectine), en polyphénols antioxydants (acide cinnamique et flavanone), en vitamine (C et B) et en magnésium, potassium, phosphore, zinc et cuivre...etc.

Une étude française sur les suppléments vitaminiques, minéraux et antioxydant « SUVIMAX » a montré qu'un apport adéquat de ces éléments peut réduire l'incidence des cancers et de la mortalité. En effet, il est admis que la consommation régulière de pommes permet de réduire le cholestérol, de lutter contre l'obésité de réduire les maladies cardiovasculaire mais également de favoriser le transit intestinal. Ce fruit est également un fruit hypocalorique.

Si l'intérêt nutritionnel du fruit frais est admis par tout le monde, celui du produit transformé et conservé est cependant peu connu. En effet lors du procédé de transformation, le fruit passe par une série d'opération unitaires, mécaniques (lavage, triage, découpage, broyage) et thermique (cuisson à la vapeur d'eau à 70°-100° pendant 5-15min) qui altèrent les qualités organoleptiques (dégradation des polyphénols, vitamines) et modifient la couleur (brunissement).

Cette réaction résulte de la mise en contact des substrats phénoliques, contenue dans les organites cellulaires et les membranes pariétales, avec les enzymes (PPO) renfermées dans le fruit, qui les oxydent en quinones qui se polymérisent pour donner des pigments bruns qui réduisent la qualité du fruit. De plus, un fruit altéré produit trop d'éthylène qui accélère la maturité et donc la sénescence du produit.

Le but de ce travail est d'étudier l'effet d'un procédé thermique par blanchiment, puis d'un procédé chimique de conservation par addition de quelques additifs alimentaires réglementaires (acide ascorbique, chlorure de calcium, métabisulfite de sodium et acide citrique) sur les paramètres de qualité nutritionnelle et organoleptique (acidité, humidité

indice de Brix, extrait sec, pH).Le degré de brunissement enzymatique est évalué par la mesure de la densité optique (absorbance à 400nm).

L'étude est proposée par la NCA Rouïba ; elle rentre dans le cadre d'un projet de transformation des pommes produites en Algérie en purée comme produit intermédiaire à la fabrication de jus , de concentrés , de compotes et d'autres ingrédients agroalimentaires (yaourts) et cosmétiques (parfums).

## Chapitre I : Les Caractéristiques générales de la pomme.

Une étude française sur les suppléments vitaminiques, minéraux et antioxydant « SUVIMAX » réalisée sur une cohorte de 1307 sujets en 7ans a révélé qu'un apport adéquat de vitamines de minéraux et d'antioxydants peut réduire l'incidence des cancers et de la mortalité sur une population occidentale. (Colin-Henrion, 2008). En effet, il est admis que la consommation régulière de pommes permet de réduire le cholestérol, de lutter contre l'obésité de réduire les maladies cardiovasculaire mais également de favoriser le transit intestinal. Ce fruit est également un fruit hypocalorique.

Selon la FAO, la production mondiale de pomme en 2013 a atteint 80 millions de tonnes.

Les principaux pays producteurs (en milliers de tonnes / an) sont :

La chine (39), les USA (4,0), la Turquie (3.92), la Pologne (3.08), l'Italie (2.22), l'inde (1.9) et la France (1.73).

Sur les 93 pays classés, l'Algérie occupe la 27<sup>ème</sup> place avec 457937 tonnes /an derrière le Maroc classé 21<sup>ème</sup> avec 583046 tonnes /an et devant la Tunisie classé 52<sup>ème</sup> avec 120000 tonnes/ an. La 93eme place est occupé par Malte avec 35 tonnes/ an.

Alors que l'Italie, les USA, la Pologne et la Chine dominent les exportations mondiales, la Russie, l'Allemagne, le Royaume Uni et la France en sont les principaux importateurs.

Si pendant longtemps, l'Algérie a recours aux importations de pomme, l'effort de production soutenu depuis l'indépendance ne suffit pas à satisfaire la demande intérieure puisque sur les 10 premiers mois de l'année 2016, l'Algérie a importé pour 51millions d'USD de pommes.

Selon la FAO la production de pommes en Algérie depuis l'indépendance à évoluer selon le rythme suivant:

1963 - 13000 tonnes / an

1973 - 10062 tonnes/ an (-22%)

1983 - 23916 tonnes/ an (+57%)

1993 - 63409 tonnes/ an (+62%)

2003 - 135542 tonnes/ an (+53%)

2013 - 455937 tonnes/ an (+70%)

En 2013, la production moyenne est estimée à 1kg/hab.mois.

Le verger pommier couvre près de 30000 ha en 2013. Les rendements sont faibles et irréguliers (environ 85qx/ an. Hab) comparés à ceux de la Chine qui peuvent atteindre 150qx/ ha).

Les variétés les plus cultivées sont Golden Delicious (42%), la Royal Gala (22%) et l'Anna (21%), (Hadj-sahraoui, 2014).

Aux dernières nouvelles rapportées par la presse nationale, la production en 2016 aurait atteint 906000 quintaux à Batna. Les régions du centre (Médéa, Blida, Ain Defla) totalisent environ 7400 hectares soit le quart de la surface totale cultivée.

Avec le PNDA, le pommier s'est également développé dans les Aurès (Khenchla, Batna) aussi qu'à Tiaret, Djelfa et Sidi Bel Abbas où les variétés cultivées sont la Golden Delicious (70%), la Granismith (50%) et StarKarimsu (20%).

## I.1. Description de la pomme

La pomme est le fruit du pommier, *Malus pumila*, de la famille des Rosacées, espèce fruitière la plus cultivée dans le monde, qui pousse naturellement dans les pays à climat tempéré, (Gillard, 2009).

C'est un fruit arrondi, de forme quasi sphérique, de 10 à 15 cm de diamètre, de couleur différente selon les variétés et les conditions de végétation. Sa couleur à maturité s'étend du vert « pomme » au rouge plus ou moins foncé en passant par une grande diversité de nuances de vert pâle, jaune, orangé ou de couleurs plus ou moins panachées, (Gillard, 2009), figure(1).

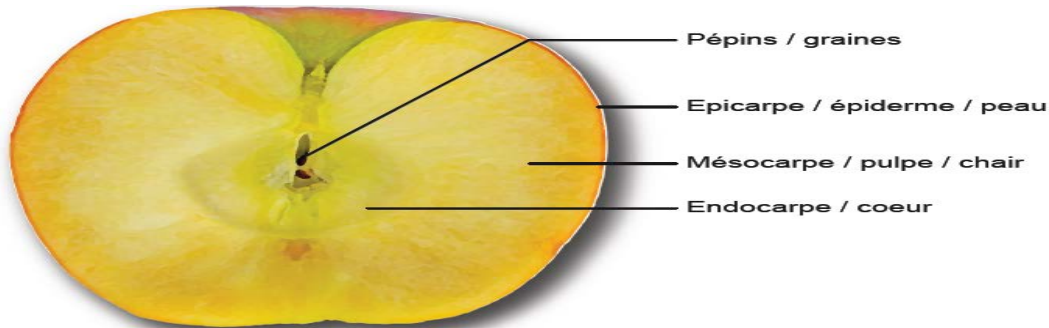


**Figure 1 :** Les variétés de pomme.

Les nombreuses variétés de pommes, sont classées en deux grandes catégories : Les pommes à couteau ou de table, douces, et les pommes à cidre qui sont de variétés généralement plus anciennes et à fruits plus acides. Ces deux catégories correspondent à deux types de culture totalement différents, (Crouy-chanel, 2003).

La pomme peut être divisée en trois zones : la peau, la chair et le cœur. La chair et la peau correspondent aux parties consommées du fruit tandis que le cœur contient les carpelles et les pépins. Sur une coupe transversale, figure(2), on peut observer au centre, les pépins (les graines) au nombre de deux dans chacune des cinq loges de l'ovaire initial, entourée d'une

enveloppe claire, l'ensemble étant lui-même entouré d'une pulpe mince (le cœur), qui correspond au développement de la paroi de l'ovaire. Une mince membrane fibreuse marque la séparation avec le réceptacle épaissi pour former l'essentiel de la chair du fruit, (Gillard, 2009).



**Figure (2):** Coupe transversale de la pomme.

## I.2. Reproduction

Le cycle de production débute à la fin du printemps. Le processus de reproduction commence par la pollinisation. Le grain de pollen fusionne avec le stigmate et développe un tube pour que le noyau mâle atteigne l'ovaire. A partir de ce moment, on distingue trois étapes qui vont aboutir à la formation du fruit. La première phase (phase de mérisis) correspond à la multiplication cellulaire, la diversification tissulaire et à l'accumulation des métabolites secondaires tels que les polyphénols et les acides organiques (l'acide citrique, l'acide formique, l'acide lactique ou l'acide gluconique...). La deuxième phase (phase d'auxésis) correspond à l'expansion tissulaire caractérisée par l'arrêt progressif de la multiplication cellulaire au profit d'un accroissement cellulaire qui s'accompagne de l'accumulation de substances de réserves (amidon) et de la synthèse des composés pariétaux. La troisième phase correspond à la maturation, qui se traduit par le changement de coloration de l'épiderme, le ramollissement du fruit, le développement de l'arôme et la modification de la composition chimique (acidité, sucre,...etc.). Le fruit devient mûr à 140 - 170 jours après la nouaison, (Turk, 2010). Plusieurs tests sont effectués pour déterminer le moment favorable à la récolte pour permettre une évolution normale du fruit au cours des opérations qui suivent. Ces tests reposent sur :

- La couleur de l'épiderme,
- La coloration des pépins (pépins brunis),
- La teneur en amidon,
- La teneur en sucres et l'acidité, (Ramdane, 2000).

### I.3. Caractérisation physico-chimique du fruit :

*Composition physique* : Selon Turk (2010) la pomme est constituée comme suit :

Peau : 2 % à 4%

Pépins : 0.3 à 0.05 %

Pulpe : 95.7 à 97.95 %

- *Composition chimique* :

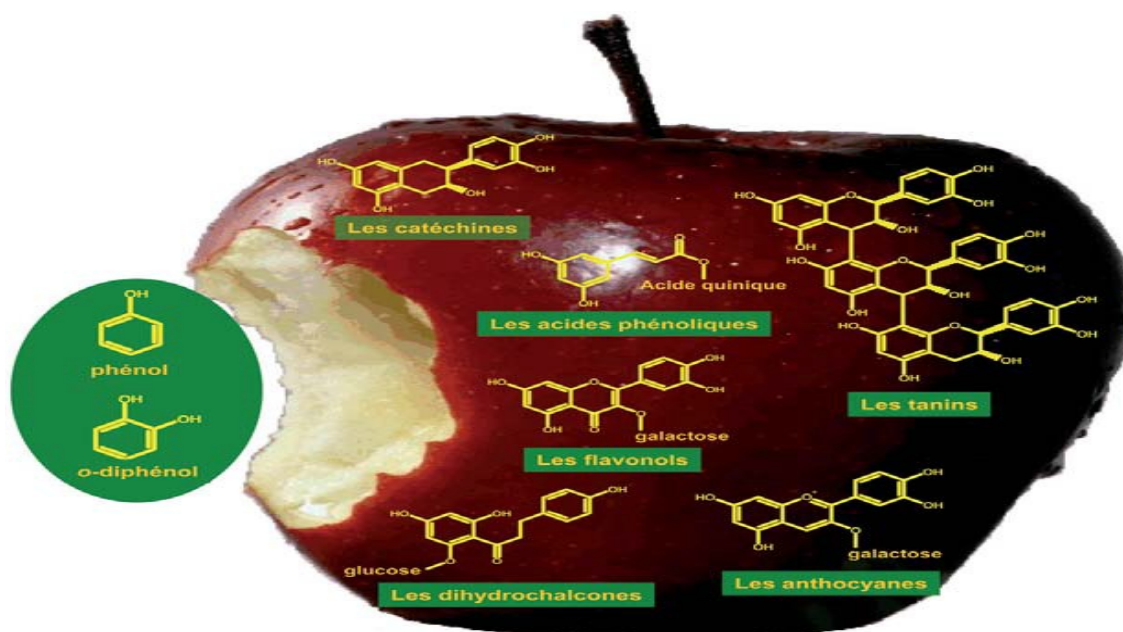
En règle générale, les pommes à maturité se composent d'environ 85% d'eau, 12% à 14% de glucides, 0,3 à 1% d'acides organiques, 0,3% de protéines, une quantité quasi négligeable de lipides (< 0,1%), des sels minéraux et des vitamines.

La variation de composition chimique donnée au tableau (1) est liée principalement à la variété, à la maturité et aux conditions agronomiques et pédoclimatiques de production, (Turk, 2010).

Composition	Eléments
Hydrate de Carbone	-Monosaccharides (glucose, fructose) -Oligosaccharides (saccharose) -Polysaccharides (amidon qui se trouve en faible quantité ou totalement absent dans la pomme à maturité) -polysaccharides pariétaux (cellulose, hémicellulose, pectines)
Acides organiques	-Acide malique (le plus abondant) -Acide citrique
Vitamines	-Vitamine C -Autres vitamines, dont la nature et la teneur sont variables.
Oligoéléments	-Fer et cuivre, essentiels pour le fonctionnement de certaines enzymes. -Calcium, régulateur intracellulaire et cofacteur pour certaines enzymes. -Phosphore, intervient dans la synthèse de l'ATP, de l'ADN et de l'ARN. -Magnésium, intervient dans les réactions enzymatiques. -Potassium, ion le plus abondant dans la cellule. -Sodium, ion prédominant dans le milieu extracellulaire.

**Tableau (1)** : Composition chimique de la pomme, (Turk, 2010).

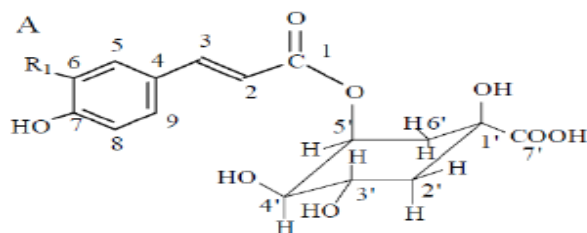
Les composés responsables de l'astringence et de la pigmentation des fruits sont les polyphénols, qui sont l'une des plus importantes classes de métabolites secondaires chez les végétaux. Leur teneur varie de 0.3 à 3% ; elle décroît au cours de la maturation et de la conservation. Dans la pomme, ces composés sont classés en deux grandes catégories, selon la figure (3) : les acides phénols et les flavonoïdes, répartis en flavan-3-ols, dihydrochalcones, flavonols et anthocyanes. La répartition des composés phénoliques n'est pas homogène : la peau est plus riche en polyphénols que la chair, et certaines familles sont spécifiques de la peau, comme les flavonols ou les anthocyanes, (Turk, 2010). Cependant, que ce soit dans la chair ou dans la peau, les composés majoritaires sont les procyanidines (flavan-3-ols).



**Figure (3):** Les composés phénoliques de la pomme.

- Acides phénoliques :

Les acides hydroxycinnamiques ne sont pas présents à l'état libre dans les pommes, mais sous une forme estérifiée, le plus souvent en acide quinique. L'acide caféoylquinique est l'acide hydroxycinnamique (5-CQA), est le plus abondant dans la pomme. En moindre concentration, la pomme contient également des quantités significatives d'acide 5'-para-coumaroylquinique, figure (4).

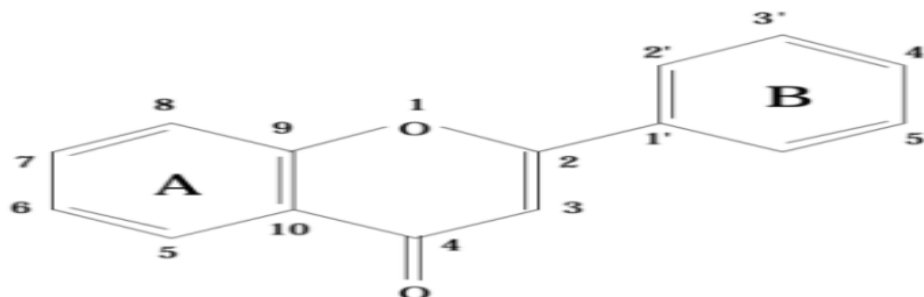


Acide hydroxycinnamique	R <sub>1</sub>
Acide 5'- <i>p</i> -coumaroylquinique	H
Acide caféoylquinique	OH

**Figure (4):** Les acides hydroxycinnamique, (Turk, 2010).

- Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 9000 composés différents; leur molécule commune possède 15 atomes de carbone, constitué de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un cycle pyranique central C, figure (5). Ils diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, et la nature de C. Ces molécules se rencontrent à la fois sous forme libre, mais sont très souvent liés avec des sucres. Ils sont localisés dans divers organe, (Saffidine, 2015).

