

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mustapha Stambouli
Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي
معسكر

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES
LABORATOIRE DE RECHERCHE SUR LES SYSTEMES BIOLOGIQUES
ET LA GEOMATIQUE
THESE de DOCTORAT

Spécialité : Production végétale

Intitulée

**Valorisation des déchets des chambres froides des pommes
par l'extraction des composés bioactifs**

Présentée par: Mlle. Boufera Ikram

Devant le jury:

Président	BEKKAR Ahmed Amine	Pr	Université de Mascara
Examineur	BENATTOUCHE Zouaoui	Pr	Université de Mascara
Examinatrice	HADDAD Fatima Zohra	Pr	Université d'Oran
Examineur	BELKHODJA Hamza	MCA	Université de Mascara
Encadrante	CHOUITAH Ourida	Pr	Université de Mascara

Année Universitaire :2024/2025

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فَدَلَّلْنَا بِرَأْسِنَا
إِلَى صِرَاطٍ مُسْتَقِيمٍ
الَّذِي أَنْزَلْنَا
عَلَيْكَ الْقُرْآنَ
تَلْوِينًا وَنَحْنُ
كَاشِفُو الْعَذَابِ
إِنَّ أَرْوَاحَنَا
مُحِيطَةٌ بِالْعَرْشِ
إِنَّ اللَّهَ عَالِمُ
الْغُيُوبِ

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمَ

Remerciements

À travers mes prières, je remercie mon Dieu, ALLAH le Clément et le Miséricordieux, de m'avoir guidé et aidé à finaliser mon cursus jusqu'au Doctorat, et de m'avoir donné la volonté, la persévérance et le courage de réaliser ce modeste travail de recherche.

Cette thèse a été réalisée au Laboratoire de Recherche sur les systèmes Biologiques et Géomatiques (LRSBG) de l'Université de Mascara, je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude au Pr. HAMIMED A. de m'avoir accueillie dans son laboratoire.

Je remercie sincèrement ma directrice de thèse Mm CHOUIEH Ourida, Professeure à l'Université Mustapha Stambouli de Mascara. Je tiens également à la remercier pour la confiance qu'elle m'a accordée dès le début, ainsi que pour la liberté qu'elle m'a laissée dans la structuration de ce modeste travail, une liberté sans laquelle le chercheur ne saurait pleinement affirmer sa manière de penser et de procéder.

Je remercie sincèrement Dr KIARI Fatima Zohra, pour ses suggestions constructives, ainsi que ses encouragements dans les moments clés ont été précieux.

Ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur RAMADEN Erlener, Directeur de centre de recherche ALUM en IGDİR, Turquie, pour l'accès au laboratoire, et qui a mis à ma disposition les matériels et produits nécessaires pour mener à bien cette recherche.

J'exprime également ma sincère gratitude à l'ensemble des membres du laboratoire (Pr DEMIRTAZ I, Mr TOPAL N, Pr AYDIN A, Dr TABAR B, Mr SERKAN, Dr YILDIZ I) pour leur accueil chaleureux, leur disponibilité et leur soutien précieux tout au long des différentes étapes expérimentales.

J'adresse mes remerciements à Monsieur le Professeur BEKKAR Amine, de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury de ma thèse. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes remerciements vont également aux membres du jury : Monsieur le Professeur Benattouche Zouaoui, de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara ; Madame la Professeure Haddad Fatima Zohra, de l'Université Ahmed Ben Bella d'Oran ; et Monsieur le Docteur Belkhodja Hamza, de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara, pour l'intérêt qu'ils ont porté à l'évaluation scientifique de mon travail. Je suis reconnaissante pour l'opportunité d'avoir bénéficié de votre expertise.

À cette occasion, je voudrais exprimer un immense remerciement à mes chers parents. Leur soutien et leurs encouragements constants ont été les fondements de ma réussite, ainsi que leurs prières et leurs Douāa qui ont éclairé mon chemin.

Je remercie également mes chères sœurs, Iman, Djalila et Halima Zahra, pour leurs encouragements et leur soutien inconditionnel.

Mes remerciements vont également à toutes celles et ceux qui m'ont aidée, de près ou de loin: Dr KHELEF Y, Dr AIT FELLA R, Dr NSEVOLO S, Dr BOUKHARI O, Dr DIDOUH H, Pr SAHNOUNI F, Pr BOUNGAB K, Dr BENMOULOUK K, Dr BAKHTAOUI Z, Dr KOUADRI M, Dr MAKHLOUFI K, Dr AKRICH A, Dr BENSALAH B, Mr MECHERGI H, Mr BENCHOHRA M, Mm BETTEFAL R.

Que Dieu les protège et leur accorde le succès dans leur vie.

Je voudrais rendre hommage à la mémoire de notre enseignant, Dr BOUALEM Sid Ahmed, de l'Université Mustapha Stambouli de Mascara, Département d'Agronomie.

Qu'ALLAH lui accorde Sa miséricorde et l'accueille dans Son vaste paradis.



*Je dédie cette thèse à tous ceux qui
gardent la foi malgré les obstacles présentent.
Soyons maître de notre destin... Ikram*

Résumé :

Les maladies de conservation sont responsables de grandes pertes économiques dans la production fruitière et une cause majeure de dégradation de la qualité nutritionnelle des fruits en post récolte. Ce problème tend à optimiser une démarche de recyclage des fruits détériorés. Dans ce contexte, notre travail consiste à valoriser les déchets issus des chambres froides des pommes de la région d'ouest algérien. Cette matière première sera analysée pour l'extraction des différents produits (extraits phénoliques, huiles végétales), à fin de déterminer leurs principes actifs par des méthodes chromatographiques. Le premier article traite de la valorisation des pépins de pommes pour l'extraction d'huiles végétales. Les analyses physicochimiques ont été réalisées selon les normes AOCS, tandis que la composition en acides gras et la teneur en alpha-tocophérol ont été déterminées par GC-FID et HPLC-DAD, respectivement. Les rendements en huile obtenus étaient de 23,06 % et 22,55 %. L'acide linoléique a été identifié comme l'acide gras dominant (54,78 %) pour huile HH, suivi de l'acide oléique (36,13 %) pour huile HEP. La teneur en alpha-tocophérol est entre 440 et 540 mg/kg. En revanche, la caractérisation par UHPLC/ESI-MS/MS des extraits phénoliques EPM et EPR issus de l'épiderme de pommes a confirmé leur richesse en différentes familles de composés bioactifs, notamment des flavonoïdes, des alcaloïdes, des composés terpéniques et des quinones. Cette étude vise également à inventorier les principaux agents fongiques responsables de la détérioration des pommes en poste récolte dans l'Ouest algérien (plaine de Ghriess), à travers une identification moléculaire et pathologique. Elle s'intéresse en outre à l'activité enzymatique de ces champignons. Les résultats ont révélé l'isolement de cinq genres fongiques. Le genre *Penicillium* s'est avéré le plus fréquent, représentant 25 % des isolats, suivi par *Alternaria* (17 %), *Diplodia* (15 %), *Aspergillus* (13 %), et *Talaromyces* (9%). D'autres contaminants tels qu'*Aspergillus niger* (5 %), *Mucor* sp (2 %) et *Cladosporium* sp (3 %) ont également été recensés. Ces espèces fongiques altèrent la qualité organoleptique des pommes en sécrétant des enzymes qui dégradent les métabolites primaires, tels que les protéines, les sucres et les lipides. Sur la base de ces résultats intéressants, les huiles extraites des pépins de pomme et les extraits d'épluchures issues des déchets de chambres froides pourraient constituer une nouvelle source d'acides gras, d'alpha-tocophérol et de poly phénols à des fins cosmétiques, pharmaceutiques et agroalimentaires. Cet inventaire vise également à établir un programme strict de lutte préventive contre ces maladies dans la région étudiée.

Mots clés : Valorisation, déchets des pommes, extraction, identification, composés bioactifs.

Abstract:

Storage diseases cause significant economic losses in fruit production, and are a major cause of deterioration in the nutritional quality of fruits postharvest. This problem has prompted efforts to optimize recycling approaches for spoiled fruits. In this context, our work focuses on the valorization of apple waste from cold storage facilities in western Algeria. This raw material was analyzed for the extraction of various products (phenolic extracts, vegetable oils), and their active compounds were identified using chromatographic methods.

The first article focused on the valorization of apple seeds for the extraction of vegetable oils. Physicochemical analyses were conducted according to AOCS standards, while the fatty acid composition and alpha-tocopherol content were determined using GC-FID and HPLC-DAD, respectively. The oil yields obtained were 23.06% and 22.55%. Linoleic acid was identified as the dominant fatty acid in HH oil (54.78%), followed by oleic acid in HEP oil (36.13%). The alpha-tocopherol content ranged from 440 to 540 mg/kg.

In contrast, the characterization by UHPLC/ESI-MS/MS of the phenolic extracts EPM and EPR from apple peels confirmed the presence of various families of bioactive compounds, including flavonoids, alkaloids, terpenic compounds, and quinones.

This study also aims to inventory the main fungal agents, responsible of apple deterioration postharvest in western Algeria (Ghriss plain), through molecular and pathological identification. It also investigates the enzymatic activities of these fungi. The results revealed the isolation of five fungal genera. The genus *Penicillium* was the most frequent, representing 25% of isolates, followed by *Alternaria* (17%), *Diplodia* (15%), *Aspergillus* (13%), and *Talaromyces* (9%). Other contaminants such as *Aspergillus niger* (5%), *Mucor* sp (2%), and *Cladosporium* sp (3%) were also recorded.

These fungal species impair the organoleptic quality of apples by secreting enzymes that degrade primary metabolites such as proteins, sugars, and lipids.

Based on these interesting results, oils extracted from apple seeds and peel extracts from cold storage waste could constitute a new source of fatty acids, alpha-tocopherol, and polyphenols for cosmetic, pharmaceutical, and agri-food uses. This inventory also aims to establish a strict preventive control program against these diseases in the studied region.

Keywords: Valorization, apple waste, extraction, identification, bioactive compound.

الملخص:

تسبب أمراض لتخزين في خسائر اقتصادية كبيرة في إنتاج الفواكه وتشكل سببا رئيسيا في تدهور جودة الفواكه الغذائية بعد الحصاد. دفعت هذه المشكلة إلى تحسين أساليب إعادة تدوير الفواكه التالفة. في هذا السياق , يركز عملنا على استثمار النفايات الناتجة عن غرف التبريد لتخزين التفاح في منطقة غرب الجزائر . سيتم تحليل هذه المادة الأولية لاستخراج منتجات مختلفة (مستخلصات الفينولات و الزيوت النباتية) بهدف تحديد المكونات الفعالة باستخدام طرق كروماتوغرافية . في حين المقال الأول يتناول استثمار بذور التفاح لاستخراج الزيوت النباتية . تم إجراء التحليلات الفيزيائية و الكيميائية وفقا لمعايير AOAC تم تحديد تركيبة الأحماض الدهنية ومحتوى ألفا توكوفيرول بواسطة تقنيات GC-FID, HPLC-DAD

بلغت عوائد الزيت 23% - 22% على التوالي. تم التعرف على حمض اللينوليك كحمض ,دهني سائد لزيت

% 54,78 , يليه حمض الاوليك 36,13% وتراوح محتوى ألفا توكوفيرول

440 جم /كغ/ لزيت HH, 450 جم /كغ/ لزيت HEP.

أكدت التحليلات باستخدام UHPLC/ESI/MS للمستخلصات الفينولية على الجانب الآخر, المستخرجة من البشرة الخارجية للتفاح غناها بعائلات مختلفة من المركبات النشطة حيويًا مثل الفلافونويدات , وغيرها من المركبات الفعالة.

تهدف هذه الدراسة أيضا إلى جرد الفطريات المسببة لتدهور التفاح بعد الحصاد في غرب الجزائر (سهل غريس) من

خلال تحديد جزئي ومرضي, بالإضافة إلى الأنشطة الإنزيمية لهذه الفطريات. أظهرت النتائج (25%) Penicillium من الأكثر شيوعا بنسبة العينات

, تلاه خمسة أجناس فطرية . كما تم تسجيل ملوثات أخرى

و(2%) Mucor sp , (3%) Cladosporium sp , (13%) Aspergillus و(17%) Alternaria
(9%) Talaromyces , (15%) Diplodia.

تؤثر هذه الأنواع الفطرية على الجودة الحسية للتفاح من خلال إفراز إنزيمات تقوم بتحليل المستقبلات الأساسية مثل البروتينات , السكريات والدهون .

استنادا إلى هذه النتائج الواعدة , يمكن أن تشكل الزيوت المستخرجة من بذور التفاح و المستخلصات من قشور التفاح الناتجة عن نفايات غرف التبريد مصدرا جديدا للأحماض الدهنية , وألفا توكوفيرول , والفينولات المتعددة للاستخدامات التجميلية والطبية والصناعات الغذائية . كما يهدف الجرد أيضا إلى وضع برنامج للوقاية من هذه الأمراض في المنطقة المدروسة.

الكلمات المفتاحية:

استثمار , نفايات التفاح , استخلاص, تحديد , مركبات حيوية .

TABLE DES MATIERES

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction Générale..... 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITE SUR POMMIER.....3

1. Historique et origine..... 3

2. Classification botanique 4

3. Exigences naturelles du pommier..... 5

3.1. Exigences Edaphiques5

3.2. Exigences climatique..... 6

3.2.1. Les besoin en eau6

3.2.2. L'action des températures sur le pommier.....6

3.2.2.1. Températures basses6

3.2.2.2. Les températures élevées.....7

3.2.3. L'influence de la lumière.....7

4. La formation de fruit.....8

4.1. La variété étudiée 'Golden Délicieux '8

5. L'importance économique de la culture du pommier.....10

5.1. Production mondiale du pommier.....10

5.2. Production National « En Algérie ».....11

5.3. Production régional de la wilaya de Mascara.....12

5.4. La production du pommier dans la plaine de Ghriss.....12

5.4.2. Les facteurs climatiques de la plaine de Ghriss	14
5.4.2. 1. Les précipitations.....	14
5.4.2. 2. Les températures.....	14
5.4.2. 3. L'humidité relative.....	15
5.4.2. 4. Les vents.....	15
5.4.2. 5. Les phénomènes secondaires.....	15
6. La récolte et la conservation en chambres froides.....	15
7. Composition nutritionnelles de la pomme.....	16
7.1. Impact du stockage sur la qualité de fruits.....	17
7.1.1. L'atmosphère contrôlée (AC).....	18
7.1.2. Gestion d'éthylène.....	19
7.1.3. Gestion préventive	19
7.1.4. Maladies de conservation.....	19
II. Généralité sur les champignons.....	21
1.Introduction	21
2. Développement des champignons.....	22
2.1. Reproduction sexuée.....	23
2.2. Reproduction asexuée.....	23
3. Techniques d'identification des champignons.....	24
3.1. Identification phénotypique.....	24
3.2. Identification moléculaire.....	25
3.3. Identification spectrométrie de masse MALDI-TOF.....	26

4.1. Criblage enzymatique.....	28
5. Les maladies fongiques responsables de la détérioration des pommes en post récolte.....	29
5.1. Effet des agents pathogènes fongiques sur la qualité des pommes.....	31
6. Moyens de lutte contre les maladies de postes récolte.....	34
6.1. Mesures préventives.....	34
6.1.1. Mesures préventives avant la récolte (Verger).....	34
6.1.2. Mesures préventives après la récolte (Chambres froid).....	34
6.2. La lutte chimique.....	35
6.3. La lutte biologique.....	36
6.3. 1. L'utilisation des plantes et des huiles essentielles.....	36
6.3. 2. L'utilisation des barrières protectrices Bio.....	39
6.3. 3. L'utilisation des agents antagonistes.....	39
6.3. 4. La thérapie.....	41
6.3. 5. Traitement des pommes à l'ozone en post-récolte.....	42
6.3. 5.1. Traitements sur les pommes pour inhiber le développement des champignons.....	42
III. Généralité sur les composés bioactifs.....	44
1. Les déchets agroalimentaires : un enjeu environnemental et économique.....	44
1.1. L'importance économique des déchets.....	44
1.2. Etude des déchets de pomme (Epluchures et pépins).....	45
2. Les polyphénols.....	46
2.1. Voies de biosynthèse des composés phénoliques.....	46
2.1.1. La voie de l'acide shikimique.....	46
2.1.2. La voie de l'acétate /malonate.....	47
2.2. Classification des polyphénols.....	47

2.2.1. Classe des polyphénols non-flavonoïdes.....	48
2.2.1.1. Les principaux acides phénoliques.....	48
2.2.1.1.1. Les acides hydroxybenzoïques.....	48
2.2.1.1.2. Les acides hydroxycinnamiques.....	49
2.2.1.2. Les stilbènes.....	50
2.2.1.3. Les lignanes.....	51
2.2.1.4. Les lignines.....	51
2.2.1.5. Les coumarines.....	51
2.2.2. Les flavonoïdes.....	52
2.2.2.1. Les principales sous-classes de flavonoïdes.....	53
2.2.2.1.1. Flavonols.....	53
2.2.2.1.2. Flavones.....	53
2.2.2.1.3. Flavanones.....	53
2.2.2.1.4. Flavanes.....	54
2.2.2.1.5. Les isoflavones et les dihydrochalcones	54
2.2.2.1.6. Les anthocyanes.....	54
2.2.2.1.7. Les flavanols et les proanthocyanidines.....	55
2.2.3. Les Tanins.....	56
2.2.3. 1.Les tanins hydrolysable.....	57
2.2.3. 2.Les tanins condensés.....	57
2.3. L'intérêt nutritionnel des composés phénoliques et localisation dans la pomme.....	58
2.3.1. Localisation cellulaire.....	59
2.3.2. Localisation tissulaire.....	59
2.4. Propriétés d'oxydation des polyphénols.....	59
2.5. Les facteurs de la variation des polyohénols.....	60
2.5.1. La variété.....	60
2.5.2. La maturité	60
2.5.3. Le stockage.....	60
2.5.4. Type de sol.....	61
3. Les huiles végétales.....	61
3.1.Structure et sa composition.....	61
3.2.Classification selon leur composition en acides gras.....	62
3.3. Composition chimique des huiles végétales.....	63
3.3.1.Les constituants majeurs.....	63

3.3.2. Constituants mineurs.....	63
3.3.2.1. Tocophérols et Tocotriénols.....	64
3.3.2.2. Phytostérols.....	64
3.3.2.3. Pigments (Chlorophylles et Caroténoïdes).....	64
3.3.2.4. Phosphatides (Phospholipides).....	65
3.4. Rôle des huiles végétales.....	65
4. Technique d'analyse des composés bioactifs.....	65
4.1. Méthode de dosage par le Folin Ciocalteu.....	65
4.2. Les méthodes de chromatographie liquide.....	66
4.2.1. Séparation des composés par chromatographie liquide.....	66
4.2.2. Identification des composés par méthodes spectrométriques.....	66
4.2.2.1. La spectrophotométrie UV.....	67
4.2.2.1. La spectrométrie de masse MS.....	67
4.2.3. Quantification des composés.....	68
5. Etude des composés phénoliques des pommes par chromatographie liquide.....	69

Matériels et méthodes

Article 1 : Inventaire des principaux agents fongiques responsables de la détérioration des pommes en poste récolte dans l'ouest algérien (la plaine de Ghriss)

1. Introduction.....	70
2. Matériels et méthodes.....	72
2.1. Produits chimiques et réactifs.....	72
2.2. Échantillonnage et isolement fongique.....	72
2.3. Identification Caractérisation morphologique des espèces fongiques.....	74
2.3. 1. Observation macroscopique.....	74
2.3. 2. Observation microscopique.....	74
2.3. 3. Conservation des isolats	75
2.3.4. Fréquence de contamination.....	75

2.3. 5.	Identification moléculaire.....	75
2.3. 3.1.	Isolation de l'ADN génomique.....	76
2.3. 3.2.	Détermination de l'ADN.....	77
2.3. 3.3.	Méthode d'électrophorèse sur gel d'agarose.....	77
2.3. 3.3.1.	Préparation du gel d'agarose à 1% pour l'électrophorèse.....	77
2.3. 3.4.	Réactions en chaîne de la polymérase (PCR).....	78
2.3. 3.4.1.	Profil de réaction en chaîne de la polymérase (PCR).....	78
2.4.	Évaluation du pouvoir pathogène des champignons.....	79
2.5.	Criblage qualitatif des isolats pour la production d'enzymes hydrolytiques.....	80
2.5.1.	Recherche des enzymes carbohydrolases.....	81
2.6.1.1.	Recherche de l'activité amylasique.....	81
2.6.1.2.	Recherche de l'activité cellulolytique.....	81
2.6.2.	Recherche de l'activité protéasique.....	81
2.6.3.	Recherche de l'activité lipolytique.....	82
2.6.4.	Recherche de l'activité pectinolytique	82
2.8.	Analyse statistique.....	82
3.	Résultat.....	82
3.1.	Identification des isolats fongique.....	82
3.2.	Evaluation de la fréquence d'isolement.....	86
3.3.	Caractérisation de la pathogénicité des espèces fongiques.....	94
3.4.	Identification moléculaire des espèces fongiques.....	95
3.5.	Criblage enzymatique.....	97
3.5.1.	Production de protéase	98

3.5.2. Production d'amylase.....	99
3.5.3. Production de lipase.....	100
3.5.4. Production de Cellulase.....	100
4. Conclusion.....	103

Article 2 : Valorisation des déchets des pommes des chambres froids dans l'ouest Algérien : par l'extraction des huiles végétales des pépins

1. Introduction.....	104
2. Matériels et méthodes.....	106
2.1. Produits chimiques et réactifs.....	106
2.2.1. Collecte du matériel végétal.....	107
2.2.2. Préparation des échantillons.....	107
2.2.3. Extraction de l'huile végétale.....	108
2.2.4. Rendement des lipides.....	108
2.3. Propriétés physico-chimiques.....	109
2.4. Screening phytochimique des métabolites secondaires.....	109
2.5. Profil des acides gras.....	110
2.5.1. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (FAME).....	110
2.5.2. Détermination des acides gras.....	110
2.6. Détermination de l'alpha-tocophérol.....	111
2.6.1. Préparation de l'échantillon.....	111
2.6.2. Quantification de l'alpha-tocophérol.....	112
2.7. Analyse Statistique.....	113
3. Résultats et discussion.....	113
3.1. Propriétés physico-chimiques.....	113
3.2. Profile des métabolites secondaires par screening phytochimiques.....	118
3.3. Profil des acides gras.....	119
3.4. Détermination de l'alpha-tocophérol.....	125
4. Conclusion et perspectives.....	128

Article 3 : Valorisation des épiluchures des déchets des pommes des chambres froides dans l'Ouest algérien par l'extraction des extraits phénoliques

1. Introduction	130
2. Matériels et méthodes	132
2.1. Produits et réactifs	132
2.2. Matériel végétale	132
2.3. Préparation d'extraits phénoliques	132
2.3.1. Rendement d'extraction	133
2.4. Criblage phytochimique des extraits phénoliques	133
2.5. Analyse par chromatographie liquide couplé à la spectrométrie de masse (UHPLC/ESI/MS/MS)	133
2.5.1. Les conditions chromatographiques liquide UHPLC	134
2.5.2. Les conditions d'application de spectrométrie de masse	134
3. Résultats et discussions	135
3.1. Rendement d'extraction	135
3.2. Profile des métabolites secondaires par screening phytochimiques des extraits phénoliques	135
3.3. Profile des composés phénoliques des extraits identifiés par UHPLC/ESI/MS/MS	136
4. Conclusion	146
Conclusion général et perspective.....	148
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....	150
Annexes.....	176
Publication	

Listes des figures

Figure 1 : Formation du fruit chez le Pommier	5
Figure 2 : Structure d'une pomme	9
Figure 3 : Les signes de perte d'eau de pomme aux cours de poste récolte	19
Figure 4 :L'origine phylogénétique commune entre le règne des champignons et des animaux.....	22
Figure 5 : Schématisation du mode de reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure	23
Figure 6 : Formation des différents types de spores asexuées	24
Figure 7 : Illustration des deux types d'organes de fructifications.....	24
Figure 8 : Principe de fonctionnement d'une spectrométrie de masse MALDI-TOF.....	27
Figure9 : Les coproduits des pommes (Epluchures et pépins) et leurs composants	46
Figure10 : Structure chimique des acides hydroxybenzoïques	49
Figure11 : Structure chimique des acides hydroxycinnamiques	50
Figure12 : Les esters hydroxycinnamiques de la pomme	50
Figure13 : Structure chimique de coumarines	52
Figure14 : Les flavonols de la pomme	53
Figure15 : Les principaux dihydrochalcones de la pomme	55
Figure16 : Structure chimique des anthocyanes de la pomme	55
Figure17 : Les catéchines de la pomme	56
Figure18 : Les principales sous-familles des flavonoïdes	57
Figure19 : Structure chimique des tannins condensés	59
Figure20 : Structure chimique des tannins hydrolysables	59
Figure21 : Isolement des champignons à partir des déchets des pommes des chambres froides de la région Maoussa –Mascara.....	74

Figure22 : Conservation des isolats fongiques dans des tubes à gélose incliné	76
Figure23 : Etapes de l'identification moléculaire des espèces fongiques	80
Figure24 : Principales étapes du test de pathogénicité des isolats fongiques sur les pommes	81
Figure25 : Caractérisation macroscopique et microscopique de <i>Cladosporium sp</i>	86
Figure26 :Caractérisation macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus sp</i>	86
Figure27 : Caractérisation macroscopique et microscopique de <i>Mucor sp</i>	86
Figure28 : Caractérisation macroscopique et microscopique de <i>Penicillium sp</i>	87
Figure29 :Caractérisation macroscopique et microscopique d' <i>Alternaria sp</i>	87
Figure30 : Caractérisation macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	88
Figure31 : Caractérisation macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus sp</i>	88
Figure32 : Identification macroscopique(A) et microscopique d' <i>Alternaria sp</i>	89
Figure33 :Identification macroscopique(A) et microscopique de <i>Talaromyces sp</i>	90
Figure34 : Identification macroscopique(A) et microscopique de <i>Diplodia sp</i>	91
Figure35 : Fréquence d'isolement des espèces fongiques responsables de la détérioration des pommes en poste récolte.....	95
Figure36 : La croissance moyenne des isolats fongiques sur la surface des pommes	96
Figure37 : Test d'activités protéasique des isolats	100
Figure 38 : Test d'activités amylolytique des isolats	101
Figure39 : La production de l'enzyme lipasique des champignons isolées.....	102
Figure40 : Test de l'activité cellulolytique des	102
Figure41 : La localisation géographique de la zone de collection et de stockage par ArcGIS	109
Figure 42 : Préparation d'échantillon.....	110
Figure 43 : Chromatogramme du profil en acides gras de l'huile HH obtenu par CPG-FID	

.....	123
Figure 44 : Chromatogramme du profil en acides gras de l'huile HEP obtenu par GC-FID123
Figure 45 : Chromatogramme représentant la teneur en α -tocophérol de l'huile HH, analysée par HPLC-DAD.....	128
Figure 46 : Chromatogramme représentant la teneur en α -tocophérol de l'huile HEP, analysée par HPLC-DAD	128
Figure 47 : Matériel végétale (épluchures des pommes détériorées).....	134
Figure 48 : Chromatogramme à ionisation positive de caractérisation de l'extrait EPM par UHPLC/ESI/MS/MS	143
Figure 49 : Chromatogramme à ionisation positive de caractérisation de l'extrait EPR par UHPLC/ESI/MS/MS.....	143
 Annexe :	
Figure 1 : La production du pommier dans la plaine de Ghriss	184
Figure2 : Diagramme en Barres de la production enzymatique de l'espèce (Pen1).....	187
Figure3 : Diagramme en Barres de la Production enzymatique de l'espèce (Pen2).....	187
Figure 4 : Diagramme en Barres de la production enzymatique de l'espèce (CLO).....	188
Figure 5 : Diagramme en Barres de la production enzymatique de l'espèce (ASP).....	188
Figure 6 : Diagramme en Barres de la production enzymatique de l'espèce (ALT).....	189
Figure 7 : Des pommes contaminées par A : <i>Diplodia seriata</i> , B : <i>Talaromyces variabilis</i> , C : <i>Aspergillus flavus</i> , D : <i>Penicillium bilaiae</i>	191
Figure 8 : Évaluation de la miscibilité des huiles végétales HH et HEP dans un solvant hydroalcoolique (éthanol)	200
Figure 9 : Représentation graphique synthétisant les principales analyses.	204

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Les principaux pays producteurs de pommes en 2021 .2022.2023.....	10
Tableau 2 : Production du pommier en Algérie (2016 -2022)	12
Tableau 3 : Production du pommier de la wilaya de Mascara	13
Tableau 4 : Production du pommier dans la plaine de Ghriss	14
Tableau 5 : Rapport moyenne de composants nutritionnels pour 100 g de pomme de table	17
Tableau 6 : Fongicides homologués pour la culture et la conservation des pommes utilisée dans la région de la plaine de Ghriss	20
Tableau 7 : Marqueurs génétique à séquencer pour l'identification de différentes espèces fongiques	26
Tableau 8 : Les principales matrices utilisées selon l'échantillon analysé pour la spectrométrie MALDI-TOF	28
Tableau 9 : L'effet des agents pathogènes fongiques sur la qualité des pommes en poste récolte	34
Tableau 10 : Les principales huiles essentielles étudiées pour leur activité antifongique contre les maladies post-récolte des pommes	40
Tableau 11 : Les principaux agents antagonistes pour la lutte biologique contre les pourritures des pommes en poste récolte	42
Tableau 12 : Inventaire des études évaluant l'effet de l'ozone sur les pommes	44
Tableau 13 : Composition en polyphénols de la pomme fraîche selon la banque de données phénol-explorer	48
Tableau 14 : Aspects macroscopiques et microscopiques des isolats fongique des pommes contaminée.....	83
Tableau 15 : Fréquence d'isolement des principaux agents fongiques isolés à partir de pommes détériorées au poste de récolte.....	94

Tableau 16 : Evaluation de la moyenne de la pathogénicité des souches fongiques.....	95
Tableau 17 : le diamètre d’halo des différentes activités enzymatiques des champignons étudiés.....	100
Tableau18: le diamètre d’halo des différentes activités enzymatiques des champignons étudié	98
Tableau 19 : Les propriétés physico-chimiques des huiles de pépins de pomme	116
Tableau 20 : Criblage phytochimique des différentes huiles végétales.	121
Tableau 21 : Profil des acides gras des huiles de pépins des pommes détectées par GC-FID	122
Tableau 22 : Les analyses d’alpha- tocophérol des huiles des pépins des pommes par HPLC-DAD.....	127
Tableau 23 : Le programme de gradient appliqué pour les phases mobiles	136
Tableau 24 : Profiles des métabolites secondaires de deux extraits	138
Tableau 25 : Profile des principaux composants présents dans l’extrait EPM identifiées par UHPLC/ESI/MS/MS	142
Tableau 26 : Profile des principaux composants présents dans l’extrait EPR identifiées par UHPLC/ESI/MS/MS	144
Annexe :	
Tableau 1 : Vitesse du vent	177
Tableau 2 : Température moyenne de l’air (°C)	178
Tableau 3 : Température maximale de l’air en (C)	178
Tableau 4 : Température minimal de l’air en (C)	179
Tableau 5 : Pluviométrie : Pluie en mm	179
Tableau 6 : Humidité relative de l’air en %.....	180
Tableau 7 : La production du pommier aux principaux communes de la plaine de Ghriss	183

Tableau 8 : Les principaux produits phytosanitaires utilisés pour les maladies cryptogamiques au pré-poste récolte du pommier	182
Tableau 9 : Classification des genres fongiques isolés (Base de données de taxonomie NCBI)	186
Tableau 10 : L'index enzymatique (IE) des espèces fongiques étudiées	186
Tableau 11 : Description de l'analyse statistique du diamètre d'halo des différentes activités enzymatiques des champignons étudiés	193
Tableau 12 : Détermination de l'analyse de variance de la production des enzymes par ces isolats fongiques	194
Tableau 13 : Les méthodes effectuées de Screening phytochimique des métabolites secondaires décrite par Harborne et al. (1998)	195
Tableau 14 : Statistiques de groupe des analyses physico-chimiques des deux huiles végétales.....	200
Tableau 15 : Test t de l'analyse de variance des échantillons indépendants	201
Tableau 16 : Tailles d'effet pour échantillons indépendants (suite ANOVA)	202
Tableau 17 : Profils d'acides gras des huiles de pépins de pomme provenant de différentes sources et variétés	203
Tableau 18 : Profile des principaux composants présents dans l'extrait EPM identifiées par UHPLC/ESI/MS/MS.....	206
Tableau 19 : Profile des principaux composants présents dans l'extrait EPR identifiées par UHPLC/ESI/MS/MS.....	208

Liste des abréviations

1-MCP: 1-methylcyclo propene

AC : l'atmosphère contrôlée

ADN: Acide Désoxyribose Nucléique

ANOVA: Analyse de la variance

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

DAD: detection par barrette d'iode

DO: densité optique

DSA: Direction des Services Agricoles

ESI: l'Electrospray Ionization

FAO: Food and Agriculture Organization

FID: détection par ionisation de flamme

Frag: fragment

GC-MS Gas Chromatography-Mass Spectrometry

ha: hectar

Hcl : Chlorure d'hydrogène

HPLC: High Performance Liquid Chromatography.

IE: indice enzymatique

ITS: Internal Transcribed Spacer

Kcal : kilocalories

LC/MS: Liquid chromatography coupled with mass spectrometry

MS: matière sèche

Ø : Diamètre

OH : Hydroxyl.

PCR: Polymerase Chain Reaction

PDA: Potato dextrose agar.

Qx : quinaux

ROS: espèces réactives de l'oxygène

SPSS : Statistical Package for the Social Sciences

UHPLC: Ultra High Performance Liquid Chromatography.

UV: Ultra-Violet.

μg: Microgram.

μL : Microlitre

INTRODUCTION GENERALE



Introduction générale

La pomme (*Malus domestica* Borkh.) est l'un des fruits les plus consommés au monde, que ce soit à l'état frais ou sous diverses formes transformées, telles que le jus, le vinaigre, la gelée, ou encore les compotes et les confitures. (Matthäus et Özcan, 2015). Les pommes sont les fruits les plus importants en raison de leur grande valeur nutritionnelle et de leurs bienfaits médicaux. Concernant la production de pommes, les cultivars les plus répandus dans le monde sont le Fuji, le Golden Delicious, la Granny Smith, la Delicious et la Gala. Toutefois, ces cultivars sont cultivés dans les régions tempérées de l'hémisphère nord (Arain et al., 2012 ; Radenkova et al., 2018) . Les variétés les plus répandues sont la Golden Délicieuse (21 %), la Gala (11 %) et la Idared (9 %)(Szot et al., 2022). Selon le cultivar, les pommes peuvent être stockées pendant de longues périodes, que ce soit à l'air libre ou sous atmosphère contrôlée (AC) (Mahmoud Ul Hasan, 2023).

La wilaya de Mascara, située dans l'ouest de l'Algérie, a gagné en importance au cours des dernières années, avec une production de 29400 quintaux en 2020(source: DSA Mascara). Dans la chaîne d'approvisionnement, 54 % du total des déchets sont générés pendant les étapes de culture et de post-récolte, tandis que 46 % résultent de la transformation et de la distribution. En conséquence, plusieurs facteurs sont responsables des déchets de pommes: le traitement de stockage, la distribution, y compris les dommages mécaniques, et la composition de la pomme (forte teneur en sucre et en humidité) (Arain et al., 2012 ; Pinto et al., 2021 ; Yin et al., 2023). Les pommes sont stockées pendant 4 à 6 mois, et dans certains cas jusqu'à 1 an, afin de garantir leur disponibilité tout au long de l'année (Vico et al., 2014). Pendant le stockage, les pommes sont très sensibles à la pourriture causée par des agents pathogènes post-récolte. Les pertes dues aux champignons pathogènes sont estimées entre 5 et 25 % de la quantité initiale (Vico et al., 2014 ; Schiavon et al., 2023 ; Błaszczuk et al., 2022). Les pommes, avec leur teneur élevée en sucre et en nutriments, créent un environnement favorable à la croissance des champignons pathogènes (Alwakeel, 2013).

Actuellement, les espèces fongiques sont les principaux facteurs de détérioration, avec des dommages significatifs, notamment ceux causés par *Penicillium*, *Aspergillus* et *Alternaria*, etc. (Yin et al., 2023). Pendant la saison des récoltes, ces déchets sont largement disponibles (Mirabella et al., 2014).

Les déchets de pommes constituent une ressource précieuse en nutriments, vitamines et composés phytochimiques. Lorsqu'ils sont traités comme des matières premières, ils peuvent constituer une source potentielle de composés bioactifs aux propriétés antioxydantes importantes

Cela représente une nécessité pour une croissance durable, ainsi qu'une solution aux problèmes économiques et à la pollution environnementale (Matthäus et Özcan, 2015 ; Fidelis et al., 2019 ; Putra et al., 2023). Pour cette raison, plusieurs études (Arainet al., 2012; Walia et al., 2014; Matthäus et Özcan, 2015 ; Montañés et al., 2018 ; Rodríguez Madrera et Valles, 2018 ; Radenkova et al., 2018 ; Akšić et al., 2021 ; Pinto et al., 2021 ; Kumar et al., 2022 ; Putra et al., 2023) se sont concentrées sur la valorisation des déchets de pomme (pépins) pour l'extraction d'huile végétale.

Les huiles de graines sont utilisées depuis des siècles dans une grande variété d'applications, allant des usages domestiques aux usages industriels (Toishimanov et al., 2023). Il est à noter que la peau est particulièrement riche en polyphénols, sa consommation devrait être encouragée dans les recommandations nutritionnelles portant sur la pomme (Preti & Tarola, 2020). Sur une base de poids sec, la peau de pomme contient environ quatre fois plus de polyphénols totaux que la chair (Zahid, H.F. et al., 2023) .

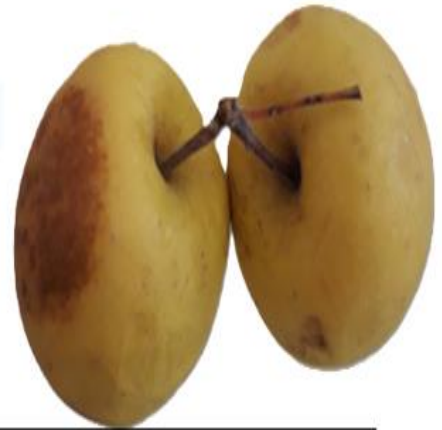
Dans ce contexte, le présent travail vise tout d'abord à établir un inventaire des maladies fongiques responsables de la détérioration des pommes après la récolte, puis à évaluer la capacité de ces champignons à sécréter différentes enzymes influençant la qualité organoleptique, nutritionnelle et sanitaire des fruits. L'étude vise également à analyser leur pouvoir pathogène afin de proposer une stratégie de lutte préventive adaptée à la région de la plaine de Ghriss. En second lieu, nous nous intéressons à la valorisation des déchets des pommes issus des chambres froides, contaminées par des champignons.

Dans cette démarche, nous avons mis en évidence l'extraction de deux huiles végétales à partir des pépins, qui sont riches en acides gras et en α -tocophérols. Ces huiles présentent un intérêt potentiel pour les secteurs culinaire, pharmaceutique et cosmétique. Par ailleurs, des extraits phénoliques ont été obtenus, pouvant être envisagés pour leurs propriétés biologiques et thérapeutiques.

La valorisation de ces produits offre une double opportunité : fournir des matières premières naturelles aux industries alimentaires et réduire l'empreinte écologique des déchets post-récolte.

Cette thèse est le fruit d'une collaboration avec le laboratoire LRSBG de l'université Mustapha-Stambouli de Mascara (Algérie), le centre de recherche ALUM d'Iğdır (Turquie) et le laboratoire de la faculté de chimie de l'université de Beira Interior (Portugal).

Capture Plein écran



CHAPITRE I

GÉNÉRALITÉ SUR POMMIER

1. Historique et origine :

Le pommier cultivé est issu des forêts sauvages originaires du Kazakhstan. Notamment, des études paléontologiques ont révélé la présence du genre *Malus* à l'ère tertiaire (Challice et Westwood, 1992). Dès le Néolithique, il aurait colonisé la Chine, le Moyen-Orient et l'Europe, notamment grâce aux échanges sur ce qui sera plus tard désigné sous le nom de la Route de la Soie. En revanche, Chauvet (2001) montre que l'origine du pommier remonte à une vaste région allant du Caucase aux monts Tian Shan, en bordure de la Chine. De plus, des vestiges de pommes datant de plusieurs milliers d'années ont été retrouvés lors de fouilles effectuées à Jéricho, dans la vallée du Jourdain.

Ensuite, la culture du pommier s'est répandue dans toutes les régions du monde. Depuis un demi-siècle, de nombreux travaux ont été réalisés afin d'introduire, par l'hybridation, des résistances aux maladies chez le pommier cultivé. En 1759, Knight a commencé à créer de nouvelles variétés grâce à l'hybridation contrôlée (Brown, 1975). Plusieurs espèces de pommiers sauvages seraient à l'origine des variétés domestiques, telles que *Malus sylvestris* Mill., espèce répandue en Europe, *Malus baccata* Borkh., espèce très résistante au froid, et *Malus sieversii* Ledeb. M. Roem., espèce endémique des montagnes d'Asie centrale. Le pommier cultivé, *Malus domestica* Borkh. (dénommé par Korban et Skirvin, 1984 ; Guettala, 2010), serait issu d'hybridations entre plusieurs espèces, dont *Malus sylvestris*, *M. baccata* et *M. borkh.*

Ce sont surtout les Romains qui développèrent les premiers vergers de pommiers commerciaux grâce aux techniques de greffage héritées des Perses puis des Grecs. Ils dénombraient alors une trentaine de variétés de pommes. Au XVI^e siècle, la pomologie fut élevée au rang de science. Bien que le nombre d'espèces répertoriées pour le pommier soit élevé, la majorité des pommiers cultivés dérivent de l'espèce *Malus pumila*, et on compte actuellement plus de 7 000 cultivars. Aujourd'hui, ce sont des milliers de variétés qui sont recensées à travers le monde. Bien qu'il existe une grande diversité génétique, les vergers commerciaux sont conduits avec un nombre restreint de variétés. Parmi les plus importantes sur le plan commercial, on trouve des variétés issues de semis de hasard, comme *Golden Delicious*, ou de mutations (Guettala, 2010). Cependant, malgré la grande diversité existante pour cette espèce, seulement une douzaine de variétés sont cultivées à grande échelle, telles que *Golden Delicious* (environ un quart de la production européenne), *Gala*, *Fuji* ou *Granny Smith* (WAPA, 2011).

2. Classification botanique :

Le pommier est actuellement classé dans le genre *Malus*, lequel, selon Chevreau et Morisot (1985), est clairement distinct du genre *Pyrus*. Selon Redher (1956), le genre *Malus* comprend entre 25 et 30 espèces, ainsi que plusieurs sous-espèces.

La classification du pommier, selon les critères établis par Lafaon et al. (1996), se présente comme suit :

Embranchement	: Spermaphytes
Sous Embranchement	: Angiospermes
Classe	: Dicotylédones
Sous classe	: Dialypétales
Famille	: Rosacées
Sous Famille	: Maloideae
Genre	: <i>Malus</i>
Espèce	: <i>Malus domestica</i> (BORKH)
	: <i>Malus pumila</i> (LAMARCK)
	: <i>Malus communis</i> (MILL)

La pomme, fruit du pommier (*Malus domestica* Borkh.), est un fruit charnu, généralement de forme sphérique, à pulpe homogène, situé entre une drupe et une baie (Figure 1). Elle est principalement cultivée dans les régions tempérées, avec une concentration particulière dans l'hémisphère nord, entre les latitudes 30° et 60° (Kebe, 2014).

Les arbres du pommier sont hermaphrodites et peuvent atteindre une hauteur de jusqu'à douze mètres. Les feuilles sont alternes, stipulées et caduques. Les fleurs, régulières et pentamériques, présentent une symétrie rayonnée avec de couleur blanc-rosée. Elles sont généralement disposées en corymbe terminal comportant cinq fleurs, et la période de floraison s'étend sur 10 à 15 jours (Verdu, 2013).

La pomme est un fruit climactérique, dont la maturation est influencée par l'éthylène. Trois structures principales peuvent être distinguées dans le fruit (Figure 1) : l'épiderme (la peau), le mésocarpe ou parenchyme (la chair), et l'endocarpe, qui renferme les pépins (le trognon). Les cellules des différents tissus sont composées de plastes, de pigments assimilateurs tels que les chlorophylles et les caroténoïdes, ainsi que d'une vacuole occupant 80 à 90 % du volume cellulaire. Les vacuoles concentrent la majorité des composés phénoliques présents dans le fruit (Verdu, 2013 ; Kebe, 2014).

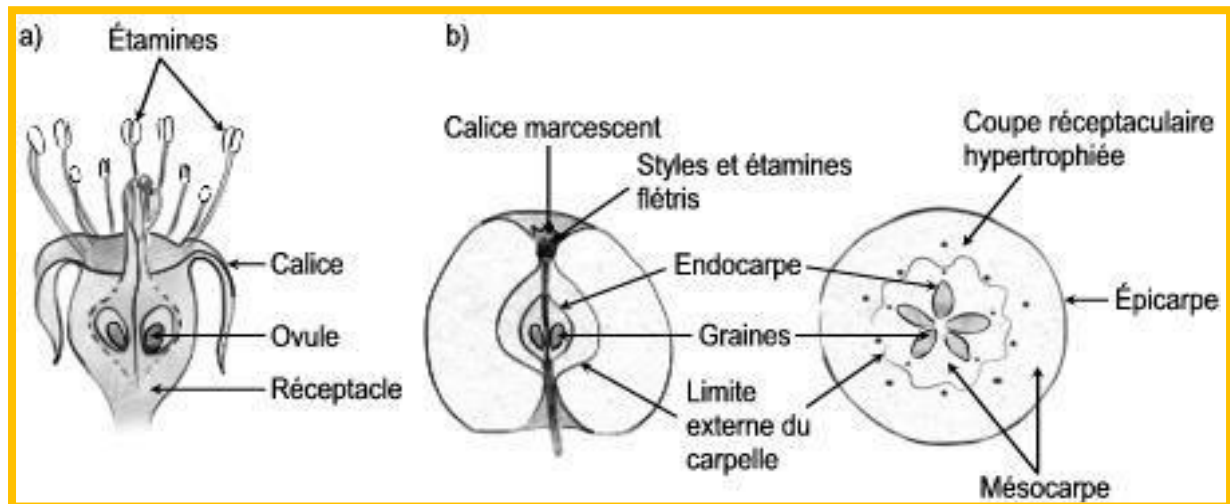


Figure 1. Formation du fruit chez le Pommier : (a) fleur flétrie en coupe longitudinale, (b) fruit en coupe longitudinale et en coupe transversale (Heller et al., 1995) (Kebe, 2014).

3. Exigences naturelles du pommier.

3.1. Exigences édaphiques.

Le pommier, connu pour sa grande capacité d'adaptation, s'accommode de nombreux types de sols, allant du sable à l'argile (Calvet et Guirbal, 1979). Dans les sols sableux, son système racinaire demeure superficiel et traçant. En revanche, dans les sols limoneux, l'enracinement peut être plus développé, bien que, en cas d'absence de porosité suffisante, les racines se concentrent autour du collet (Gautier, 1978).

Les meilleurs enracinements sont observés dans les horizons argileux bien structurés. Le pommier tolère aussi bien les sols acides que les sols calcaires. Toutefois, sur ces derniers, les symptômes de chlorose n'apparaissent qu'à partir d'une teneur en calcaire actif d'environ 15 %, pour un pH d'environ 8,3 (Hucard, 1980). Les sols les plus adaptés à l'arbre sont des sols limoneux, fertiles, profonds, et ayant un pH proche de la neutralité ou légèrement acide.

Cette espèce est particulièrement sensible à l'hydromorphie et ne supporte pas le manque d'eau durant l'été.

3.2. Exigences climatiques.

La répartition du pommier dans des zones climatiques variées, suggère une grande plasticité de cette espèce, tant vis-à-vis du milieu que des différentes variétés. Il préfère les climats tempérés avec une hygrométrie relativement élevée. Cependant, il est sensible aux coups de chaleur estivaux et résiste à des températures hivernales très rigoureuses.

3.2.1. Les besoins en eau.

Au cours d'un cycle annuel de végétation, le pommier nécessite environ 6000 m³ d'eau par hectare, ce qui équivaut à une pluviométrie annuelle de 600 mm. Les périodes de consommation les plus élevées se produisent en juillet et en août (Gautier, 1978).

En Algérie, les zones où le pommier pourrait prospérer reçoivent entre 400 et 800 mm de précipitations par an, principalement durant l'hiver. Cette répartition inégale des précipitations expose fréquemment le pommier à un stress hydrique, ce qui peut avoir des effets indésirables sur le développement de l'arbre, ainsi que sur la qualité de la récolte et le rendement (Catzeflis et Udry, 1978). Des apports d'irrigation sont donc nécessaires de la fin du printemps jusqu'à la fin de l'été. Les doses recommandées varient entre 2 000 et 3 000 m³/ha (Sapin, 1977).

3.2.2. L'action des températures sur le pommier

Les recherches montrent que les régimes thermiques ont un impact significatif sur la physiologie de l'arbre et sur la récolte. Deux modalités d'action de la température doivent être considérées :

3.2.2.1. Températures basses

Le froid hivernal est essentiel pour faire lever la dormance des bourgeons du pommier. Ce besoin en froid est évalué en nombre d'heures où la température est inférieure à 7,2 °C (seuil de végétation), et varie de 600 à 1 000 heures selon la variété (Gautier, 1979). La qualité du froid est également importante : des températures de 2 à 4 °C pendant un certain temps peuvent s'avérer plus efficaces que des températures de 6 à 7 °C sur une période plus longue (Sapin, 1977). Les besoins en froid varient également en fonction de la précocité des variétés,

les variétés précoces nécessitant des seuils plus élevés (3 à 6 °C), tandis que les variétés tardives préfèrent des températures plus basses (0 à 3 °C) (Gautier, 1979).

Les besoins en froid diffèrent également selon le type de bourgeons. Selon Bidabe (1965), les yeux à bois ont des besoins en froid supérieurs à ceux des boutons à fleurs. Couville et al. (1984) ont observé que les bourgeons terminaux, qui ont les besoins en froid les plus faibles, sont responsables de la majorité de la croissance végétative (Gautier, 1979).

3.2.2.2. Les températures élevées

Les températures élevées influencent fortement la croissance du pommier. Ferauge et Smal (1979) indiquent qu'une différence de 2 °C peut accélérer le démarrage de la végétation, mais entraîner un ralentissement plus précoce de la croissance. De plus, la floraison est avancée de 15 jours et dure moins longtemps. L'impact des températures élevées sur la qualité des fruits est également significatif. Tromp (1949) a constaté que des températures de 24 °C en début de saison, sur une courte période, entraînaient une croissance rapide, produisant des fruits plus petits et moins riches en calcium (2 g de moins) par rapport à des fruits cultivés à 19 °C avec une croissance plus lente.

3.2.3. L'influence de la lumière.

La lumière influence la croissance annuelle du pommier. Bien que le rôle de la lumière réfléchi dans le verger n'ait pas encore été complètement établi. Proctor et Crowe (1983) ont montré qu'environ 17 % des radiations courtes incidentes sont réfléchies. Ces mêmes auteurs ont observé que l'ombrage, combiné à diverses techniques de couverture du sol, réduisait la croissance et la floraison de certains cultivars.

Ferree et Rome (1984) ont associé la lumière à la qualité des productions courtes (lambourdes, dards), indiquant que les meilleures productions se trouvent dans le tiers supérieur de la couronne. Barden (1977) a démontré qu'un ombrage de 80 % inhibe l'allongement des pousses, ainsi que la photosynthèse, la respiration et la distribution du poids sec et spécifique des feuilles.

Morshet et al. (1975) ont prouvé qu'une couverture du sol avec un matériau réfléchissant augmentait le poids, le diamètre et la couleur des fruits, ainsi que la teneur en sucres des fruits récoltés. De plus, le paillage plastique blanc a conduit à un accroissement significatif en

matière fraîche, en nombre de pousses et en bouquets floraux, comme l'ont montré Proctor et Crowe (1983).

4. La formation du fruit :

Selon Bidabe et al. (1971), l'évolution du fruit résulte d'une succession de plusieurs phases biologiques :

- une phase de multiplication cellulaire active ;
- une phase d'élongation cellulaire conduisant au grossissement final du fruit ;
- une phase de maturation physiologique, marquée par les processus biochimiques qui mènent à la maturité et à la sénescence du fruit

La maturation se manifeste par :

- la dégradation des pigments chlorophylliens ainsi que de certaines parois cellulaires ;
- la remobilisation des réserves d'amidon en sucres solubles ;
- l'augmentation de la production d'éthylène et de la respiration cellulaire, qui atteint son pic au moment de la crise climactérique (Travers, 2004).

A maturité, le fruit contient en moyenne 82 à 88%. 100 d'eau (Ulrich, 1952 in goutter, 1969).

Pour la commercialisation des pommes de table, une phase de maturation post-récolte est nécessaire au développement des arômes (Dixon et Hewett, 2000).

4.1. La variété « Golden Délicious ».

La Golden Delicious, également connue sous le nom de Yellow Delicious, est une variété d'origine américaine découverte en 1950 dans un verger du comté de Clay, à l'ouest de la Virginie. Elle est considérée comme un hybride fortuit entre la Red Delicious et la Grimes Golden (Robin et Bouhier de l'Ecluse, 1966).

L'arbre a une vigueur moyenne, il présente une végétation vigoureuse les premières années en milieu favorable, mais il se fatigue rapidement après quelques récoltes.

L'arbre fructifie de préférence sur jeune bois de 2 à 3 ans, sur lequel il donne ses meilleurs fruits, ainsi que sur des brindilles couronnées.

La mise à fruit est rapide, elle survient dès la troisième année.

L'arbre est très fertile et présente une tendance à l'alternance, d'où la nécessité de pratiquer des éclaircissements pour permettre la production de fruits de bon calibre.

La récolte est réalisée environ 150 jours après la floraison. En Algérie, la récolte a lieu entre le 10 et le 27 septembre (Sapin, 1977).

Le fruit de la Golden Delicious est de calibre moyen, allongé et régulier, parfois légèrement côtelé autour de l'œil. Son épiderme est lisse et de couleur jaune doré à maturité. Sa chair est croquante, fine, très juteuse, sucrée et peu acide, avec un parfum léger et agréable.

Les fruits sont très sensibles au « russeting », ou rugosité. Ils sont fragiles et se dégradent facilement lors des manipulations et du transport. Ils se conservent bien en chambre froide pendant 180 jours après la récolte (Gautier, 1978).



Figure 2 : Structure d'une pomme

5. Importance économique de la culture du pommier

5.1. Production mondiale du pommier :

Le pommier est présent sur tous les continents et constitue la première espèce fruitière cultivée dans les régions tempérées (Cyril, 2008). Les pommes sont cultivées sur 6,5 millions d'hectares, avec une production mondiale de 126 millions de tonnes, et on recense plus de 6 000 variétés FAOSTAT (2020).

Selon les estimations de la FAO (2023), la production mondiale de pommes est en augmentation (voir Tableau 01). La Chine est le premier producteur mondial, avec 81,0 millions de tonnes, et possède la plus grande surface de culture de pommes au monde, représentant environ la moitié de l'approvisionnement mondial. Elle est suivie par les États-Unis, la Turquie, la Pologne, l'Inde, l'Italie, l'Iran et la Russie. Parmi les pays de l'Union européenne (UE), les plus grands producteurs sont la Pologne, l'Italie, la France et l'Allemagne.

Le cultivar principal produit dans le monde est le « Golden Delicious » (Guettala, 2010). Les variétés les plus dominantes sont : Golden Delicious (21 %), Gala (11 %) et Idared (9 %) (Szot et al., 2022).

Pays	L'année 2021 (tonnes)	L'année 2022 (tonnes)	L'année 2023 (tonnes)
Chine	45984858	47573200	49603050
États-Unis d'Amérique	4568810	4524590	5151680
Pologne	4067400	4264700	3892700
Inde	2276000	2589000	2876000
Iran	2767822.26	1989734.04	2177336.96
Fédération de Russie	2215300	2379900	2083191.29
France	1633080	1785660	1894440
Turquie	4454479	4797322	4780894
Italie	2211740	2256240	2267750
Allemagne	1004630	1070980	941210

Tableau 1 : Les principaux pays producteurs de pommes en 2021 .2022.2023 (FAO2023)

5.2. Production national En Algérie :

Bien que la culture de la pomme soit principalement adaptée aux climats tempérés, l'Algérie, depuis son indépendance, intensifié ses efforts pour réduire les importations de ce fruit en optimisant la gestion des vergers, en améliorant les techniques de production et en augmentant les rendements (Soltani, 1998). En Afrique, l'Algérie fait partie des quatre principaux pays producteurs de pommes, aux côtés de l'Afrique du Sud, de l'Égypte et du Maroc, avec une production estimée à 5 588 297 quintaux en 2019. Cette production a augmenté de 11 %, malgré les défis liés au changement climatique, aux ravageurs et aux maladies fongiques, grâce à l'initiative ministérielle connue sous le nom de Plan national de développement agricole (PNDA). Ce programme soutient la culture des pommes dans les zones arides, semi-arides et montagneuses, dans le but d'accroître la production fruitière à l'échelle nationale (Abdesseme et al., 2022). À la suite de la mise en œuvre du Plan national de développement agricole (PNDA), la culture du pommier s'est étendue à plusieurs régions, notamment Batna, Khenchela, Mascara, Tiaret, Djelfa et Sidi Bel Abbès, qui représentent aujourd'hui les principales zones de production de pommes en Algérie (Abdesseme et al., 2022).

Cependant, la production de pommes en Algérie reste inférieure à celle des pays développés. Cette faiblesse des rendements peut être attribuée à plusieurs facteurs, parmi lesquels (Thabet, 2007) :

- L'insuffisance d'entretien des vergers ;
- La non-appropriation des techniques modernes d'arboriculture par les agriculteurs
- L'utilisation incohérente des porte-greffes et des variétés ;
- Le manque de maîtrise des pratiques de fertilisation, qui sont souvent réalisées de manière empirique, sans considération pour les caractéristiques physico-chimiques du sol.
- Détérioration des fruits par des agents pathogènes tels que les maladies fongiques.

Les incendies survenus ces dernières années, notamment en 2021, ont entraîné l'arrachage intensif des kilomètres des vergers de pommiers.

L'année	Production (Qx)	Superficie (ha)	Rendement (qx/ha)
2016	5008 547	40 312	124,2
2017	4942 388	39 115	126,4
2018	4878 081	33 653	145,0
2019	5588 297	32 989	169,4
2020	5668 235	33 025	171,6
2021	5 223 157	31 171	167,6
2022	5 232 715	30 850	169,6

Tableau 2 : Production du pommier en Algérie (2016 - 2022) (données du Ministère de l'Agriculture)

5.3. Production régional de la Wilaya du Mascara :

5.3.1. Situation géographique de Mascara

La région de Mascara, située au nord-ouest de l'Algérie, à une longitude de 2°11' Ouest et une latitude de 35°26' Nord, s'étend sur 5 941 km². Elle présente une vocation agricole marquée, en raison de ses caractéristiques particulières et de son important patrimoine naturel (Boualem, 2004).

La production de pommes est d'une grande ampleur dans la wilaya de Mascara. Cependant, d'après les données systémiques du tableau 3, les rendements et la production demeurent faibles et fluctuants à l'échelle de la wilaya. Ces variations peuvent être en partie expliquées par l'impact des maladies et des ravageurs, ainsi que par des contraintes climatiques et un manque de gestion phytosanitaire.

L'année	Production (Qx)	Superficie (ha)	Rendement (qx/ha)
2019	29500	408	72.30
2020	29400	407	72.23
2021	30100	413	72.88
2022	37550	392	95.79
2023	11065	414	26.73
2024	16623	412	40.35

Tableau 3: Production du pommier de la wilaya de Mascara (2019-2024) (DSA Mascara)

5.4. La production du pommier dans la plaine de Ghriss :

5.4.1. Situation géographique de la plaine de Ghriss – Mascara :

La plaine de Ghriss fait partie du bassin versant de l'oued Fekan qui s'étend sur une superficie de 1 185 km². Située dans le Nord-Ouest algérien, entre 35° 07' et 35° 31' de latitude N et entre 0° 0' et 0° 26' de longitude E, elle est limitée au nord par les monts de Béni Chougrane, au sud par les monts de Saida, à l'ouest par les monts de Bouhanifia et à l'est par le plateau de Tirenifine. Administrativement, la région dépend de la wilaya de Mascara (Bekkoussa et al., 2008), Elle comprend 12 communes : (Ghriss, Ain Fekan, Ghuerdjoum, Oued Taria, Tizi , Froha, Matemore, Sidi Boussaid , Maoussa , Tighennif , Hachem , Sidi Kada) .

La limite nord de la plaine se trouve à environ 50 km de la mer Méditerranée, tandis que la limite sud est située à environ 100 km de l'Atlas saharien. Cette position géographique la place sous l'influence combinée des climats méditerranéen et saharien. La zone d'étude se caractérise par un climat semi-aride marqué par une sécheresse récurrente. L'année est marquée par deux grandes périodes climatiques : une saison pluvieuse et sombre, s'étendant de novembre à avril, et une saison sèche et chaude, allant de mai à septembre. L'hiver, de décembre à février, est relativement froid (Bekkoussa et al., 2008 ; Hamimed A et al., 2017).

La plaine de Ghriss est reconnue pour la production de cultures maraîchères, de céréales ainsi que d'arboriculture telle que le poirier, le pommier, la vigne, la pêche et la prune. La culture du pommier bénéficie d'une grande importance pour de nombreux agriculteurs en raison de la demande des consommateurs et de l'adaptation de cette culture aux conditions pédoclimatiques locales.

Selon le tableau 7 (Annexe 1), les principales communes productrices de pommes dans cette région sont Maoussa et Matemore, qui affichent un rendement élevé, suivies de Tighennif et Sidi Kada.

Année	Superficie (ha)	Production(Qx)	Rendement(Qx/ha)
2020	62	8715	140.56
2021	64	9625	150.39
2022	65	8575	131.92
2023	68	10730	157.79
2024	106	10207	96.29

Tableau 4: Production du pommier dans la plaine de Ghriss (2019-2024) (DSA Mascara)

Les variations de rendement sont liées aux changements climatiques, aux incendies et aux maladies fongiques, en post-récolte.

5.4.2. Les facteurs climatiques de la plaine de Ghriss :

Les précipitations saisonnières, ainsi que les températures moyennes minimales du mois le plus froid (m) et les températures moyennes maximales du mois le plus chaud (M), peuvent influencer la croissance de la végétation et augmenter la production de pommiers.

5.4.2.1. Les précipitations

La pluviométrie moyenne annuelle calculée sur la période 2013- 2022 est de l'ordre de 450 mm. Le maximum de la pluviométrie se situe généralement au printemps avec des précipitations au mois de Mars à Avril avec un moyenne de 102,8 et 79,9 mm respectivement durant l'année 2022, et un mois de juin le moins pluvieux avec minimum de 6.2 mm. (Tableau 5, Annexe 1)

5.4.2. 2. Les températures

La variation de la température, tout comme les précipitations, constitue un facteur limitant intéressant pour le développement des cultures. Elle joue également un rôle essentiel dans la relation avec l'évapotranspiration, entraînant ainsi une augmentation de la consommation en eau des plantes (Benabdeli, 2013). La température moyenne de l'air peut atteindre 29,6 °C au mois de juillet (2020), avec une forte amplitude thermique à considérer, atteignant 29,4 °C en août (2021). La température maximale de l'air peut s'élever jusqu'à 43,8 °C en 2021 et 41,8 °C en 2022. En revanche, la température moyenne minimale annuelle la plus basse enregistrée est de -2,4 °C en janvier 2022.

5.4.2. 3.L'humidité relative

Un autre paramètre climatique essentiel pour la réussite de la production de pommiers. Elle influence la transpiration des végétaux et joue également un rôle sur le phénomène d'évapotranspiration (Benabdeli, 2013). L'humidité relative fluctue entre 34,3 % en Aout et 62,2 % en décembre de l'année 2022.

5.4.2. 4. Les vents

Les vents jouent un rôle important dans le dessèchement du sol et des plantes. La connaissance de leur direction, de leur intensité et de leur vitesse est essentielle pour choisir les brise-vents et les espèces adaptées (Benabdeli, 2013). Les valeurs mensuelles et annuelles de la vitesse du vent enregistrées à la station climatologique de Matemore sont présentées dans le (tableau 1, Annexe1).

Les vitesses sont relativement faibles et homogènes tout au long de l'année, avec une vitesse moyenne annuelle de 2,8 m/s en 2022.

5.4.2.5. Les phénomènes secondaires

Les phénomènes secondaires sont des facteurs climatiques avec une importance dans la réussite d'une production pomicoles (Benabdeli, 2013) ; on distingue :

- les gelées, dont les dégâts peuvent être évités par la fumigation ;
- la grêle, dont les chutes constituent un risque pouvant détruire les jeunes branches, notamment en hiver ;
- le brouillard, qui augmente l'humidité de l'air et favorise le développement des champignons ;
- et le sirocco, moins fréquent en été, mais pouvant être néfaste pour la production fruitière en desséchant les feuilles et les branches.

6. La récolte et la conservation en chambre froid :

La récolte des pommes se déroule généralement entre septembre et octobre, en fonction de la variété cultivée et des conditions climatiques (Métivier, 2015). Elle est effectuée à maturité commerciale, c'est-à-dire avant le déclenchement de la crise climactérique, une phase marquée par une augmentation de la respiration et de la production d'éthylène, qui accélèrent le processus de maturation du fruit (Mikol-Ségonne, 2015). Cette opération permet ainsi de ralentir le murissement.

La maturité des pommes est évaluée à l'aide d'indicateurs physico-chimiques (pH, degré Brix) et biochimiques (taux d'amidon). La récolte, effectuée manuellement selon des critères définis par l'exploitant, permet un tri initial au verger. Les fruits sont ensuite stockés dans des palox

et transportés vers un centre de triage, basé sur des critères organoleptiques et normatifs, est effectué avant le calibrage et le conditionnement (Métivier, 2015).

Après la récolte, les pommes subissent des opérations post-récolte telles que le lavage, le brossage et le cirage avant d'être stockées ou commercialisées. Ces étapes sont cruciales, car la récolte provoque un stress qui accélère leur maturation et réduit leur fermeté. Cette perte de fermeté est due à la dégradation des liaisons intercellulaires, causée par l'activité enzymatique des pectine-méthylestérases et des polygalacturonases, stimulée par l'éthylène (Johnston *et al.*, 2002) . Pour limiter la maturation et la perte de fermeté des pommes, le stockage à basse température (entre 0 et 4 °C) et à forte hygrométrie (entre 90 et 95 %) ralentit les réactions enzymatiques et évite la déshydratation. Cette méthode permet de prolonger leur conservation sur plusieurs mois. La phase finale de leur cycle de vie, appelée sénescence, se manifeste par une dégradation cellulaire et un stress oxydatif qui conduisent au pourrissement (Mikol-Ségonne, 2015).

Enfin, la qualité texturale du fruit est le résultat d'une organisation tissulaire qui se construit au cours de sa croissance et de sa maturation, influençant directement la perception de sa fermeté et de sa consistance lors de la consommation (Mikol-Ségonne, 2015).

7. Composition nutritionnel de la pomme :

La pomme, un fruit consommé depuis plusieurs millénaires, occupe aujourd'hui une place de premier plan à l'échelle mondiale, tant sur les plans culturel, économique que scientifique.

Ce fruit possède une composition nutritionnelle variée et équilibrée (voir le tableau 5) (Kebe, 2014). Avec un faible apport calorique (54 kcal pour 100 g), elle est souvent considérée comme un « fruit santé ». Elle est particulièrement riche en fibres alimentaires, dont la teneur varie de 3,0 à 4,0 g/100 g selon qu'elle soit consommée avec ou sans la peau. Ces fibres sont responsables de certains des effets bénéfiques de la pomme, notamment en ce qui concerne la régulation du taux de cholestérol (Kebe, 2014).

La pomme est également riche en eau, représentant plus de 85 % de sa masse totale. Ses calories proviennent principalement des sucres, en particulier du fructose (51 %), du saccharose (21 %) et du glucose (19 %).

Les fibres contenues dans les pommes affectent l'assimilation du glucose et des lipides, limitant le passage des nutriments à travers les membranes muqueuses ,et contribuant à

réduire le taux de cholestérol sanguin et le risque d'obésité (McDougall, Morrison et al., 1996). Les pommes sont également riches en composés phénoliques, dont les effets anticancéreux ont été observés in vitro contre la carcinogenèse, l'inflammation et le stress oxydatif (Lin et Weng, 2006 ; Le Marchand, 2002). De plus, il a été démontré que ces composés ont des effets bénéfiques sur les maladies cardiovasculaires, notamment en modifiant le rapport entre les lipoprotéines de haute densité et de basse densité (Lam, Zhang et al., 2008). L'augmentation du potentiel antioxydant du plasma après la consommation de pommes serait davantage liée à l'effet du fructose sur le métabolisme de l'acide urique qu'à la teneur en flavonoïdes (Lotito et Frei, 2004) (Verdu, 2013).

Composants (g)	Minéraux mg	Vitamines (mg)	Apports énergétiques
Glucides 12,6	Potassium 145	Vitamine C 5	K calories 54
Protéine 0,3	Phosphate 9,0	Provitamine A	K joules 226
Lipides 0,3	Calcium 4,0	$7,0 \times 10^{-2}$	
Acides organiques 0,6	Magnésium 4,0	Vitamine B1	
Fibres alimentaires 2,1	Sodium 3,0	$3,0 \times 10^{-2}$	
Eau 84,3	Fer 0,2	Vitamine B2	
	Cuivre 4×10^{-2}	$2,0 \times 10^{-2}$	
	Zinc 9×10^{-2}	Vitamine B3 0,3	
	Manganèse 3×10^{-2}	Vitamine B5 0,1	
		Vitamine B6	
		$5,0 \times 10^{-2}$	
		Vitamine B9	
		$1,2 \times 10^{-2}$	
		Vitamine E 0,5	

Tableau 5 : Rapport moyenne de composants nutritionnels pour 100 g de pomme de table (Demigne et al., 2003) (KEBE, 2014).

7.1. Impact du stockage sur la qualité de fruits :

Le stockage en atmosphère contrôlée (AC) est une technique complémentaire qui consiste à maintenir des niveaux d'oxygène faibles (2,5 à 3 %) et de dioxyde de carbone élevés (2,5 à 4,5 %). Ce procédé inhibe la production d'éthylène, réduit la respiration et ralentit le

métabolisme cellulaire, préservant ainsi les caractéristiques physico-chimiques des fruits, comme leur acidité et leur fermeté (Moras et Chapon, 1983 ; Masia, 1998 ; Métivier, 2015).

La gestion des paramètres du stockage a un impact crucial sur la qualité organoleptique, nutritionnel et sanitaire des pommes, lors de la conservation aux chambres froides, plusieurs paramètres interviennent :

7.1.1. L'atmosphère contrôlée (AC) :

L'atmosphère contrôlée (AC) est une technique de conservation qui permet de prolonger la durée de stockage des pommes jusqu'à 8 mois, en chambre froide classique, cette durée est limitée à deux à trois mois.

La gestion de la température de conservation est l'étape principale de la maintenance post-récolte des pommes. En général, les pommes sont stockées à la température la plus basse qu'elles peuvent tolérer. Cela permet de ralentir leur métabolisme, ce qui freine le processus de maturation et limite ainsi la dégradation de leur qualité, tout en évitant les risques de blessures causées par le froid (chilling injuries) (Séverine Gabioud et al., 2014).

Chaque variété de pomme a une plage de température optimale spécifique, généralement déterminée de manière empirique. Pour la majorité des cultivars, il est recommandé de maintenir une température comprise entre 0 et 3 °C (Buchele et al., 2024).

Atmosphère contrôlée(AC), consiste à ajuster précisément l'humidité (90-95%), l'oxygène (3.0%), le CO₂ environ (2.5%) et la température (environ 0- 1°C) ralentissant ainsi la respiration des pommes de variété Golden Delicious, le murissement et la perte d'eau (Panagiotis et al., 1998).

Selon Ul Hasan et al. (2024), les conditions de stockage telles que l'humidité et la température peuvent influencer la perte d'eau, qui est un indicateur de flétrissement des pommes par la perte de poids et la fermeté et affecte sur la qualité marchande (organoleptique) des pommes. Les mécanismes physiologiques responsables de la perte d'eau incluent la perméabilité de la cuticule, la présence de lenticelles et de microfissures, qui facilitent la transpiration et aggravent les désordres de la peau.

