

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET
DE FORMATION DOCTORALE
EN SCIENCES DE LA VIE,
SANTE ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE
DOCTORALE DE SCIENCES DE
LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND
TRAINING SCHOOL FOR LIFE
SCIENCE-HEALTH AND
ENVIRONMENT

DOCTORATE TRAINING UNIT OF
LIFE SCIENCE

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

LABORATOIRE DES SCIENCES ALIMENTAIRES ET METABOLISME

LABORATORY FOR FOOD SCIENCE AND METABOLISM

**Optimisation des propriétés nutritionnelles et
fonctionnelles du jus traditionnel de baobab
(*Adansonia digitata* L.) et évaluation de ses effets
œstrogéniques**

THESE

Présentée et soutenue le 28 mars 2022 en vue de l'obtention du diplôme de
Doctorat/Ph.D en Biochimie

Spécialité : SCIENCES DES ALIMENTS ET NUTRITION

Par :

MAPTOUOM FOTSO Christiane Laure

Matricule : 04S080

Master-ès Sciences

Président : MOUNDIPA FEWOU Paul, Professeur, Université de Yaoundé I ;

Rapporteurs : FOKOU Elie, Professeur, Université de Yaoundé I ;

NJAMEN Dieudonné, Professeur, Université de Yaoundé I ;

Membres : DIMO Théophile, Professeur, Université de Yaoundé I ;

TELEFO Phelix Bruno, Professeur, Université de Dschang

KANSCI Germain, Professeur, Université de Yaoundé I.



Année académique : 2021-2022

UNIVERSITÉ DE YAOUNDE I

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES
DE LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT

UNITE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES
DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



UNIVERSITY OF YAOUNDE I

CENTRE FOR RESEARCH AND TRAINING IN
GRADUATE STUDIES IN LIFE, HEALTH AND
ENVIRONMENTAL SCIENCES

RESEARCH AND DOCTORATE TRAINING UNIT
IN LIFE SCIENCES

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

ATTESTATION DE CORRECTION

Nous, membres du jury de la Thèse de Doctorat/Ph.D en Biochimie, Spécialité Sciences des Aliments et Nutrition, soutenue par Mme **MAPTOUOM FOTSO Christiane Laure** (Matricule **04S080**) le Lundi 28 Mars 2022 à 09 heures dans la salle Multimédia de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I, sous le thème : «**Optimisation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles du jus traditionnel de baobab «*Adansonia digitata L.*» et évaluation de ses effets œstrogéniques**», attestons que la candidate a effectué les corrections conformément aux exigences du jury.

En foi de quoi, la présente attestation lui est établie pour servir et valoir ce que de droit.

Fait à Yaoundé, le **08 JUL 2022**

Examineurs


R. KANSO

E. Domo

Président du jury


Moundipa Founou Paul
Professeur
Enzymologie - Toxicologie

Chef de Département


Moundipa Founou Paul D.S.M. Et
Professeur
Enzymologie - Toxicologie


UNIVERSITÉ DE YAOUNDÉ I Faculté des Sciences Division de la Programmation et du Suivi des Activités Académiques		THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I Faculty of Science Division of Programming and Follow-up of Academic Affairs
LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS		LIST OF PERMANENT TEACHING STAFF

ANNÉE ACADEMIQUE 2021/2022

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION 22 septembre 2021

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean- Claude, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DPSAA : ATCHADE Alex de Théodore, *Maître de Conférences*

VICE-DOYEN / DSSE : NYEGUE Maximilienne Ascension, *Professeur*

VICE-DOYEN / DRC : ABOSSOLO Monique, *Maître de Conférences*

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., *Maître de Conférences*

Chef Division des Affaires Académiques, de la Scolarité et de la Recherche DAASR : AJEAGAH

Gideon AGHAINDUM, *Professeur*

1- DÉPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (40)

N°	NOMS ET PRÉNOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BIGOGA DAIGA Jude	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	FOKOU Elie	Professeur	En poste
4	KANSCI Germain	Professeur	En poste
5	MBACHAM FON Wilfried	Professeur	En poste
6	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	<i>Chef de Département</i>
7	NINTCHOM PENLAP V. épouse BENG	Professeur	En poste
8	OBEN Julius ENYONG	Professeur	En poste