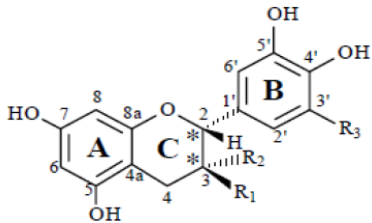


**Figure(5):** Structure de base des flavonoïdes, (Turk, 2010).

Trois familles de flavonoïdes, basées sur leur niveau d'oxydation différent, sont représentées dans la pomme: les flavan-3-ols comprenant les formes monomères (catéchines) et les formes polymères (proanthocyanidines ou tanins condensés), les dihydrochalcones et les flavonols, (Turk, 2010).

Les flavan-3-ols monomères constituent la seconde grande classe de polyphénols dans les pommes de table après les acides hydroxycinnamiques.

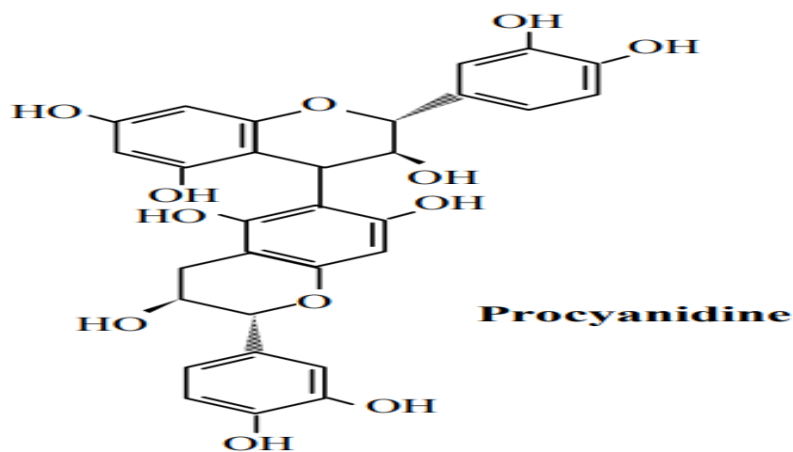
Ils sont représentés uniquement par la (+)-catéchine (CAT) et la (-)-épicatéchine (EC), cette dernière étant toujours largement prédominante dans les pommes, leur structure est représentée sur la figure (6).



Flavan-3-ols monomères	Configuration		R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>		
(+)-catéchine	R	S	OH	H
(-)-épicatéchine	R	R	H	OH

**Figure (6):** Les catéchines, (Nikolantonaki, 2010).

Les flavan-3-ols polymères ou proanthocyanidines sont classées en plusieurs sous-classes. La pomme contient principalement des procyanidines oligomères.

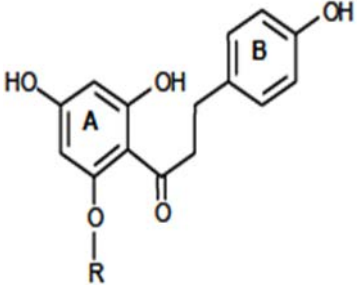


**Figure (7) :** Structure de procyanidine, (Turk, 2010).

Les dihydrochalcones constituent une classe de flavonoïdes spécifique des pommes.

Cette famille est particulièrement concentrée dans les pépins. Elles peuvent ainsi y représenter plus de 3 g/kg, soit 66 % des composés phénoliques présents.

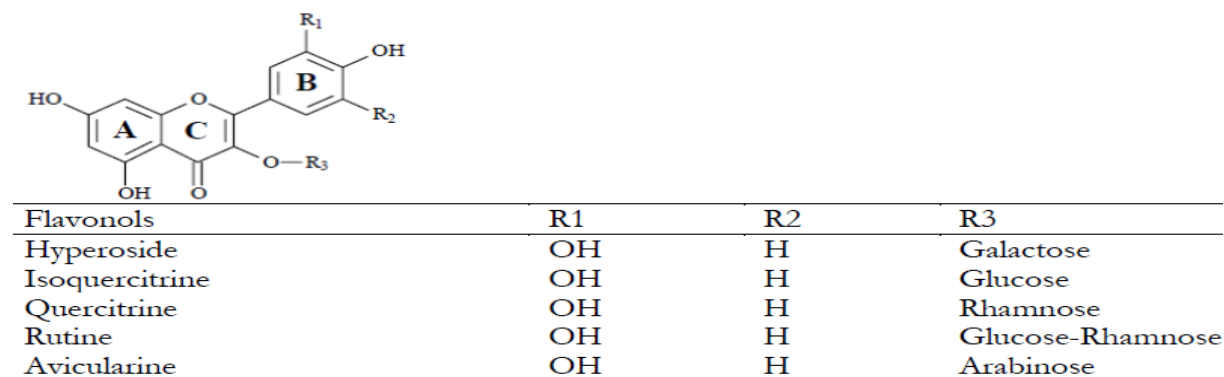
Les dihydrochalcones sont : la phlorétine, le phloridzine, le Xyloglucoside de phlorétine.



Dihydrochalcone	R
Phlorétine	H
Phloridzine	Glc
Xyloglucoside de phlorétine	Glc-Xyl

**Figure (8):** Les dihydrochalcones, (Nikolantonaki, 2010).

Les flavanols sont en parti responsables de la couleur jaune de l'épiderme de certaines variétés de pomme. Ils son liés avec des sucres, figure (8).



**Figure (9):** Les flavanols, (Kebbab, 2014).

#### I.4. Les bienfaits de la pomme

La consommation de pomme est très bonne pour l'organisme en raison de ses propriétés et de leurs bienfaits pour la santé, reconnus par de nombreux nutritionnistes. Elle peut être considérée comme un aliment fourni généreusement par la nature et serait un remède pour de nombreux problèmes de santé.

En effet, la consommation de la pomme hydrate le corps grâce à sa haute teneur en eau; elle a un pouvoir diurétique, elle réduit l'accumulation des liquides, les crampes au niveau des membres inférieurs et l'hypertension artérielle, grâce à sa teneur élevée en potassium. Sa richesse en fibres solubles et insolubles la recommande aux personnes qui souffrent de constipation ou de diarrhée. Dans le premier cas, il est indispensable de la consommer crue et avec la peau, et dans le deuxième cas, sous forme de compote. (Site web 1).

La peau de la pomme contient de la pectine, une fibre qui protège la muqueuse intestinale. Pour cette raison, avant de la manger, il est préférable de bien la laver et de ne pas l'éplucher, pour profiter de tous ses bienfaits au niveau digestif.

Plusieurs études révèlent que la pectine a un rôle décisif dans la prévention de certains types de cancer comme, par exemple, celui du côlon. (Site web2).

Le pouvoir antioxydant de la pomme contribuerait à réduire le risque de maladies cardiovasculaires. (Site web3). En effet, les antioxydants contenus dans la pomme aideraient à diminuer et à prévenir l'oxydation des lipides en circulation dans le sang et réduiraient le taux de cholestérol sanguin, en permettant de purifier et de nettoyer le sang. Les polyphénols, antioxydants diminueraient la prolifération des cellules cancéreuses, (Kebe, 2014).

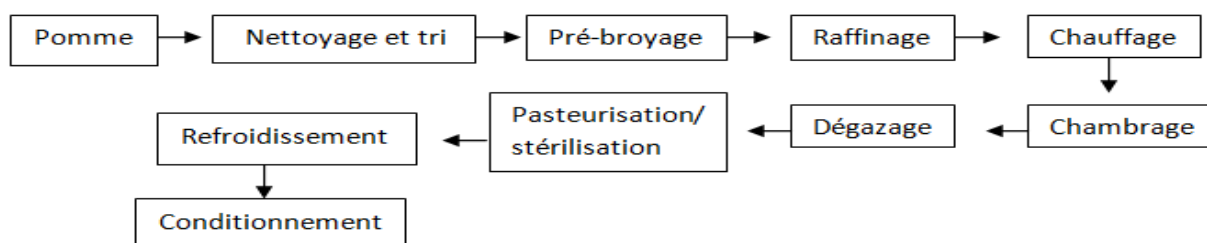
## I.5. Transformation de la pomme en purée

L'industriel cherche à satisfaire la demande du consommateur en maintenant en permanence la disponibilité du produit sur le marché, en recourant à différentes techniques de conservation.

Les principaux produits issus de la transformation de la pomme sont les concentrés, les jus, les purées et les compotes.

Le procédé de transformation des fruits en purée consiste en des traitements thermiques et mécaniques qui ont pour but de briser la cohésion entre les différentes cellules végétales, en rompant les liaisons impliquées dans la stabilisation des réseaux de la paroi végétale.

Le procédé décrit en figure (10) correspond aux étapes suivantes :



**Figure (10):** Procédé de transformation de la pomme en purée.

- **Nettoyage et tri des pommes**

Les pommes sont lavées. Cette étape a pour objectif d'éliminer les éléments non désirables présents au niveau de la surface des fruits (particules de terre, résidus organiques, etc.). Cela consiste à les faire passer dans un tunnel avec de l'eau pour enlever les impuretés. Les fruits lavés sont ensuite triés. Cette étape permet d'écarter les pommes n'ayant pas les qualités requises pour la fabrication de la purée ; en général ce sont des pommes abîmées présentant des défauts visuels majeurs, (Carolina, 2012).

- **Pré -broyage**

Cette étape est effectuée dans un broyeur à « marteaux » qui permet de découper les pommes en petits morceaux. Lors de cette opération en présence d'oxygène, le brunissement enzymatique des polyphénols des fruits a lieu sous l'effet de la polyphénol-oxydase (PPO). Pour éviter ou diminuer les phénomènes d'oxydation et donc préserver la couleur des fruits en limitant les réactions du brunissement (enzymatique BE), de l'acide ascorbique et de la vapeur d'eau sont injectés, (Carolina, 2012).

- **Raffinage**

Pendant le raffinage, le produit est « forcé » au travers d'orifices, ce qui va écraser et déstructurer les morceaux de pomme. Des pâles internes de l'outil appelé épulpeur, entraînées à grande vitesse, projettent le fruit contre une grille dont le diamètre d'orifice est fixé généralement entre 0,5 et 2-3 mm. Cette étape conditionne fortement la taille des particules de la purée finale. Plus l'ouverture des grilles est grande, plus la purée est granuleuse et plus l'ouverture est restreinte plus les purées sont lisses. Un extracteur permet de séparer les peaux et les pépins de la pulpe, (Carolina, 2012).

- **Chauffage**

Ce traitement thermique ramollit les tissus végétaux et vise à inactiver les enzymes endogènes pectinolytiques. Ce traitement peut être effectué à des températures élevées, allant de 85°C à 90 °C, ce qui provoque l'inactivation des enzymes pectine-méthylestérase (PME) et polygalacturonase (PG). En inactivant les enzymes, un produit plus visqueux est obtenu (Carolina, 2012). Généralement le traitement à haute température (Hot Break) est fait avant l'étape du raffinage. Car à des températures plus basses, à une température inférieure à 70 °C, à cette température les enzymes ne sont pas complètement inactivées, certaines pectines sont fragmentés ce qui induit une diminution de la viscosité et de la consistance du produit.

En revanche le produit final aura une couleur plus naturelle et un arôme plus frais, (Carolina, 2012). Le produit est moins exposé aux réactions de Maillard (réactions chimiques entre des acides aminés et des sucres (glucose), contenus dans les protéines des aliments). Cette réaction intervient dès qu'il n'y a plus de molécule d'eau en surface des aliments et se traduit par une coloration plus ou moins brune ; elle permet d'apporter de la couleur et d'enrichir le goût de certaines préparations.). Ainsi cette réaction entraîne la transformation des composés aromatiques sous l'effet de la chaleur.

En ce qui concerne la PPO, l'inactivation thermique est effective à partir de 50°C, (Martinez, 1995).

- **Chambrage**

Cette opération permet de maintenir la température de la purée avant le dégazage.

- **Dégazage**

Il s'agit d'une extraction d'air sous vide qui permet d'enlever l'air qui se trouve éventuellement dans le produit.

- **Pasteurisation/ Stérilisation**

L'objectif de ce deuxième traitement thermique est de détruire significativement les microorganismes pour augmenter le niveau de sécurité sanitaire du produit final et assurer une conservation de longue durée à température ambiante. Il est caractérisé par le couple temps – température. Dans le cas des fruits dont le pH est naturellement inférieur à 4,5, la conservation est assurée du point de vue microbiologique lorsque la température atteint 85°C. Les barèmes de pasteurisation usuels d'une purée de pomme sont de l'ordre de 90°C pendant 2-3 min, (Colin-Henrion, 2008). Le produit est ensuite refroidi à une température de 40°C, (Carolina, 2012).

- **Conditionnement**

Dans certains cas, le produit est stérilisé dans son emballage (pot ou boîte de conserve) et dans d'autres cas, le conditionnement se fait après la stérilisation dans des conditions stériles dans l'emballage souhaité (poches aseptiques, gourdes, petits pots, etc.), (Carolina, 2012).

## Chapitre II : Composés phénoliques

Les avantages nutritionnels des fruits et légumes sont liés à leur faible apport calorique et, à leur richesse en micro nutriments. Ces derniers sont qualifiés de métabolites, correspondant aux déchets du métabolisme des plantes. Ce sont notamment des pigments, des arômes et des tannins astringents, voire des composés sans couleur, sans odeur et sans saveur. On sait aujourd'hui, qu'ils contribuent à protéger la plante. Ces composés de structures chimiques extrêmement variées, sont souvent propres à une espèce ou à un groupement d'espèces et participent à l'identité chimique de la plante, (Cheriot, 2008)

Ce sont les polyphénols qui font partie des quatre principaux antioxydants végétaux à côté de la vitamine C et E ainsi que les caroténoïdes. Les orientations récentes des recherches sur les polyphénols visent à mieux comprendre les mécanismes d'action au niveau moléculaire et cellulaire et à évaluer par des études cliniques leur incidence sur certains marqueurs clé associés aux pathologies. D'autre part, les recherches épidémiologiques visent à préciser les associations entre les niveaux de consommation de divers polyphénols et les niveaux d'apports les plus favorables à la prévention des diverses pathologies, (kebbab, 2014).

### II.1. Définition

Les polyphénols appelés aussi composés phytochimiques ou encore phytonutriments, sont des composés hydrosolubles issus du métabolisme secondaire des végétaux qui contribuent au développement de la plante. Ils comprennent une grande diversité de molécules, basées sur un ou plusieurs motifs phénol plus ou moins substitués présentant des structures et des propriétés très variées. Ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel et participent aux mécanismes de sa défense. Ils déterminent la qualité nutritionnelle du fruit et exercent un impact positif sur la santé du consommateur (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers.), (Harrar, 2012).

### II.2. Classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques regroupent un vaste ensemble de substances chimiques comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyle, en plus d'autres constituants. Les polyphénols naturels vont de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés comme les tanins, (Boubekri, 2014).

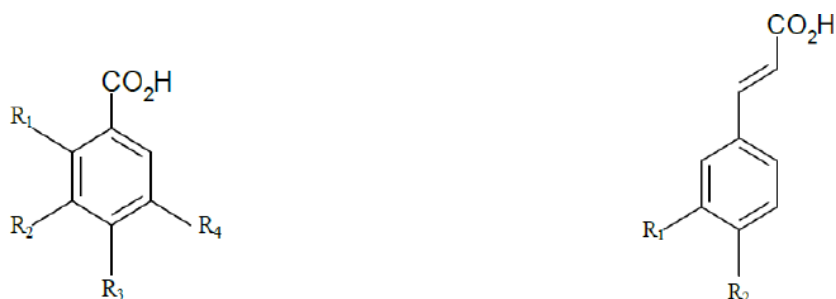
Il existe différentes classes de polyphénols, qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base, ensuite par le degré de modifications de ce squelette, enfin par les liaisons possible de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, protéines, lipides, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques), (Bellebcir, 2008).

### ➤ Acides phénoliques

Les acides phénols, ont une fonction acide et plusieurs fonctions phénols. Ils sont incolores et plutôt rares dans la nature. Ils se divisent en deux catégories :

Les acides phénols dérivés de l'acide benzoïque sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides, ont une formule de base de type C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> (Haslam, 1994), figure (11). Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais, (Achat, 2014). On peut citer le cas de : l'acide gallique qui est un élément principal de la structure des tannins hydrolysables.

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés, dont la structure de base (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinaptique, figure (11).