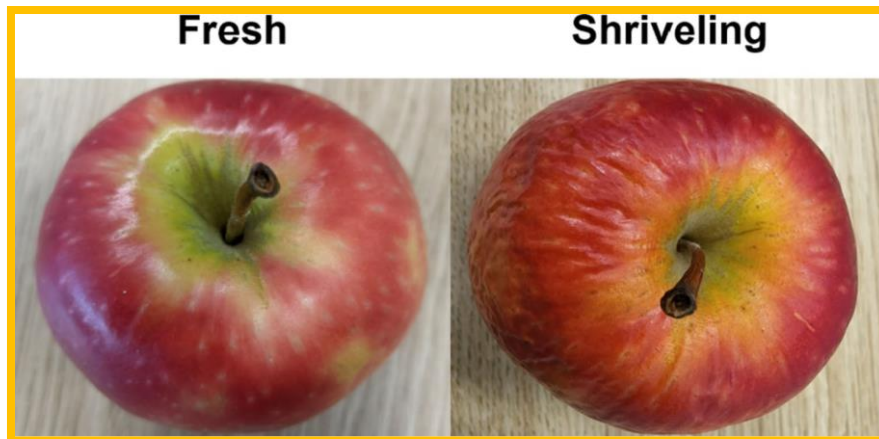


Figure 3 :Les signes de perte d'eau de pomme aux cours de poste récolte Ul Hasan et al. (2024)

7.1.2. Gestion d'éthylène:

La pomme est un fruit climactérique dont la maturation est fortement influencée par l'éthylène, entraînant divers changements physiologiques tels que la perte de fermeté, la modification de la couleur, l'émission d'arômes et l'évolution du goût. Ces transformations réduisent la durée de conservation et la valeur commerciale du fruit. La date de récolte joue un rôle crucial dans la qualité et la capacité de stockage : une récolte trop précoce altère la coloration et le goût, tandis qu'une récolte tardive accroît les risques de désordres physiologiques. Une récolte au stade physiologique optimal permet une meilleure conservation, mais sa réalisation peut être compromise par des contraintes externes telles que la météo ou le manque de main-d'œuvre. Donc l'atmosphère contrôlée (AC) permet de limiter ce phénomène, préservant la fermeté et les qualités gustatives (Séverine Gabioud et al., 2014 ; Małachowska et al., 2023).

7.1.3. Prévention en poste récolte :

- La désinfection des chambres, nettoyage en profondeur des sols, des murs, des plafonds et des étagères.
- Rinçage des pommes à l'eau propre avant le stockage pour éliminer le sol, les débris des végétaux et les spores fongiques du sol.
- Triage des pommes blessés, piqués, pourris (source de contamination fongique, notamment par *Botrytis*, *Penicillium* ou *Monilia*), ou par les ravageurs (carpocapses)
- Utilisation d'un traitement post-récolte, un fongicide homologuée ou l'utilisation de 1-MCP (1-méthylcyclopropène) pour inhiber l'éthylène (Buchele et al., 2023).

7.1.4. Maladies au cours de la conservation:

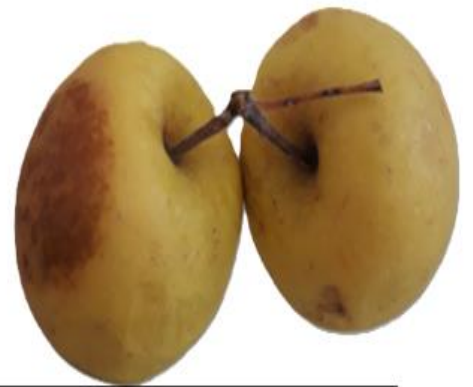
Il est estimé que plus d'un tiers des fruits et légumes récoltés sont perdus à cause des infections pathogènes, que ce soit au champ ou après la récolte, entraînant des pertes économiques importantes (Alhassanavi et al., 2023). Certaines maladies, en effet, ne se manifestent qu'en post-récolte, provoquant des dégradations progressives et une baisse significative de la qualité des fruits durant le stockage. Ainsi, pour éviter la contamination des fruits par des agents pathogènes. Il est nécessaire d'appliquer un traitement préventif avant la récolte (**Tableau 8 : Annexe 1**), ainsi qu'une gestion rigoureuse et adaptée après la récolte.

Ces mesures prophylactique permettent de limiter la prolifération des maladies, de réduire les pertes post-récolte et de préserver la qualité commerciale des fruits.

Nom commercial	Matière active(s)	Usage (culture/stockage)	Famille chimique
Captan 50 valles	Captan	Culture (tavelure, pourritures)	Phtalimide
Switch	Cyprodinil + Fludioxonil	Stockage (pourritures)	Anilinopyrimidine +Phénylpyrrole
Bellis	Boscalid +Pyraclostrobine	Stockage (pourritures)	Carboxamide + Strobilurine
THISAN 80 WP	THIRAME	Tavelure / moniliose / Cloque	Dithiocarbamate
Flint	Trifloxystrobine	Culture (tavelure, oidium)	Strobilurine
CYMODIN	PROCYMIDONE	Moniliose	

Tableau 6 : Fongicides homologués pour la culture et la conservation des pommes utilisée dans la région de la plaine de Ghriss (extrait de l'INDEX PRODUITS PHYTO 2017)

CHAPITRE II



GÉNÉRALITÉ SUR CHAMPIGNONS

Généralité sur les champignons

Introduction

Le règne des champignons représente une vaste diversité de taxons, caractérisés par des morphologies, des écologies et des cycles biologiques très variés. Selon plusieurs études, le nombre d'espèces fongiques est estimé entre 1,5 et 5,1 millions, bien que seulement 5 à 6 % de ces espèces aient été authentifiées par des descriptions taxonomiques formelles. Cependant, avec les progrès de la phylogénie moléculaire, cette estimation a considérablement évolué, atteignant désormais environ 12 millions d'unités taxonomiques fongiques (Chamekh, 2021). Actuellement, environ 100 000 espèces sont recensées, dont une centaine sont pathogènes pour l'homme. Ce groupe, composé d'espèces qui ont évolué pour adopter des modes de vie extrêmement diversifiés, est désormais reconnu comme un règne distinct (Rihani, 2018). Après la classification des êtres vivants en cinq règnes Animalia (Animal), Fungi (Champignon), Plantae (Végétal), Protista (Protistes) et Monera (Monères) Prokaryotes (Procaryotes) –, les champignons ont acquis une reconnaissance particulière dans cette hiérarchie taxonomique » (Whittaker, 1969). Les termes Fungi ou Mycota désignent l'ensemble des champignons véritables, également appelés Eumycota (Chamekh, 2021).

Les champignons sont des organismes eucaryotes, hétérotrophes, pouvant être unicellulaires ou filamenteux, et dépourvus d'organisation tissulaire et de chlorophylle. Par conséquent, ils dépendent des composés organiques comme source de carbone, étant incapables de réaliser la photosynthèse (Gahfif, 2021 ; Chamekh, 2021). Leur mode de vie consiste à se nourrir en tant que parasites, saprophytes ou symbiotes (Rihani, 2018).

Les champignons se développent principalement en conditions aérobies et à des températures comprises entre 0 et 50°C, la température optimale de croissance étant généralement située entre 20 et 27°C. Les champignons exercent différentes actions sur leurs hôtes, favorables (fermentation, fertilisation, synthèse), ainsi que défavorables (maladies végétales, animales ou humaines) (Rihani, 2018). Les champignons jouent un rôle crucial non seulement sur le plan sanitaire et industriel, mais aussi sur le plan économique en raison de leurs propriétés métaboliques. Ils occupent un espace essentiel parmi les micro-organismes du sol, constituant 75 % de la biomasse microbienne. En outre, ils ont une fonction primordiale dans les cycles biochimiques du carbone et de l'azote, en contrôlant la dégradation de la matière organique et l'accès aux nutriments (Gahfif, 2021).

En raison de leur capacité à coloniser divers milieux naturels, tels que le sol, l'air et l'eau, les champignons jouent un rôle crucial dans le maintien de l'équilibre des écosystèmes. Ils sont également essentiels à l'écologie terrestre en contribuant au recyclage de la matière organique morte, facilitant ainsi la dégradation et la transformation des déchets organiques (Rihani,2018 ; Gahfif , 2021).

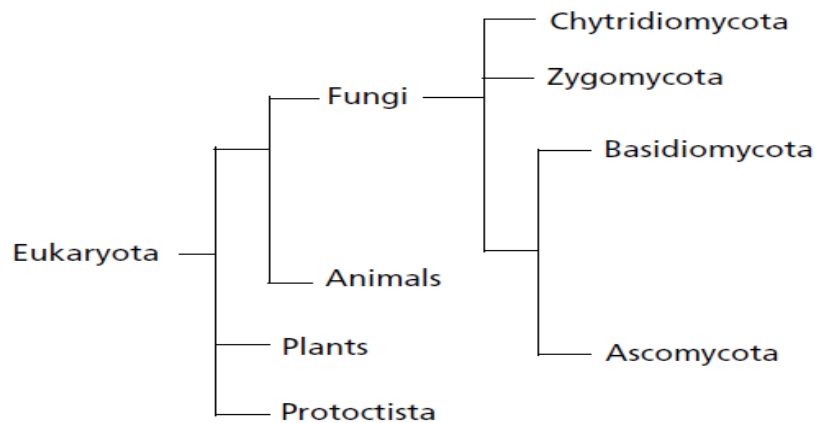


Figure 4 :L'origine phylogénétique commune entre le règne des champignons et des animaux (Chamekh, 2021).

2. Développement des champignons

Les champignons se reproduisent par voie sexuée ou asexuée dans leur cycle de vie. Ces particularités sont à la base de la classification des espèces fongiques, notamment la diversité de leur mode de développement.

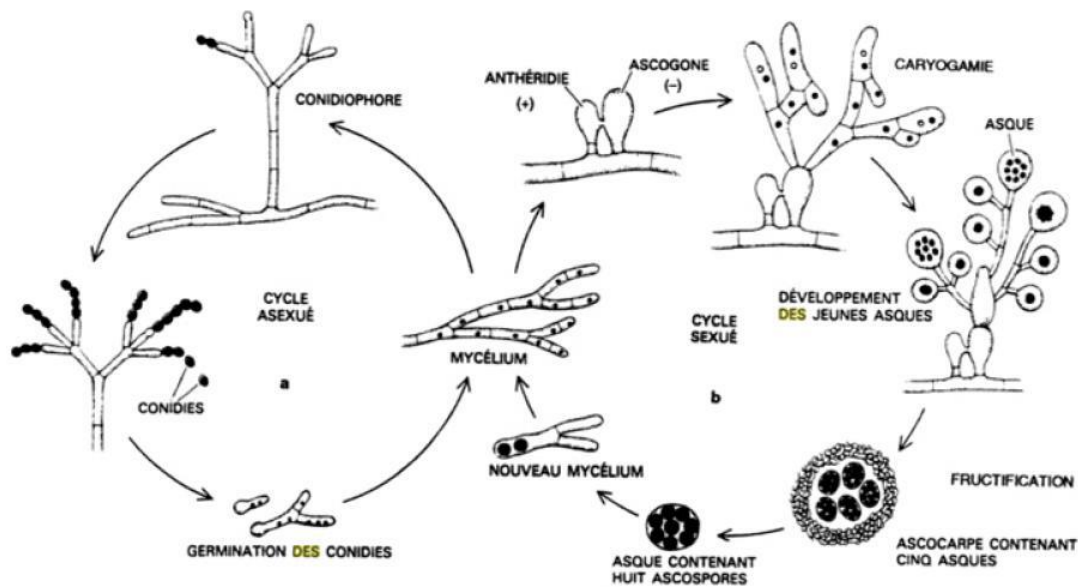


Figure 5: Schématisation du mode de reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure (Aurélié LECÉLLIER, 2013)

2.1. Reproduction sexuée

La reproduction sexuée s'effectue par la fusion de deux cellules spécialisées, appelées gamètes. Ce processus implique l'interaction de deux mycéliums ayant des polarités sexuelles opposées, conduisant à leur rencontre et à la création d'un nouveau mycélium possédant $2n$ chromosomes, résultant de la fusion des cytoplasmes.

Les cycles de vie varient d'une espèce de champignon à l'autre, en fonction du type de spores qu'ils produisent (Rihani, 2018). Comme les autres organismes vivants, les champignons sont subdivisés en différentes catégories : classes, ordres, familles, genres et espèces. Les principaux quatre groupes définis sont : les chytridiomycètes, les zygomycètes, les basidiomycètes et les ascomycètes (Ghorri, 2015).

2.2. Reproduction asexuée

La reproduction asexuée des moisissures varie selon les espèces : par bourgeonnement (comme chez les levures), par individualisation d'un hyphé ou par formation de spores asexuées. Ce mécanisme, appelé sporulation, correspond à la production de spores, petites cellules déshydratées, par des structures spécialisées du mycélium. Ces spores, mesurant entre 2 et 250 μm , sont protégées par une paroi résistante, et peuvent parfois être volatiles. Elles se forment dans des organes de fructification spécialisés (figure 4), tels que les sporanges (structures qui libèrent les spores par éclatement) ou les conidiospores (produites à

la surface de l'organe de fructification) (Lecellier, 2013 ; Rihani, 2018). Ces spores permettent la dissémination et la colonisation de nouveaux substrats organiques.

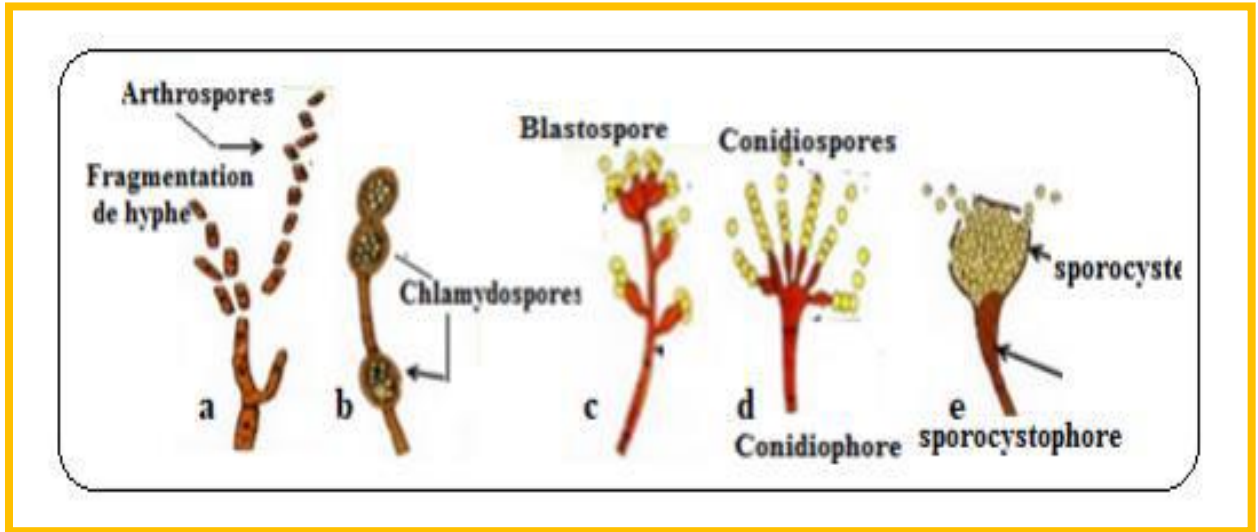


Figure 6: Formation des différents types de spores asexuées Sadika ,2023

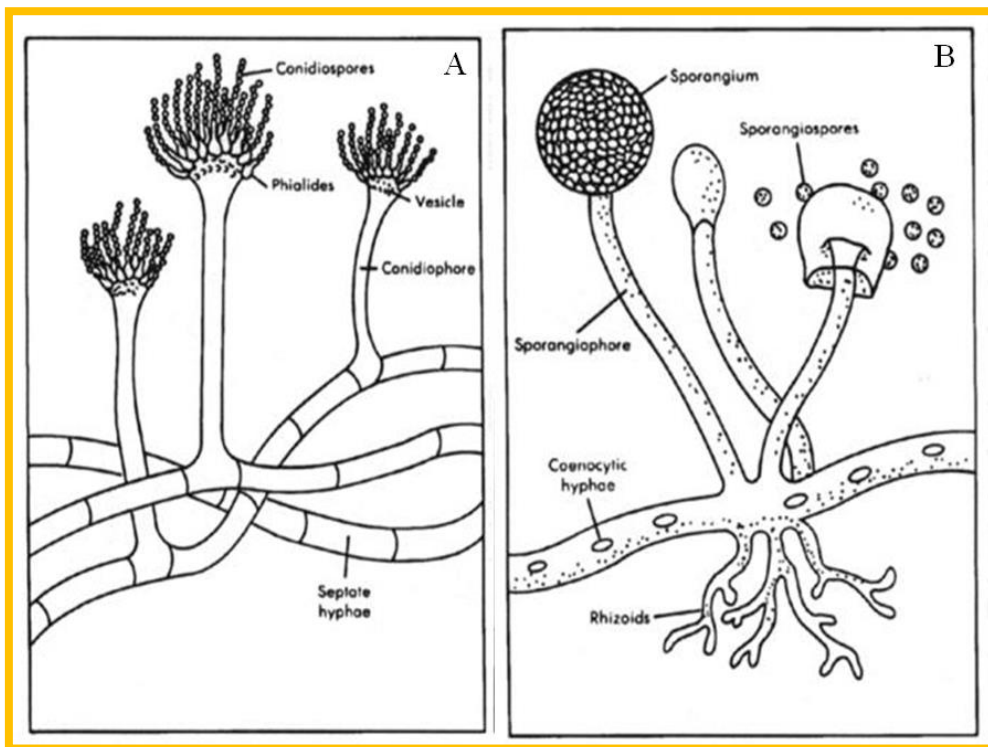


Figure 7 : Illustration des deux types d'organes de fructifications : les conidiospores du genre Aspergillus (A) et les sporanges du genre Rhizopus (B) (Lecellier, 2013)

3. Techniques de l'identification des champignons

3.1. Identification phénotypique

Les méthodes classiques d'étude des champignons sont basées sur la culture conventionnelle et l'identification microscopique. Cependant, de légères modifications dans la composition des milieux de culture peuvent empêcher une comparaison précise des caractéristiques mycéliennes. L'identification phénotypique d'une espèce fongique est effectuée à partir de l'observation des caractères cultureux, morphologiques et physiologiques (Alwakeel, 2013; Chamekh, 2021).

Les critères macroscopiques des caractères cultureux comprennent plusieurs paramètres, tels que la vitesse de croissance apicale, la texture, l'épaisseur et la couleur des colonies, l'apparence des contours et de leur revers, la pigmentation du milieu de culture, la production d'exsudats, l'odeur des colonies, ainsi que leur aspect et leur taille.

Les critères microscopiques dépendent principalement de l'examen détaillé des structures morphologiques des champignons. Les caractères mycéliens comprennent l'absence ou la présence de cloisons, la couleur, la taille et l'ornementation, ainsi que les caractères morphologiques du thalle telles que le type de thalle (septé ou non), la couleur des hyphes (foncée ou claire) et à des organes reproducteurs sexués ou asexués, forme des spores, origine des spores (endogène ou exogène) (Alwakeel, 2013; Rihani, 2018; Chamekh, 2021)

Cette étude phylogénétique nécessite un délai de maturation suffisant pour que les thalles fongiques acquièrent un aspect caractéristique et que les fructifications spécifiques se développent, un processus qui peut parfois prendre plusieurs semaines selon les espèces.

En outre, les différences morphologiques des espèces fongiques sont parfois très faibles et ne peuvent être interprétées que par des mycologues experts. Par conséquent, cette méthode traditionnelle peut s'avérer longue, complexe et souvent imprécise, ce qui démontre l'importance d'utiliser des techniques alternatives (Quero, 2018).

3.2. Identification moléculaire

L'identification moléculaire des champignons, basée sur l'ADN et notamment sur l'utilisation du marqueur ITS (Internal Transcribed Spacer), représente une méthode rapide et pertinente pour la détermination des espèces fongiques.

Bien que l'ITS soit largement utilisé comme standard universelle, il peut être insuffisant pour différencier certaines espèces étroitement apparentées, en particulier dans le cas des genres

Alternaria, *Aspergillus* et *Fusarium*. Pour surmonter cette limitation, d'autres marqueurs génétiques, tels que les gènes codant pour la grande sous-unité ribosomale (LSU), la petite sous-unité (SSU), β -tubuline (BenA), calmoduline (CaM) et le facteur d'élongation (α -TEF1) Tableau (7), sont utilisés seuls ou en combinaison pour préciser l'identification et établir les relations phylogénétiques des espèces fongiques. (Quero, 2018; Chamekh, 2021).

Ces techniques performantes impliquent des étapes complexes telles que l'extraction de l'ADN, la PCR, le séquençage et la comparaison des séquences produites avec des bases de données telles que GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank) ou Fungal Barcoding (<http://www.fungalbarcoding.org>), afin de vérifier leur similarité avec les séquences présentes dans la base de données et d'orienter l'identification.

Cependant, ces approches restent fastidieuses et nécessitent une expertise considérable. Des techniques alternatives, telles que la spectrométrie de masse MALDI-TOF et les spectroscopies Raman et infrarouge, représentent des solutions intéressantes pour l'identification économique et rapide des champignons filamenteux (Quero, 2018).

3.3. Identification spectrométrie de masse MALDI-TOF :

La spectrométrie de masse, une technique couramment utilisée en chimie, a été appliquée pour la première fois à l'identification bactérienne en 1975. Toutefois, ce n'est qu'à partir des années 1980 et 1990, avec l'introduction de techniques d'ionisation "douces" comme le Matrix

Genre fongique à identifier	Gène ciblé
<i>Aspergillus</i>	β -tubuline et calmoduline
<i>Cladosporium</i>	β -tubuline, actine et facteur d'élongation α
<i>Fusarium</i>	Facteur d'élongation α
<i>Mucor</i>	Actine et facteur d'élongation α
<i>Penicillium</i>	β -tubuline
<i>Talaromyces</i>	β -tubuline et RPB2

Tableau 7 : Marqueurs génétique à séquencer pour l'identification de différentes espèces fongiques (Quero, 2018).

Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI) et l'Electrospray Ionization (ESI), que l'analyse de protéines intactes est devenue possible (Quero, 2018; Herault, 2021).

La spectrométrie de masse MALDI-TOF est particulièrement utile pour l'identification bactérienne, levures et champignons. Elle associe une source d'ionisation par laser et un analyseur à temps de vol (TOF), ce qui permet de mesurer la masse des ions générés et de les séparer en fonction de leur rapport masse/charge (m/z) (Figure7) (Herault, 2021).

En spectrométrie de masse, généralement les échantillons fongiques sont mélangés à une matrice l'acide 2,5-dihydroxybenzoïque (DHB) ou l'acide α -cyano-4-hydroxycinnamique (CHCA) qui favorise la cristallisation et l'ionisation des molécules (Quero, 2018). La matrice, choisie en fonction du type d'échantillon, transfère l'énergie de la source d'ionisation vers l'échantillon ciblé (voir tableau 8) (Suarez, 2013).

Bien que l'acidité de la matrice soit souvent suffisante pour lyser la plupart des microorganismes, une extraction préalable, généralement à l'acide formique et à l'acétonitrile, est conseillée pour les champignons filamenteux. Cette étape supplémentaire est recommandée en raison de la structure particulière de leur paroi cellulaire, qui se caractérise par son épaisseur et sa résistance (Quero, 2018).

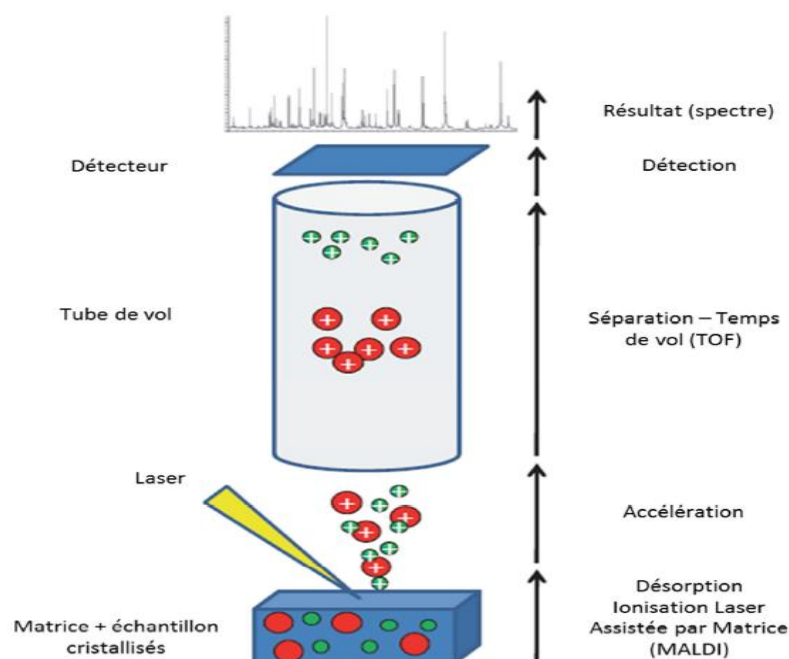


Figure 8 : Principe de fonctionnement d'une spectrométrie de masse MALDI-TOF (Quero, 2018)

Lors de l'analyse, l'énergie du laser est absorbée par la matrice, ce qui entraîne la désorption et l'ionisation des molécules. Les ions ainsi générés sont ensuite séparés en fonction de leur

rapport masse/charge (m/z) dans l'analyseur TOF, où ils sont détectés pour produire un spectre de masse (Herault, 2021).

Chromophore matrix(es) ^a	Sample type(s) analyzed
PA, HPA, 3-aminopicolinic acid	Oligonucleotides, DNA, and biopolymers
DHB	Oligosaccharides
CCA	Peptides and triacylglycerol
SA	Proteins
HABA	Peptides, proteins, glycoproteins
MBT	Peptides, proteins, synthetic polymers
DHAP	Glycopeptides, phosphopeptides
THAP	Oligonucleotides

^a PA, picolinic acid; HPA, 3-hydroxypicolinic acid; SA, 3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamic acid; HABA, 2-(4-hydroxyphenylazo)benzoic acid; MBT, 2-mercaptobenzothiazole; DHAP, 2,6-dihydroxyacetophenone; THAP, 2,4,6-trihydroxyacetophenone.

Tableau 8: Les principales matrices utilisées selon l'échantillon analysé pour la spectrométrie MALDI-TOF (Suarez, 2013)

L'efficacité de cette technique repose sur la qualité des bases de données spectrales, qui doivent inclure des spectres générés à partir de souches bien cultivées et identifiées dans des conditions contrôlées. Par ailleurs, la variabilité des spectres influencée par des facteurs tels que l'âge des colonies ou le milieu de culture utilisé, exige l'obtention de scores d'identification suffisamment élevés pour garantir une identification fiable (Simon, 2020).

En conclusion, la spectrométrie de masse MALDI-TOF représente une méthode rapide, fiable et économique pour l'identification des champignons filamenteux, à condition de disposer de bases de données spectrales complètes et bien structurées (Patel, 2019).

4.1. Criblage enzymatique :

Le criblage de l'activité enzymatique est une technique qui permet de détecter la capacité des champignons à produire certaines enzymes, telles que les cellulases, lipases, amylases, et protéases, et d'évaluer leur aptitude à dégrader des substances complexes comme la cellulose et la lignine.

Le criblage enzymatique repose sur l'ajout d'un substrat spécifique pour chaque enzyme au sein du milieu de culture. Ce substrat agit comme une source de carbone, et l'activité enzymatique est détectée par des réactions visibles, telles que la formation d'un halo clair ou d'une précipitation autour des colonies après l'incubation (Chamekh, 2021).

Les espèces fongiques sont capables d'utiliser divers substrats tels que les féculents, les matières grasses et les protéines, y compris la pectine, la kératine, la chitine, la lignine, la cellulose et l'hémicellulose, comme sources de carbone (Chamekh, 2021; Gahfif, 2021). Les principaux genres de moisissures productrices d'enzymes lignocellulolytiques appartiennent aux groupes des Ascomycètes et des Basidiomycètes. Parmi ces moisissures, les genres *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, et *Phanerochaete* sont reconnus comme les meilleurs producteurs de cellulases (Gahfif, 2021). Ces champignons jouent un rôle crucial dans la dégradation de la lignocellulose, un processus essentiel pour des applications biotechnologiques, telles que la valorisation de la biomasse à travers sa transformation en bioénergie et la production de bioproduits. Les enzymes qu'ils sécrètent, notamment les cellulases, sont utilisées dans divers secteurs, tels que l'agriculture, l'alimentation et le traitement des déchets (Baldrian et Valášková, 2008).

5. Les maladies fongiques responsables de la détérioration des pommes en post récolte

Les champignons sont à l'origine d'une grande partie des maladies végétales affectant principalement les cultures agricoles. En effet ils provoquent environ 70 % des principales maladies connues dans ce secteur (Alwakeel, 2013).

Les maladies de conservation des fruits à pépins occasionnent encore des pertes importantes qui peuvent atteindre 25% des fruits (El Hamouchi, 2011). Celles ayant une valeur commerciale élevée restent vulnérables aux infections causées par des champignons pathogènes filamenteux lorsqu'elles sont exposées à des conditions ambiantes pendant leur transport ou leur stockage (Sun et al., 2019). Ces contaminations peuvent être visuellement identifiables grâce aux moisissures saprophytes qui apparaissent sur la surface des fruits. Parmi ces agents pathogènes figurent plusieurs genres notables tels qu'*Aspergillus*, *Botrytis*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Mucor* et *Alternaria* (Bento de Carvalho et al., 2024).

Ces pertes sont plus élevées, en terme économique, que celles observées au champ, du fait que les coûts de récolte, de transport et de stockage s'additionnent au coût global de la production (El Hamouchi, 2011).

Pour assurer une disponibilité continue tout au long de l'année, les pommes sont conservées plusieurs mois. Cependant elles demeurent très vulnérables aux dommages causés par la décomposition durant cette période. Bien que le stockage à froid et les traitements fongicides soient très efficaces pour prolonger la durée de conservation des pommes (El Hamouchi, 2011; Sun et al., 2019)

Durant le stockage, les pommes sont très sensibles à la pourriture causée par des agents pathogènes post-récolte (Schiavon et al., 2023). Ils sont dus dans la majorité des cas à des pathogènes d'origine fongique, près de 90 espèces ont été identifiées comme agents de pourritures des pommes en conservation (El Hamouchi, 2011). Ces pertes dues aux agents pathogènes fongiques sont estimées entre 5 et 25 % de la quantité initiale (Vico et al., 2014 ; Błaszczuk et al., 2022 ; Schiavon et al., 2023), et peuvent varier entre 0,25 % et 70 % (Mahmood Ul Hasan, 2023).

Dans certains cas extrêmes ou en l'absence d'une gestion appropriée, ces pertes peuvent atteindre jusqu'à 60 % en pays en développement (Copetti, 2019).

Cependant, il est important de noter que ces chiffres peuvent varier considérablement selon plusieurs paramètres tels que la variété cultivée, les pratiques agricoles locales, les conditions du verger, la maturité du produit récolté, la région de culture et les conditions d'entreposage ainsi que l'utilisation efficace ou non des traitements antifongiques appliqués avant et durant le stockage et la durée de conservation (Copetti, 2019; Mahmood Ul Hasan, 2023).

Les principaux agents pathogènes impliqués incluent *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea* et *Alternaria alternata*, qui sont responsables d'une grande partie du pourrissement observé chez les pommes après récolte (Copetti, 2019; Khadiri et al., 2024).

D'autres champignons peuvent attaquer les pommes en poste récolte sont : *Monilinia fructigena* et d'autres du même genre *Monilinia* spp (Brown rot), *Colletotrichum* spp. (bitter rot), *Mucor* spp, *Rhizopus* spp (Copetti, 2019). Ainsi que *Venturia inequalis* et des espèces fongiques du genre *Botryosphaeria*, *Mucor*, et *Penicillium* (Habib et al., 2021), *Xylaria*, et *Rhizopus oryzae* (Alwakeel, 2013). D'autres études ont révélé que les agents fongiques fréquents sur les pommes stockées sont : *Cladosporium* spp., *Acremonium*, *Aureobasidium*, *Cryptococcus*, et *Sporobolomyces* (Alwakeel, 2013).

Deux autres pathogènes ont été détectés sur les pommes stockées aux Etats-Unis :

Sphaeropsis pyriputrescens et *Phacidiopycnis washingtonensis* (Habib et al., 2021).

D'après Guo et al. (2021), les agents fongiques qui détériorent les pommes sont *Aspergillus niger* (*A. niger*), *Penicillium expansum* (*P. expansum*), *Alternaria alternata* (*A. alternata*), *Penicillium digitatum*, *Rhizopus stolonifer*, et *Penicillium chrysogenum* (*P. chrysogenum*). En outre, d'autres genres tels que *Diplodia seriata*, *Diplodia bulgarica*, *Botryosphaeria dothidea*, *Neofusicoccum parvum*, et *Diaporthe feoniculina* sont reconnus comme d'importants

pathogènes causant le chancre des branches des pommiers et la pourriture des pommes aux Etats-Unis (Phillips, 2012).

Parmi tous les agents responsables des pourritures post récoltes, *Penicillium expansum* est celui qui provoque le plus souvent une dégradation entraînant des pertes pouvant atteindre jusqu'à 50% pendant le stockage (Mahmood Ul Hasan , 2023). *Penicillium expansum* est l'agent responsable de la pourriture post récolte, bien que d'autres espèces du même genre puissent également être impliquées (Barkai-Golan, 2008). L'identification précise des différentes espèces de *Penicillium* s'avère difficile due à leurs similitudes morphologiques. En effet plusieurs autres espèces comme *P. solitum*, *P. commune*, ou encore *P. verrucosum* peuvent provoquer ce type d'infection fongique avec symétrie visuelle similaire rendant ainsi leur distinction laborieuse sans recours aux méthodes moléculaires ou biochimiques avancées (Vico et al., 2014). Aussi , la pourriture gris causée par l'agent fongique *Botrytis cinerea Persoon* est responsable de la détérioration des fruits en poste récolte (Schiavon et al ., 2023). Le genre *Alternaria* comprend des champignons de détérioration à croissance rapide principalement présents lors des processus post-récolte et du stockage (mais aussi avant la récolte) , et a été détecté dans les pommes, tomates, bleuets et cerises (Bento de Carvalho et al ., 2024)

5.1 .Effet des agents pathogènes fongiques sur la qualité des pommes :

Les champignons filamenteux, tels qu'*Aspergillus* et *Penicillium*, produisent des structures comme l'hyphe ou le mycélium qui envahissent profondément divers aliments. Cette invasion conduit à une altération visible par le développement de moisissure ou des changements chromatiques indésirables. De plus ces micro-organismes diverses enzymes extracellulaires, notamment des protéases pour dégrader les protéines, des lipases pour attaquer les graisses et des amylases pour casser les molécules glucidiques complexes. Ces enzymes provoquent des changements physico-chimiques qui affectent la texture, le goût et l'odeur des produits alimentaires concernés (Pouris et al ., 2024). Ces infections entraînent non seulement leur pourriture mais aussi diverses altérations telles que décoloration, apparition d'arômes désagréables, diminution qualitative nutritionnelle ainsi qu'une contamination potentielle par mycotoxines. Ces changements compromettent considérablement leurs qualités marchandes (Sun et al., 2019). Outre les effets de la température élevée et de l'humidité relative, les champignons produisent des enzymes pectiques qui dégradent la pectine des pommes, exposant ainsi les nutriments cellulaires aux champignons (Alwakeel, 2013).

Les champignons de ces différents genres, tel que *Penicillium*, *Botrytis* et *Alternaria*, sont impliqués dans la détérioration des pommes, affectant leurs caractères morphologiques et biochimiques (Yahaya et Sule, 2024). Les pommes sont parmi les fruits les plus riches en nutriments et en sucres, qui servent à la prolifération et à la croissance rapide des champignons pathogènes. Ces derniers dégradent la pectine par leurs enzymes et exportent les nutriments des cellules des pommes vers eux (Yahaya et Sule, 2024). Ces processus biochimiques ont un impact significatif sur la qualité finale du produit alimentaire en raison non seulement de leur capacité à modifier son apparence mais aussi sa valeur nutritionnelle globale.

La contamination fongique dans les pommes, notamment par des espèces des genres *Penicillium*, *Alternaria* ou *Fusarium*, augmente le risque d'accumulation de mycotoxines.

Ce risque s'intensifie si ces espèces mycotoxigènes peuvent se développer pendant le stockage à des températures de réfrigération. La contamination des pommes par des espèces fongiques toxigènes présente un risque pour la santé des consommateurs (Copetti, 2019).

La pourriture bleue est l'un des problèmes post récolte les plus significatifs économiquement dans le monde, affectant sérieusement la qualité et le rendement des pommes (Li et al., 2023). Cette maladie entraîne d'importantes pertes financières lors du stockage et affecte également les fruits destinés à la transformation, notamment en raison de la production de patuline, une mycotoxine cancérigène (Barkai-Golan, 2008).

Le genre *Alternaria* produisent plusieurs métabolites secondaires environ 70, dont des phytotoxines et des mycotoxines (Copetti, 2019; Bento de Carvalho et al., 2024).

Les alternariols sont génotoxiques et mutagènes, liées à une incidence élevée de cancer de l'œsophage en Chine (Copetti, 2019), tandis que l'acide tenuazonique, qui est la plus pertinente en raison de son effet nocif sur la synthèse protéique eucaryote ainsi que de son potentiel mutagène, et toxique pour les animaux et associé à des troubles hématologiques humains en Afrique (Copetti, 2019; Bento de Carvalho et al., 2024).

Mahmood Ul Hasan, (2023) ont rapport que le contrôle des conditions de stockage, notamment la température et l'humidité, peut limiter la détérioration fongique et préserver la qualité nutritionnelle des pommes, notamment sa composition en composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les anthocyanes, les composés phénoliques et les antioxydants pendant la période post récolte.

Les implications économiques des pertes post-récolte dues à la détérioration fongique nécessitent une étude approfondie de l'identification et de la caractérisation de ces agents fongiques (Yahaya et Sule, 2024). Ainsi la détermination de son pouvoir de sécrétion des métabolites tels que les enzymes ou les mycotoxines (voir le Tableau 9)

Espèces fongiques	Sécrétion d'enzymes	Sécrétion de mycotoxines
Penicillium sp Penicillium expansum	Protéase, lipase, amylase (Pouris et al., 2024) Cellulase (Gahfif, 2021)	Citrinin, Patuline (Bento de Carvalho et al., 2024). Ochratoxin A (Bento de Carvalho et al., 2024).
Aspergillus sp Aspergillus flavus Aspergillus niger	Protéase, lipase, amylase (Pouris et al., 2024) Cellulase (Gahfif, 2021).	ochratoxin A , Patuline (Bento de Carvalho et al., 2024). Aflatoxins : AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 (Ismail et al., 2021)
Alternaria alternata	Cellulase (Sohail et al., 2011) Cutinase (Ma et al., 2019) Glucoamylase (Durr-e- Nayab et al., 2022)	l'acide tenuazonique, alternariol ,alternariol mono-methyl ether , Altenuene , Tentoxin , Alvertoxins (Copetti, 2019)
Fusarium	Cellulase, Pectinase, Xylanase, lipase, β -glucosidase , protease (Perincherry et al., 2021) chitinase (Maryam et Abbas, 2021)	Fumonisins, Trichothecenes (Bento de Carvalho et al., 2024).
Botrytis	Pectinase (Shah et al., 2009), Cellulase, Hémicellulase (Porquier,	Non determine

	2016), Laccase (Slomczynski et al., 1995)	
--	---	--

Tableau 9 : L'effet des agents pathogènes fongiques sur la qualité des pommes en poste récolte

6. Moyens de lutte contre les maladies de postes récolte

Afin de prévoir et réduire le développement des pourritures des fruits en conservation, il est conseillé d'associer des mesures préventives, telles que les traitements avant et/ou après récolte, à des conditions de conservation appropriées (El Hamouchi, 2011).

6.1. Mesures préventives

Pour contrôler efficacement les maladies de conservation des fruits, il est essentiel de mener des mesures préventives sur deux principaux fronts : avant récolte et après la récolte

6.1.1. Mesures préventives avant récolte (au verger) :

Afin d'éviter la propagation des maladies en poste récolte, il est recommandé de désinfecter les outils de cueillette (sécateurs), le matériel d'entreposage et les locaux de stockage, ainsi que l'enlèvement des fruits pourris ou endommagés et les débris organiques (feuilles, pédoncules de branches cassées, etc.), ce qui permet de réduire au maximum les sources de contamination. De plus, il est essentiel d'éviter les blessures des fruits, non seulement pendant la récolte, mais aussi lors des manipulations, du transport et du triage. Les fruits destinés à la conservation doivent être cueillis à leur stade optimal de maturité, afin d'éviter les dommages mécaniques et de réduire leur sensibilité aux maladies fongiques (El Hamouchi, 2011).

6.1.2. Mesures préventives après la récolte (au niveau des chambres froides) :

La vitesse de croissance des champignons pathogènes après la récolte est fortement influencée par l'atmosphère des chambres froides (El Hamouchi, 2011). Une gestion appropriée des conditions de stockage nécessite le contrôle de la température et de l'humidité, qui doivent être conformes aux normes relatives (Mahmood Ul Hasan, 2023).

En général, les températures basses ralentissent la croissance des champignons, mais certaines espèces comme *Penicillium expansum* et *Botrytis cinerea* peuvent encore se développer à 0°C (El hamouchi, 2011). Les activités métaboliques, notamment le taux de respiration, influencent de manière significative la conservation de la qualité des pommes pendant la période post-récolte. Ainsi, le choix de la température de stockage joue un rôle essentiel dans

la gestion de la perte d'eau et la préservation de leur qualité gustative (Mahmood Ul Hasan , 2023 ; Bento de Carvalho et al ., 2024).Le stockage à basse température, allant de -0,5 à 4 °C, est considéré comme la température optimale pour plusieurs cultivars, compte tenu de la sensibilité au froid des cultivars de pommes (Mahmood Ul Hasan , 2023).

Les pommes de la 'Golden Delicious' soumises à une évaluation de la durée de conservation à 22 ± 2 °C, ont présenté une perte d'eau de 8,3 % après 28 jours. En revanche, le même cultivar a montré une perte d'eau de 2,9 % après 150 jours de stockage à froid à 5 ± 1 °C (Mahmood Ul Hasan , 2023).

6.3. La lutte chimique

La lutte contre les maladies parasitaires de conservation des fruits repose principalement sur l'utilisation de traitements chimiques fongicides, appliqués pré- et post-récolte (El Hamouchi, 2011). Le stockage à froid combiné à certains traitements post-récolte a démontré son efficacité dans la réduction de l'incidence et de la sévérité de la pourriture bleue des pommes (Al-Rawashdeh et al., 2015).

Les fongicides les plus couramment utilisés pour lutter contre les maladies fongiques des pommes en post-récolte appartiennent à la famille des Benzimidazoles (El Hamouchi, 2011). Les fongicides post-récolte, tels que l'iprodione, l'imazalil et le prochloraz, ont été testés avec succès pour contrôler la pourriture bleue dans divers cultivars de pommes (Al-Rawashdeh et al., 2015). Ainsi, un traitement à base de Thiabendazole (TBZ) demeure très efficace pour le contrôle de la pourriture grise. En revanche, le TBZ a perdu de son efficacité contre la pourriture bleue en raison de l'apparition de souches de *Penicillium expansum* ayant développé une résistance à ce fongicide (El Hamouchi, 2011).

Les champignons producteurs de mycotoxines et autres micro-organismes de détérioration peuvent également être contrôlés par des inhibiteurs chimiques, tels que le propionate de calcium et de sodium, l'acide sorbique, le sorbate de potassium, le diacétate de sodium, le benzoate de sodium et l'acide acétique (Błaszczuk et al., 2022). Bien que les additifs chimiques tels que le sorbate de potassium, les propionates et les benzoates sont les antimicrobiens les plus efficaces contre les champignons (Bento de Carvalho et al ., 2024).

De plus, l'utilisation de ces traitements chimiques a entraîné l'émergence de souches résistantes à certaines substances actives homologuées, voire à des familles entières de fongicides (El Hamouchi, 2011). Cette résistance a été observée chez *Penicillium* spp. et *Botrytis* spp. Une étude réalisée par (Maouni et al., 2002) a indiqué qu'*Alternaria alternata* et

Penicillium expansum étaient résistants à trois fongicides de la famille des Benzimidazoles : Benomyl, Methylothiophanate et Thiabendazole (El Hamouchi, 2011).

Actuellement, l'application de fongicides sur les produits agricoles est de plus en plus restreinte en raison de l'augmentation des exigences des consommateurs, qui privilégient des produits plus respectueux de la santé humaine et de l'environnement (El Hamouchi, 2011).

En effet, les consommateurs exigent désormais une réduction des résidus de pesticides chimiques dans les aliments (Schiavon et al., 2023).

En outre, la législation, en particulier dans l'Union européenne, pousse à une réduction considérable de l'utilisation des pesticides et à leur remplacement par des traitements plus respectueux de l'environnement (Schiavon et al., 2023). Tous ces problèmes ont provoqué un intérêt croissant chez les chercheurs et les arboriculteurs pour la recherche de méthodes de lutte alternatives contre les agents phytopathogènes responsables de la détérioration des fruits en poste récolte (El Hamouchi, 2011).

Cet intérêt se traduit par l'utilisation de méthodes alternatives de lutte biologique, seules ou dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée, qui sont plus respectueuses de l'environnement et de la santé du consommateur (El Hamouchi, 2011; Schiavon et al., 2023).

6.3. La lutte biologique :

La lutte biologique est une stratégie alternative permettant de contrôler les ravageurs et les maladies par l'utilisation d'organismes vivants (champignons, bactéries, levures), ou par des produits naturels à base de plantes, d'algues, et de sels minéraux ...ect. Cette approche est particulièrement appréciée pour sa compatibilité avec les principes du développement durable, car elle réduit les risques environnementaux et sanitaires associés aux fongicides (El Hamouche, 2011; Podgórska-Kryszczuk, 2023)

6.3. 1. L'utilisation des plantes et des huiles essentielles :

Actuellement, l'utilisation d'agents antifongiques naturels à base de plantes est reconnue comme une pratique bénéfique et saine dans ce domaine. Les extraits des plantes et des huiles peuvent être employés comme agents antimicrobiens et antifongiques pour améliorer le stockage et la conservation des aliments en raison de leur forte activité, de la simplicité de leur production et de leur application, ainsi que de leur fiabilité et biocompatibilité (Ismail et al., 2021 ; Schiavon et al., 2023). Une étude de Ma et al. (2020) montre que l'utilisation du composé polyphénolique l'honokiol, obtenu à partir du *Magnolia officinalis*, à des

concentrations de 40 mg/l et 20 mg/l, est très efficace contre la pourriture grise causée par *Botrytis cinerea*. Ce composé inhibe de manière significative la croissance mycélienne et réduit la virulence de *Botrytis cinerea*. En outre, l'utilisation d'un mélange de chitosane et d'extrait éthanolique des racines de la réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) est cruciale pour gérer la croissance du pathogène et réduire les pertes causées par *Penicillium expansum*, tout en prolongeant la durée de conservation post-récolte des pommes à une concentration de 62,5 mg/ml.

De la même manière, un composé monoterpénique (méthyl thujate) est utilisé contre *Botrytis cinerea* (AIT-Ali et al., 2021).

L'utilisation de stratégies de lutte alternatives, telles que les huiles essentielles, est progressivement appliquée sur le terrain. Les composés organiques volatils présents dans les huiles essentielles, tels que le thymol, l'eugénol, p-cymène et le carvacrol, présentent une forte activité antifongique et pourraient être utilisés pour lutter contre la pourriture grise des fruits (Schiavon et al., 2023). Ainsi, une huile essentielle extraite de *Cinnamomum tamala* contre *Colletotrichum gloeosporioides* sur pommier a montré une activité antifongique (AIT-Ali et al., 2021). Ce tableau présente les principales huiles essentielles étudiées pour la lutte biologique contre les maladies post-récolte des pommiers (Antunes et Cavaco, 2010).

Espèce fongique	L'huile essentielle	Composée de l'huile essentielle	L'espèce végétale qui contient l'huile essentielle
<i>Alternaria</i> spp.	Cassia oil	Carvacrol	<i>Cassia</i> spp.
	Oregano oil	Thymol	<i>Oreganum vulgare</i> L.
	Thyme oil	Citral	<i>Thymus vulgaris</i> L.
	Lemongrass oil	trans-2-Decenal	<i>Cymbopogon citratus</i> L.
	Cilantro oil		<i>Coriandrum sativum</i> L.
	Lippia oil		<i>Lippia rehmannii</i> H. Pearson
<i>Aspergillus niger</i>	Lemongrass oil	<i>Cymbopogon citratus</i> L.	
<i>Botrytis cinerea</i>	Cilantro oil	trans-2-Decenal	<i>Chenopodium</i>

	Lemongrass oil	Citral	ambrosioides L.
	Oregano oil	Carvacrol	Coriandrum sativum L.
		2-Butene	Cympopogon citrates L.
		Caryophyllene oxide	Origanum compactum Benth.
	Thyme oil	Methylcyclopropane	Oreganum vulgare L.
		a-Butylene	
		Thymol	Thymus glandulosus Req.
		2-Butene	Thymus vulgaris L.
		Caryophyllene oxide	
		Methylcyclopropane	Sylene armenia L.
		a-Butylene	Zingiber cassumunar Roxb.
			Z. officinale Rosq.
			Eucalyptus citriodora Hook.
			Eupatorium cannabinum L.
			Lawsonia inermis L.
			Ocimum canum Sim.
			O. gratissimum L.
			O. sanctum L.
			Prunus persica (L.) Batsch.
			Lippia rehmannii H. Pearson

Cladosporium Herbarum	Lemongrass oil		Cympopogon citrates L.
Colletotrichum spp.	Cinnamon oil Clove oil Basil oil Lemongrass oil Lippia oil		Cinnamomum zeylanicum L. Syzygium aromaticum L. Ocimum basilicum L. Cympopogon citrates L. Lippia rehmannii H. Pearson
Fusarium spp.	Cinnamon oil Clove oil Basil oil C. longa oil Lippia oil		Cinnamomum zeylanicum L. Syzygium aromaticum L. Ocimum basilicum L. Curcuma longa L. Lippia rehmannii H. Pearson
Penicillium spp.	Lippia oil Lemongrass oil	Carvone Cuminaldehyde Perillaldehyde Cinnamaldehyde Salicylaldehyde Benzaldehyde Citral	Cympopogon citrates L. Lippia rehmannii H. Pearson

Rhizopus	Lemongrass oil	Citral	Cympopogon citrates L.
Stolonifer	Oregano oil	Carvacrol	Oreganum vulgare L.
	Thyme oil	Thymol	Thymus vulgaris L.
Monilinia		Thymol	
Fructicola		Carvacrol	
		Methyl jasmonate	

Tableau 10 : Les principales huiles essentielles étudiées pour leur activité antifongique contre les maladies post-récolte des pommes (Antunes et Cavaco, 2010).

6.3. 2. L'utilisation des barrières protectrices Bio :

Bien que l'utilisation des barrières protectrices contre les dommages physiques et mécaniques, qui fournissent une atmosphère contrôlée et agissant comme une barrière semi-perméable aux gaz, à la vapeur et à l'eau. Elles sont produites à partir de matériaux d'origine naturelle tels que les polysaccharides, les protéines et les lipides, ou un mélange de ces matériaux. Ces barrières peuvent réduire le taux des fruits blessés, qui favorisant ainsi le développement des moisissures dans les chambres froides (Błaszczuk et al., 2022). Parmi ces matériaux, l'alginate est un polysaccharide naturel, l'un des biopolymères filmogènes issus de l'extraction des algues brunes. Il possède de bonnes propriétés filmogènes et constitue une excellente barrière contre l'humidité. La structure moléculaire de l'alginate est composée de copolymères linéaires non ramifiés d'acide -D-mannuronique et de résidus d'acide -L-guluronique, liés par liaisons glycosidiques 1- 4 (Dumont, 2016; Błaszczuk et al., 2022).

6.3. 3. L'utilisation des agents antagonistes :

La lutte biologique vise à contrôler les agents pathogènes au moyen d'agents antagonistes ou des produits issus de leur métabolisme (El Hamouchi, 2011).

L'utilisation de micro-organismes pour la protection biologique des cultures n'est pas un concept nouveau, mais l'intérêt croissant pour cette méthode a entraîné une intensification mondiale de la recherche de nouvelles solutions et de nouvelle souche efficace (Podgórska-Kryszczuk, 2023).

Cette méthode de biocontrôle considérée comme une alternative à la lutte chimique, est perçue comme une approche plus respectueuse de l'environnement, de la santé du consommateur et répond plus adéquatement aux aspirations de développement durable de l'agriculture (El Hamouchi, 2011).

Parmi ces agents antagonistes capables de contrôler les pourritures des fruits, les levures antagonistes constituent la flore épiphytique dominante, en terme de nombre d'espèces isolées à la surface des fruits non blessés en conservation, suscitant un intérêt croissant de la part des scientifiques et de l'industrie (El Hamouchi, 2011; Podgórska-Kryszczuk, 2023).

El Hamouchi (2011) montre que ces cinq antagonistes microbiens sont commercialement disponibles en tant que traitement post-récolte pour les pommes et poires: Bio-Save® 10LP et 11LP à base d'une souche de la bactérie *Pseudomonas syringae* (JET Harvest Solutions, USA), Yield Plus™ à base d'une souche de levure *Cryptococcus albidus* (Anchor Yeast, Afrique du Sud), BoniProtect® à base de deux souches de levures appartenant à l'espèce *Aureobasidium pullulans* (Bio-Protect, Germany) et Candifruit™ à base d'une souche de levure *Candida sake* (SIPCAM-INAGRA S.A., Spain). D'autres exemples d'agents antagonistes utilisés pour le biocontrôle des maladies de conservation des pommes sont illustrés dans ce tableau 11 (El Hamouchi, 2011).

Cultures	Pathogène	Antagoniste	Référence
Pommes	B. cinerea P. expansum	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. lachrymans	Janisiewicz(1988) et Erampalli et al.(2006)
		<i>Acremonium Brevet</i>	Janisiewicz (1988)
		<i>Pseudomonas cepacia</i>	Janisiewicz et Roitman (1988)
		<i>Pichia guilliermondii</i>	Wilson et Wisniewski (1989)
		<i>Candida oleophila</i> <i>Pichia anomala</i>	Jijaki et al. (1993)

		<i>Pseudomonas viridiflava</i>	Bryk et al. (1999)
		<i>Cryptococcus albidus</i>	Fan et Tian (2001) et Zhou et al. (2001)
		<i>Rhodotorula glutinis</i> , <i>Cryptococcus lauranti</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i>	Lima et al. (2003)
	<i>B. cinerea</i> <i>P. expansum</i> et <i>Rhizopus nigrican</i>	<i>Candida sake</i>	Viñas et al. (1998) et Morales et al. (2008)
	<i>B. cinerea</i> <i>P. expansum</i> et <i>R. stolonifer</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	Nunes et al. (2002)
	<i>B. cinerea</i>	<i>Candida saitoana</i>	El-Ghaouth et al. (2003)
	<i>B. cinerea</i> <i>P. expansum</i> et <i>Alternaria alternata</i>	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	Spadaro et al. (2008) et Saravanakumar et al. (2008)

Tableau 11 : Les principaux agents antagonistes pour la lutte biologique contre les pourritures des pommes en poste récolte (El Hamouchi, 2011).

Ainsi, les champignons du genre *Trichoderma* sont utilisés grâce à leur pouvoir de sécrétion d'enzymes capables de détruire les champignons pathogènes, comme la β -1,3-glucanase et la chitinase (Gajera et Vakharia, 2012). Certaines espèces de ce genre telles que *Trichoderma harzianum*, *T. atroviride*, *T. virens* et *T. asperellum* ont été largement reconnues pour leur effet antagoniste contre un large spectre de pathogènes, parmi lesquels *Botrytis cinerea* et *Fusarium oxysporum* (Zahir et al., 2018 ; Hammad, 2022).

Le nombre d'agents de lutte biologique actuellement homologués pour le contrôle des maladies fongiques post-récolte reste insignifiant (El Hamouchi, 2011).

Les champignons pathogènes peuvent perturber l'équilibre microbien en créant un état de dysbiose. Les micro-organismes sont des éléments intrinsèques des produits horticoles, endophytes dans les tissus et épiphytes à la surface (Schiavon et al., 2023).

En outre, le microbiome épiphyte des fruits se compose d'un grand nombre de micro-organismes qui jouent un rôle plus ou moins important dans le maintien de la santé, de la qualité, et de la résistance aux maladies des fruits avant et après la récolte (Al Riachy et al., 2021). La plupart de ces microbes ne sont pas pathogènes, cependant, leur écologie, leur colonisation, leur activité sur la qualité des fruits, leur forme physique et leur protection contre les maladies sont généralement inexplicables (Schiavon et al., 2023). Jusqu'à présent, la plupart des études sur le microbiome associé aux pommes se sont principalement focalisées sur l'évaluation de la diversité microbienne à un moment donné après la récolte (Al Riachy et al., 2021).

La dynamique de la communauté microbienne peut changer en raison de la physiologie du fruit et d'autres facteurs abiotiques, y compris le stockage et les traitements post-récolte. Les variations des micro-organismes à la surface des fruits sont liées à leur décomposition pendant le stockage (Schiavon et al., 2023).

6.3. 4. La thermothérapie :

La thermothérapie qui consiste à traiter les fruits avec de l'eau chaude à haute pression (10 minutes à 45°C), permet d'éliminer ou de ralentir le développement de diverses infections post-récolte, notamment celles provoquées par les agents responsables des pourritures lenticellaires des pommes, telles que *Gloeosporium* spp. Ce traitement présente l'avantage d'un coût faible, et de l'absence de résidus toxiques. Toutefois, son efficacité variable et sa performance inégale sur les spores et le mycélium d'un ou de plusieurs pathogènes posent des défis pour son application (Krimi Bencheqroun, 2009).

6.3. 5. Traitement des pommes à l'ozone en post-récolte :

Dans l'industrie agroalimentaire, le chlore est l'un des agents désinfectants les plus courants. Cependant, en raison de sa toxicité et de sa dangerosité pour l'environnement, les chercheurs remplacent le chlore par l'ozone, sous sa forme gazeuse ou liquide, comme alternative. Cette technique permet de réaliser des économies en eau et en énergie, et le coût de fonctionnement d'un ozoniseur reste relativement faible (Pages, 2015).

6.3. 5.1. Traitements sur les pommes pour inhiber le développement des champignons :

Plusieurs études ont été menées sur la décontamination des surfaces de fruits par ozone gazeux ou eau ozonée. Ce tableau présente un inventaire des publications sur les traitements à base d'ozone réalisé par Miller et al. (2013), où seules les études portant sur les pommes sont incluses.

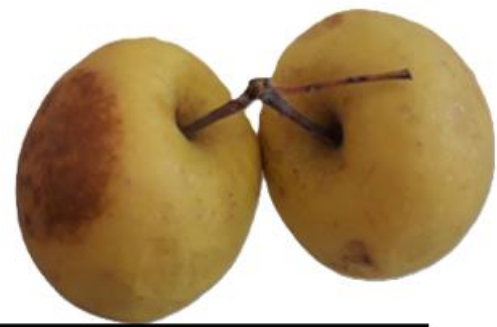
Sharpe et al. (2009) et Minas et al. (2010) ont évalué l'effet de l'enrichissement de l'atmosphère d'une chambre de stockage conventionnelle en ozone gazeux contre *Botrytis cinerea*. Après une exposition de 8 heures à 450 ppb, la germination de ce champignon a été significativement réduite.

Cependant, l'application de l'ozone peut affecter certains critères de qualité, tels que la couleur, les propriétés rhéologiques de surface, ou encore le contenu en composés phénoliques. En cas de doses excessives, l'ozone peut également provoquer le développement d'odeurs.

Forme de l'ozone	Conditions de traitements	Paramètres évalués	Résultats
Ozone gazeux	Exposition à 450 ppb d'ozone pendant 48h	<i>Botrytis cinerea</i> - Couleur - Fluorescence - Texture	La taille des lésions a été réduite sur les fruits traités, tandis que l'ozone n'a pas eu d'effet significatif sur la couleur ni sur la fluorescence
Eau ozonée	Immersion dans l'eau contenant de l'ozone (3 ppm) pendant 5 minutes, puis stockage à 4°C pendant 9 jours.	Levures/ champignons	Pendant le stockage, les populations des deux pathogènes resteront pratiquement inchangées, tandis que le nombre d'AMB et de levures/champignons augmentera

Tableau 12: Inventaire des études évaluant l'effet de l'ozone sur les pommes, réalisé par Miller et al. (2013) et (Pages, 2015)

CHAPITRE III



EXTRACTION DE COMPOSÉES BIOACTIFS

1. Les déchets agroalimentaires : un enjeu environnemental et économique

1.1. L'importance économique des déchets

Dans le secteur de l'agro-industrie, la valorisation consiste à transformer les déchets et de coproduits industriels et agronomiques, afin de les transformer en nouveaux ingrédients ou produits. La valorisation de ces coproduits présente l'avantage de diminuer, leurs frais de traitement, tout en créant de nouvelles ressources.

Les différents types d'utilisation des déchets organiques ont été répartis en quatre grands types de valorisation (Duchêne, 2015) :

- **Produits destinés à la consommation humaine**

Cette catégorie englobe les produits utilisés dans divers secteurs, tels que l'agroalimentaire, la chimie verte, l'industrie pharmaceutique et la cosmétique, et destinés à l'alimentation humaine.

- **Alimentation animale :**

il s'agit ici de la fabrication de produits alimentaires destinés aux animaux d'élevage ou de compagnie.

- **Valorisation agronomique :**

cette filière comprend notamment la production d'engrais et de composts. Elle inclut également des pratiques telles que l'épandage direct avec enfouissement superficiel. Dans ce dernier cas, il est plus difficile de parler de valorisation réelle, car le processus repose principalement sur les capacités épuratrices naturelles du sol (Albrecht, 2007).

- **Production d'énergie**

Cette voie concerne la valorisation énergétique des matières organiques par des procédés tels que la combustion, la méthanisation ou la production de biocarburants.

Actuellement, la plupart des coproduits sont utilisés pour l'alimentation animale, l'épandage et la méthanisation, des secteurs de valorisation de grande ampleur, mais à faible valeur ajoutée. La nutraceutique, la pharmacie et la cosmétique sont des secteurs moins importants en termes de volume de marché, mais ils offrent une valeur ajoutée relativement élevée, qui nécessite toutefois un investissement conséquent en recherche et développement (Duchene, 2015).

1.2. Etude les déchets de pommes (Epluchures et pépins)

Les déchets de pommes constituent une ressource précieuse en nutriments, vitamines et composés phytochimique. Lorsqu'ils sont traités comme des matières premières, ils peuvent constituer une source potentielle de composés bioactifs aux propriétés antioxydants importantes. Cela représente une nécessité pour une croissance durable, ainsi qu'une solution aux problèmes économiques et écologiques (Matthäus et Özcan, 2015).

En général, les déchets des pépins et de peau représentent 20 % du poids total de la pomme, les pépins constituant la plus petite partie de ces déchets, avec une masse totale représentant entre 0,7 et 4 % du fruit (Acquavia et al., 2021). De plus, les pépins de pomme contiennent 27 % d'huiles, qui sont des sources riches en vitamine E et acides gras.

Il est important de noter que la composition en métabolites secondaires varie entre la chair et la peau de la pomme., se distingue par une concentration nettement plus élevée en polyphénols, ce qui justifie sa valorisation dans les recommandations nutritionnelles relatives à la consommation de pommes (Preti & Tarola, 2020). En effet, sur une base de poids sec, la peau contient environ quatre fois plus de polyphénols totaux que la chair. Parmi les composés phénoliques majoritaires présents dans l'épiderme figurent les flavonols, les stérols végétaux, les procyanidines , les anthocyanines et les dihydrochalcones, tandis que la chair est plus riche en acides hydroxycinnamiques (Zahid, H.F. et al., 2023). Ces composées jouent un rôle essentiel dans les propriétés bénéfiques du fruit pour la santé (Preti & Tarola, 2020).

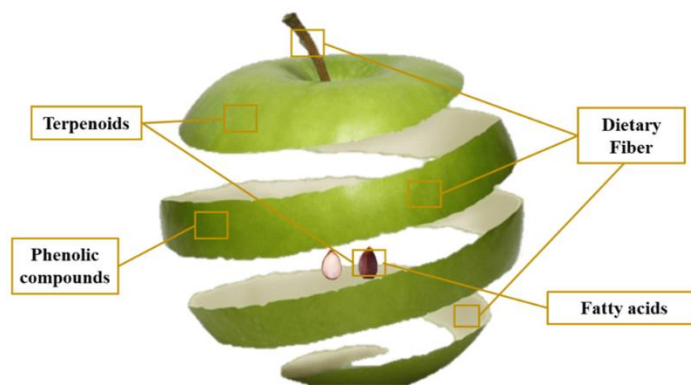


Figure 9 : Les coproduits des pommes (Epluchures et pépins) et leurs composants (De la Peña-Armada & Mateos-Aparicio, 2022)

2. Les polyphénols :

Depuis les années 1960, le terme « polyphénol » désigne l'ensemble des composés phénoliques d'origine végétale, remplaçant ainsi l'appellation antérieure de « tanins végétaux » (Gaetan Bolea, 2019).

Les polyphénols appartiennent à la classe des métabolites secondaires, qui sont généralement hydrosolubles. Leur biosynthèse résulte d'une combinaison des voies de l'acétate/malonate et du shikimate, ce qui offre à la plante la possibilité de produire une large famille de structures phénoliques. (Bouchouka, 2016).

2.1. Biosynthèse des composés phénoliques :

Ces composés sont principalement synthétisés par deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et celle de l'acétate/malonate. Le terme « composés phénoliques » désigne ainsi exclusivement les molécules issues de la voie du shikimate ou de celle des poly- β -cétoesters (également appelés polyacétates) (De la Rosa et al., 2019). Chez le pommier, la biosynthèse de ces composés est largement documentée dans la littérature et repose sur la voie du shikimate et sur celle des poly- β -cétoesters. Ces deux voies consistent à condenser trois unités de malonyl-CoA pour produire : l'unité de base, le phloroglucinol (Gosch, Halbwirth et al., 2009).

2.1.1. La voie de l'acide shikimique :

La voie du shikimate est la voie métabolique principale de biosynthèse des composés aromatiques chez les végétaux et les micro-organismes. Elle permet la formation d'acides aminés aromatiques, tels que la phénylalanine, la tyrosine et tryptophane, qui sont des métabolites primaires servant de précurseurs à de produits naturels dits secondaires, tels que les flavonoïdes, les coumarines, les acides phénoliques ou encore les alcaloïdes (De la Rosa et al., 2019).

La lignine est présente chez l'ensemble des végétaux, remplit un rôle structurel fondamental et participe directement à la survie de l'organisme, ce qui l'éloigne des critères généralement attribués aux métabolites strictement secondaires (Bouchouka, 2016).

2.1.2. La voie de l'acétate / malonate:

La glycolyse et la β -oxydation conduisent à la formation d'acétyl-CoA, précurseur servant à la synthèse du malonate. Par cette voie, les chaînes polycétoniques subissent une cyclisation, issue de la condensation répétée d'unités « acétate », formées à partir de la carboxylation de

l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (Bouchouka, 2016).

2.2. Classification des polyphénols :

Les composés phénoliques sont le plus souvent classés en fonction de leur squelette carboné de base. Sur cette base, ils se répartissent en deux grandes catégories :

- les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les lignines et les coumarines qui appartiennent à la classe des non-flavonoïdes ;
- les flavonoïdes, qui constituent la classe la plus diversifiée.

Actuellement, environ 8 000 structures de composés phénoliques ont été identifiées, dont plus de 6 000 appartiennent à la classe des flavonoïdes (Garcia-Salas et al., 2010) (Gaetan Bolea, 2019).

Les pommes contenant 60 polyphénols différents (Rupasinghe, 2012), on estime qu'elles représentent en moyenne 179,1 mg d'équivalents acide gallique (GAE) pour 100 g de matière végétale (Brat, 2006). Ces molécules sont réparties en deux classes principales : les flavonoïdes et les acides phénoliques. (Duchene,2015) .

Classe	Sous classe	Polyphénol	Teneur mg/100g MF
Flavonoïdes	<i>Anthocyanes</i>	Cyanidine-3-O-galactoside	0,81
		Cyanidine-3-O-arabinoside	0,06
		Cyanidine-3-O-xyloside	0,06
	<i>Dihydrochalcones</i>	Phloridzine	2,75
		Phlorétine-2'-O-xylosyl-glucoside	2,6
		3-Hydroxyphlorétine-2'-O-glucoside	0,11
	<i>Flavanols</i>	(+)-Catéchine	1,24
		(-)-Epicatechine	8,33
		Procyanidine B2	14,56
	<i>Flavonols</i>	Quercétine	0,13
		Quercétine-3-O-galactoside	2,36
		Quercétine-3-O-glucoside	0,64
		Quercétine-3-O-xyloside	0,78
		Quercétine-3-O-rhamnoside	1,33
Quercétine-3-O-rutinoside		0,23	
Acides phénoliques	<i>Acides hydroxybenzoïques</i>	Acide gentisique	0,22
		Acide syringique	0,9
	<i>Acides hydroxycinnamiques</i>	Acide p-coumarique	0,29
		Acide-5-p-coumaroylquinique	1,05
		Acide-4-p-coumaroylquinique	2,25
		Acide caféique	0,42
		Acide férulique	0,06
		Acide-4-caféoylquinique	0,54
		Acide-4-caféoylquinique	13,25

Tableau 13 : La composition en polyphénols de la pomme fraîche est répertoriée dans la base de données Phénol-Explore. (Duchene,2015)

MF : Matière fraîche

2.2.1. Classe des polyphénols non-flavonoïdes :

2.2.1.1. Les principaux acides phénoliques

Sur le plan structural, ils sont principalement classés en deux grandes catégories selon la longueur de leur chaîne aliphatique : les acides hydroxybenzoïques (structure C6-C1) et les acides hydroxycinnamiques (structure C6-C3) (Tsao, 2010).

La concentration des acides hydroxybenzoïques est généralement très faible dans les végétaux comestibles. Ces composés sont donc relativement rares dans l'alimentation humaine, contrairement aux dérivés des acides hydroxycinnamiques, qui y sont largement présents (Fleuriet et al., 2005) .

2.2.1.1.1. Les acides hydroxybenzoïques :

Les acides hydroxybenzoïques, dérivés de l'acide benzoïque, présentent une configuration de type C6-C1 .Ces composés sont le plus souvent présents sous forme esters ou en glycosides. Les acides hydroxybenzoïques sont généralement retrouvés à de faibles concentrations dans les aliments, les acides hydroxybenzoïques sont détectables dans certaines épices, les fraises, divers fruits rouges ainsi que dans l'oignon (Manach et al., 2004) .

Parmi les principaux acides hydroxybenzoïques identifiés dans les végétaux figurent l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide protocatéchique, l'acide vanillique, l'acide gallique et l'acide salicylique (Boubekri, 2014).

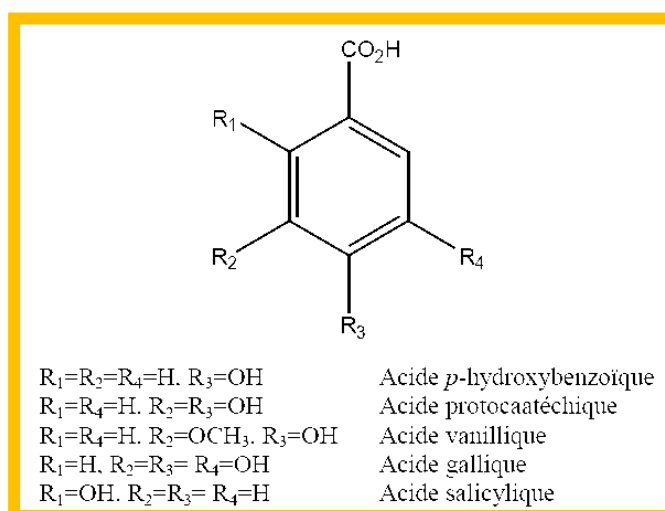


Figure 10 : Structure chimique des acides hydroxybenzoïques (Boubekri, 2014)

2.2.1.1.2. Les acides hydroxycinnamiques :

Les acides hydroxycinnamiques sont des composés phénoliques caractérisés par un squelette carboné de type C6-C3, issu de l'acide cinnamique. Ils se présentent le plus souvent sous forme estérifiée dans les matrices végétales. Ces composés figurent parmi les plus abondants dans l'alimentation humaine (Boubekri, 2014).

On les retrouve avec des concentrations particulièrement élevées dans la peau des fruits mures.