#### Acides hydroxybenzoïques

R<sub>1</sub>=R<sub>4</sub>=H, R<sub>2</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub>=OH Acide vanillique

R<sub>1</sub>= H, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=OH Acide gallique

R<sub>1</sub>=OH, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=H Acide salicylique

#### Acides hydroxycinnamiques

R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=H, R<sub>2</sub>=OH Acide *p*-coumarique

R<sub>1</sub>= R<sub>2</sub>=OH, R<sub>3</sub> =H Acide caféique

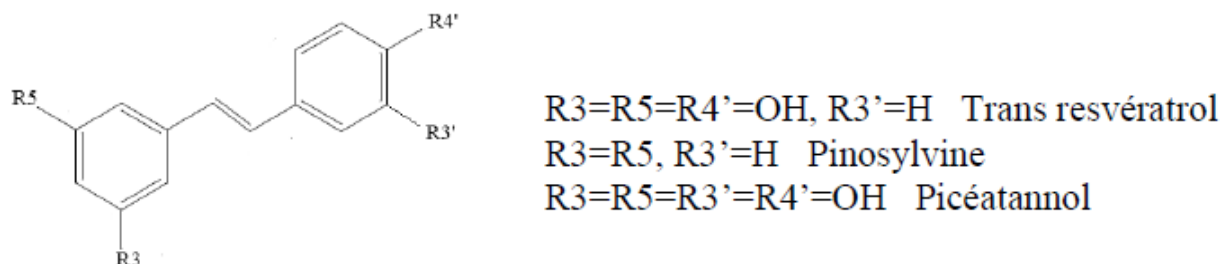
R<sub>1</sub>=OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=OH, R<sub>3</sub>=H Acide férulique

**Figure (11):** Structure des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques, (Akroum, 2011).

### ➤ Stilbènes

Ces composés se présentent en très petite quantité dans notre alimentation; ils possèdent la structure C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> et sont produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microorganismes pathogènes fongiques, bactériens et viraux, (Kebbab, 2014). Les sources principales de ces composés sont les raisins, les vins, le soja et les arachides. Ils sont

synthétisés à partir de dérivés d'acides cinnamiques, (Kebbab, 2014). Le plus connu d'entre eux est le resvératrol, figure (12), largement étudié pour ses propriétés anticancéreuses mises en évidence lors de l'étude des activités biologiques de plantes médicinales, (Saffidine, 2015).



**Figure (12):** Structure de stilbène, (Saffidine, 2015).

### ➤ Les flavonoïdes

Ce sont les plus représentatifs des composés phénoliques ; ils ont un squelette de base formé par deux cycles en C<sub>6</sub> (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C<sub>3</sub> qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C). Ils donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon leur structure, les flavonoïdes se divisent en 6 groupes : flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, chalcones, aurones.

Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liée à des oses et autres substances, (Akroum, 2011).

### ➤ Les tanins

Les tanins sont des macromolécules caractérisées par une saveur astringente que l'on retrouve dans toutes les parties de la plante. Ils se divisent selon leur structure en deux groupes principaux : tanins hydrolysables qui sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose, (SarniManchado et al, 2006). Les tanins condensés, les proanthocyanidines qui sont des composés phénoliques hétérogènes se trouvent sous forme d'oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, (Akroum, 2011).

Ils ont la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines en formant des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines, et aux enzymes digestives et réduisent la digestibilité des aliments. Ils peuvent aussi être liés à la cellulose et à de nombreux éléments minéraux, (Kebbab, 2014).

### ➤ Lignanes

Les lignanes répondent à une représentation structurale de type (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, l'unité (C<sub>6</sub> - C<sub>3</sub>) est considérée comme un propylbenzène. Les plantes les élaborent par dimérisation oxydante de deux unités d'alcool coniférique, (Muanda, 2010). Ce sont des composés

phénoliques bioactifs, non-nutritifs, non caloriques. On les trouve en plus forte concentration dans le lin et les graines de sésame et en faibles concentrations dans les fruits et les légumes, (Boubekri, 2014).

➤ **Lignines**

On ne s'accorde toujours pas sur une définition unique et précise de la lignine du fait de sa grande variabilité et cela au sein même d'une espèce donnée, car sa formation dépend de l'environnement physico-chimique dans lequel le végétal croît. Il serait donc préférable de parler des lignines. Ce sont des composés de haut poids moléculaire qui contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation de trois alcools phénylpropéniques, (Nkhili, 2009).

### **II.3. Biosynthèse des polyphénols**

Les composés phénoliques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate/malonate, (Akroum, 2011).

La voie de l'acide shikimique est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane. Ce sont des métabolites primaires qui servent de précurseurs pour de nombreux produits naturels (secondaire) tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les alcaloïdes, (Boubekri, 2014).

La glycolyse et la  $\beta$ -oxydation aboutissent à la formation de l'acétylCoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase, (Boubekri, 2014).

La biosynthèse des composés phénoliques est très fortement régulée au cours du développement du fruit. Une très forte teneur en composés phénoliques est observée un mois après la floraison. Cela est dû à la forte activité des enzymes de biosynthèse dans le fruit au cours de la phase de division cellulaire. Au cours de la maturation, cette activité est fortement diminuée et la teneur globale en composés phénoliques diminue, aussi bien dans la peau que dans la chair. Plus précisément, les teneurs en dihydrochalcones et acides hydroxycinnamiques diminuent fortement, tandis que celles en flavanols restent relativement stables, (Verdu, 2013 cités par Treutter, 2001).

#### II.4. Propriétés des composés phénoliques

Composés phénoliques	Activité biologique
<b>Acides Phénols</b>	Antifongique, antioxydante Antibactérienne
<b>Tanins</b>	Effet stabilisant sur le collagène, antioxydant, antidiarrhéique, effet antiseptique, effet vasoconstricteur.
<b>Flavonoïdes</b>	Antitumorale, anticarcinogène, anti -inflammatoire, antioxydante, antiallergique, antiulcéreuse, antivirale, antimicrobienne, hypotenseur, diurétique.
<b>Coumarines</b>	Anticoagulante, antioxydante, protectrice vasculaire et antioedémateuse.
<b>Anthocyanes</b>	Protectrices capillaro-veineux, anti oxydant
<b>Proanthocyanidines</b>	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydants, antitumoraux, antifongiques et anti-inflammatoires.
<b>Tannins galliques et catéchiques</b>	Antioxydantes
<b>Lignanes</b>	Anti-inflammatoires, analgésiques

**Tableau (2):** Activités biologiques des polyphénols, (Kebbab, 2014).

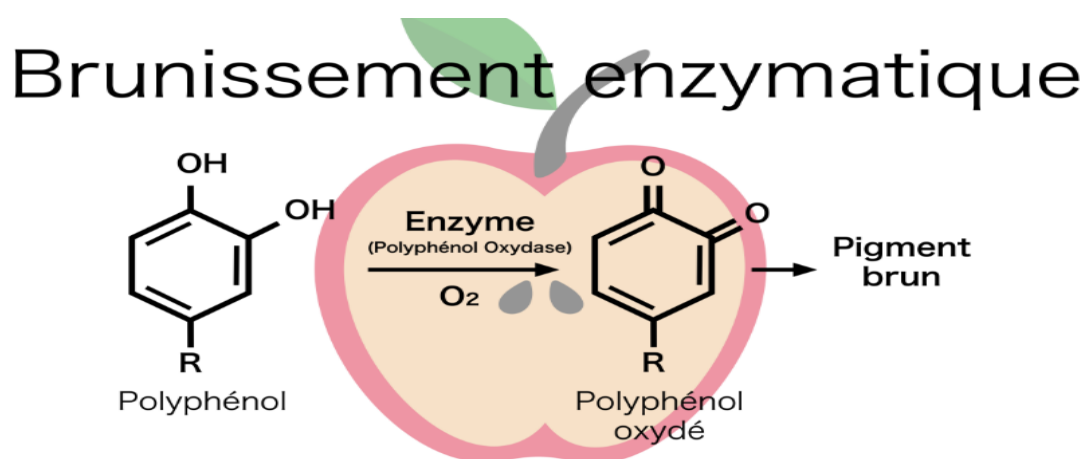
## Chapitre III : Le brunissement enzymatique

Les réactions d'oxydation observées dans les produits alimentaires, qu'elles soient catalysées ou non par des enzymes, nuisent fréquemment à leurs qualités organoleptiques et nutritionnelles. Par exemple, l'oxydation enzymatique des phénols, catalysée par les polyphénoloxydases (PPO) et autrement appelée « brunissement enzymatique » fait suite à l'altération des fruits ou légumes lors de traitements mécaniques (récolte, manutention lors du transport et du stockage, pelage, découpe) ou technologiques (conservation au froid, congélation-décongélation, irradiation) ou encore naturels (infection fongique), (Cheriot, 2008).

### III.1. Définition de brunissement enzymatique

Le brunissement enzymatique est la principale réaction responsable de l'altération de la couleur des fruits et légumes. Il résulte de l'oxydation des composés phénoliques présents dans la cellule végétale par deux enzymes : les (PPO) et les peroxydases (POD), (Vamos-Vigyazo et al, 1976), la PPO est considérée comme l'enzyme clé du brunissement.

En effet, lorsque l'on coupe en deux un fruit tel qu'une pomme, la membrane qui sépare les deux parties est détruite ; les enzymes qui sont situées dans les organites cellulaires : mitochondries, chloroplastes et cytoplasme entrent en contact avec les phénols localisés dans les vacuoles, (Djioua, 2013). Cette réaction d'oxydation conduit à la formation de quinones, espèces très instables, qui se polymérisent en entraînant la formation de pigments bruns figure13.



**Figure (13):** Réaction de brunissement enzymatique, (Djioua, 2013).

## III.2.Mécanisme de brunissement enzymatique

### III.2.1.Enzymes de brunissement

Les enzymes impliquées dans les réactions de brunissement sont les PPO et dans une moindre mesure les peroxydases. Les PPO agissent sur les phénols en présence d'oxygène alors que les peroxydases font intervenir le peroxyde d'hydrogène, (Daas-amiour, 2017).

#### III.2.1.1.Polyphénoloxydases

Les PPO sont localisées au niveau de la peau et de la pulpe des fruits matures, mais leur répartition est différente selon le type du fruit, le mode d'expression utilisé ou le stade physiologique. Elles sont susceptibles de se trouver soit sous forme soluble ou intégrée aux membranes qui est la localisation prédominante, (Boubekri, 2014).

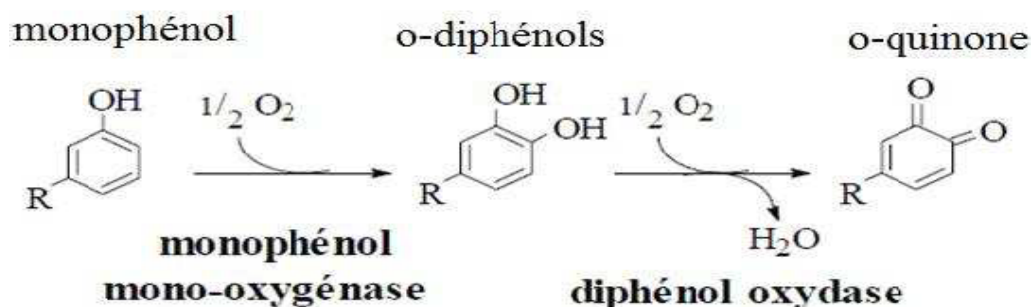
Les PPO appartiennent au groupe des oxydoréductases, (Gouzi, 2015) ; elles existent dans de nombreux organismes sous des formes légèrement différentes, appelées iso-enzymes. Elles se différencient par leur affinité pour l'oxygène et les substrats phénoliques, leur vitesse de réaction maximale. Elles sont des métalloprotéines renfermant du cuivre, qui est indispensable pour le mécanisme catalytique de l'enzyme, (Mayer, 2006). Leur activité optimale, se situe généralement à pH allant de 5 à 7, et décroît rapidement avec le pH 14. Parmi les polyphénoloxydases, on distingue les catécholoxydases et les laccases, (Yourk, 2003).

- Les catécholoxydases : elles catalysent l'hydroxylation des monophénols en *o*-diphénols (activité crésolase) et l'oxydation des *o*-diphénols en *o*-quinone (activité catécholase). Elles renferment deux atomes de cuivre au niveau de leur site catalytique, (Jeantet et al, 2006).
- Les laccases : Elles sont moins spécifiques que les catécholase, catalysent l'oxydation d'une large gamme de composés phénoliques : *p*-diphénols, *o*-diphénols, *m*-diphénols, *o*-triphénols (acide gallique) et divers monophénols à l'exception de la tyrosine. Les laccases contiennent 4 atomes de cuivre, (Gouzi, 2014). Elles sont plus stables que les catécholoxydases en milieu acide, sont moins sensibles aux inhibiteurs comme les sulfites mais sont moins résistantes à une élévation de température, (Jeantet et al, 2006).

S'agissant de la PPO de pomme, des études récentes ont montré la présence de trois iso-enzymes obtenues par filtration sur gel dont le poids moléculaire est de 46Kd, (Marques *et al.*, 1995).

Elles sont aussi thermostables, souvent employées en tant qu'indicateurs de blanchiment, (Williams *et al.*, 1986; cité par Richard-Forget, 1992).

Les activités catalysées sont décrites dans la figure (14):



**Figure(14):** Schéma simplifié des deux activités d'oxydation de la PPO, (Sanoner, 2001).

### III.2.1.2. Les peroxydases

Elles sont caractérisées par leur capacité à oxyder différents donneurs d'hydrogène. Les réactions catalysées par les peroxydases génèrent des composés qui modifient la saveur des produits végétaux et favorisent le brunissement, (Billot, 1999).

### III.2.2. Les composés phénoliques

Il existe de nombreux substrats naturels, mono-, di- ou poly phénoliques, du brunissement enzymatique. Les plus importants sont les dérivés du pyrocatechol, les dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique, les flavonoïdes, les tanins et les lignines. Leur réactivité est plus ou moins élevée selon leur structure et l'origine des enzymes qui catalysent leur oxydation ; par exemple, les méta-diphénols sont faiblement réactifs, (Bessas, 2008). Quelques substrats de PPO sont donnés dans la figure (15):

Source	Substrats phénoliques
Aubergine	Acides chlorogénique, caféique, coumarique et dérivés de l'acide cinnamique
Pomme	Acide chlorogénique, catéchol, catéchine, acide caféique, DOPA, acide 3,4-dihydroxybenzoïque, <i>p</i> -crésol, acide <i>p</i> -coumarique
Pomme de terre	Acides chlorogénique et caféique, catéchol, DOPA, <i>p</i> -crésol, acides <i>p</i> -hydroxyphénylpropionique et <i>p</i> -hydroxyphénylpyruvique, <i>m</i> -crésol
Champignon	Tyrosine, catéchol, DOPA, dopamine, adrénaline, noradrénaline
Salade	Tyrosine, acide caféique et dérivés de l'acide chlorogénique
Café	Acides chlorogénique et caféique

**Tableau (3):** Substrats phénoliques de PPO de différentes origines végétales, (Cheriot, 2008).

### III.2.3. Réactions du brunissement enzymatique

#### III.2.3.1. Formation de quinones

Les PPO réalisent l'hydroxylation des monophénols en *o*-diphénol et l'oxydation des *o*-diphénol et *p*-diphénol en quinones. Seule la forme oxydée de l'enzyme,  $\text{CU}^{++} - \text{O}_2 - {}^{++}\text{CU}(\text{E}_2)$ , est en mesure de réagir avec les mono-phénols et d'insérer un atome d'oxygène en position *ortho* du composé phénolique. Les formes oxydées de l'enzyme ( $\text{E}_2$  et  $\text{E}_3$ ) peuvent réaliser l'oxydation des *o*-diphénols en *o*-quinones et la libération simultanée d'une molécule d'eau. Ces réactions sont associées à une évolution de la couleur des produits. Alors que les composés phénoliques sont le plus souvent incolores, les quinones sont légèrement colorées, généralement de teinte jaune, orange, rose, rouge ou brune. La couleur des *o*-quinones dépend principalement du pH et des composés phénoliques dont ils proviennent, (Jeantet et al, 2006).