Les principaux représentants de cette famille, tels que les acides *p*-coumarique, caféique, férulique et sinapique, présentent une large distribution dans le monde végétal. En revanche, d'autres composés comme les acides *o*-coumarique et *o*-férulique sont beaucoup plus rares (Bruneton, 1993 ; Fleuriet et al., 2005).

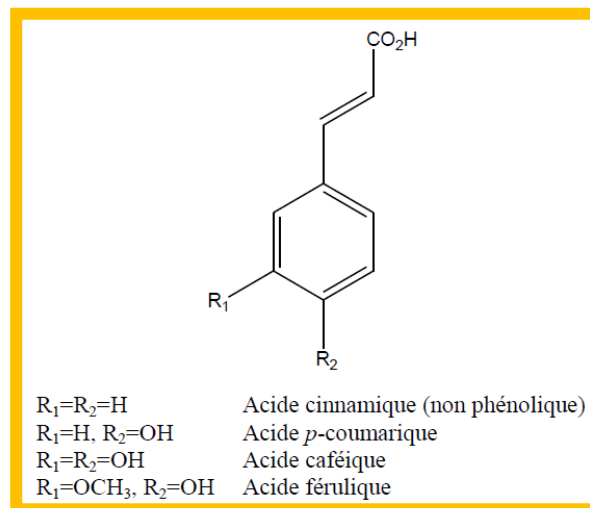


Figure 11 : Structure chimique des acides hydroxycinnamiques (Boubekri, 2014)

	Esters hydroxycinnamiques	R
	Acide 5'- <i>p</i> -coumaroylquinique	
Acide 5'-caféoylquinique		OH

Figure12 : Les esters hydroxycinnamiques de la pomme (Colin-Henrion 2008).

Dans les végétaux, les acides phénoliques peuvent être libérés par hydrolyse acide, alcaline ou enzymatique. Pour la pomme, le principal acide phénolique est l'acide 5-caféoylquinique, également appelé acide chlorogénique. (Duchene, 2015)

2.2.1.2. Les stilbènes :

Les stilbènes constituent une famille de composés phénoliques caractérisés par un squelette carboné de type C6-C2-C6, similaire à celui des flavonoïdes. Ils appartiennent au groupe des phytoalexines, des substances synthétisées par les plantes comme mécanisme de défense contre des agressions par des micro-organismes pathogènes, tels que des champignons, des bactéries ou des virus. Leur solubilité est très faible dans l'eau, mais nettement plus élevée dans la majorité des solvants organiques (Fleuriet et al., 2005) .

Les stilbènes sont présents en faibles concentrations dans l'alimentation humaine. Parmi eux, le resvératrol, un composé aux propriétés anticancéreuses, est retrouvé dans certaines plantes médicinales, notamment sous sa forme trans, le trans-resvératrol (16) (Nsemi, 2010).

2.2.1.3. Les lignanes :

Les monolignols sont des dérivés de l'acide cinnamique et constituent des précurseurs essentiels des composés phénylpropanoïdes, tels que les lignanes et les lignines.

Les lignanes présentent une structure de type (C6-C3)₂, chaque unité (C6-C3) correspondant à un propylbenzène. Ils sont largement distribués dans le règne végétal, plusieurs centaines de composés ayant été identifiés dans environ soixante-dix familles botaniques (Boubekri, 2014). Les lignanes sont des composés phénoliques bioactifs, non nutritifs et non caloriques, généralement présents dans les plantes sous forme de glucosides (Pandey & Rizvi, 2009).

2.2.1.4. Les lignines :

Les lignines constituent une classe importante de composés naturels présents dans le règne végétal. Elles sont issues d'un processus de polymérisation oxydative de monomères appelés monolignols, principalement les alcools p-coumarylique, coniférylique et sinapylique.

La lignine est un polymère fortement ramifié, composé de ces trois alcools phénoliques simples. Elle est localisée dans les parois cellulaires, en particulier dans les parois secondaires des éléments conducteurs, où elle joue un rôle essentiel dans le renforcement mécanique et la rigidité des tissus végétaux lignifiés. Bien qu'elle est, après la cellulose, le polymère le plus abondant dans le monde végétal, la lignine se distingue par son insolubilité dans l'eau et dans la majorité des solvants organiques, ce qui en rend l'extraction particulièrement complexe, en raison de sa structure complexe (Boubekri, 2014).

2.2.1.5. Les coumarines :

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés de type C₆-C₃, dont la structure de base est le benzo-2-pyrone. À ce jour, près de 1000 composés coumariniques ont été isolés à partir de plus de 800 espèces végétales ainsi que chez certains microorganismes (Nsemi,2010).

Dans le règne végétal, on les retrouve notamment au sein des familles des Apiacées, Astéracées, Fabacées, Rosacées, Rubiacées, Rutacées et Solanacées.

Les coumarines exercent des effets variables sur le développement des plantes, en fonction de leur concentration mais aussi de l'espèce considérée. Au niveau cellulaire, elles sont majoritairement présentes sous forme glycosylée, une modification qui permettrait leur stockage tout en limitant leur toxicité potentielle pour la cellule et la croissance végétale (Boubekri, 2014).

Considérées comme des phytoalexines, les coumarines se trouvent dans la nature soit à l'état libre, soit sous forme conjuguée avec des sucres. Elles sont également responsables de l'odeur caractéristique du foin (Cowan, 1999).

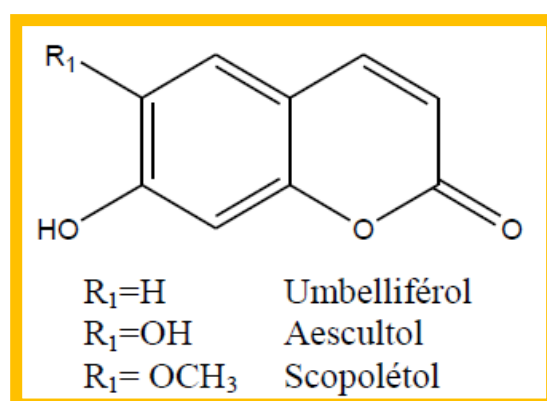


Figure 13 : Structure chimique de coumarines (Boubekri, 2014)

2.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes font partie d'une grande famille de métabolites secondaires présents dans tous les règnes végétaux. Il s'agit de pigments quasi universels chez les plantes.

Ils se composent d'un squelette C₆-C₃-C₆ de type 2-phénylbenzopyrane, à l'exception des isoflavones. Leur rôle principal semble être la coloration des plantes, en complément des pigments chlorophylliens, caroténoïdes et bétalaïnes. Leur présence est parfois masquée lorsque les flavonoïdes se trouvent sous forme « leuco », ce qui justifie leur importance commerciale dans l'industrie alimentaire. Ils sont responsables des teintes jaunes, oranges et

rouges observées dans différents organes végétaux. Ces composés sont localisés dans la vacuole sous forme d'hétérosides, ou intégrés dans des plastes spécialisés appelés chromoplastes (Boubekri, 2014).

Le terme « flavonoïde » englobe une large diversité de composés polyphénoliques, avec près de 6500 structures identifiées à ce jour.

Selon la classification proposée par De Rijke et ses collaborateurs, les flavonoïdes se divisent en six familles principales : flavonols, flavones, flavanes, isoflavones, anthocyanines et flavanols, cette classification reposant sur la structure de leur hétérocycle central C (de la Rosa et al.,2019).

2.2.2.1. Les principales sous-classes de flavonoïdes:

2.2.2.1.1. Flavonols

Les flavonols se caractérisent par une double liaison entre les carbones 2 et 3 du cycle C, ainsi que par la présence : d'un groupement hydroxyle en position C3. Ils constituent la sous-classe de flavonoïdes la plus largement distribuée dans le règne végétal. Leur coloration naturelle varie généralement du blanc au jaune pâle. Les principaux flavonols représentants sont la quercétine, le kaempférol et la myricétine (Boubekri, 2014).

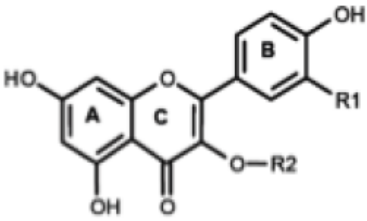
	Flavonols	R1	R2
	Quercétine	OH	H
	Hyperoside (Q-galactoside)	OH	Gal
	Quercitine (Q-rhamnoside)	OH	Rha
	Isoquercétine (Q-glucoside)	OH	Glc
	Reynoutrine (Q-xyloside)	OH	Xyl
	Avicularine (Q-Arabinoside)	OH	Ara
	Rutine	OH	Rha-Glc

Figure 14 : Les flavonols de la pomme (Colin-Henrion 2008).

2.2.2.1.2. Flavones

Les flavones présentent une structure très similaire à celle des flavonols, à l'exception de l'absence de groupement hydroxyle en position C3 du cycle central. Dans l'alimentation, elles sont notamment représentées par l'apigénine et la lutéoline. Par rapport aux flavonols, les flavones sont moins abondantes dans les fruits et les légumes(Nsemi, 2010).

2.2.2.1.3. Flavanones

Les flavanones sont une sous-classe de flavonoïdes caractérisée par l'absence de double liaison entre les positions 2 et 3 du cycle central, ainsi que par la présence d'un centre d'asymétrie en position 2.

Elles sont principalement présentes dans les agrumes, qui représentent leur source alimentaire principale. On trouve parmi eux les oranges amères, les citrons, les pamplemousses, les mandarines, les clémentines et les oranges douces.

La naringénine, l'un des représentants les plus étudiés des flavanones sous forme libre, est particulièrement abondante dans le pamplemousse et l'orange amère (Bouchouka, 2016).

2.2.2.1.4. Flavanes

Les flavanes constituent une sous-classe de flavonoïdes dérivés saturés et dépourvus de groupe carbonyle, apparentés structurellement aux flavones. Ils se distinguent par la présence de motifs prénylés cyclisés, généralement de type diméthylpyrane (DMP) ou furane.

Ces composés présentent typiquement une double prénylation sur le noyau A, comprenant une chaîne linéaire et une structure cyclisée, ainsi qu'un pont époxy reliant le carbone 4 du cycle central au carbone 6' du noyau (Bouchouka, 2016).

2.2.2.1.5. Les isoflavones et les dihydrochalcones

Les isoflavones sont considérées comme des dérivés des flavones ; ce sont des 3-phénylchromones. Contrairement à la majorité des autres flavonoïdes, les isoflavones se caractérisent par la fixation du cycle B en position C3, au lieu de la position C2.

Elles présentent une distribution très restreinte dans le règne végétal (Bouchouka, 2016 ; Boubekri, 2014). Les dihydrochalcones sont des composés phénoliques présents dans divers fruits, notamment la pomme. Elles sont reconnues comme des indicateurs spécifiques des fruits (Robards, 1999).

La pomme est constituée principalement de phloridzine et de xyloglucoside de phlorétine (Duchene, 2015).

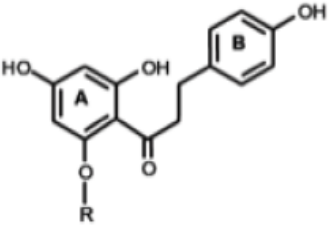
	Dihydrochalcones	R
	Phlorétine	H
	Phloridzine	Glc
	Xyloglucoside de phlorétine	Glc-Xyl

Figure 15 : Les principaux dihydrochalcones de la pomme (Colin-Henrion 2008) (Duchêne, 2015)

2.2.2.1.6. Les anthocyanes

Les anthocyanines sont des flavonoïdes portant une charge positive sur l'atome d'oxygène du cycle hétérocyclique C. Leur structure de base repose sur un noyau de type flavone, généralement glucosylé en position C3.

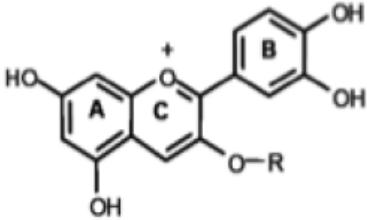
	Anthocyanes	R
	Cyanidine	H
	Idéaine	Gal

Figure 16 : Structure chimique des anthocyanes de la pomme (Colin-Henrion 2008).

Ces pigments hydrosolubles appartiennent à la famille des flavonoïdes et sont capables d'absorber la lumière visible, confèrent aux plantes des teintes allant du rouge au bleu, en passant par le rose, le mauve et l'orange. Elles sont largement répandues dans le règne végétal et localisées principalement dans les vacuoles des cellules épidermiques (Boubekri, 2014).

Elles sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, ce qui rend leur présence détectable à l'œil nu.

Les anthocyanines jouent un rôle physiologique essentiel en agissant comme signaux visuels pour attirer les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux) et pour favoriser la dispersion des graines (Brouillard et al., 1997).

2.2.2.1.7. Les flavanols et les proanthocyanidines

Ces composés sont appelés catéchines sous forme monomérique et constituent la sous-classe de flavonoïdes la plus importante dans la pomme, avec une moyenne de 24,13 mg/100 g de matière fraîche. Les catéchines sont des isomères à configuration trans, l'épicatéchine étant le seul à configuration cis. Chacune de ces deux configurations possède deux isomères : (+)-catéchine, (-)-catéchine, (+)-épicatéchine et (-)-épicatéchine. Les isomères (+)-catéchine et (-)-épicatéchine sont les plus présents dans les plantes. Les flavanols sont présents dans les fruits, notamment dans l'épiderme des raisins, des pommes et des myrtilles.

Dans la pomme, l'épicatéchine (-)- représente 95 % des unités de flavan-3-ols (Guyot, 2002).

Les proanthocyanidines sont considérées comme des tannins condensés. Lorsque leurs unités constituantes sont seulement la (-) épicatéchine et la (+) catéchine, ces formes polymériques sont les procyanidines. (Duchene,2015) .

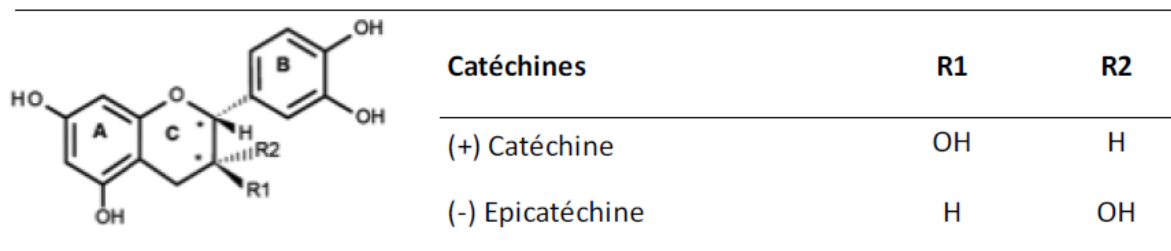


Figure 17 : Les catéchines de la pomme (Colin-Henrion 2008).

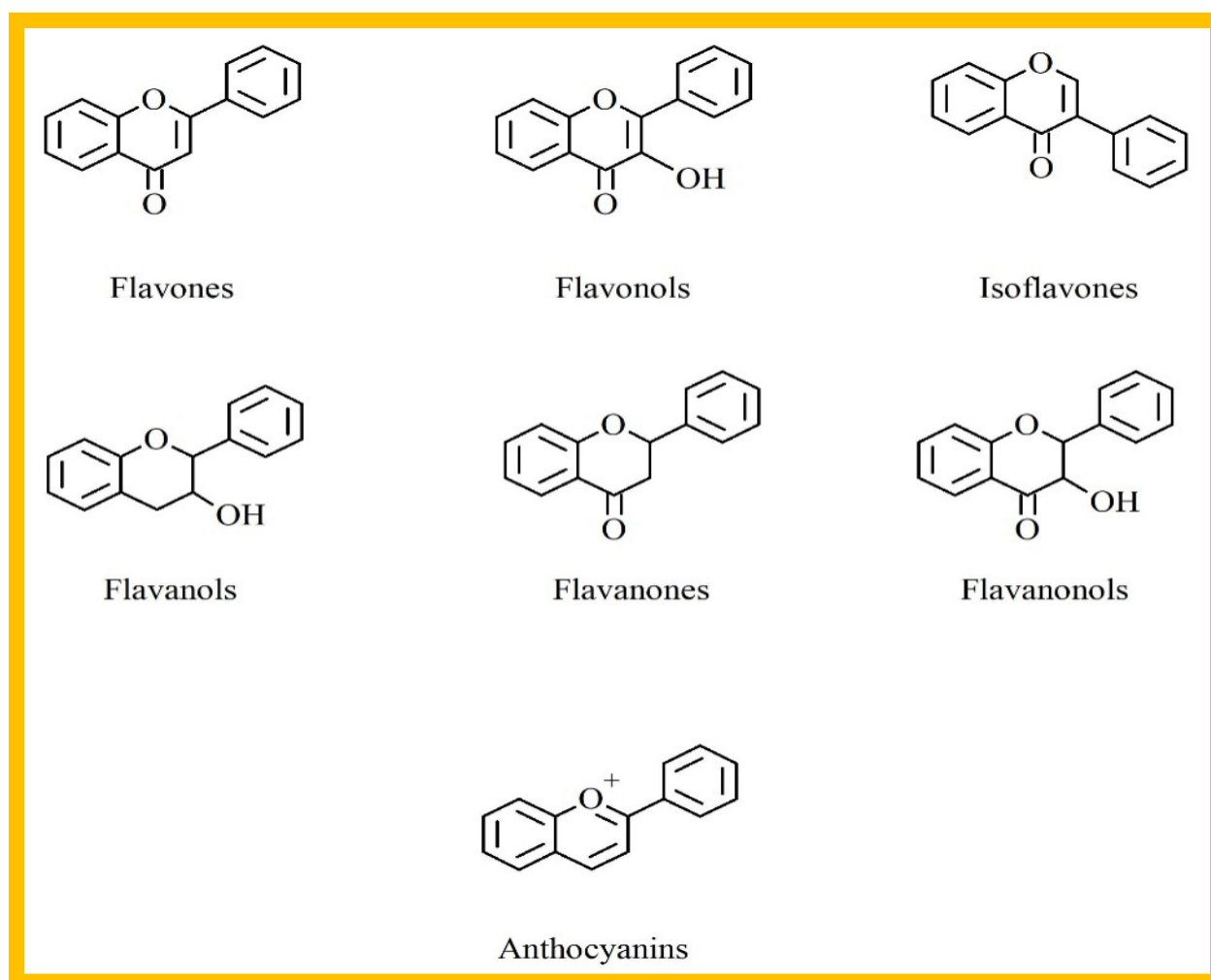


Figure 18: Les principales sous-familles des flavonoïdes (Bertelli, A et al., 2021)

2.2.3. Les Tanins

Les tanins sont un ensemble de polyphénols polymériques à haut poids moléculaire. Ce sont des composés fortement hydroxylés qui peuvent former des complexes insolubles avec diverses biomolécules telles que les glucides, les protéines et les enzymes digestives. ce qui peut réduire la digestibilité des aliments. Ils peuvent également se lier à la cellulose ainsi qu'à de nombreux éléments minéraux.

Les tanins se caractérisent par une saveur astringente. Très répandus dans le règne végétal, ils sont présents dans divers organes, avec une accumulation plus marquée dans les tissus âgés ou affectés par des processus pathologiques.

On les trouve dans tous les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines. (Scalbert, 1991).

Au niveau cellulaire, ils sont localisés dans les vacuoles, parfois associés à des protéines ou à des alcaloïdes.

On distingue notamment deux grandes catégories : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

2.2.3.1. Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables, également appelés acides tanniques, sont des polymères constitués d'oligo- ou de polyesters formés entre un sucre (généralement du D-glucose) et un nombre variable d'unités d'acides phénoliques.

En fonction de la nature de l'acide phénolique, on distingue deux grandes sous-classes :

- les gallotannins, formés à partir de l'acide gallique ;
- les ellagitannins, dérivés de l'acide ellagique, résultant souvent de l'oxydation et de la condensation d'unités galliciques (Bruneton, 1993 ; Cowan, 1999).

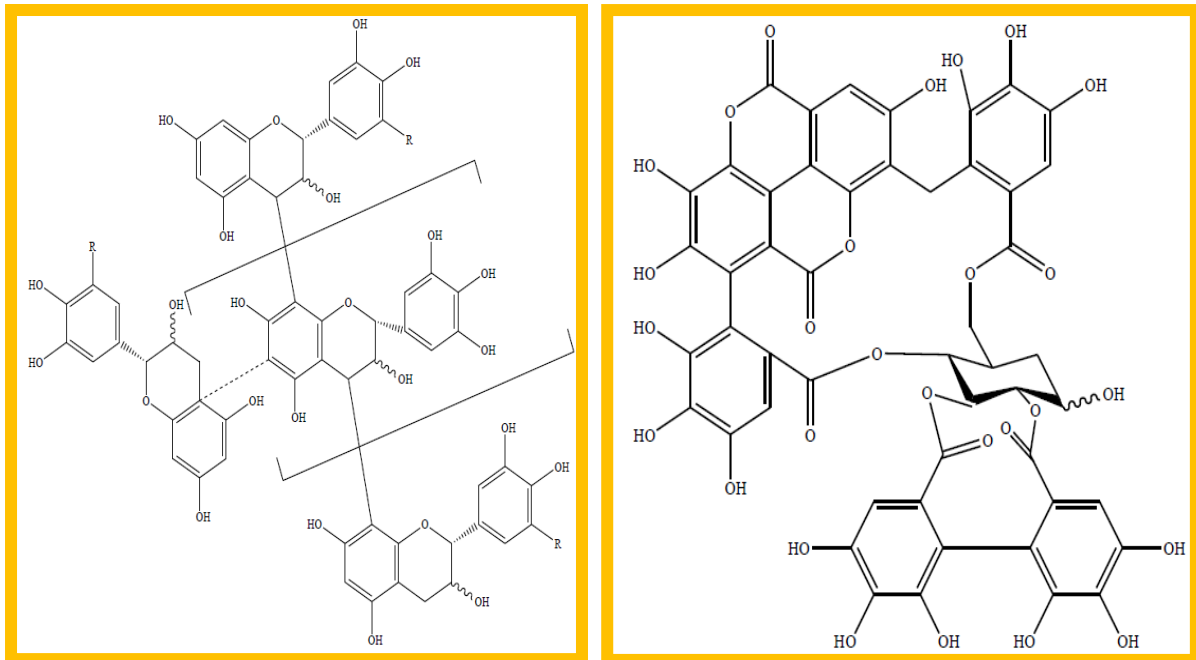
Ces tanins ont un poids moléculaire inférieur à celui des tanins condensés et présentent une moindre aptitude à précipiter les protéines, ce qui influence leur biodisponibilité et leur rôle physiologique dans les plantes (Nsemi,2010).

2. 2.3.2.Les tanins condensés

Les tanins condensés, également désignés sous les noms de tanins catéchiques, proanthocyanidols, proanthocyanidines ou procyanidines, sont des polyphénols de haut poids moléculaire, largement répandus dans le règne végétal. Ils sont issus de la polymérisation autooxydative ou enzymatique d'unités de flavan-3,4-diols (catéchines et épicatechines), reliées principalement par des liaisons interflavoniques C4–C8, et plus rarement C4–C6. Ce type de liaison définit les proanthocyanidines de type B (Boubekri, 2014).

Contrairement aux tanins hydrolysables, les tanins condensés ne comportent pas de résidu glucidique, ce qui les distingue structurellement et fonctionnellement. Leur squelette chimique est proche de celui des flavonoïdes.

On retrouve ces composés dans de nombreux groupes végétaux, notamment chez les Gymnospermes, les Fougères et diverses Angiospermes (Bruneton, 1999).



Figures 19, 20: Structure chimique des tannins condensés(1) et des tannins hydrolysables (2) (Nsemi,2010)

2.3. L'intérêt nutritionnel des composés phénoliques et localisation dans la pomme

Les polyphénols sont des métabolites secondaires produits par les plantes. Ils jouent un rôle clé dans la qualité organoleptique des aliments d'origine végétale (couleur, arôme, amertume, astringence) ainsi que dans les mécanismes de défense des plantes contre les stress abiotiques (rayonnement ultraviolet, froid, précipitations) et biotiques (herbivores, agents pathogènes). Certains polyphénols, tels que les isoflavonoïdes, les stilbènes ou les flavonols, agissent comme des phytoalexines avec des propriétés antimicrobiennes. Leur synthèse peut être déclenchée par des blessures ou des stress environnementaux, ce qui entraîne également l'accumulation de composés de défense ou de précurseurs de polymères structuraux, comme la lignine(Bourles, 2010).

2.3.1. Localisation cellulaire

À l'échelle cellulaire, les polyphénols s'accumulent essentiellement dans deux compartiments : les vacuoles intracellulaires et la paroi cellulaire. Dans les vacuoles, ils sont généralement conjugués à des sucres ou à des acides organiques, ce qui améliore leur solubilité et réduit leur toxicité. À l'inverse, dans la paroi cellulaire, on retrouve surtout des composés liés aux structures pariétales, notamment la lignine, des flavonoïdes et des esters d'acide férulique.

La biosynthèse des composés phénoliques se déroule dans le cytosol. (Bourles, 2010).

2.3.2. Localisation tissulaire

À l'échelle tissulaire, la distribution des polyphénols au sein de la plante est étroitement liée à leurs fonctions biologiques et varie fortement selon les organes et les types cellulaires. Cette répartition est notamment marquée dans les fruits, dont les concentrations diffèrent selon les parties de la plante : l'épiderme, le parenchyme, le cœur ou encore les pépins. C'est le cas, par exemple, des anthocyanes et des flavonoïdes, se localisent principalement dans l'épiderme des feuilles, où ils jouent un rôle protecteur contre les stress environnementaux.

Certains composés phénoliques présentent une accumulation spécifique dans des organes particuliers. Chez la pomme, les anthocyanes contribuent à la coloration de la peau, tandis que d'autres polyphénols affectent la qualité organoleptique de la chair, notamment l'astringence et l'amertume. Toutefois, la composition et la proportion des différentes classes de polyphénols varient largement en fonction des variétés de pommes et du tissu considéré (Bourles, 2010).

2.4. Propriétés d'oxydation des polyphénols

L'oxydation des polyphénols est le principal mécanisme à l'origine du brunissement des fruits et légumes. Ce processus peut être enzymatique ou chimique. (Dangles, 2006).

Le brunissement enzymatique est principalement causé par l'action de deux enzymes : les polyphénoloxydases (EC 1.14.18.1) et les peroxydases (EC 1.11.1.7), qui interviennent dans l'oxydation des composés phénoliques (Bernillon, 2005).

Pour que la réaction d'oxydation ait lieu, il est nécessaire que ces enzymes, localisées dans le cytosol ou associées aux membranes, entrent en contact avec les polyphénols, qui sont majoritairement localisés dans les vacuoles (Marquès et al., 2003). Ce contact survient généralement à la suite d'une altération de l'intégrité cellulaire, causée par des stress mécaniques (récolte, pelage, découpe, broyage), des procédés technologiques (congélation/décongélation, conservation au froid, irradiation) ou des stress physiopathologiques tels que les infections fongiques (De Rigal, 2001).

2.5. Les facteurs de la variation des polyphénols

2.5.1. La

variété :

De nombreuses études ont démontré que la composition et la teneur en polyphénols des pommes sont fortement influencées par des facteurs génétiques. En effet, la nature et la

concentration des composés phénoliques accumulés dans le fruit sont caractéristiques de chaque variété. Guyot et al. (2002) ainsi que Song et al. (2007) ont par exemple montré que les variétés Royal Gala et Fuji présentent des teneurs en dihydrochalcones inférieures à celles de la Golden Delicious. Par rapport aux variétés Empire ou Fuji, la chair des variétés Golden Delicious, Braeburn et Granny Smith est significativement plus riche en procyanidines. (Bourles, 2010).

Concernant l'épiderme, la teneur en flavonoïdes est notablement plus élevée dans les variétés de pommes colorées telles que Braeburn, Empire, Fuji et Cripps Pink. L'étude de Boyer et Liu (2004), portant sur dix variétés de pommes, a également confirmé l'effet de la variété sur le profil polyphénolique. Les teneurs en polyphénols totaux variaient entre 200 et 240 mg d'acide gallique équivalent pour 100 g de fruit frais, notamment chez les variétés Fuji, Red Delicious et Gala (Bourles, 2010).

2.5.2 .La maturité :

Au stade du développement et de la maturation, la teneur en polyphénols diminue de manière significative, puis se stabilise. Ce phénomène a été constaté dans la chair et la peau des pommes, notamment chez la variété Golden Delicious (Burda et al., 1990). D'autres travaux ont confirmé ce phénomène, bien que des variations aient été rapportées selon les variétés des pommes analysées et les classes de polyphénols étudiées (Awad et al., 2001 ; Kondo et al., 2002) (Bourles, 2010).

2.5.3. Le stockage :

Parmi les méthodes de conservation les plus couramment utilisées pour les pommes après la récolte, on trouve le stockage en chambre froide sous atmosphère contrôlée, qui se caractérise par une teneur réduite en oxygène (Bondoux, 1992). De plus, plusieurs études montrent une stabilité relative de la teneur en polyphénols au cours du stockage (Burda et al., 1990 ; Awad et De Jager, 2000). Cependant, en fonction de la variété et de la durée de conservation, des réductions spécifiques de certains composés, notamment les catéchines et l'acide chlorogénique, ont été constatées après des périodes de stockage prolongées, comprises entre 6 et 11 mois (Murata et al., 1995 ; Awad et De Jager, 2000 ; Van der Sluis et al., 2001). Malgré ces variations ponctuelles, la teneur globale en polyphénols reste généralement peu affectée (Bourles, 2010).

2.5.4. Type de sol :

Chez le pommier, le type de sol peut également influencer la teneur en composés phénoliques, en particulier, les teneurs en catéchines, dihydrochalcones et acide chlorogénique. Par ailleurs, la charge de l'arbre semble avoir un effet sur la composition phénolique des fruits : les arbres moins chargés présentent en effet une teneur plus élevée en acides hydroxycinnamiques et en monomères de flavanols (Travers, 2004).

3. Les huiles végétales :

3.1. Structure et constituants :

Les huiles et graisses alimentaires sont extraites de graines ou de fruits oléagineux, de germes, de pépins obtenus à partir de diverses productions végétales, ainsi que de tissus adipeux d'animaux terrestres ou marins (Taib, 2022). En général, les huiles sont insolubles dans l'eau et sont principalement extraites des parties dures et ligneuses de différentes graines, noix, céréales ou fruits. Les graines oléagineuses renferment l'huile sous forme de gouttelettes, logées dans des alvéoles (Fliflou, 2023).

Les huiles végétales, issues de diverses sources telles que l'olive, la noix, le tournesol ou le colza, se distinguent par leur composition chimique, leurs propriétés physiques, nutritionnelles et sensorielles. Leur qualité dépend en grande partie de leur stabilité à l'oxydation, un processus qui peut altérer leur goût et les rendre inconsommables.

Ces huiles présentent une grande diversité en termes d'origine, de mode de la fabrication, de composition en acides gras, vitamines et autres composés, et offrent des intérêts nutritionnels variés (Taib, 2022).

La monographie « Huiles grasses végétales » de la Pharmacopée distingue trois types principaux d'huiles :

- l'huile vierge, produite à partir de matières premières de haute qualité, uniquement par des procédés mécaniques tels que le pressage à froid ; Elle peut ensuite être clarifiée par décantation, filtration et/ou centrifugation, sans traitement chimique.
- l'huile raffinée, produite par pression et/ou extraction au solvant, puis soumise à un raffinage alcalin ou physique incluant décoloration et désodorisation. Ce processus vise à éliminer les impuretés et les composés indésirables. Seules les huiles raffinées

par acide phosphorique ou par voie alcaline peuvent être utilisées dans les préparations pharmaceutiques injectables.

- L'huile hydrogénée est obtenue par les mêmes procédés que l'huile raffinée, avec une étape supplémentaire d'hydrogénation, suivie d'un séchage, puis d'une nouvelle décoloration et désodorisation (Fliflou, 2023).

3.2. Classification selon leur proportion d'acides gras :

Les huiles végétales se caractérisent par leur profil en acides gras, notamment en acides gras saturés (AGS), mono-insaturés (AGMI) et polyinsaturés oméga-6 (AGPI ω -6), et oméga-3 (AGPI ω -3). Cette composition permet de les classer dans plusieurs catégories :

- les huiles contenant des acides gras monoinsaturés (AGMI), comme l'huile d'olive (74 %), de noisette (75 %), de glands (65 %), d'arachide (49 %), ainsi que certaines variétés de tournesol et de colza ;
- huiles végétales riches en acide linoléique (AGPI oméga 6) : huile de soja (52 %), huile de tournesol (54 %), huile de maïs (54 %) et huile de pépins de raisin (65 %).
- Huiles riches en acide alpha-linolénique (AGPI oméga 3) : huile de lin (50 %), de périlla (65 %), de caméline (38 %) et de noix (15 %).
- Huiles riches en acides gras saturés (AGS) : huile de palme (49 %), beurre de karité (47 %) et huile de palmiste (82 %).

La composition en acides gras peut varier en fonction de divers facteurs : climat, saison, zone géographique, température, mais surtout la génétique, qui joue un rôle majeur. Des travaux de sélection ont permis de développer des lignées spécifiques, comme les lignées oléiques (riches en acide oléique) ou éruciques. Par exemple, les lignées oléiques contiennent plus de 80 % d'acide oléique et moins de 9 % d'acide linoléique, ce qui améliore la stabilité oxydative des huiles (Yancie G, 2021 ; Taib, 2022).

3.3. Composition chimique des huiles végétales :

Les huiles végétales se caractérisent par une composition complexe et hétérogène, regroupant des composés issus de différentes familles chimiques. Leur fraction majoritaire est constituée de triglycérides (ou triacylglycérols), associés à des diglycérides, des monoglycérides, des phospholipides et des acides gras libres. Elles contiennent également des composés minoritaires tels que des stérols, des alcools terpéniques, du squalène, des tocophérols, des

pigments (caroténoïdes, chlorophylles), des composés phénoliques, ainsi que divers hydrocarbures (Taib, 2022).

3.3.1. Les composants majeurs:

Les acides gras sont les éléments constitutifs des différentes classes de lipides, notamment les triglycérides (TG), qui représentent 95 à 99 % des lipides totaux ;les phospholipides ;ainsi les esters de cholestérol qui sont présents dans une moindre mesure.

Les triglycérides sont formés par l'estérification d'une molécule de glycérol avec trois acides gras. Ces acides gras présentent généralement une chaîne carbonée paire comptant de 4 à 22 atomes de carbone .Cinq acides gras dominant dans les huiles végétales :

- Insaturés : acide oléique (C18:1), acide linoléique (C18:2), acide α -linoléique (C18:3).
- Saturés : acide palmitique (C16:0), acide stéarique (C18:0).

En fonction de leur degré d'insaturation, les acides gras peuvent comporter jusqu'à six doubles liaisons, ce qui influence leurs propriétés fonctionnelles, leur stabilité et leur intérêt nutritionnel (Yancie G, 2021).

3.3.2. Les composants mineurs :

La fraction mineure, ou fraction insaponifiable, correspond généralement à 0,2 à 2 % de la masse totale d'un corps gras non raffiné. Elle est constituée d'une grande diversité de composés bioactifs, tels que des hydrocarbures variés, des tocophérols, des tocotriénols, des composés terpéniques, des phytostérols, des composés phénoliques, des pigments naturels et des vitamines liposolubles (notamment les vitamines A et D). Bien que présents en quantités relativement faibles, ces constituants jouent un rôle fondamental, nutritionnel et physiologique. En effet, une part importante des propriétés biologiques et fonctionnelles des huiles végétales est attribuée à cette fraction insaponifiable, qui contribue également à leur valeur antioxydante, à leur stabilité et à leur intérêt thérapeutique.

3.3.2.1. Tocophérols et Tocotriénols

Les tocophérols (α , β , γ , δ) et les tocotriénols (α , β , γ , δ) sont des dérivés du 8-méthylchromane-6-ol, portant un ou plusieurs groupes méthyle et une chaîne latérale isoprénique : saturée chez les tocophérols, et tri-insaturée chez les tocotriénols.

Bien que présents en faibles quantités, les tocophérols jouent un rôle essentiel grâce à leur activité vitaminique, principalement attribuée à l' α -tocophérol, la forme la plus biologiquement active (vitamine E), et leur puissant pouvoir antioxydant, notamment chez le γ -tocophérol, plus efficace contre les radicaux libres lipidiques (Bertelli, A et al., 2021).

Ces composés permettent de retarder l'auto-oxydation des acides gras polyinsaturés, contribuant ainsi à la conservation des huiles végétales. De plus, leur teneur peut servir d'indicateur analytique de la pureté et de la qualité des huiles.

Les tocotriénols, sont moins fréquents dans les huiles conventionnelles, mais présents en concentrations significatives dans l'huile de palme (300 à 1000 mg/kg) (Fliflou, 2023).

3.3.2.2. Phytostérols

Les phytostérols sont des composés d'origine végétale qui présentent une structure similaire à celle du cholestérol. Ils peuvent être présents sous forme libre ou estérifiée avec des acides gras. Parmi les principaux phytostérols des huiles végétales sont : β -sitostérol ; Campestérol ; Stigmastérol ; Brassicastérol . Leur intérêt nutritionnel réside dans leur capacité à réduire l'absorption intestinale du cholestérol, ce qui en fait des agents hypocholestérolémiant naturels (Fliflou, 2023).

3.3.2.3. Pigments (Chlorophylles et Caroténoïdes)

Les chlorophylles, pigments responsables de la teinte verte des huiles, sont photosensibles. Sous l'action de la lumière, elles se dégradent ensuite en phéophytines A et B, de couleur brune, à la suite de la perte de l'atome de magnésium. Cette transformation accélère l'oxydation des huiles, réduisant leur stabilité. Pour cette raison, les chlorophylles sont généralement éliminées lors du raffinage.

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles naturels de formule brute $C_{40}H_{56}$, absorbant fortement dans le domaine du visible. Ils existent sous différentes formes isomériques (α , β , γ), la plus abondante étant le β -carotène.

3.3.2.4. Phosphatides (Phospholipides)

Les phosphatides, qui sont des lipides amphiphiles, sont présents en faible proportion (entre 0,1 et 3 %) dans les huiles végétales brutes. composés d'un squelette glycérol, de deux acides gras et d'un groupement phosphate. Les principaux types retrouvés sont : Phosphatidylcholine (PC) ; Phosphatidyléthanolamine (PE) ; Phosphatidylinositide (PI).

Ils jouent un rôle important dans la stabilité physique des émulsions, la valeur nutritionnelle, et la fonctionnalité technologique des huiles (Fliflou, 2023).

3.4. Rôle des huiles végétales :

Les huiles végétales occupent une place essentielle dans l'alimentation humaine en raison de leur richesse en acides gras essentiels, notamment l'acide linoléique (C18:2, oméga-6) et l'acide alpha-linolénique (C18:3, oméga-3), que l'organisme ne peut pas synthétiser. Elles sont également une source de vitamines liposolubles, telles que la vitamine E, la vitamine D et la provitamine A (β -carotène), ainsi que d'autres substances composés bioactifs d'intérêt nutritionnel, comme les phytostérols et les composés phénoliques.

Par ailleurs, ces huiles contribuent au renouvellement des membranes cellulaires et participent activement au bon fonctionnement de divers systèmes physiologiques, notamment les systèmes cardiovasculaire, immunitaire, rénal et hématologique (par régulation de l'agrégation plaquettaire) (Taïb, 2022).

4. Techniques d'analyse des composés bioactifs :

4.1. Méthode de dosage par le Folin-Ciocalteu :

La méthode de Folin-Ciocalteu permet d'estimer la teneur totale en composés phénoliques présents dans une solution. Ce réactif réagit avec ces composés pour former des complexes colorés bleus, résultant de leur oxydation. L'intensité de la coloration ainsi obtenue est proportionnelle à la concentration de ces composés et peut être quantifiée par colorimétrie, généralement à une longueur d'onde de 720 nm. Ce test permet d'estimer la teneur en composés phénoliques totaux, car il mesure l'ensemble des composés réducteurs présents dans la solution (Sanoner, 2001).

4.2. Les méthodes de chromatographie liquide :

4.2.1. Séparation des composés par chromatographie liquide

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est aujourd'hui l'une des méthodes les plus couramment utilisées, pour analyser les composés phénoliques dans un extrait. Elle présente l'avantage de tout en offrant une excellente répétabilité.

Pour l'analyse des composés phénoliques, l'utilisation de colonnes en phase inverse de type C18 (apolaires) est généralement recommandée (Marouf, 2005). Les solvants organiques, comme le méthanol ou l'acétonitrile, sont fréquemment utilisés pour l'élution des molécules. La séparation des composés s'effectue au fil du temps, selon leur affinité respective pour la phase stationnaire et la phase mobile.

Dans des conditions d'analyse identiques, le temps de rétention (R_t) d'un composé sur une colonne chromatographique est un paramètre caractéristique de la molécule analysée. Dans le cas d'extraits végétaux complexes, comme le jus de pomme, les temps d'analyse nécessaires à la séparation des composés peuvent être très longs. Il est donc recommandé d'utiliser la chromatographie en phase liquide à ultra haute performance (UHPLC), plutôt que pour la HPLC, en raison de ses performances analytiques supérieures. La différence entre ces deux techniques réside dans la granulométrie des particules de la phase stationnaire. En UHPLC, le diamètre des particules est inférieur à 2 μm , alors qu'il varie de 3 à 5 μm en HPLC conventionnelle. La réduction de la taille des particules augmente la surface spécifique de la phase stationnaire, ce qui améliore les performances chromatographiques, notamment en réduisant les temps d'analyse par rapport à la HPLC. Cependant, cette diminution de la granulométrie entraîne une augmentation de la perte de charge de l'éluant lors de son passage à travers la phase stationnaire, ce qui nécessite des pressions de fonctionnement nettement plus élevées en UHPLC (entre 600 et 1 000 bars) qu'en HPLC (entre 150 et 350 bars) (Verdu et al., 2013).

4.2.2. Identification des composés par méthodes spectrométriques

À ce jour, plus de 8 000 structures différentes de composés phénoliques ont été identifiées dans le règne végétal (Quideau, Deffieux et al., 2011). De nombreuses méthodes analytiques peuvent être envisagées pour recenser les composés phénoliques présents dans un échantillon, en fonction des objectifs (qualitatifs ou quantitatifs) et de la nature des molécules à analyser (disponibilité de standards commerciaux ou présence de constituants à la structure originale). D'autres méthodes analytiques sont également disponibles et, lorsqu'elles sont couplées, permettent d'identifier partiellement les composés. Il s'agit principalement de la

spectrophotométrie ultraviolette (UV) et de la spectrométrie de masse (MS), qui peuvent être associées en sortie de chromatographie liquide. Associées à l'utilisation de standards commerciaux et à l'aide de paramètres tels que le temps de rétention, la masse moléculaire, le profil de fragmentation et le spectre d'absorption UV, ces techniques facilitent l'identification des composés (Verdu et al., 2013).

4.2.2.1. La spectrophotométrie UV

Tous les composés phénoliques présentent une absorption dans le domaine ultraviolet, en raison de la présence de leur noyau aromatique. Toutefois, les profils spectraux d'absorption diffèrent selon leur classe chimique, notamment en raison du nombre de fonctions phénoliques. Cette propriété est due à la présence d'insaturations en positions 2 et 3, ainsi qu'à la présence d'un groupe carbonyle en position 4 (Verdu et al., 2013).

Les esters d'acides hydroxycinnamiques présentent un maximum d'absorbance autour de 330 nm. Les flavanols et les dihydrochalcones présentent un pic d'absorbance à environ 280 nm, tandis que les flavonols montrent un maximum d'absorbance vers 375 nm, avec un second pic autour de 265 nm. Ces profils spectraux peuvent toutefois subir de légères modifications, notamment en raison de transformations chimiques des molécules (Tsao et Yang, 2003).

Les spectres UV fournissent ainsi une première indication sur la classe chimique à laquelle appartiennent ces composés phénoliques.

4.2.2.2. La spectrométrie de masse MS

Les composés phénoliques, qui sont des molécules organiques polaires et de faible poids moléculaire, se prêtent particulièrement bien à l'analyse par spectrométrie de masse. Ces analyses, effectuées en aval du système chromatographique, permettent de déterminer le rapport masse/charge (m/z) des ions pseudo-moléculaires chargés positivement ou négativement, issus des composés élués de la colonne chromatographique.

Un spectromètre de masse se compose généralement de trois éléments distincts :

la source d'ionisation ; l'analyseur ; le détecteur.

La source d'ionisation est responsable de la charge des molécules, par ajout ou suppression d'un proton. Les ions observés correspondent alors à des espèces de type $[M+H]^+$ ou $[M-H]^-$. Selon la source d'ionisation utilisée, des adduits de natures variées peuvent apparaître. Par exemple, l'ion sodium conduit souvent à l'apparition d'un signal de masse correspondant à $[M+Na]^+$.

Il existe différents types de sources d'ionisation. Lorsqu'un échantillon est introduit dans le spectromètre, il traverse un capillaire fin soumis à un champ électrique intense, ce qui génère

de fines gouttelettes chargées. Ces gouttelettes se nébulisent, puis s'évaporent progressivement sous l'effet du chauffage de la source et d'un flux de gaz.

L'augmentation de la densité de charge au sein des gouttelettes provoque leur éclatement, ce qui génère des microgouttelettes transportant les composés chargés. Ce type de source d'ionisation permet d'ioniser les molécules en douceur, limitant ainsi leur fragmentation (Marouf, 2005).

Il existe différents types d'analyseurs, les plus courants étant les quadrupôles, les trappes d'ions et les analyseurs à temps de vol (TOF). Plusieurs analyseurs peuvent être associés en série pour réaliser de la spectrométrie de masse en tandem (MS/MS). Les trappes d'ions permettent de piéger les ions afin d'effectuer une fragmentation ciblée, facilitant ainsi l'analyse des relations MS/MS des molécules étudiées par piégeage et fragmentation successive des ions ou fragments.

Le spectromètre de masse utilisé dans ce travail est un triple quadrupôle.

Enfin, le détecteur convertit les ions en un signal électrique proportionnel à leur quantité. Ce signal est ensuite amplifié afin de permettre son traitement informatique (Verdu et al., 2013).

4.2.3. Quantification des composés

Les études de quantification des polyphénols sont généralement réalisées par chromatographie liquide couplée à la détection UV (LC-UV) ou à la spectrométrie de masse (LC-MS). Dans tous les cas, la quantification nécessite l'utilisation d'étalons, quel que soit le mode de détection employé.

Dans le cadre de notre étude, les mesures quantitatives ont été effectuées par étalonnage externe. Cette méthode consiste à injecter des solutions de standards purs à différentes concentrations, puis à établir une courbe d'étalonnage en fonction de l'aire sous la courbe du pic chromatographique correspondant au composé analysé.

Pour les détecteurs UV, la réponse est déterminée par les chromophores présents dans les molécules. La quantification obtenue est donc relative au standard utilisé, car certains composés peuvent présenter un maximum d'absorbance similaire, mais des coefficients d'extinction molaire différents.

En spectrométrie de masse, le signal dépend entièrement du comportement du composé lors des étapes d'ionisation et de fragmentation. Il est donc nécessaire de disposer d'un standard purifié pour chaque composé à quantifier, ce qui limite considérablement le nombre de composés mesurables par cette technique (Marouf, 2005 ; Verdu et al., 2013).

5. Étude des composés phénoliques des pommes par chromatographie liquide.

Plusieurs études ont été publiées concernant l'analyse des extraits et des jus de pomme par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrophotométrie de masse (HPLC-MS) (Tsao, Yang et al., 2003 ; Abad-García, Berrueta et al., 2007). Compte tenu de la forte concentration de composés, notamment de procyanidines, dans les échantillons de pomme, il est souvent nécessaire d'allonger considérablement le temps d'analyse pour obtenir une résolution suffisante permettant une quantification précise.

Pour simplifier les chromatogrammes, il est possible d'ajouter du phloroglucinol, qui permet de dépolymériser les procyanidines et de les doser de manière globale (Sanoner, Guyot et al., 1999 ; Kennedy et Jones, 2001 ; Verdu et al., 2013).

Article 1 : Inventaire des principaux agents fongiques responsables de la détérioration des pommes en poste récolte dans l'ouest algérien (la plaine de Ghriss)

1. Introduction

Les pommes (*Malus × domestica* Borkh) sont largement consommées et constituent le fruit le plus cultivé au monde (Tulegenova et al., 2025; Schiavon et al., 2023) en raison de leur valeur nutritionnelle et de leurs propriétés organoleptiques, telles qu'un goût sucré, une couleur attrayante, un arôme unique, une texture croquante et des caractéristiques de résistance au stockage (Li et al., 2024 ; Yin et al., 2023 ; Szot et al., 2022 ; Guo et al., 2021). Les pommes sont consommées fraîches car elles constituent une source importante de fibres alimentaires (Sun et al., 2019), de vitamines et de composés bioactifs, notamment de polyphénols, de flavonoïdes et d'antioxydants enzymatiques et non enzymatiques (Schiavon et al., 2023 ; Bösch et al., 2021), qui peuvent avoir des effets bénéfiques sur la santé en réduisant le risque d'hypertension, de diabète et d'autres maladies chroniques (Habib et al., 2021 ; Mahmood Ul Hasan, 2023).

Selon FAOSTAT (2020), les pommes sont cultivées sur 6,5 millions d'hectares, pour une production mondiale de 126 millions de tonnes. La Chine est en tête de la production mondiale de pommes, avec 81,0 millions de tonnes, et possède la plus grande superficie de culture de pommes au monde, contribuant approximativement à la moitié de l'approvisionnement mondial en pommes. Elle est suivie par les États-Unis d'Amérique, la Turquie, la Pologne, l'Inde, l'Italie, l'Iran et la Russie (Mahmood Ul Hasan, 2023). Parmi les pays de l'Union européenne (UE), les plus gros producteurs sont la Pologne, l'Italie, la France et l'Allemagne. Les variétés les plus répandues sont la Golden Délicieuse (21 %), la Gala (11 %) et la Idared (9 %) (Szot et al., 2022). Selon le cultivar, les pommes peuvent être conservées pendant de longues périodes, que ce soit à l'air libre ou en atmosphère contrôlée (AC) (Mahmood Ul Hasan, 2023).

Les pommes sont stockées pendant 4 à 6 mois, et dans certains cas jusqu'à 1 an, afin de garantir leur disponibilité tout au long de l'année (Vico et al., 2014). Pendant le stockage, les pommes sont très sensibles à la pourriture causée par des agents pathogènes post-récolte. Les pertes causées par les champignons pathogènes sont estimées entre 5 et 25 % de la

quantité initiale de fruits (Vico et al., 2014 ; Schiavon et al., 2023 ; Błaszczuk et al., 2022). Les pommes, avec leur teneur élevée en sucre et en nutriments, créent un environnement favorable à la croissance des champignons (Alwakeel, 2013).

Cependant, ce fruit tempéré est sensible à divers problèmes de qualité en poste- récolte, notamment la perte d'eau et la sensibilité aux maladies pathogènes. La perte d'eau, également appelée perte de poids ou perte d'humidité, est considérée comme un indicateur de la qualité post-récolte de la pomme. (Mahmood Ul Hasan, 2023). La qualité et la durée de conservation des fruits sont fortement influencées par divers facteurs notamment les conditions pédoclimatiques, l'humidité relative, les pratiques culturales, la qualité de l'eau d'irrigation, ainsi que les types d'engrais utilisés. Le type de fruit et son état de maturité jouent également un rôle déterminant dans l'apparition des maladies fongiques avant la récolte, ou dans la prédisposition à la pourriture fongique post-récolte (Spadoni et al., 2017 ; Zhang et al., 2021)

La pourriture bleue est l'un des problèmes post-récolte les plus importants sur le plan économique dans le monde. La pourriture bleue est l'un des problèmes post-récolte les plus importants du monde sur le plan économique (Vico et al., 2014 ; Li et al., 2023).

Les pertes post-récolte dues à des pathogènes fongiques peuvent aller de 0,25 % à 70 %, en fonction de facteurs tels que les conditions du verger, la maturité de la culture, la région de culture, les traitements fongicides et la durée du stockage. *Penicillium expansum* est l'agent pathogène de pourriture post-récolte le plus répandu, responsable de pertes significatives pouvant aller jusqu'à 50 % pendant le stockage (Mahmood Ul Hasan, 2023). Les champignons sont responsables d'environ 70 % des principales maladies des cultures. Outre les effets des températures élevées et de l'humidité relative, les champignons produisent des enzymes pectiques qui dégradent la pectine de la pomme et exposent les nutriments cellulaires aux champignons (Alwakeel, 2013). Pour prévenir les maladies et la détérioration des pommes après la récolte, les approches les plus couramment appliquées sont le contrôle des conditions de stockage et les traitements chimiques (Schiavon et al., 2023).

Notre étude consiste à identifier les principaux agents fongiques responsables de la détérioration des pommes stockées en chambre froide de la région d'Ouest algérien, ainsi qu'à

caractériser ces champignons en évaluant leur capacité à sécréter des enzymes extracellulaires et à analyser leur effet sur les pommes en post-récolte.

2. Matériels et méthodes

2.1. Produits chimiques et réactifs

Milieu PDA (Potato dextrose agar), eau stérile, solution tampon de lyse LB, CIS (Chloroforme : alcool isomylique-24:1), NaCl, isopropanol, NaAc (acétate de sodium), éthanol, agarose, tampon d'électrophorèse TAE 1X, Gel Redsafe, Merck, et Intron. Tris-HCl, KCl, MgCl₂, Triton X-100, Taq ADN polymérase (Thermo Fisher), colorant (Fermentas 6X Loading Dye Solution), Thermo Fisher, Bioshop, Sigma Aldrich, pectine de pomme

2.2. Échantillonnage et isolement fongique

Des espèces fongiques ont été isolées à partir de tous les types de déchets de pommes Golden Delicious provenant d'entrepôts frigorifiques à Maoussa, dans la plaine de Ghriss, province de Mascara, à l'ouest de l'Algérie.

Les déchets de pommes ont été collectés pendant la saison de stockage d'octobre à novembre 2020-2021. Le processus d'isolement a été réalisé selon la méthode décrite par (Ivana Vico et al. 2014) avec de légères modifications.

L'isolement du champignon à partir de la pomme détériorée a été réalisé par inoculation directe du tissu pourri interne après stérilisation de surface avec l'éthanol à 70% et enlèvement aseptique de la peau. Les fragments isolés (4 à 6 mm de diamètre) ont été placés sur la gélose au dextrose de pomme de terre (PDA), dans des boîtes de Pétri en plastique de 9 cm de diamètre, et incubés à température ambiante (26°C) pendant 5 à 7 jours. Pour chaque échantillon, trois répétitions ont été préparées. Après l'incubation, les cultures fongiques ont été purifiées en les transférant dans d'autres boîtes de Pétri contenant du PDA stérile additionné de Gentamycine® (5 mg par litre) comme agent bactériostatique, puis incubées pendant 5 à 7 jours. Les colonies pures obtenues ont été grattées, placées dans des tubes Eppendorf et conservées au réfrigérateur à 4 °C en vue d'analyses ultérieures.

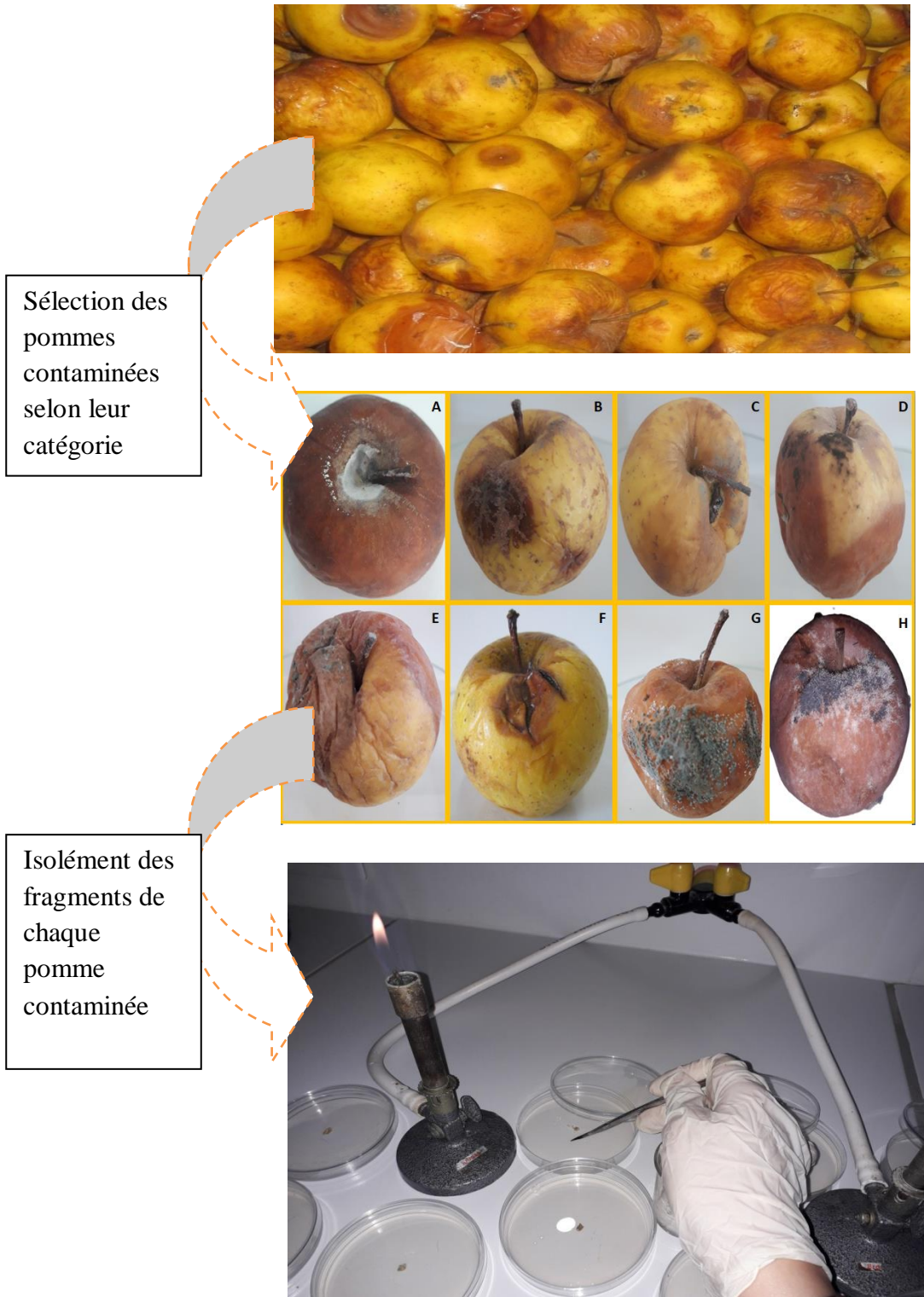


Figure 21: Isolement des champignons à partir des déchets des pommes des chambres froides de la région Maousa –Mascara

2.3. Identification et caractérisation morphologique des espèces fongiques

Les champignons isolés purs ont été identifiés en fonction de leurs caractéristiques macros et micro, en suivant les clés d'identification fongique établis par Botton et al. (1990) et Chabasse et al. (2002).

2.3. 1. Observation macroscopique

L'observation des colonies fongiques à l'œil nu a été réalisée après une incubation sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pendant une durée de 4 à 7 jours, selon le genre étudié. Plusieurs caractères morphologiques ont été pris en compte pour la description macroscopique, notamment :

- le mode de sporulation ;
- l'aspect de la colonie : duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux, granuleux ou glabre ;
- le relief : plat, plissé
- la taille : petite, étendue ou envahissante ;
- la couleur du revers : blanche, crème ou colorée (verte, brune, marron, noire, grise...) ;
- la présence éventuelle d'un pigment diffusible dans la gélose.

La vitesse de croissance et la température optimale de développement sont également des critères importants pour l'identification des champignons (Aurélié, 2013).

2.3. 2. Observation microscopique

L'étude microscopique a été réalisée afin de caractériser les structures morphologiques spécifiques des champignons, notamment l'appareil végétatif, les organes de fructification ainsi que les structures de reproduction sexuée et asexuée (Aurélié, 2013 ; Chamekh, 2021). La technique utilisée repose sur la méthode du scotch transparent : un petit morceau de ruban adhésif est appliqué, face collante vers le bas, sur la surface de la colonie à l'aide d'une pince stérile. Le scotch est ensuite déposé sur une lame porte-objet contenant quelques gouttes de colorant, tel que le bleu de coton ou le lugol à 20 %. L'observation est effectuée au microscope optique avec des grossissements de $\times 10$ et $\times 40$ (Gahfif, 2021).

Ces observations morphologiques peuvent être complétées par des techniques d'identification moléculaire, afin d'assurer une classification précise des souches fongiques.

2.3. 3. Conservation des isolats

Après purification, les isolats sont repiqués sur milieu PDA inclinés contenant dans des tubes à essai stérile. Les tubes sont incubés pendant 3 jours à une température de 25°C, puis conservés au froid à 4°C pour favoriser leur viabilité et limiter les possibilités de variation (Rapilly, 1968 ; Makhloufi, 2023).

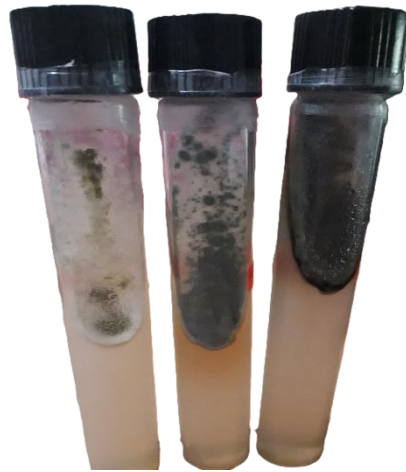


Figure 22 : Conservation des isolats fongiques dans des tubes à gélose incliné

2.3. 4. Fréquence de contamination

Pour chaque genre fongique identifié, on calcule la fréquence de détection selon la formule suivant :

$$\text{La fréquence d'un genre fongique} = \frac{\text{nombre de détection d'un genre fongique donnée} \times 100}{\text{nombre de détection de tous les genres fongique}}$$

2.3. 5. Identification moléculaire

Le diagnostic génotypique des champignons a été réalisé selon la méthode du code-barres universel basée sur l'amplification de l'ITS (internal transcribed spacer) de l'ADN ribosomal nucléaire par réaction en chaîne de la polymérase (PCR) (Borneman et Hartin 2000 ; Rodriguez et al., 2009). L'isolement de l'ADN a été réalisé selon Aydin et al. (2018). À cette fin, l'ADN génomique a été isolé à partir de mycéliums cultivés sur PDA.

2.3. 3.1 Isolation de l'ADN génomique

L'isolation de l'ADN a été réalisée par Aydin et al. (2018) avec des modifications et ce protocole a été décrite par Mr Tabar B, Docteur à l'université d'igdir –Turquie

- I - Les échantillons fongiques ont été transférés dans le mortier pré-réfrigéré à l'aide d'un scalpel stérile. Après avoir été pressés, les échantillons ont été placés dans des tubes Eppendorf stériles de 2 ml, en évitant toute contamination. À chaque tube, 330 μ L de tampon de lyse LB (75 % d'eau distillée + 25 % de tampon de lyse) ont été ajoutés.
- II-Par la suite, 370 μ L de LiCl 8 M ont été ajoutés aux tubes Eppendorf, et les tubes ont été vortexés pour assurer un mélange complet. Ensuite, 40 μ L de solution de SLS à 20% ont été ajoutés, et le mélange a été vortexé à nouveau pour obtenir une homogénéité complète.
- III-Puis, les échantillons sont incubés dans un bain-marie à 65°C pendant 60 minutes, et toutes les 15 minutes, les échantillons sont vortexés après avoir été replacés dans le bain-marie. A la fin de l'incubation, les échantillons sont refroidis sur de la glace. Ajouter 740 μ L de CIS (chloroforme : alcool iso-amylique, 24:1) à la solution. Après vortex, centrifuger le mélange à 10 000 xg pendant 10 minutes.
- IV-Après centrifugation, le surnageant (environ 600 μ l) est prélevé par pipetage et transféré dans un nouveau tube eppendorf de 2 ml. Ensuite, un volume égal de solution CIS (chloroforme : alcool iso-amylique, 24:1) (environ 600 μ l) à été ajouté au surnageant, suivi d'une agitation.
- V- Les tubes sont ensuite centrifugés à 10 000 xg pendant 5 minutes. Après centrifugation, 600 μ l de surnageant ont été transférés dans un nouveau tube Eppendorf de 1,5 ml. Le surnageant pipeté est conservé pendant une nuit à -20 °C, après l'ajout au tube Eppendorf de 1/10e de volume de NaCl 5 M et de 9/10e de volume d'isopropanol.
- VI- Les échantillons sortis du congélateur sont laissés dans un bain-marie à 65°C. Après décongélation, centrifuger à 10 000 \times g pendant 5 minutes. Retirer le surnageant et retourner les tubes pour éliminer l'alcool résiduel. Ensuite, 300 μ L d'eau distillée à température ambiante ont été ajoutés au tube pour dissoudre l'ADN restant

au fond. Si la dissolution n'a pas eu lieu, les échantillons ont été incubés dans un bain-marie à 65°C. Ensuite, 30 µl de NaAc (acétate de sodium) sont ajoutés au tube.

- VII- Pour chaque culot d'ADN au fond des tubes, 300 µL de tampon TE préchauffé (65°C) et 30 µL d'acétate de sodium (pH 5,2) sont ajoutés. Le mélange est dissous avant d'ajouter 870 µL d'éthanol à 100 %. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 10 000 xg pendant 5 minutes à température ambiante, et le surnageant est soigneusement éliminé, un volume de 500 µL d'éthanol froid à 70 % est ensuite ajouté à l'échantillon.
- VIII- Après déplacement du culot, les échantillons sont centrifugés à 5 000 × g pendant 3 minutes. Suite à un lavage à l'éthanol et à l'inversion des tubes, 150 µL d'eau distillée sont ajoutés, puis les échantillons sont conservés à -20 °C pour une utilisation ultérieure après décongélation.

2.3. 3.2 Détermination de l'ADN

La qualité et la quantité des ADN obtenus ont été déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop de marque MAESTRO (2000 C, Thermo Scientific, Japon), et des échantillons d'ADN génomique d'une quantité et d'une qualité suffisante ont été obtenus à partir des régions ITS1-5. 8SrRNA-ITS4 en utilisant les amorces universelles ITS1 : TCCGT AGGTGAACCTGCGG et ITS4 : TCCTCCGCTTGA TATGC (Manter et al. 2007). Les valeurs d'absorbance ont été mesurées à A230, A260 et A280 dans la gamme de longueurs d'onde de 200 à 300 nm. Une évaluation de la qualité a également été établie (Aydin, 2018).

2.3. 3.3 Méthode d'électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une technique permettant d'évaluer la qualité de l'ADN extrait. Après avoir déterminé la quantité et la qualité de l'ADN à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop 2000 C (Thermo Scientific, Japon), l'intégrité et la pureté de l'ADN génomique sont encore évaluées par électrophorèse sur gel d'agarose.

2.3. 3.3.1 Préparation du gel d'agarose à 1% pour l'électrophorèse

Pour préparer un gel d'agarose à 1 %, 1 g d'agarose a été ajouté à 100 ml de tampon d'électrophorèse TAE 1X et homogénéisé en dissolvant le mélange dans un four à micro-

ondes. Après refroidissement du gel à environ 40-45°C, 2 µL de colorant Gel Redsafe ont été ajoutés avec une concentration finale de 5 µg/100 mL et le gel a été placé en électrophorèse. Ensuite, 2,5 µl de produits PCR sont chargés sur le gel avec le colorant de chargement (Fermentas 6X Loading Dye Solution). Les échantillons ont été chargés dans les puits du gel et testés pendant 120 minutes à 60V/cm en utilisant une solution TBE 1X.

2.3. 3.4 Réactions en chaîne de la polymérase (PCR)

Les enzymes et les réactifs utilisés dans les processus de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) sont appropriés pour les études de biologie moléculaire et ont été obtenus auprès de Thermo Fisher, Bioshop, Sigma Aldrich, Merck et Intron. L'amplification PCR a été réalisée à l'aide du thermocycleur Labcycler Gradient de SensoQuest GmbH. En outre, 100 % de la « rampe » du thermocycleur a été utilisée.

Le volume d'analyse par PCR a été ajusté à 25 µL, contenant 100 nanogrammes d'ADN total, 0,5 µM de la paire d'amorces utilisée, 12 mM de Tris-HCl (pH : 9,1), 60 mM de KCl, 0,012 % de Triton X-100, 0,28 mM de chaque dNTP, 2-3 mM de MgCl₂ et 1 unité de Taq ADN polymérase (Thermo Fisher).

2.3. 3.4.1 Profil de réaction en chaîne de la polymérase (PCR)

Pour le profil PCR, les températures d'hybridation ont été optimisées pour chaque ensemble d'amorces, en commençant par une température d'hybridation initiale de 56°C. Afin de limiter la formation de produits d'amplification non spécifiques lors de la PCR ciblant la région ITS, un protocole de type « touchdown PCR » a été mise en œuvre. Dans cette approche, la température d'hybridation a été diminuée de 0,5 °C à chaque cycle suivant, après que la paire d'amorces s'est initialement liée aux brins d'ADN cibles à une température au moins 5 °C supérieure à la température de renaturation. Cette diminution de la température d'hybridation (Th) a été appliquée durant les dix premiers cycles de la réaction (Aydın, 2018).

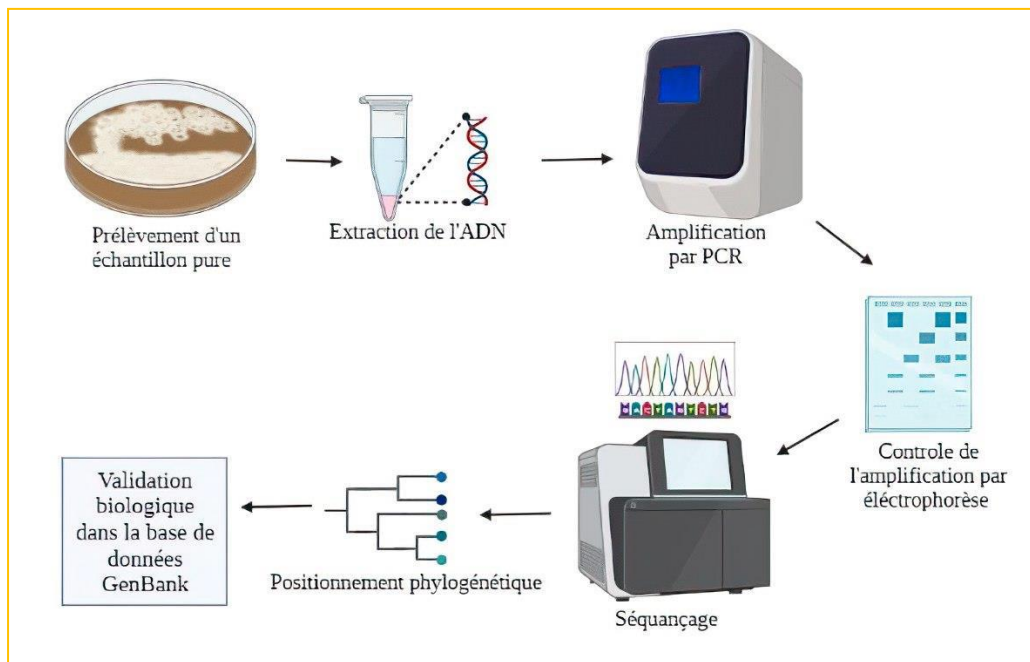


Figure 23: Etapes de l'identification moléculaire des espèces fongiques (Makhloufi, 2023)

2.5. Évaluation du pouvoir pathogène des champignons

Afin de déterminer si les cinq isolats fongiques (CLO, ASP, Pen2, ALT et Pen1) étaient responsables de la pourriture des pommes après récolte, des tests de pathogénicité ont été effectués.

Le test de pathogénicité a été réalisé selon le protocole de « Ivana et al. 2014 » et « Yangying sun et al. 2019 » avec des modifications.

Des pommes mûres du cultivar Golden Delicious ont été prélevées dans une chambre froide, lavées à l'eau distillée stérile, puis séchées à l'air libre à température ambiante.

Ensuite, la surface de chaque pomme a été désinfectée avec de l'éthanol à 70 %. À l'aide d'un scalpel stérile ou pipette de pasteur, des fragments circulaires de tissus (d'environ 0,6 cm de diamètre) ont été prélevés de manière aseptique sur la surface de la pomme. Des disques mycéliens (5 mm de diamètre), contenant des spores, ont été prélevés sur des cultures de CLO, ASP, Pen1 et Pen2 âgées de 5 jours et cultivées sur PDA à 25°C, puis transférés sur les plaies. Les échantillons de pommes ont été placés dans des boîtes en plastique et conservés à température ambiante (25 °C) pendant sept jours. Deux répétitions ont été effectuées pour l'inoculation de chaque espèce fongique.

PDA. L'incidence de la maladie a été évaluée en mesurant le diamètre de pourriture tous les deux jours (Sun et al., 2019).

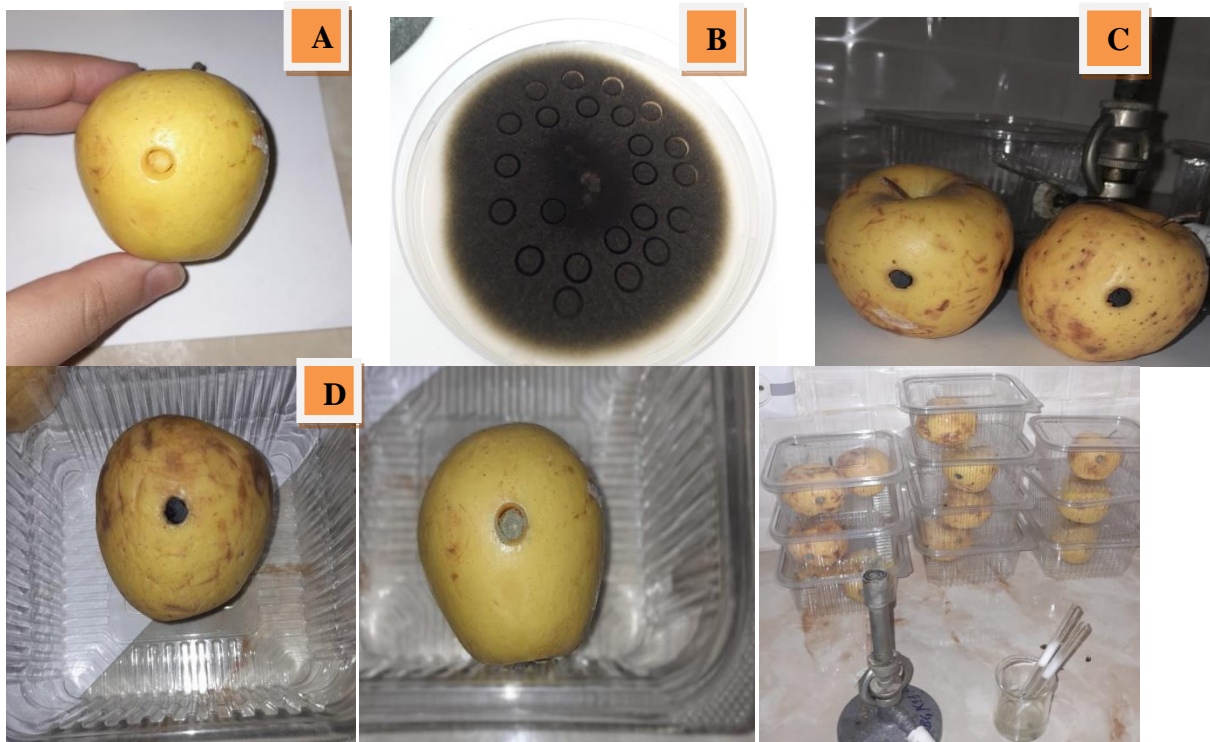


Figure 24 : Principales étapes du test de pathogénicité des isolats fongiques sur les pommes

2.6 .Criblage qualitatif des isolats pour la production d'enzymes hydrolytiques

La capacité des isolats à produire des enzymes extracellulaires telles que l'amylase, la protéase, la cellulase et la lipase a été évaluée par un criblage qualitatif sur milieu solide contenant un substrat spécifique comme unique source de carbone (Ceska, 1971 ; Chamekh, 2021). Pour chaque test, un fragment de 5 mm de diamètre d'une culture fongique âgée de 7 jours a été déposé au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu sélectif approprié (Bekkar, 2016). Après une incubation à 28 °C pendant 4 à 5 jours, selon la vitesse de croissance des souches, l'apparition d'un halo clair autour des colonies indiquait une activité enzymatique, reflétant la production de l'enzyme ciblée (Bekkar, 2016; Chamekh, 2021).

L'intensité de la production enzymatique a été évaluée à l'aide d'un index enzymatique (IE), calculé selon la formule de Hankin et Anagnostakis (1975) :

$$IE = R / r$$

Où R est le diamètre total de la zone d'hydrolyse (colonie + halo) et r le diamètre de la colonie. Les souches présentant un $IE \geq 2$ ont été considérées comme de bons producteurs enzymatiques. La composition détaillée des milieux de culture et des réactifs utilisés est fournie en annexe (Annexe 1).

2.6.1. Recherche des enzymes carbohydrases

Ce criblage repose sur l'utilisation de milieux solides enrichis en sources carbonées spécifiques, tels que l'amidon ou la cellulose.

2.6.1.1 . Recherche de l'activité amylolytique

L'activité amylolytique a été testée sur une gélose nutritive additionnée de 2 g/L d'amidon soluble (Chamekh, 2021). Après une incubation à 28 °C pendant 3 à 4 jours, les boîtes ont été inondées avec une solution iodée pendant 5 à 10 minutes. L'hydrolyse de l'amidon se manifeste par des zones claires autour des colonies, tandis que les zones non dégradées se colorent en bleu-noir (Bragger et al., 1989 ; Akmoussi, 2020).

2.6.1.2 .Recherche de l'activité cellulolytique

L'activité cellulase a été évaluée selon la méthode de Mandels et Weber (1969), sur un milieu contenant 1 % de carboxyméthylcellulose (CMC) (Gahfif, 2021). Après incubation, les boîtes ont été maintenues à 50 °C pendant 16 heures pour activer l'enzyme (Abe et al., 2015 ; Montenecourt et Eveleigh, 1977). L'ajout d'une solution iodée, suivi d'un rinçage à l'eau distillée, a permis de révéler les zones claires autour des colonies, témoignant ainsi de l'activité cellulolytique (Chamekh, 2021).

2.6.2. Recherche de l'activité protéasique

L'activité protéasique a été détectée sur un milieu gélosé contenant du lait écrémé. Après incubation à 28 °C pendant 2 à 5 jours, la présence d'un halo transparent autour des colonies indiquait la dégradation de la caséine (Gahfif, 2021).

2.6.3 . Recherche de l'activité lipolytique

L'activité lipasique a été testée sur un milieu gélosé contenant du Tween 20 (polyoxyéthylène-sorbitan-monolaurate) comme substrat lipidique. Le Tween 20 a été autoclavé séparément, puis ajouté au milieu stérile avant la gélification, afin d'éviter la formation de dépôts d'agar (Bekkar, 2016).

2.7. Analyse statistique

Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée pour évaluer les différences de diamètre entre les colonies fongiques cultivées et analyser leur capacité de production enzymatique. Le criblage enzymatique issu des inoculations fongiques a été quantifié et exprimé sous forme de moyenne \pm écart-type (ET) sur la base de trois répétitions indépendantes. Un seuil de signification statistique de $p < 0,001$ a été retenu.

3. Résultats et discussion

3.1. Identification des isolats fongique

L'examen microscopique représente l'une des méthodes les plus anciennes et les plus simples pour l'identification des champignons dans les échantillons alimentaires. L'observation microscopique directe des structures fongiques, telles que les hyphes, les spores et les conidies, fournit des informations morphologiques précieuses qui peuvent aider à l'identification des espèces (Pouris et al ., 2024).

Description des souches fongiques isolée

Dans le but de déterminer le genre des isolats fongiques issus des déchets de pommes provenant de chambres froides, des observations macroscopique et microscopique (à un grossissement de 40 x) ont été réalisées .Les résultats sont présentés dans le tableau : (Tableau 14)

Tableau 14 : Aspects macroscopiques et microscopiques des isolats fongique des pommes contaminées

Inventaire des principaux agents fongiques responsables de la détérioration des pommes en poste récolte dans l'ouest algérien (la plaine de Ghriss)

Matériels et Méthodes 1

Souche	Caractérisation macroscopique	Caractérisation microscopique
1	<p><i>Alternaria</i> sp</p> <p>Surface : colonie brun claire ,</p> <p>Versant : colonie brun foncé avec des chevelus</p> <p>Croissance : rapide. Aspect : velouté à laineux. Relief de la colonie : plat</p>	<p>Conidies : brunes, lisses en forme de murs, produites en chaînes, en forme de massue, cloisonnées longitudinalement et transversalement.</p> <p>Conidiospores : septés, lisses, droits</p>
2	<p><i>Aspergillus</i> sp</p> <p>Surface : colonie de couleur vert ,</p> <p>Versant : blanc cassée</p> <p>Croissance : rapide , Aspect : colonie granuleuse</p> <p>Relief de la colonie : plat</p>	<p>Conidiophore : lisse, verdâtre, longue.</p> <p>Vésicule : ovale</p> <p>Phialides : portées par des métules insérés sur tout le pourtour de la vésicule.</p> <p>Conidies : globuleuses, échinulées, verte</p> <p>Tête aspergillaire : bisériée, radiée</p>
3	<p><i>Cladosporium</i> sp</p> <p>Surface : colonie de couleur vert foncée ,</p> <p>Versant : noire</p> <p>Croissance : lent</p> <p>Relief de la colonie : plat</p>	<p>Hyphe : foncé septé</p> <p>Conidiophore : érigé, pigmenté et des conidies en chaînes ramifiées</p> <p>Conidies : forme elliptique à cylindrique, de couleur brun très pâle à brun foncé</p>
4	<p><i>Diplodia</i> sp</p> <p>Surface et versant : premier 2 jours blanc et après la couleur de colonie changera en noire ,</p> <p>Croissance : très rapide ,</p> <p>Aspect : velouté</p> <p>Relief de la colonie : plat</p>	<p>Conidies : hyalines ovoïdes bicellulaire</p> <p>Hyphe : hyaline septée transparent</p>
5	<p><i>Talaromyce</i> sp</p> <p>Surface : la colonie est gris foncée au centre et les contours en blanc ,</p> <p>Versant : orange au centre et des élongations jaunes au tour du centre</p> <p>Croissance : rapide.</p> <p>Relief de la colonie : plat</p>	<p>Hyphe : hyaline septée transparent</p> <p>Conidiophore : portes des métules</p> <p>Phialide : structure en forme de bouteille produisant les spores</p> <p>Spores : petites spores rondes à ovales, produites en chaîne par phialides</p>

6	<p>Aspergillus niger</p> <p>Surface : la colonie est noire , Versant : incolore</p> <p>Croissance : très rapide ,</p> <p>Aspect : colonies granuleuses</p> <p>Relief de la colonie : plat</p>	<p>Conidiophore : lisse, hyalin, très long.</p> <p>Vésicule : globuleuse</p> <p>Phialides : insérées sur la vésicule par l'intermédiaire de métules disposés sur tout le pourtour de la vésicule.</p> <p>Conidie : globuleuse, brune</p> <p>Tête aspergillaire : noire à maturité</p>
7	<p>Penicillium sp</p> <p>Surface : petit colonie en gris , Versant : colonie jaune orangée avec des couleurs verts</p> <p>Croissance : rapide. Aspect : poudreux</p> <p>Relief de la colonie : colonie avec un centre bombé</p>	<p>Structure en forme pinceau (pénicilles) portent des conidies</p> <p>Conidies sont disposées en longues chaînes et en forme globuleuse</p> <p>Thalle : forme de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores</p> <p>conidiophores : granuleux, ramifiés</p>
8	<p>Mucor sp</p> <p>Surface : colonie noire , Versant : noire claire avec des centres jaunes</p> <p>Croissance : très rapide ,</p> <p>Aspect : granuleuses</p> <p>Relief de la colonie : plat</p>	<p>Conidiophore : hyalin, portant de tête de conidies (tête aspergillaire)</p> <p>Conidies : brunes, de texture verruqueuse</p>



Figure 25: Caractérisation macroscopique et microscopique de *Cladosporium sp* (a : identification macroscopique ; b : identification microscopique)

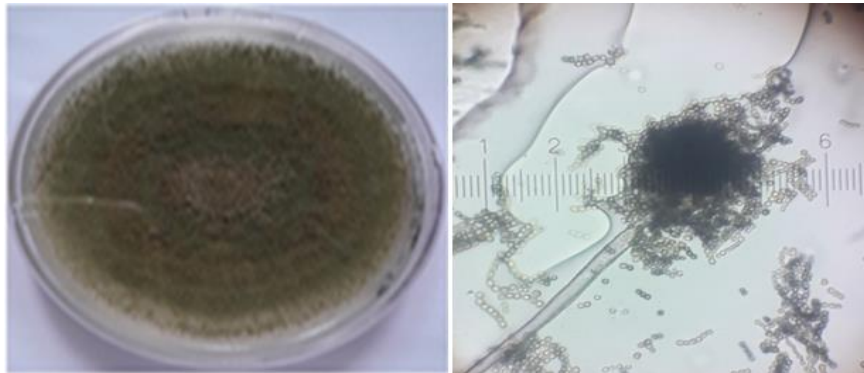


Figure 26: Caractérisation macroscopique et microscopique d'*Aspergillus sp* (a : identification macroscopique ; b : identification microscopique)

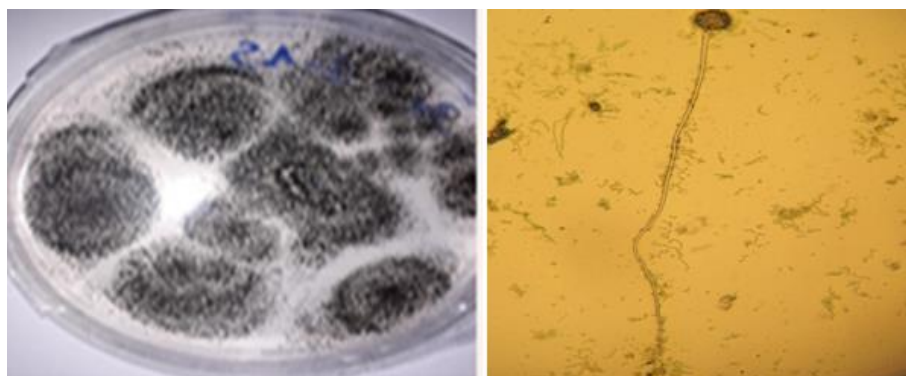


Figure 27: Caractérisation macroscopique et microscopique de *Mucor sp* (a : identification macroscopique ; b : identification microscopique)

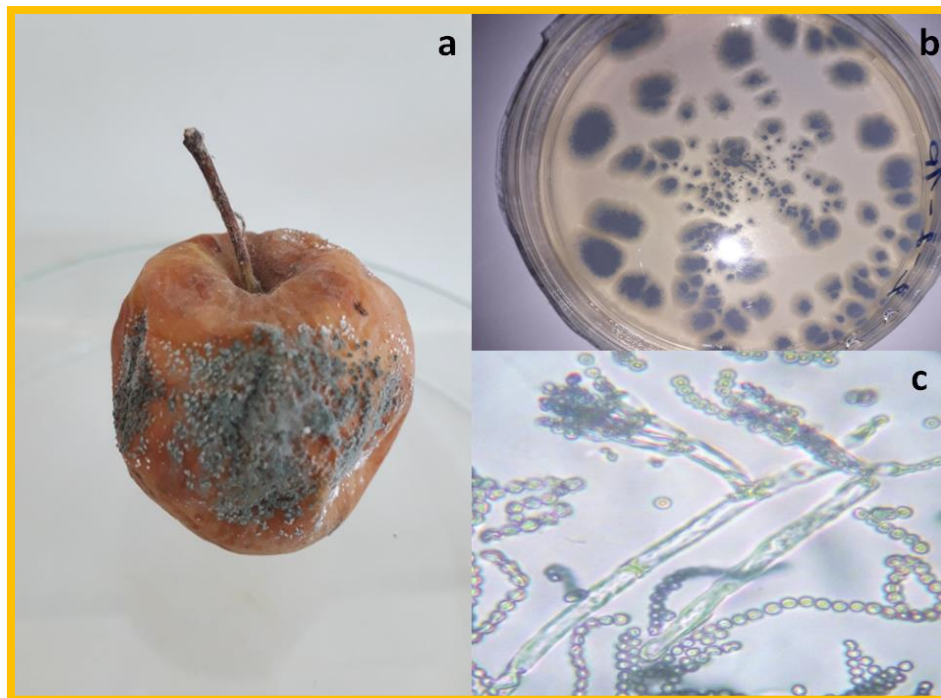


Figure 28: Caractérisation macroscopique et microscopique de *Penicillium sp* (a : développement de *Penicillium sp* sur la surface de la pomme ; b : identification macroscopique ; C : identification microscopique)

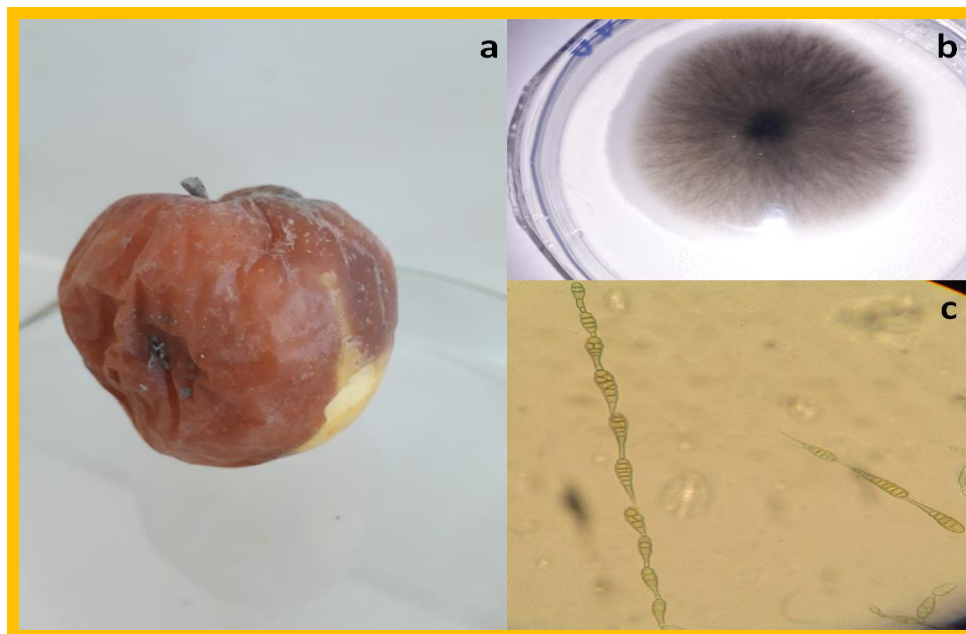


Figure 29: Caractérisation macroscopique et microscopique d'*Alternaria sp* (a : développement d'*Alternaria sp* sur la surface de la pomme ; b : identification macroscopique ; C : identification microscopique)

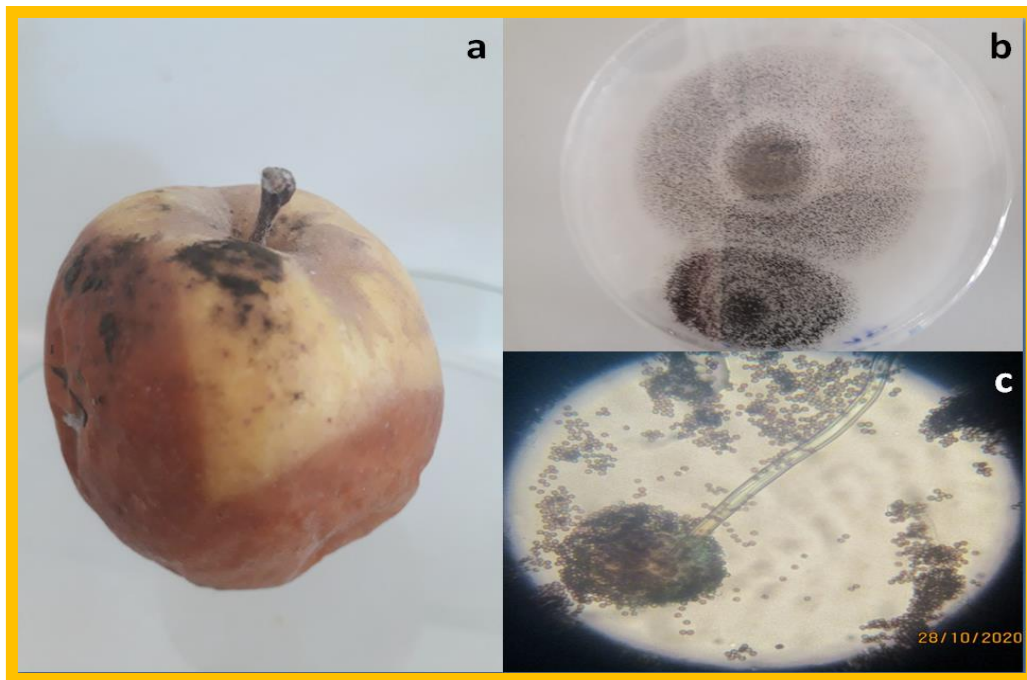


Figure 30: Caractérisation macroscopique et microscopique d'*Aspergillus niger* (a : développement d'*Aspergillus niger* sur la surface de la pomme ; b : identification macroscopique ; C : identification microscopique)

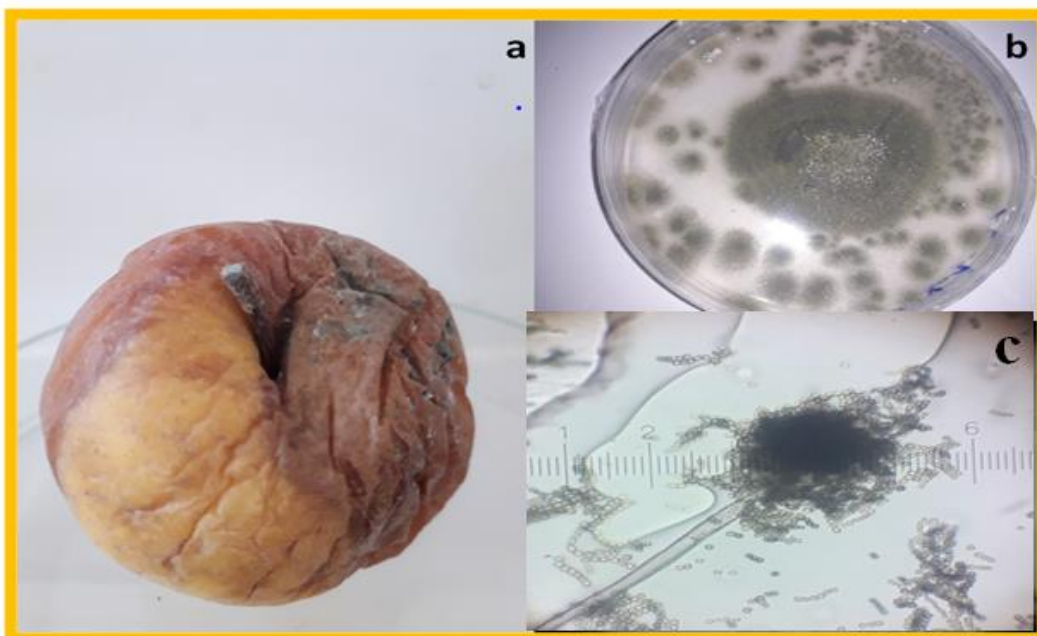


Figure 31 : Caractérisation macroscopique et microscopique d'*Aspergillus sp* (a : développement d'*Aspergillus sp* sur la surface de la pomme ; b : identification macroscopique ; C : identification microscopique)

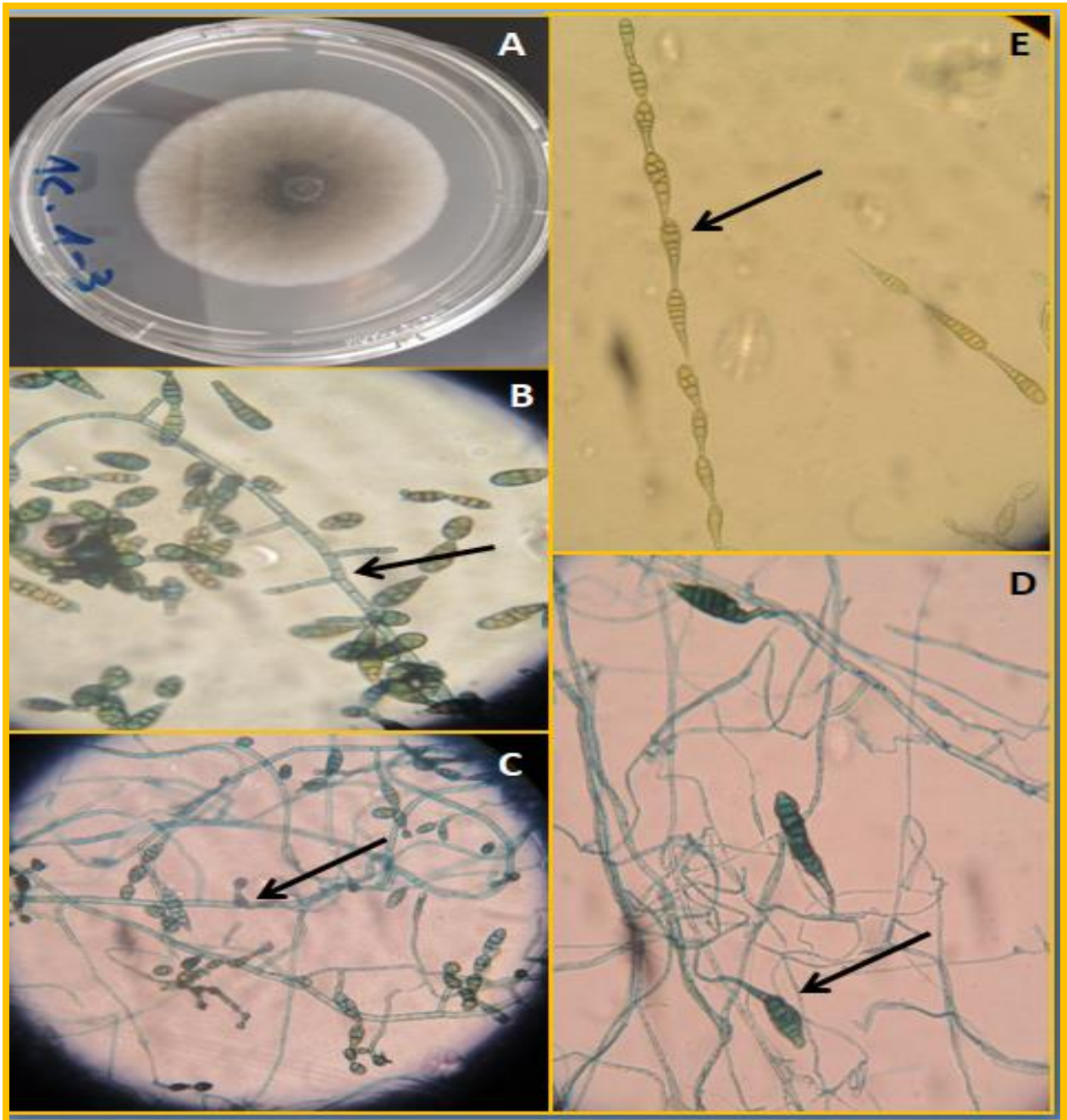


Figure 32 : Identification macroscopique(A) et microscopique d'*Alternaria* sp (E : chaîne de conidies, B, C:conidiophore septé ; D : Hyphe)

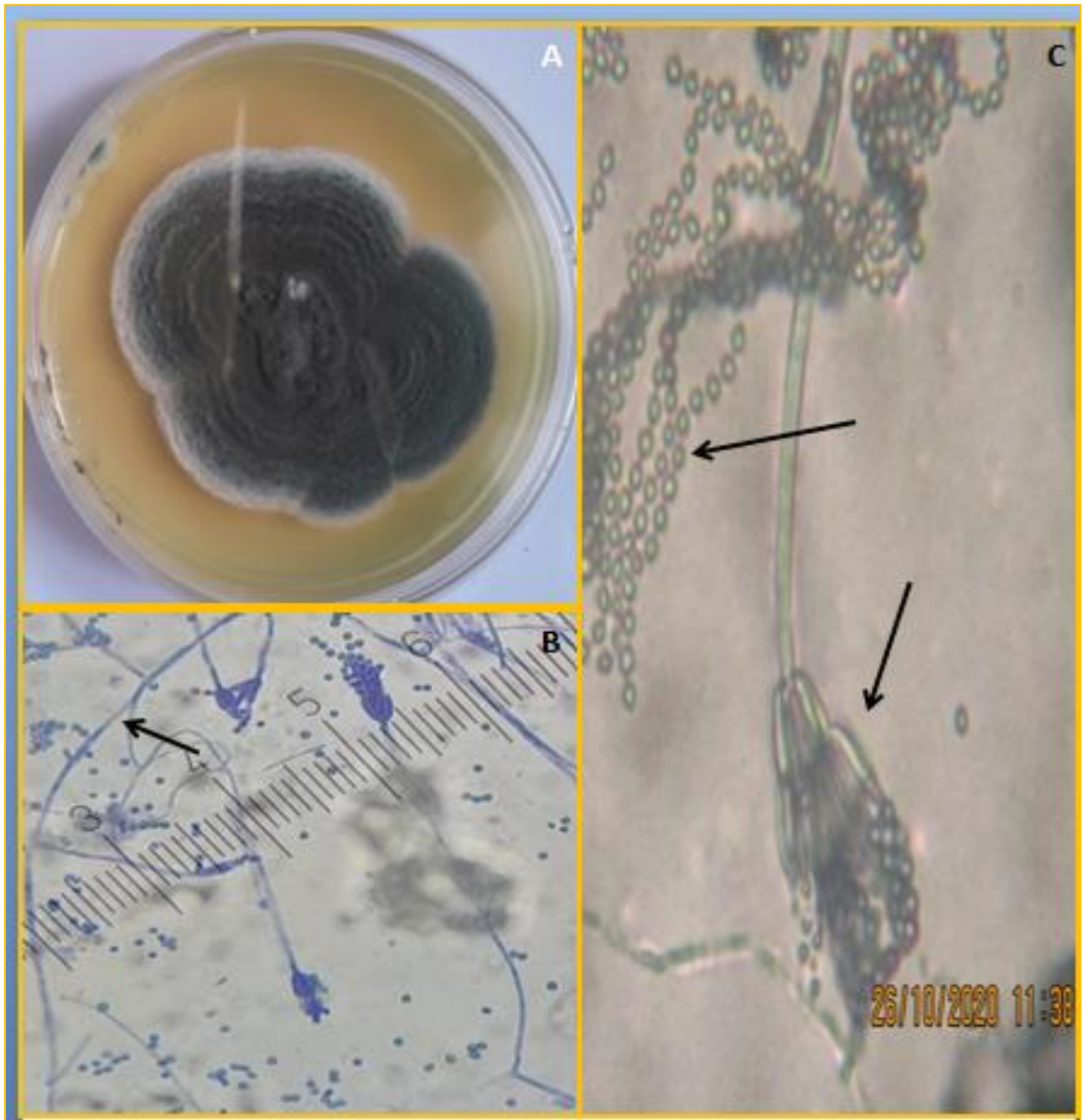


Figure 33 : Identification macroscopique(A) et microscopique de *Talaromyces* sp (B : Hyphe, C : conidie, Phialide)

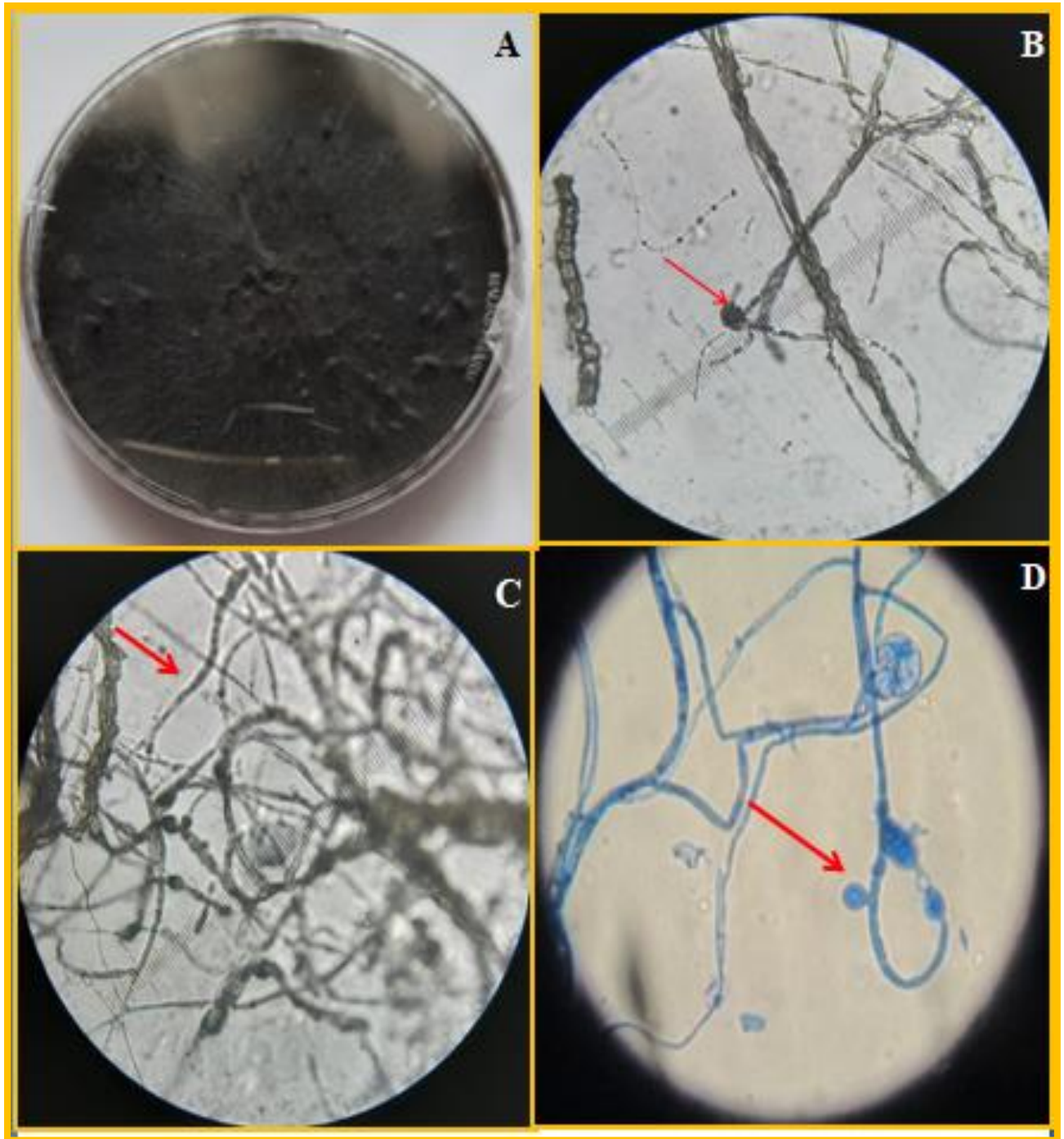


Figure 34 : Identification macroscopique(A) et microscopique de *Diplodia* sp (B ,D : Conidie, C:Hyphe)

A partir de ces résultats, on constate que ces genres, regroupent 8 espèces fongiques. Ces champignons inventoriés appartenant à trois groupes:

- **Espèces contaminants:** *Aspergillus niger*, *Aspergillus sp*, *Mucor sp*.
- **Espèces biodégradant:** *Penicillium sp*,
- **Espèces pathogènes:** *Cladosporium sp*, *Alternaria sp*, *Diplodia sp*.

Ces espèces sont pathogènes pour le pommier au verger et au cours du stockage en chambre froids. Ces résultats sont en accord avec ceux de Leng et al. (2023), à l'exception de ceux concernant *Botrytis cinerea*, *Botryosphaeria dothidea* et *Monilia sp*. L'absence de pourriture causée par *Botrytis cinerea* est probablement due à l'utilisation de traitements préventifs (fongicides) dans cette région.

D'après Pouris et al. (2024), les principaux contaminants fongiques des cultures, observés aussi bien en pré-récolte qu'en post-récolte, appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Claviceps*. Parmi eux, les principaux champignons saprophytes sont *Aspergillus*, *Penicillium* et *Alternaria*. Dans le cas des fruits, la plupart des pertes post-récolte résultent de la détérioration fongique, principalement causée par des champignons filamenteux, et les signes visuels de contamination varient en fonction des moisissures saprophytes qui se développent à la surface des fruits (Bento et al., 2024)

En poste récolte, l'infection par *Aspergillus* survient généralement à partir de débris des végétaux contaminés présents dans les champs ou par le biais de blessures sur les fruits. Lorsque ces derniers sont endommagés, *Aspergillus* peut les infecter plus facilement en raison de leur affaiblissement. Ce processus est favorisé par des conditions de température élevée et d'humidité, qui favorisent la germination des conidies et la croissance fongique (Latiffah Zakaria, 2024).

Harteveld et al. (2020) ont identifié *Diplodia seriata* comme l'agent causal de la pourriture noire affectant certains cultivars de pommier cultivés aux Pays-Bas. Cette espèce fongique est également connue pour provoquer des chancres, des dépérissements, des pourritures de fruits et des taches foliaires chez diverses espèces forestières et horticoles d'importance économique (Bhat et al., 2023).

3.2. Evaluation de la fréquence d'isolement

D'après les résultats obtenus, cinq genres fongiques ont été identifiés : *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Diplodia* et *Talaromyces*. Le genre *Penicillium* regroupe le plus grand nombre d'espèces, avec une fréquence d'apparition de (25 %), suivi de *Alternaria* (17 %) et *Aspergillus* (13 %). Les genres *Diplodia* et *Talaromyces* ont été recensés avec des fréquences respectives de (15 %) et (7 %). D'autres contaminants fongiques tels qu'*Aspergillus niger*, *Mucor sp*, et *Cladosporium sp* ont également été identifiés, avec des fréquences de (5 %), (2 %) et (3 %) respectivement.

La répartition des différents isolats identifiés appartient au phylum des Ascomycota (92 %), sauf *Mucor sp*, qui appartient au phylum des Mucoromycota. D'après les résultats présentés dans le tableau 9 (**Annexe 2**), les espèces fongiques apparaissent réparties de manière hétérogène sur les déchets de pommes du cultivar Golden Delicious, isolés au sein de chambres froides situées dans la région de Maoussa, wilaya de Mascara à l'ouest de l'Algérie. Le genre *Penicillium* présente une fréquence d'apparition élevée sur l'ensemble des pommes isolées flétries et blessées. Il est reconnu comme un agent saprophyte capable d'attaquer toutes les espèces végétales, dans les denrées stockées.

Les espèces de *Penicillium*, en particulier *Penicillium expansum*, sont souvent responsables de la moisissure bleue des pommes, une grave maladie post-récolte responsable de la plupart des pertes de pommes dans le monde. Les deux genres *Rhizopus*, *Mucor* infectent principalement les fruits endommagés ou blessés et provoquent également la pourriture molle après la récolte. Ainsi que, le genre *Alternaria* est reconnue comme l'un des champignons de détérioration à croissance rapide avant la récolte et durant le stockage en chambres frigorifiques. Il a été détecté sur plusieurs fruits, notamment les pommes, les tomates, les myrtilles et les cerises (Bento et al., 2024).

En revanche, Andrea Patriarca (2019) montre qu'une autre catégorie de pathogènes de la pomme comprend des espèces appartenant aux genres *Cladosporium*, *Fusarium*, *Epicoccum*, *Phoma*, ainsi que, de manière moins fréquente, *Botrytis*, *Alternaria* et *Penicillium*. Ces champignons se développent à l'intérieur du fruit et provoquent la pourriture du noyau, caractérisée par une zone altérée au centre du fruit. Les pathogènes peuvent infecter les fruits avant la récolte, lorsque les spores fongiques pénètrent dans les fleurs sénescents, puis rester en dormance sans provoquer des symptômes apparents jusqu'à la récolte, et au cours de la conservation post-récolte.

Pour le genre *Aspergillus*, d'autres espèces ont été signalées comme pathogènes pour les plantes. L'*Aspergillus* noir (section *Nigri*) provoque souvent des maladies post-récolte dans les arbres fruitières, et d'autre type des plantes. On le trouve souvent sur les arachides, le maïs, les oignons, le café et les raisins (Patriarca, A., 2019). Il est facile de reconnaître l'*Aspergillus* noir car des masses de conidies noires apparaissent sur les parties infectées des plantes. Ces conidies contiennent de la mélanine dans leur paroi cellulaire, ce qui les protège contre la lumière UV, la sécheresse et les fortes concentrations de sel (Segers et al., 2018).

A. *niger* est une espèce du groupe d'*Aspergillus* noir signalées comme pathogènes pour les plantes durant le stockage (Zakaria, L, 2024).

Souches fongiques	Fréquence	Nombres d'échantillons
<i>Alternaria</i>	17%	100
<i>Aspergillus niger</i>	5%	100
<i>Mucor sp</i>	2%	100
<i>Aspergillus sp</i>	13%	110
<i>Penicillium sp</i>	25%	110
<i>Cladosporium sp</i>	3%	100
<i>Diplodia sp</i>	15%	110
<i>Penicillium sp2</i>	7%	100
<i>Talaromyce sp</i>	9%	100

Tableau 15 : Fréquence d'isolement des principaux agents fongiques isolés à partir de pommes détériorées au poste de récolte

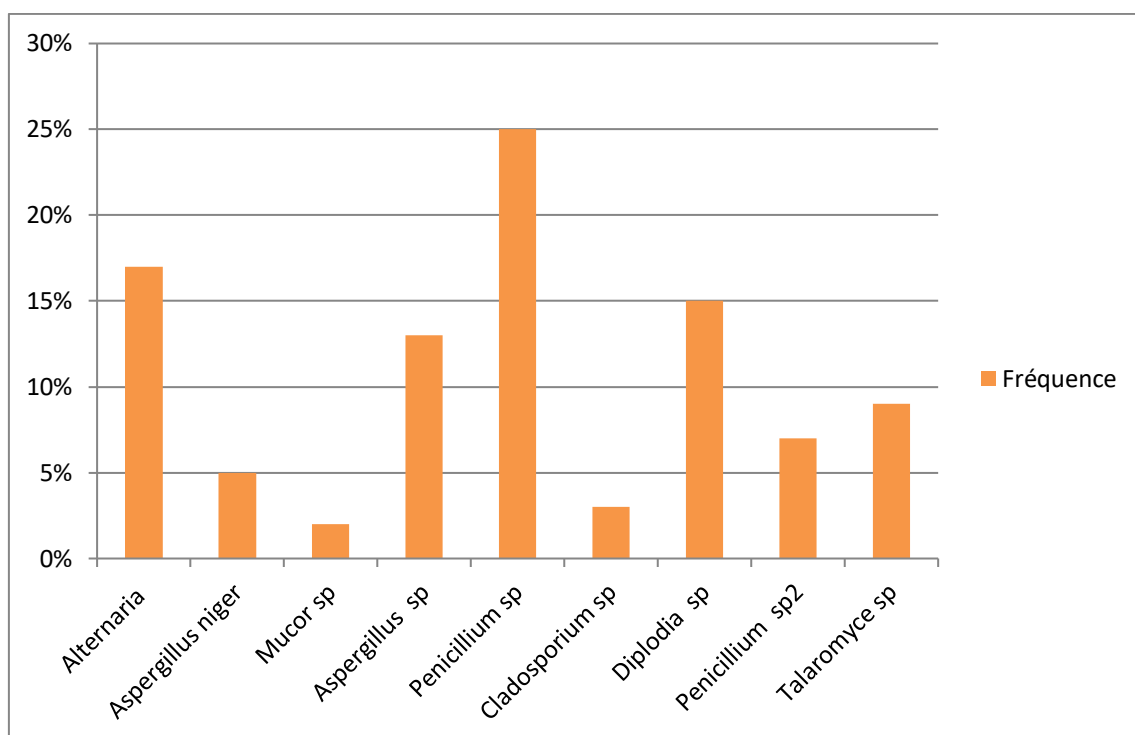


Figure 35 : Fréquence d'isolement des espèces fongiques responsables de la détérioration des pommes en poste récolte.

3.3. Caractérisation de la pathogénicité des espèces fongiques

Les résultats obtenus dans le tableau montrent que le développement de l'espèce fongique *Diplodia sp* est plus rapide que les autres espèces, suivant le *Penicillium sp*, *Aspergillus sp* et *Talaromyce sp*. La figure 7 de l'Annexe 2 illustre l'état des fruits contaminés par ces isolats après trois mois d'incubation à 25 °C.

Jours	<i>Penicillium sp</i>	<i>Talaromyce sp</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Diplodia sp</i>
0	0.5	0.5	0.5	0.5
2	1.5	0.7	1	3
4	3	1	2	6
7	5	2.5	4	9
10	7	4	6	-
14	-	7	-	-

(-) fruit complet

Tableau 16 : Evaluation de la moyenne de la pathogénicité des souches fongiques

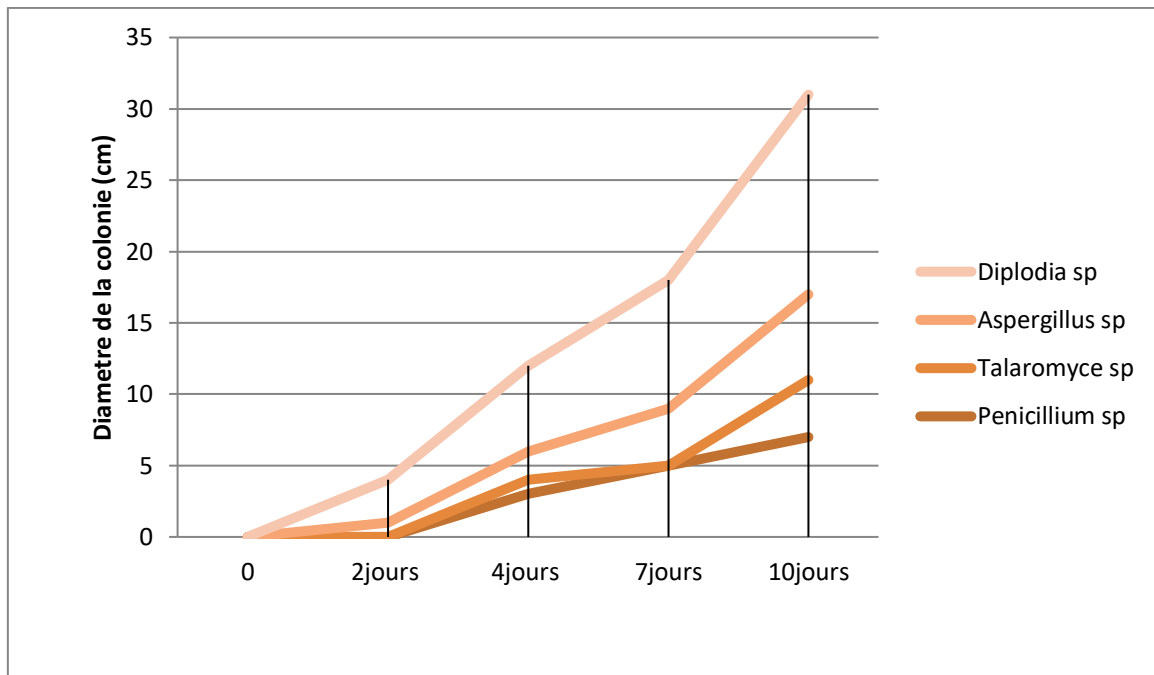


Figure 36: La croissance moyenne des isolats fongiques sur la surface des pommes

Des résultats similaires ont été rapportés sur la pathogénicité de *D. seriata* sur pommier. Il est considéré comme un pathogène secondaire et faible sur pommier en Angleterre et en Nouvelle-Zélande (Laundon 1973) ; Alors qu'aux États-Unis, *D. seriata* est considéré comme un pathogène important du pommier, provoquant des chancres, des taches foliaires et la pourriture des fruits de cet hôte (Brown-Rytlewski et McManus, 2000). M. Arzanlou et H. Dokhanchi (2013) ont également rapporté son impact significatif dans d'autres régions, soulignant ainsi la nécessité d'une surveillance accrue et de stratégies de gestion adaptées pour limiter les pertes causées par ce pathogène.

3.4. Identification moléculaire des espèces fongiques

Les méthodes moléculaires ont révolutionné l'identification et la caractérisation des champignons dans les échantillons alimentaires (les pommes), en offrant une spécificité, une sensibilité et une précision inégalées. Les techniques d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) ciblent des régions conservées de l'ADN fongique, telles que la région de l'espace interne transcrit (ITS), ce qui permet l'amplification et la détection rapides de l'ADN fongique dans les échantillons alimentaires. Le séquençage des produits PCR, suivi d'une comparaison

avec des bases de données de référence, permet une identification précise des espèces (Pouris et al., 2024)

L'identification moléculaire des genres *Penicillium sp*, *Aspergillus sp*, *Diplodia sp* a été réalisée en utilisant la région ITS4 (Internal Transcribed Spacer), qui est une région hautement conservée. Ce qui en fait des cibles appropriées pour l'identification au niveau des espèces et l'analyse phylogénétique. Les bandes des séquences obtenues ont été déposées dans la base de données NCBI GenBank sous les numéros d'accèsion : (PV936513) pour CLO ; (PV936514) pour ASP ;(PX056281) pour Pen2.

La comparaison des séquences obtenues pour les isolats CLO, ASP et Pen2 avec les séquences de référence de la base de données NCBI, à l'aide du programme BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), a révélé un degré de similarité de 98,11 % entre la séquence CLO et celle de la souche *Diplodia seriata* (MT587384.1). La séquence de l'isolat ASP présentait une similarité de 97,96 % avec celle de la souche *Aspergillus flavus* (MN533830.1), tandis que celle de l'isolat Pen2 montrait une similarité de 99,62 % avec *Penicillium bilaiae* (KC773834.1). *Diplodia seriata* est considéré comme un pathogène important aux États-Unis, responsable du chancre, de taches foliaires et de la pourriture des fruits du pommier (Brown-Rytlewski et McManus, 2000). En revanche, il est considéré comme un pathogène secondaire de faible importance sur le même hôte en Angleterre et en Nouvelle-Zélande (Laundon, 1973). Ces différences peuvent être attribuées à des variations de virulence entre les souches, ou à une connaissance encore incomplète de la taxonomie du genre, ce qui entrave la reconnaissance et l'identification moléculaire précises des espèces. Il est également possible que, chez des espèces à large gamme d'hôtes telles que *Diplodia seriata*, la virulence d'un isolat donné varie en fonction de l'hôte infecté (Phillips et al., 2007). *Diplodia seriata* a été considéré comme un pathogène primaire hautement virulent (Larignon et al., 2001 ; Savocchia et al., 2007 ; Epstein et al., 2008). Dans la région du Lower Elbe, au nord de l'Allemagne, la pourriture noire des pommes a été signalée pour la première fois comme maladie pré-récolte en août 2007, et sa présence a été constatée de manière récurrente à chaque saison depuis cette date (Trapman, Maxin et Weber, 2008).

Dans les vergers affectés, des conditions optimales pour l'infection notamment des températures avoisinant 20 °C combinées à des précipitations abondantes ont entraîné des

pertes dépassant 5 % au moment de la récolte, de manière récurrente chaque année (Trapman, Maxin et Weber, 2008).

Le champignon responsable, *Diplodia seriata*, survit durant l'hiver dans les lésions de l'écorce, les rameaux morts ainsi que dans les pommes momifiées restant sur l'arbre. Lors de fortes précipitations, les conidies libérées des fruits momifiés sont dispersées sur la surface des fruits sains, provoquant des infections primaires à travers les lenticelles (Quast & Weber, 2008).

En Amérique du Nord, les conditions idéales ont été caractérisées par une période de 9 heures d'humidité des feuilles à 20-24°C pour les infections de fruits est 4,5 heures d'humidité à 26,6°C pour les infections de feuilles (Arauz & Sutton, 1989) entre 2011 et 2013, la pourriture noire du pommier (*Diplodia seriata*) a provoqué des pertes de fruits pouvant atteindre 7,5 % chez les arbres témoins non traités (Brockamp & Weber, 2013).

On constate donc que le facteur limitant la croissance de cette espèce sur les pommes est l'humidité. Avant le stockage, il est donc nécessaire de trier les fruits et de contrôler l'atmosphère ainsi que le degré d'humidité afin d'empêcher le développement de ce type de maladies. Généralement, le développement de ces maladies est considérablement réduit lors d'un stockage à basse température.

Penicillium expansum est l'agent pathogène de la pourriture bleue le plus courant et le plus important sur le plan économique pour les fruits après la récolte (Rosenberger, 1990 ; Xiao et Boal, 2009). Selon Shabbir Hussain et al. (2020), ce champignon peut infecter les fruits avant ou pendant la récolte par le biais de blessures, ce qui entraîne la production de patuline après la récolte.

Le genre *Aspergillus* comprend plus de 300 espèces, réparties en 19 sections. Parmi elles, les espèces fongiques appartenant à la section *Aspergillus Flavi* sont importantes pour l'agriculture, biotechnologie, l'industrie alimentaire et la santé humaine. *Aspergillus flavus* est un pathogène opportuniste qui peut infecter de nombreux grains et aliments pendant le stockage. *Aspergillus flavus* est un champignon virulent majeur du maïs, des arachides et du maïs, en particulier lors de la période de récolte (Cho et al., 2022) .

A. flavus, et les autres espèces appartenant à la section Flavi produisent également diverses mycotoxines comme les aflatoxines qui ont des effets néfastes sur l'homme.

Aspergillus flavus est le deuxième agent le plus courant de l'aspergillose invasive, et le cancérigène le plus puissant dans la nature, ce qui entraîne des dommages importants aux cultures et après poste récolte et des pertes économiques dans la production fruitières et du céréales. Une fois qu'il a pu contaminé un substrats, il produit de grandes quantités de conidies. En raison de leur faible volume, les conidies peuvent rester en suspension dans l'air et se répandre facilement parmi les grains et les aliments dans les installations de stockage en chambre froids (Gong et al., 2024).

3.5. Caractérisation des champignons responsable de la détérioration des pommes

Criblage enzymatique

Les champignons jouent un rôle essentiel dans l'altération de divers produits alimentaires, entraînant des changements de goût, de texture, d'odeur et de qualité nutritionnelle. Si certaines espèces fongiques sont non pathogéniques, d'autres possèdent des capacités enzymatiques et des activités métaboliques qui favorisent la dégradation et la détérioration des aliments. Il est essentiel de comprendre la diversité et le comportement des champignons d'altération pour mettre en œuvre des mesures de contrôle efficaces et garantir la sécurité et la qualité des aliments. Ces champignons dégradent différents substrats alimentaires.

Les résultats de l'activité enzymatique de principales souches responsables de la détérioration des pommes sont mentionnés dans le tableau suivant (**tableau 18**) et présentée dans les figures (**35 ; 36 ; 37 ; 38**). L'analyse statistique des résultats enzymatiques obtenus chez les différentes souches fongiques met en évidence des variations significatives dans les activités des enzymes extracellulaires étudiées (protéase, lipase, cellulase et amylase).

Dans certaines figures, nous remarquons la croissance rapide et irrégulière de certains champignons sur la boîte. Ce problème nécessite une culture monospore (obtenue après plusieurs dilutions d'un inoculum chargé en spores) afin de permettre la mesure précise du diamètre. Les souches fongiques présentant un $IE \geq 2$ ont été considérées comme de bons producteurs enzymatiques voir le tableau 10 (Annexe2).

	Protéase	Cellulase	Lipase	Amylase
Penicillium sp	3.1±0.288	5± 0.20	6±0.866	6±1.00
Talaromyce sp	2.86±0.115	33±0.577	5.33±0.288	5±0.866
Aspergillus sp	4.76±1.07	4.93±0.115	7.83±0.288	7.53±1.342
Diplodia sp	2.6±0.173	8.33±0.577	5.66±0.577	9±0.000
Alternaria sp	6±1.000	-	6.16±0.763	5.66±0.288

Les valeurs montrent des différences significatives entre les souches fongiques $P < 0,001$.

Tableau 17 : le diamètre d'halo des différentes activités enzymatiques des champignons étudiés

3.5. 1. Production de protéase

La production de protéase a été détectée chez cinq isolats les plus présents testés sur la gélose de lait écrémé. Ils ont démontré leur capacité d'hydrolyser la protéine par la présence des zones claires autour les colonies (**Figure 35**). Les résultats ont montré que les isolats A ; C et D étaient les plus producteurs de cette enzyme avec un index enzymatique (IE) plus élevée pour l'espèce A avec de (2.1) (**Tableau 10, Annexe2**) et un diamètre de halo atteint 31 mm, 60mm et 48 mm, respectivement. Alors que l'isolat B, E a montré une faible production avec un diamètre de 26 mm et 28 mm respectivement.

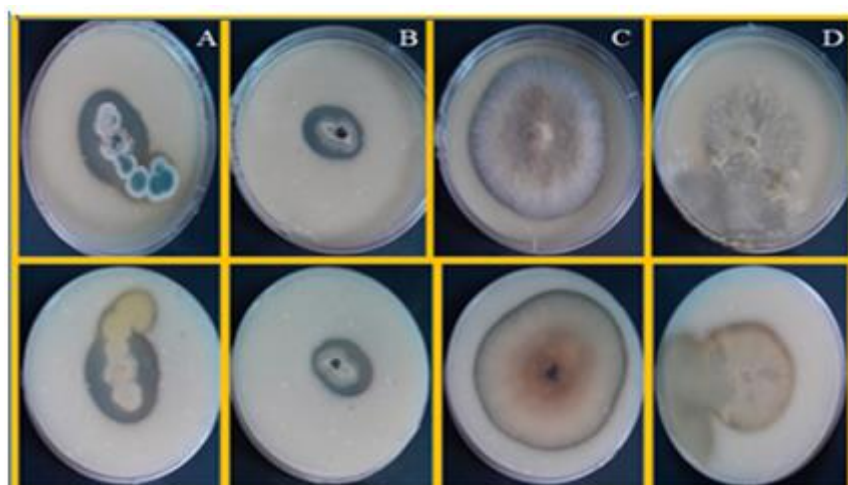


Figure 37 : Test d'activités protéasique des isolats :(A) Penicillium sp ;(B) Diplodia sp ; (C) Alternaria sp ; (D) Aspergillus sp .

3.5. 2. Production d'amylase

La capacité des isolats fongiques de dégrader l'amidon par la sécrétion de l'amylase a été déterminé par la présence d'un halo jaune ou jaune orangée bien visible autour des colonies (Makhlouf ,2023) et les zone non dégradé par l'apparition de la couleur bleue foncée (**Figure36**). Les résultats ont indiqué que les isolats B, C, A et D montrent une production importante de l'enzyme amylase, avec un halo de 90 mm(B), 75 mm (D) et 56mm (A) respectivement. En revanche, l'isolat B (*Diplodia sp*) s'est révélé être l'espèce la plus productive, présentant un diamètre de halo enzymatique de 90 mm.

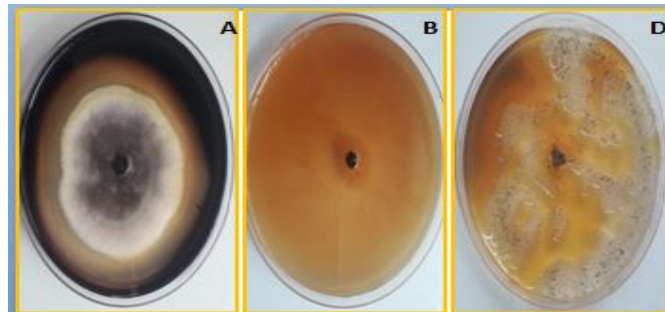


Figure 38: Test d'activités amylolytique des isolats :(A) *Alternaria sp* ;(B) *Diplodia sp* ; (D) *Aspergillus sp*

3.5. 3. Production de lipase

La production de l'enzyme lipasique est fortement positive pour tous les isolats testés avec des diamètres de zones hydrolysées variables sauf l'isolat (C) avec un contour blanc clair. La capacité de dégrader le tween 20 a été confirmé par la présence d'un halo blanc cassé bien visible autour des colonies (**Figure 37**). Le test a montré que les isolats D, B et A étaient les plus puissants avec un diamètre de 78 mm, 62 mm, et 56mm respectivement. Suivi de C avec un diamètre de la zone hydrolysée très clair de 50 mm.

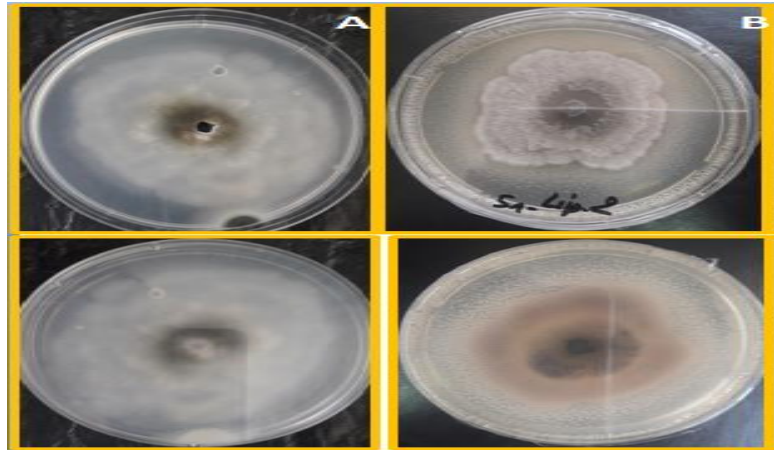


Figure 39: La production de l'enzyme lipasique des champignons isolées :(A) *Diplodia* sp ;(B) *Alternaria* sp .

3.5. 4.Production de Cellulase

La production de l'enzyme cellulolytique est fortement positive pour tous les isolats testés avec des diamètres de zones hydrolysées variables. La capacité de dégrader le CMI a été confirmé par la présence d'un halo jaune orangée autour des colonies (**Figure 38**). Ce test a montré que les isolats CLO, ASP, et Pen1étaient les plus puissants avec un diamètre de 83 mm ,49 mm, et 50mm respectivement. Suivi de Pen2 avec un diamètre de la zone hydrolysée de 33 mm.

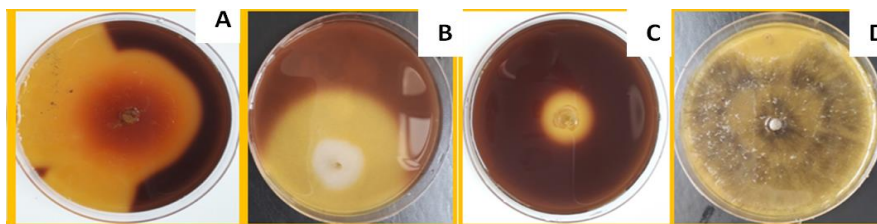


Figure 40: Test de l'activité cellulolytique des isolats :(A) *Aspergillus* sp ; (B) *Penecillium* sp; (C) *Talaromyce* sp ; (D) *Diplodia* sp.

Les résultats obtenus suite à la sélection des colonies cellulolytiques (A .B.D) , indiquent que ces colonies fongiques sont largement répandues, en particulier chez les mycètes aérobies, qui figurent parmi les organismes les plus cellulolytiques (Lynd et al., 2002). Les champignons appartenant aux classes des Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes regroupent un grand nombre d'espèces capables de dégrader la cellulose (Carlile et Watkinson, 1997). Ces groupes ont fait l'objet de nombreuses études portant sur leurs enzymes cellulolytiques. Parmi

les genres les plus étudiés, on retrouve *Aspergillus*, *Penicillium* et *Trichoderma* (Fujita et al., 2002), reconnus pour leur capacité à produire divers types de cellulases (Scriban, 1999).

Les principaux genres de moisissures productrices d'enzymes lignocellulolytiques appartiennent aux groupes des Ascomycètes et des Basidiomycètes. Parmi ces moisissures, les genres *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, et *Phanerochaete* sont reconnus comme les meilleurs producteurs de cellulases (Gahfif, 2021). Ces champignons jouent un rôle crucial dans la dégradation de la lignocellulose, un processus essentiel pour des applications biotechnologiques, telles que la valorisation de la biomasse à travers sa transformation en bioénergie et la production de bioproduits. Les enzymes qu'ils sécrètent, notamment les cellulases, sont utilisées dans divers secteurs, tels que l'agriculture, l'alimentation et le traitement des déchets (Baldrian et Valásková, 2008).

Les résultats obtenus suite à la sélection des colonies protéolytiques (A.B.C.D.E), nous montrent que ces colonies fongiques sont capables de dégradé les protéines.

Les champignons filamenteux, tels que les espèces *Aspergillus* et *Penicillium*, produisent des hyphes et des mycéliums qui pénètrent et colonisent les matrices alimentaires (céréales, fruits et légumes...etc), conduisant à des signes visibles d'altération, tels que la croissance de moisissures et la décoloration (Pouris et al., 2024). Ces champignons sécrètent une pléthore d'enzymes extracellulaires, notamment des protéases, des lipases et des amylases, qui décomposent les protéines, les lipides et les hydrates de carbone des aliments, ce qui entraîne des changements dans la texture, la saveur et l'arôme. Les mécanismes qui sous-tendent la détérioration des aliments par les champignons sont multiples et impliquent la dégradation enzymatique, l'activité métabolique et la production de métabolites secondaires (Pouris et al., 2024).

Les enzymes lipolytiques dégradent les lipides, provoquant le rancissement et les mauvaises odeurs des aliments gras (Pouris et al., 2024).

Pendant le stockage, les pertes de fruits de pommes causées par des pathogènes fongiques sont estimées 5 à 25% de la quantité initiale causant des pertes économiques. la croissance des moisissures dans les aliments réduit leur valeur nutritionnelle (Vico et al., 2014 ; Schiavon et al., 2023 ; Błaszczuk et al., 2022).

De plus, les fruits infectés peuvent contenir des mycotoxines dangereuses. Pour éviter les maladies fongiques, les fongicides sont largement utilisés, avec l'avantages d'une grande

efficacité et une facilité d'application . Toutefois, la lutte chimique contre les maladies post-récolte à l'aide de fongicides peut avoir de nombreux effets négatifs et leur application suscite de plus en plus d'inquiétudes.

Les résidus de fongicides dans les plantes peuvent nuire à la santé des consommateurs.

L'utilisation intensive de fongicides contribue à la pollution de l'environnement et favorise l'apparition de résistances chez les phytopathogènes aux substances chimiques actives. Elle peut également entraîner une diminution des populations d'organismes bénéfiques.

Par ailleurs, l'utilisation répétée de ces traitements a conduit à l'émergence de souches résistantes à certaines substances actives homologuées, mais aussi à des familles entières de fongicides (El Hamouchi, 2011). Cette résistance a notamment été observée chez les genres *Penicillium* et *Botrytis*.

Une étude menée par Maouni et al. (2002) a révélé qu'*Alternaria alternata* et *Penicillium expansum* présentaient une résistance à trois fongicides de la famille des benzimidazoles : le benomyl, le méthylthiophanate et le thiabendazole (El Hamouchi, 2011).

C'est pourquoi de nouvelles solutions et stratégies sont toujours recherchées, et les méthodes de protection biologique des plantes présentent un grand intérêt. Le contrôle biologique consiste à limiter le développement des organismes nuisibles par l'application d'autres organismes ou de leurs produits métaboliques. Le biocontrôle des maladies végétales d'origine fongique peut inclure l'utilisation de levures antagonistes qui peuvent être considérées comme l'une des alternatives potentielles sûres aux fongicides chimiques. Les levures de biocontrôle exercent une action antagoniste sur les pathogènes fongiques par le biais de plusieurs mécanismes tels que la compétition pour les nutriments limitants (Błaszczuk, U, et al 2022) .

4. Conclusion

L'étude morphologique, moléculaire et pathologique des différentes espèces fongiques responsables des symptômes de la pourriture des pommes peut contribuer à une meilleure compréhension de l'étiologie de cette maladie en chambres froides. Cela permettrait une prise en charge plus efficace de cette pathologie, qui prend de plus en plus d'ampleur en Algérie comme dans le reste du monde.

L'identification des souches fongiques isolées à partir de pommes détériorées destinées à la consommation a révélé une diversité d'espèces pathogènes appartenant à plusieurs genres, notamment *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Talaromyces* et *Diplodia*. Ces agents pathogènes altèrent non seulement la qualité organoleptique et nutritionnelle des fruits, mais représentent également un danger pour la santé humaine en raison de la production de mycotoxines, des molécules toxiques, mutagènes et cancérigènes.

Par ailleurs, les tests de pathogénicité ont révélé une forte virulence de *Diplodia seriata* et de *Penicillium* sp., deux agents responsables de maladies cryptogamiques telles que le chancre noir, la pourriture bleue et la détérioration des fruits dans les vergers pomicoles de la plaine de Ghriss. Ces résultats suggèrent une variabilité de la virulence parmi les souches isolées.

La caractérisation morphologique et écologique de ces isolats a montré que certaines souches se développent rapidement dans des conditions défavorables de stockage, notamment dans des chambres froides non contrôlées.

Cela souligne l'importance d'établir des protocoles de conservation optimisés, incluant un contrôle rigoureux de l'humidité relative et de l'atmosphère de stockage, ainsi qu'un tri minutieux des fruits blessés afin de limiter les risques de contamination. Cette étude a permis d'identifier les principales espèces fongiques responsables de la pourriture des pommes dans la région étudiée. Elle contribue également à l'élaboration de stratégies intégrées de gestion et de lutte, adaptées à chaque phase, pré- et post-récolte, afin d'améliorer durablement la qualité sanitaire et commerciale des pommes à long terme.

Article 2 : Valorisation des déchets des pommes des chambres froides dans l'ouest Algérien : par l'extraction des huiles végétales des pépins

1. Introduction

La pomme (*Malus domestica* Borkh) est l'un des fruits les plus consommés, fraîche ou sous diverses formes transformées (jus, vinaigre, gelée, etc.) (Matthäus et Özcan, 2015).

Les pommes sont les fruits les plus importants en raison de leur grande valeur nutritionnelle et de leurs bienfaits médicaux. Concernant la production de pommes, les cultivars les plus répandus dans le monde sont le Fuji, le Golden Delicious, la Granny Smith, la Delicious et la Gala. Toutefois, ces cultivars sont cultivés dans les régions tempérées de l'hémisphère nord (Arain et al., 2012 ; Radenkovs et al., 2018).

Au cours de la dernière décennie, la production de pommes a augmenté, atteignant un volume estimé à plus de 83 millions de tonnes en 2017 selon FAOSTAT (2018), (Arain et al., 2012 ; Rodríguez et Valles, 2018 ; Pinto et al., 2021 ; Fotirić et al., 2022), ce qui a entraîné une production de déchets d'environ 12 millions de tonnes. En conséquence, plusieurs facteurs sont responsables des déchets de pommes : le traitement de stockage, la distribution, y compris les dommages mécaniques, et la composition de la pomme (forte teneur en sucre et en humidité) (Arain et al., 2012 ; Pinto et al., 2021 ; Yin et al., 2023).

D'autre part, la détérioration des pommes est principalement due à des impacts physiques, chimiques et microbiens. Actuellement, les espèces fongiques sont les principaux facteurs de détérioration, avec des dommages significatifs, notamment ceux causés par *Penicillium*, *Aspergillus* et *Alternaria*, etc. (Yin et al., 2023). Pendant la saison des récoltes, ces déchets sont largement présents (Mirabella et al., 2014).

Les déchets de pommes constituent une ressource précieuse en nutriments, vitamines et composés phytochimiques. Lorsqu'ils sont traités comme des matières premières, ils peuvent constituer une source potentielle de composés bioactifs aux propriétés antioxydantes importantes. Leur valorisation s'inscrit dans une démarche de croissance durable et apporte une réponse aux enjeux économiques et à la pollution environnementale (Matthäus et Özcan, 2015 ; Fidelis et al., 2019 ; Putra et al., 2023).

En général, les déchets constitués des pépins et de la peau représentent environ 20 % du poids total de la pomme, les pépins constituant la plus petite partie de ces déchets, avec une masse totale représentant entre 0,7 et 4 % du fruit (Acquavia et al., 2021). De plus, les pépins de pomme contiennent 27 % d'huiles, qui sont des sources riches en caroténoïdes, acides phénoliques, tocophérols et acides gras (plus de 95 % de ces acides gras étant des acides gras insaturés, notamment des acides gras monoinsaturés et polyinsaturés). L'huile de pépins de pomme se distingue par la présence d'acides gras prédominants tels que l'acide oléique et l'acide linoléique (Fotirić Akšić et al., 2022).

Pour cette raison, de nombreuses études (Arain et al., 2012 ; Walia et al., 2014 ; Matthäus et Özcan, 2015 ; Montañés et al., 2018 ; Rodríguez Madrera et Valles, 2018 ; Radenkovs et al., 2018 ; Akšić et al., 2021 ; Pinto et al., 2021 ; Kumar et al., 2022 ; Putra et al., 2023) se sont concentrées sur la valorisation des pépins de pomme pour l'extraction d'huile végétale.