#### III.2.3.2. Réaction à partir de quinones

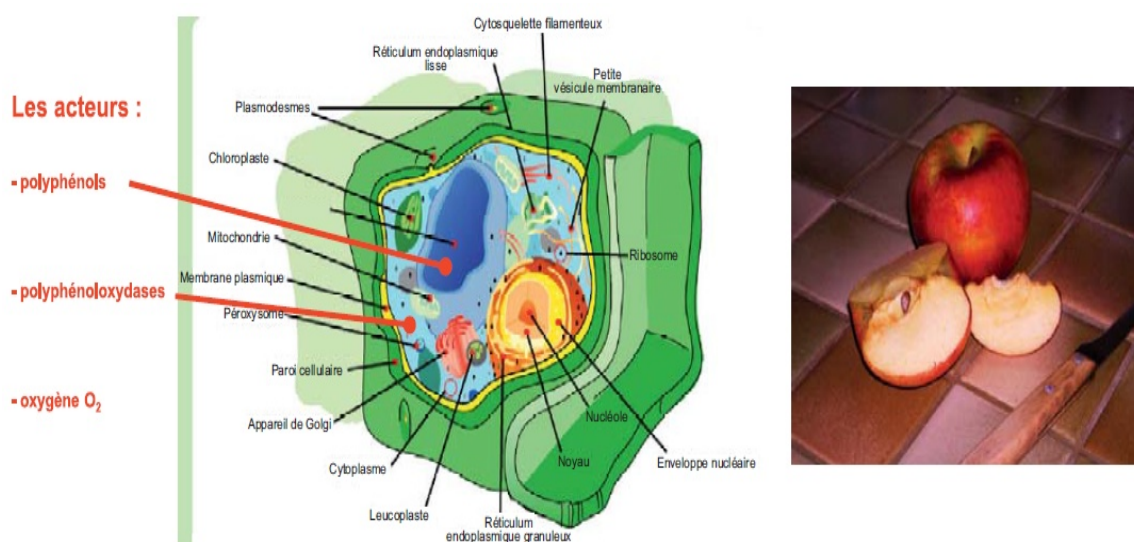
Les quinones sont des espèces très instables, à la fois oxydants puissants et fortement électrophiles, qui conduisent rapidement à une grande diversité de produits colorés ou non. Ils réalisent soit des réactions d'oxydation de composés réducteurs, avec régénération du composé *o*-diphénolique, soit des réactions d'addition de composés nucléophiles conduisant à la formation de multiples produits d'addition. A ce stade, la participation des PPO est plus discrète. (Roland, 2010). Les *o*-quinones peuvent réaliser des réactions d'oxydation couplée avec les *o*-diphénols. Ces réactions peuvent être rapides et dépendent des potentiels d'oxydoréduction respectifs des différents substrats (quinones et phénols) en présence. Les *o*-quinones réagissent également avec divers polyphénols pour former des produits de condensations (dimères, oligomères, copolymères), (Jeantet et al, 2006). Ces derniers, ayant eux-mêmes une structure *o*-diphénolique, peuvent être soumis à leur tour à une oxydation

enzymatique par la PPO ou non enzymatique par des *o*-quinones. L'addition de molécules d'eau sur les quinones donne des trihydroxybenzène ; ceux-ci sont ensuite oxydés par la PPO ou des quinones en excès pour former des hydroxquinones qui sont enfin le siège d'une condensation oxydative conduisant à des polymères colorés dont l'intensité évolue avec le degré de condensation. Les quinones peuvent réagir avec des groupements thiols ou amines de protéines, d'acides aminés et d'amines. En raison de leur structure, certains composés formés agissent comme inhibiteurs compétitifs de la polyphénoloxydase. Les *o*-quinones peuvent oxyder l'acide ascorbique (AscA) en acide déshydroascorbique (DHA) régénérant l'*o*-diphénol correspondant. Les sulfites réalisent des réactions de réduction ou d'addition sur les *o*-quinones, (Ronald, 2010).

Après de multiples réactions d'oxydation, d'addition et de polymérisation, il se forme des pigments: les mélanines. La teinte (rose, rouge, bleue, brune, noire) et l'intensité de coloration des pigments diffèrent suivant les polyphénols mis en jeu et les facteurs environnementaux de la réaction d'oxydation (température et pH essentiellement), (Jeantet et al, 2006).

### III.3. Les facteurs du brunissement enzymatique

La vitesse d'apparition et l'intensité du brunissement enzymatique dans les produits végétaux (fruits) dépend de la teneur en composés phénoliques et l'activité enzymatique des PPO mais aussi des caractéristiques physicochimiques du milieu (pH, activité de l'eau), température et la disponibilité ou non d'oxygène (moléculaire ou de l'air), (Meunier, 1991). Elle dépend également de la phase physiologique des fruits, figure (15).



**Figure (15) :** Les facteurs du brunissement enzymatique, (Amiot et al., 1992).

### III.4. Evaluation du brunissement enzymatique

Les méthodes expérimentales basées sur la quantification de la couleur des produits alimentaires se sont naturellement imposées pour évaluer le brunissement enzymatique. La spectroscopie d'absorbance UV visible, la colorimétrie tristimulus et la réflectométrie sont les plus employées.

#### III.4.1. La spectroscopie d'absorbance UV visible

Elle utilise la mesure de l'absorbance, généralement à une longueur d'onde comprise entre 400 et 500nm. Cette mesure s'effectue en solution et nécessite au préalable l'extraction et la purification des composés responsables du brunissement. De ce fait, la mesure d'absorbance ne tient compte que des pigments solubles, (Jeantet et al, 2006).

Or, au cours du brunissement enzymatique, les réactions de polymérisation conduisent à l'insolubilisation d'une partie des pigments. Ces derniers sont éliminés durant les étapes de filtration ou centrifugation précédant la mesure d'absorbance, et ne seront pas quantifiés par cette technique d'analyse, (Jeantet et al, 2006).

De plus, suivant le type de pigment formé qui dépend lui-même des substrats phénoliques mis en œuvre et des conditions de réaction, la longueur d'onde du maximum d'absorbance varie. Après oxydation, les catéchines forment des pigments de teinte jaune avec un maximum d'absorbance à 380nm, l'acide chlorogénique engendre des pigments jaune-orangé avec un maximum d'absorbance à 420nm tandis que l'*o*-dihydroxyphénylalanine (DOPA) est le précurseur de pigments roses avec un maximum d'absorbance à 480nm. La valeur d'absorbance à une seule longueur d'onde est donc parfois mal corrélée avec l'aspect visuel du brunissement, (Vrielynck, 1996).

#### III.4.2. La colorimétrie tristimulus et la réflectométrie

Elles mesurent la lumière réfléchie par un objet et peuvent être appliquées directement à des surfaces coupées ou à des purées de fruits ou de légumes.

- La colorimétrie tristimulus :

Elle utilise trois filtres (rouge, vert et bleu) à l'image des capteurs de la rétine.

- La réflectométrie :

Elle utilise des capteurs multiples pour mesurer la réflectance spectrale d'un objet pour chaque longueur d'onde ; la réflectométrie permet d'obtenir les mêmes résultats que la colorimétrie tristimulus mais permet également d'obtenir la courbe spectrale pour la couleur étudiée, (Vassalo, 2006).

## **Chapitre IV : La prévention du brunissement enzymatique**

En raison des effets néfastes de la réaction de BE se produisant au sein d'importants produits alimentaires, son contrôle est une grande priorité pour les producteurs. Pour inhiber ces réactions, plusieurs procédés physiques et chimiques sont utilisés pour éliminer les composés responsables du brunissement (oxygène, enzyme, cuivre, substrat (composé phénolique)).

### **IV.1. Les méthodes de prévention**

#### **IV.1.1. Les moyens physiques**

##### **IV.1.1.1. Le blanchiment**

Les traitements thermiques sont les plus utilisés pour stabiliser les aliments en raison de leur efficacité pour la destruction des micro-organismes et l'inactivation des enzymes. Le blanchiment est l'une des méthodes les plus efficaces et des plus appliquées pour contrôler le brunissement enzymatique. Les températures appliquées lors du blanchiment varient considérablement en fonction du végétal à traiter et des enzymes à inactiver. En général, une exposition des PPO à des températures de l'ordre de 70-90 °C entraîne la destruction de leur activité catalytique, (Vámos-Vigyázó, 1981).

Bien que très efficace, le blanchiment nuit à la qualité des produits en provoquant des pertes en vitamines, arômes, couleurs, texture, sucres et autres composés hydrosolubles, (Cheriot, 2007).

##### **IV.1.1.2. La congélation**

Des températures inférieures à -18 °C sont utilisées pour la conservation de longue durée des aliments. Les mécanismes d'inactivation des enzymes par la congélation peuvent être expliqués par différentes hypothèses : augmentation de la concentration en inhibiteurs du fait de la diminution de la quantité d'eau disponible à l'état liquide, (Tappel, 1966), et de modifications du pH. La congélation rapide minimise le brunissement enzymatique et produit des aliments de bonne qualité. De la même façon que pour l'inactivation des enzymes par chauffage, ce procédé présente des inconvénients et provoque notamment des changements de texture. De plus, la congélation fragilise les structures membranaires des cellules et facilite ainsi le brunissement enzymatique lors de la décongélation des produits, (Fennema, 1975).

### IV.1.1.3. La déshydratation

La teneur en eau influence très fortement les activités enzymatiques : celles-ci diminuent généralement avec un abaissement de l'activité de l'eau. La déshydratation a des effets variés sur les enzymes en raison des réponses différentes en fonction de la concentration des solutés. Les sucres et les protéines ont, en général, un effet protecteur contre l'inactivation enzymatique, (Daas-amiour, 2017).

La lyophilisation permet d'éliminer l'eau d'un produit congelé. Ainsi, ce procédé inhibe les réactions chimiques et biochimiques indésirables tout en minimisant la perte en composés aromatiques, (Cheriot, 2008).

### IV.1.2. Les moyens chimiques

#### IV.1.2.1. Action sur les enzymes

Une large gamme de composés est connue pour inhiber la PPO. Leur efficacité dépend de la nature et de la concentration de l'inhibiteur, de la source d'enzyme, de la disponibilité du substrat ( $O_2$  et composé phénolique), du pH et de la température, (Zawistowski et al., 1991), (Gouzi, 2011). Ces inhibiteurs chimiques de la PPO sont répertoriés en deux groupes, ceux du type I interagissant avec le cuivre du site actif, et ceux du type II affectant le site de fixation des composés phénoliques, (Richard-Forget, 1992).

Parmi les premiers, on trouve les chélateurs des ions métalliques comme les nitrites et les cyanures, qui pour la plupart sont toxiques et ne peuvent être utilisés dans l'industrie agro-alimentaire, (Chang-Lee, 2000).

Selon Richard-Froget, 1992 l'acide ascorbique, l'eau oxygénée, la phénylhydrazine, l'acide gallique et le ferrocyanure sont capables de réduire le cuivre du site actif de l'enzyme induisant ainsi son inactivation.

Certains halogénures sont aussi utilisés, comme les chlorures ; l'action inhibitrice du chlorure de sodium est fortement dépendante du pH. Ainsi, sur le plan technologique, l'effet vis-à-vis du BE est renforcé par un abaissement du pH jusqu'au voisinage de 4. Le chlorure de calcium ( $CaCl_2$ ) est également utilisé pour limiter le brunissement.

L'acide citrique (E150) fait parti des principaux additifs ; son emploi dans les industries alimentaires est très répandu, en raison de sa disponibilité, son goût agréable, sa faible toxicité et sa rapide assimilation, (Faur, 1992). C'est un acide organique fort qui inactive la PPO par

deux mécanismes : élimination du cuivre du site actif et diminution du pH du milieu, (Gouzi, 2011).

Parmi les inhibiteurs du second groupe, on peut citer les acides aromatiques carboxyliques des séries benzoïques et cinnamiques qui jouent un rôle d'inhibiteurs compétitifs de la PPO de la pomme, en raison de leur structure semblable à celle des CP des PPO. Les acides cinnamiques apparaissent être des inhibiteurs plus puissants que les dérivés benzoïques, (Billot, 1999).

L'inhibition de l'activité PPO par les sulfites est complexe : l'inhibiteur dénaturerait partiellement l'enzyme en se complexant avec la protéine, ce qui entraîne des modifications de structure, (Varoquaux et *al.*, 1977). Bien que limitant efficacement les brunissements et possédant des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, l'utilisation industrielle des sulfites est très réglementée.

D'autres inhibiteurs ont été proposés tels que les *B*-cyclodextrines, les protéases et les 4-hexylresorcinol. Ceux-ci piègeraient les substrats des PPO.

#### **IV.1.2.2. Action sur les substrats**

L'inhibition du BE peut être obtenue en éliminant du milieu réactionnel un des deux substrats, l'oxygène ou les composés phénoliques.

##### **IV.2.2.2.1. Les composés phénoliques**

Les composés phénoliques peuvent être réduits ou éliminés par sélection de variétés naturellement pauvre en composés phénoliques ou par l'utilisation de méthodes physicochimique telles que, l'ultrafiltration, ou addition d'enzymes et d'adsorbants (les cyclodextrines, le chitosane et les carraghénanes). Ces derniers aboutissent à des modifications enzymatiques des substrats en se complexant avec les composés phénoliques. Comme les cyclodextrines qui possèdent une cavité hydrophobe capable de complexer les polyphénols, (Sapers et *al.*, 1989). La capacité de piégeage des cyclodextrines dépend de leurs nature et de celle des polyphénols, (Fayad et *al.*, 1997).

Pour éliminer sélectivement les phénols réactifs dans les premiers stades du processus d'obtention de jus de pomme, des laccases d'origine microbienne sont ajoutées suivies d'une ultrafiltration afin d'obtenir un produit fini clarifié et stabilisé, (Billot 1999). Ajoutant l'*o*-méthyltransférase convertit les *o*-dihydroxyphénols en leurs dérivés méthoxy correspondants qui ne peuvent être utilisés comme substrats par la PPO, (Fang et Chiang, 1975). De la même façon, la protocatéchuate-3,4-dioxygénase purifiée de *Pseudomonas aeruginosa* empêche le brunissement enzymatique du jus de pomme en modifiant le substrat phénolique, (Kelly et

Finkle., 1969). Cependant, l'utilisation de ces enzymes n'est pas envisageable au niveau industriel en raison de leur coût.

#### IV.2.2.2.2. L'oxygène

L'élimination de l'oxygène s'effectue par immersion des produits à protéger du BE dans des sirops, des saumures ou par enrobage. Les atmosphères appauvries en oxygène constituent aussi une méthode satisfaisante pour ralentir l'apparition du BE. Elles peuvent être obtenues par conditionnement sous atmosphère modifiée ou inerte, (Jeantet .R et al., 2006). Le traitement s'accompagne de modifications physiologiques comme un ralentissement de la respiration, une inhibition de la production d'éthylène, un retard dans le murissement et la sénescence des tissus responsables de la libération des enzymes et substrats des réactions du BE, (Jeantet .R et al., 2006).

#### IV.2.2.3. Action sur les produits

Les produits d'oxydation des diphenols, les quinones, réagissent entre eux et forment des dimères phénoliques. Ces dimères s'oxydent à nouveau et forment des polymères plus ou moins bruns. L'acide ascorbique, (Hsu et *al.*, 1988), les composés thiolés, (Henze., 1956), les sulfites, (Sayavedra-Soto et Montgomery., 1986) et les acides aminés, (Kahn., 1985) sont capables d'inhiber la formation de ces dimères en réduisant les quinones en phénols ou en formant des produits d'addition incolores par exemple.

##### IV.2.2.3.1. Les sulfites

Les sulfites (E 220 à 228) sont les inhibiteurs de BE les plus utilisés. Le terme « sulfites » comprend l'oxyde de soufre (SO) et différentes formes inorganiques libérant de l'anhydride sulfureux ou dioxyde de soufre (SO<sub>2</sub> – E 220) : sulfite (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), bisulfite (HSO<sub>3</sub><sup>-</sup>), métabisulfite (S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)<sup>2-</sup>.

Selon Madero et Finne, (1982), les sulfites ont un effet inhibiteur compétitif sur la PPO en se liant à un groupement sulfhydryl du site actif. Par ailleurs, ces auteurs suggèrent que cette inhibition est due à la réaction des sulfites sur les quinones, formant ainsi des sulfoquinones, inhibiteurs irréversibles de la PPO et provoquant ainsi son inactivation. Bien que les sulfites soient très efficaces, ils sont soumis à des restrictions d'utilisation en raison de leur effet toxique. Plusieurs rapports, (Prenner Et Stevens, 1976 ; Maria Et Al., 1989 ; Papazian, 1996) décrivent des réactions allergiques chez des personnes asthmatiques suite à la consommation de produits traités avec des sulfites. Le tableau (3) présente les quantités maximales des sulfites autorisées dans les aliments à base de fruits et de légumes.

<b>Bio produits</b>	Quantité maximale (SO <sub>2</sub> ) exprimée (mg/kg ou mg/l)	
Pommes de terre pelées,	50	
Pommes de terre transformées (y compris les pommes de terre congelées et surgelées)	100	
Légumes blancs séchés	400	
Légumes blancs transformés (y compris légumes blancs congelés et surgelés)	50	
Champignons transformés (y compris les champignons congelés)	50	
Champignons séchés	100	
Fruits séchés :		
- abricots, pêches, raisins, prunes et figes	2000	
- bananes	1000	
- pommes et poires	600	
- autres (y compris fruits à coque)	500	
Jus d'orange, de pamplemousse, de pomme et d'ananas		50
Jus de limette et de citron		350
Autres concentrés à base de jus de fruits ou de fruits broyés	250	
Cidre, poiré, boissons fermentées à base de fruits, pétillantes ou non		200

**Tableau (4):**Quantités maximales de sulfites autorisées dans les aliments à base de fruits et de légumes, (Dehove et *al.*, 1998)

#### IV.2.2.3.2. L'acide ascorbique

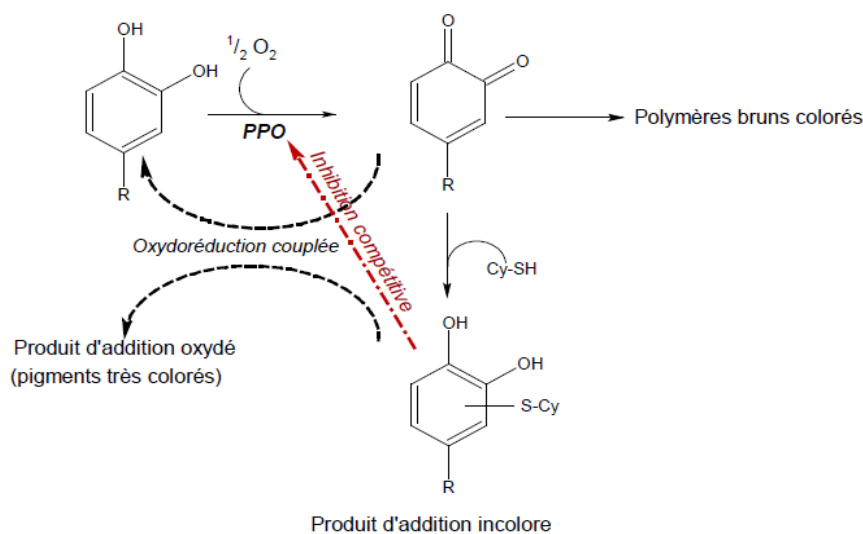
L'acide ascorbique est un agent réducteur et piègeur d'oxygène libre. Il est très hydrosoluble. Les sels neutres sont également considérés comme sains pour inhiber le BE ou d'autres réactions d'oxydation, (Bauernfeind et Pinkert, 1970). L'inhibition du BE par l'acide ascorbique est attribuée à la réduction des quinones en phénols initiaux. Cependant, cet acide est irréversiblement transformé en acide déhydroxy-ascorbique : le BE est bloqué jusqu'à ce qu'il n'y ait plus d'acide ascorbique. Par ailleurs, des propriétés de chélation du cuivre prosthétique de la PPO sont également attribuées à l'acide ascorbique, (Whitaker., 1972). Ce dernier est en général utilisé en association avec l'acide citrique.

### IV.2.2.3.3. Les acides aminés, peptides et protéines

Les acides aminés, peptides et protéines peuvent inhiber le BE soit en inhibant directement l'enzyme, soit en réagissant avec les quinones, (Mcevely et *al.*, 1992). Ces composés peuvent former des complexes stables avec le cuivre  $\text{Cu}^{2+}$  du site actif de la PPO.

La cystéine, acide aminé sulfuré, constituant de protéines diverses, est un inhibiteur du BE dont l'efficacité rivalise avec celle du métabisulfite de sodium (Kahn., 1985).

L'inhibition est due à la formation de composés d'addition incolores dont le mécanisme d'action est décrit en figure (17).



**Figure (16):** Effets de la cystéine (Cy-SH) sur l'oxydation enzymatique d'o-diphénols, (Richard-Forget et *al.*, 1992).

## Matériel et méthodes

Le but général de ce travail est de mettre en évidence l'effet de quelques réactifs (Acide ascorbique, Chlorure de Calcium, Métabisulfite de Sodium, Acide citrique), seuls ou en combinaison, sur le brunissement enzymatique de la purée de pomme. L'objectif est de mettre à disposition de l'industrie des outils techniques pour permettre une meilleure maîtrise de la qualité de ses produits. La fabrication industrielle de la purée de pomme nécessite une attention particulière, compte tenu de sa sensibilité à l'oxydation, donc au brunissement. L'étude est effectuée au laboratoire de recherche à la NCA Rouiba du mois de mars au mois de mai 2017.

### I. Matériel.

L'étude consiste à réaliser des essais avec des purées de pomme préparées au laboratoire. La purée est issue d'une seule variété de pomme « *Golden Delicious* », qui sont produites en Algérie et achetées au marché; elles sont produites à Batna. L'échantillon correspond à un lot de fruits sains de même variété et d'origine unique.

#### I.1. Appareillage et réactifs :

Les appareils utilisés sont consignés dans le tableau (5).

Appareils	Type
Agitateur	STUART (heat-stir / SB162)
Balance de précision	KERN/KB
Centrifugeuse	SIGMA
Dessiccateur	SARTORIUS (MA 45)
Réfractomètre	ATAGO
Spectrophotomètre	JENWAY (6300 Spectrophotometer)
Verreries	Becher, Erlenmeyers, pipette
Mixeur domestique	BOSCH /400W

**Tableau (5):** Liste des appareils utilisés.

Les réactifs utilisés sont mentionnés dans le tableau (6).

Réactifs utilisés pour prévenir le brunissement enzymatique	Acide ascorbique ( $C_6H_8O_6$ ) ; Chlorure de calcium( $CaCl_2$ ) ; Métabisulfite de sodium ( $Na_2S_2O_5$ ); Acide citrique ( $C_6H_8O_7$ );
Réactifs utilisés pour l'évaluation du brunissement enzymatique	Acide formique ( $CH_2O_2$ ) –méthanol( $CH_3OH$ ) ; Ether de pétrole ( $CH_3-(CH_2)_n-CH_3$ ) ; Solution tampon pH4, 5 (phosphate-citrate) ;
Réactifs utilisés pour les dosages des paramètres physico-chimiques	Acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ); Empois d'amidon ( $C_6H_{10}O_5$ ); Hydroxyde de sodium (NaOH) ; Phénolphtaléine ( $C_{20}H_{14}O_4$ ); Solution d'iode ( $I_2$ ).

**Tableau (6)** : Liste des réactifs utilisés.

## II. Méthodes :

### II.1. Préparation du matériel végétal :

Les pommes subissent un tri et un lavage permettant d'écartier les risques d'un brunissement précoce et de les rendre propre pour les essais auxquels elles sont destinées.

### II.2. Procédé de fabrication de la purée :

Une pesée de (100g) de pomme sélectionnée est préalablement découpée en morceaux puis introduite dans un mixeur domestique de type BOSCH de 400W (vitesse de rotation est 12500tr/mn) pour être broyées ensuite en présence de réactifs chimiques (selon la démarche expérimentale) jusqu'à l'obtention d'une purée.

### **II.3. Mise au point de protocole :**

Des mesures sont effectuées pour caractériser quelques paramètres physicochimiques des purées de pomme. L'ensemble des analyses est réalisées au niveau du laboratoire de recherche et de développement de la Nouvelle Conserverie Algérienne à Rouiba.

#### **II.3.1. Caractérisation physicochimique :**

##### **II.3.1.1. Détermination du pH :**

Le pH mesure la concentration en ions  $H_3O^+$  de l'aliment. Il traduit le caractère acide ou basique sur une échelle de 0 à 14. On le mesure à l'aide d'un papier indicateur ou d'un pH-mètre.

La mesure est réalisée en plongeant l'électrode de pH mètre dans le récipient contenant la purée de pomme préparée. L'appareil est calibré en utilisant de l'eau distillée, et des solutions acido-basiques fournies par le fabricant.

##### **II.3.1.2. Détermination de la teneur en composés solubles :**

La concentration en composés solubles (sucres, sels, acides organiques, pectines solubilisées...) est mesurée par réfractométrie. L'angle de réfraction de la lumière est lié à la concentration en éléments solubles du liquide qu'elle traverse. L'indice de réfraction est directement converti en équivalent saccharose dans le milieu. La valeur lue s'exprime en degré Brix (g de saccharose par 100 g de solution). Les sucres étant largement majoritaires parmi les composés solubles, le degré Brix reflète donc avec un léger excès la teneur en sucres solubles totaux, (Carolina, 2012).

Environ 1 g de purée est placé sur la surface du prisme du réfractomètre. La lecture de la valeur indiquée se fait après avoir préalablement fermé et orienté le refractomètre vers la lumière. Pour éviter des erreurs de lecture l'appareil de mesure est fréquemment nettoyé avec de l'eau distillée et séché.

##### **II.3.1.3. Détermination du taux d'humidité et d'extrait sec :**

L'humidité d'une matière englobe toutes les substances qui s'évaporent par chauffage en entraînant une perte de poids de l'échantillon. Par conséquent, la notion d'humidité concerne, outre l'eau, d'autres pertes de masses comme les solvants organiques (alcools, graisses, huiles, composants aromatiques) évaporés.

Par différence, la détermination du taux d'humidité exprimée en pourcentage permet de connaître l'extrait sec du produit.

3g de purée de pomme sont déposés dans une coupelle en aluminium puis placés dans un dessiccateur qui indique la fin de séchage. La lecture des deux valeurs se fait directement sur l'appareil.

#### **II.3.1.4. Détermination de la teneur en vitamine C :**

Le dosage se fait suivant la méthode iodométrique décrite par le manuel de contrôle de qualité du laboratoire de NCA basée sur la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide.

10g de purée de pomme sont introduite dans un bécher auxquels sont ajoutés 100ml d'eau distillée. 50ml de la suspension obtenue sont utilisées comme échantillon témoin alors que les 50ml restants sont additionnés de 3ml d'acide sulfurique et quelques gouttes d'empois d'amidon (à 0,5%) en guise d'indicateur coloré. Les solutions sont préalablement homogénéisées par un agitateur magnétique puis titrées par une solution d'iode (I<sub>2</sub>). La teneur en vitamine C de la solution est donnée par la relation utilisée au laboratoire :

$$[\text{Vit c}] = V \times 20 \times 4,4$$

Où :

V<sub>iode</sub> : Volume en ml de la solution d'iode utilisé lors du titrage.

(20 x 4,4) : coefficient multiplicatif d'acide ascorbique.

#### **II.3.1.5. Détermination de la teneur de l'acidité : IFU. No.3 (rev.2017)**

Cette mesure est réalisée par neutralisation de l'acidité libre totale avec une solution de soude. L'évolution de la neutralisation est suivie à l'aide d'un pH mètre et d'un réactif coloré (phénol phtaléine). Le dosage est obtenue lorsque le pH atteint 8,2 (point de virage du phénol phtaléine de l'incolore au rose orangé).

Dans un bécher, on introduit 10 gr de purée de pomme, additionnée à 100ml d'eau distillée et 1ml de solution de phénolphtaléine. L'électrode du pH-mètre est plongée dans la solution homogénéisée. Des gouttes sont ajoutées jusqu'à l'obtention d'un virage de couleur (rose orangé).

Le résultat est exprimé en g/kg d'échantillon. La formule utilisée est :

$$\% \text{ acide en g/kg} = \frac{V.N.6.4}{P}$$

Où :

$V_{\text{NaOH}}$  : Volume en ml, de la solution de soude utilisée pour le titrage.

N : Normalité de la solution de soude (0.325).

6,4 : Coefficient relatif à l'acide malique.

P : Poids de l'échantillon en gramme.

### II.3.2. Evaluation du Brunissement enzymatique :

Le BE de la purée de pomme est évalué, avec et sans blanchiment et après addition des inhibiteurs. De faibles doses de réactifs sont utilisées de manière à évaluer l'impact sur la qualité de l'aliment pour protéger la santé du consommateur tout en respectant les normes appliquées dans ce domaine et réduire le coût économique du produit fini.

La méthode utilisée pour l'évaluation du BE est décrite par Macheix et al, (1990). Elle est basée sur l'absorbance à 400nm du surnageant de la suspension de purée soumise à centrifugation, à l'aide d'un spectrophotomètre, après dépigmentation par l'éther de pétrole.

Le protocole de mesure est le suivant :

10 g de purée de pomme sont additionnées de 10ml de solution tampon (phosphate-citrate) à pH=4,5 et 3.5ml d'eau distillé. La préparation est préalablement homogénéisée pendant 1h. Elle est ensuite centrifugée à 3500 tr/min pendant 12 min. Le surnageant récupéré est noté S1.

Le culot restant est alors additionné de 0,5ml d'acide formique et 0,5ml de méthanol.

Une seconde centrifugation est effectuée à 3500 tr/min pendant 12 min ; le nouveau surnageant récupéré est noté S2.

Les surnageants S1 et S2 sont alors mélangés pour être dépigmentés par l'ajout de 1ml d'éther de pétrole, puis laissés réagir pendant 5min.

La solution est enfin soumise à la détermination de l'absorbance à 400nm sur un spectrophotomètre.

## Résultats et discussion

L'étude expérimentale vise à déterminer l'influence d'une opération thermique de blanchiment ainsi que celle de quatre additifs chimiques employés seuls ou en association (binaire, ternaire, quaternaire) sur les principales caractéristiques physicochimiques de la purée de pomme obtenue selon le mode opératoire décrit précédemment.

L'évolution des paramètres caractéristiques de la purée est évaluée sur une période allant de 15 à 60 minutes de réaction.

Le brunissement enzymatique est apprécié par la mesure de la densité optique (absorbance) de la purée à une longueur d'onde de (400 nm).

### I. Caractérisation de la purée de pomme.

Le premier test consiste à caractériser la purée de pomme; les résultats obtenus seront considérés comme résultats témoins.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant (7) :

Paramètres	Unités	Valeurs
Acidité	%	0,10
Vitamine C	mg/kg	89,2
Humidité	%	85,5
Extrait sec	%	14,5
Indice de Brix	-	14,1
Absorbance	-	1,176
pH	-	4,6

**Tableau (7) :** Résultats des analyses physico-chimiques de l'échantillon témoin de la purée de pomme.

Les résultats montrent un taux élevé de la valeur du Brix, qui caractérise les fruits sucrés. L'absorbance initiale étant de 1,176, cette valeur servira à mesurer l'évolution de la couleur des échantillons soumis aux tests.

### II. Influence du blanchiment :

#### II.1. Caractéristiques physicochimiques :

Des échantillons de pomme sont broyés puis soumis au traitement de blanchiment, avant l'obtention d'une purée pour évaluer l'évolution de ces caractéristiques

physicochimique, le temps de blanchiment étant de 15 min à une température de 80°C. Les résultats sont représentés dans le tableau (8).

Paramètres	Unités	Sans blanchiment	Avec blanchiment
Acidité	%	0.10	0.12
Vitamine C	mg/kg	88,6	44.3
Humidité	%	78.15	80.58
Extrait sec	%	21.85	19.42
Indice de Brix	-	19	17
Absorbance	-	1.176	0.600
pH	-	4,62	4,76

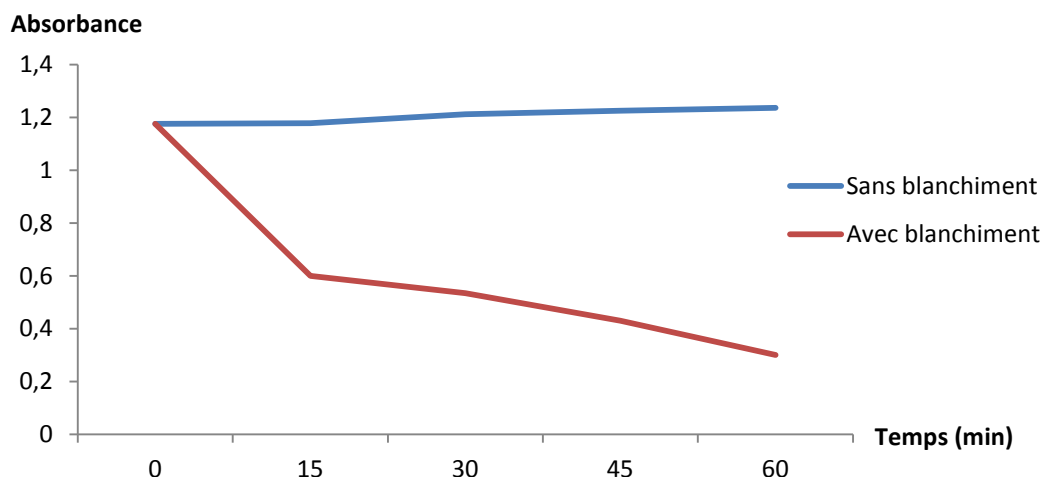
**Tableau (8) :** Résultats des analyses physico-chimique de la purée de pomme avec et sans blanchiment.