La qualité physico-chimique et le rendement de l'huile végétale ont été caractérisés par le type de procédé d'extraction, qu'il s'agisse d'une méthode classique utilisant des appareils Soxhlet et Twisselmann ou des techniques innovantes telles que l'extraction à froid, l'extraction assistée par ultrasons (UAE), l'extraction assistée par micro-ondes (MAE), l'extraction par fluides supercritiques (SFE), l'extraction liquide sous pression ou les champs électriques pulsés (PEF) (Matthäus et Özcan, 2015 ; Gao et al., 2019). Les solvants sélectionnés sont notamment l'éthanol, le n-heptane, le chloroforme, le n-hexane, l'éther de pétrole, l'éther diéthylique et l'isopropanol. En effet, pour l'extraction des huiles et des graisses des pépins de fruits, le n-hexane est le solvant le plus répandu, en raison de sa polarité, de son affinité et de sa miscibilité avec les lipides (Yukui et al., 2009 ; Tsai et al., 2023).

Les acides gras sont principalement identifiés par chromatographie en phase gazeuse (GC), car cette technique permet de séparer efficacement les mélanges complexes, de quantifier les molécules et de caractériser les différentes fractions des huiles, telles que les fractions saponifiables et non saponifiables. La GCMS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) est largement utilisée pour analyser les composés aromatiques, et les substances volatils, ainsi que pour détecter les traces de résidus dans les huiles végétales et essentielles. (Radenkovs et al., 2018).

Les huiles des pépins sont utilisées depuis des siècles dans une grande variété d'applications, allant des usages domestiques aux usages industriels (Toishimanov et al., 2023).

Dans l'industrie cosmétique, l'huile de pépins de pomme entre dans la composition de divers produits, tels que les lotions pour le corps, les crèmes pour la peau, les dentifrices, etc. Les huiles des pépins de pomme enrichies en tocophérol peuvent être exploitées comme sources naturelles de vitamine E. Il s'agit du principal antioxydant lipophile, composé de quatre homologues : α -, β -, γ - et δ -tocophérol (Rodríguez Madrera et Valles, 2018).

Par ailleurs, ces quatre formes de tocophérol protègent les acides gras polyinsaturés contre l'oxydation, renforcent la stabilité oxydative des huiles et ont un effet considérable sur la santé humaine : protection du système nerveux, prévention des maladies cardiovasculaires et du cancer, ainsi que des effets anti-inflammatoires et antidiabétiques (Akšić et al., 2021 ; Kokalj et Kočevar, 2022).

L'objectif de cette étude était de réaliser une caractérisation physico-chimique de l'huile extraite des pépins de *Malus domestica*, issus de déchets de pommes stockés à froid en Algérie occidentale, à l'aide de deux solvants différents : le n-hexane et l'éther de pétrole. Les profils en acides gras ont été déterminés par chromatographie en phase gazeuse (GC), et une analyse comparative des deux huiles extraites a été effectuée.

Le second objectif était de caractériser la teneur en α -tocophérol, à l'aide d'une chromatographie liquide à haute performance avec détection par réseau de diodes (HPLC-DAD). La revue de la littérature montre qu'aucune étude antérieure n'a exploré la valorisation des déchets de pépins de pommes issus de fruits stockés à froid.

1. Matériels et méthodes

2.1. Produits chimiques et réactifs

Les produits chimiques et solvants utilisés dans cette étude comprenaient : l'hydroxyde de potassium (KOH), l'acide ascorbique, l'eau ultrapure, l'acide phosphorique, le tampon phosphate, ainsi que la solution de Wijs. Le gaz vecteur utilisé pour la chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme (GC-FID) était l'hydrogène.

Les solvants d'extraction employés étaient : le n-hexane, l'éther de pétrole, l'éthanol, et le chloroforme. Pour l'analyse des acides gras par GC-FID, un mélange standard de méthyl-esters d'acides gras (FAME Mix, Supelco® 37 composants) a été utilisé. Les standards pour l'analyse de l' α -tocophérol par chromatographie liquide haute performance (HPLC) ont également été acquis.

Tous les produits chimiques et réactifs ont été achetés auprès de Sigma-Aldrich.

2.2.1. Collecte du matériel végétal

Les déchets de pommes de la variété Golden Delicious ont été collectés dans différentes zones géographiques de la plaine de Ghriiss, dans la wilaya de Mascara, et conservés dans une chambre froide située à Maoussa, Mascara, en Algérie occidentale, durant la période de septembre à novembre 2021.

L'identification de la variété Golden Delicious a été confirmée par la consultation de Dr Zahafi B., enseignant-chercheur au Département d'Agronomie à l'Université de Mascara.

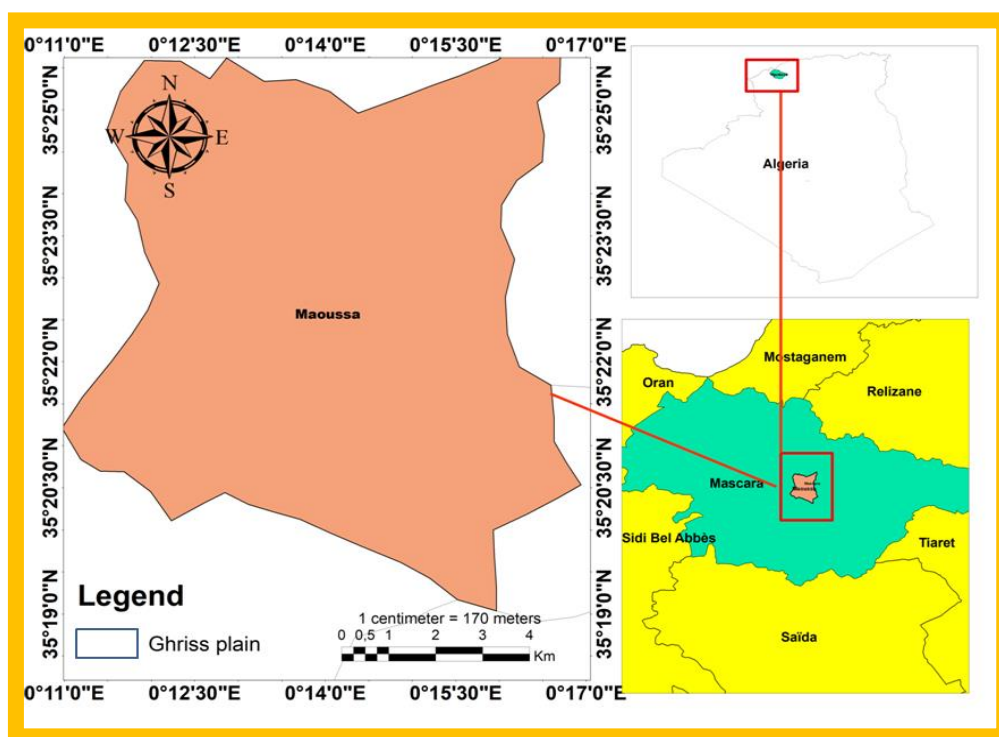


Figure 41: La localisation géographique de la zone de collection et de stockage par ArcGIS

2.2.2. Préparation des échantillons

Les pépins ont été récoltés manuellement, lavés, puis séchés à l'air libre pendant 7 jours à une température de 18 à 20 °C, avant d'être stockés en vue de leur broyage.

La poudre de pépins ainsi obtenue a ensuite été soumise à une extraction d'huile à l'aide de deux solvants différents.

2.2.3. Extraction de l'huile végétale

L'extraction de l'huile des pépins a été réalisée conformément à la méthode internationale normalisée de l'IUPAC (1992) (Tsai et al., 2023).

20 g de poudre de pépins ont été transférés dans une cartouche en cellulose et placés à l'intérieur d'un appareil Soxhlet.

Le premier échantillon a été extrait avec 300 mL de n-hexane à 69 °C pendant 6 heures. Pour la seconde extraction, 300 mL d'éther de pétrole ont été utilisés à 60 °C afin d'obtenir l'huile végétale.

La phase solvant a été évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif, puis l'huile extraite a été conservée à +4 °C jusqu'à l'analyse.

L'extrait obtenu avec le n-hexane a été nommé HH, tandis que celui obtenu avec l'éther de pétrole a été désigné HEP.



Figure 42: Préparation d'échantillon: (A) déchets des chambres froides des pommes , (B) pépins des pommes , (C) pépins des pommes broyés, (D) huiles végétales des pépins des pommes

2.2.4. Rendement des lipides

Le rendement en lipides des huiles extraites des pépins de pomme a été évalué à l'aide de l'équation suivante, selon la méthode proposée par Koçak M.Z. (2024) :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{M_s}{M_o} \times 100$$

Où :

Ms : masse d'échantillon (g)

Mo : masse de l'huile extraite des pépins (g)

2.3. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques de l'huile de pépins de pomme ont été déterminées conformément aux méthodes officielles de l'Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2000) (Horwitz & Latimer, 2000).

Les paramètres suivants ont été analysés :

Indice de réfraction : mesuré à l'aide d'un réfractomètre à une température standard (généralement 20 °C ou 25 °C), permettant d'évaluer la pureté de l'huile.

L'indice de réfraction a été déterminé en utilisant la méthode de réfractomètre Abbé (921.08) (Piravi-vanak et al., 2022). La teneur en humidité a été mesurée en calculant la perte de poids après chauffage dans un four à 105°C, conformément aux normes IUPAC (1987b) (Bada et al., 2014).

Les indices suivants ont été analysés en utilisant les méthodes appropriées (**Annexe 3**) :

Indice d'acide : méthode de (Cd 3d-63)

Indice d'iode : méthode de (Cd 3-25) (avec le remplacement du tétrachlorure de carbone (CCl₄) par du dichlorométhane)

Indice de saponification : méthode de (Cd 1d-92)

Indice du peroxyde : méthode de (Cd 8-53)

2.4. Screening phytochimique des métabolites secondaires

Il s'agit d'une série de méthodes colorimétriques permettant de détecter la présence ou l'absence de métabolites secondaires dans une plante, à partir de sa poudre ou de son extrait infusé. Le screening phytochimique sert à rechercher divers groupes de métabolites secondaires, notamment les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les tanins totaux, les iridoïdes, les tanins galliques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les sennosides, les quinones, les

coumarines ainsi que les mucilages (Harborne, 1998 ; Afif Chaouche, 2015). Le tableau (13) (**Annexe 3**) présente la méthode d'analyse appliquée à la recherche de chacun de ces métabolites secondaires.

2.5. Profil des acides gras

2.5.1. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (FAME)

Conformément à la norme internationale AOCS (2003), les FAME ont été préparés par un processus de transestérification (Piravi-vanak et al., 2022), avec quelques modifications mineures.

Procédure :

0,2 mg d'échantillon d'huile ont été dissous dans 2 ml de n-hexane, puis mélangés avec 0,2 µl de solution de KOH 1N (l'hydroxyde de potassium préparé dans du méthanol).

Un mélange soigneux a été effectué, puis le mélange a été décanté.

La phase supérieure a été injectée dans le dispositif GC-FID pour l'analyse.

Cette méthode permet l'analyse des profils des acides gras présents dans l'huile extraite sous forme d'esters méthyliques.

2.5.2. Détermination des acides gras

Le profil des esters méthyliques d'acides gras (FAME) de l'huile de pépins de pomme a été analysé selon la méthode rapportée par Xu et al. (2022), citée par Wang et al. (2023). L'analyse a été réalisée à l'aide d'un système de chromatographie en phase gazeuse (GC) (7820A ; Agilent Technologies, CA, USA), équipé d'une colonne capillaire apolaire (SP2560 100 m × 0,25 mm ID ; 0,2 µm), d'un injecteur à split avec un débit de 400 ml /min, ainsi que d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).

Conditions expérimentales :

Température de détection : 260 °C

Gaz vecteur : Hydrogène avec une vitesse linéaire constante de 41 cm/s

Volume d'injection : 1 μL , température d'injection réglée à 100 °C pendant 5 minutes, puis augmentée à 240 °C pendant 20 minutes.

Le rapport de split était de 1:20.

Programme de température du four

120 °C pendant 1 minute,

Augmentation à 175 °C à un taux de 10 °C/min pendant 10 minutes,

Puis augmentation à 210 °C à un taux de 5 °C/min pendant 5 minutes,

Enfin, augmentation à 230 °C à un taux de 5 °C/min pendant 5 minutes.

Les acides gras ont été identifiés en comparant leurs temps de rétention avec des standards du type Supelco® 37 Component FAME Mix, et les pourcentages de surface des pics des composés ont été calculés sur la base des données obtenues par le FID (Demirtas et al., 2011).

2.6. Détermination de l'alpha-tocophérol

La teneur en tocophérol des échantillons d'huile a été déterminée selon la méthode internationale AOCS, en utilisant la chromatographie liquide haute performance avec détection par barrettes de diodes (HPLC-DAD) (Piravi-vanak et al., 2022), avec quelques modifications apportées en laboratoire.

Cette méthode permet d'analyser avec précision l'alpha-tocophérol, principal composé de la vitamine E, dans les huiles extraites, en utilisant des conditions adaptées pour séparer et quantifier les tocophérols présents.

2.6.1. Préparation de l'échantillon

2 ml d'huile végétale ont été dissous dans une solution hexane/H₂O (2:1 v/v). Le mélange a ensuite été placé dans un sonicateur (ultrasons) et porté à pleine puissance pendant 1 heure.

Une décantation a ensuite été réalisée afin de séparer la phase supérieure. Le solvant a ensuite été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'échantillon a été solubilisé dans 2 mL de méthanol (MeOH) et homogénéisé à l'aide d'un vortex.

Enfin, la solution a été filtrée à travers un filtre de seringue de 0,22 μm et injectée dans l'appareil HPLC pour l'analyse.

2.6.2. Quantification de l'alpha-tocophérol

Les conditions HPLC pour l'analyse de l'alpha-tocophérol ont été réalisées conformément à la méthode de Wang et al. (2023).

Pour l'identification et la quantification de l'alpha-tocophérol dans l'échantillon d'huile, l'analyse a été réalisée en utilisant un système HPLC (Agilent Technologies 1200), équipé d'un détecteur de type détection par barrettes de diodes (DAD). L'excitation et l'émission ont été programmées respectivement à des longueurs d'onde de $\lambda = 290/4 \text{ nm}$ et $\lambda = 400/100 \text{ nm}$.

Les conditions expérimentales étaient les suivantes :

Pression : entre 138 bar et 142 bar

Volume d'injection : 10 μL

Colonne : colonne en silice de type C18 (HIC-LISPRD18-5-250A LICHROSPHER 5 μm 100rp-18; dimensions 250 cm x 4,6 mm) maintenue à une température de 35°C

Phase mobile : phase mobile isocratique composée de deux solutions :

Solution A : eau ultrapure avec 0,5% d'acide phosphorique

Solution D : méthanol ultrapure

Le ratio de la phase mobile A/D était de 5:95 V/V

Débit : 1,5 mL/min

Ces conditions permettent une séparation optimale des composés, permettant une identification et une quantification précises de l'alpha-tocophérol dans les échantillons d'huile.

- Les extraits HH et HEP sont immiscibles dans plusieurs solvants couramment utilisés, notamment l'éthanol, le diméthylsulfoxyde (DMSO) et le Tween 80 (voir la figure 8 de l'annexe 3). En revanche, ils sont solubles dans certains solvants organiques non polaires utilisés lors de l'extraction, comme l'hexane, l'éther de pétrole, le chloroforme

et le dichlorométhane. Cette faible miscibilité constitue une limitation majeure à l'évaluation de leurs activités biologiques, notamment antioxydantes, antimicrobiennes, antifongiques et anti-inflammatoires.

2.7. Analyse Statistique

L'analyse statistique des propriétés physico-chimiques des huiles de pépins de pomme a été réalisée en triplicate, et les données sont exprimées sous forme de moyennes \pm écart-type. Le test t de Student a été utilisé pour déterminer la significativité statistique des valeurs des indices, en utilisant le logiciel SPSS (version 27). Une valeur de $P < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative, les résultats sont présentés dans le Tableau 1.

3. Résultats et discussion

3.1. Propriétés physico-chimiques

Les huiles présentaient une odeur aromatique similaire à celle de l'huile d'amande et étaient liquides à température ambiante, avec une couleur jaune doré pour l'huile (HEP) et jaune clair pour l'huile extraite avec du n-hexane (HH). Selon Walia et al. (2014), la couleur de l'huile extraite des pépins de différentes variétés de pommes, telles que Red Delicious, Golden Delicious, Royal Delicious et Red Chief, a été notée comme étant jaune, tandis qu'Akšić et al. (2021) ont observé qu'elle était jaune claire.

L'extraction Soxhlet à l'aide de solvants polaires tels que l'hexane et l'éther de pétrole s'est avérée être une technique simple et efficace pour obtenir des huiles végétales à partir des pépins de fruits. Les résultats ont révélé une grande variabilité des huiles totales par rapport à d'autres travaux, comme le montre le tableau 20.

	Huile HH	Huile HEP	Valeur P
Rendement %	23.06±0.01	22.55±0.01	0.000
Couleur	Jaune claire	Jaune dorée	-
Odeur	Aromatique Huile d'amandes	Aromatique Huile d'amandes	-
Taux d'humidité %	16.90±0.09	8.37±0.35	0.000
Taux de matière sèche	83.06%	91.57%	
Indice d'acid (mg KOH/g oil)	0.332±0.20	0.363±0.21	0.104
Indice de saponification (mg KOH/g MG)	112.2±0.53	70.04±1.20	0.000
Indice d'iode (g I ₂ /100g)	101.84±1.13	106.93±1.20	0.006
Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg oil)	5.233±0.21	6.167±0.21	0.005
Indice d'ester	108.8	68.43	
Indice de Réfraction	1.4711±0.01	1.4685 ±0.01	0.000

Valeur est ±SD de trois répétitions (n=3)

Tableau 19 : Les propriétés physico-chimiques des huiles de pépins de pomme

Selon l'analyse statistique utilisant le test de Student, la valeur ($P < 0,05$) de toutes les mesures d'indices indique l'influence du solvant d'extraction sur la variation des paramètres physico-chimiques des huiles de pépins de pomme HH et HEP, tels que la teneur en humidité, l'indice de réfraction, l'indice de saponification, l'indice d'iode et l'indice de peroxyde. En revanche, la valeur de P de l'indice acide (0,104) était significativement différente des autres valeurs d'indices. La différence entre les solvants n'a eu aucune influence sur l'indice acide.

Le rendement en huile des pépins de pomme de la variété Golden Delicious extraits avec de l'hexane était de 23,6 %, soit un résultat approximativement égal à celui de sous-produits de l'industrie de fabrication de jus, dont les rendements variaient entre 22,33 % et 1,5 %, comme l'ont rapporté Walia et al. (2014). Il était également comparable au rendement en huile extrait par une méthode d'extraction assistée par ultrasons, avec un pourcentage de 23,03 % selon Górnas et al. (2014). En revanche, des études antérieures menées par Yu et al. (2007) et Arain et al. (2012) ont rapporté des pourcentages d'extraction d'huile plus élevés, respectivement de 27,5 % et 26,8 %.

Cependant, le contenu en huile extrait était significativement plus élevé que dans les travaux précédents utilisant le marc de pomme, dans lequel Kumar et al. (2022) avait obtenu un rendement de 19,7 %. De plus, le rendement en huile extrait avec de l'éther de pétrole était de 22,55 %, légèrement supérieur à celui obtenu avec l'appareil de Twisselmann (21,9 %) selon Montañés et al. (2018). Ce rendement est également inférieur à ceux mentionnés par Yukui et al. (2009) et Tian et al. (2010) pour les variétés Red Star et Fuji, avec des rendements respectivement de 29,1 % et de 20,6 à 24,3 %.

Les résultats du rendement en huile extrait avec du solvant d'éther de pétrole et l'appareil Soxhlet étaient proches de ceux obtenus par extraction à l'aide de la méthode du CO₂ supercritique, qui était de 22 % (Seymen et al., 2016).

La différence dans le rendement en huile peut être expliquée par la variation de la variété de la plante, du climat de culture, de l'emplacement, du stade de maturité, de la méthode d'extraction et des solvants utilisés.

L'huile de pépins de pomme extraite avec de l'hexane présente un indice de réfraction de 1,4711, ce qui est plus élevé que la valeur comparable décrite par Walia et al. (2014) et Tian et al. (2010) pour les deux variétés de Fuji et Red New Star, et proche de celle de l'huile extraite de la variété Quinguan (Yu et al., 2007). Elle est également assez similaire à celle de l'huile de pépins de raisin (1,47) selon le CODEX Alimentarius (1999). En revanche, la deuxième huile extraite avec de l'éther de pétrole (HEP) présente un indice de réfraction de 1,4685. Cette valeur est inférieure à celles rapportées dans les études de Walia et al. (2014) et Yu et al. (2007), et les valeurs sont comparativement similaires à celles des huiles comestibles telles que l'huile de soja et l'huile de tournesol, qui sont respectivement de 1,46 et 1,46, et supérieures à celle de l'huile de palme (Lamani et al., 2021).

Les teneurs en humidité des huiles de pépins de pomme provenant des déchets variaient entre $(8,43 \pm 0,35$ et $16,90 \pm 0,09$ g/100g) pour les échantillons HEP et HH, respectivement. La valeur la plus élevée a été trouvée pour l'huile extraite à l'aide de l'héxane, comparée à celle obtenue par Yu et al. (2007) (10,2 g/100g) pour l'huile de pépins de pomme de la variété Quinguan. De plus, la teneur en humidité de l'échantillon HEP (8,43 g/100g) est quelque peu similaire à la valeur (7,13-9,26 g/100g) décrite par Bada et al. (2014).

L'indice d'acide indique le nombre de groupes carboxyles contenus dans les acides gras (Walia et al., 2014) ainsi que le taux de rancissement (Ononogbu, 2002). En général, des indices acides plus élevés des huiles suggèrent un plus grand degré de dégradation hydrolytique, ce qui entraîne la production d'odeurs et de saveurs indésirables (Tian et al., 2010).

L'indice d'acide des huiles de pépins de pomme provenant des déchets ($0,332 \pm 0,20$ mg KOH/g d'huile) pour l'échantillon HH et ($0,3633 \pm 0,21$ mg KOH/g d'huile) pour l'échantillon HEP était inférieur au niveau maximal de l'indice d'acide des huiles raffinées (0,6 mg KOH/g d'huile) attendu pour les huiles végétales (CODEX Alimentarius, 1999). L'indice d'acide de l'échantillon HH était inférieure à celle de l'huile de graines de pomme provenant de mélanges de différentes variétés telles que (Red Delicious, Golden Delicious, Royal Delicious et Red Chief) (0,428 mg KOH/g d'huile) (Walia et al., 2014). De plus, l'indice d'acide de l'échantillon HEP était inférieure à celle de l'huile extraite des variétés Fuji et Red New Star (0,403-0,432 mg KOH/g d'huile) (Tian et al., 2010). En revanche, l'indice d'acide des échantillons HH et HEP était plus élevée que celle d'autres huiles végétales, comme l'huile de graine de moutarde (0,121 mg KOH/g d'huile) et approximativement égale à celle de l'huile de graine de tournesol (0,389 mg KOH/g d'huile), qui contient davantage d'acides gras insaturés. L'indice d'acide élevée de l'huile de graines de pomme révèle la présence de plus d'acides gras libres (Walia et al., 2014).

L'indice de peroxyde des huiles des pépins de pomme de la variété Golden Delicious était de $5,233 \pm 0,21$ (HH) et de $6,167 \pm 0,21$ (HEP) meq O₂ /kg d'huile, ce qui indique que les produits d'oxydation primaires étaient inférieurs à la limite maximale acceptable pour les huiles raffinées (10 meq O₂ /kg d'huile) établie par le CODEX Alimentarius (1999). L'huile HH avait une valeur de peroxyde inférieure à celle de l'huile HEP. Des valeurs plus faibles de peroxyde ont été rapportées pour l'huile extraite des variétés Fuji et New Red Star (2,43 – 2,52 mmol O₂ /kg d'huile) respectivement (Tian et al., 2010). L'indice de peroxyde plus

faible démontre que l'huile est comestible en raison de sa stabilité oxydative. Par conséquent, le niveau plus bas des indices d'acide et de peroxyde des huiles de pépin de pomme provenant des déchets indique qu'elles ont une longue durée de conservation grâce à leur stabilité oxydative améliorée (Khemakhem et al., 2021).

L'indice d'acide et de peroxyde sont des paramètres essentiels pour évaluer la qualité des huiles végétales et déterminer leur aptitude à des fins culinaires ou industrielles (Piravi-Vanak et al., 2022).

L'indice d'iode permet de quantifier le degré d'insaturation des acides gras. Plus la valeur d'iode est élevée, plus le degré d'insaturation est important.

L'indice d'iode de l'huile de pépins de pomme de la variété Golden Delicious cultivée dans la plaine de Ghriss, dans l'ouest de l'Algérie, variait entre $101,84 \pm 1,13$ (HH) et $106,93 \pm 1,20$ (HEP) g I₂/100 g, extraite avec différents solvants, notamment l'héxane et l'éther de pétrole, respectivement. L'huile de pépins de pomme provenant des déchets avait l'indice d'iode la plus élevée, ce qui est corrélé à sa teneur plus élevée en acides gras insaturés, notamment les acides linoléique et oléique (Piravi-Vanak et al., 2022).

Des niveaux élevés d'indice d'iode ($129,3$ g I₂/100g) ont été enregistrés pour l'huile de pépins de Quiguan (Yu et al., 2007), et de $121,8$ g I₂/100g (Walia et al., 2014). L'indice d'iode de l'échantillon HH était plus élevée que celle rapportée par Tian et al. (2010) pour la variété Fuji ($94,14$ I₂/100g), et assez similaire à celle de l'huile de pépins de pomme ($101,15$ I₂/100g) cultivée en Chine à partir de la variété New Red Star. De plus, l'indice d'iode de l'huile de graines de coton ($100-123$ I₂/100g), de l'huile de maïs ($103-135$ I₂/100g) et de l'huile de graines de sésame ($104-120$ I₂/100g) étaient relativement comparables à celle de l'huile de pépins de pomme (CODEX Alimentarius, 1999). L'indice d'iode relativement élevée classe l'huile de pépins de pomme dans la catégorie des huiles semi-siccatives, ce qui la rend adaptée à diverses applications, telles que la production de résines alkydes, de vernis, de cires, etc. (Yu et al., 2007).

L'indice de saponification représente la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) en milligrammes nécessaire pour neutraliser les acides gras résultant de l'hydrolyse complexe d'un gramme d'huile ou de graisse (Ononogbu, 2002). Les indices de saponification ($112,2 \pm 0,53 - 70,04 \pm 1,20$ mg KOH/g d'huile) ont été calculées dans le cadre de l'analyse des huiles de pépins de pomme issues des déchets (échantillons HH et HEP).

Les indices de saponification des échantillons HH et HEP sont inférieures à celles décrites dans d'autres travaux, comme ceux de Yu et al. (2007) (186,5 mg KOH/g d'huile) et de Tian et al. (2010) (179,01-197,25 mg KOH/g d'huile). En revanche, Walia et al. (2014) ont enregistré une valeur de 184,91 mg KOH/g d'huile. De plus, les indices de saponification des huiles de pépins de pomme issues des déchets étaient inférieures à celles de certaines huiles comestibles, telles que l'huile de raisin (188-194 mg KOH/g d'huile). (CODEX Alimentarius, 1999).

Les propriétés physico-chimiques des huiles de pépins de pomme (HH et HEP) sont intéressantes par rapport à celles des autres huiles extraites de différentes variétés (Fuji, New Red Star, Quiguan) et du mélange de différentes variétés (Walia et al., 2014), ainsi qu'à celles d'autres huiles comestibles. De plus, ces huiles présentent une teneur élevée en acides gras insaturés, supérieure à 88 %, et sont conformes aux valeurs normales attendues pour les huiles fortement polyinsaturées selon le CODEX Alimentarius (1999). Ces résultats peuvent être attribués aux conditions climatiques des régions de culture, à la variation génétique et aux processus de stockage. La méthode et les solvants utilisés pour extraire les huiles ont une influence considérable sur leur composition physico-chimique, leur valeur nutritionnelle et leurs paramètres sensoriels, et permettent des applications dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire.

3.2 .Profile des métabolites secondaires par screening phytochimiques

La présence ou l'absence de métabolites secondaires a été évaluée par le criblage phytochimique. Le tableau 20 présente les principaux constituants de différentes huiles végétales.

Les tanins et les coumarines sont présents dans les deux huiles. Les flavonoïdes et les anthocyanes sont absents. Les tannins galliques se trouvent principalement dans l'huile de végétal extrait par l'éther de pétrole. Les saponosides et les senosides se trouvent sur les deux huiles HH et HEP. Pour les alcaloïdes, les quinones, les Irridoïdes sont relativement absents dans les deux huiles.les mucilages est présent dans l'huile extrait par l'éther de pétrole . Tous ces résultats sont significativement différents.

métabolite secondaire	Huile végétal d'hexane	Huile végétal d'éther de pétrole
Anthocyanes	-	-
Leuco anthocyanes	-	-
Tanins totaux	+	+
Irridoïdes	-	-
Tanins galliques	-	++
Alcaloïdes	-	-
Flavonoïdes	-	-
Senosides	+	+
Quinones	-	-
Coumarines	++	++
Mucilage	-	+
Saponosides	+	+

(-) Absence d'élément ;(+) présence d'élément ;(++) fortement présente

Tableau 20 : Criblage phytochimique des différentes huiles végétales.

3.3. Profil des acides gras

Le profil GC-FID des teneurs en acides gras des huiles de graines de pomme identifiées est présenté dans les figures 1 et 2 pour les huiles HH et HEP, respectivement, et résumé dans le tableau 22.

Acides gras	Temps de rétention RT/min	Huile HH	Huile HEP
C16 :0 Palmitic acid	14.99	7.29	7.29
C16 :1 Palmitoleic acid	16.134	0.05	–
C17 :1 cis-Heptadecenoic acid	18.513	0.04	–
C18 :0 Stearic acid	19.595	2.04	2.23
C18 :1C Oleic acid ω 9	20.84	33.17	36.13
C18 :2C Linoleic acid ω 6	22.596	54.78	50.9
C20 :0 Arachidic acid	23.385	1.09	1.35
C20 :1(n-9)cis-11-Eicosenic acid	24.385	0.31	0.48
C22 :6 (n-3)Cis4, 7, 10, 13, 16,19 -Docosahexaenoic acid (DHA)	32.148	0.10	0.21
Groupe d'acide gras%			
SFA	-	10.42	10.87
MUFA	-	33.57	36.61
PUFA	-	54.88	51.11

Huile HH : Huile extraie par n-hexane, Huile HEP : Huile extraie par éther de pétrole,

SFA : acide gras saturé, MUFA : acide gras mono insaturé, PUFA : acide gras polyinsaturée,

AG ω : acide gras omega. UFA OHH = 88.45%; UFA OHEP = 87.72%

(-): non déterminé

Tableau 21 : Profil des acides gras des huiles de pépins des pommes détectées par GC-FID

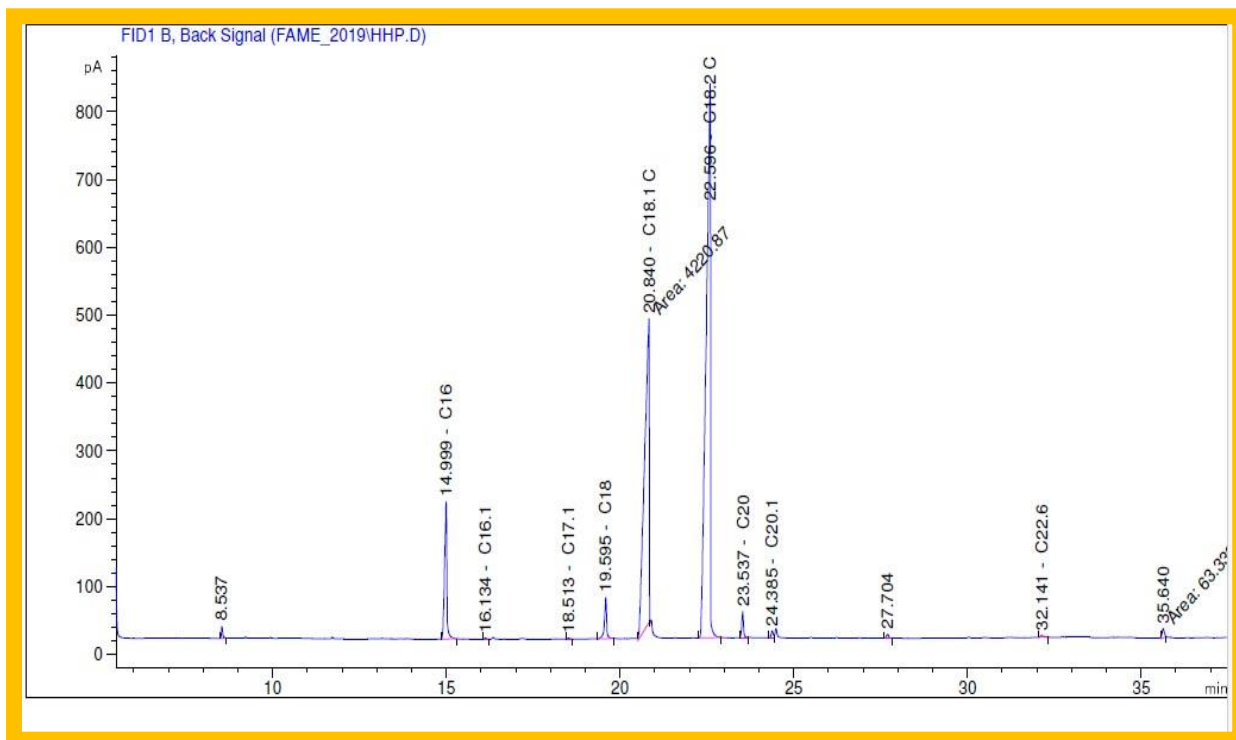


Figure 43 : Chromatogramme du profil en acides gras de l'huile HH obtenu par CPG-FID

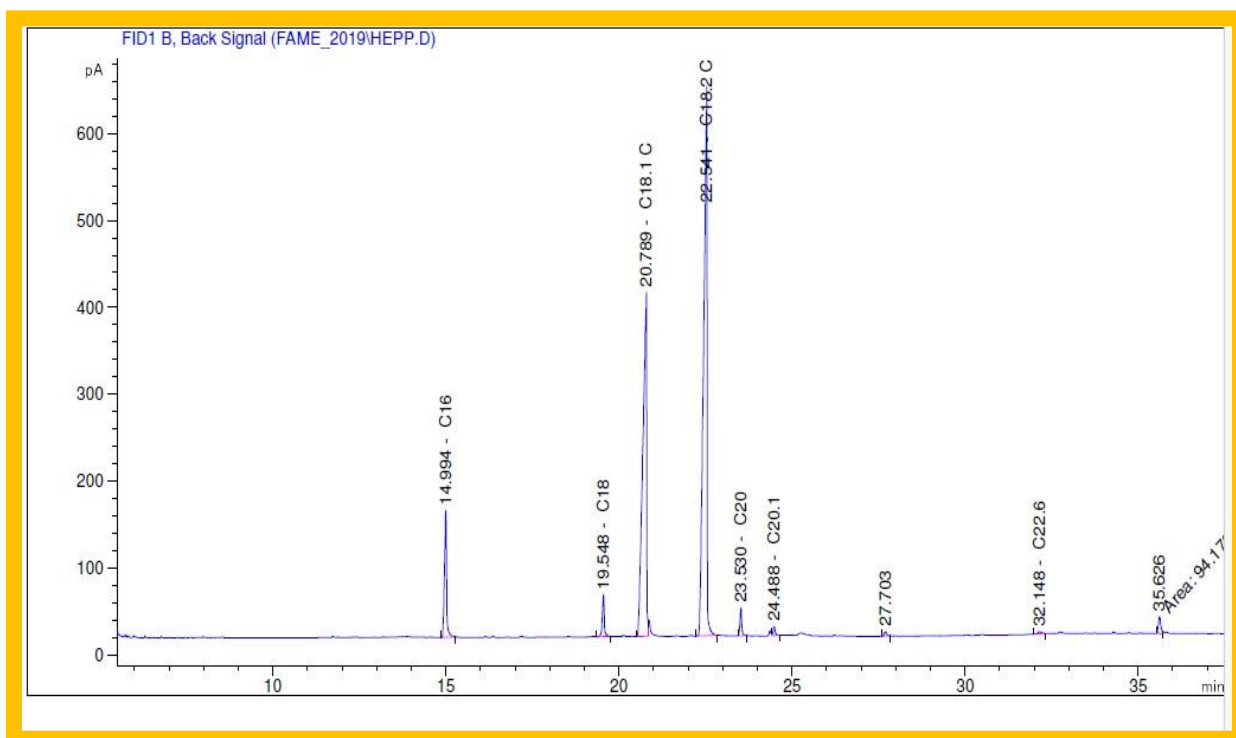


Figure 44: Chromatogramme du profil en acides gras de l'huile HEP obtenu par GC-FID
La composition en acides gras des huiles de pépins des pommes est présentée dans le Tableau 2. Les acides gras totaux trouvés dans l'huile de pépins des pommes HH étaient de 98,87 %.

Les acides gras saturés (SFA) représentaient 10,42 %. Les acides gras monoinsaturés (MUFA) étaient enregistrés à 33,57 %, tandis que les acides gras polyinsaturés (PUFA) constituaient 54,88 %. En tout, les acides gras insaturés comprenaient 88,45 % du total. De manière similaire, l'huile de pépins des pommes extraite à l'aide de l'éther de pétrole (HEP) contenait un total de 98,59 % d'acides gras. Les SFA représentaient 10,87 %, les MUFA 36,61 %, et les PUFA 51,11 %. Les acides gras insaturés combinés constituaient 87,72 % du total. Ces résultats diffèrent de ceux rapportés dans d'autres études.

Selon Yukui et al. (2009), les acides gras totaux présents dans les pépins des pommes étaient rapportés à 79,34 %. Parmi ceux-ci, une portion significative, allant de 70,6 % à 90,3 %, était composée d'acides gras insaturés (UFAs), avec seulement 8,74 % à 13,94 % d'acides gras saturés (Kumar et al., 2022). Les acides gras monoinsaturés (MUFA) représentaient 26,9 %, tandis que les acides gras polyinsaturés (PUFA) étaient déterminés à 58,30 % (Yukui et al., 2009; Walia et al., 2014). La teneur en acides gras insaturés dans les échantillons HH et HEP (88,45 %, 87,72 %) était supérieure à celle des acides gras saturés (10,42 %, 10,87 %). La proportion importante d'acides gras insaturés, qui représente environ 88 % de l'huile de pépins des pommes, suggère son potentiel en tant qu'huile comestible fiable et complément alimentaire bénéfique (Seymen et al., 2016).

Dans notre étude, l'acide linoléique est apparu comme l'acide gras prédominant, représentant une concentration significative de 54,78 % dans l'échantillon HH, suivi de l'acide oléique à 33,17 %. Ces niveaux sont supérieurs à ceux rapportés par d'autres chercheurs (Yu et al., 2007; Arain et al., 2012; Walia et al., 2014). Plusieurs études ont montré que les concentrations les plus élevées d'acide linoléique étaient observées dans l'huile extraite des pépins de diverses variétés, notamment Golden Delicious, New Red Star et Fuji.

De plus, l'acide linoléique est resté l'acide gras le plus dominant dans l'échantillon HEP, représentant 50,9 %, suivi de l'acide oléique à 36,13 %. Ces quantités sont supérieures à celles obtenues dans l'huile étudiée par Yukui et al. (2009) et similaires à celles trouvées dans l'huile extraite de la variété Red New Star rapportée par Tian et al. (2010). Elles sont toutefois inférieures à celles trouvées par Matthäus et Özcan (2015) et Tian et al. (2010) pour les variétés Golden et Fuji, respectivement.

Ces données concordent avec les résultats d'autres auteurs (Yukui et al., 2009; Tian et al., 2010; Matthäus et Özcan, 2015), où l'acide linoléique apparaît comme l'acide gras

prédominant, suivi de l'acide oléique, de l'acide palmitique, de l'acide stéarique et de l'acide arachide.

En revanche, l'acide gras prédominant dans l'huile extraite d'un mélange de pépins de pommes des variétés Golden Delicious, Royal Delicious, Red Delicious et Red Chief était l'acide oléique à 46,5 %, comme décrit par Walia et al. (2014). De même, Arain et al. (2012) ont rapporté que l'acide oléique était l'acide gras prédominant dans l'huile de la variété Golden Delicious, avec 45,5 % de teneur. Tandis que dans d'autres variétés telles que Royal Gala, Red Delicious et *Pyrus Malus* (Arain et al., 2012), ainsi que Red Fuji (Yukui et al., 2009), Fuji, New Red Star (Tian et al., 2010) et Starking (Matthäus et Özcan, 2015), l'acide linoléique a émergé comme l'acide gras insaturé dominant, avec des concentrations variant de 43,03 % à 51,4 %. L'abondance d'acide oléique améliore la stabilité de l'huile, ce qui la rend adaptée à diverses applications industrielles (Seymen et al., 2016). Par conséquent, l'huile de pépins de pomme appartient au groupe des huiles oléiques-linoléiques, caractéristique de nombreuses huiles végétales courantes, reconnues pour leur potentiel à réduire le cholestérol LDL et à diminuer le risque de maladies cardiaques (Yu et al., 2007).

Sept autres acides gras ont été détectés dans le profil GC des huiles de pépins de pomme. La quantité d'acide palmitique trouvée dans les échantillons actuels HH et HEP (7,29 %) est très similaire aux résultats obtenus par Walia et al. (2014), et environ égale aux résultats fournis par Yu et al. (2007) pour la variété Qinguan, Arain et al. (2012) pour la variété Golden Delicious, et Matthäus et Özcan (2015) (7,0-7,1 %). Cependant, elle était plus élevée que celles décrites par Tian et al. (2010) et Yukui et al. (2009) (5,6-6,6 %).

L'acide stéarique (2,04-2,23 %), l'acide arachidique (1,09-1,35 %), l'acide cis-11-éicosénique (0,31-0,48 %), et l'acide cis-4, 7, 10, 13, 16,19-docosahexaénoïque (DHA) C22:6 (n-3) (0,10-0,21 %) ont été trouvés dans ces échantillons HH et HEP respectivement, avec des concentrations plus faibles. Les acides palmitoléique C16:1 et cis-heptadécénique C17:1 ont également été identifiés en quantités traces (0,05, 0,04 %) dans l'échantillon HH, mais n'ont pas été détectés dans la composition de l'échantillon HEP. Ces données sont en concordance avec celles obtenues à partir de différentes variétés et extraites avec un solvant d'éther de pétrole, comme rapporté par Yukui et al. (2009), Tian et al. (2010), et Matthäus et Özcan (2015), bien que l'absence d'acide arachidique et d'acide cis-11-éicosénique ait été constatée dans l'étude de Matthäus et Özcan (2015). Les acides cis-heptadécénique (C17:1) et cis-4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaénoïque (DHA) (C22:6 (n-3)) étaient les seuls présents dans notre

étude à partir de la variété Golden Delicious. Il est à remarquer que le C17:1 était initialement présent dans l'huile extraite par solvant d'hexane (HH). En revanche, l'acide linoléique, l'acide docosanoïque et l'acide héptadécanoïque n'ont pas été détectés.

Cependant, Arain et al. (2012) ont enregistré leur présence à des niveaux plus faibles. De plus, Matthäus et Özcan (2015) ont rapporté 0,6-0,3 % d'acide linoléique dans l'huile des pépins des variétés Golden et Starking, un résultat similaire à l'étude de Yukui et al. (2009) (0,6 %) pour l'huile de pépins de Red Fuji.

Les concentrations de C18:0, C18:1C (n-9), C20:0, C20:1 (n-9) et C22:6 (n-3) dans l'échantillon HEP étaient plus élevées que celles de l'huile obtenue par extraction à l'hexane (HH), tandis que la quantité d'acide linoléique contenu dans l'huile HH présentait des concentrations relativement plus élevées que dans l'huile obtenue par extraction à l'éther de pétrole. Cette forte teneur rend l'huile de pépins de pomme susceptible à l'oxydation. Le solvant, la méthode, la température d'extraction, et la source des fruits de pépins (chambre froide, industrie des déchets, marché, etc.) peuvent contribuer à ces variations (Yukui et al., 2009).

Le profil des acides gras dans diverses cultivars de pommes peut en effet varier de manière significative, en raison de facteurs génétiques et abiotiques tels que le climat, les conditions du sol, les pratiques horticoles, l'exposition au soleil, ainsi que la période et le lieu de récolte, comme l'ont noté Górnas et al. (2014). Il est particulièrement intéressant de noter que le profil des acides gras des huiles de pépins de pomme analysées à partir de différentes variétés est similaire à ceux trouvés dans d'autres huiles végétales telles que l'huile de maïs, de tournesol et de sésame (Rodríguez Madrera et Valles, 2018).

Enfin, ces données soulignent les propriétés bénéfiques des huiles végétales de pépins de pomme, en raison de leur potentiel considérable pour diverses activités biologiques. Par exemple, l'acide linoléique est bénéfique pour réduire la concentration de LDL, ce qui diminue par conséquent l'apparition des maladies cardiovasculaires (CVD), leur mortalité et leur importance pour la fonction de la barrière cutanée. De plus, l'acide oléique présente de puissants effets anti-inflammatoires ; l'acide arachidique joue un rôle crucial dans le développement et le fonctionnement des cellules cérébrales (Calder PC., 2015).

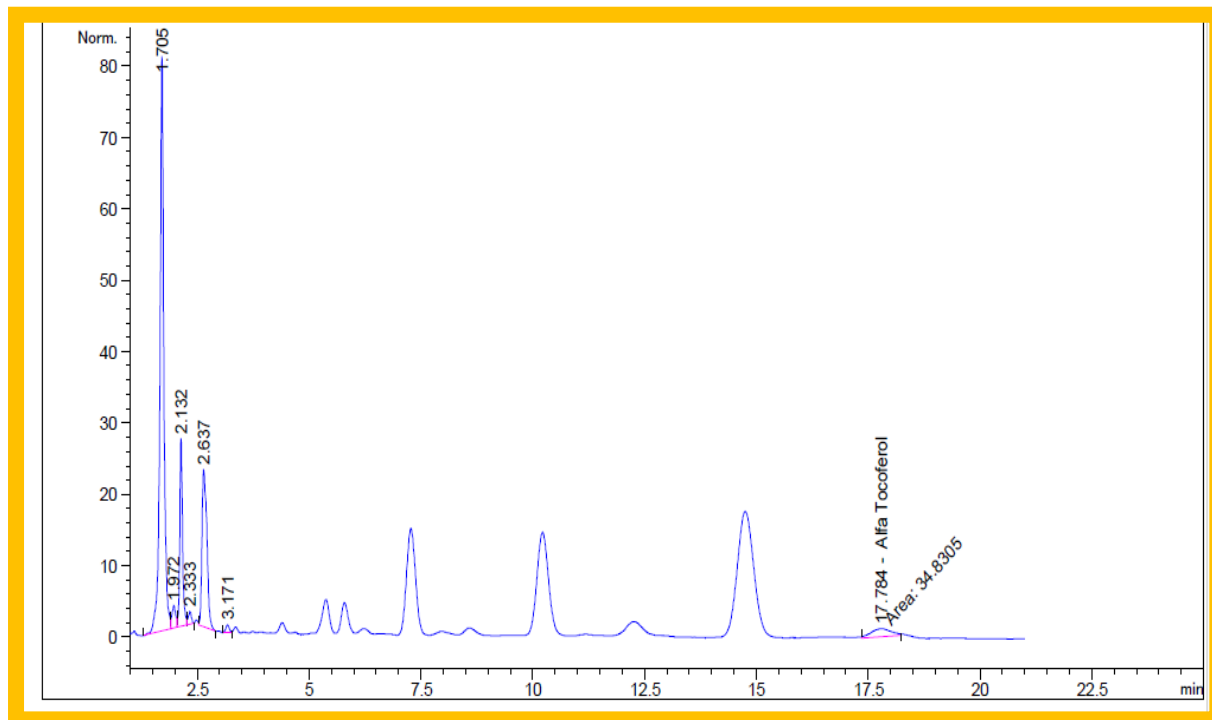
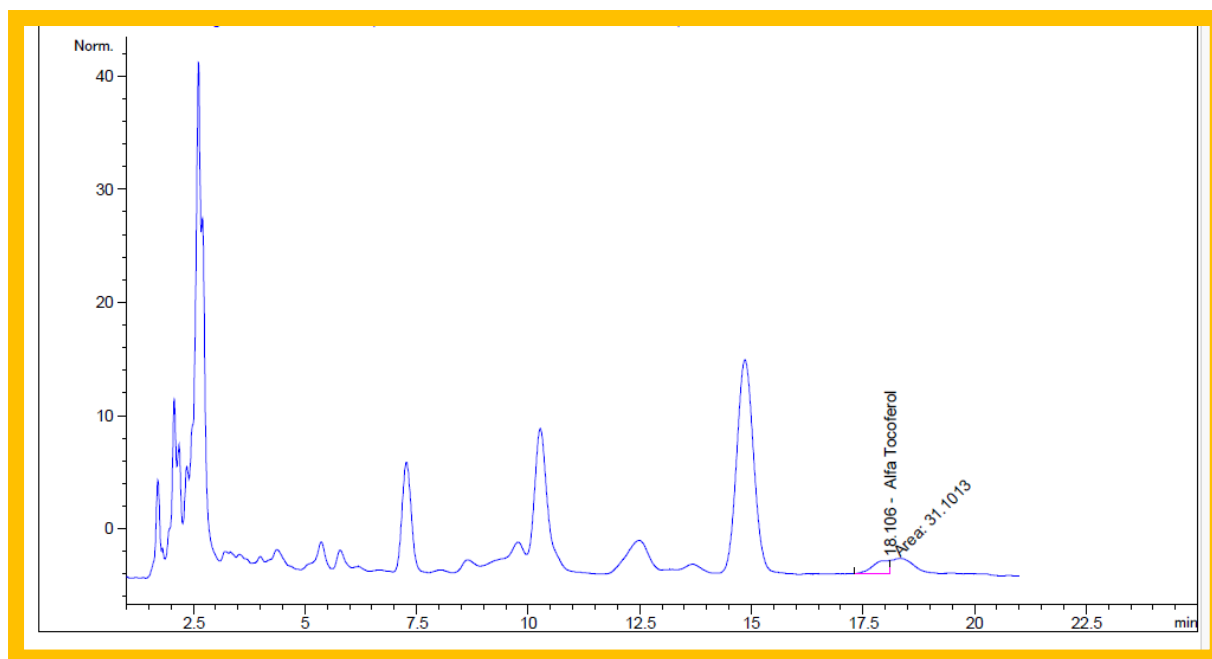
De plus, l'acide cis-10-heptadécénique (C17:1) montre un potentiel significatif pour son activité antitumorale (Alves et al., 2006 ; Fukuzawa et al., 2008).

3.4. Détermination de l'alpha-tocophérol

Les huiles végétales représentent la principale source de vitamine E dans l'alimentation moyenne (Czaplicki et al., 2011). Alors que la vitamine E est l'antioxydant lipophile principal, elle inclut des isomères tels que l' α -, β -, γ -, et δ -tocophérol, ainsi que des tocotriénols (Rodríguez Madrera et Valles, 2018). Synthétisés par des organismes photosynthétiques, ces composés font partie des antioxydants naturels les plus essentiels (Akšić et al., 2021 ; Lamani et al., 2021). De plus, ils sont reconnus pour améliorer la stabilité des huiles et offrir divers bienfaits pour la santé (Abbas et al., 2019). Les vitamines fonctionnent comme des coenzymes ou des composants d'enzymes et sont impliquées dans divers processus métaboliques (Kumar et al., 2022).

En raison de leurs propriétés antioxydantes, la teneur et la composition des composés actifs de la vitamine E sont des facteurs importants pour l'évaluation des huiles de pépins (Matthäus et Özcan, 2015). Les quatre homologues de la vitamine E (α , β , γ et δ) aident à promouvoir et accélérer les réactions biochimiques à travers les membranes cellulaires et à protéger les acides gras polyinsaturés de l'oxydation, en particulier pendant le stockage des pépins et à basse température (Akšić et al., 2021). Les résultats sont présentés dans les figures (3, 4) et résumés dans le tableau 3. Ils montrent la teneur en α -tocophérol, analysée par HPLC-DAD, des différents échantillons d'huiles de pépins de pomme HH et HEP provenant de la variété Golden Delicious.

Échantillon	α -tocopherol (mg/Kg huile)
Huile HH	540
Huile HEP	440
Les resultants publiées (ref) Matthäus and Özcan.(2015)	
Golden	514
Starking	544
Pieszka et al. (2015)	417
Arain et al. (2012)	6.4%
Bada et al. (2014)	846.8
Rodríguez Madrera and Valles (2018)	439

Tableau 22: Les analyses d' α -tocophérol des huiles des pépins des pommes par HPLC-DAD**Figure 45:** Chromatogramme représentant la teneur en α -tocophérol de l'huile HH, analysée par HPLC-DAD**Figure 46:** Chromatogramme représentant la teneur en α -tocophérol de l'huile HEP, analysée par HPLC-DAD

La concentration la plus élevée en α -tocophérol provenant de l'huile extraite par n-hexane (HH) était de 540 mg/kg d'huile, suivie par l'huile extraite avec de l'éther de pétrole (HEP) à 440 mg/kg d'huile. La différence peut être attribuée à la nature des solvants utilisés. La teneur en isomères de l' α -tocophérol dans l'huile de pépins de pomme HEP était inférieure à celle décrite par Matthäus et Özcan (2015) (514-544 mg/kg d'huile) provenant des variétés Golden et Starking respectivement. Ces niveaux étaient plus élevés que ceux obtenus dans l'étude de Pieszka et al. (2015) (417 mg/kg d'huile), tandis que la quantité d' α -tocophérol dans l'huile HH était plus élevée que celle rapportée par Rodríguez Madrera et Valles (2018) (439 mg/kg d'huile) à partir des sous-produits industriels, et inférieure à celle trouvée dans l'étude de Bada et al. (2014) (84,68 mg/kg) avec des pépins de pomme reconnus par la DO des Asturies, Espagne. Selon Arain et al. (2012), la quantité de l' α -tocophérols dans la composition insaponifiable de l'huile de pépins de pomme provenant des sous-produits de différentes variétés, telles que Golden Delicious, Red Delicious, Royal Gala et Pyrus Malus, était respectivement de 5,6 ; 5,4 ; 6,4 ; et 6,1%.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel antioxydant élevé de l'huile de pépins de pommes, en particulier en raison de sa teneur élevée en α -tocophérol (440-540 mg/kg d'huile). Vitamine liposoluble, l' α -tocophérol joue un rôle crucial dans la protection des acides gras polyinsaturés contre l'oxydation, ce qui fait de l'huile de pépin de pomme une source naturelle d'antioxydants exceptionnelle. Les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires de la vitamine E sont largement reconnues, ce qui souligne encore davantage son potentiel bénéfique pour la santé humaine (Matthäus et Özcan, 2015).

De plus, des études récentes ont mis en évidence l'intérêt croissant de l'extraction de la vitamine E à partir de déchets de pépins, en raison de ses puissants effets antioxydants et de son rôle dans la prévention de diverses maladies liées à l'âge, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète et l'obésité (Rodríguez Madrera et Valles, 2018). La présence de vitamine E dans l'huile de pépin de pomme, ainsi que ses potentiels bienfaits pour la santé, suggère qu'elle pourrait être une valeur ajoutée pour les compléments alimentaires, les aliments fonctionnels et les produits de soin de la peau.

3. Conclusion et perspectives

Les huiles extraites des pépins de la variété Golden Delicious, cultivés dans du plateau de Ghriss en Algérie, ont montré des résultats prometteurs en termes de leurs propriétés physico-

chimiques. Ces résultats, conformes aux normes internationales pour les huiles polyinsaturées, incluent la teneur en eau, l'indice de réfraction, le pouvoir antioxydant, le taux d'acide gras libres, le taux d'acides gras polyinsaturés, le taux d'acides gras mono-insaturés, le taux d'acides gras saturés, le taux d'acides gras trans, ainsi que le taux d'acides gras totaux. Les huiles présentent également des rendements significatifs, avec 23,06 % pour le échantillon HH et 22,55 % pour le échantillon HEP.

En plus de leur haute teneur en huile, les huiles des pépins de cette variété se sont avérées être une excellente source d'acides gras insaturés essentiels (88,45 % pour HH et 87,72 % pour HEP), ainsi que d' α -tocophérols (540 mg/kg pour HH et 440 mg/kg pour HEP), ce qui contribue à leurs propriétés antioxydantes. Ces résultats soulignent le potentiel de ces huiles pour des applications nutritionnelles et industrielles.

Perspectives futures : Compte tenu des résultats prometteurs de cette étude, plusieurs axes de recherche et développement sont envisageables. La teneur élevée en acides gras insaturés, notamment en acide linoléique et en acide oléique, positionne l'huile de pépin de pomme comme un candidat potentiel pour diverses applications culinaires, cosmétiques et pharmaceutiques. Des études supplémentaires peuvent être consacrées à l'optimisation des techniques d'extraction pour augmenter le rendement et améliorer l'efficacité de la récupération de la vitamine E. Il conviendrait également d'étudier la bioactivité, et les bienfaits pour la santé de l'huile de pépin de pomme, en particulier son potentiel dans la prévention des maladies cardiovasculaires, de l'inflammation et des maladies liées au vieillissement, afin d'enrichir nos connaissances sur ses applications commerciales et thérapeutiques potentielles.

Par ailleurs, l'exploration de méthodes durables pour l'extraction à grande échelle à partir de déchets de pommes pourrait contribuer à réduire l'impact environnemental tout en fournissant un produit dérivé précieux pour l'industrie agroalimentaire et cosmétique.

Ces résultats suggèrent que les huiles de pépins de pomme pourraient servir de nouvelle source pour la production d'huile comestible. Dans l'analyse GC-FID, l'acide linoléique est détecté comme l'acide gras principal, représentant 54,78 % dans l'échantillon HH, suivi de l'acide oléique à 33,17 %. Dans l'échantillon HEP, l'acide linoléique est présent à 50,9 %, suivi de l'acide oléique à 36,13 %. Les propriétés physico-chimiques (à l'exception de l'indice d'acide), les profils d'acides gras et les niveaux d' α -tocophérol des échantillons HH et HEP

étaient significativement différents. Les différences dans la composition des huiles sont donc dues à la variété de pomme, à la région de la culture, au solvant et à la méthode d'extraction. De plus, la présence d' α -tocophérol dans les huiles indique qu'elles peuvent être une bonne source d'antioxydants et de piègeurs de radicaux libres.

En conclusion, l'huile de pépins de pomme présente un potentiel intéressant en tant que matière première précieuse pour la préparation de produits cosmétiques et pharmaceutiques. Dans de futures investigations, nous envisageons de focaliser nos recherches sur l'impact des huiles de pépins de pomme sur les activités biologiques, en particulier leurs propriétés antioxydantes, et anti-inflammatoires.

Article 3 : Valorisation des épiluchures des déchets des pommes des chambres froides dans l'ouest algérien par l'extraction des extraits phénoliques**1. Introduction :**

Le pommier domestique (*Malus domestica* Borkh.) est l'une des cultures fruitières les plus importantes à l'échelle mondiale, et figure parmi les fruits les plus consommés (Zahid, H.F. et al., 2023). Les pommes sont riches en composés bioactifs tels que les anthocyanidines, les flavonols, ainsi qu'en fibres alimentaires. Toutefois, la teneur en polyphénols (PP) varie considérablement selon les variétés, les concentrations les plus élevées étant généralement observées dans la peau (Popiolek-Kalisz et al., 2023).

Bien qu'il existe 3000 de cultivars de pommier, cinq variétés dominent actuellement en production mondiale : Fuji, Golden Delicious, Red Delicious, Granny Smith et Gala. Les pommes de table sont largement transformées en divers produits alimentaires, notamment le jus (2,1 millions de litres parmi les 28 États membres de l'Union européenne), la compote, ou encore des tranches de pommes (séchées, surgelées ou en conserve).

L'augmentation de la production de pommes, vue à la demande croissante des consommateurs, a entraîné une hausse significative des déchets agroalimentaires. Ces coproduits peuvent être valorisés et intégrés comme ingrédients dans des aliments fonctionnels à haute valeur ajoutée tels que les farines céréalières, biscuits, muffins, pains et produits laitiers fermentés présentant de nombreux effets physiologiques et biochimiques bénéfiques (Radenkovs et al., 2018) ou par l'extraction des composés bioactifs .

Les polyphénols présents généralement dans les fruits et légumes, notamment dans les pommes, ont suscité un grand intérêt scientifique en raison de leur forte activité antioxydante démontrée in vitro et in vivo, liée à leur capacité à neutraliser les radicaux libres. Les principaux polyphénols présents dans les pommes comprennent les anthocyanines, dihydrochalcones, flavanols, flavonols, acides hydroxybenzoïques et acides hydroxycinnamiques, qui jouent un rôle essentiel dans les propriétés bénéfiques du fruit pour la santé (Preti & Tarola, 2020).

Les pommes constituent également une excellente source de fibres alimentaires et de composés phénoliques, présents en quantités importantes dans la chair et surtout dans la peau (Zahid, H.F. et al., 2023). Toutefois, la nature et la teneur de ces composés, ainsi que celles des minéraux essentiels, dépendent de nombreux facteurs tels que le cultivar, le stade de maturité, l'état physiologique du fruit, les conditions pédoclimatiques, mais aussi les pratiques post-récolte comme le stockage et la transformation.

Il est à noter que la composition en métabolites secondaires diffère, tant qualitativement que quantitativement, entre la chair et la peau. Étant donné que la peau est particulièrement riche en polyphénols, sa consommation devrait être encouragée dans les recommandations nutritionnelles portant sur la pomme (Prete & Tarola, 2020). Sur une base de poids sec, la peau de pomme contient environ quatre fois plus de polyphénols totaux que la chair. Les composés phénoliques dominants dans la peau comprennent les flavonols, les stérols végétaux, les dihydrochalcones, les procyanidines et les anthocyanines, tandis que les acides hydroxycinnamiques sont plus abondants dans la chair (Zahid, H.F. et al., 2023).

Notre travail consiste à valoriser les épluchures de pommes détériorées lors du stockage en chambre froide, à travers l'extraction et la caractérisation des différents composés bioactifs qu'elles contiennent par des méthodes chromatographique.

2. Matériels et méthodes :

2.1. Produits et réactifs :

Methanol, Ethanol, Hcl, propanol, FeCl₃, acétate de sodium, éther, chloroforme, zinc, alcool iso amylique, sulfate de sodium anhydre, ammoniacque, hydroxyde de potassium, acétate de plomb.

2.2. Matériel végétale :

Les déchets de pommes de la variété Golden Delicious ont été collectés dans différentes zones géographiques de la plaine de Ghriss, dans la wilaya de Mascara, et conservés dans une chambre froide située à Maoussa, Mascara, en ouest d'Algérie, durant la période de septembre à novembre 2021.



Figure 47 : Matériel végétale (épluchures des pommes détériorées)

2.3. Préparation d'extraits phénoliques :

Les pommes contaminées sont préalablement lavées à l'eau distillée, puis les épidermes sont soigneusement prélevés à l'aide d'une scie. Une masse de 10 g d'épidermes est ensuite mise en macération à froid dans 100 ml d'un mélange méthanol/eau (70/30, v/v), en utilisant du méthanol ultrapure ($\geq 95\%$). La macération est réalisée à l'obscurité pendant 24 heures.

Concernant le deuxième extrait (EPR), une masse de 10 g d'échantillon a été ajoutée à 100 ml d'un mélange d'éthanol et d'eau (95/5, v/v). Le mélange a ensuite été soumis à un chauffage à reflux pendant une heure à une température de 60 °C. Après l'extraction, les deux solutions ont été filtrées à l'aide de papier Whatman. Les filtrats ont ensuite été concentrés à l'aide d'un évaporateur rotatif afin d'éliminer les solvants. Les extraits obtenus (EPM et EPR) ont été séchés dans une étuve à 30 °C, puis conservés à 4 °C en vue des analyses ultérieures. Ce protocole a été élaboré en suivant la méthode Duchêne-Massias (2015), avec des modifications apportées aux conditions expérimentales.

2.3.1. Rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction a été calculé selon l'équation suivante proposée par Koçak M.Z. (2024) :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{M_s}{M_o} \times 100$$

Où :

M_s : masse des épiluchures des déchets des pommes (g)

M_o : masse de l'extrait des épiluchures (g)

2.4. Criblage phytochimique des extraits phénoliques :

Les métabolites secondaires présents dans les extraits phénoliques des déchets des pommes issue des chambres froides sera déterminés par un screening phytochimiques établie par le Protocole décrite par Harborne et al. (1998) (Raaman et al ., 2006; Afif Chaouche, 2015) Tableau 13 (Annexe 3).

2.5. Analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse (UHPLC/ESI/MS/MS)

L'analyse des échantillons a été réalisée à l'aide d'un spectromètre de masse Thermo Q-Exactive Orbitrap (Thermo Fisher Scientific), couplé à un système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC Vanquish, Thermo Fisher Scientific).

2.5.1. Les Conditions chromatographiques liquide UHPLC :

La séparation chromatographique a été effectuée sur une colonne Kinetex XB-C18 (Phenomenex) présentant les caractéristiques suivantes : taille des particules de 2,6 μm , longueur de 100 mm et diamètre interne de 2,1 mm.

Les phases mobiles utilisées étaient :

- Phase A : solution aqueuse d'acide formique à 0,1 % (v/v) (Eau distillée ultrapure) ;
- Phase B : Acétonitrile ultrapure.

Le programme de gradient appliqué était le suivant :

Temps (min)	Phase B %
0.00	50
20 .00	100
25.00	100
26.00	50

Tableau23 : Le programme de gradient appliqué pour les phases mobiles

Le volume d'injection d'échantillon était de 10 μL , et le débit de la phase mobile était maintenu à 0,200 ml/min.

2.5.2. Les Conditions d'application de spectrométrie de masse

L'ionisation a été réalisée en mode électrospray négatif (ESI⁻) et positive (ESI⁺).

Les paramètres opératoires étaient les suivants :

- Tension d'ionisation : -3,8 kV ;
- Débit du gaz de la colonne : 30 (unités arbitraires) ; débit du gaz auxiliaire :10 (unités arbitraires).
- Température du gaz de séchage : 310 °C ; température du capillaire : 320 °C.
- Niveau de la lentille S/RF : 55.
- Les données ont été acquises en mode Auto-MS (2) sur une plage de masse comprise entre 100 et 1000 m/z, avec une énergie de fragmentation (NCE) fixée à 30.

3. Résultats et discussion :

3.1. Rendement d'extraction :

Le rendement des extraits phénoliques des déchets pommes de la variété Golden Delicious extrait avec de méthanol était de 46,6 %, soit un résultat approximativement égal à celui de, dont les rendements du deuxième extrait variaient entre 44 %.

Les deux échantillons présentent une texture compacte, insoluble dans l'eau et dans différents solvants (méthanol ou éthanol), rendant leur utilisation en solution relativement difficile. Afin de garantir une dissolution optimale tout en préservant l'intégrité des composés bioactifs, un traitement par chauffage modéré ou par sonication est requis. De plus, l'ajustement rigoureux de la concentration en acide chlorhydrique est indispensable pour limiter la dégradation potentielle des métabolites secondaires. Ces conditions expérimentales sont essentielles pour assurer la fiabilité des analyses biologiques et le dosage des polyphénols.

3.2. Profile des métabolites secondaires par screening phytochimiques des extraits phénoliques :

La présence ou l'absence de métabolites secondaires a été évaluée par criblage phytochimique. Le tableau 24 présente les principaux constituants des extraits phénoliques des épidermes de pomme. Les flavonoïdes sont fortement présents dans les deux extraits **EPM** et **EPR**. Les Mucilages, les tanins galliques, les saponosides et sont absents. Les anthocyanes et les quinones se trouvent principalement dans l'extrait EPM extrait par le méthanol. Les coumarines, les sennosides, les alcaloïdes, leuco-anthocyanes, les Irridoïdes et Tanins totaux se trouvent dans les deux extraits EPM et EPR. Tous ces résultats sont significativement différents. Ce vaste groupe de composés, qui comprend les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins, participe non seulement aux propriétés organoleptiques des fruits, comme la couleur et la saveur, mais joue également un rôle essentiel dans les mécanismes de défense cellulaire (Perrone, P. et al., 2025).

Métabolite secondaire	Extrait EPM	Extrait EPR
Anthocyanes	+	-
Leuco-anthocyanes	+	+
Tanins totaux	+	+
Irridoïdes	+	+
Tanins galliques	-	-
Alcaloïdes	+	+
Flavonoïdes	++	++
Senosides	+	+
Quinones	+	-
Coumarines	+	+
Mucilage	-	-
Saponosides	-	-

Tableau 24: Profils des métabolites secondaires de deux extraits

Au sein d'un même fruit, la répartition des composés bioactifs est également hétérogène. Par exemple, les anthocyanes et les flavonoïdes sont principalement concentrés dans l'épiderme. À l'échelle de la plante entière, il convient de noter que certains composés ne s'accumulent que dans des organes spécifiques, à condition que ceux-ci soient matures et sains. Chez la pomme, les composés phénoliques jouent un rôle important dans la coloration de la peau, notamment par la présence d'anthocyanes, ainsi que dans les caractéristiques organoleptiques de la chair, en influençant notamment l'amertume et l'astringence. Toutefois, la répartition et la proportion des différentes classes de composés phénoliques varient considérablement d'une variété de pommes à une autre, ainsi que d'un composé à un autre (Sanoner, 2001).

3.3. Profil des composés phénoliques des extraits identifiés par UHPLC/ESI/MS/MS

Dans le cadre de la présente étude, l'analyse du profil phytochimique de l'extrait de pomme contaminée (EPM) a été réalisée par UHPLC-ESI-MS/MS en mode d'ionisation positive [M+H] (m/z). Cette analyse a permis de détecter 29 composés significatifs, répertoriés dans le

tableau 18 (Annexe 4). En revanche, seuls sept composés ont pu être identifiés en mode d'ionisation négative [M-H] (m/z). Ces composés sont majoritairement des substances bioactives, notamment des flavonoïdes, des alcaloïdes, des dérivés terpéniques, des acides gras, des quinones, des phénols simples, des amides d'acides gras, des acides aminés lipophiles et des glucosides phénoliques (voir le **Tableau 25**).

Par ailleurs, l'analyse du profil phytochimique de l'extrait de pomme contaminée EPR, obtenu par l'extraction à l'éthanol et analysé par UHPLC-ESI-MS/MS en mode d'ionisation positive [M+H] (m/z), a permis de détecter 35 composés significatifs, répertoriés dans le Tableau 2 (Annexe 4). En mode d'ionisation négative [M-H] (m/z), seuls six composés ont pu être identifiés. Les composés identifiés sont principalement au nombre de onze, et appartiennent majoritairement aux classes suivantes : flavonoïdes, alcaloïdes, acides gras aminés, acides gras hydroxylés, sphingolipides, amides d'acides gras, acides triterpénoïdes et composés phénoliques voir le (**Tableau 26**).

Plusieurs études ont été publiées concernant l'analyse des extraits de pomme par HPLC-UV et HPLC-MS (Tsao, Yang et al., 2003 ; Abad-García, Berrueta et al., 2007). Compte tenu de la complexité et de la richesse des échantillons de pomme en composés, deux travaux spécifiques ont été menés : l'un portant sur le développement d'une méthode de dosage par UHPLC-MS (Ceymann, Arrigoni et al., 2011), et l'autre utilisant une approche UHPLC-UV pour la cartographie des composés phénoliques (Chagné, Krieger et al., 2012). Ces méthodes permettent de quantifier respectivement 12 et 23 composés phénoliques présents dans les extraits de pomme, en un temps d'analyse réduit (moins de 10 minutes).

Les résultats présentés dans le tableau 18, Annexe 4 permettent d'identifier les principaux composés bioactifs et non bioactifs présents dans l'extrait d'épluchures de déchets de pommes (EPM), issus des métabolites secondaires. Les composés bioactifs détectés appartiennent à diverses classes chimiques, notamment les flavonoïdes, tels que la quercétine (flavonol) et l'apiforol (flavanone), ainsi que les alcaloïdes, dont la méthylconicine, l'évocarpine et la pukeleimide A. Des dérivés terpéniques ont également été identifiés, parmi lesquels figurent le (2S,3S,4aS,5aS,9aS,10aS)-3,5a,10a-tris(méthoxyméthyl)-2-méthyl-décahydro-2H-dipyrano[3,2-b:2',3'-e]pyran-3-ol, la cornusalterine L, l'acide oléanonique (ou acide moronique), le (3S,5S,7R,9R,11S,13S)-2,2,6,6,10,10,14,14-octaméthyl-1,3,5,7,9,11,13,15-pentadécaneoctol, ainsi que la picrocrocine. D'autres classes sont également représentées, telles que les acides gras (par exemple, l'acide 18-hydroxylinoléique), les quinones

(notamment la 2-[(2E)-3,7,11,15-tétraméthylhexadéc-2-én-1-yl]-1,4-dihydronaphtalène-1,4-dione), les phénols simples (comme le 4-dodécylphénol et le gingérol), les amides d'acides gras (9-octadécénamide, dodécénamide, hexadécénamide), les acides aminés lipophiles (tels que l'acide 2-aminohexadécanoïque), ainsi que les glucosides phénoliques (comme le β -D-glucosylisoeugénol) selon les données référencées dans la base PubChem. Les autres composés identifiés dans l'extrait sont de nature non bioactive.