L'exposition de la purée à une cuisson à la vapeur a pour effet de dégrader la vitamine C qui est thermosensible (Frédéric, 2012), jusqu'à 50%, alors qu'elle n'affecte pas clairement les autres paramètres physicochimiques donnés au tableau (8) dont les faibles variations peuvent être expliquées par les incertitudes liées aux conditions expérimentales générales.

## II.2. Evaluation du pH et d'absorbance :

		Témoins	15 min	30 min	45 min	60 min
Sans blanchiment	<b>pH</b>	4,60	4,62	4,66	4,79	4,70
	<b>Absorbance</b>	1,176	1,178	1,212	1,226	1,237
Avec blanchiment	<b>pH</b>	4,60	4,76	4,78	4,88	4,85
	<b>Absorbance</b>	1,176	0,600	0,535	0,430	0,301

**Tableau (9) :** Effet du blanchiment sur le pH et l'absorbance de la purée de pomme.



**Figure (17) :** Effet du blanchiment sur l'absorbance de la purée de pomme.

Le tableau (9) indique que le blanchiment augmente légèrement le pH d'environ 0,1 unité logarithmique qui augmente également avec la durée d'exposition aux conditions atmosphérique d'environ 0,4 unités après 60 minutes. Le taux d'humidité reste autour de 80%.

Le brunissement enzymatique, estimé par la mesure de la densité optique (absorbance à 400nm), diminue avec le blanchiment, figure (17). La réduction peut atteindre 75% environ après 60 min d'exposition du produit. L'absorbance initiale de référence de la purée est égale à 1,176 tandis que l'absorbance finale est atteinte à 0,301.

Le traitement thermique provoque la rupture des membranes cellulaires qui libèrent les enzymes (PPO) qui sont ensuite détruites par l'effet de la chaleur, (Renard, 2014). La chaleur diminue également la teneur en oxygène du produit ce qui rend difficile l'oxydation des polyphénols en quinones par les enzymes.

### III. Effets des agents de conservation :

Les additifs de conservation employés sont ceux habituellement utilisés dans l'industrie agroalimentaire. Ils sont homologués et référencés dans le Codex alimentaire. Il s'agit principalement de : l'acide ascorbique, le chlorure de calcium, le métabisulfite de sodium et de l'acide citrique.

Leur rôle est de stabiliser les denrées alimentaires du point de vue de leurs caractéristiques physicochimiques, microbiologiques et organoleptiques. Le principal objectif recherché dans cette étude est la conservation de la couleur des purées obtenues en empêchant le phénomène du brunissement enzymatique de se développer. Les additifs employés sont connus pour leur pouvoir acidifiant qui permet de prévenir tout développement d'agents microbiens ou

enzymatique susceptible d'altérer la qualité du produit conservé. Les essais avec les réactifs chimiques ont été effectués sur les purées non blanchies.

### III.1. Effets des additifs seuls :

#### III.1.1. Cas de l'acide ascorbique :

Une des solutions préconisée pour prévenir le brunissement enzymatique est l'ajout d'antioxydants.

##### III.1.1.1. Caractéristiques physico-chimiques :

Des doses variables sont ajoutées à l'échantillon de 100g de purée et une analyse est effectuée. Les résultats sont illustrés dans le tableau (10).

	Unités	33	82,5	165	330
Acidité	%	0.1	0.11	0.12	0.14
Vitamine C	mg/kg	120	160	240	360
Humidité	%	88.3	88.3	88.2	88.2
Extrait sec	%	15	15.1	15.1	15.2
Indice de Brix	-	14	14,0	14,1	14
Absorbance	-	0,840	0,820	0,750	0,600
pH	-	3,58	3,56	3,55	3,53

**Tableau (10) :** Résultats des analyses physico-chimique de la purée de pomme avec addition d'acide ascorbique (en mg d'AA/kg de purée).

##### III.1.1.2. Evolution du pH :

	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min
33	3.91	4.05	4.13	4.14	4.13
82,5	3.88	3.85	3.76	3.87	3.96
165	3.75	3.8	3.72	3.76	3.85
330	3.79	3.77	3.53	3.67	3.61

**Tableau (11):** Effet de l'acide ascorbique (en mg d'AA/kg de purée) sur le pH de la purée de pomme.

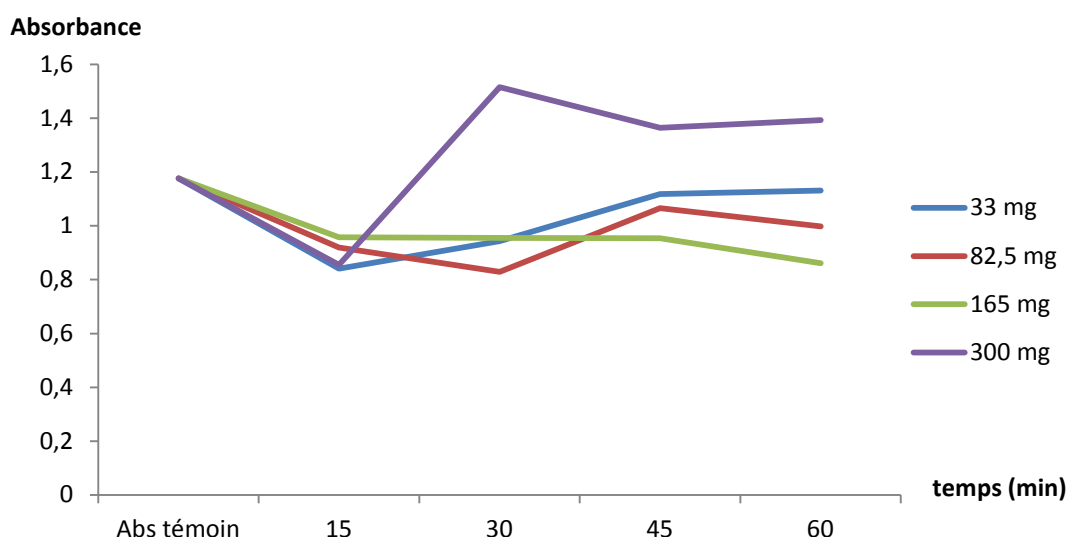
Les tableaux (10), (11), montrent qu'une addition de 33mg à 330mg/kg d'acide ascorbique augmente considérablement la teneur en vitamine C et diminue sensiblement le pH du produit d'environ 0,5 unités après 60 minutes de conservation dans les conditions

atmosphériques, dues principalement à la dégradation de cet acide. Globalement, le pH demeure inférieur à 4, valeur favorable à la destruction des enzymes responsables de brunissement.

### III.1.1.3. Evaluation de l'absorbance :

	Abs témoin	15 min	30 min	45 min	60 min
<b>33</b>	1,176	0,841	0,943	1,118	1,131
<b>82,5</b>	1,176	0,92	0,829	1,066	0,998
<b>165</b>	1,176	0,957	0,955	0,954	0,861
<b>300</b>	1,176	0,855	1,515	1,364	1,393

**Tableau (12)** : Résultats de l'absorbance après l'addition d'acide ascorbique (en mg d'AA/kg de purée).



**Figure (18)** : Effet de l'acide ascorbique sur l'absorbance de la purée de pomme.

Le tableau (12) indique que l'addition d'acide ascorbique permet de stabiliser, le brunissement enzymatique car la valeur de l'absorbance observée est pratiquement constante et inférieure à 1,0 pour des doses de réactifs allant jusqu'à 165mg/kg. Au-delà de cette valeur qui réduit le brunissement de 27% environ après 60 minutes et à pH 3,85, la densité optique augmente en raison de l'accumulation du réactif dans le produit traité.

Cependant, le brunissement enzymatique se produit rapidement dès l'exposition à l'oxygène, et à la consommation totale du réactif. (Cheriot, 2008).

### III.1.2. Cas de chlorure de calcium :

#### III.1.2.1. Caractéristiques physico-chimiques :

	Unités	0.875	1.25	2	2.5
Acidité	%	0.093	0.098	0.09	0.10
Vitamine C (mg/kg)	mg/kg	17	44	64	64
Humidité	%	86.7	86.3	86.7	86.6
Extrait sec	%	13.3	13.6	13.3	13.4
Indice de Brix	-	13	13.1	13.2	13,1
Absorbance	-	1.164	0.714	0.683	0.438
pH	-	4.05	3.87	3.61	3.75

**Tableau (13) :** Résultats des analyses physico-chimiques de la purée de pomme avec l'addition de chlorure de calcium(en g/kg de purée).

#### III.1.2.2. Evolution du pH :

	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min
<b>0,875</b>	4.05	4.02	4	4.05	4.03
<b>1,25</b>	3.87	3.9	3.85	3.83	3.86
<b>2</b>	3.61	3.52	3.44	3.51	3.54
<b>2,5</b>	3.75	3.51	3.48	3.53	3.51

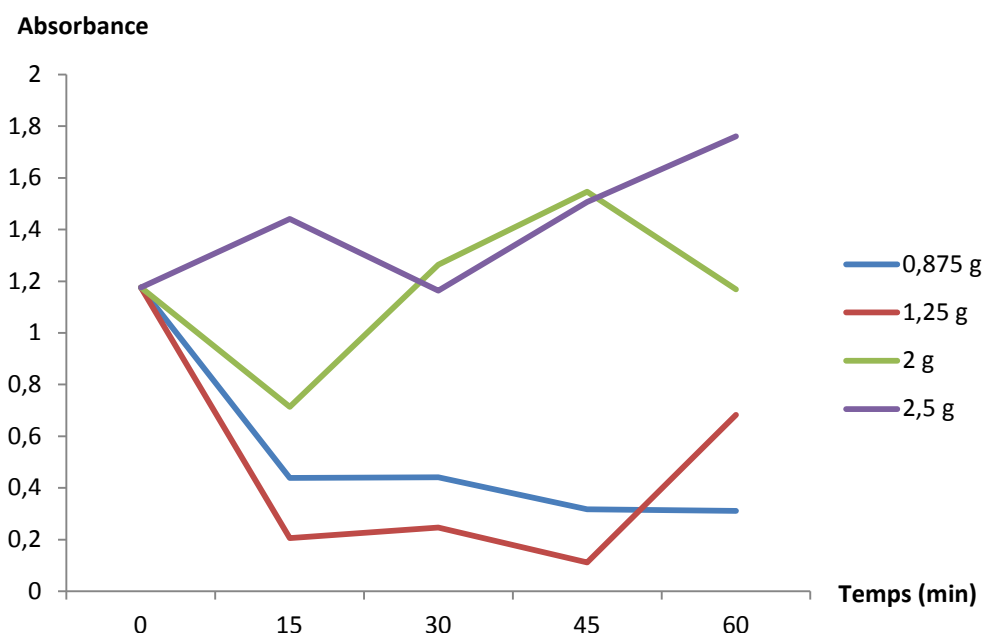
**Tableau (14) :** Effet du chlorure de calcium(en g/kg de purée) sur le pH de la purée de pomme.

L'addition de ce sel, à caractère acide, ne semble pas modifier les paramètres donnés au tableau(13) ; les variations enregistrées sont faibles et irrégulières. Le  $\text{CaCl}_2$  exerce cependant une action dépressive sur le pH qu'il réduit de 0,22 à 0,5 unités selon la dose employée, tableau(14). La structure physique de la purée de pomme est plus gélifiée avec l'ajout des doses de chlorure de calcium. Ce sel ( $\text{CaCl}_2$ ) a la capacité de maintenir la fermeté et cela par son interaction avec les pectines de la lamelle moyenne des parois cellulaires pour former un réseau de polymères. Ce réseau augmente la résistance mécanique des cellules et améliore ainsi la fermeté. (Muriel ,2008).

III.1.2.3. Evolution de l'absorbance :

	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min
<b>0,875</b>	1,176	0,438	0,441	0,317	0,311
<b>1,25</b>	1,176	0,206	0,246	0,111	0,683
<b>2</b>	1,176	0,714	1,264	1,546	1,169
<b>2,5</b>	1,176	1,441	1,164	1,507	1,761

**Tableau (15):** Resultats de l'absorbance avec l'addition de chlorure de calcium(en g/kg de purée).



**Figure (19):** Effet du CaCl<sub>2</sub> sur l'absorbance de la purée de pomme.

Le tableau (15), figure (19) montrent que le brunissement enzymatique exprimé par l'absorbance augmente avec la dose de CaCl<sub>2</sub> au-delà de 0,875 g/kg qui apparaît comme la dose optimale qui abaisse le brunissement d'environ 73% après 60 minutes d'exposition à pH 4,03. Au-delà de cette dose, l'absorbance semble augmenter significativement. Les halogénures appartiennent aux inhibiteurs de type I. Le plus couramment utilisé est l'anion chlorure, souvent ajouté sous forme de sel de chlorure de calcium qui interagit avec le cuivre du site actif de la PPO en formant un complexe qui permet d'inhiber le phénomène du BE. (Colin-Henrion, 2008).

### III.1.3. Cas de métabisulfite de sodium :

#### III.1.3.1. Paramètres physico-chimiques :

	Unités	0.099	0.165	0.33	0.66	1.155	1.65
Acidité	%	0.12	0.15	0.40	0.43	0.52	0,78
Vitamine C	mg/kg	52	65	68	64	60	68
Humidité	%	85.5	85.8	86.0	86,5	86.9	86.3
Extrait sec	%	14.5	14.2	14.09	13.50	13.07	13.65
Brix	-	14	14	14	13	13	13
Absorbance	-	1.39	1.012	1.468	1.883	1.609	1.556
pH	-	4.61	4.56	3.98	3.78	3.85	3.85

**Tableau (16) :** Résultats des analyses physico-chimiques de la purée de pomme avec l'addition du métabisulfite de sodium (en g/kg de purée).

Le tableau (16) montre que l'addition de métabisulfite de sodium à des doses allant jusqu'à 1,65g/kg augmente l'acidité du produit de 0,6%. La variation irrégulière des autres paramètres ne peut être expliquée que par les incertitudes expérimentales et les essais réalisés nécessitent d'être reproduit plusieurs fois pour être correctement interprétés.

#### III.1.3.2. Evolution du pH :

	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min
<b>0,009</b>	4.61	4.62	4.65	4.74	4.69
<b>0,165</b>	4.56	4.6	4.62	4.65	4.8
<b>0,33</b>	3.98	4	3.98	3.96	4.02
<b>0,66</b>	3.78	3.89	3.87	3.91	3.89
<b>1,155</b>	3.85	3.97	3.92	3.97	3.95
<b>1,65</b>	3.85	3.87	3.88	3.86	3.86

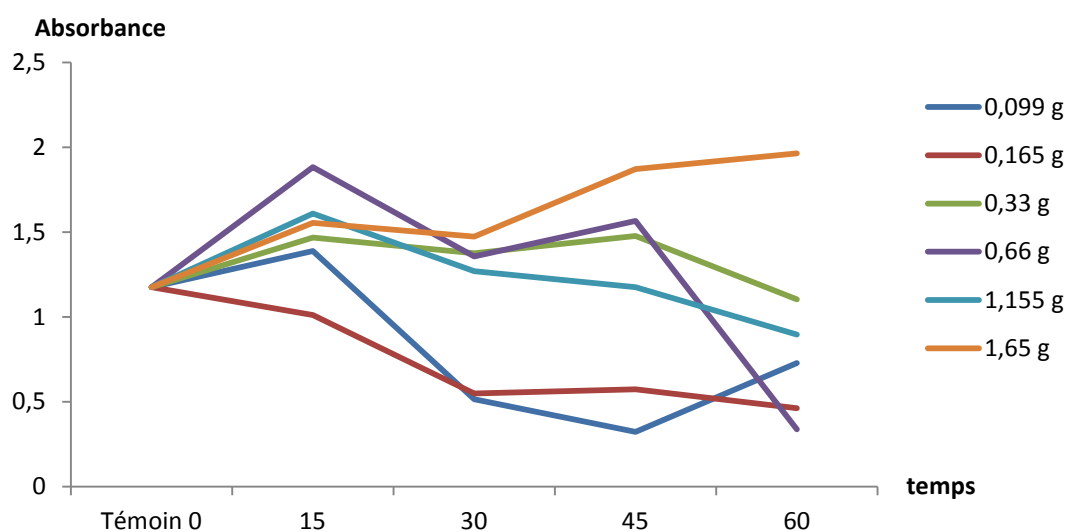
**Tableau (17) :** Effet du métabisulfite de sodium (en g/kg de purée) sur le pH de la purée de pomme.

Le tableau (17) indique que le pH de la purée traitée diminue lorsque la dose de réactif augmente. Le métabisulfite de sodium est un réactif acide. Un abaissement de pH de 4,61 à 3,85 est obtenu avec une dose de 1,65g/kg.