En revanche, les résultats présentés dans le (tableau 19, Annexe 4) permettent d'identifier les principaux composés bioactifs et non bioactifs présents dans l'extrait d'épluchures de déchets de pommes (EPR), obtenu par extraction à l'éthanol. Les composés bioactifs identifiés appartiennent à différentes classes chimiques, telles que les flavonoïdes, avec la quercétine (flavonol) et la citrusine C ; les alcaloïdes, notamment la méthylconicine et l'évocarpine ; les acides gras aminés, comme l'acide 16-aminohexadécanoïque ; les acides gras hydroxylés, tel que l'acide 18-hydroxylinoléique ; les sphingolipides, représentés par la sphingosine ; ainsi que les amides d'acides gras, dont la lauramide, l'hexadécénamide et l'oléamide. Par ailleurs, un acide triterpénoïde, l'acide moronique, ainsi qu'un composé phénolique, le vanillyl nonanoate, ont également été détectés. Les autres composés identifiés dans cet extrait sont de nature non bioactive.

La fragmentation des pics 7, 8, 4, 10, 20, 22, 24, 21, 5, 6, 23 et 16 a permis d'identifier les principaux composés bioactifs présents dans l'extrait d'épiderme de pomme (EPM), obtenu par macération dans une solution méthanol/eau (70:30, v/v).

La fragmentation des pics 7 et 8 a généré des ions à m/z 228,04 [M + H] et 106,049 [M + H], correspondant respectivement à deux flavonoïdes : la quercétine (flavonol) et l'apiforol (flavanone). En revanche, les pics 4 et 10 ont produit des ions à m/z 321,24 [M + H] et 218,056 [M + H], permettant l'identification d'alcaloïdes, à savoir l'évocarpine et la pukeleimide A.

Le pic 20 a généré un ion à m/z 220,116 [M + H], attribué à une quinone. Les pics 22, 24, 21, 5 et 6 ont donné lieu à des ions à m/z 87,07 ; 128,018 ; 90,054 ; 113,09 ; et 56,03 [M + H], respectivement. Ces fragments correspondent à des dérivés terpéniques, notamment : (2S,3S,4aS,5aS,9aS,10aS)-3,5a,10a-tris(méthoxyméthyl)-2-méthyl-décahydro-2H-dipyrano[3,2-b:2',3'-e]pyran-3-ol, la cornusalterine L, l'acide oléanonique (ou acide moronique), le (3S,5S,7R,9R,11S,13S)-2,2,6,6,10,10,14,14-octaméthyl-1,3,5,7,9,11,13,15-pentadécaneoctol, ainsi que la picrocrocine.

Par ailleurs, la fragmentation du pic 23 a produit un ion à m/z 94,085 [M + H], et celle du pic 16 un ion à m/z 90,0578 [M + H], identifiés respectivement comme deux phénols simples : le 4-dodécylphénol et le gingérol.

Ces résultats montrent que l'extrait EPM contient une concentration significative en composés bioactifs, notamment des flavonoïdes aux propriétés antioxydantes avérées, ainsi que des alcaloïdes, des phénols simples, des quinones et des dérivés terpéniques, qui pourraient également contribuer à ses effets biologiques.

La fragmentation des pics 9, 14, 4, 6, 22, 23 et 20 a permis d'identifier les principaux composés bioactifs présents dans l'extrait d'épiderme de pomme (EPR), obtenu par macération suivie d'extraction à reflux dans un mélange éthanol/eau (95:05, v/v).

La fragmentation des pics 9 et 14 a produit des ions à m/z 228,04 [M + H] et 270,078 [M + H], identifiés respectivement comme des flavonoïdes : la quercétine (flavonol) et la citrusine C. En revanche, les pics 4 et 6 ont généré des ions à m/z 57,06 [M + H] et 321,24 [M + H], correspondant à des alcaloïdes, à savoir la méthylconicine et l'évocarpine.

Le pic 22 a produit un ion à m/z 57,06 [M + H], attribué à un sphingolipide, la sphingosine. Par ailleurs, la fragmentation des pics 23 et 20 a donné lieu à des ions à m/z 94,085 [M + H] et 220,116 [M + H], identifiés comme des composés phénoliques, notamment le vanillyl nonanoate.

Les flavonols, tels que la quercétine, sont reconnus pour leur puissant pouvoir antioxydant et leur association à de nombreux effets bénéfiques sur la santé.

Ainsi, les deux extraits étudiés, EPR et EPM, contiennent une concentration significative de composés bioactifs, notamment des flavonoïdes, qui présentent des propriétés antioxydantes, ainsi que des alcaloïdes et des composés phénoliques susceptibles de contribuer à leurs effets biologiques. Les deux profils chromatographiques des extraits EPM et EPR montrent que les solvants utilisés influencent aussi sur la présence des substances bioactifs.

Les modes d'extraction aussi, influencent significativement la nature et la quantité des constituants phytochimiques extraits à partir d'une même matière végétale, même lorsque cette dernière a été cultivée dans des conditions biotiques et abiotiques similaires. Cela confirme que la technique d'extraction ainsi que le choix du solvant jouent un rôle déterminant dans la variation qualitative et quantitative des composés bioactifs présents dans les extraits obtenus.

Tableau 25 : Profile des principaux composants présents dans l'extrait EPM identifiées par UHPLC/ESI/MS/MS

Nom de composant	Formule	Masse moléculaire	Temps de rétention (RT)	Groupe	masse théorique de composant
Shikimate-3-O-glucoside	C ₁₄ H ₂₀ O ₁₁	364,0973	0,58		202.052
Oléamide	C ₁₈ H ₃₅ NO	281,2715	0,72	G	68.07
Evocarpine	C ₂₃ H ₃₃ NO	339,2519	2,81	B	321.24
Phytoene-1,15-diol (polyol)	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₉	452,3360	3,12	C	113.09
Picrocrocin	C ₁₆ H ₂₆ O ₇	330,1650	3,69	C	56.03
Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302,0421	4,00	A	228.05
Apiforol	C ₁₅ H ₁₄ O ₅	274,0837	4,36	A	106.049
acide α -aminopalmitique	C ₁₆ H ₃₃ NO ₂	271,2506	6,55	H	57.06
Pukeleimide A	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₅	278,0856	6,66	B	218.056
beta-D-Glucosylisoeugenol	C ₁₆ H ₂₂ O ₇	326,1336	6,97	I	270.078
Urechitol B	C ₁₄ H ₂₄ O ₇	304,1516	7,00		128.018
Acide 18-hydroxylinoléique	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	296,2347	7,15	D	278.232
Gingerol	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	294,1827	8,05	F	90.0578
Aminodiol (dérivé amino-alcool)	C ₁₆ H ₃₇ N ₃ O ₂	303,2921	8,39		220.116
Dodecanamide	C ₁₂ H ₂₅ NO	199,1930	8,92	G	90.0578
Menaquinone-4 (MK-4)	C ₃₀ H ₄₄ O ₂	436,3336	9,42	E	220.116
Oleanonic acid or moronic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	454,3442	9,425	C	90.05
Mogroside V	C ₁₈ H ₃₂ O ₇	360,2140	10,18	C	87.07
4-Dodecylphenol	C ₁₈ H ₃₀ O	262,2290	11,25	F	94.085
cornusalterin L	C ₃₀ H ₄₆ O ₂	438,3493	11,91	C	128.018
Hexadecanamide	C ₁₆ H ₃₃ NO	255,2554	12,04	G	80.07
Oléamide	C ₁₈ H ₃₅ NO	337,3338	15,57	G	202.0524

Groupe de composés bioactifs : (A) flavonoïdes ; (B) Alcaloïdes ; (C) Dérivés terpénique;(D) Acide gras ;(E) Quinones ; (F) Phénols simples ; (G) Acide gras amide (H) ; Acide aminé gras ; (I) Glucoside phénolique.

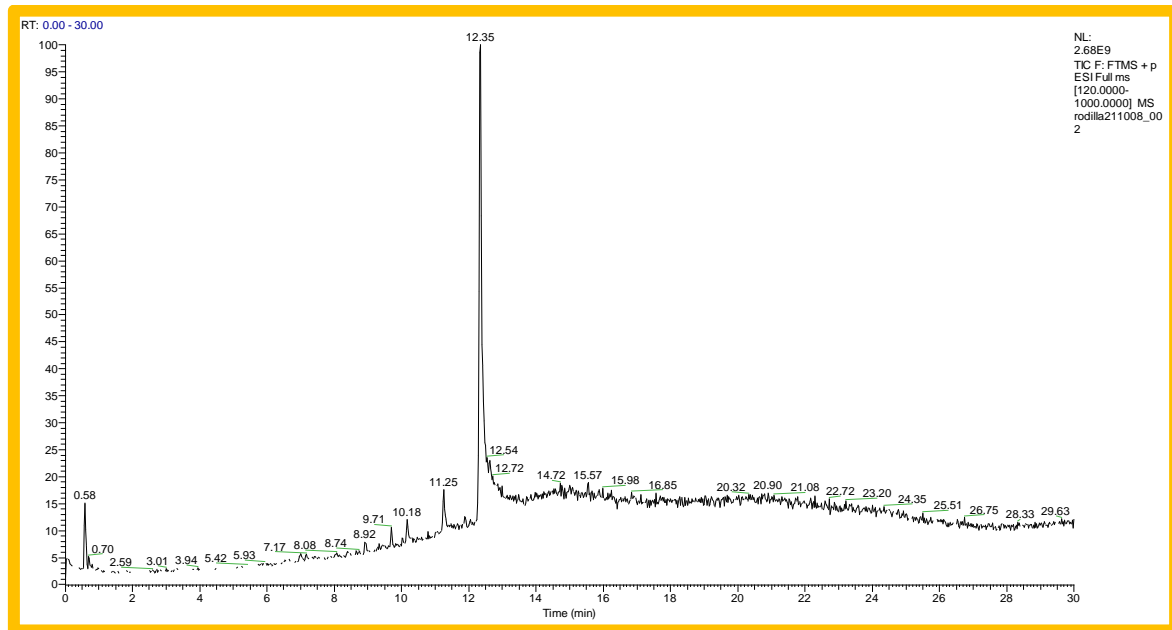


Figure 48 : Chromatogramme à ionisation positive de caractérisation de l'extrait EPM par UHPLC/ESI/MS/MS

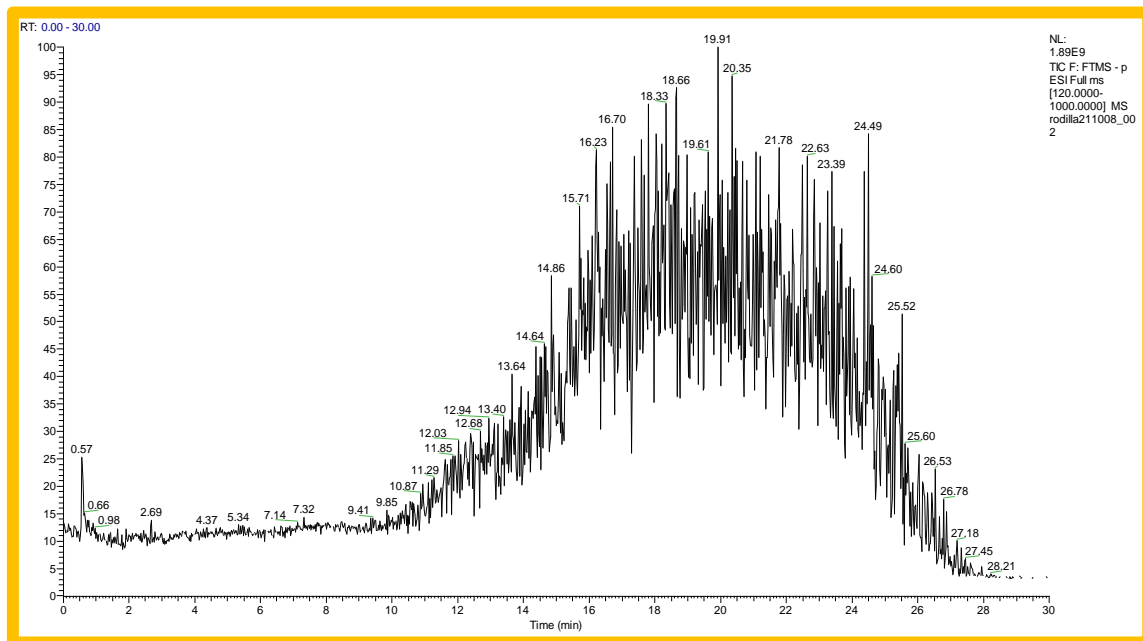


Figure 49: Chromatogramme à ionisation négative de caractérisation de l'extrait EPM par UHPLC/ESI/MS/MS

Tableau 26: Profile des principaux composants présents dans l'extrait EPR identifiées par UHPLC/ESI/MS/MS

Nom	Formule	MW	RT	Groupe	masse théorique de composant
Acide citraconique-3,5-dione	C ₈ H ₁₀ O ₆	202,0447	0,57		119.89
Acide pentaacétylé	C ₁₄ H ₂₀ O ₁₁	364,0975	0,59		202.05
Methylconiine	C ₉ H ₁₉ N	141,1513	0,71	B	57.06
Crotetamide	C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₂	226,1677	2,34		99.112
Evocarpine	C ₂₃ H ₃₃ NO	339,2518	2,79	B	321.24
Glycérol tétraacétate	C ₂₃ H ₄₈ O ₈	452,3359	3,04		113.09
(5-carbamoyl-1H-imidazol-4-yl) (E)-3-(4-docosylphenyl)prop-2-enoate	C ₃₅ H ₅₅ N ₃ O ₃	565,4201	3,67		113.09
Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302,0422	3,98	A	228.04
dichotomocej A	C ₁₃ H ₂₃ NO ₂	225,1723	5,91		179.17
Acide 16-aminopalmitique	C ₁₆ H ₃₃ NO ₂	271,2505	6,55	C	57.06
Pukeleimide A	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₅	278,0854	6,66	B	218.05
CITRUSIN C	C ₁₆ H ₂₂ O ₇	326,1335	6,98	A	270.078
Phytol	C ₂₄ H ₃₈ O	342,2876	7,02		239.23
18-Hydroxylinoleic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	296,2346	7,15	D	56.07
vanillyl nonanoate	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	294,1825	8,04	H	220.116
2-Palmitoylpyridine	C ₂₁ H ₃₇ N	303,2919	8,37		90.05
Sphingosine	C ₁₈ H ₃₇ NO ₂	299,2818	8,75	E	57.06
Lauramide	C ₁₂ H ₂₅ NO	199,1931	8,92	F	87.07
Moronic acid	C ₃₀ H ₄₆ O ₃	454,3442	9,43	G	200.16
Tributyl citrate	C ₁₈ H ₃₂ O ₇	382,1961	10,18		128.01
7-Oxo-tridecanedioic acid	C ₁₃ H ₂₂ O ₅	258,1462	10,20		128.018
Linoleamide	C ₁₈ H ₃₃ NO	279,2556	11,25		94.08
Fingolimod palmitamide	C ₃₅ H ₆₃ NO ₃	545,4805	11,76		527.47
cornusalterin L	C ₃₀ H ₄₆ O ₂	438,3491	11,89		202.17
4,22-Stigmastadiene-3-one	C ₂₉ H ₄₆ O	410,3543	11,91		159.84
Hexadecanamide	C ₁₆ H ₃₃ NO	255,2555	12,02	F	87.07
Oleamide	C ₁₈ H ₃₅ NO	281,2710	12,35	F	68.07

Groupe de composées bioactifs :(A) flavonoïdes;(B) des alcaloïdes ; (C) Acide gras aminé ; (D) acide gras hydroxylé; (E) sphingolipide ; (F) les amides acides gras; (G) Acide triterpénoïde; (H) composés phénolique.

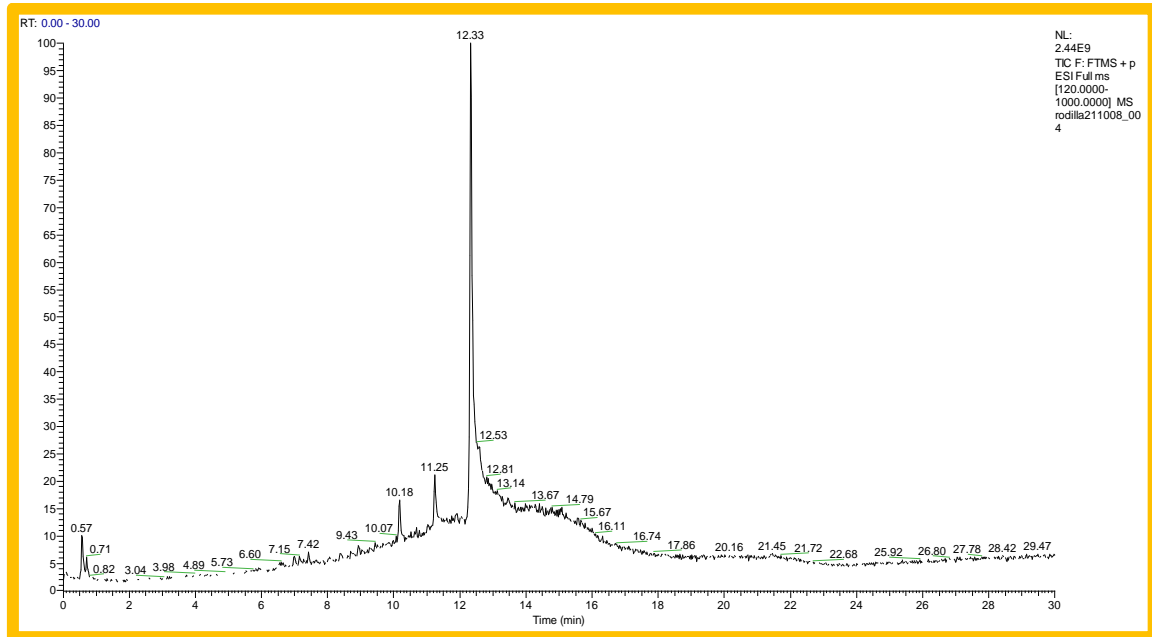


Figure 51 : Chromatogramme à ionisation positive de caractérisation de l'extrait EPR par UHPLC/ESI/MS/MS

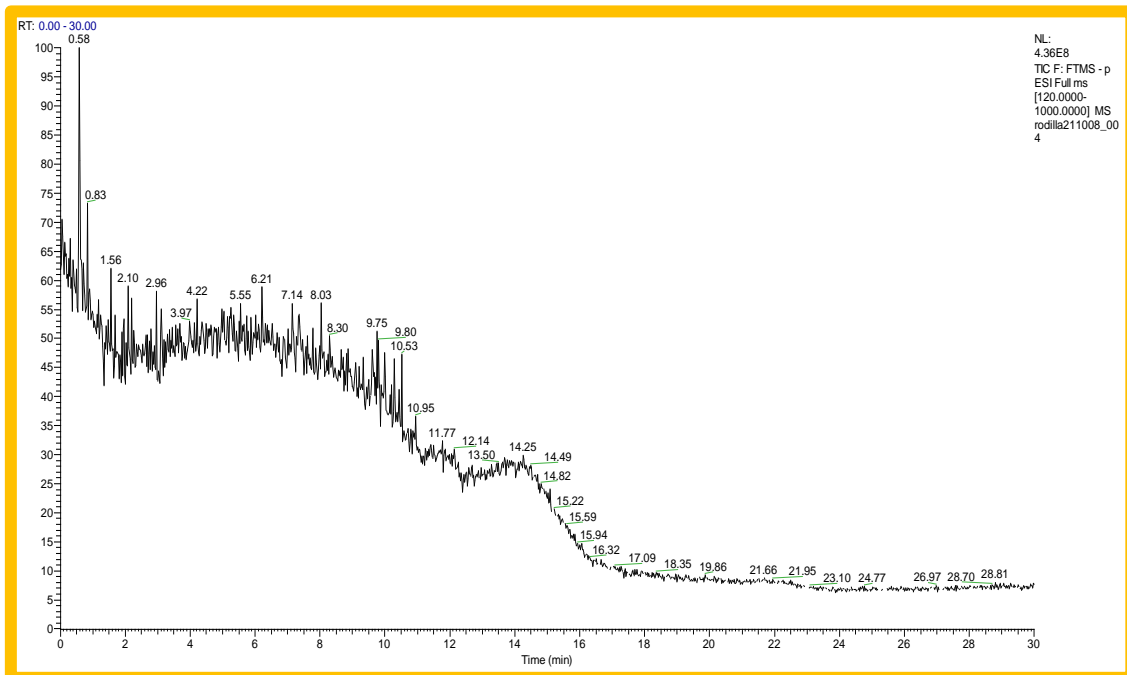


Figure 52 : Chromatogramme à ionisation positive de caractérisation de l'extrait EPR par UHPLC/ESI/MS/MS

La richesse des épidermes en polyphénols est une caractéristique bien établie chez de nombreux fruits (Balasundram, 2006). Bien que représentant seulement 12 à 20 % du poids total du fruit, en fonction de calibre, l'épiderme contribue de manière significative à la teneur en polyphénols (Lata, 2009). Selon Guyot (2002), les pommes de table renferment environ 50 % de leurs polyphénols dans les tissus épidermiques et sous-épidermiques, où les concentrations sont de 3 à 6 fois supérieures à celles observées dans la chair. En revanche, la teneur en polyphénols totaux dans la chair varie entre 0,33 et 0,93 mg/g de poids frais (Tsao, 2003).

Les variations de distribution des polyphénols sont encore plus marquées lorsqu'on s'intéresse à des molécules spécifiques plutôt qu'aux classes de composés ou aux teneurs totales. Les flavonols et les dihydrochalcones, telles que la phloridzine, sont particulièrement concentrés dans les tissus épidermiques. En revanche, certains acides phénoliques, notamment les acides hydroxycinnamiques comme l'acide chlorogénique, constituent les seuls composés majoritairement présents dans la chair plutôt que dans l'épiderme (Colin-Henrion, 2008 ; Karaman, 2013 ; Tsao, 2003 ; Leccese, 2009 ; Rupasinghe, 2008). Étant donné la richesse des épidermes en polyphénols, ces composés sont supposés être également présents dans les coproduits issus de leur transformation (Duchêne, 2015).

Par ailleurs, l'oxydation des polyphénols est le principal phénomène responsable du brunissement des pommes. Cette oxydation peut être de nature enzymatique ou chimique (Dangles, 2006). Elle survient généralement lorsque les tissus des fruits sont altérés, notamment à la suite de dommages mécaniques (comme ceux provoqués par la récolte, la cueillette ou le remplissage dans les palox de stockage), d'opérations technologiques (telles que la conservation au froid), ou encore de désordres physiologiques, tels que les infections fongiques (De Rigal, 2001). Dans le cas du brunissement enzymatique, les principales enzymes impliquées sont les polyphénoloxydases (EC 1.14.18.1) et les peroxydases (EC 1.11.1.7) (Bernillon, 2005).

Les deux extraits analysés, issus de la variété Golden Delicious, ne présentent aucune trace détectable de dihydrochalcones. Cette absence contraste avec les résultats rapportés par plusieurs études antérieures, qui ont mis en évidence la présence de ces composés phénoliques dans la même variété, ainsi que dans d'autres cultivars tels que Royal Gala et Fuji (Guyot et al., 2002 ; Song et al., 2007). Cette divergence pourrait s'expliquer par des différences liées aux conditions agronomiques, au stade de maturité des fruits, au cours du développement et

de la maturation du fruit, la teneur en polyphénols diminue de manière significative, puis se stabilise. Cette évolution a été observée dans l'épiderme des pommes de la variété Golden Delicious, comme le rapportent Burda et al. (1990). Par ailleurs, la teneur en polyphénols varie fortement sous l'influence de facteurs génétiques.

En effet, la nature et la concentration des composés phénoliques accumulés dans le fruit dépendent étroitement du cultivar. Au niveau de l'épiderme, les concentrations en flavonoïdes sont notamment significativement plus élevées chez les variétés à peau de couleur intense, telles que Braeburn, Empire ou Fuji.

De manière générale, le profil chimique et ses variations sont principalement influencés par la saison de culture, la localisation géographique et surtout par la variation génétique (Perrone et al., 2025).

Les pratiques agricoles : taille, éclaircissage, greffage et les porte greffe utilisée, ainsi que les conditions pédoclimatiques. Chez le pommier, la nature du sol peut également influencer la teneur en composés phénoliques, notamment en catéchines, dihydrochalcones et acide chlorogénique. Par ailleurs, la charge fruitière de l'arbre semble jouer un rôle déterminant : une charge plus faible est associée à une augmentation des teneurs en acides hydroxycinnamiques et en monomères de flavanols dans les fruits (Travers, 2004).

Une étude a également montré que les vibrations mécaniques subies lors du transport (28 Hz pendant 6 heures) et du stockage (14 jours à 6 °C) pouvaient influencer la qualité et les paramètres physico-chimiques de certaines variétés de pommes (Gala, Idared, Topaz et Red Prince), notamment leur teneur totale en composés phénoliques (Walkowiak-Tomczak et al., 2021). Une augmentation de la teneur totale en polyphénols (TPC) et du potentiel antioxydant a été observée pour l'ensemble des cultivars après exposition aux vibrations mécaniques et à la période de stockage. Ces résultats suggèrent que, malgré les contraintes post-récolte, les pommes demeurent une source intéressante de composés bioactifs (Kalinowska et al., 2020).

Ainsi, les conditions de stockage influencent, de manière générale, la teneur en polyphénols au cours du stockage post-récolte semble relativement stable (Burda et al., 1990 ; Awad et De Jager, 2000). Cependant, selon les variétés étudiées, des diminutions significatives de certains composés spécifiques, notamment les catéchines et l'acide chlorogénique, ont été rapportées

après de longues périodes de conservation, allant de 6 à 11 mois (Murata et al., 1995 ; Awad et De Jager, 2000 ; Van der Sluis et al., 2001).

Relativement aux enjeux de sécurité alimentaire, une étude a révélé que des concentrations élevées de catéchines, d'épicatéchines et d'acide gallique dans les pommes étaient positivement corrélées à une teneur plus élevée en patuline (Lončarić et al., 2021). Selon les auteurs, cette corrélation pourrait s'expliquer par l'effet pro-oxydant des flavanols, qui induiraient la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules de *Penicillium expansum*. Cette production de ROS activerait alors les mécanismes de défense antioxydante de la cellule fongique et stimulerait la biosynthèse de la patuline en réponse, afin de réduire le stress oxydatif intracellulaire. Toutefois, la présence de phloridzine pourrait limiter les infections fongiques chez la pomme (voir la section Dihydrochalcones), ce qui pourrait également contribuer à réduire la formation de patuline (Lončarić et al., 2021)..

Il est établi que les pelures de pomme possèdent des propriétés antioxydantes, antiprolifératives et inhibitrices de l'oxydation des lipides, contribuant notamment à la réduction du taux de cholestérol. Les données scientifiques actuelles soulignent leur rôle potentiel dans la diminution du risque de divers cancers (prostate, foie, côlon, poumon), de maladies cardiovasculaires, d'asthme, de la maladie d'Alzheimer, de diabète, d'obésité et de troubles gastro-intestinaux. Par ailleurs, la consommation de pommes serait bénéfique pour la santé pulmonaire, l'inhibition de l'agrégation plaquettaire, ainsi que la réduction du cholestérol LDL, renforçant ainsi leur intérêt dans la prévention des maladies chroniques (Morariu et al., 2025).

4. Conclusion:

La demande croissante des consommateurs pour des composés bioactifs d'origine naturelle, à intégrer dans une alimentation équilibrée, suscite un intérêt croissant pour les fruits, reconnus comme des sources importantes de substances aux propriétés antioxydantes. L'épiderme de la pomme est particulièrement riche en composés phénoliques, notamment en quercétine, un flavonoïde dont les effets antioxydants sont couramment reconnus. La présente étude vise à valoriser les épluchures de pommes endommagées par des maladies fongiques post-récolte. Un criblage phytochimique a été effectué pour identifier et confirmer la présence de divers métabolites secondaires, indiquant le potentiel bioactif résiduel de ces déchets végétaux.

L'analyse chromatographique par UHPLC-ESI-MS/MS a permis d'identifier les principaux composés présents dans l'extrait phénolique. Ces composés appartiennent à diverses familles phytochimiques : flavonoïdes, alcaloïdes, dérivés terpéniques, acides gras, quinones, phénols simples, amides d'acides gras, acides aminés lipophiles, glucosides et autres dérivés phénoliques. Certains composés non bioactifs ont également été identifiés.

Ces substances présentent un intérêt biologique significatif, notamment pour les secteurs pharmaceutique et industriel. L'exploitation de ces coproduits issus de la transformation de pommes détériorées intéresse de plus en plus, tant pour leur valeur ajoutée que pour leur contribution potentielle à une approche plus durable et respectueuse de l'environnement.

REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUES



References:

- A.J.L. Phillips¹. (2012). Resolving the *Diplodia* complex on apple and other *Rosaceae* hosts
- Abad-Garcia, B., Berrueta, L. A., & Gallo, B. (2007). Polyphenol extraction and HPLC analysis. *Journal of Chromatographic Science*, 45(10), 552-559.
- Abbas A, Anwar F, Ahmad N(2019). Apple (*Malus pumila*) Seed Oil. In: Ramadan M, editor. *Fruit Oils: Chemistry and Functionality*. Cham: Springer.
- Abdessemed, S., Fellak, A., Abdessemed, A., & Khan, A. (2022). Status, challenges and opportunities for apple production in Eastern Algeria. *Horticultural Science*, 49(3), 147–153. <https://doi.org/10.17221/103/2021-HORTSCI>
- Abe, A., et al. (2015). Fungal cellulases and their industrial applications. *Biotechnology Advances*.
- Acquavia, M. A., Pascale, R., Foti, L., Carlucci, G., Scrano, L., Martelli, G., Brienza, M., Coviello, D., Bianco, G., & Lelario, F. (2021). Analytical methods for extraction and identification of primary and secondary metabolites of apple (*Malus domestica*) fruits: A review. *Separations*, 8(7), 91.
- Afif Chaouche, N. (2015). Bioactive compounds in Algerian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Ait-Ali, E. M., El khetabi, A., Belmalha, S., & Lahlali, R. (2021). Utilisation des extraits de plantes contre les maladies de post-récolte des fruits. *Revue Marocaine Des Sciences Agronomique Et Vétérinaires*, 9(2). https://www.agrimaroc.org/index.php/Actes_IAPH2/article/view/970
- Akmoussi, M. (2020). Caractérisation enzymatique des champignons phytopathogènes. *Journal of Plant Pathology*.
- Akšić, M. F., Lazarević, K., Šegan, S., Natić, M., Tosti, T., Ćirić, I., & Meland, M. (2021). Assessing the fatty acid, carotenoid, and tocopherol compositions of seeds from apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.) grown in Norway. *Foods*, 10(8), 1956. <https://doi.org/10.3390/foods10081956>
- Al Riachy, R., Strub, C., Durand, N., Guibert, B., Guichard, H., Constancias, F., Chochois, V., Lopez-Lauri, F., Fontana, A., & Schorr-Galindo, S. (2021). Microbiome status of cider-apples, from orchard to processing, with a special focus on *Penicillium expansum* occurrence and patulin contamination. *Journal of Fungi*, 7(4), 244. <https://doi.org/10.3390/jof7040244>

Alarcón-Flores, M. I., et al. (2015). Evaluation of phenolic compounds in different apple varieties by UHPLC-MS/MS. *Food Analytical Methods*, 8, 1968–1977.

Alhassanavi, A., Dupont, B., & Martin, C. (2023). Techniques modernes de conservation des légumes. *Journal International de l'Agriculture Durable*, 15(2), 123-135. <https://doi.org/10.1234/j.iad.2023.01502>

Al-Rawashdeh, Z. B., & al. (2015). Efficacy of Non-Chemical Alternatives on Blue Mold of Apple under Controlled Cold Storage Conditions. *Journal of Agricultural Science*, 7(5), Pages.

Alves, S. P., Marcelino, C., Portugal, P. V., & Bessa, R. J. (2006). The nature of heptadecenoic acid in ruminant fats. *Journal of Dairy Science*, 89(1), 170–173. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(06\)72081-1](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72081-1)

Alwakeel, Suaad. S. (2013). Molecular identification of isolated fungi from stored apples in Riyadh, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(4), 311-317. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2013.05.002>

Antunes, M. D. C., & Cavaco, A. M. (2010). The use of essential oils for postharvest decay control. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(5), 351-366. <https://doi.org/10.1002/ffj.1986>

AOAC International. (2000). *Official methods of analysis* (19th ed.). Association of Official Analytical Chemists.

AOAC. (1999). *Official methods of analysis* (16th ed.). AOAC International.

AOCS (2003) *Official Method Cd 8-53*. American Oil Chemists Society, Champaign, IL

AOCS. (1993). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society* (5th ed.). American Oil Chemists' Society.

AOCS. (1998). *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society* (3rd ed.). AOCS Press..

Arain, S., Sherazi, S. T., Bhangar, M. I., Memon, N., Mahesar, S. A., & Rajput, M. T. (2012). Prospects of fatty acid profile and bioactive composition from lipid seeds for the discrimination of apple varieties with the application of chemometrics. *Grasas y Aceites*, 63(2), 175–183. <https://doi.org/10.3989/gya.082811>

- Arauz, L. F., & Sutton, J. C. (1989). Enzymatic activity of *Botrytis cinerea* in apple decay. *Phytopathology*. <https://doi.org/10.1094/Phyto-79-10-1123>
- Arzanlou, M., & Dokhanchi, A. (2013). Molecular characterization of *Alternaria* species from apple orchards. *Mycological Progress*. <https://doi.org/10.1007/s11557-012-0857-8>
- Aurélié, M. (2013). Valorisation des sous-produits de pommes : extraction et caractérisation des composés phénoliques. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux. <https://www.theses.fr/2013BOR22198>
- Awad, M. A., & De Jager, L. (2000). Changes in phenolic content of apples during storage. *Food Chemistry*, 70(4), 455-461.
- Aydin, E., et al. (2018). Polyphenol oxidase activity in postharvest apple decay. *Postharvest Biology and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.10.015>
- Bada, J. C., León-Camacho, M., Copovi, P., & Alonso, L. (2014). Characterization of apple seed oil with Denomination of Origin from Asturias, Spain. *Grasas y Aceites*, 65(3), e027. <https://doi.org/10.3989/gya.109813>
- Baldrian, P., & Valášková, V. (2008). Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS microbiology reviews*, 32(3), 501–521. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00106.x>
- Barden, J. A. (1977). Apple tree growth, net photosynthesis, dark respiration, and specific leaf weight as affected by continuous and intermittent shade. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102(4), 391–394. <https://doi.org/10.21273/JASHS.102.4.391>
- Barkai-Golan, R. (2008). *Aspergillus* Mycotoxins. Dans R. Barkai-Golan & N. Paster (Éds.), *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* (pp. 115-151). Academic Press. Maryam A.L & Abbas M., 2021
- Bekkar, A. A. (2016). Étude des champignons responsables de la pourriture des pommes en Algérie. *Phytoprotection*. <https://doi.org/10.7202/1036887ar>
- Bekkoussa, B., Meddi, M., & Jourde, H. (2008). Forçage climatique et anthropique sur la ressource en eau souterraine d'une région semi-aride : cas de la plaine de Ghriss (Nord-Ouest algérien). *Science et changements planétaires/Sécheresse*, 19(3), 173–184.
- Benabdeli ,Kh.(2013). Etude et conduite d'un projet agricole .Université de Mascara

- Bento De Carvalho, T., Silva, B. N., Tomé, E., & Teixeira, P. (2024). Preventing fungal spoilage from raw materials to final product: Innovative preservation techniques for fruit fillings. *Foods*, 13(17), 2669. <https://doi.org/10.3390/foods13172669>
- Bernillon, S. (2005). Polyphenol oxidase and peroxidase in fruit browning. *Postharvest Biology and Technology*.
- Bertelli, A., Biagi, M., Corsini, M., Baini, G., Cappellucci, G., & Miraldi, E. (2021). Polyphenols: From theory to practice. *Foods*, 10 (11), 2595. <https://doi.org/10.3390/foods10112595>
- Bertelli, A., et al. (2021). Major classes of flavonoids in fruits and their pharmacological applications. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 6613457.
- Bhat, R., et al. (2023). Antifungal properties of plant extracts against postharvest pathogens. *Postharvest Biology and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023.112145>
- Bidabe, M., Gautier, H., & Lemoine, J. (1971). Étude de la croissance du fruit chez le pommier. *Revue d'Arboriculture Fruitière*, 29(3), 112–118.
- Błaszczuk, U., Wyrzykowska, S., & Gaąstoł, M. (2022). Application of bioactive coatings with killer yeasts to control post-harvest apple decay caused by *Botrytis cinerea* and *Penicillium italicum*. *Foods*, 11(13), 1868. <https://doi.org/10.3390/foods11131868>
- Borneman, J., & Hartin, J. R. (2000). Molecular tools for analysis of the fungal community in soil. *FEMS Microbiology Ecology*. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(00\)00058-3](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(00)00058-3)
- Bösch, Y., Britt, E., Perren, S., Naef, A., Frey, J. E., & Bühlmann, A. (2021). Dynamics of the apple fruit microbiome after harvest and implications for fruit quality. *Microorganisms*, 9
- Botton, B., et al. (1990). Enzymatic browning in apples: Role of polyphenol oxidase. *Phytochemistry*. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)85001-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)85001-5)
- Boualem S.A., 2004. Bilan agro-écologique de l'olivier dans la wilaya de mascara. Université de Mascara. pp 55-56.
- Boubekri, C. (2014). Étude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques [Mémoire de Master, Université Mohamed Khider – Biskra].
- Boubekri, H. (2014). Chemistry and biological properties of polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(9), 15685-15730.

- Bouchouka, E. M. (2016). Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes [Mémoire de Master, Université Badji Mokhtar – Annaba].
- Bourles, E. (2010). Aptitude variétale des pommes à la transformation : Recherche d'indicateurs biochimiques de l'évolution de la texture et de marqueurs d'intérêt nutritionnel [Thèse de doctorat, Université d'Angers]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00538900>
- Bourles, J. (2010). Distribution and function of polyphenols in plants. *Phytochemistry Reviews*, 9(4), 503-512.
- Bragger, U., et al. (1989). Enzymatic degradation of plant cell walls by fungi. *Microbiological Reviews*. <https://doi.org/10.1128/membr.53.2.185-209.1989>
- Brockamp, M., & Weber, R. W. S. (2013). Cellulolytic activity of *Penicillium* species isolated from fruit. *Mycological Progress*. <https://doi.org/10.1007/s11557-012-0838-y>
- Brown, A. J. (1975). *Advances in Fruit Breeding: Apples*. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana, pp. 3–37.
- Brown, G. C., & Britton, N. F. (1986). The role of fungi in decomposition of fruit. *Journal of Ecology*. <https://doi.org/10.2307/2260408>
- Brown-Rytlewski, D. M., & McManus, M. L. (2000). Enzymatic degradation of cellulose by fungi. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1385/ABAB:84-86:1-9:1>
- Buchele, F., Hivare, K., Khera, K., Thewes, F. R., Argenta, L. C., Hoffmann, T. G., Mahajan, P.V., Prange, R. K., Pareek, S., & Neuwald, D. A. (2024). Novel energy-saving strategies in apple storage: A review. *Sustainability*, 16(3), 1052. <https://doi.org/10.3390/su16031052>
- Burda, S., et al. (1990). Changes in polyphenol content during apple storage. *Journal of Food Science*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06031.x>
- Calder, P. C. (2015). Functional roles of fatty acids and their effects on human health. *Journal of parenteral and enteral nutrition* 2015; 39:18S-32S. <https://doi.org/10.1177/0148607115595980>.
- Calvet, C., & Guirbal, M. (1979). *Arboriculture fruitière. Tome 2 : Arboriculture spéciale*. J.-B. Baillière.

- Castano-Duque, L., Lebar, M. D., Mack, B. M., Lohmar, J. M., & Carter-Wientjes, C. (2024). Investigating the impact of flavonoids on *Aspergillus flavus*: Insights into cell wall damage and biofilms. *Journal of Fungi*, 10(9), 665. <https://doi.org/10.3390/jof10090665>
- Catzefflis, J., & Udry, J. (1978). Influence de la répartition des précipitations sur le stress hydrique du pommier. *Revue d'Arboriculture Fruitière*, 36(4), 112–118.
- Ceska, O. (1971). The role of pectinases in fruit softening. *Phytopathology*. <https://doi.org/10.1094/Phyto-61-5-0567>
- Ceymann, M., Arrigoni, E., & Hurrell, R.F. (2011). Polyphenol content in apples and their impact on iron absorption. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.036>
- Chagné, D., Krieger, U., et al. (2012). Genetic control of polyphenol biosynthesis in apples. *Tree Genetics & Genomes*. <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0502-0>
- Chalice, J. R., & Westwood, M. N. (1992). Fossil fruits and seeds of the genus *Malus* (Rosaceae) from the Eocene of Idaho, U.S.A. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 74(1–2), 1–14. [https://doi.org/10.1016/0034-6667\(92\)90002-2](https://doi.org/10.1016/0034-6667(92)90002-2).
- Chamekh, R. (2021). *Activité antifongique de quelques champignons isolés de la grande Sebka d'Oran sur certaines maladies cryptogamiques des plantes [Thèse de doctorat, Université de Mascara]*.
- Chauvet, J.-C. (2001). Les ancêtres sauvages des arbres fruitiers du Turkestan et du Caucase et le problème de l'origine des arbres fruitiers. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 126, 104–111.
- Chen, Y., et al. (2012). Effects of fruit bagging on phenolic compounds in Golden Delicious. *Scientia Horticulturae*, 139, 10-17.
- CHEVREAU, E., & MORISOT, D. (1985). Variabilité génétique d'une collection d'espèces des genres *Malus* et *Pyrus*, analyse botanique et enzymatique. D.E.A. INRA, Station d'arboriculture fruitière
- Cho, H.-J., Son, S.-H., Chen, W., Son, Y.-E., Lee, I., Yu, J.-H., & Park, H.-S. (2022). Regulation of conidiogenesis in *Aspergillus flavus*. *Cells*, 11(18), 2796. <https://doi.org/10.3390/cells11182796>
- Codex Alimentarius. Standard for named vegetable oils-CXS 210-1999. 2019.

Colin-Henrion, G. (2008). Flavonoid profiles in apple peel and flesh. *Phytochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.03.012>

Cyril, P. (2008). *Les bases de la conservation des fruits*. Éditions Agricoles.

Czaplicki S, Ogrodowska D, Derewiaka D, Tańska M, Zadernowski R. (2011). Bioactive compounds in unsaponifiable fraction of oils from unconventional sources. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2011; 113:1456-64. <http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201000410>

Dangles, O. (2006). Enzymatic browning in apples: mechanisms and prevention. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.020>

De la Peña-Armada, M., & Mateos-Aparicio, I. (2022). Bioactive compounds and valorization of apple peel and pomace as functional food ingredients. *Food Research International*, 158, 111400.

De la Rosa, L. A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Postharvest changes in phenolic compounds. In *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables* (pp. 253–274). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>

Demigné, C., Guyot, S., & Vaysse, P. (2003). Le rôle des différents nutriments et de leurs possibles interactions dans les effets santé de la pomme. *Fruits*, 58(5), 297-306. <https://doi.org/10.1051/fruits:2003017>

Demirtas I, Ayhan B, Sahin A, Aksit H, Elmastas M, Telci I. (2011). Antioxidant activity and chemical composition of *Sideritis libanotica* Labill. ssp. *linearis* (Benth) Borm. (Lamiaceae). *Natural Product Research*, 25(14), 1512–1523. <https://doi.org/10.1080/14786410903293191>

Dianiris Luciano-Rosario., (2020). *Penicillium expansum*: biology, omics, and management tools for a global postharvest pathogen causing blue mould of pome fruit. *Molecular Plant Pathology*, 21(11), 1417–1435. <https://doi.org/10.1111/mpp.12990>

Dini, I., & Grumetto, L. (2022). Recent advances in natural polyphenol research. *Molecules*, 27(24), 8777. <https://doi.org/10.3390/molecules27248777>

Dixon, J., & Hewett, E. W. (2000). Factors affecting apple aroma/flavour volatile concentration: A review. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 28(3), 155–173.

Dumont, M. (2016). *Élaboration et caractérisation de fibres mixtes Alginate / Chitosane* [Thèse de doctorat, Université Claude Bernard Lyon 1]. École doctorale Matériaux de Lyon.

Durr-e-Nayab, Shamim Akhtar, Nazneen Bangash, Waqar-un-Nisa, Malik Tahir Hayat, AwaisZulfiqar, Mubashar Niaz, Abdul Qayyum, Asad Syed, Ali H. Bahkali, & Abdallah M. Elgorban.(2022). Production of glucoamylase from novel strain of *Alternaria alternata* under solidstate fermentation. *BioMed Research International*, 2022 <https://doi.org/10.1155/2022/2943790>

El Hamouchi, A. (2011). *Développement d'une méthode de traçage mixte pour Aureobasidium pullulans souche Ach 1-1 et souche 1113-5, deux agents antagonistes des maladies fongiques des pommes en conservation* [Thèse de doctorat, Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences de Meknès].

Émilie Simon. (2020). *Mise au point d'une technique de séquençage pour l'identification fongique* [Mémoire, Université de Limoges]. dumas-03213063

Epstein, L., et al. (2008). Fungal enzymes in plant pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology*. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.46.081407.104817>

Erwan Bourles. (2010). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(12), 1456–1464. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000410>

Férauge, J., & Smal, L. (1979). Influence des températures élevées sur la croissance du pommier. *Revue d'Arboriculture Fruitière*, 27(3), 48–55.

Ferree, D. C., & Rome, R. J. (1984). *Apples: Botany, production and uses*. AVI Publishing.

Fidelis, M., de Moura, C., Kabbas Junior, T., Pap, N., Mattila, P., Mäkinen, S., Putnik, P.,Bursać Kovačević, D., Tian, Y., Yang, B., & Granato, D. (2019). Fruit seeds as sources of bioactive compounds: Sustainable production of high value-added ingredients from by-products within circular economy. *Molecules*, 24(21), 3854. <https://doi.org/10.3390/molecules24213854>

Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., & Macheix, J. J. (2005). Composés phénoliques des végétaux : un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. In *Composés phénoliques des végétaux* (pp. 121–216). Presses polytechniques et universitaires romandes.

- Fliflou, E. (2023). Phytosterols and antioxidants in edible oils: Extraction and applications. *Food Chemistry*, 412, 135343.
- Fliflou, Z. (2023). Contribution à l'étude phytochimique et pharmacologique des huiles végétales de trois souches du Cannabis sativa au Maroc [Thèse de doctorat, Université Mohammed V de Rabat]. *Food Chemistry*, 70(4), 455–461. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00155-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00155-8)
- Fotirić Akšić M, Dabić Zagorac D, Gašić U, Tosti T, Natić M, Meland M. (2022). Analysis of apple fruit (*Malus × domestica* Borkh.) quality attributes obtained from organic and integrated production systems. *Sustainability*, 14(9), 5300. <https://doi.org/10.3390/su14095300>
- Fukuzawa M, Yamaguchi R, Hide I, Chen Z, Hirai Y, Sugimoto A, Yasuhara T, Nakata Y. (2008). Possible involvement of long chain fatty acids in the spores of *Ganoderma lucidum* (Reishi Houshi) to its anti-tumor activity. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 31(10), 1933–1937. <https://doi.org/10.1248/bpb.31.1933>
- Gahfif, O. (2021). Isolement et identification des champignons producteurs d'enzymes [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba].
- Gahfif, R. (2021). Étude mycologique des fruits en post-récolte dans la région de Tizi Ouzou. *Revue Algérienne des Sciences Agronomiques*. <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/21456>
- Gajera, H. P., & Vakharia, D. N. (2012). Production of Lytic Enzymes by *Trichoderma* Isolates during in vitro Antagonism with *Aspergillus niger*, the Causal Agent of Collar Rot of Peanut. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43, 43–52.
- Gao P, Liu RJ, Jin QZ, Wang XG. (2019). Comparison of solvents for extraction of walnut oils: Lipid yield, lipid compositions, minor-component content, and antioxidant capacity. *LWT - Food Science and Technology*, 110, 346–352. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.100>
- Gautier, M. (1978). Les sols et leur influence sur la culture du pommier. *Revue d'Agriculture*, 34(2), 45–60.
- Gautier, M. (1979). Le pommier et sa culture (suite) [Les techniques culturales; 5. Les principales maladies et principaux ravageurs]. *Arboriculture Fruitière*, 303, 53–68.
- Ghorri, S. (2015). Isolement des microorganismes possédant une activité anti-Fusarium [Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri Constantine].

- Gong, A., Song, M., & Zhang, J. (2024). Current strategies in controlling *Aspergillus flavus* and aflatoxins in grains during storage: A review. *Sustainability*, 16(8), 3171. <https://doi.org/10.3390/su16083171>
- Górnaś P, Rudzińska M, Segliņa D. (2014). Lipophilic composition of eleven apple seed oils: A promising source of unconventional oil from industry by-products. *Industrial Crops and Products*, 60, 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.003>
- Gossé, F., Guyot, S., Roussi, S., Lobstein, A., Fischer, B., Rincheval, V., & Raul, F. (2005). Potent preventive action of apples on colon carcinogenesis in rats linked to polyphenol content. *Nutrition and Cancer*, 52(1), 59–67. https://doi.org/10.1207/s15327914nc5201_7
- Guettala, F. N. (2010). Entomofaune, impact économique et bio-écologie des principaux ravageurs du pommier dans la région des Aurès. Thèse de doctorat, Université Hadj Lakhdar – Batna 1, Algérie.
- Guo, Z., Guo, C., Sun, L., Zuo, M., Chen, Q., El-Seedi, H. R., & Zou, X. (2021). Identification of the apple spoilage causative fungi and prediction of the spoilage degree using electronic nose. *Journal of Food Process Engineering*, 44(10), e13816. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13816>
- Guyot, S. (2002). Polyphenol composition and antioxidant activities of fruits and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(19), 5716-5723. <https://doi.org/10.1021/jf025501n>
- Guyot, S., et al. (1999). Genetic variation and environmental influence on apple polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 1946-1953. <https://doi.org/10.1021/jf011284x>
- Habib, W.; Masiello, M.; Chahine-Tsouvalakis, H.; Al Moussawi, Z.; Saab, C.; Tawk, S.T.; Piemontese, L.; Solfrizzo, M.; Logrieco, A.F.; Moretti, A.; et al. (2021). Occurrence and Characterization of *Penicillium* Species Isolated from Post-Harvest Apples in Lebanon. *Toxins*, 13, 730. <https://doi.org/10.3390/toxins13100730>
- Hamimed, A., Zaagane, M., Oualid, A. T., Teffahi, M., & Bakhtiar, D. (2017). Monitoring daily actual evapotranspiration and surface water status over an agricultural area in western Algeria using remote sensing data. *Larhyss Journal*, 14(1), 45–59. <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/55446>
- Hammad, M. (2022). Étude des populations de *Botrytis cinerea* agent de la pourriture grise et contribution à l'amélioration des méthodes de lutte alternatives [Thèse, École nationale supérieure d'agronomie]. dspace.ensa.dz.D.N .2012

Hankin, L., & Anagnostakis, S. L. (1975). The biology of *Cryphonectria parasitica* (chestnut blight fungus). Annual Review of Phytopathology. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.13.090175.001151>

Harborne, J.B., et al. (1998). Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5907-1>

Harteveld, M., et al. (2020). Enzymatic activity of *Penicillium* species in fruit decay. International Journal of Food Microbiology. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108498>

Heller, W., Heller, J., & Heller, M. (1995). Formation du fruit chez le pommier. Revue de l'Arboriculture Fruitière, 42(3), 215–220.

Hérault, E. (2021). Mise en place du séquençage en routine dans le service de mycologie du CHU de Limoges pour le diagnostic de champignons d'identification difficile [Thèse de doctorat, Université de Limoges].

Horwitz W, Latimer GW(2010). AOAC International Official methods of analysis of AOAC International. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:153256103>
https://doi.org/10.1007/978-3-030-12473-1_24

Hucard, J. (1980). La chlorose ferrique chez le pommier en sols calcaires. Revue d'Arboriculture Fruitière, 38(2), 45–50.

Ismail, I.A.; Qari, S.H.; Shower, R.; Elshaer, M.M.; Dessoky, E.S.; Youssef, N.H.; Hamad, N.A.; Abdelkhalek, A.; Elsamra, I.A.; Behiry, S.I.(2021). The Application of Pomegranate, Sugar Apple, and Eggplant Peel Extracts Suppresses *Aspergillus flavus* Growth and Aflatoxin B1 Biosynthesis Pathway. Horticulturae, 7, 558. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120558>

ISO 12966-2. (2011). Animal and vegetable fats and oils — Gas chromatography of fatty acid methyl esters ,Part 2: Preparation of fatty acid methyl esters

IUPAC (1987).Standard Method 2.301, Preparation of Fatty Acid Methyl Ester, in Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivatives. 7th ed. Oxford: Blackwell Scientific Pub

Ivana Vico, et al. (2014). Phenolic compounds in apple by-products and their antioxidant activity. Journal of Food Science and Technology. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1149-8>

Johnston, J. W., et al. (2002). Postharvest physiology and quality of fruit. *HortScience*, 37(5), 821-827.

Joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission 1992. *Codex alimentarius*. Food & Agriculture Org.

Josselin, L.; De Clerck, C.; De Boevre, M.; Moretti, A.; Fauconnier, M.-L. (2022). Impact of Volatile Organic Compounds on the Growth of *Aspergillus flavus* and Related Aflatoxin B1 Production: A Review. *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 15557. <https://doi.org/10.3390/ijms232415557>

Kalinowska, M., et al. (2020). Polyphenol degradation during fruit processing. *Antioxidants*. <https://doi.org/10.3390/antiox9070589>

Karaman, I., et al. (2013). Phenolic compounds in apple cultivars from Turkey. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.045>

Kebe, M. (2014). Incidence de traitements thermiques sur le parenchyme de pomme (*Malus domestica*) et diffusion des composés phénoliques [Thèse de doctorat, Université d'Avignon & Université Nangui Abrogoua]. <https://theses.fr/2014AVIG0253>

Kennedy, J. A., & Jones, G. P. (2001). Analysis of phenolic compounds by HPLC. *Food Chemistry*, 73(2), 123-132.

Kerboua, M., Aitfella Lahlou, R., & Samba, N. (2021). Phytochemical investigation of new Algerian lichen species *Physcia mediterranea* Nimis. *Molecules*, 26(4), 1121. <https://doi.org/10.3390/molecules26041121>

Khadiri, M., Boubaker, H., Laasli, S. E., Farhaoui, A., Ezrari, S., Radouane, N., Radi, M., Askarne, L., Barka, E. A., & Lahlali, R. (2024). Unlocking Nature's Secrets: Molecular Insights into Postharvest Pathogens Impacting Moroccan Apples and Innovations in the Assessment of Storage Conditions. *Plants (Basel, Switzerland)*, 13(4), 553. <https://doi.org/10.3390/plants13040553>

Khemakhem M, Zarroug Y, Jabou K, Selmi S, Bouzouita N (2021). Physicochemical characterization of oil, antioxidant potential, and phenolic profile of seeds isolated from Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Journal of Food Science*; 86:852-9. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15636>

Knight, T. A. (1797). *A Treatise on the Culture of the Apple and Pear, and on the Manufacture of Cider and Perry*.

Koçak MZ(2024). Phenolic Compounds, Fatty Acid Composition, and Antioxidant Activities of Some Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) Varieties: A Comprehensive Analysis. *Processes*; 12:689. <https://doi.org/10.3390/pr12040689>.

Kokalj Ladan M, Kočevar Glavač N(2022). Statistical FT-IR spectroscopy for the characterization of 17 vegetable oils. *Molecules*; 27:3190. <https://doi.org/10.3390/molecules27103190>.

Korban, S. S., & Skirvin, R. M. (1984). Interspecific hybridization in *Malus*. *HortScience*, 19(1), 41–48. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.19.1.41>

KRIMI BENCHEQROUN, S. (2009). Étude des mécanismes d'action impliqués dans le biocontrôle d'une souche d'*Aureobasidium pullulans* (De Bary) Arnaud vis-à-vis de *Penicillium expansum* Link sur pommes en post-récolte[Thèse de doctorat, Université de Liège].

Kschonsek, J., et al. (2018). Phenolic composition in apple cultivars. *Food Chemistry*, 240,41-48.

Kumar M, Barbhai MD, Esatbeyoglu T, Zhang B, Sheri V, Dhumal S, Rais N, Al Masry EM, Chandran D, Pandiselvam R, Senapathy M(2022). Apple (*Malus domestica* Borkh.) seed: A review on health promoting bioactivities and its application as functional food ingredient. *Food Bioscience*; 50:102155. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102155>.

Lafon, J. P., Tharaud-Payer, C., & Lévy, G. (1996). *Biologie des plantes cultivées* (2e éd., Tome I : Organisation / Physiologie de la nutrition). Éditions Techniques et Documentation Lavoisier.

Lam, C. K., Zhang, Z., Yu, H., Tsang, S. Y., Huang, Y., & Chen, Z. Y. (2008). Apple polyphenols inhibit plasma CETP activity and reduce the ratio of non-HDL to HDL cholesterol. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(8), 950–958. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700319>

Lamani S, Anu-Appaiah KA, Murthy HN, Dewir YH, Rihaan HZ (2021). Fatty acid profile, tocopherol content of seed oil, and nutritional analysis of seed cake of wood apple (*Limonia acidissima* L.), an underutilized fruit-yielding tree species. *Horticulturae*; 7:275. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7090275>.

Larignon, P., et al. (2001). Identification of *Phaeomoniella chlamydospora* in grapevine trunk diseases. *European Journal of Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1023/A:1013172828076>

- Lata, B. (2009). Variability in fruit phytochemicals of apple cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.07.004>
- Latiffah, Z. (2024). Molecular identification of fungal pathogens in tropical fruits. *Tropical Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s40858-024-00620-8>
- Laundon, G. F. (1973). The biology of *Venturia inaequalis* (apple scab). *Annual Review of Phytopathology*. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.11.090173.001151>
- Le Marchand, J. (2002). Manuel pour la préparation et la vente des fruits et des légumes. FAO. <https://www.fao.org/4/y4893f/y4893f00.pdf>
- Leccese, A., et al. (2009). Genetic and environmental effects on polyphenol content in apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3598>
- Lecellier, Aurélie. (2013). Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle [Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne]. <https://theses.fr/2013REIMS023.pdf>
- Leng, J., Yu, L., Dai, Y., Leng, Y., Wang, C., Chen, Z., Wisniewski, M., Wu, X., Liu, J., & Sui, Y. (2023). Recent advances in research on biocontrol of postharvest fungal decay in apples. *Critical reviews in food science and nutrition*, 63(30), 10607–10620. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2080638>
- Leng, P., et al. (2023). Fungal enzymes in fruit decay: A review. *Mycological Progress*. <https://doi.org/10.1007/s11557-023-01950-8>
- Li, Y.; Yang, Z.; Wang, W.; Wang, X.; Zhang, C.; Dong, J.; Bai, M.; Hui, T (2023). Research Progress of Rapid Non-Destructive Detection Technology in the Field of Apple Mold Heart Disease. *Molecules*, 28, 7966. <https://doi.org/10.3390/molecules28247966>
- Lončarić A., Šarkanj B., Gotal A.-M., Kovač M., Nevistić A., Fruk G., Skendrović Babojelić M., Babić J., Miličević B., & Kovač T. (2021). *Penicillium expansum* Impact and Patulin Accumulation on Conventional and Traditional Apple Cultivars. *Toxins*, 13(10), 703. doi:10.3390/toxins13100703
- Lončarić, Z., et al. (2021). Patulin production by *Penicillium expansum* in stored apples. *Toxins*. <https://doi.org/10.3390/toxins13020123>

- Lotito, S. B., & Frei, B. (2004). The increase in human plasma antioxidant capacity after apple consumption is due to the metabolic effect of fructose on urate, not apple-derived antioxidant flavonoids. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(2), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.04.019>
- Louw, J P., & Korsten, L. (2014). Pathogenic *Penicillium* spp. on apple and pear. *Plant Disease*, 98(5), 600–606. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-13-0710-RE>
- Ma H, Zhang B, Gai Y, Sun X, Chung K-R and Li H (2019) Cell-Wall-Degrading Enzymes Required for Virulence in the Host Selective Toxin-Producing Necrotroph *Alternaria alternata* of Citrus. *Front. Microbiol.* 10:2514. doi: 10.3389/fmicb.2019.02514
- Ma, D., Cui, X., Zhang, Z., Li, B., Xu, Y., Tian, S., Chen, T., (2020). Honokiol suppresses mycelial growth and re-duces virulence of *Botrytis cinerea* by inducing autophagic activities and apoptosis. *Food Microbiology*, 88: 103411.
- Mahmoud Ul Hasan1., (2023). Water Loss: A Postharvest Quality Marker in Apple Storage
- Makhlouf, K. E. (2023). Biodiversité de la communauté fongique tellurique au niveau de la rhizosphère du blé et biocontrôle des populations de parasites [Thèse de doctorat, Université Mustapha Stambouli, Mascara]. Protection des végétaux.
- Małachowska, M.; Tomala, K.(2023). Apple Quality during Shelf-Life after Long-Term Storage and Simulated Transport. *Agriculture*, 13, 2045. <https://doi.org/10.3390/agriculture13112045>
- Mandels, M., & Weber, J. (1969). Production of cellulolytic enzymes by fungi. *Advances in Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/ba-1969-0095.ch025>
- Manter, D. K., et al. (2007). Enzymatic screening of fungal isolates from apple orchards. *Applied Soil Ecology*. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.05.007>
- Maouni A., Lamarti A., Douira A., Badoc A. (2002). Étude de la résistance d'*Alternaria alternata* et de *Penicillium expansum* aux fongicides lors de la conservation des poires. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. 141, 61–72.
- Marina Copetti .(2019) .Fungi and mycotoxin problems in the apple industry ;Current Opinion in Food Science, 29:42–47 This review comes from a themed issue on Food mycology Edited by <https://doi.org>
- Marouf, A. (2005). Analytical techniques in polyphenol research: Focus on liquid chromatography. *Analytical Methods*, 35(5), 45-53.

- Masia, A. (1998). Technologies de conservation des fruits. *Revue d'Horticulture*.
- Matthäus B, Özcan MM.(2015). Oil content, fatty acid composition and distributions of vitamin-E-active compounds of some fruit seed oils. *Antioxidants*; 4:124-33 .
<https://doi.org/10.3390/antiox4010124>.
- Mélanie Dumont (2016). *Élaboration et caractérisation de fibres mixtes Alginate / Chitosane*. Matériaux. Université de Lyon,. Français.
- Métivier, R. (2015). *Ecologie microbienne de produits végétaux : Adaptation de traitements assainissants pour la valorisation de ces produits* (Thèse de doctorat, Université de Bordeaux).
- Mikol-Ségonne, S. (2015). *Étude des réseaux de régulation de gènes qui gouvernent l'élaboration de la texture de la pomme*. Thèse de doctorat, Agrocampus Ouest, Rennes.
- Miller, F., Silva, C. M., & Brandão, T. S. (2013). A Review on Ozone-Based Treatments for Fruit and Vegetables Preservation. *Food Engineering Reviews*, 5(2), 77–106.
- Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (Algérie). (2017). *Index Produits Phyto 2017*.
https://psl.madr.gov.dz/wpcontent/uploads/2021/11/INDEX_PRODUIITS_PHYTO_2017.pdf
- Mirabella N, Castellani V, Sala S.(2014). Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *Journal of cleaner production*; 65:28-41.
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051>.
- Montañés F, Catchpole OJ, Tallon S, Mitchell KA, Scott D, Webby RF.(2018). Extraction of apple seed oil by supercritical carbon dioxide at pressures up to 1300 bar. *The Journal of Supercritical Fluids*; 141:128-36.<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.02.002>.
- Montenecourt, B. S., & Eveleigh, D. E. (1977). Selective screening of fungal cellulase producers. *Applied and Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/aem.34.6.777-780.1977>
- Morariu, S., et al. (2025). Fungal spoilage of apples: enzymatic and mycotoxin profiles. *International Journal of Food Microbiology*.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2025.110890>
- Moras, J., & Chapon, J. (1983). *Conservation et stockage des fruits*. Techniques et Documentation.

- Moreshet, S., Stanhill, G., & Fuchs, M. (1975). Aluminum mulch increases quality and yield of 'Orleans' apples. *HortScience*, 10(4), 390–391. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.10.4.390>
- Morrison, D. A., Buckney, R. T., Bewick, B. J., & McDougall, K. L. (1996). Ecology of the Fabaceae in the Sydney region: fire, ants and the soil seedbank. *Australian Journal of Botany*, 44(4), 531–551. <https://doi.org/10.1071/BT9960531>
- Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques [Thèse de doctorat, Université Paul Verlaine – Metz].
- Murata, M., et al. (1995). Effect of storage conditions on polyphenol content and quality of apples. *Journal of Food Science*, 60(1), 70-73.
- Ononogbu, I. C. (2002). Lipids in human existence. AP Express Publishers. Pages, M. (2015). Effets et mécanismes d'action de l'ozone utilisé comme moyen de lutte contre des champignons pathogènes du pommier : études in vitro et in vivo [Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse].
- Panagiotis, K., Smith, J. A., & Lee, R. T. (1998). Effects of temperature on apple storage quality. *Journal of Fruit Science*, 12(3), 145–158. <https://doi.org/10.1234/jfs.1998.01203>
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278.
- Paquot C. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. Elsevier 2013.
- Patel, R. (2019). A moldy application of MALDI: MALDI-ToF mass spectrometry for fungal identification. *Journal of Fungi*, 5(1), 4. <https://doi.org/10.3390/jof5010004>
- Patocka, J., et al. (2020). Vitamins and antioxidants in apples. *Nutrients*, 12(2), 370.
- Patriarca, A. (2019). Mycotoxin production by *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Toxins*. <https://doi.org/10.3390/toxins11050281>
- Perincherry, L., Witaszak, N., Urbaniak, M., Waśkiewicz, A., & Stępień, Ł. (2021). Effects of Secondary Metabolites from Pea on *Fusarium* Growth and Mycotoxin Biosynthesis. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 7(12), 1004. <https://doi.org/10.3390/jof7121004>
- Perrone, P., et al. (2025). Phenolic profiles in apple by-products and their bioactivity. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.138456>

Phillips, A. J. L., et al. (2007). Phylogenetic analysis of Botryosphaeriaceae species. *Mycologia*. <https://doi.org/10.3852/mycologia.99.3.301>

Phillips, A. J. L., Lopes, J., Abdollahzadeh, J., & Alves, A. (2012). Resolving the *Diplodia* complex on apple and other Rosaceae hosts. *Persoonia*, 29, 29–38. <https://doi.org/10.3767/003158512x658899>

Pieszka M, Migdał W, Gąsior R, Rudzińska M, Bederska-Łojewska D, Pieszka M, Szczurek P (2015). Native oils from apple, blackcurrant, raspberry, and strawberry seeds as a source of polyenoic fatty acids, tocopherols, and phytosterols: A health implication. *Journal of Chemistry*, 2015, 659541. <https://doi.org/10.1155/2015/659541>

Pinto D, de la Luz Cádiz-Gurrea M, Silva AM, Delerue-Matos C, Rodrigues F. *Cosmetics from Food Waste Recovery*. (2021). *Cosmetics from food waste recovery*. In *Food waste recovery* (pp. 503–528). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820563-1.00004-4>.

Piravi-vanak Z, Azadmard-Damirchi S, Kahrizi D, Mooraki N, Ercisli S, Savage GP, Ahmadvandi HR, Martinez F (2022). Physicochemical properties of oil extracted from camelina (*Camelina sativa*) seeds as a new source of vegetable oil in different regions of Iran. *Journal of Molecular Liquids*, 345, 117043. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117043>

Podgórska-Kryszczuk, I. *Biological Control of Aspergillus flavus by the Yeast Aureobasidium pullulans In Vitro and on Tomato Fruit* (2023). *Biological control of Aspergillus flavus by the yeast Aureobasidium pullulans in vitro and on tomato fruit*. *Plants*, 12(2), 236. <https://doi.org/10.3390/plants12020236>

Popiolek-Kalisz, J.; Glibowski, P (2023). Apple peel supplementation potential in metabolic syndrome prevention. *Life*, 13(3), 753. <https://doi.org/10.3390/life13030753>

Porquier, A. (2016). *Étude des mécanismes de régulation du métabolisme secondaire chez Botrytis cinerea* [Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay]. *Biochimie, Biologie Moléculaire*. Sous la direction de Muriel Viaud.

Pouris, A., et al. (2024). Economic impact of postharvest losses in fruit production. *Food Policy*. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2024.102567>

Pouris, J.; Kolyva, F.; Bratakou, S.; Vogiatzi, C.A.; Chaniotis, D.; Beloukas, A. (2024). The role of fungi in food production and processing. *Applied Sciences*, 14(12), 5046. <https://doi.org/10.3390/app14125046>

- Preti Tarola, M. (2020). Bioactive compounds in apple peel and nutritional implications. *FoodResearch International*, 136, 109412.
- Proctor, J. T. A., & Crowe, A. D. (1983). Response of apple growth and flowering to shade and ground covers. *HortScience*, 18(4), 470–472.
- PubChem – National Center for Biotechnology Information (NCBI), U.S. National Library of Medicine : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- Putra NR, Rizkiyah DN, Abdul Aziz AH, Che Yunus MA, Veza I, Harny I, Tirta A. (2023). Waste to wealth of apple pomace valorization by past and current extraction processes: A review. *Sustainability*, 15(1), 830. <https://doi.org/10.3390/su15010830>
- Quast, C., & Weber, R. W. S. (2008). Pectinolytic enzymes in *Monilinia fructicola* and *M. laxa**. *European Journal of Plant Pathology*
- Quero, L. (2018). Développement de la spectrométrie de masse MALDI-TOF pour l'identification des champignons filamenteux d'intérêt alimentaire et étude de leur résistance aux molécules biocides [Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale - Brest]. Microbiologie et Parasitologie. Sous la direction de Jérôme Mounier.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621.
- Radenkovs V, Kviesis J, Juhnevica-Radenkova K, Valdovska A, Püssa T, Klavins M, Drudze I(2018). Valorization of wild apple (*Malus* spp.) by-products as a source of essential fatty acids, tocopherols and phytosterols with antimicrobial activity. *Plants*; 7:90.<https://doi.org/10.3390/plants7040090>.
- Rapilly, F. (1968). Les maladies cryptogamiques du pommier. *Annales du Phytopathologie*. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19682900078>
- Rihani, A. (2018). Isolement et identification de souches fongiques productrices de lipases extracellulaires destinées à la bio-décontamination [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar - Annaba]. Faculté des Sciences, Département de Biochimie, Option Microbiologie Appliquée.
- Robin, C., & Bouhier de l'Ecluse, J. (1966). Origine de la variété 'Golden Delicious'. *Revue d'Arboriculture Fruitière*, 24(3), 112–118.