**III.1.3.3. Evaluation de l'absorbance :**

	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min
<b>0,099</b>	1.176	1,39	0,515	0,323	0,728
<b>0,165</b>	1.176	1,012	0,549	0,574	0,462
<b>0,33</b>	1.176	1,468	1,376	1,477	1,105
<b>0,66</b>	1.176	1,883	1,357	1,566	0,338
<b>1,155</b>	1.176	1,609	1,271	1,175	0,897
<b>1,65</b>	1.176	1,556	1,474	1,872	1,965

**Tableau (18) :** Effet du métabisulfite de sodium (en g/kg de purée) sur le BE de la purée de pomme.



**Figure (20) :** Effet du métabisulfite de sodium sur l'absorbance de la purée de pomme.

Le tableau (18) montre que l'addition de 0,165g/kg de métabisulfite de sodium suffit pour abaisser le brunissement enzymatique de 60% à pH 4,8. Au-delà de cette dose, la valeur de l'absorbance augmente considérablement ; ceci peut être dû à la suspension de la pectine, observée au cours de la manipulation.

**III.2. Effets des additifs combinés :**

**III.2.1. Effet d'une combinaison binaire de réactifs:**

Deux combinaisons binaires de réactifs ont été étudiées :

Combinaison (1) : Acide ascorbique (0.825g) + Chlorure de calcium (1.25g).

Combinaison (2) : Acide citrique (0.25 g) + Métabisulfite de sodium (0.165g).

III.2.1.1. Caractéristiques physico chimiques :

	Unités	Combinaison 1	Combinaison 2
Acidité	%	0.24	0.29
Vitamine C	mg/Kg	660	299.2
Humidité	%	81.28	80.46
Extrait sec	%	18.72	19.54
Indice de Brix	-	17	17.5
Absorbance	-	1,295	1,211
pH	-	3,33	3,80

Tableau (19): Résultats des analyses physicochimiques de la purée de pomme avec l'addition des réactifs combinés (1, 2).

III.2.1.2. Evolution du pH et de l'absorbance :

		Témoins	15 min	30 min	45 min	60 min
Combinaison 1	pH	4,60	3,33	3,40	3,39	3,27
	Absorbance	1,176	1,295	1,836	1,767	1,747
Combinaison 2	pH	4,60	3,80	3,88	3,89	3,87
	Absorbance	1,176	1,211	1,124	0,916	0,798

Tableau (20) : Effet des combinaisons (1), (2), sur le pH et l'absorbance de la purée de pomme.

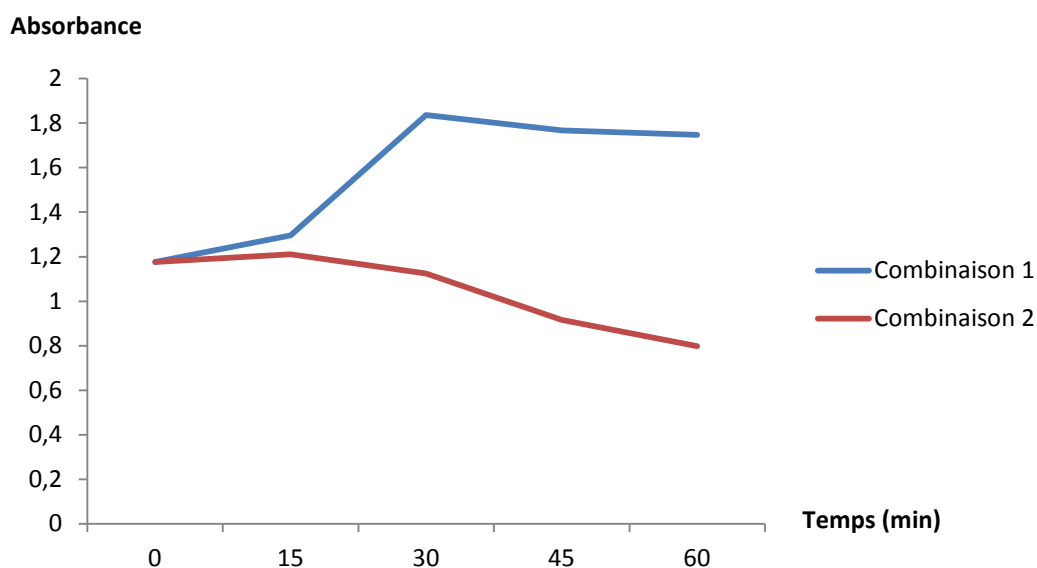


Figure (21): Effet des combinaisons (1,2) sur l'absorbance de la purée de pomme.

Les tableaux (19) et (20), montrent que l'addition d'une association binaire de réactifs se traduit par l'augmentation de la teneur en vitamine c et une réduction du pH accentuées dans le cas de l'association 1, composée d'acide ascorbique et de chlorure de calcium. Dans les deux cas d'association, le pH obtenu est inférieur à 4 alors que l'absorbance est légèrement plus réduite par l'addition de l'association 2 composée de métabisulfite de sodium et d'acide citrique, Figure (21).

La combinaison 2 permet ainsi de réduire l'absorbance d'environ 32% après 60 minutes de conservation à pH 3,87.

### III.2.2.Effet d'une combinaison ternaire de réactifs:

Cet essai est réalisé avec trois réactifs associés en combinaisons ternaires selon la matrice suivante :

	<b>C 3</b>	<b>C 4</b>	<b>C 5</b>
<b>Acide ascorbique (mg/kg)</b>	33	165	165
<b>Chlorure de calcium (g/kg)</b>	0,25	0,875	0,25
<b>Métabisulfite de sodium (g/kg)</b>	0,165	0,165	0,165

**Tableau (21) :** Schéma des Combinaisons ternaires (3, 4, 5).

Le choix des doses de réactifs est déduit des essais précédents qui ont permis de relever des doses considérées comme optimale.

Les résultats obtenus et consignés dans le tableau (22) montre que la combinaison avec une teneur en acide ascorbique élevée est celle qui augmente le plus la teneur en vitamine c du produit traité et également son acidité et le taux d'humidité.

Les trois combinaisons de réactifs font baisser le pH à des valeurs sensiblement constantes et inférieures à 4, tableau (23).

L'effet de chaque association de réactifs sur l'absorbance donné par le tableau (23), figure (22) montrent que la combinaison 5 est plus dosée en acide ascorbique et en métabisulfite de sodium qui exerce la plus forte réduction du brunissement enzymatique soit environ 50% après 60 minutes de conservation à pH 3,46.

III.2.2.1. Caractéristiques physico chimiques :

	Unités	Combinaison 3	Combinaison 4	Combinaison 5
Acidité	%	0.26	0.46	0.56
Vitamine C	mg/Kg	616	1293.6	1513.6
Humidité	%	78.57	79.32	87.13
Extrait sec	%	21.43	30.68	12.87
Brix	-	17	20	18
Absorbance	-	1,508	1,231	0,461
pH	-	3,91	3,36	3,42

Tableau (22): Résultats des analyses physicochimiques de la purée de pomme avec l'addition des réactifs combinés (3, 4, 5).

III.2.2.2. Evolution du pH et de l'absorbance :

		Témoins	15 min	30 min	45 min	60 min
Combinaison 3	pH	4,60	3,91	3,88	3,95	3,91
	Absorbance	1,176	1,508	0,598	1,36	1,433
Combinaison 4	pH	4,60	3,36	3,31	3,35	3,29
	Absorbance	1,176	1,231	1,045	0,761	0,654
Combinaison 5	pH	4,60	3,42	3,46	3,45	3,46
	Absorbance	1,176	0,461	0,14	0,195	0,589

Tableau (23): Effets des combinaisons (3, 4, 5) sur le pH et l'absorbance de la purée de pomme.

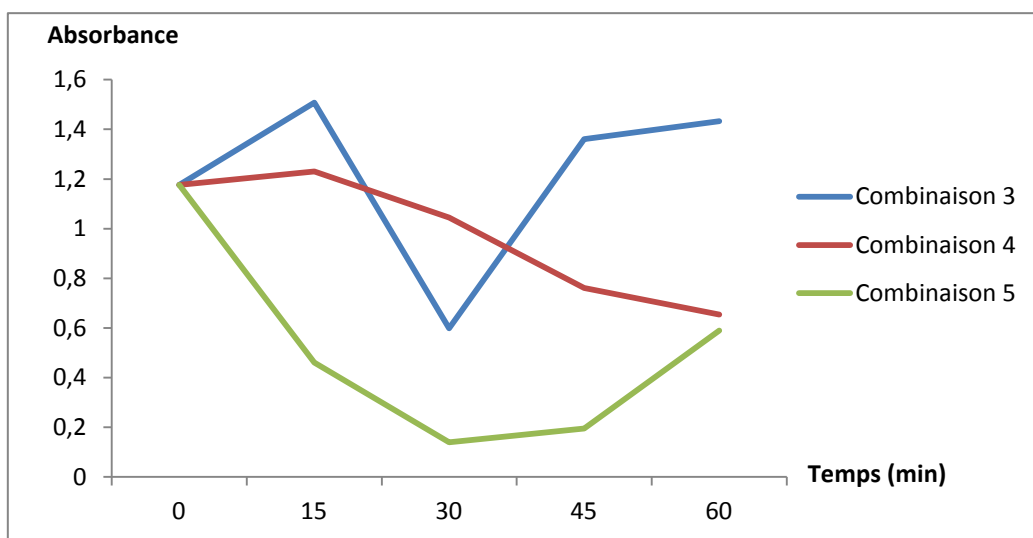


Figure (22): Effets des combinaison (3 ,4 ,5) sur l'absorbance de la purée de pomme.

### III.2.3.Effet d'une combinaison quaternaire de réactifs:

Le dernier essai consiste à opérer une addition simultanée de quatre réactifs associés à des doses variables selon la matrice suivante :

	C6	C7	C8	C8
<b>Acide ascorbique (mg/kg)</b>	1.65	1.65	1.65	0.825
<b>Chlorure de calcium (g/kg)</b>	0.875	0.25	0.25	0.25
<b>Métabisulfite de sodium (g/kg)</b>	0.165	0.165	0.33	0.33
<b>Acide citrique (g/kg)</b>	0.5	0.25	0.25	0.25

**Tableau (24):** Schéma des combinaisons quaternaires (6, 7, 8, 9).

Des doses inférieures ou égales aux doses optimales des réactifs seuls ont été volontairement choisies.

Les résultats obtenus sont donnés aux tableaux (25) et (26).

Le tableau (25) montre une augmentation anormale de la vitamine c qui ne peut pas être induite par la seule présence d'acide ascorbique dans toutes les associations puisque la dose de ce réactif est constante à l'exception de la combinaison(9).

Il apparaît également que l'acidité du produit augmente ce qui semble normal étant donné les fortes doses de réactif, tous acides, qui constituent la combinaison (6), dont le pH mesuré est le plus bas mais qui demeure constant jusqu'à 60 minutes de conservation.

L'absorbance des échantillons traités demeure stable pour l'ensemble des combinaisons.

Elle est en moyenne égale à 0,5 et correspond à un abattement d'environ 57% après 60 minutes de conservation à pH de 3,5.

#### III.2.3.1.Caractéristiques physico chimiques :

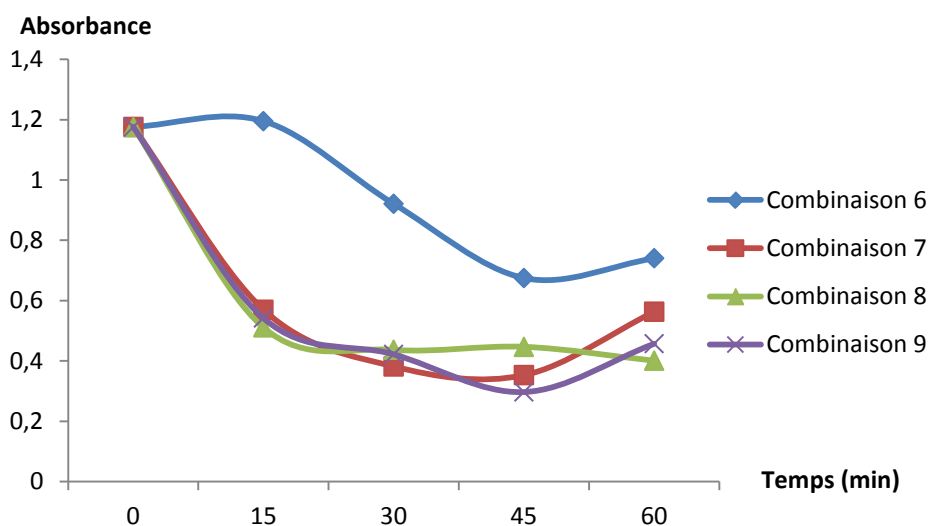
	Unités	Combinaison 6	Combinaison 7	Combinaison 8	Combinaison9
<b>Acidité</b>	%	0.67	0.57	0.42	0.36
<b>Vitamine C</b>	mg/Kg	1100	1012	1487	704
<b>Humidité</b>	%	79.17	84.29	79.99	79.62
<b>Extrait sec</b>	%	20.83	15.71	20.01	20.38
<b>Brix</b>	-	19	17	18	18
<b>Absorbance</b>	-	1,195	0,57	0,511	0,542
<b>pH</b>	-	2,90	3,26	3,45	3,51

**Tableau (25) :** Résultats des analyses physicochimiques de la purée de pomme avec l'addition des réactifs combinés (6, 7, 8, 9).

III.2.3.2. Evolution du pH et de l'absorbance :

		Témoins	15 min	30 min	45 min	60 min
Combinaison 6	pH	4,60	2,90	2,94	2,95	2,90
	Absorbance	1,176	1,195	0,921	0,675	0,74
Combinaison 7	pH	4,60	3,26	3,24	3,30	3,25
	Absorbance	1,176	0,57	0,382	0,353	0,563
Combinaison 8	pH	4,60	3,45	3,36	3,33	3,36
	Absorbance	1,176	0,511	0,437	0,447	0,401
Combinaison 9	pH	4,60	3,51	3,44	3,49	3,45
	Absorbance	1,176	0,542	0,422	0,297	0,457

Tableau (26): Effet des combinaisons (6, 7 8, 9) sur le pH et l'absorbance de la purée de pomme.



Figure(23): Effet de combinaisons (6, 7, 8, 9) sur l'absorbance de la purée de pomme.

## Conclusion

L'étude proposée par la nouvelle conserverie Algérienne de Rouïba est réalisée dans son laboratoire de mars à mai 2017 dans le cadre d'une convention avec l'université Mouloud Mammeri.

Il s'agit d'une première contribution au projet de transformation et de conservation de la pomme produite en Algérie, en purée de pomme devant servir à la fabrication de jus, de concentrés, de compotes et à des ingrédients divers dans le domaine alimentaire (yaourt) et cosmétiques (parfums).

Les essais réalisés, à caractère pédagogique et scientifique, visent à l'immersion de l'étudiant dans le monde industriel et à l'initiation aux techniques de recherches appliquées dans le secteur de l'agro-alimentaire.

Les premiers résultats obtenus lors des essais de réduction du phénomène de brunissement enzymatique qui altère la qualité de la purée de pomme, indiquent que le procédé thermique de blanchiment à la vapeur d'eau ainsi que l'addition de nombreux additifs de conservation homologués exercent une influence positive mais variable sur la réduction du brunissement (exprimé par l'absorbance à 400nm).

En effet, si l'on considère une valeur d'absorbance du produit initiale égale à environ 1.176, alors on peut conclure, sous réserve d'une reproduction ultérieure des résultats obtenus, à ce qui suit :

- 1) Le blanchiment seul permet de réduire le brunissement enzymatique d'environ 75% après 60 minutes d'exposition du produit traité à pH = 4.8.

Le blanchiment qui a pour effet secondaire la destruction de la vitamine C d'environ 50% n'exerce pas d'influence significative sur les caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques du produit traité.

- 2) L'addition d'agents de conservation employés seuls exerce des effets variables sur le produit traité selon la nature du produit, la dose employée et le pH.

Ainsi :

- L'utilisation de l'acide ascorbique seul permet de stabiliser et même de réduire le brunissement de 27% lorsqu'il est employé à une dose de 1.65mg/kg à pH 3.85 et

après un temps de conservation de 60 minutes. L'acide ascorbique augmente la teneur en vitamine C du produit.

- L'utilisation du chlorure de calcium seul acidifie le milieu. Une dose de 0,875g/Kg semble être la valeur optimale qui permet de stabiliser voir même de réduire le brunissement d'environ 73% à pH 4.03 après 60 minutes de conservation.

Les effets sur les autres paramètres physico-chimiques sont faibles et irréguliers.

- L'utilisation du métabisulfite de sodium seul permet de réduire le pH du milieu. la dose optimale enregistrée correspond à 1.65g/kg de réactif pour stabiliser et réduire le brunissement de 60% à pH 4.8 après 60 minutes de conservation. Au delà de cette dose, le brunissement enzymatique s'accroît.