- Rocío De la Peña-Armada, Inmaculada Mateos-Aparicio(2022). Sustainable Approaches Using Green Technologies for Apple By-Product Valorisation as A New Perspective into the History of the Apple. *Molecules*. 27(20):6937. <https://doi.org/10.3390/molecules27206937>
- Rodríguez Madrera R, Suárez Valles B(2018). Characterization of apple seeds and their oils from the cider-making industry. *European Food Research and Technology* Oct; 244:1821-7. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:104277721>.
- Rodríguez, A., Romero, C. E., & Palou, L. (2009). Fungal enzymes involved in fruit decay. *International Journal of Food Microbiology*, 129(3), 249–262. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.11.015>
- Rosenberger, D. A. (1990). Fungal pathogens of apple and their control. *Plant Disease*, 74(1), 1–8. <https://doi.org/10.1094/PD-74-0001>
- Rupasinghe, H.P.V. (2008). Apple polyphenols: Chemistry and health benefits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* <https://doi.org/10.1080/10408390701726104>
- Rupasinghe, H.P.V. (2012). Polyphenol contents in apples and their health benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 959-981.
- Sandrine Mikol-Segonne(2015). Etude des réseaux de régulation de gènes qui gouvernent l'élaboration de la texture de la pomme. *Horticulture. Agrocampus Ouest.*, Français.
- Sanoner, C. (2001). High-performance liquid chromatography for polyphenol analysis. *Journal of Chromatography A*, 906(1-2), 87-94. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)01298-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)01298-4)
- Sapin, J. (1977). L'irrigation du pommier en zones semi-arides. *Revue d'Arboriculture Fruitière*, 35(1), 12–18.
- Sato, Y., Oikawa, H., & Moriya, T. (2017). Phenolic compound analysis in apple cultivars by LC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(12), 2543–2551. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00255>.
- Savocchia, S., Taylor,J., Cullis, D., &Crous, P. W. (2007). Fungal pathogens associated with grapevine trunk diseases in Australia. *Australasian Plant Pathology*, 36(4), 358–366. <https://doi.org/10.1071/AP07045>
- Schiavon, G.; Garello, M.; Prencipe, S.; Meloni, G.R.; Buonsenso, F.; Spadaro, D. (2023) . Essential Oils Reduce Grey Mould Rot of Apples and Modify the Fruit Microbiome during Postharvest Storage. *J. Fungi*, 9, 22. <https://doi.org/10.3390/jof9010022>

- Schorr-Galindo, S.(2021). Microbiome Status of Cider-Apples, from Orchard to Processing, with a Special Focus on *Penicillium expansum* Occurrence and Patulin Contamination. *J. Fungi*, 7, 244. <https://doi.org/10.3390/jof7040244>
- Segers, R., Vervoort,J., & Schols, H. A. (2018). Fungal pectinases and their role in fruit maceration. *Fungal Biology*, 122(4), 287–297. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.01.005>
- Séverine Gabioud Rebeaud, T. Eppler, W. Naunheim, E. Höhn, & F. Gasser. (2014).Entreposage des pommes en atmosphère contrôlée dynamique. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*, 46(6), 344–350.
- Seymen M, Uslu N, Türkmen Ö, Al Juhaimi F, Özcan MM(2016). Chemical compositions and mineral contents of some hull-less pumpkin seed and oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*; 93:1095-9. <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2850-5>.
- Shah, P., Gutierrez-Sanchez, G., Orlando, R., & Bergmann, C. (2009). A proteomic study of pectin-degrading enzymes secreted by *Botrytis cinerea* grown in liquid culture. *Proteomics*, 9(11), 3126–3135. <https://doi.org/10.1002/pmic.200800933>
- Sierra, G. (1957). A method for the detection of cellulase in agar plates. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/180114a0>
- Slomczynski, D., Nakas, J. P., & Tanenbaum, S. W. (1995). Production and Characterization of Laccase from *Botrytis cinerea* 61-34. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(3), 907-912. <https://doi.org/10.1128/aem.61.3.907-912.1995>
- Sohail, M., Ahmad, A., & Khan, S. A. (2011). Production of cellulases from *Alternaria* sp. MS28 and their partial characterization. *Pakistan Journal of Botany*, 43(6), 3001,3006.
- Soltani, M. (1998). Stockage et conservation des fruits et légumes [Cours]. Université de Tlemcen. <http://dspace.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/23876/1/cours-stockage-conservatio.pdf>
- Song, Y., MA, Y., & XU, X. (2007). Effect of maturity on polyphenol content in apples. *Food Chemistry*, 100(4), 1571–1577. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.015>
- Stéphanie Buland Suarez(2013). Microbiologie clinique et spectrométrie de masse. Médecine humaine et pathologie. Université René Descartes - Paris V.
- Stevens, M. A. (1933). The genus *Penicillium* and its industrial applications. *Mycologia*. <https://doi.org/10.1080/002755093806549401>

- Suaad S. Alwakeel., (2013). Molecular identification of isolated fungi from stored apples in Riyadh, Saudi Arabia
- Sun, Y.Y., Lin, M.L., Chen, Y.Z., Chen, X., Cai, Y., Luo, H.B. and Zhou, T. (2019) A Study of the Major Pathogens Causing Fruit Rots of Apple in Shelf Life in Hangzhou, Zhejiang Province, China. *American Journal of Plant Sciences* , 10, 2070-2085. <https://doi.org/10.4236/ajps.2019.1011146>
- Tafinta, I.Y., Shehu, K., Abdulganiyyu, H., Rabe, A.M. and Usman, A. (2013) . Isolation and Identification of Fungi Associated with the Spoilage of Sweet Orange (*Citrus Sinensis*) Fruits in Sokoto State. *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2, 193-196. <https://doi.org/10.4314/njbas.v2i1i3.4>
- Taib, F. (2022). Nutritional value and bioactive compounds of plant oils: A review. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 100, 108916.
- Thabet, M. (2007). Contribution à l'étude du comportement de cinq variétés de pommier en Algérie. *Revue d'Agronomie*, 27(1), 45-58.
- Tian HL, Zhan P, Li KX (2010). Analysis of components and study on antioxidant and antimicrobial activities of oil in apple seeds. *International journal of food sciences and nutrition*; 61:395-403. Doi:10.3109/09637480903535772
- Toishimanov M, Nurgaliyeva M, Serikbayeva A, Suleimenova Z, Myrzabek K, Shokan A, Myrzabayeva N.(2023). Comparative Analysis and Determination of the Fatty Acid Composition of Kazakhstan's Commercial Vegetable Oils by GC-FID. *Applied Sciences* 13:7910. <https://doi.org/10.3390/app13137910>.
- Trapman, M., Maxin, P., & Weber, R. W. S. (2008). Enzymatic activity of *Botrytis cinerea* in fruit decay. *Journal of Phytopathology*. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2008.01389.x>
- Travers, L. (2004). Effect of cultivation and soil type on phenolic content in apples. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(6), 541-547.
- Travers, S. (2004). La respiration des fruits après récolte : la crise climactérique. *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques*, 129(2), 107–121. <https://doi.org/10.1080/01811789.1982.10826565>
- Tromp, P. (1949). Effet des températures élevées sur la croissance du pommier et la qualité des fruits. *Revue d'Arboriculture Fruitière*, 17(4), 25–30.

Tsai YH, Chiang D, Li YT, Perng TP, Lee S(2023). Thermal Degradation of Vegetable Oils. *Foods* 12:1839. <https://doi.org/10.3390/foods12091839>.

Tsao, R. (2003). Analysis of phenolic compounds in apples by HPLC. *Journal of Chromatography A*. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00825-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00825-1)

Tsao, R., & Yang, R. (2003). Antioxidant activity of apple polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 754-761. <https://doi.org/10.1021/jf025891q>

Tulegenova, Z.; Amanbayeva, U.; Shalabayeva, A.M.; Yelyubayeva, D.; Zhaxylykov, A.; Uakhit, R.; Smagulova, A.; Kiyan, V.; Dyussebayev, K.; Mukiyanova, G(2025). Identification and Pathogenicity of Causal Agents of Apple Canker Disease in Kazakhstan. *Horticulturae*, 11, 45. <https://doi.org/10.3390/>

Ul Hasan, M., Singh, Z., Shah, H. M. S., Kaur, J., & Woodward, A. (2024). Water loss: A postharvest quality marker in apple storage. *Food and Bioprocess Technology*, 17, 2155–2180. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03305-9>

Ulrich, A. (1952). The chemical composition of apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1(1), 54–59. [https://doi.org/10.1021/jf60001a011:contentReference\[oaicite:7\]{index=7}](https://doi.org/10.1021/jf60001a011:contentReference[oaicite:7]{index=7})

Van Der Sluis, A. A., Dekker, M., Skrede, G., & Van Boekel, M. A. J. S. (2001). Polyphenolic changes in apples during postharvest storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 789–794. <https://doi.org/10.1021/jf000951i>

Verdu, C. (2013). Cartographie génétique des composés phénoliques de la pomme [Thèse de doctorat, Université d'Angers]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00949195>

Verdu, C., et al. (2013). Optimization of polyphenol extraction from fruit by-products. *Journal of Food Engineering*, 122, 151-159.

Vico, I., Duduk, N., Vasić, M., & Nikolić, M. (2014). Identification of *Penicillium expansum* causing postharvest blue mold decay of apple fruit. *Pesticidi i Fitomedicina*, 29(4), 257–266. <https://doi.org/10.2298/PIF1404257V>

Vitalijs Radenkovs et al., (2018). Valorization of Wild Apple (*Malus* spp.) By-Products as a Source of Essential Fatty Acids, Tocopherols and Phytosterols with Antimicrobial Activity

Walia M, Rawat K, Bhushan S, Padwad YS, Singh B(2014). Fatty acid composition, physicochemical properties, antioxidant and cytotoxic activity of apple seed oil obtained from

apple pomace. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 94:929-34.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.6337>.

Walkowiak-Tomczak, D., et al. (2021). Sensory and phenolic profile of apple juices. *Foods*.
<https://doi.org/10.3390/foods10020312>

Wang Y, Su Y, Shehzad Q, Yu L, Tian A, Wang S, Ma L, Zheng L, Xu L. (2023) Comparative study on quality characteristics of Bischofia polycarpa seed oil by different solvents: Lipid composition, phytochemicals, and antioxidant activity. *Food Chemistry: X*; 17:100588.<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100588>.

World Apple and Pear Association (WAPA). (2011). *Apples and Pears: Postharvest Management and Storage*.

Xu L, Wang S, Tian A, Liu T, Benjakul S, Xiao G, Ma L. (2022). Characteristic volatile compounds, fatty acids and minor bioactive components in oils from green plum seed by HS-GC-IMS, GC-MS and HPLC. *Food Chemistry: X*, 15, 100530.
<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100530>

Yahaya, I. U., & Sule, M. S. (2024). Isolation and Identification of Fungi Associated with Post-Harvest Spoilage of Apple (*Pyrus malus*) Traded in Kano Metropolis, Nigeria. *International Journal of Research and Innovation in Applied Science*, IX(VIII), 468–477.
<https://doi.org/10.51584/IJRIAS.2024.908041>

Yancie, G. (2021). Fatty acid profiles and oxidative stability of vegetable oils. *Journal of Food Lipids*, 28(1), e12810.

Yangying, S., et al. (2019). Bioactive compounds in apple peel and their antifungal properties. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.085>

Yin L, Jayan H, Cai J, El-Seedi HR, Guo Z, Zou X. (2023). Spoilage monitoring and early warning for apples in storage using gas sensors and chemometrics. *Foods*, 12(15), 2968.
<https://doi.org/10.3390/foods12152968>

Yu X, Van De Voort FR, Li Z, Yue T(2007). Proximate composition of the apple seed and characterization of its oil. *International Journal of Food Engineering*.3 .
<https://doi.org/10.2202/1556-3758.1283>

- Yukui R, Wenya W, Rashid F, Qing L(2009). Fatty acids composition of apple and pear seed oils. *International Journal of Food Properties*;12:7749.<https://doi.org/10.1080/10942910802054320>
- Zahid, H.F.; Ali, A.; Ranadheera, C.S.; Fang, Z.; Ajlouni, S.(2023). Identification of Phenolics Profile in Freeze-Dried Apple Peel and Their Bioactivities during In Vitro Digestion and Colonic Fermentation. *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 1514.
<https://doi.org/10.3390/ijms24021514>.
- Zahir, I., Babouchi, M., Boulanouar, H., & El Louyti, M. (2018). Effet des microorganismes isolés à partir des biotopes marocains sur les phytopathogènes : Revue bibliographique. *Revue Agrobiologia*, 8(2), 971–983
- Zakaria, L. (2024). Diversity of fungal pathogens in Malaysian orchards. *Mycoscience*.
<https://doi.org/10.1016/j.myc.2024.01.001>
- Zakaria, L.(2024). An Overview of Aspergillus Species Associated with Plant Diseases. *Pathogens*, 13, 813.<https://doi.org/10.3390/pathogens13090813>
- Zhang, W., et al. (2021). Extraction methods and antioxidant potential of apple phenolic compounds. *Food and Bioprocess Technology*, 14(6), 1058-1074.
- Zhiming Guo et al .(2021). Identification of the apple spoilage causative fungi and prediction of the spoilage degree using electronic nose
- Ziad Barakat Al-Rawashdeh1 et al. (2015). Efficacy of Non-Chemical Alternatives on Blue Mold of Apple under Controlled Cold Storage Conditions
- Zielińska, D., & Turemko, M. (2020). Flavonoids and anthocyanins in apple cultivars: analytical methods and biological activity. *Journal of Food Science*, 85(4), 1029-1038.

ANNEXE I



Annexe 1

Données climatiques de la région de la plaine de Ghriss –Mascara

Tableau 1 : Vitesse du vent

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Grandeur Annuelle
2013	3,9	3,5	4,1	2,9	2,9	2,5	2,2	2,3	2,3	2,2	2,7	2,8	2,9
2014	3,6	3,7	3,5	2,9	2,2	2,4	2,3	2,3	2,7	2,7	3,9	3,1	2,9
2015	3,1	4,1	2,5	2,8	2,8	2,2	2,5	2,7	2,3	2,3	2,2	2,5	2,7
2016	3	4,1	3,2	2,6	2,9	2,6	2,5	2,4	2,3	2,4	3,3	2,5	2,8
2017	3,3	3,5	2,8	2,4	2,6	2,6	2,7	2,4	2,4	2,2	2,6	3,3	2,7
2018	2,9	2,9	4,2	3,3	2,5	2,5	2,1	2,2	2,4	3,1	3,5	2,2	2,8
2019	3,1	2,8	2,7	3	2,8	2,5	2,6	2,5	2,4	2,7	4,3	3,5	2,9
2020	2,3	2,1	3,2	2,8	2,7	3,1	2,8	2,8	2,6	2,9	2,9	3,9	2,8
2021	3,5	3,7	2,6	2,6	2,8	2,6	2,8	2,6	2,6	2,3	3,3	3,4	2,9
2022	2,5	2,2	3,6	3,4	2,6	2,5	2,6	2,5	2,7	2,8	3,2	3,6	2,8

Tableau 2 : Température moyenne de l'air (°C)

Année	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Grandeur Annuelle
2013	7,8	6,7	11,1	13,6	15,4	20,3	25	25,5	21,2	19,8	9,8	7,3	15,3
2014	7,9	8,7	9,7	15,8	18,5	21,6	25,2	26,5	23,8	19	12,8	7	16,4
2015	6,9	6,5	11	17,2	20,6	22,2	28,9	27	22,1	18	12,2	10,6	16,9
2016	9,8	9,5	9,4	14,6	18,4	23,7	27,6	26,7	22,7	19,8	11,7	8,6	16,9
2017	6,1	10,1	12,5	15,8	21	25,5	28,6	28	22,7	18,2	12	7,4	17,3
2018	8	6,9	10,9	14,2	16,4	21,6	26,5	26	23,4	16,4	11,5	10,3	16
2019	7	8,6	11,7	13,7	18,9	24	28,6	27,7	23,5	18,2	11,2	10,5	17
2020	7,6	12,4	12,6	15,4	20,8	23,5	29,6	29,3	23,2	17,3	13,9	9,5	17,9
2021	8,7	11,8	11,5	15,8	20,4	24,4	29,3	29,4	25,1	18,3	10,7	10	17,9
2022	7,6	11,1	11,8	13,3	21,2	26,6	29,2	29,3	24,5	21,2	14,9	12,3	18,6

Tableau 3 : Température maximale de l'air en (C)

Année	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Grandeur Annuelle
2013	21,1	21,2	23,5	29	30,6	37,1	38,1	38,2	33,6	34,5	26,5	16,8	38,2
2014	21	23,1	22,2	29	33,7	37,6	40,7	40	36,1	31,5	26	20,2	40,7
2015	20,3	17	27	32,3	37,9	39,7	40,7	41,9	35,5	32,6	27,2	22,7	41,9
2016	21,8	22	28,5	31,4	36,5	36,4	41,8	39,9	37,8	32,6	26,2	18,7	41,8
2017	19,2	23,8	27,2	31,1	35,9	40,2	42,9	41,6	35,1	29,4	28	20,4	42,9
2018	21,1	24,8	27,7	30,8	32,8	37,6	40,2	38	36,6	29,3	24,2	24,7	40,2
2019	17,1	20,8	25,1	32	32,5	42	42,2	42	37,4	32,8	24	22,7	42,2
2020	20,7	25,6	26,7	29,7	37,1	41,7	42,5	41,9	35,6	31,5	27,2	20,9	42,5
2021	25,3	26,8	28,3	30,8	37,4	38	43,8	43,4	39,8	31,3	25,4	24,8	43,8
2022	22,1	26,1	26,5	29,9	37,2	41,1	41,8	41,8	39,6	33,4	28,9	23,7	41,8

Tableau 4 : Température minimal de l'air en (C)

Année	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Grandeur Annuelle
2013	0,1	-3,6	-0,6	2,5	4,5	8,4	13,8	15,6	12,9	7,8	-0,6	-0,2	-3,6
2014	0,1	-0,2	0,3	6	8,7	7,8	13,6	15,9	14,3	9,7	2,5	-2,3	-2,3
2015	-1,8	-2,5	-1,5	7,2	8,1	11,3	18,9	16,2	12,1	9	0,1	2,9	-2,5
2016	-3	-0,2	-0,3	1,5	4	11,7	16,6	16,1	12,2	7,7	3,1	-1	-3
2017	-1,7	0,3	0,1	2,8	8,5	12,5	11,1	18,6	12,4	9	1,8	-1,9	-1,9
2018	-0,2	-2	-1,1	2	5,6	9,7	15,7	17	14,1	4,1	3,2	1,5	-2
2019	-1,5	-1,7	1,9	4,1	7,4	10,1	17,3	16,8	11,2	6,4	2,6	1,8	-1,7
2020	-1,2	4,5	2,2	4,7	8,7	11	18	17,9	12,4	6,5	3,4	-2,1	-2,1
2021	-1,2	3,2	0	4,5	6	13,9	17,3	17,8	15,7	8,8	3,5	0,7	-1,2
2022	-2,4	1,7	0,7	4,4	6,7	15,4	17,2	17,1	11,4	10,5	3,3	4,5	-2,4

Tableau 5 : Pluviométrie : Pluie en mm

Année	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Grandeur Annuelle
2013	91,6	68,7	62,3	174,5	57,9	1,1	22,1	13	40,6	19	71,8	113,4	736,2
2014	64,7	66,6	78,9	19,7	57,5	37,6	1,2	2,1	48,6	32,8	58	85	552,6
2015	86,7	99,6	36,7	2,5	38,8	24,4	1,2	22,5	35,4	112,1	35	0	494,9
2016	24,4	72,2	104,6	75,5	34,5	12,5	16,1	3,7	25,4	4,3	80,5	74,2	527,8
2017	173,3	10,5	18,3	16,5	29,4	9,4	1,3	33,2	5,4	38,1	39,8	60,7	435,7
2018	46,9	44,2	155,2	166	41,2	40,8	0,6	18,7	52,2	71	73,6	10,8	721
2019	86,4	15	22,9	55,9	12,1	1,7	6,1	20,7	20,7	20,3	74,3	59,2	395,2
2020	33,8	0,7	38,8	75,9	30,9	0,8	1,1	2,5	7,6	6,9	22,3	93,3	314,6
2021	42,3	11,5	34,1	32,1	27,4	14,6	11,4	18,7	12,7	6,8	63,7	24	299,4
2022	16,5	16,2	102,8	79,9	47,2	6,2	6,5	7,6	23,2	30,7	17,9	26,9	381,7

Tableau 6 : Humidité relative de l'air en %

Année	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Grandeur Annuelle
2013	78,7	71,9	72,4	68,4	67	56,7	57,1	50,3	63,7	55,7	75,2	75,9	66,1
2014	76,2	74,3	68,8	58,9	56	53,4	45,1	41,1	52,5	52	67,5	77	60,2
2015	69,7	79,9	63,8	54,5	48,2	51,1	35	48	54,8	65,2	67,2	55,6	57,8
2016	66,7	70,3	68,5	62,2	56,3	41,7	40,9	44,5	48,7	51,8	65,5	74,2	57,6
2017	73,7	67,9	60	58,2	52,5	45,4	32,9	43,1	46,7	50,3	53,6	73,1	54,8
2018	68,6	71,6	72,7	64,9	66,2	57,1	43,1	48,4	58,7	62,6	69,4	66	62,5
2019	72,4	58,1	62,1	62,5	50,3	44,2	39,7	44,7	52	53,4	76,3	69,1	57,1
2020	64,1	57,7	64,7	67,2	51,2	45	34,2	33	48,7	49,1	57,7	75,8	54
2021	72,7	58,4	58,6	59,2	52	50	34,2	34,5	49,4	49,4	73,1	67,8	55
2022	61,8	61,4	63,3	64,9	48,7	39,6	37,6	34,3	48,2	46,2	58,3	62,2	52,2

Annexe 1

Commune	2020			2021			2022			2023			2024		
	Superficie complantée (ha)	Superficie (ha)	Production (qx)	Superficie complantée (ha)	Superficie (ha)	Production (qx)	Superficie complantée (ha)	Superficie (ha)	Production (qx)	Superficie complantée (ha)	Superficie (ha)	Production (qx)	Superficie complantée (ha)	Superficie (ha)	Production (qx)
Ain fekan	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	15
Froha	9	4	160	4	4	160	4	4	160	4	4	160	7	7	380
Ghriss	2	2	90	2	2	70	2	2	90	2	2	70	2	2	80
Ghuerdjoum	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	15
Hachem	9	3	120	9	3	120	9	3	110	9	3	90	9	6	200
Maoussa	39	22	5 500	39	22	6 150	39	22	5500	39	22	7700	41	22	5 500
Matemore	6	5	1 250	6	5	1 500	6	5	1510	6	5	1750	6	5	1950
Oued Taria	8	1	25	8	1	25	9	2	55	9	3	90	9	9	180
Sidi Boussaid	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	12
Sidi Kada	12	10	620	12	10	450	30	10	450	30	12	420	30	30	1 225
Tighennif	11	10	600	12	12	790	12	12	550	12	12	300	12	12	300
Tizi	45	5	350	45	5	360	45	5	150	45	5	150	45	10	350
Total	143	62	8715	140	64	9625	158	65	8575	159	68	10730	164	106	10207

Tableau 7 : La production du pommier aux principales communes de la plaine de Ghriss (2020-2024) (DSA)

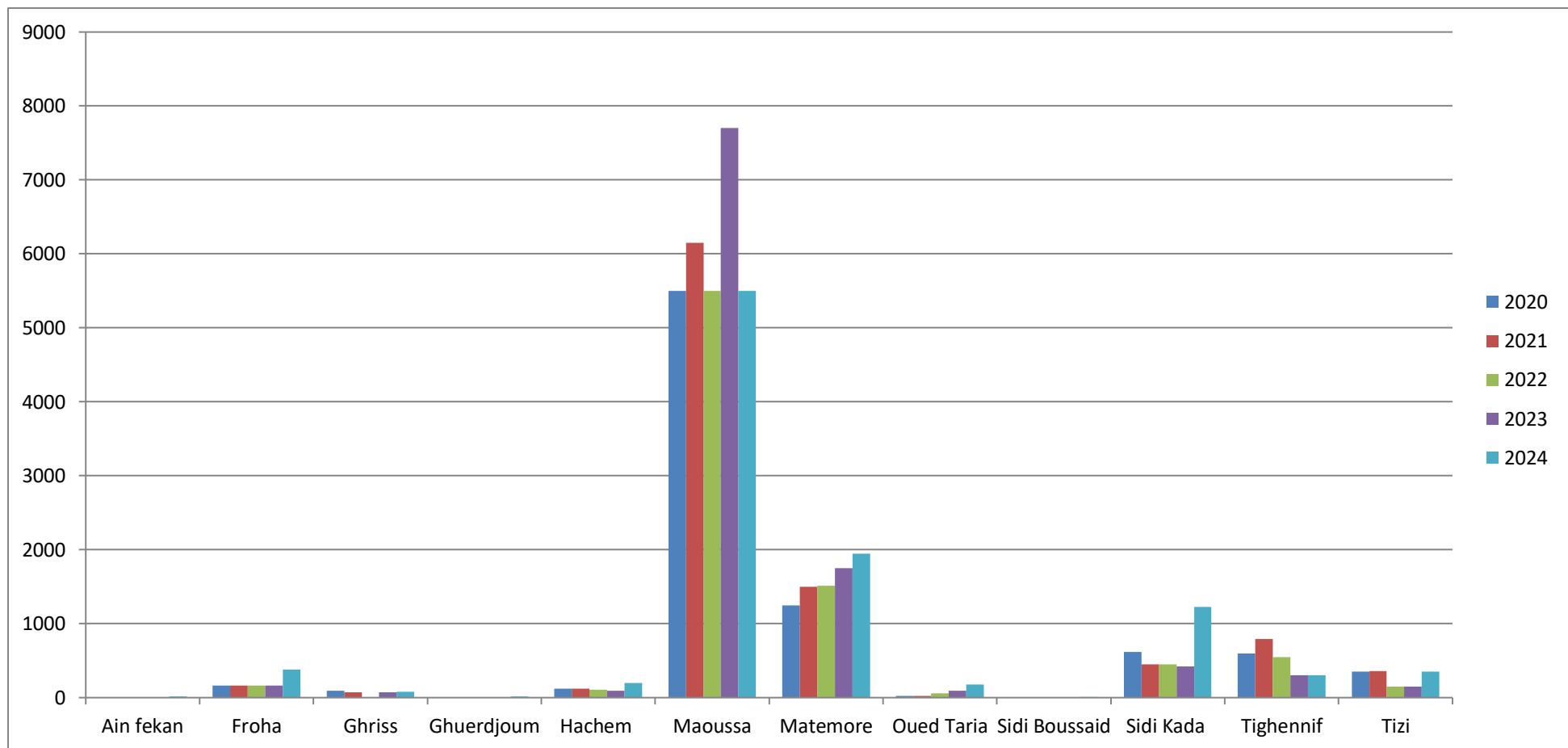


Figure 1 : La production du pommier dans la plaine de Ghriss (données de DSA Mascara)

Nom commercial	Matière Active	Déprédateur Culture	Déprédateur Culture	N° d'homologation
AKORUS	TEBUCONAZOLE	Tavelure	Arbres fruitiers	07 45 068
ALIETTEALLETTE FLASH	FOSETYL- ALUMINIUM	Feu Bactérien	Poirier/Pommier	09 47 011
ALUFOS	FOSÉTHYL-ALUMINIUM	Feu Bactérien	Pommier	16 05 06
BAYFIDAN 312 SC	TRIADIMENOL	Oïdium	Pommier	08 46 074
BELLIS WG	BOSCALID + PYRACLOSTROBINE	Oïdium / Tavelure	Arboriculture fruitière	08 46 152
BIOCUIVRE	CUIVRE	Tavelure/ chancre bactérien	Arbres fruitiers	07 45 073
BIOSOUFRE	SOUFRE	Oïdium/ tavelure	Arbres fruitiers	07 45 074
BOUILLIE BORDELAISE WG	OXYCHLORUR DE CUIVRE	Tavelure/Cloque/Moniliose Chancre bactérien	Arbres fruitiers	16 56 069
CALDO BORDELES	SULFATE DE CUIVRE	Tavelure	Arbres fruitiers	15 55 257
BUTANIL 125 EC	MYCLOBUTANYL	Oïdium	Arboriculture fruitière	08 46 151
CALDO BORDOLES	SULFATE DE CUIVRE	Tavelure	Arbres fruitiers	15 55 257
CAPITAN	CAPTAN	Coryneum/ Tavelure	Arbres fruitiers à pépins	13 53 004
CAPTAN 50 VALLES	CAPTAN	Tavelure/Coryneum	Arbres fruitiers	14 54 145
CHAMP FLO	HYDROXYDE DE CUIVRE	Chancre bacterien / cloque / tavelure / anthracnose / moniliose coryneum	Arbres Fruitiers	11 51 012
CHORUS	CYPRODINIL	Tavelure/Alternariose	Arbres fruitiers à pépins	15 55 258
CYMODIN	PROCYMIDONE	Moniliose	Arbres fruitiers	08 46 078

COMAC	SULFATE DE CUIVRE NEUTRALISE A LA CHAUX	Chancre bactérien/ cloque/ tavelure/ anthracnose/ moniliose/ coryneum	Arboriculture fruitière	11 51 014
CYCONEB WP	PROPINEBE+CYMOXANIL	Tavelure	Pommiers	15 55 261
DIFESOLE 25 EC	DIFENOCONAZOLE	Tavelure	Pommier	16 56 056
DOMARK 40 EW	TETRACONAZOLE	Oïdium	Pommier	13 53 005
ELITE®80 WG	FOSETYL- ALUMINIUM	Phytophthora	Arbres fruitiers	15 55 262
FLINT 50 XG	TRIFLOXYSTROBINE	Oïdium Tavelure		12 52 014
GOLDEN COP	OXYCHLORURE DE CUIVRE	Bactériose		08 46 089
HELIOSOUFRE	SOUFRE	Tavelure		11 51 021
MICROVITE 80	SOUFRE	Oïdium		08 46 093
PELT® 70 WG	THIOPHANATE-METHYL	Oïdium/ tavelure	Arbres fruitiers à pépins	16 56 051
SCORE	DIFENOCONAZOLE	Oïdium, Alternaria, Tavelure	Arbres fruitiers à pépins	R 12 52 027
SAPROL	TRIFORINE	Tavelure/moniliose	Pommiers	09 47 005
TEBUCONATE TEBUCONAZOLE	TEBUCONATE TEBUCONAZOLE	Moniliose, Tavelure	Pommier/poirier	07 45 121
THISAN 80 WP	THIRAME	Tavelure / moniliose / cloque	Arbres fruitiers	16 56 067
VIDAN 25	TRIADIMENOL	Oïdium, Moniliose	Arbres fruitiers	13 53 021

Tableau 8 : les principaux produits phytosanitaires utilisés pour les maladies cryptogamiques aux champs et aux cours de stockage du pommier
Les produits colorés ont été identifiés comme étant ceux couramment utilisés par les agriculteurs de cette région, sur la base d'un inventaire aléatoire ainsi que des consultations menées auprès des ingénieurs sur le terrain, des agriculteurs, des responsables de chambres froides et des fournisseurs.

ANNEXE II



1. Milieu de culture :**Milieu utilisé pour la production d'amylase (Hankin et Anagnostakis, 1975)**

Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	5g
Amidon.....	2g
Agar.....	15 g
Eau distillée (qsp).....	1000 ml.
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. pH 6	

Milieu utilisé pour la production de cellulase (Abe et al., 2015)

KH ₂ PO ₄	7g
K ₂ HPO ₄	2g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0.1g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1g
Extrait de levure.....	0.6g
Microcrystalline cellulose.....	10g
Agar.....	15g
Eau distillée (qsp).....	1000 ml.
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. pH 5.5	

Milieu utilisé pour la production de protéase (Sarath et al, 1989).

Lait écrémé.....	300ml
Agar.....	20g
Eau distillée (qsp).....	1000 ml.
Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.	

Milieu utilisé pour la production de lipase (Hankin et Anagnostakis, 1975)

Peptone.....	10g
NaCl.....	5g
CaCl ₂ .2H ₂ O.....	0.1g
Agar.....	17g
Tween 20.....	10 mL
Eau distillée (qsp).....	1000 ml.
Autoclavage à 120°C pendant 15 minutes. pH 6. Le tween 20 est stérilisé séparément et ajoutés au milieu stérile.	

La solution d'iode:

KI.....2g
 Iodine.....1g
 Eau distillée.....300ml

2. Résultat**Tableau 9:** Classification des genres fongiques isolées (Base de données de taxonomie NCBI)

Isolat	Genre	Phylum	Ordre	Famille
1	<i>Alternaria</i>	Ascomycota	Pleosporales	Pleosporaceae
2	<i>Aspergillus</i>	Ascomycota	Eurotiales	Aspergillaceae
3	<i>Cladosporium</i>	Ascomycota	Cladosporiales	Cladosporiaceae
4	<i>Diplodia</i>	Ascomycota	Botryosphaeriales	Botryosphaeriaceae
5	<i>Talaromyces</i>	Ascomycota	Eurotiales	Trichocomaceae
6	<i>Mucor</i>	Mucoromycota	Mucorales	Mucoraceae
7	<i>Penicillium</i>	Ascomycota	Eurotiales	Trichocomaceae

Tableau 10 : L'index enzymatique (IE) des espèces fongiques étudiées

	Protéase	Cellulase	Lipase	Amylase	Valeur P
Penicillium sp	2.1	2.5	1.8	1.7	0,003
Talaromyce sp	1.4	1.7	-	1.1	0,000
Aspergillus sp	1.0 9	1.7	1	1.04	0,004
Diplodia sp	1.12	1	1	1.5	0,000
Alternaria sp	1.2	2	1.4	1.1	0,000

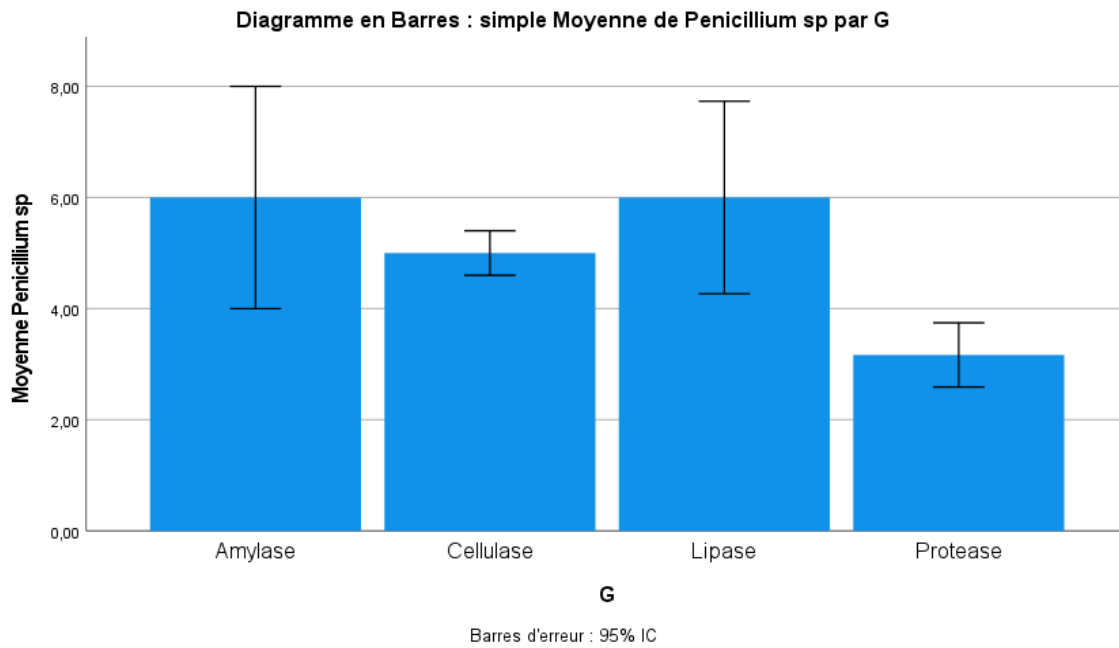


Figure 2 : Diagramme en Barres de la production enzymatique de l'espèce (**Pen1**)

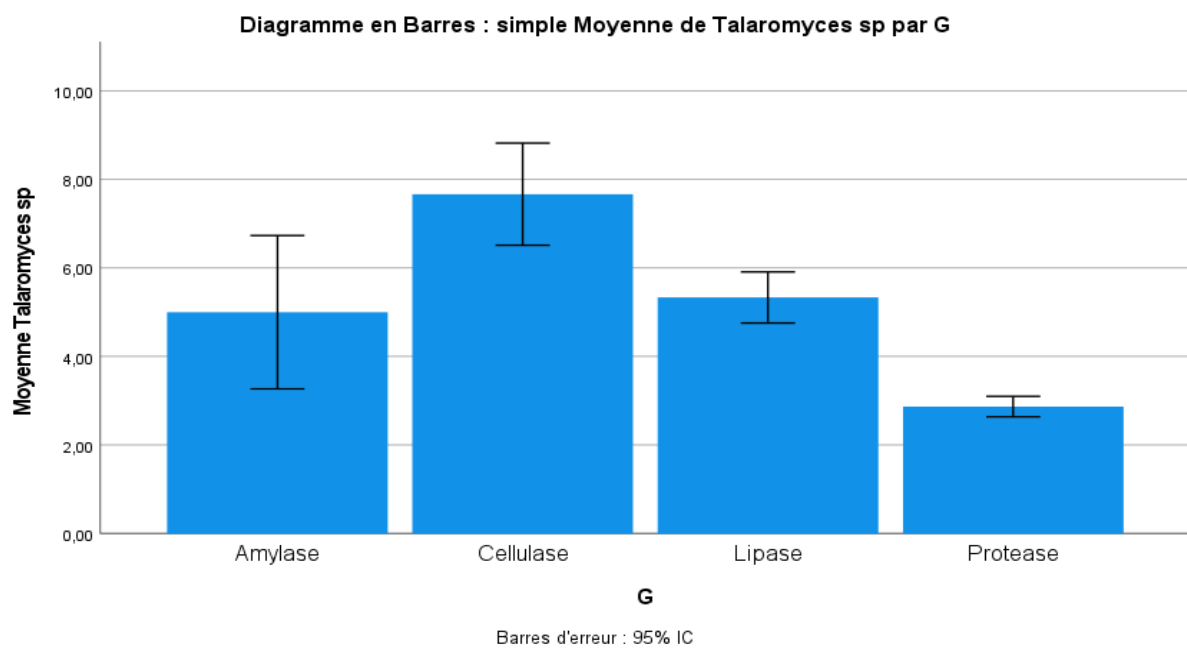


Figure 3 : Diagramme en Barres de la production enzymatique de l'espèce (**Pen2**)

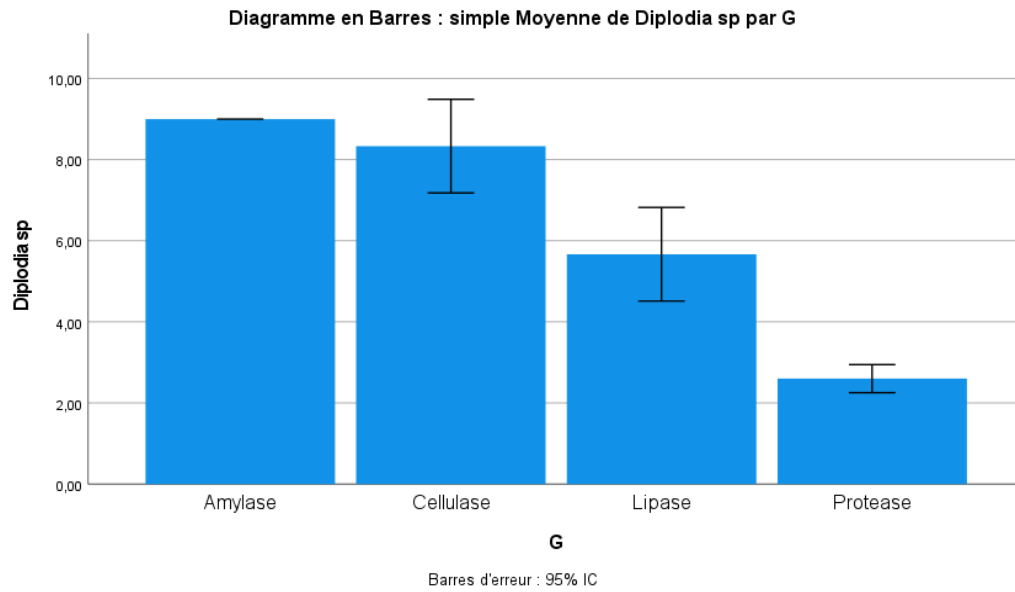


Figure 4 : Diagramme en Barres de la production enzymatique de l'espèce (CLO)

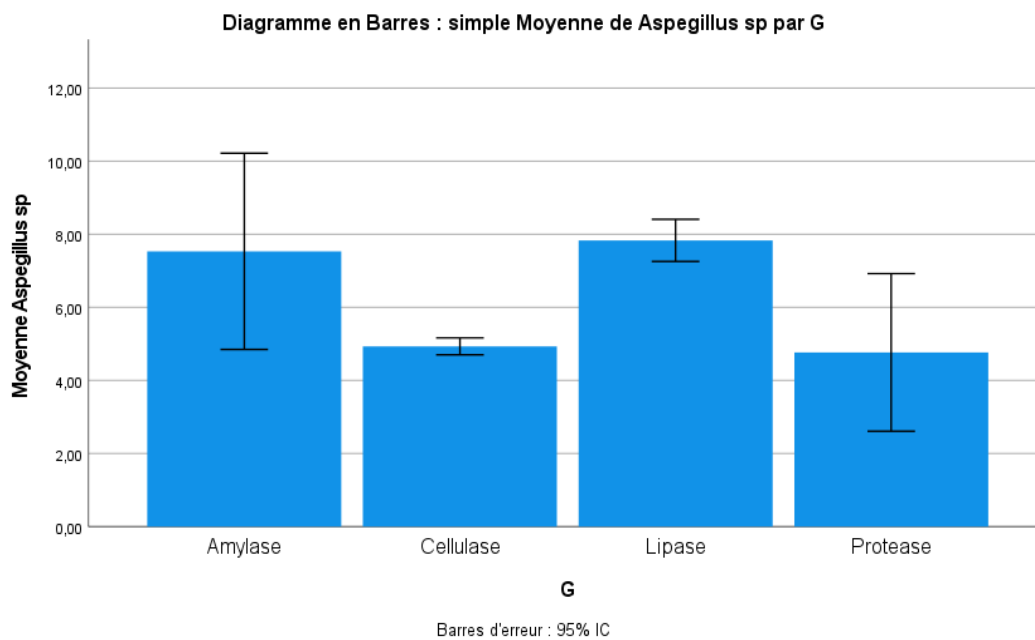


Figure 5: Diagramme en Barres de la production enzymatique de l'espèce (ASP)

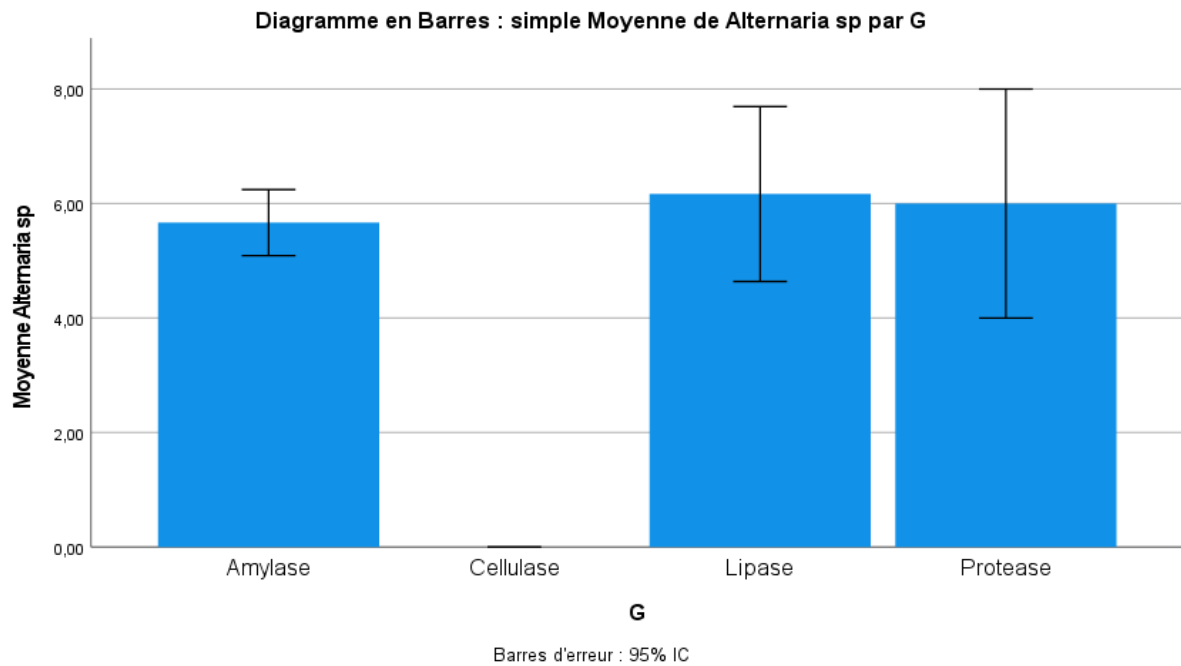


Figure 6 : Diagramme en Barres de la production enzymatique de l'espèce (**ALT**)

2.2. Les séquences de souches fongiques identifiées

Séquence d'*Aspergillus flavus* (ASP)

Amplification de la région ITS : 550 bp

Numéro d'accesion

MN533830.1

TACGATGGGTCCTCCTGATCCGAGGTCAACCTGGAACAAGATTGATGTGCGTTCG
 GCAAGCGCCGGCGGGGCCTACTGAGCGGGTGACAAAGCCCCATACGCTCGAGGA
 TCGGACGCGGTGCCGCCGCTGCCTTTGGGGCCCGTCCCCCGGACAGGGGACGA
 CGACCCAACACACAAGCCGTGCTTGATGGGCAGCAATGACGCTCGGACAGGCAT
 GCCCCCGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGACTCGATGATTCACG
 GAATTCTGCAATTCACACTAGTTATCGCATTTGCTGCGTTCTTCAGCGATCCCGG
 AACCAAGAGATCCATTGTTGAAAGTTTTAACTGATTGCGATAACAATCAACTCACA
 CTTCAGTAGATCAGACAGAGTTCGTGGTGTCTCCCGCGGGCGCGGGCCCGGGGCT
 GAGAGCCCCCGGCGGCCATGAATGGCGGGCCCGCCGAAGCAACTAAGGTACAGT
 AAACAGGGTGGGGAGGTTGGGCTCGCTAGGAACCCTACACTCGGTAATGATCCTT
 CCG

Séquence de *Penicillium bilaiae* (Pen 2)

Amplification de la région ITS : 527 pb

Numéro d'accension

PX056281

ATTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCGGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTT
 AAATAATTTTTGCTTATCGCTCAGACGGCAATCTTCAGACAGCGTTCAGAGGGGG
 CTTCGGCGGGCGCGGGCCCGGGGGCAGATGCCCCCGGCGGCCGTGAGGCGGGC
 TCGCCTAAGCAACATGGTACAAGAGACACGGGTGGGGAGGTTGGACCCAGAGGG
 CCCTCACTCAGTAATGATCCTTCCGCACTAACCCCCCTACGAAAGATTACTTATCG
 CGGGACCCCCGGCGTCACCGCCCGCGAGGTTTTGGTGAGCCGGTTGCTTCTTCGG
 GTCGACAAATGCCGGGGGGGTGACATCCTTCGGGTCCTACACGACACCAAATTA
 GCGATGCAACTTGGGGAATTGCAGCGTTTCTTACGCTCTGAACTGTCTCTTAAGG
 ACGTGTCTCCGCCGAAAGGTCTTGCATGCCGACGCCGCTAAAAAAGAGGGGG
 CGAAATGGGATCAAAGAGAAGCTGCTAGGGGGAATAAAATTTCTTGTTAAGAAC
 CCATCCCTTTTTAGGGGAATAGGGGACCCCCCGGTTAATACCGGGGGGGGGGG
 GGGGCCTTTTCTAATGGTAACATGACCCCCCCCCGCGCA

Séquence de *Diplodia seriata* (CLO)

Amplification de la région ITS : 552 pb

Numéro d'accension

PV936513

CAAAGGATTGGTTCCTCCTGATCCGAGGTCAACCTTGAGAAAGTTCAGAAGGTTC
 GTCCGGCGGGCGACGCCTACCGCTCCAAAGCGAGGTGTATTCTACTACGCTCGAG
 GGCTGAACAGCCACCGCCGAGGTCTTTAAGGCGCGTCCGCACAGAGGACGGCGC
 CCAATACCAAGCAGAGCTTGAGGGTTGTAATGACGCTGGAACAGGCATGCCCCC
 CGGAATGCCGGGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCAATGATTCACTGAATTCT
 GCAATTCACATTACTTATCGCACTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAG
 AGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAGTTTATTAACCTGTTTATCACACGTCGACGTTTA
 CTGACTGGAGTTTGAAGGTCTCTGGCAGAAAGCGCGCGGGGGGGCCCCGCGAGG
 GCCTCCTCGCGGCAAAGAGCCGCCAAAGCAACAGAGGTATGTTACAAAAGGGTG
 GGAGATTCGAGCCGAAGCCCGAGAACTCGGTAATGATCCTTCCGCAGGCACCCCT
 TCCG

L'état de pommes contaminées après une incubation de 3 mois à 25 °C.

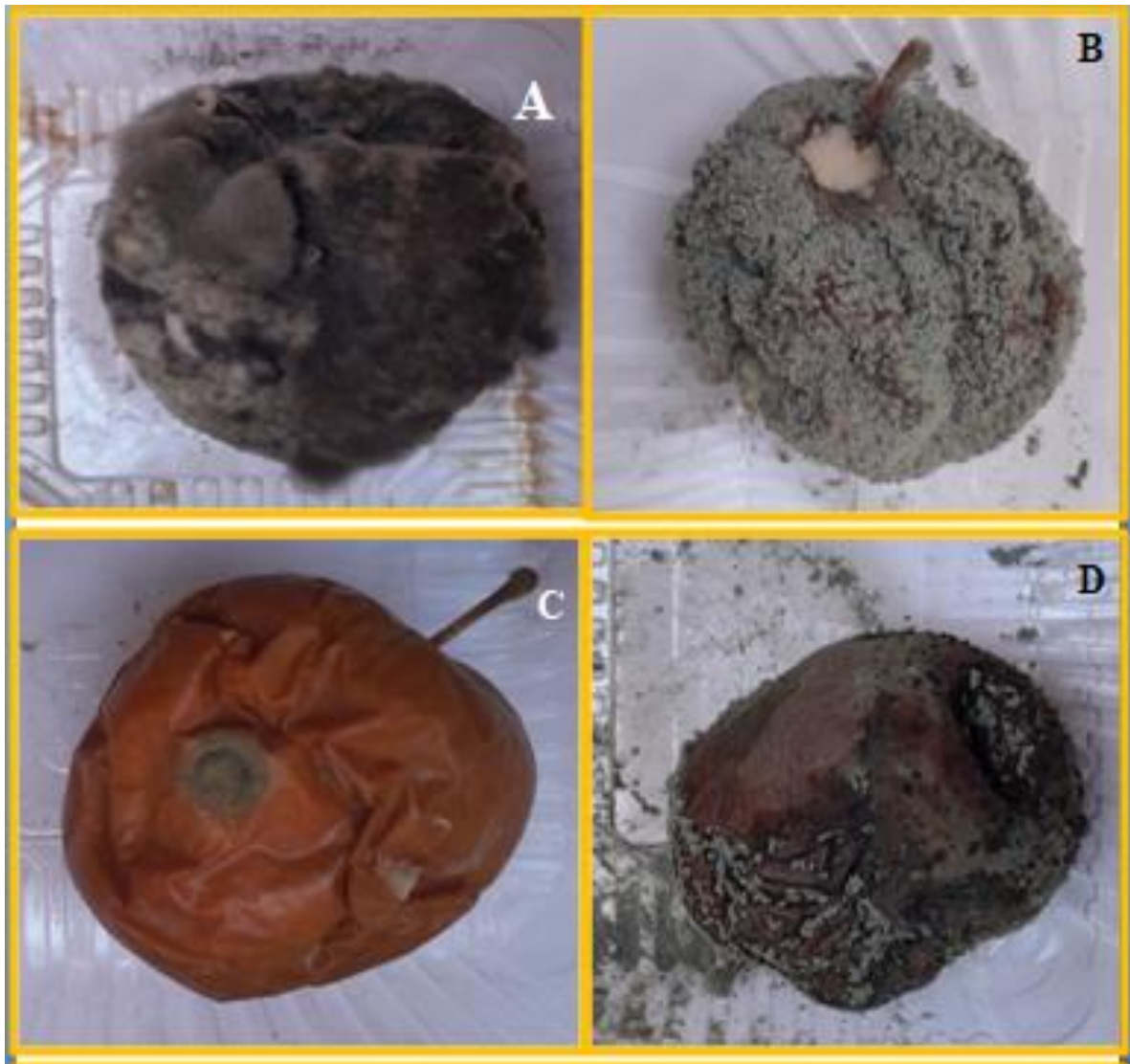


Figure 7 : Des pommes contaminées par A : *Diplodia seriata*, B : *Talaromyces variabilis*, C : *Aspergillus flavus*, D : *Penicillium bilaiae*

		N	Moyenne	Ecart type	Erreur standard	Intervalle de confiance à 95 % pour la moyenne		Minimum	Maximum
						Borne inférieure	Borne supérieure		
Penicillium sp	Amylase	3	6,0000	1,00000	0,57735	3,5159	8,4841	5,00	7,00
	Cellulase	3	5,0000	0,20000	0,11547	4,5032	5,4968	4,80	5,20
	Lipase	3	6,0000	0,86603	0,50000	3,8487	8,1513	5,50	7,00
	Protease	3	3,1667	0,28868	0,16667	2,4496	3,8838	3,00	3,50
	Total	12	5,0417	1,34195	0,38739	4,1890	5,8943	3,00	7,00
Talaromyces sp	Amylase	3	5,0000	0,86603	0,50000	2,8487	7,1513	4,00	5,50
	Cellulase	3	2,3667	0,57735	0,33333	2,2324	3,1009	2,20	3,00
	Lipase	3	5,3333	0,28868	0,16667	4,6162	6,0504	5,00	5,50
	Protease	3	2,8667	0,11547	0,06667	2,5798	3,1535	2,80	3,00
	Total	12	5,2167	1,83691	0,53027	4,0495	6,3838	2,80	8,00
Aspegillus sp	Amylase	3	7,5333	1,34288	0,77531	4,1974	10,8692	6,00	8,50
	Cellulase	3	4,9333	0,11547	0,06667	4,6465	5,2202	4,80	5,00
	Lipase	3	7,8333	0,28868	0,16667	7,1162	8,5504	7,50	8,00
	Protease	3	4,7667	1,07858	0,62272	2,0873	7,4460	4,00	6,00
	Total	12	6,2667	1,66205	0,47979	5,2106	7,3227	4,00	8,50
Diplodia sp	Amylase	3	9,0000	0,00000	0,00000	9,0000	9,0000	9,00	9,00
	Cellulase	3	8,3333	0,57735	0,33333	6,8991	9,7676	8,00	9,00
	Lipase	3	5,6667	0,57735	0,33333	4,2324	7,1009	5,00	6,00

	Protease	3	2,6000	0,17321	0,10000	2,1697	3,0303	2,50	2,80
	Total	12	6,4000	2,65980	0,76782	4,7100	8,0900	2,50	9,00
Alternaria sp	Amylase	3	5,6667	0,28868	0,16667	4,9496	6,3838	5,50	6,00
	Cellulase	3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	Lipase	3	6,1667	0,76376	0,44096	4,2694	8,0640	5,50	7,00
	Protease	3	6,0000	1,00000	0,57735	3,5159	8,4841	5,00	7,00
	Total	12	4,4583	2,75069	0,79406	2,7106	6,2060	0,00	7,00

Tableau 11: Description de l'analyse statistique du diamètre d'halo des différentes activités enzymatiques des champignons étudiés

		Somme des carrés	df	Carré moyen	F	Sig.
Penicillium sp	Entre groupes	16,063	3	5,354	11,432	0,003
	Intra-groupes	3,747	8	0,468		
	Total	19,809	11			
Talaromyces sp	Entre groupes	34,757	3	11,586	39,273	0,000
	Intra-groupes	2,360	8	0,295		
	Total	37,117	11			
Aspegillus sp	Entre groupes	24,260	3	8,087	10,559	0,004
	Intra-groupes	6,127	8	0,766		
	Total	30,387	11			
Diplodia sp	Entre groupes	76,427	3	25,476	146,271	0,000
	Intra-groupes	1,393	8	0,174		
	Total	77,820	11			
Alternaria sp	Entre groupes	79,896	3	26,632	63,917	0,000
	Intra-groupes	3,333	8	0,417		
	Total	83,229	11			

Tableau 12 : Détermination de l'analyse de variance de la production des enzymes par ces isolats fongiques

ANNEXE III



Protocoles expérimentaux décrits dans l'article 2 :

1 .Screening phytochimique

Le tableau 13 : Les méthodes effectuées de Screening phytochimique des métabolites secondaires décrite par Harborne et al. (1998) (Raaman et al ., 2006; Afif Chaouche, 2015).

Métabolite secondaire	Méthodes	Résultat attendue
Anthocyanes	5ml d'infusé+quelques gouttes d'HCL	Coloration rouge
Leuco-anthocyanes	2g de poudre+20ml de propanol/acide chlorhydrique (1/1), porter à ébullition au bain marie.	Coloration rouge
Tanins totaux	5ml d'infusé+quelques gouttes de FeCl ₃	Coloration bleue noire
Irridoïdes	2ml d'infusé+ quelques gouttes d'acide chlorhydrique, chauffer un peu	Coloration bleue
Tanins galliques	1ml d'infusé +2g d'acétate de sodium + quelques gouttes de FeCl ₃	Coloration bleue foncée
Alcaloïdes	5g de poudre +50ml d'éther : chloroforme 3/1, filtrer après 24h puis épuiser avec du HCL	Précipité rouge
Flavonoïdes	A 5 ml d'infusé +5ml d'acide chlorhydrique + un coupon de zinc +1ml d'alcool iso amylique.	Coloration rouge orangée
Senosides	2 .5g de poudre +50ml d'eau distillée +2ml d'acide chlorhydrique concentrée, chauffer pendant 15min + 40ml d'éther, la couche étherée est séparée, sécher avec le sulfate de sodium anhydre, évaporée +5ml d'ammoniaque diluée (1/2) au résidu refroidi.	Coloration violette rouge
Quinones	Humecter 2g de poudre par 2ml d'acide chlorhydrique +20ml de chloroforme, après 3heures, le filtrat est agité avec 5ml d'ammoniaque (1/2)	Coloration rouge

Coumarines	Faire bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'éthanol pendant 15 minutes, 5ml du filtrat +10gouttes d'hydroxyde de potassium à 10 % +quelques gouttes d'acides HCL à 10%.	Formation d'un trouble
Mucilage	5ml d'éthanol absolu sont ajoutés à 1ml d'infusé, le mélange est incubé pendant 15minutes	Précipité floconneux
Saponosides	A 2ml d'infusé on ajoute quelques gouttes d'acétate de plomb	Formation d'un précipité blanc

2. Méthodes des indices physico-chimiques:

2.1.L'indice d'acide :

Procédure expérimentale :

On introduit 1 g d'échantillon dans une fiole, puis on le dissout dans 10 mL d'éthanol. Ensuite, on ajoute 3 à 5 gouttes de phénolphthaléine, préparée dans de l'éthanol à 1 %.

La solution titré de KOH est également préparée dans de l'éthanol.

L'indice d'acide (exprimé en mg de KOH par gramme d'huile) est calculé selon la relation

suivante :
$$\text{IA (mg de KOH/g huile)} = \frac{(V-V') \cdot C \cdot M}{S}$$

V= volume du titrant KOH consommé après titrage

V '= volume du titrant KOH pour un solvant de titrage à blanc

C= concentration du titrant basique (0,010 mol/l)

M= masse molaire du titrant (56,1 g/mol)

S= masse de l'huile (g)

2.2.L'indice de saponification :

Procédure expérimentale :

On ajoute 1 g d'huile à 10 mL de KOH (préparée dans de l'éthanol à 0,5 N), ainsi que trois pierres de ponce pour éviter l'ébullition brutale. Le mélange est chauffé pendant 60 minutes.

Après le chauffage, on ajoute 5 mL d'eau distillée pour arrêter la réaction, puis on laisse refroidir la solution. Ensuite, on ajoute 3 gouttes de phénolphtaléine comme indicateur.

La solution est ensuite titrée avec de l'acide chlorhydrique(HCl) à 0,5 N.

Un blanc est préparé en utilisant 1 mL d'eau distillée dans 10 mL d'éthanol, traité dans les mêmes conditions expérimentales.

L'indice de saponification (mg KOH /g MG) est donné par la relation suivante :

$$IS \text{ (mg KOH /g MG)} = \frac{(S-B) \cdot M \cdot 56,1}{SW}$$

S= volume de l'échantillon titré

B= volume du blanc titré

M= Molarité du HCL

56,1 = masse molaire du KOH

SW= la masse d'huile (g)

2.3. L'indice d'iode :

Procédure expérimentale :

On introduit 0,25 g d'échantillon dans un flacon, puis on ajoute 6,25 mL de dichlorométhane et 6,25 mL de réactif de Wijs. Le mélange est légèrement agité, puis laissé à l'abri de la lumière pendant 2 heures.

Après cette période, on ajoute successivement :

- 20 mL de solution de KI à 10 % ; Puis 150 mL d'eau distillée .

Ensuite, on ajoute quelques gouttes d'empois d'amidon (solution d'amidon servant d'indicateur). Le mélange est ensuite titré avec une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,01 N jusqu'à ce que la couleur bleue disparaisse complètement.

Un blanc est réalisé en remplaçant l'échantillon par de l'eau distillée dans les mêmes conditions expérimentales.

L'indice d'iode (IO) (mg KOH /g MG) est donné par la relation suivante :

$$IO \text{ (mg KOH /g MG)} = \frac{(B-S) \cdot M \cdot 12,69}{SW}$$

Où :

B = volume de thiosulfate de sodium utilisé pour le blanc (en mL)

S = volume de thiosulfate de sodium utilisé pour l'échantillon (en mL)

M = molarité du thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)

12,69 = facteur de conversion des méq. de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ en mg

SW = masse de l'échantillon d'huile (g)

2.4. L'indice de peroxyde :

Procédure expérimentale :

Dans une fiole, introduisez 1 g d'huile, puis ajoutez successivement :

15 ml d'acide acétique, 10 mL de chloroforme, puis 1 mL de solution d'iodure de potassium (KI). Agitez vigoureusement pendant une minute, puis laissez reposer cinq minutes à 25 °C, à l'abri de la lumière.

Ajoutez ensuite 75 ml d'eau distillée, puis quelques gouttes d'empois d'amidon à 3 % comme Préparation de l'empois d'amidon (3 %) :

Dissoudre 0,5 g d'amidon dans une petite quantité d'eau froide.

Ajoutez ensuite ce mélange à 50 ml d'eau bouillante, laissez bouillir quelques secondes, puis retirez du feu et laissez refroidir immédiatement.

Procéder au titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) à 0,01 N en agitant jusqu'à ce que la coloration bleue-violette disparaisse complètement.

Un essai blanc est réalisé dans les mêmes conditions, en remplaçant l'huile par de l'eau distillée.

L'indice de peroxyde (IP) (mEq/Kg) est donné par la relation suivante :

$$IP \text{ (mEq /kg)} = \frac{(S-B) \cdot M \cdot 1000}{S W}$$

Ou :

S = volume de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) utilisé pour l'échantillon (en mL)

B = volume de thiosulfate utilisé pour le blanc (en mL)

M = molarité (normalité) de la solution de thiosulfate de sodium (mol/L)

SW = masse de l'échantillon d'huile (en g)

1000 = facteur de conversion pour exprimer le résultat en meq d'oxygène actif par kg d'huile

Remarque : Il est recommandé d'utiliser de l'amidon extrait de pommes de terre, conformément au « Journal Officiel de la République Algérienne », afin d'améliorer la sensibilité de la détection iodimétrique. Cet amidon permet d'obtenir une coloration bleu foncé plus stable et visible 'L'Arrêté du 21 Ramadan 1432 (21 août 2011)'. Dans notre cas, nous avons utilisé de l'amidon extrait de pommes de terre de la variété Spunta.

2.5. Taux d'humidité

Procédure expérimentale :

Préparez des capsules en porcelaine, placez-les dans une étuve pendant 30 minutes à 102 °C, puis pesez-les à chaud dès la sortie (masse notée M_0).

Ajoutez 0,52 g d'échantillon dans chaque capsule propre et tarée.

Placer les capsules contenant l'échantillon dans une étuve à 105 °C pendant 3 heures.

Après le séchage, sortir les capsules, les refroidir dans un dessiccateur, puis les pese

Le taux d'humidité est donné par la relation suivante :

$$E\% (\text{mEq /kg}) = 100 - \frac{(M_2 - M_0)}{(M_1 - M_0)} \cdot 100$$

D'ou: M_0 : la masse de la capsule vide

M_1 : la masse de la capsule plus la prise d'essai

M_2 : la masse de la capsule après dessiccation

3. Traitement statistique des résultats des analyses physico-chimiques des huiles végétales.

Echantillon	N	Moyenne	Ecart type	Moyenne d'erreur standard	
Le taux d'humidité g/100g	HEP huile	3	8,3767	0,35303	0,20382
	HH huile	3	16,9033	0,09074	0,05239
L'indice d'acide (mg de KOH/g huile)	HEP huile	3	0,3633	0,02082	0,01202
	HH huile	3	0,3320	0,01058	0,00611
L'indice de saponification (mg KOH /g MG)	HEP huile	3	70,0433	1,20234	0,69417
	HH huile	3	112,2000	0,52915	0,30551
L'indice d'iode (mg KOH /g MG)	HEP huile	3	106,9333	1,19538	0,69015
	HH huile	3	101,8400	1,13437	0,65493
L'indice de peroxyde (mEq/Kg)	HEP huile	3	6,167	0,2082	0,1202
	HH huile	3	5,233	0,2082	0,1202

Tableau 14 : Statistiques de groupe des analyses physico-chimiques des deux huiles végétales

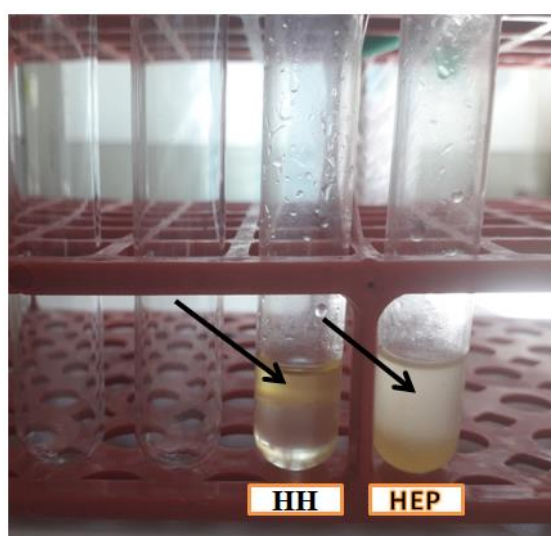


Figure 8 : Évaluation de la miscibilité des huiles végétales HH et HEP dans un solvant hydroalcoolique (éthanol)

		Test de Levene sur l'égalité des variances		Test t pour égalité des moyennes						
		F	Sig.	t	df	Sig. (bilatérale)	Différence moyenne	Std. standard	Intervalle de confiance de la différence à 95 %	
									Inférieur	Supérieur
Le taux d'humidité g/100g	Hypothèse de variances égales	3,197	0,148	-40,516	4	0,000	-8,52667	0,21045	-9,11097	-7,94237
	Hypothèse de variances inégales			-40,516	2,263	0,000	-8,52667	0,21045	-9,33840	-7,71494
L'indice d'acide (mg de KOH/g huile)	Hypothèse de variances égales	1,983	0,232	2,324	4	0,081	0,03133	0,01348	-0,00610	0,06877
	Hypothèse de variances inégales			2,324	2,969	0,104	0,03133	0,01348	-0,01183	0,07449
L'indice de saponification (mg KOH /g MG)	Hypothèse de variances égales	1,213	0,333	-55,584	4	0,000	-42,15667	0,75843	-44,26240	-40,05094
	Hypothèse de variances inégales			-55,584	2,747	0,000	-42,15667	0,75843	-44,70124	-39,61209
L'indice d'iode (mg KOH /g MG)	Hypothèse de variances égales	0,012	0,917	5,353	4	0,006	5,09333	0,95144	2,45170	7,73496
	Hypothèse de variances inégales			5,353	3,989	0,006	5,09333	0,95144	2,44885	7,73782
L'indice de peroxyde (mEq/Kg)	Hypothèse de variances égales	0,000	1,000	5,491	4	0,005	0,9333	0,1700	0,4614	1,4052
	Hypothèse de variances inégales			5,491	4,000	0,005	0,9333	0,1700	0,4614	1,4052

Tableau 15 : Test t de l'analyse de variance des échantillons indépendants

Tableau 16 : Tailles d'effet pour échantillons indépendants (suite Anova)

		Standardisation ^a	Estimation des points	95% Intervalle de confiance	
				Inférieur	Supérieur
Le taux d'humidité g/100g	d de Cohen	0,25775	-33,082	-55,265	-11,440
	Correction de Hedges	0,32304	-26,395	-44,095	-9,128
	Delta de Glass	0,09074	-93,970	-180,496	-14,931
L'indice d'acide (mg de KOH/g huile)	d de Cohen	0,01651	1,898	-0,209	3,874
	Correction de Hedges	0,02070	1,514	-0,167	3,091
	Delta de Glass	0,01058	2,961	-0,160	6,045
L'indice de saponification (mg KOH /g MG)	d de Cohen	0,92888	-45,384	-75,786	-15,741
	Correction de Hedges	1,16418	-36,212	-60,468	-12,559
	Delta de Glass	0,52915	-79,669	-153,029	-12,652
L'indice d'iode (mg KOH /g MG)	d de Cohen	1,16528	4,371	1,021	7,651
	Correction de Hedges	1,46046	3,487	0,815	6,105
	Delta de Glass	1,13437	4,490	0,254	8,866
L'indice de peroxyde (mEq/Kg)	d de Cohen	0,2082	4,484	1,071	7,831
	Correction de Hedges	0,2609	3,577	0,854	6,248
	Delta de Glass	0,2082	4,484	0,252	8,854

a. Dénominateur utilisé pour estimer les tailles d'effet.

Le d de Cohen utilise l'écart type combiné.

La correction de Hedges utilise l'écart type combiné, plus un facteur de correction.

Le delta de Glass utilise l'écart type échantillon du groupe de contrôle.

Published Data Référence	Palmitic acid C16 :0	Palmitoleic acid C16 :1	Heptadecanoic acid C17:0	cis- Heptadecenoic acid C17 :1	Stearic acid C18 :0	Oleic acid C18 :1C (n-9)	Linoleic acid C18 :2C (n-6)	Linolenic acid C18:3	Arachidic acid C20 :0	cis-11- Eicosenic acid C20 :1(n-9)	Docosanoic acid C22:0	Cis4, 7, 10,13,16,19- Docosahexaenoic acid (DHA) C22 :6 (n-3)
Mixture of seeds(Walia M , 2013)	7.25	-	-	-	1.72	46.50	43.81	-	0.72	-	-	-
Royal gala Red Delicious Pyrus Malus	7.4	0.1	0.1	-	2.5	41.7	45.1	0.3	-	1.7	0.4	-
	6.7	0.1	0.0	-	2.3	39.3	47.8	0.3	-	2.0	0.5	-
	6.1	0.2	0.1	-	2.0	38.7	49.6	0.4	-	0.9	0.7	-
Golden Delicious (Arain et al , 2012)	7.1	0.1	0.1	-	3.1	45.5	40.5	0.3	-	2.0	0.6	-
Golden , Starking (Matthaus and OZcan ,2015)	7.0	0.1	-	-	1.9	35.7	51.7	0.6	-	-	-	-
	6.8	0.1	-	-	2.0	40.4	48.1	0.3	-	-	-	-
Fuji, New Red Star (Lei Tian et al ,2010)	6.5	-	-	-	1.8	37.5	51.4	-	1.54	1.5	-	-
	6.6	-	-	-	2.0	38.5	50.7	-	1.49	1.5	-	-
Red Fuji (Rui ,2009)	5.6	0.06	-	-	1.466	26.473	43.03	0.6	1.311	0.391	-	-
Qinguan (Yu Xiuzhu ,2007)	7.1	-	-	-	2.4	39.7	49.6	-	-	-	-	-

Tableau 17 : Profils d'acides gras des huiles de pépins de pomme provenant de différentes sources et variétés (références de données publiées)

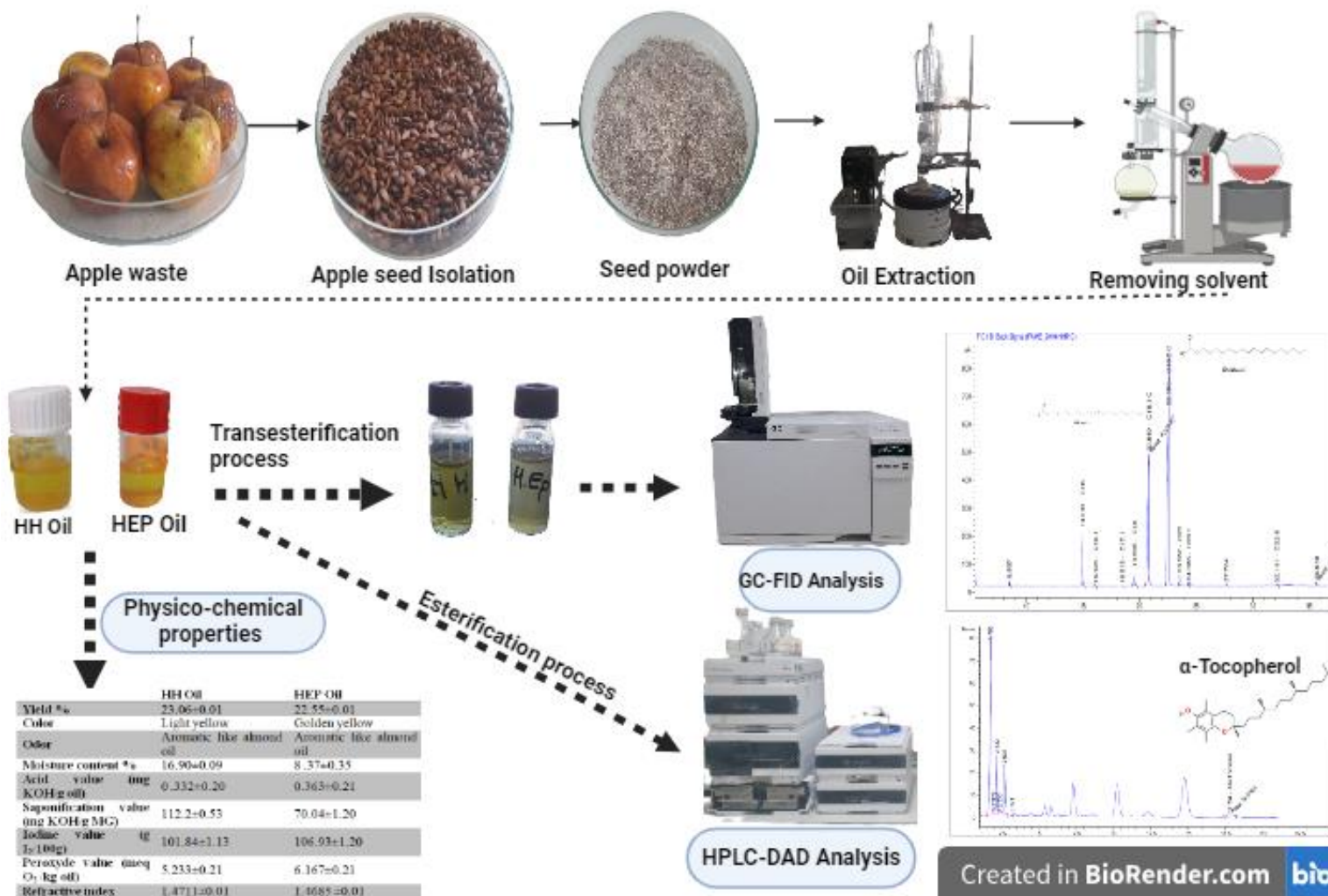


Figure 9: Représentation graphique synthétisant les principales analyses dans cet article.