3) L'addition des agents de conservation en association binaires permet de stabiliser et même de réduire le brunissement enzymatique de 32% après 60 minutes de conservation à pH 3.87. C'est notamment le cas lorsqu'on associe le métabisulfite de sodium et l'acide citrique.

4) L'addition d'agents chimiques sous forme de combinaison ternaires et à doses variables permet également de stabiliser et même d'abaisser jusqu'à 50% après 60 minutes de conservation à pH 3.46 le brunissement enzymatique ; c'est notamment le cas de l'association de l'acide ascorbique avec le chlorure de calcium et le métabisulfite de sodium.

5) L'addition de conservateurs chimiques sous forme de mélanges quaternaires réduit le brunissement d'environ 57% pour le maintenir à une valeur stable d'environ 0.5 (exprimé en absorbance) après une durée de conservation de 60minutes à pH 3.5.

Dans tous les cas, l'utilisation de l'ensemble des réactifs étudiés augmente l'acidité, et réduit le pH. L'emploi de l'acide ascorbique augmente la teneur en vitamine C du produit traité.

En définitive, les résultats obtenus ne sont que les premiers d'une série d'essais qui exigent d'être reproduits ultérieurement en vue de valider les interprétations qui font l'objet de ce présent travail, dont les limites sont imposées par l'insuffisance du temps imparti à ce travail, le coût élevé des fruits utilisés supportés par les étudiants et les réactifs employés, leurs indisponibilité mais également l'imprécision de mesure des appareils.

## Références bibliographiques

**Achat,S.** Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques, Université A.Mira-Bejaia, thèse doctorat en sciences alimentaires, **2014**.

**Aka,J.** Étude de la thermosensibilité de la polyphénoloxydase de pomme seule ou en présence des constituants de la purée de pomme et de l'acide ascorbique, Université Paris, mémoire d'ingénieur en Biochimie Et Technologie Des Industries Agro-Alimentaires, **2011**.

**Akroum,S.** Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels, Université Mentouri de Constantine, thèse doctorat en physio-toxicologique, **2011**.

**Amiot, M.J. Tacchini M., Aubert S., Nicolas, J.** Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. J. Food Sci., 57, 958–962, **1992**.

**Bauernfeind J. C; Pinkert D. M.** Food processing with added ascorbic acid. Adv. Food Res. 18: 219-315, **1970**.

**Bellebcir,L.** Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales, Université Mentouri De Constantine, mémoire de magister en biodiversité et production végétale, **2008**.

**Bessas,A.** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien, Université Djilali Liabs Sidi Bel Abbes, Ingénieur d'état en contrôle de qualité et analyses, **2008**.

**Billot, J.** Le brunissement enzymatique. IN : technologie des légumes (Bourgeois C.L.M et Trilly Y). Ed. Tec et doc. Lavoisier. Paris: 225-246, **1999**.

**Boubekri,C.** Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de(*Solanum melongena*) par des techniques électrochimiques, Université Mohamed khider-Biskra, thèse de doctorat en chimie, **2014**.

**Carolina,L.** Texture de la purée de pomme : influence de la structure sur les propriétés rhéologiques et la perception sensorielle - effet du traitement mécanique, Institut des sciences et technologiques Paris, thèse doctorat en sciences et procédés des aliments, **2012**.

**Chang-lee, Y.** Browning, reaction, enzymatic . IN: Encyclopedia of food science (FRANCIS T.J) Ed. Urley.IFT: 208-216, **2000**.

**Cheriot S. C. Billaud, M.-N. Maillard, J. Nicolas.** Inhibition of polyphenoloxidase activity by mixtures of heated cysteine derivatives with carbonyl compounds. Molecular Nutrition and Food Research, 51, 395-403, **2007**.

**Cheriot,S.** Rôle des produits de la réaction de Maillard dans l'inhibition de l'oxydation enzymatique des phénols et des lipides, Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement, thèse doctorat en sciences de l'aliment, **2008**.

**Colin-Henrion, M.** De la pomme à la pomme transformée: Impact du procédé sur deux composés d'intérêt nutritionnel. Caractérisation physique et sensorielle des produits transformés. Ecole Supérieure d'Agriculture. Angers Thèse de Doctorat., **2008**.

**Crouy-chanel, M.** De la pomme au cidre, Université de Nantes, thèse pour diplôme d'état de docteur en pharmacie, **2003**.

**Daas-amiour,S.** Mise en évidence et inhibition du brunissement enzymatique post récolte des dattes Deglet Nour et Ghars, Université de Batna 2, thèse de doctorat en biochimie, **2017**.

**Dehove et al.** Additifs et auxiliaires technologiques, arômes et nouveaux ingrédients. In Lamy Dehove : réglementation des produits, qualité, répression des fraudes. Tome 1. R. A.Dehove . Paris, Lamy SA. 1 : 254-252, **1998**.

**Djioua,T.** Amélioration de la conservation des mangues 4ème gamme par application de traitements thermiques et utilisation d'une conservation sous atmosphère modifiée, Université D'Avignon, thèse de doctorat en sciences agronomiques, **2013**.

**Djioua, T et al.** Prevention of browning and blemish by postharvest treatments and storage conditions for keeping better quality of fresh mushrooms. J. Chin. Soc. Hortic. Sci. 21:274-284, **1975**.

**Fang,T et Chiang,C.** Prevention of browning and blemish by postharvest treatments and storage conditions for keeping better quality of fresh mushrooms. J. Chin. Soc. Hortic. Sci. 21:274-284. **1975**

**Faur, L.** Industrie des corps gras. IN : additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agro-alimentaires, **1992**.

**Fayad et al.** Comparison of  $\alpha$ -cyclodextrin effect on polyphenol oxidation catalyzed by purified polyphenol oxidase from different sources. J. Agric. Food Chem. 45: 2442-2446, **1997**.

**Fennema, O. R.** Activity of enzymes in partially frozen aqueous systems. In Water relations of foods. R. B. Duckworth (Ed.). New York, Academic Press: 397-413, **1975**.

**Fumey,D.** Approche architecturale de la réponse du pommier à la taille : de l'expérimentation à l'élaboration d'un modèle réactif, Centre International d'études supérieures en sciences agronomiques Montpellier Supagro, Thèse de doctorat en Biologie fonctionnelle des plantes.

**Frédéric,J.** Effet de la cuisson des aliments sur les pertes en vitamines, Correspondances en Métabolismes Hormones Diabète et Nutrition - Vol. XVI - nos 5-6, **2012**.

**Gillard,S.** Les dihydrochalcones de la pomme : Extraction, Séparation, et intérêt médical, Université de Strasbourg, Mémoire De Diplôme D'État De Docteur En Pharmacie, **2009**.

**Gouzi,H.** Etude des propriétés de la polyphénoloxydase (EC 1. 14. 18. 1) du champignon de Paris (*Agaricus bisporus* J.E Lange Imbach), Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, thèse doctorat, **2011**.

**Hadj-sahraoui,K.** Filières arboricoles, Realagro, **2014**.

**Harrar,A.** Activités antioxydantes et antimicrobienne d'extraits de (*Rhamnus Alaternus L.*), Université Ferhat Abbas-Sétif, mémoire de magister en Biochimie et physiologie expérimentale, **2012**.

**Haslam, E.** Natural polyphenols (vegetable tannins): Gallic Acid metabolism. Nat. Prod. **1994**.

**Henze R.E.** Inhibition of enzymatic browning of chlorogenic acid solutions with cysteine and glutathione. Science 123: 1174-1175, **1956**.

**Hsu et al.** Evaluation of several methods for estimation of the total activity of potato polyphenol oxidase. J .Food Sci 53: 1743- 1745, **1988**.

**Jeanet,R et al** Science des aliments : V1 : stabilisation biologique et physicochimique. Technique et documentation, Lavoisier, **2006**.

**Kahn, V. ; Andrawis, A.** Inhibition of mushroom tyrosinase by tropolone, **1985**.

**Kebbab,R.** Etude du pouvoir antioxydant des polyphénols issus des margarines d'olives de la variété chamlal : Evaluation de l'activité avant et après déglycosylation, UMMTO, émoire d'ingénieur en biochimie appliquée eyx bio-industries, **2014**.

**Kebe,M.** Incidence de traitements thermiques sur le parenchyme de Pomme (*Malus Domestica*) et diffusion des composés phénoliques, l'Universit'é d'Avignon, thèse doctorat en biochimie, **2014**.

**Kelly, S. H.; Finkle,B. J.** Action of a ring-cleaving oxygenase in preventing oxidative darkening of apple juices.J . Sci. Food agric. 20:629-632, **1969**.

**Macheix,J. Fleuriet,J Billot,A.** Fruit phenolic. In: Le neuvième colloque sur les recherches fruitières : la maitrise de la qualité des fruits frais. Paris, Lavoisier, 4-5-6 décembre, **1990**.

**Madero. ; F. Finne, G.** Properties of phenoloxidase isolated from gulf shrimp. *in* Proceedings of the Seventh Annual Tropical and Subtropical Fisheries Technological Conference of the Americas. New Orleans, LA.: 328-33, **1982**.

**Marques,L., Fleuriet A., Macheix J.J.** Characterization of multiple forms of polyphenoloxidase from apple fruit. Plant Physiol., 33, 193-200, **1995**.

**Martinez, M. Whitaker, M. J. R.** The Biochemistry and Control of Enzymatic Browning. Trends in Food Science and Technology, **1995**.

**Mayer,A.** Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry*, 67(21), 2318-2331. **2006.**

**Mc Evily, A. J.; Iyengar R., Otwell W. S.** Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 32, 253-273, **1992.**

**Meunier, J .C.** Enzymologie et mécanismes d'altération des végétaux. IN : la conserve appertisée. Aspects scientifiques, techniques et économiques (LAROUSSE J), **1991.**

**Muanda,F.** Identification de polyphénols, Evaluation de leur activité antioxydante et Etude de leurs propriétés biologiques, l'Université Paul Verlaine-Metz, thèse de doctorat en chimie organique, **2010.**

**Nkhili,E.** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant, Université D'avignon, thèse doctorat en sciences des aliments, **2009.**

**Papazian R.** Sulfites: safe for most, dangerous for some [http://www.fda.gov/fdac/features/096\\_sulf.html](http://www.fda.gov/fdac/features/096_sulf.html). FDA Consumer magazine, US Food and Drug Administration. **consulté le 13 mai 2007.** *Phytochemistry*, 24, 905-908. polyphenoloxidase from apple fruit. *Plant Physiol.*, 33, 193-200, **1996.**

**Prenner,B. M.; Stevens,J. J.** Anaphylaxis after ingestion of sodium bisulfite. *Ann. Allergy* 37: 180-182 *Rev. Food Sci. Nutr.* 15, 49-127, **1976.**

**Ramdane,T.** contribution à l'inhibition du brunissement enzymatique de la pomme par l'addition d'une combinaison d'acide citrique et d'acide ascorbique, UMMTO, **2000.**

**Renard,C.** Le devenir des polyphénols et caroténoïdes dans les fruits et légumes traités thermiquement, *Innovations Agronomiques* 42, 125-137, **2014.**

**Richard-Forget F.** Recherches sur le brunissement enzymatique. Etudes sur l'oxydation de phénols et sur l'inhibition de la polyphénoloxydase de la pomme (*Malus sylvestris*, Var. Red Delicious). Thèse de Doctorat, Université Paris 7, **1992.**

**Roland,A.** Influence des phénomènes d'oxydation lors de l'élaboration des moûts sur la qualité aromatique des vins de Melon B. et de Sauvignon Blanc en Val de Loire, Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques Montpellier, thèse de doctorat en technologie des aliments, **2010.**

**Saffidine,K.** Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L, Université Ferhat Abbas-Sétif, thèse doctorat en microbiologie, **2015.**

**Sanoner, P.** Les polyphénols de la pomme à cidre : diversité variétale et oxydation. Université de Caen. Thèse de doctorat, **2001**.

**Sapers ,G.M.; El-Atawi Y.S., Hicks K.B., Garzarella L.** Effect of emulsifying agents on inhibition of enzymatic browning in apple juice by ascorbyl palmitate, laurate and decanoate. *J. Food Sci.*, 54, 1096-1097, **1989**.

**Sarni-Manchado ,P.; Cheynier, V.** Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec &Doc), Paris, **2006**.

**Sayavedra-Soto et Montgomery.** Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. *J. Food Sci.* 51, 1531-1536, **1986**.

**Tappel ,A. L.** Effects of low temperatures and freezing on enzymes and enzyme systems. In *Cryobiology*. H. T. Meryman (Ed.). New York, Academic Press: 163-177. *Technology*, 45, 849-855, **1966**.

**Treutter, D.** "Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple." *Plant Growth Regulation*, **2001**.

**Turk, M.** Vers une amélioration du procédé industriel d'extraction des fractions solubles de pomme à l'aide de technologies électriques, Université de Technologie Compiègne, thèse de doctorat en génie des procédés industriels, **2010**.

**Vamos-Vigyazo L.** Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *Crit Rev. Food Sci. Nutr.* 15, 49-127, **1981**.

**Vamos-Vigyazo L. and Mihalyi K.** Review of the International Litterature on Diphenol Oxidases of Peaches Cultivars. *Confructa*, 6,234-241, **1976**.

**Varoquaux,P. ;Sarris,J. et Albagnac,G.** Action des antioxydants et de la chaleur sur l'o-diphénoloxydasique du champignon de paris (*Agariurs bisporus L.*) *Ann. Technol. Agric.*, 4, (26) : 473-486, **1977**.

**Varoquaux,P. ;Sarris,J. et Albagnac,G.** Dosage spectrophotométrique automatique de l'activité o-diphénoloxydasique du champignon de paris (*Agariurs bisporus L.*) *Ann. Technol. Agric.*, 2, (26) : 461-472, **1977**.

**Vassalo,C.** La quantification de la couleur pour la gestion de la couleur, 2006.

**Verdu,C.** Cartographie génétique des composés phénoliques de la pomme, Université d'Angers, mémoire en chimie analytique, **2014**.

**Vrielynck,L.** Structures et propriétés spectroscopiques de la flavone, de la 3 hydroxy- et de la 5 hydroxy-flavone : étude des liaisons hydrogène intra- et intermoléculaires, Université Lille1. Thèse de doctorat en Sciences et Technologies.**1996**.

**Whitaker, J. R.** Effect of pH on rates of enzyme-catalyzed reactions. **In** principles of enzymology for the Food Sciences. O.R. Fennema (Ed.). New York, Marcel Dekker . Chapter 10, **1972**.

**Williams, D et al** .Blanching of vegetables for freezing-which indicator enzyme to choose. Food Technol, 40, 130-140, **1986**.

**Yoruk, R., et Marshall, M.** Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review<sup>1</sup>. Journal of Food Biochemistry, 27(5), 361-422. **2003**.

**Zawistowski, J.; Biliaderis, C.G.; Eskin N.A.M.** Polyphenoloxidase. In Oxidative enzymes in foods. Robinson D.S.R., Eskin N.A.M. (Eds), Elsevier Applied Sci., 217-273, **1991**.

**Sites:**

<sup>1</sup> <https://amelioresante.com>

<sup>2</sup> pomme: à croquer sans modération, <http://www.doctissimo.fr>

<sup>3</sup> pomme, sante.lefigaro.fr

## **Résumé :**

L'étude qui fait l'objet de ce travail est proposée par la nouvelle conserverie Algérienne de Rouïba. Il s'agit d'une première contribution au projet de transformation et de conservation de la pomme produite en Algérie, en purée de pomme devant servir à la fabrication de jus, de concentrés, de compotes et à des ingrédients divers dans le domaine alimentaire (yaourt) et cosmétiques (parfums).

La pomme est reconnue pour sa teneur élevée essentiellement en fibres alimentaires (polysaccharide, cellulose, hémicellulose, pectine), en polyphénols antioxydants (acide cinnamique et flavanone), en vitamine (C et B) et en magnésium, potassium, phosphore, zinc et cuivre...etc.

Les premiers résultats obtenus lors des essais de réduction du phénomène de brunissement enzymatique qui altère la qualité de la purée de pomme, indiquent que le procédé thermique de blanchiment à la vapeur d'eau ainsi que l'addition de nombreux additifs de conservation homologués exercent une influence positive mais variable sur la réduction du brunissement (exprimé par l'absorbance à 400nm).

En effet, si l'on considère une valeur d'absorbance du produit initiale égale à environ 1.176, alors on peut conclure, sous réserve d'une reproduction ultérieure des résultats obtenus.

Les principales performances obtenues par les essais réalisés peuvent être résumés comme suit : blanchiment : 75%,  $\text{CaCl}_2$  : 73%, Métabisulfite : 60%.