Valorization of Apple Waste from Cold Storage Through Seed Oil Extractions in Western Algeria

Ikram Boufera¹ · Ourida Chouitah² · Fatima Zohra Kiari² · Yehia Khelef³ · Ramazan Erenler⁴ · Ibrahim Demirtas^{4,5} · Mehmet Hakki Alma⁴

Received: 28 December 2024 / Accepted: 10 May 2025
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature B.V. 2025

Abstract

The Golden Delicious variety of *Malus domestica* apples, grown on the Ghriss plain in western Algeria, was widely consumed. However, fungal spoilage during cold storage was a main problem, resulting in significant waste. The present study focuses on the valorization of apple seed waste for the extraction of vegetable oils using n-hexane and petroleum ether solvents, separately with a Soxhlet apparatus. The physicochemical properties were assessed according to AOCS methods, while GC-FID and HPLC–DAD analyses were used to detect the fatty acid composition, and quantify alpha-tocopherol, respectively. The results revealed that the oil yields were 23.06 and 22.55%, with refractive indices of 1.4711, 1.4685, moisture contents 8.43 ± 0.35 ; 16.90 ± 0.09 g/100 g; acid values 0.332 ± 0.20 , 0.3633 ± 0.21 mgKOH/g oil; saponification values 112.2 ± 0.53 – 70.04 ± 1.20 mg KOH/g oil; peroxide values 5.233 ± 0.21 ; 6.167 ± 0.21 meq O₂/kg oil and iodine values 101.84 ± 1.13 ; 106.93 ± 1.20 g I₂/100g. All these findings were significantly different ($P < 0.05$), except for the acid value. Linoleic acid was detected as the dominant fatty acid, followed by oleic acid and then palmitic acid. The highest linoleic acid content was 54.78%, and the highest oleic acid content was 36.13%. The highest alpha-tocopherol content was 540 mg/kg, followed by 440 mg/kg. In conclusion, based on these interesting findings, apple seed oils from cold storage waste, could serve as a new source of fatty acids, and alpha-tocopherol for use in cosmetics, pharmaceuticals and the food industry.

✉ Ikram Boufera
ikram.boufera@univ-mascara.dz; ikram.boufera@yahoo.com

Ourida Chouitah
chouitah_o@yahoo.fr

Fatima Zohra Kiari
kiari.fatima@yahoo.fr

Yehia Khelef
khelef-yahia@univ-eloued.dz

Ramazan Erenler
ramazan.erenler@gop.edu.tr; renerler@gmail.com

Ibrahim Demirtas
ibrahim.demirtas@igdir.edu.tr; ibdemirtas@gmail.com

Mehmet Hakki Alma
mhakki.alma@igdir.edu.tr

of Natural and Life Sciences, University of Mustapha Stambouli, BP. 763, 29000 Mascara, Algeria

² Laboratory of Bioconversion, Microbiology Engineering and Health Safety, Department of Biology, Faculty of Natural and Life Sciences, University of Mustapha Stambouli, 29000 Mascara, Mascara, Algeria

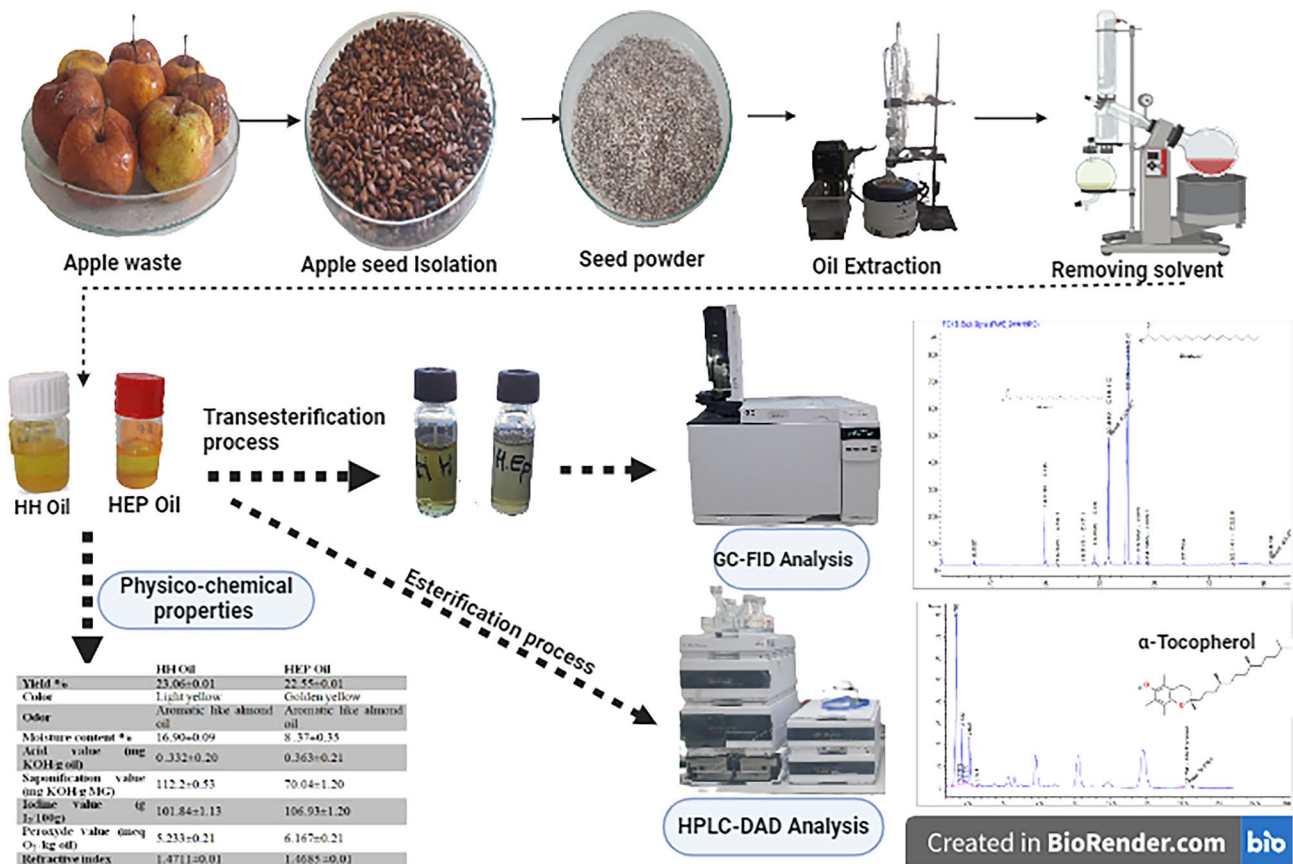
³ Laboratory of Biology, Environment and Health (LBEH), Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Natural Science and Life, University of El Oued, El Oued, Algeria

⁴ Research Laboratory Applications and Research Center (ALUM), Iğdır University, Iğdır 76000, Turkey

⁵ Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Ondokuz Mayıs University, Samsun 55100, Türkiye

¹ Laboratory of Research On Biological Systems and Geomatics(LRSBG), Department of Agronomy, Faculty

Graphical abstract



Keywords Apple seed oils · Cold storage waste · Physicochemical properties · Fatty acids · Alpha-tocopherol

Introduction

The apple (*Malus domestica Borkh*) is one of the most widely consumed fruits, both fresh and in various processed forms (juice, vinegar, jellie ...) [1].

Apples are the most important fruit because of their high nutritional value, and medicinal benefits. Regarding to the apple production, the most widespread cultivars in the world are Fuji, Golden Delicious, Granny Smith, Delicious and Gala. However, these cultivars are grown in the temperate regions of the northern hemisphere [2, 3].

Over the last decade, apple production has increased, with an estimated volume of over 83 million tons in 2017 according to FAOSTAT (2018) [2–5] resulting in a high waste value of around 12 million tonnes. In Africa, Algeria is one of the four dominated apple-producing countries, alongside South Africa, Egypt and Morocco, with an estimated production of 5,668,235 quintals in 2020. In recent years, apple cultivation has spread to several regions, including Blida, Médéa, Ain Defla, Batna, Khenchela, Mascara,

Tiaret, Djelfa and Sidi Bel Abbès, which are the main apple-producing areas in Algeria [6].

In particular, the province of Mascara, in western Algeria, has increased in importance in recent years, producing 29,400 quintals of apples in 2020 (DSA Mascara).

In the supply chain, 54% of total waste is generated during the cultivation and post-harvest stages, while 46% results from processing and distribution [7].

Consequently, several factors are responsible of apple waste: storage processing, distribution including mechanical damage, and apple composition (high sugar and moisture value) [2, 5, 8].

On the other hand, the spoilage of apples is mainly due to physical, chemical and microbial impacts. Currently, fungi species are the most factor of spoilage, with significant damage including *Penicillium*, *Aspergillus* and *Alternaria* ...ect [8]. During harvesting season this waste is widely available [9].

Waste apple are valuable resources of nutriment, vitamin, phytochemicals compounds. These natural

commodities treated as raw materials, can be a potential source of bioactive compounds with importance antioxidant activities. It is a necessity for sustainable growth, as well as a solution to economic constraints and environmental pollution [1, 10, 11].

In general, seed and peel wastes account for 20% of the apple total weight, with the seeds being the smallest portion of this waste, which have a total mass of approximately 0.7–4% of the fruit [12]. Furthermore, apple seeds, contain 27% of oils, which are a rich sources of carotenoids, phenolic acids, tocopherols, and fatty acids (over 95% of which are unsaturated fatty acids including monounsaturated and polyunsaturated); moreover the apple seeds oil is characterized by fatty acids predominant such as oleic acid, and linoleic acid respectively [4]. In addition, oil or seed cake could also be considered a valuable by-product [13]. According to Bochkarev et al. [14], the composition of the press cake, including its protein, fat and fiber content, depends on the cultivar, environmental factors, cultivation practices, and oil extraction methods, such as cold pressed or at high temperature [7, 13, 15]. Tian, Zhan and Li [16], reported significant amounts of protein (38.85–49.55%), ash (4; 31–5.12%), and dietary fiber (3.92–4.32%) in the press cake (defatted apple seeds) after oil extraction [17]. Apple seed powder has been used in a wide range of applications.

For this reason, several studies [1–3, 5, 11, 18–22] have focused on the valorization of apple seeds for vegetable oil extraction.

The physico-chemical quality and yield of vegetable oil has been characterized by the type of extraction process, a classical method by using Soxhlet and Twisselmann apparatus or therefore innovative technique, cold extraction, ultrasound-assisted extraction (UAE), microwave-assisted extraction (MAE), supercritical fluid extraction (SFE), pressurized liquid extraction and pulsed electric fields (PEF), supercritical fluid extraction (SFE) [1, 23], and solvent selected such as ethanol, n-heptane, chloroform, n-hexane, petroleum ether, diethyl ether, and isopropanol. Indeed for the extraction of oils and fats from fruit seeds, n-hexane is the most widespread solvent, due to its polarity, affinity and miscibility with lipids [24, 25].

Fatty acids are mainly identified by gas chromatography. Depending on their precision and effectiveness to separate complex mixtures, to quantify molecules, and the characterization of different fraction of oils, such as saponifiable and unsaponifiable. The GCMS was extensively chosen to analyze aromatic compound, volatile solution, and to detect trace levels of residues in vegetable and essential oil [3].

Seed oils have been employed for centuries in a wide variety of applications, ranging from home to industrial uses [26].

In cosmetic industries, apple seed oil has been employed in various products, including body lotion, skin cream,

and toothpaste etc. Apple seed oils enriched with tocopherol could be used as natural sources of vitamin E. This is the main lipophilic antioxidant, consisting of α -, β -, γ - and δ -tocopherol [21]. Moreover, the function of the four homologs (α , β , γ and δ) tocopherol is to protect polyunsaturated fatty acids against oxidation, and to enhance the oxidative stability of oil, also have a considerable effect on human health by protecting the neurological system, preventing cardiovascular disease and cancer, and providing anti-inflammatory, and anti-diabetic effects [18, 27]. The aim of this study was to perform a physicochemical characterization of *Malus domestica* seed oil, extracted from cold storage apple waste in western Algeria, using two different solvents: n-hexane and petroleum ether. Fatty acid profiles were determined using gas chromatography (GC), and a comparative analysis of the two oil extracts was conducted. The second objective was to characterize the alpha-tocopherol content using high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC–DAD). Literature research indicates that no prior studies have explored the valorization of apple seed waste from cold storage fruits.

Materials and Methods

Chemicals and Reagents

The chemicals products and solvents used in this study such as potassium hydroxide KOH, ascorbic acid, ultra-pure water, phosphoric soda acid, tampon phosphate, solution of wjjs. The Carrier gas as hydrogen for GC-FID, the Solvents of extraction was n-Hexane and Petroleum ether, ethanol, chloroform and Standard GC-FID (Supelco @37 Component FAME Mix), Standards for Hplc analysis of alfa tocopherols.

All chemicals products and were purchased from sigma Aldrich.

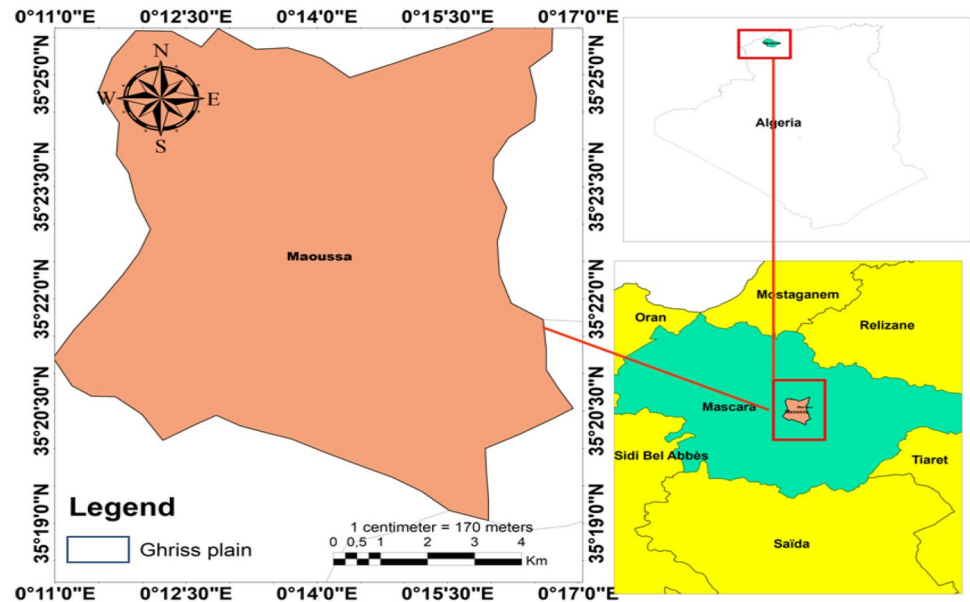
Collection of Plant Material

The apples of the Golden Delicious variety were cultivated and collected from different areas (Maoussa, Sidi Kada, and Tighennif) within the Ghriss plain (located between 35° 07' and 35° 31' N latitude, and between 0° 00' and 0° 26' E longitude), in Mascara Province during September 2021. The northern limit of the plain is distant approximately 50 km from the Mediterranean Sea, while its southern boundary is located about 100 km from the Saharan Atlas. Therefore, it is subject to Mediterranean and Saharan influences.

The study area is characterized by a semi-arid climate and recurrent drought [28, 29].

After harvest, the apples were stored in cold storage in Maoussa, Mascara Province, in western Algeria (Fig. 1), at a temperature of (3–4 °C) and a relative humidity RH of

Fig. 1 Geographical location of the collection and storage areas using ArcGIS



(90–95%), for a period of three months, from September to November 2021. The waste from the Golden Delicious apples was subsequently collected from cold storage in Maoussa région. The variety was identified after consultation with Dr. Zahafi B., a Doctor of Botany in the Department of Agronomy at Mascara University.

Sample Preparation

Seeds were collected manually, washed, and eventually air dried for 7 days at 18–20 °C before being stored until grinding. The resulting seed powder was then subjected to oil extraction using two different solvents, Fig. 2 provides a representation of this step.

Extraction of Vegetable Oil

The seed oil extraction was carried out according to the international method, following the IUPAC standardized method [24, 30, 58].

- 20 g of seed powder were transferred into a cellulose thimble and placed inside a Soxhlet apparatus.
- The sample was extracted with 300 ml of n-hexane at 69 °C for 6 h.
- For the second oil extraction, 300 ml of petroleum ether was used at 60 °C to obtain the vegetable oil.
- The solvent fraction was evaporated using a rotary evaporator and stored in glass vials at +4 °C until further analysis. The first oil extract was labeled HH and the second HEP.

Lipid Yield

The lipid yield of the apple seeds oils was evaluated, using the following equation [31]

$$\text{Lipid yield (\%)} = \frac{W_s}{W_o} \times 100$$

where:

- W_s : the weight of apple seed per g
- W_o : the weight of seed oil extract by mass (g)

Physico-chemical Properties

The Physicochemical properties of apple seed oil were determined according to the American Oil Chemist's Society, AOCS, and the Association of Official Analytical Chemists AOAC methods [32–34]

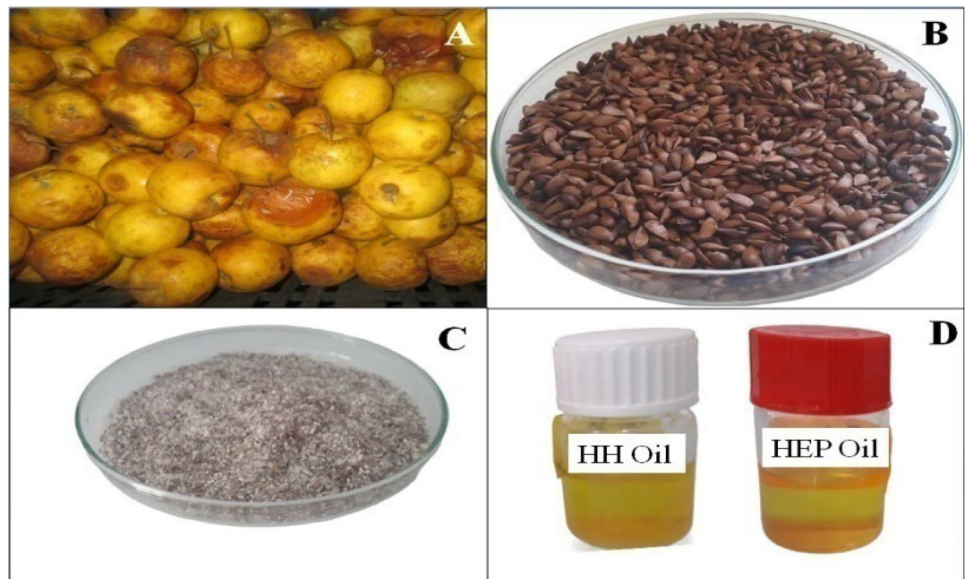
The refractive index was determined using the Abbé réfractometer method (921.08) [35]. Moisture content was measured by calculating the weight loss after heating in an oven at 105 °C, following IUPAC standards [30, 36, 37].

The acid value, iodine value, saponification value, and peroxide value were analyzed using the following methods: Cd 3 d-63, Cd 3-25, Cd 1 d-92, and Cd 8–53 respectively. For the iodine value, carbon tetrachloride CCl_4 was replaced by dichloromethane CH_2Cl_2 .

Table 1 The physicochemical properties of the apple seed oils extracted using a Soxhlet

	HH oil	HEP oil	P value
Yield %	23.06 ± 0.01	22.55 ± 0.01	0.000
Color	Light yellow	Golden yellow	–
Odor	Aromatic like almond oil	Aromatic like almond oil	–
Moisture content %	16.90 ± 0.09	8.37 ± 0.35	0.000
Acid value (mg KOH/g oil)	0.332 ± 0.20	0.363 ± 0.21	0.104
Saponification value (mg KOH/g MG)	112.2 ± 0.53	70.04 ± 1.20	0.000
Iodine value (g I ₂ /100 g)	101.84 ± 1.13	106.93 ± 1.20	0.006
Peroxyde value (meq O ₂ /kg oil)	5.233 ± 0.21	6.167 ± 0.21	0.005
Refractive index	1.4711 ± 0.01	1.4685 ± 0.01	0.000

Value are mean ± SD of three measurements (n = 3)

Fig. 2 Sample preparation: **A** Apple waste from storage room, **B** Apple seeds, **C** Apple seed powder, **D** Apple seed vegetable oils

Fatty acid Profiling

Preparation of Fatty Acid Methyl Esters FAME

According to the international standard AOCS [38, 39], the FAME were prepared through a transesterification process [35, 40], with slight modification. 0, 2 mg of oil sample was dissolved with 2 ml of n-hexane, and mixture an 0, 2μL of 1 N KOH solution (the potassium hydroxide was prepared in methanol). A thorough mixing and decantation process is applied, the superior phase was injected into GC-FID device.

Determination of Fatty Acids

The fatty acid methyl esters profile of the apple seed oil were analyzed, according to the method reported by Xu et al. [41], cited by Wang et al. [42] using a gas chromatography (GC) system (7820 A; Agilent technologies, CA, USA), equipped with an apolar capillary column (SP2560 100 m × 0,25 mm

ID; 0,2 μm), and fitted with a split injector from flow 400 ml/min, and flame ionization detector(FID). The temperature of detection was set 260 °C, the carrier gas using was Hydrogen at a constant linear velocity of 41 cm/second. The injection volume was 1 μl in temperature adjusted to 100 °C for 5 min, increased to 240 °C for 20 min and the split ratio was(1:20). The oven program temperature was 120 °C for 1 min, increased to 175 °C at a rate of 10 °C/min for 10 min. Then from 210 °C at a rate of 5 °C/min for 5 min and increased to 230 °C at a rate of 5 °C/min for 5 min.

the fatty acids were identified by comparing their retention times with standards type (superco@37 component FAME mix), and the peak area percentages of the compounds were calculated based on FID data [43].

Determination of Alfa Tocopherol

The tocopherol content of the oil samples was carried out according to the international Method AOCS using HPLC–DAD [35] with a some modification of laboratory.

Sample Preparation

2 ml of vegetable oil was dissolved into hexane/H₂O solution, (hexane diluted in ultra-pure water 2:1 v/v). The mixture was added in sonicator for 1 h to the maximum degree. After then an decantation, the superior phase was separated, and the solvent was evaporated using a rotary evaporator “laboratory protocol”. The sample was solubilized in 2 ml of MeOH and homogenized by vortexing. Finally the solution was filtered through a 0,22 µm syringe filter and was injected into the Hplc device.

Quantification of Alfa Tocopherol

The Hplc conditions for alfa-tocopherol analysis were achieved following the method of Wang et al. [42].

For the identification and quantification of alfa-tocopherol in the oil sample, analysis was performed using an Hplc system (Agilent technology 1200), equipped with detector type (diode array detection DAD), the excitation and the emission was programmed at wavelength $\lambda = 290/4$ nm, and at $\lambda = 400/100$ nm respectively. The pressure was between 138 and 142 bar, the injection volume was 10 µl. A silica column type C18:HIC-LISPRD18-5-250 A LICHROSPHER 5µm 100rp-18 (250 cmx4.6 mm) was combined at a temperature of 35 °C, with an isocratic mobile phase A and D containing ultra-pure water with (0,5% phosphoric soda acid) and methanol ultra-pure in a ratio of 5: 95 V/V respectively, at a flow rate of 1,5 ml/min.

Statistical Analysis

The statistical analysis of the physicochemical properties of apple seed oils was performed in triplicate, and the data are expressed as means \pm standard deviation. Student’s t-test was used to determine the statistical significance of the index values using SPSS software (version 27). ($P < 0.05$) was considered statistically significant. The results are shown in Table 1.

Results and Discussion

Physico-chemical Properties

The oils had an aromatic odor similar to that of almond oil and were liquid at room temperature, with Golden yellow

colour (HEP oil) and light yellow for oil extracted with n-hexane (HH); According to Walia et al. [22], the color of oil extracted from the apple seed of different varieties such as *Red Delicious*, *Golden Delicious*, *Royal Delicious* and *Red chief* was noted to be yellow, while Akšić et al. [18] was noted that is light yellow.

Soxhlet extraction using polar solvents such as hexane and petroleum ether was a simple, and effective technique for obtaining vegetable oils from fruit seeds. The results revealed a high variability in total oils when compared to other works Table 1.

According to statistical analysis using Student’s t-test, the ($P < 0.05$) of all index measurements indicate the influence of the extraction solvent in changing the physico-chemical parameters of HH and HEP apple seed oils, such as moisture content, refractive index, saponification value, iodine value and peroxyde value. While the P value of the acid index (0.104) was significantly different to the others index values. The difference in solvents had no influence on the acid value.

The yield of apple seed oil of Golden Delicious variety extracted with n-hexane was (23,6%) Which was approximately equal to the yield of oil from seed by product juice industry provided by Walia et al. [22], were noted between 22.33 and 1.5% and to the yield oil extracted using ultrasound-associated extraction 23.03% [44], while earlier studies by Yu et al. [45], and Arain et al. [2], reported a higher percentage of the oil extract (27 0.5%) and (26 0.8%) respectively. However, the contents of the extracted oil were significantly higher than the previous work using apple pomace achieved by Kumar et al. [19] were (19.7%). Furthermore, the oil yield extracted with petroleum ether was 22.55%, while is slightly higher than those obtained by using Twisselmann apparatus (21 0.9%) [20]. Also, lower than those mentioned by Yukui et al. [25] and Tian et al. [16] of Red Star and Fuji varieties; where 29.1% and 20.6–24.3% respectively.

The results of oil yield extracted by petroleum ether solvent and soxhlet apparatus was being close to oil extracted using Supercritical CO₂ methode 22% [46].

The difference in oil yield can be explained by variation in plant variety, cultivation climate, location, ripening stage, extraction method and solvents.

Apple seed oil extracted with n hexane displays a refractive index of 1.4711 which was higher than comparable value described by (Walia et al. and Tian et al.) [16, 22] of two varieties of Fuji and Red new star and being close to the oil extracted from the Quinguan variety [45] and quite similar to those of grape seed oil 1.47 [47]. However the second oil extracted with petroleum ether HEP was 1.4685; This value is lower than described in studies of [22, 45] and the values are comparably similar to edible oils such as soybean oil and sunflower oil, which are 1.46 and 1.46 respectively; and higher than palm oil [48].

The moisture contents of waste apple seed oils varied between $(8.43 \pm 0.35$ and 16.90 ± 0.09 g/100 g) for HEP, HH sample respectively. The highest value was found for the oil extracted using n-hexane when compared with that obtained by Yu et al. [45] (10.2 g/100 g) for Quiguan apple seed. Furthermore, the moisture value in the HEP sample (8.43 g/100 g) is somewhat similar to the value (7.13–9.26 g/100 g) described by Bada et al. [37].

The Acid value indicates the count of carboxylic acid groups contained in the fatty acids [22] and the rate of rancidity [49]. In general, higher acid values of the oils suggest more significant hydrolytic deterioration, leading to a generation of undesirable odors and flavor [16].

The Acid value of waste apple seed oils (0.332 ± 0.20 mgKOH/g oil) HH and (0.3633 ± 0.21 mg KOH/g oil) HEP were lower than the maximum level of acid value of refined oils (0.6 mg KOH/g oil) expected for a vegetable oils [47]. The acid value of HH sample was lower than apple seed oil from mixtures of different varieties such as (Red Delicious, Golden Delicious, Royal Delicious and Red chief) (0.428 mg KOH/g oil) [22]. Moreover the AV of HEP sample was lower than oil extracted by Fuji, Red New star varieties ($0.403 - 0.432$ mg KOH/g oil) [16]. While, the acid number of HH and HEP samples was higher than others vegetable oils, from mustard seed oil (0.121 mgKOH/g oil) and approximately equal to amount of sunflower seed oil (0.389 mg KOH/g oil) containing more unsaturated fatty acids. The high acid value of apple seed oil reveals the availability of more free fatty acid [22].

The peroxyde value of the apple seed oils from Golden Delicious variety were 5.233 ± 0.21 (HH) and 6.167 ± 0.21 (HEP) meq O_2 /kg oil, with indicate the primary oxidation products was lower than the maximum acceptable limit for refined oils (10 meq O_2 /kg oil) established by CODEX Alimentarius [47]. HH oil had lower peroxide value than HEP oil. Lower value for peroxide have been reported for oil extracted by Fuji and New Red Star varieties (2.43–2.52 mmol O_2 /kg oil) respectively [16]. Lower PV demonstrates that oil is edible due to its oxidative stability. Consequently, the lower level of acid and peroxide values of waste apple seed oils indicate that they have a long shelf-life due to their enhanced oxidative stability [50].

Acid and peroxyde value are essential parameters for assessing the quality of vegetable oil and for determining its suitability for culinary and industrial purposes [35]. The Iodine value determines the amount of unsaturation present in the fatty acids. The high iodine value indicated a high degree of unsaturation.

The iodine value of apple seed oil from the Golden Delicious variety grown on the Ghriiss plain in western Algeria varied between 101.84 ± 1.13 (HH) and 106.93 ± 1.20 (HEP) g I_2 /100 g extracted with different solvents n-hexane and petroleum ether respectively. Waste apple seed oil had

the highest iodine value which is correlated to its higher content of unsaturated fatty acids, particularly linoleic and oleic acids [35].

A high level of iodine value (129.3 g I_2 /100 g) was recorded for Quiguan seed oil [45], and 121.8 g I_2 /100 g [22]. The iodine value of HH was higher than reported by Tian et al. [16] from Fuji variety (94.14 I_2 /100 g), and quite similar to apple seed oil (101.15 I_2 /100 g) value cultivated in China from New Red Star variety. In addition, the iodine value of cotton seed oil (100–123 I_2 /100 g), maize oil (103–135 I_2 /100 g), and sesame seed oil (104–120 I_2 /100 g), were relatively comparable to apple seed oils iodine value [47]. The relatively high iodine value classifies apple seed oil as a semi-drying oil category, making it suitable for various applications, such as the production of alkyd resins, varnishes, polishes, etc. [45].

The saponification value represents the quantity of potassium hydroxide (KOH) in milligrams, necessary to neutralize the fatty acids resulting from the complete hydrolysis of 1 g of oil or fat [49]. The saponification values ($112.2 \pm 0.53 - 70.04 \pm 1.20$ mg KOH/g oil) were calculated in the present analysis of waste apple seed oils (HH and HEP samples).

The saponification values of HH and HEP samples were found to be lower than those described in other works, [45] (186.05 mg KOH/g oil), and [16] (179.01–197.25 mg KOH/g oil). While Walia et al. [22] recorded (184.91 mg KOH/g oil). Furthermore, the saponification numbers of the waste apple seed oil were lower, as compared to some edible oils, grape (188–194 mg KOH/g oil), Maize (187–195 mg KOH/g oil), sesame (186–195 mg KOH/g oil), Soyabean (189–195 mg KOH/g oil), and Sunflower (188–194 mg KOH/g oil) seed oils [47].

The physico-chemical properties of apple seed oils (HH) (HEP) showed interesting results, as compared to other oils extracted by different varieties (Fuji, New Red Star, Quiguan), and the mixture of different varieties [22] and to other edible oils, besides to its high unsaturated fatty acid content over (88%), and in accordance of normal value expected for high polyunsaturated oils in CODEX Alimentarius [47]. These data may be attributed regarding to climatic conditions of cultivation regions, genetic variation and storage processes. The method and solvents used to extract the oils are a considerable influence on its physico-chemical composition, nutritional value and sensorial parameters, and allows pharmacological, cosmetic purposes, and edible applications.

Fatty Acids Profile

The GC-FID profile of the apple seed oils contents identified, is given in Fig. 3 for HH oil, and Fig. 4 for HEP oil, and summarized in Table 2.

Table 2 Fatty acids profile of apple seed oils characterized by GC-FID

Fatty acids	Retention time RT/ min	HH Oil	HEP Oil
C16:0 Palmitic acid	14.99	7.29	7.29
C16:1 Palmitoleic acid	16.134	0.05	–
C17:1 cis-Heptadecenoic acid	18.513	0.04	–
C18:0 Stearic acid	19.595	2.04	2.23
C18:1 C (n-9) Oleic acid ω 9	20.84	33.17	36.13
C18:2 C (n-6) Linoleic acid ω 6	22.596	54.78	50.9
C20:0 Arachidic acid	23.385	1.09	1.35
C20:1(n-9)cis-11-Eicosenic acid	24.385	0.31	0.48
C22:6 (n-3) Cis4, 7, 10, 13, 16,19 -Docosahexaenoic acid (DHA)	32.148	0.10	0.21
Fatty acid groupe %			
SFA	–	10.42	10.87
MUFA	–	33.57	36.61
PUFA	–	54.88	51.11

Oil HH oil extracted with n-hexane, *Oil HEP* oil extracted with petroleum ether, *SFA* saturated fatty acid, *MUFA* monounsaturated fatty acid, *PUFA* polyunsaturated fatty acid, ω *FA* Omega fatty acid. UFA OHH = 88.45%; UFA OHEP = 87.72%

(–): not determined

The significance of [bold] is used to illustrate the amounts of the predominant fatty acids: linoleic and oleic acids

The results was compared by others findings of different studies using published data research showed in Table 1 (Supplementary material).

The fatty acid compositions of apple seed oils are presented in Table 2. The total fatty acids found in apple seed HH were (98.87%). Among these, saturated fatty acids (SFA) accounted for 10.42%. Monounsaturated fatty acids (MUFA) were recorded at 33.57%, while polyunsaturated fatty acids (PUFA) constituted 54.88%. Collectively, unsaturated fatty acids comprised 88.45% of the total. Similarly, the apple seed oil extracted using petroleum ether solvent HEP contained a total of 98.59% fatty acids. Here, SFA amounted to 10.87%, MUFA to 36.61%, and PUFA to 51.11%. The combined unsaturated fatty acids constituted 87.72% of the total. These findings were different with those reported in another studies. According to Yukui et al. [25] the total fatty acids present in apple

seeds were reported at 79.34%. Among these, a significant portion, ranging from 70.6% to 90.3%, comprised unsaturated fatty acids (UFAs), with only 8.74% to 13.94% being saturated fatty acids [19]. Monounsaturated fatty acids (MUFA) accounted for 26.9%, while polyunsaturated fatty acids (PUFA) were determined at 58.30% [22, 25]. The content of unsaturated fatty acids in the samples HH and HEP (88.45, 87.72%), was higher than that of the saturated ones (10.42, 10.87%). The substantial proportion of unsaturated fatty acids, which accounts for around 88% of apple seed oil, suggests its potential as a reliable edible oil, and beneficial dietary supplement [46].

In our investigation, linoleic acid emerged as the predominant fatty acid, comprising a significant concentration of 54.78% in the HH sample, followed by oleic acid at 33.17%. These levels are higher than those reported by other researchers [2, 22, 45]. Several studies have noted that the highest concentrations of linoleic acid were observed in oil extracted from the seeds of various varieties, including Golden Delicious, New Red Star, and Fuji.

Moreover, linoleic acid remained the most prominent fatty acid in the HEP sample, accounting for 50.9%, followed by oleic acid at 36.13%, these amounts are higher than those obtained in the oil studied by Yukui et al. [25] and similarly to than found in the oil extracted from Red New star reported by Tian et al. [16] and lower than those found by Matthäus and Özcan [1] and Tian et al. [16] from Golden and fuji varieties respectively.

These data corroborate results from other authors [1, 16, 25], where linoleic acid emerged as the most predominant fatty acid, followed by oleic acid, palmitic acid, stearic acid, and arachidic acid. On the contrary, the predominant fatty acid in oil extracted from a mixture of apple seeds, including Golden Delicious, Royal Delicious, Red Delicious, and Red Chief varieties, was oleic acid at 46.5%, as described by Walia et al. [22]. Similarly, Arain et al. [2] reported oleic acid as the predominant fatty acid, at 45.5% in the oil of seed Golden Delicious variety, whereas in another varieties such as Royal Gala, Red Delicious, and Pyrus Malus [2] as well as Red Fuji [25], Fuji, New Red Star [16], and Starking [1], the linoleic acid emerged as the dominant unsaturated fatty acid, with concentrations ranging from 43.03% to 51.4%. The abundance of oleic acid enhances the oils stability, rendering it suitable for a various of industrial applications [46]. Therefore, apple seed oil belongs to the oleic-linoleic acid group of oils, which is characteristic of many common vegetable oils, recognized for their potential to lower LDL cholesterol, and reduce the risk of heart diseases [45].

An additional seven fatty acids from apple seed oils were detected in GC profile. The amount of palmitic acid found in the present samples HH and HEP (7.29%) was very similar to the results from [22], and approximately equal to the results provided by Yu et al. [45], from

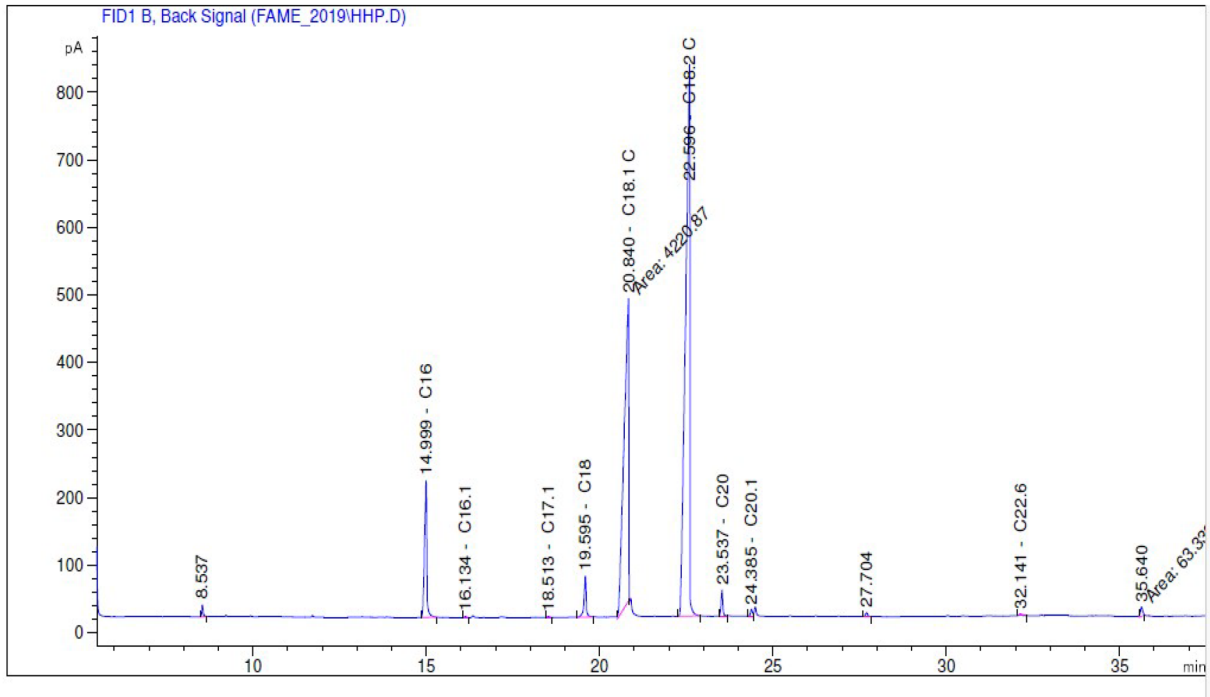


Fig. 3 Chromatogram of fatty acids profile of HH oil using GC-FID

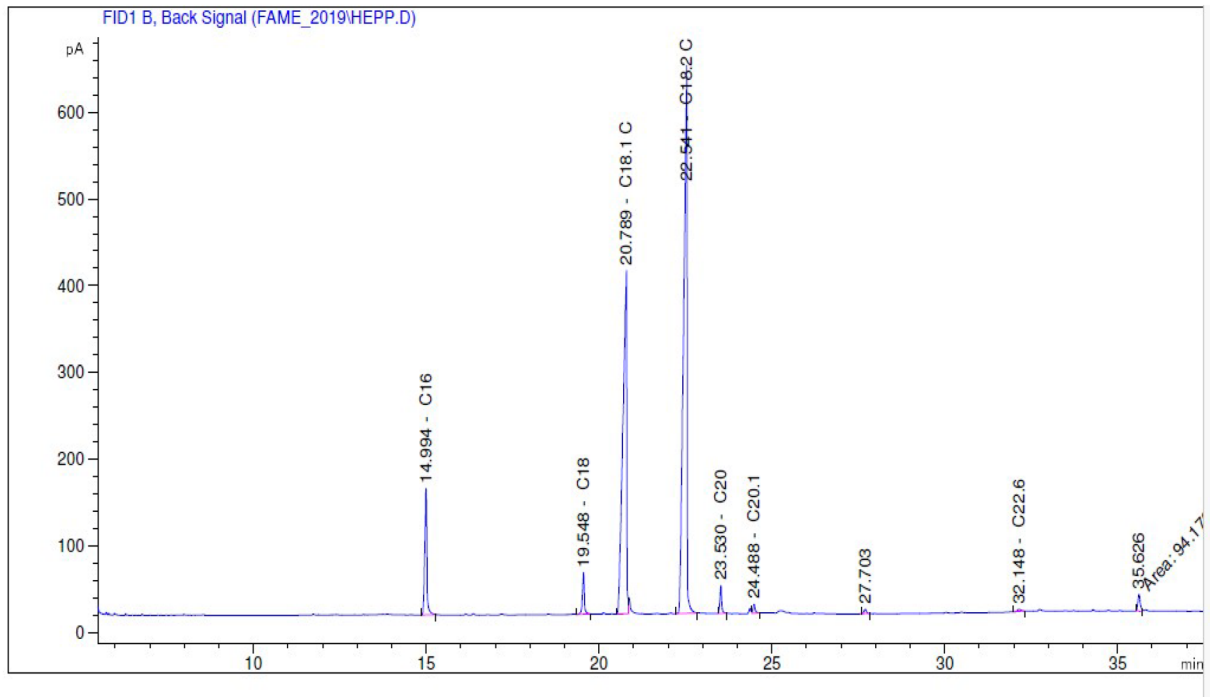


Fig. 4 Chromatogram of fatty acids profile of HEP oil using GC-FID

Qinguan cultivar, [2] from Golden Delicious, and [1] (7.0–7.1%). However, it was higher than those described by [16, 25] at (5.6–6.6%).

The stearic acid 2.04–2.23%, Arachidic acid 1.09–1.35%, cis-11-Eicosenic acid 0.31–0.48%, and Cis4, 7, 10, 13, 16,19-Docosahexaenoic (DHA) C22:6 (n-3) acid 0.10–0.21% were found in this samples HH and HEP respectively, with lower concentrations. Palmitoleic C16:1 and cis-Heptadecenoic C17:1 acids, were also identified in trace amounts (0.05, 0.04%) from HH sample but were not detected in the composition of sample HEP. These data are somewhat in agreement with those obtained from different varieties and extracted by petroleum ether solvent, as reported by [1, 16, 25], while the absence of arachidic acid and cis-11-Eicosenic acid in the study of [1].

The cis-Heptadecenoic (C17:1), and Cis4, 7, 10, 13, 16,19-Docosahexaenoic (DHA) (C22:6 (n-3)) acids were only present in our study from Golden Delicious variety. Notably, C17:1 was initially present in the oil extracted by hexane solvent HH. While linolenic acid, docosanoic acid, and heptadecanoic acid were not detected.

However, Arain et al. [2] recorded their presence at lower levels. Additionally, Matthäus and Özcan, [1] reported 0.6–0.3% of linolenic acid in the oil of seeds Golden and Starking varieties, a finding similar to Yukui et al. [25] study (0.6%) for Red Fuji seed oil.

The concentrations of C18:0, C18:1 C (n-9), C20:0, C20:1(n-9) and C22:6 (n-3) of sample HEP were much higher than those of oil obtained by hexane extraction HH, while the linoleic acid amount contained in HH oil had comparatively higher concentrations than that in the oil obtained by petroleum ether extraction. This high content makes apple seed oil subject to oxidation. The solvent, method, extracting temperature, and the source of the seed fruits (cold room, waste industry, market) may contribute to these changes [25].

The fatty acid profile in various apple cultivars can indeed vary significantly, due to genetic and abiotic factors such as climate, soil conditions, horticultural practices, sunlight exposure, and harvest period and location, as noted by Górnaś et al. [44]. It is particularly interesting to note that the fatty acid profile of apple seed oils analyzed from different varieties is similar to those found in other vegetable oils such as corn, sunflower, and sesame seed oil [21].

Finally this data underscores the beneficial properties of vegetable oils of apple seed, due to their considerable potential for various biological activities. For instance linoleic acid for reducing LDL concentration, consequently decreasing the occurrence of cardiovascular disease (CVD), mortality and their importance for skin barrier function. In addition, oleic acid exhibits potent anti-inflammatory effects; arachidic acid plays a crucial role in the development and functioning of brain cells [51].

Moreover, cis-10—Heptadecenoic acid (C17:1) shows significant potential for its antitumor activity [52, 53].

Alpha Tocopherol Determination

Végetable oils served as the most source of vitamin E in the average diet [54]. While vitamin E was the main lipophilic antioxidant, it includes isomers such as α -, β -, γ -, and δ -tocopherol, as well as tocotrienols [21], synthesized by photosynthetic organisms, these compounds are among the most essential natural antioxidants [18, 48]. Furthermore, they are recognized for enhancing oil stability, and providing various health-promoting benefits [55]. Vitamins function as coenzymes or components of enzymes, and are involved in various metabolic processes [19]. Because of their antioxidant properties, the content and composition of vitamin E-active compounds are important factors for the assessment of seed oils [1]. Four homologues of vitamin E (α , β , γ , and δ) help to promote and expedite biochemical reactions across cell membranes, and shield polyunsaturated fatty acids from oxidation, especially during seed storage, and at low temperature [18].

The results are shown in Figs. 5, 6 and summarized in Table 3 present the α -tocopherol content analyzed using HPLC–DAD of different samples of apple seed oils HH and HEP from Golden Delicious variety (Figs. 5, 6).

The highest concentration of α -tocopherol from the n-hexane extracted oil HH (540 mg/kg oil), followed by the petroleum ether-extracted oil HEP (440 mg/kg oil). The difference can be attributed to the nature of the solvents. The α -tocopherol isomer content of apple seed oil HEP was lower than the findings described by Matthäus and Özcan [1] (514–544 mg/kg oil) from Golden and Starking varieties respectively. These levels were higher than those obtained in the study by Pieszka et al. [56] (417 mg/kg oil), the resulting amount of α -tocopherol content in HH oil

Table 3 Alpha-tocopherol analysis of apple seed oils using HPLC–DAD

Sample	α -tocopherol mg/Kg oil
HHoil	540
HEPoil	440
Published data (ref)	
Golden	514
Starking [1]	544
[56]	417
[2]	6.4%
[37]	846.8
[21]	439

The significance of [bold] is used to highlight the amounts of the α -tocopherol content in HH and HEP oils

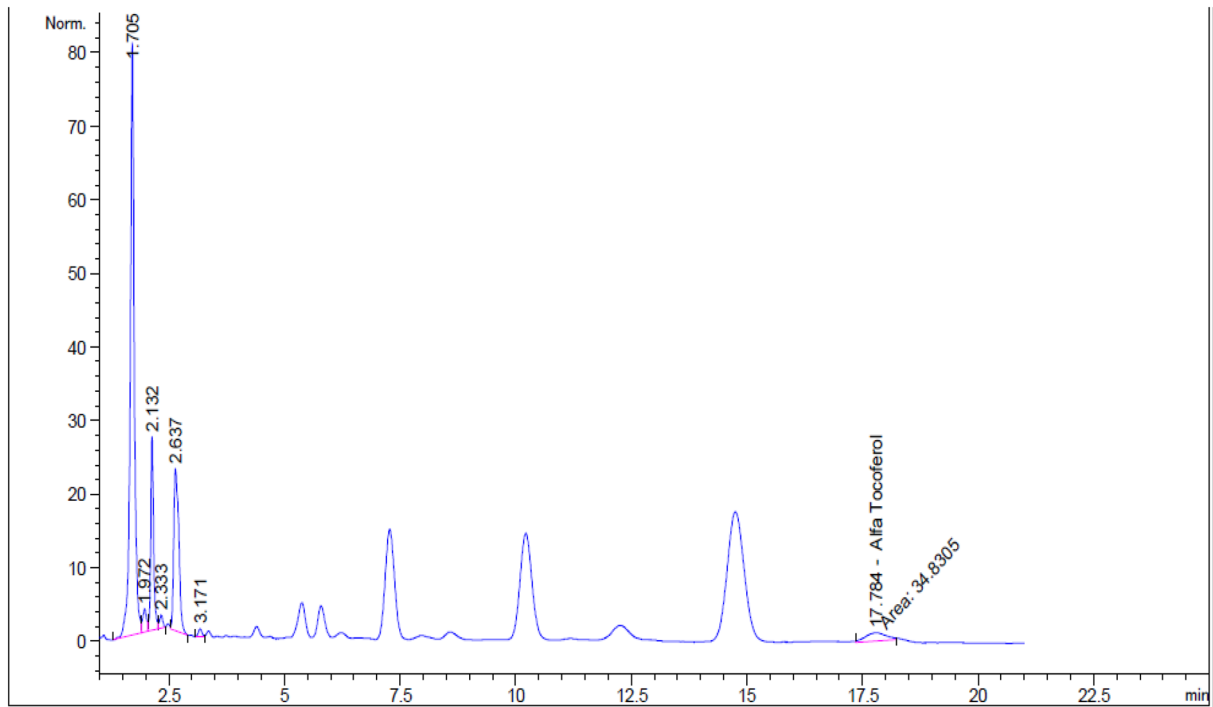


Fig. 5 Chromatogram of α -tocopherol content in HH oil by HPLC–DAD

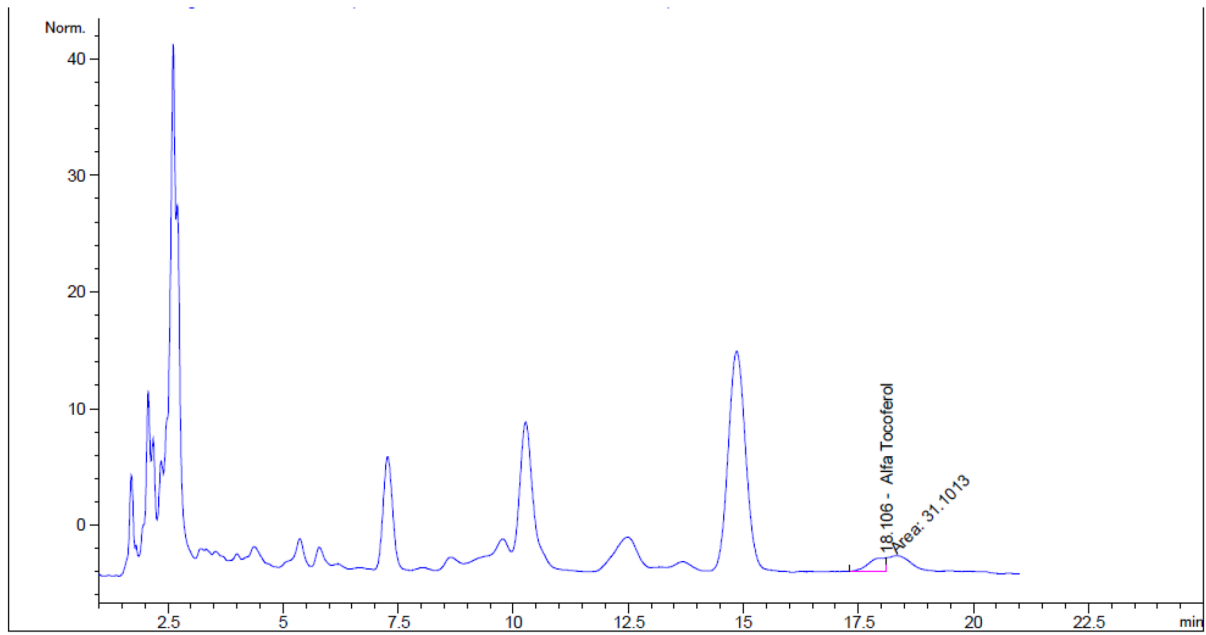


Fig. 6 Chromatogram of α -tocopherol content in HEP oil by HPLC–DAD

was higher than those reported by Rodríguez Madrera and Valles [21] (439 mg/kg oil) from the by-product industry, and lower than the result found in this study by Bada et al., [37] (84.68 mg/kg—1 with apple seed recognized by the DO of Asturias Spain. According to Arain et al. [2], the

amount of α -tocopherols in the unsaponifiable composition of apple seed oil from by-products of different varieties Golden Delicious, Red Delicious, Royal Gala and Pyrus Malus was 5.6; 5.4; 6.4; 6.1% respectively.

According to these results, Apple seed oils are an interesting source of fat-soluble vitamin E particularly alpha tocopherol (440–540 mg/kg oil).

The content of vitamin E active compounds in different seed oils from fruits and vegetables, could be a good source of antioxidants. Tocopherols are recognized for their ability to protect polyunsaturated fatty acids against peroxidation, Although the antioxidant and anti-inflammatory properties of α -tocopherol are widely recognized [1].

Recent studies into the extraction of vitamin E (440–540 mg/kg oil) from seed waste have demonstrated the interest in vitamin E, because of its potent antioxidant properties, and its role in the prevention of age-related diseases, cardiovascular disease, cancer, diabetes and obesity [21].

Conclusion and Future Prospects

The oils obtained from apple seeds waste of the Golden Delicious variety, from cold storage grown in the Ghriss plain in western Algeria, show interesting findings in terms of physico-chemical properties such as moisture content, refractive index, acid, saponification, iodine and peroxide values, which conform to the normal values given for polyunsaturated oils in CODEX ALIMENTARIUS [47, 57] and have a considerable yield (23.06; 22.55%). Additionally, apple seed oils are a rich source of essential unsaturated fatty acids (88.45; 87.72%), and alpha-tocopherols (540; 440 mg/Kg) for HH and HEP samples respectively. These findings suggest that apple seed oils could serve as a new source of edible oil production. In the GC FID analysis, linoleic acid is detected as the main fatty acid, comprising 54.78% in the HH sample, followed by oleic acid at 33.17%. In the HEP sample, linoleic acid is present at 50.9%, followed by oleic acid at 36.13%. The physicochemical properties (with the exception of the acid index), fatty acid profiles, and alpha-tocopherol levels of the HH and HEP samples were significantly different. The differences in oil composition are consequently due to apple variety, cultivation location, solvent, and method of extraction. Furthermore, the presence of alpha-tocopherol in oils indicates that they can be a good source of free radical scavengers. In conclusion, apple seed oil has the potential to serve as a valuable raw material in the preparation of cosmetic and pharmaceutical products.

In future investigations, our research will enhance into the effect of apple seed oils on biological activities, particularly their antioxidant, anti-inflammatory and anticancer properties.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s12649-025-03101-w>.

Acknowledgements We extend our special thanks to the Laboratory of Research on Biological Systems and Geomatics (LRSBG) at Mustapha

Stambouli University, Mascara, Algeria, and the Research Laboratory Application and Research Center (ALUM) at İğdır University, İğdır, Turkey, for supporting the experimental part of this study. In addition, I would like to express my gratitude to my Parents for their unconditional support throughout my studies, as well as to the technical staff at Research Center (ALUM) İğdır University, Mr Nurettin Paçal and Mr Serkan Tobal, for their kind help and facilities for chromatographic analysis.

Funding The authors have not disclosed any funding.

Data Availability All data analyzed during this study are included in this published article.

Declarations

Conflict of interest The authors declare that they have no competing interests.

References

- Matthäus, B., Özcan, M.M.: Oil content, fatty acid composition and distributions of vitamin-E-active compounds of some fruit seed oils. *Antioxidants* **4**, 124–133 (2015). <https://doi.org/10.3390/antiox4010124>
- Arain, S., Sherazi, S.T., Bhangar, M.I., Memon, N., Mahesar, S.A., Rajput, M.T.: Prospects of fatty acid profile and bioactive composition from lipid seeds for the discrimination of apple varieties with the application of chemometrics. *Grasas Aceites* **63**, 175–183 (2012). <https://doi.org/10.3989/gya.082811>
- Radenkovs, V., Kvišis, J., Juhnevica-Radenkova, K., Valdovska, A., Pūssa, T., Klavins, M., Drudze, I.: Valorization of wild apple (*Malus spp.*) by-products as a source of essential fatty acids, tocopherols and phytosterols with antimicrobial activity. *Plants* **7**, 90 (2018). <https://doi.org/10.3390/plants7040090>
- Fotirić Akšić, M., Dabić Zagorac, D., Gašić, U., Tosti, T., Natić, M., Meland, M.: Analysis of apple fruit (*Malus domestica* Borkh.) quality attributes obtained from organic and integrated production systems. *Sustainability* **14**, 5300 (2022). <https://doi.org/10.3390/su14095300>
- Pinto, D., de la Luz, C.-G., Silva, A.M., Delerue-Matos, C., Rodrigues, F.: Cosmetics—food waste recovery. In: *Food Waste Recovery*, pp. 503–528. Academic Press, Amsterdam (2021). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820563-1.00004-4>
- Abdessemed, S., Fellak, A., Abdessemed, A., Khan, A.: Status, challenges and opportunities for apple production in Eastern Algeria. *Horticul. Sci.* **49**(3), 147–153 (2022). <https://doi.org/10.17221/103/2021-HORTSCI>
- Petraru, A., Amariei, S.: Oil press-cakes and meals valorization through circular economy approaches: a review. *Appl. Sci.* **10**(21), 7432 (2020). <https://doi.org/10.3390/app10217432>
- Yin, L., Jayan, H., Cai, J., El-Seedi, H.R., Guo, Z., Zou, X.: Spoilage monitoring and early warning for apples in storage using gas sensors and chemometrics. *Foods* **12**, 2968 (2023). <https://doi.org/10.3390/foods12152968>
- Mirabella, N., Castellani, V., Sala, S.: Current options for the valorization of food manufacturing waste: a review. *J. Clean. Prod.* **65**, 28–41 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.10.051>
- Fidelis, M., de Moura, C., Kabbas Junior, T., Pap, N., Mattila, P., Mäkinen, S., Putnik, P., Bursać Kovačević, D., Tian, Y., Yang, B., Granato, D.: Fruit seeds as sources of bioactive compounds: Sustainable production of high value-added ingredients from

- by-products within circular economy. *Molecules* **24**, 3854 (2019). <https://doi.org/10.3390/molecules24213854>
11. Putra, N.R., Rizkiyah, D.N., Abdul Aziz, A.H., Che Yunus, M.A., Veza, I., Harny, I., Tirta, A.: Waste to wealth of apple pomace valorization by past and current extraction processes: a review. *Sustainability* **15**, 830 (2023). <https://doi.org/10.3390/su15010830>
 12. Acquavia, M.A., Pascale, R., Foti, L., Carlucci, G., Scrano, L., Martelli, G., Brienza, M., Coviello, D., Bianco, G., Lelario, F.: Analytical methods for extraction and identification of primary and secondary metabolites of apple (*Malus domestica*) fruits: a review. *Separations* **8**, 91 (2021). <https://doi.org/10.3390/separations8070091>
 13. Petropoulos, S.A., Fernandes, Â., Calhelha, R.C., Danalatos, N., Barros, L., Ferreira, I.C.F.R.: How extraction method affects yield, fatty acids composition and bioactive properties of cardoon seed oil? *Ind. Crops Prod.* **124**, 459–465 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.027>
 14. Bochkarev, M.S., Egorova, E.Y., Reznichenko, I.Y., Poznyakovskiy, V.M.: Reasons for the ways of using oilcakes in food industry. *Foods Raw Mater.* **4**, 4–12 (2016). <https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-4-12>
 15. Garcia-Mendoza, M.D.P., Espinosa-Pardo, F.A., Savoie, R., Etchegoyen, C., Harscoat-Schiavo, C., Subra-Paternault, P.: Recovery and antioxidant activity of phenolic compounds extracted from walnut press-cake using various methods and conditions. *Ind. Crops Prod.* **167**, 113546 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113546>
 16. Tian, H.-L., Zhan, P., Li, K.-X.: Analysis of components and study on antioxidant and antimicrobial activities of oil in apple seeds. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **61**(4), 395–403 (2010). <https://doi.org/10.3109/09637480903535772>
 17. Purić, M., Rabrenović, B., Raca, V., Pezo, L., Tomašević, I., Demin, M.: Application of defatted apple seed cakes as a by-product for the enrichment of wheat bread. *LWT Food Sci. Technol.* **130**, 109391 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109391>
 18. Akšić, M.F., Lazarević, K., Šegan, S., Natić, M., Tosti, T., Ćirić, I., Meland, M.: Assessing the fatty acid, carotenoid, and tocopherol compositions of seeds from apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.) grown in Norway. *Foods* **10**, 1956 (2021). <https://doi.org/10.3390/foods10081956>
 19. Kumar, M., Barbhai, M.D., Esatbeyoglu, T., Zhang, B., Sheri, V., Dhumal, S., Rais, N., Al Masry, E.M., Chandran, D., Pandiselvam, R., Senapathy, M.: Apple (*Malus domestica* Borkh.) seed: a review on health promoting bioactivities and its application as functional food ingredient. *Food Biosci.* **50**, 102155 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102155>
 20. Montañés, F., Catchpole, O.J., Tallon, S., Mitchell, K.A., Scott, D., Webby, R.F.: Extraction of apple seed oil by supercritical carbon dioxide at pressures up to 1300 bar. *J. Supercrit. Fluids* **141**, 128–136 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.02.002>
 21. Rodríguez Madrera, R., Suárez, V.B.: Characterization of apple seeds and their oils from the cider-making industry. *Eur. Food Res. Technol.* **244**, 1821–1827 (2018)
 22. Walia, M., Rawat, K., Bhushan, S., Padwad, Y.S., Singh, B.: Fatty acid composition, physicochemical properties, antioxidant and cytotoxic activity of apple seed oil obtained from apple pomace. *J. Sci. Food Agric.* **94**, 929–934 (2014). <https://doi.org/10.1002/jsfa.6337>
 23. Gao, P., Liu, R.J., Jin, Q.Z., Wang, X.G.: Comparison of solvents for extraction of walnut oils: lipid yield, lipid compositions, minor-component content, and antioxidant capacity. *LWT-Food Sci Technol* **110**, 346–352 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.100>
 24. Tsai, Y.H., Chiang, D., Li, Y.T., Perng, T.P., Lee, S.: Thermal degradation of vegetable oils. *Foods* **12**, 1839 (2023). <https://doi.org/10.3390/foods12091839>
 25. Yukui, R., Wenya, W., Rashid, F., Qing, L.: Fatty acids composition of apple and pear seed oils. *Int. J. Food Prop.* **12**, 7749 (2009). <https://doi.org/10.1080/10942910802054320>
 26. Toishimanov, M., Nurgaliyeva, M., Serikbayeva, A., Suleimenova, Z., Myrzabek, K., Shokan, A., Myrzabayeva, N.: Comparative analysis and determination of the fatty acid composition of kazakhstan's commercial vegetable oils by GC-FID. *Appl. Sci.* **13**, 7910 (2023). <https://doi.org/10.3390/app13137910>
 27. Kokalj Ladan, M., Kočevar, G.N.: Statistical FT-IR spectroscopy for the characterization of 17 vegetable oils. *Molecules* **27**, 3190 (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27103190>
 28. Bekkoussa, B., Meddi, M., Jourde, H.: Forçage climatique et anthropique sur la ressource en eau souterraine d'une région semi-aride: cas de la plaine de Ghriiss (Nord-Ouest algérien). *Sci. et changements planétaires/Sécheresse* **19**(3), 173–184 (2008)
 29. Hamimed, A., Zaagane, M., Oualid, A.T., Tefhah, M., Bakhtiar, D.: Monitoring daily actual evapotranspiration and surface water status over an agricultural area in western Algeria using remote sensing data. *Larhyss J.* **14**(1), 45–59 (2017)
 30. IUPAC: Standard Method 2.301, Preparation of Fatty Acid Methyl Ester, in *Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivatives*, 7th edn. Blackwell Scientific Pub, Oxford (1987)
 31. Koçak, M.Z.: Phenolic compounds, fatty acid composition, and antioxidant activities of some flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) varieties: a comprehensive analysis. *Processes* **12**, 689 (2024). <https://doi.org/10.3390/pr12040689>
 32. A.O.C.S.: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. American Oil Chemists' Society, Washington (1993)
 33. AOAC: Official methods of analysis of AOAC international, 19th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington (2000)
 34. Horwitz, W., Latimer, G.W.: AOAC International Official methods of analysis of AOAC International (2010). https://doi.org/10.1007/978-3-030-12473-1_24
 35. Piravi-vanak, Z., Azadmard-Damirchi, S., Kahrizi, D., Mooraki, N., Ercisli, S., Savage, G.P., Ahmadvandi, H.R., Martinez, F.: Physicochemical properties of oil extracted from camelina (*Camelina sativa*) seeds as a new source of vegetable oil in different regions of Iran. *J. Mol. Liq.* **345**, 117043 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.117043>
 36. AOCS: Official Method Cd 8–53. American Oil Chemists Society, Champaign (2003)
 37. Bada, J.C., León-Camacho, M., Copovi, P., Alonso, L.: Characterization of apple seed oil with denomination of origin from Asturias. Spain. *Grasas y aceites* **65**, e027 (2014). <https://doi.org/10.3989/gya.109813>
 38. AOCS: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, 5th edn. AOCS Press, Champaign (1997)
 39. AOCS: Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, p. 1998. AOCS Press, Champaign (1998)
 40. ISO: Animal and Vegetable Fats and Oils - Gas Chromatography of Fatty Acid Methyl Esters - Part 2: Preparation of Fatty Acid Methyl Esters. International Organization for Standardization, Geneva (2011)
 41. Xu, L., Wang, S., Tian, A., Liu, T., Benjakul, S., Xiao, G., Ma, L.: Characteristic volatile compounds, fatty acids and minor bioactive components in oils from green plum seed by HS-GC-IMS, GC-MS and HPLC. *Food Chem.* (2022). <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100530>
 42. Wang, Y., Su, Y., Shehzad, Q., Yu, L., Tian, A., Wang, S., Ma, L., Zheng, L., Xu, L.: Comparative study on quality characteristics of *Bischofia polycarpa* seed oil by different solvents: lipid

- composition, phytochemicals, and antioxidant activity. *Food Chemistry: X* **17**, 100588 (2023). <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100588>
43. Demirtas, I., Ayhan, B., Sahin, A., Aksit, H., Elmastas, M., Telci, I.: Antioxidant activity and chemical composition of *Sideritis libanotica* Labill ssp. *linearis* (Benth) Borm. (Lamiaceae). *Nat. Prod. Res.* **25**, 1512–1523 (2011). <https://doi.org/10.1080/14786410903293191>
 44. Górnaś, P., Rudzińska, M., Segliņa, D.: Lipophilic composition of eleven apple seed oils: a promising source of unconventional oil from industry by-products. *Ind. Crops Prod.* **60**, 86–91 (2014). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.003>
 45. Yu, X., Van De Voort, F.R., Li, Z., Yue, T.: Proximate composition of the apple seed and characterization of its oil. *Int. J. Food Eng.* (2007). <https://doi.org/10.2202/1556-3758.1283>
 46. Seymen, M., Uslu, N., Türkmen, Ö., Al Juhaimi, F., Özcan, M.M.: Chemical compositions and mineral contents of some hull-less pumpkin seed and oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **93**, 1095–1099 (2016). <https://doi.org/10.1007/s11746-016-2850-5>
 47. Codex Alimentarius. Standard for named vegetable oils-CXS 210–1999.
 48. Lamani, S., Anu-Appaiah, K.A., Murthy, H.N., Dewir, Y.H., Rihan, H.Z.: Fatty acid profile, tocopherol content of seed oil, and nutritional analysis of seed cake of wood apple (*Limonia acidissima* L.), an underutilized fruit-yielding tree species. *Horticulturae* **7**, 275 (2021). <https://doi.org/10.3390/horticulturae7090275>
 49. Ononogbu IC. Lipids in human existence. AP Express Publishers 2002.
 50. Khemakhem, M., Zarroug, Y., Jabou, K., Selmi, S., Bouzouita, N.: Physicochemical characterization of oil, antioxidant potential, and phenolic profile of seeds isolated from Tunisian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *J. Food Sci.* **86**, 852–859 (2021). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15636>
 51. Calder, P.C.: Functional roles of fatty acids and their effects on human health. *J. Parenter. Enter. Nutr.* **39**, 18S–32S (2015). <https://doi.org/10.1177/0148607115595980>
 52. Alves, S.P., Marcelino, C., Portugal, P.V., Bessa, R.J.: Short communication: the nature of heptadecenoic acid in ruminant fats. *J. Dairy Sci.* **89**(1), 170–173 (2006). [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(06\)72081-1](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72081-1)
 53. Fukuzawa, M., Yamaguchi, R., Hide, I., Chen, Z., Hirai, Y., Sugimoto, A., Yasuhara, T., Nakata, Y.: Possible involvement of long chain fatty acids in the spores of *Ganoderma lucidum* (Reishi Houshi) to its anti-tumor activity. *Biol. Pharm. Bull.* **31**, 1933–1937 (2008). <https://doi.org/10.1248/bpb.31.1933>
 54. Czaplicki, S., Ogrodowska, D., Derewiaka, D., Tańska, M., Zadernowski, R.: Bioactive compounds in unsaponifiable fraction of oils from unconventional sources. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **113**, 1456–1464 (2011). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201000410>
 55. Abbas, A., Anwar, F., Ahmad, N.: Apple (*Malus pumila*) Seed Oil. In: Ramadan, M. (ed.) *Fruit Oils: Chemistry and Functionality*. Springer, Cham (2019)
 56. Pieszka, M., Migdał, W., Gašior, R., Rudzińska, M., Bederska-Łojewska, D., Pieszka, M., Szczurek, P.: Native oils from apple, blackcurrant, raspberry, and strawberry seeds as a source of polyenoic fatty acids, tocopherols, and phytosterols: a health implication. *J. Chem.* **2015**, 659541 (2015). <https://doi.org/10.1155/2015/659541>
 57. Alimentarius, C.: Codex standard for named vegetable oils. *Codex Stan* **210**, 1–3 (1999)
 58. Paquot, C.: *Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives*. Elsevier, Amsterdam (2013)

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.



« J'ai appris que le succès ne doit pas être mesuré par la position qu'on a atteint dans la vie, mais par les obstacles qu'on a dû surmonter, tout en essayant de réussir. »

Booker T. Washington