9	ACHU Merci BIH	Maître de Conférences	En poste
10	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
11	AZANTSA KINGUE GABIN BORIS	Maître de Conférences	En poste
12	BELINGA née NDOYE FOE F. M. C.	Maître de Conférences	<i>Chef DAF / FS</i>
13	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
14	DJUIDJE NGOUNOUE Marceline	Maître de Conférences	En poste
15	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	EWANE Cécile Annie	Maître de Conférences	En poste
17	MOFOR née TEUGWA Clotilde	Maître de Conférences	<i>Inspecteur de Service MINESUP</i>

18	NANA Louise épouse WAKAM	Maître de Conférences	En poste
19	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
20	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
21	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
22	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Maître de Conférences	En poste
23	KOTUE TAPTUE Charles	Maître de Conférences	En poste

24	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
25	BEBEE Fadimatou	Chargée de Cours	En poste
26	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
27	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
28	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargée de Cours	En poste
29	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
30	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
31	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargée de Cours	En poste
33	MBONG ANGIE M. Mary Anne	Chargée de Cours	En poste
34	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35	PECHANGOU NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste

36	FOUPOUAPOUOGNIGNI Yacouba	Assistant	En poste
37	KOUOH ELOMBO Ferdinand	Assistant	En poste
38	MBOUCHE FANMOE Marceline Joëlle	Assistante	En poste
39	OWONA AYISSI Vincent Brice	Assistant	En poste
40	WILFRIED ANGIE Abia	Assistante	En poste

2- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (BPA) (52)

1	AJEAGAH Gideon AGHAINDUM	Professeur	<i>DAARS/FS</i>
2	BILONG BILONG Charles-Félix	Professeur	<i>Chef de Département</i>
3	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
4	DJIETO LORDON Champlain	Professeur	En Poste
5	DZEUFJET DJOMENI Paul Désiré	Professeur	En Poste
6	ESSOMBA née NTSAMA MBALA	Professeur	<i>Vice Doyen/FMSB/UIYI</i>
7	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
8	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
9	KEKEUNOU Sévilor	Professeur	En poste
10	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
11	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
12	NOLA Moïse	Professeur	En poste
13	TAN Paul VERNYUY	Professeur	En poste
14	TCHUEM TCHUENTE Louis Albert	Professeur	<i>Inspecteur de service Coord.Progr./MINS ANTE</i>

15	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Professeur	En poste
16	BILANDA Danielle Claude	Maître de Conférences	En poste
17	DJIOGUE Séfirin	Maître de Conférences	En poste
18	JATSA BOUKENG Hermine épse MEGAPTCHE	Maître de Conférences	En Poste
19	LEKEUFACK FOLEFACK Guy B.	Maître de Conférences	En poste
20	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
21	MONY Ruth épse NTONE	Maître de Conférences	En Poste
22	NGUEGUIM TSOFAK Florence	Maître de Conférences	En poste
23	TOMBI Jeannette	Maître de Conférences	En poste
24	ALENE Désirée Chantal	Chargée de Cours	En poste
25	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
26	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
27	DONFACK Mireille	Chargée de Cours	En poste
28	ETEME ENAMA Serge	Chargé de Cours	En poste
29	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargée de Cours	En poste
30	KANDEDA KAVAYE Antoine	Chargé de Cours	En poste
31	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
33	METCHI DONFACK Mireille Flaure Epse GHOUMO	Chargé de Cours	En poste
34	MOUNGANG Luciane Marlyse	Chargée de Cours	En poste
35	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Chargé de Cours	En poste
36	NGOUATEU KENFACK Omer Bébé	Chargé de Cours	En poste
37	NGUEMBOK	Chargé de Cours	En poste
38	NJUA Clarisse Yafi	Chargée de Cours	<i>Chef Div. UBA</i>
39	NOAH EWOTI Olive Vivien	Chargée de Cours	En poste
40	TADU Zephyrin	Chargé de Cours	En poste
41	TAMSA ARFAO Antoine	Chargé de Cours	En poste
42	YEDE	Chargé de Cours	En poste
43	BASSOCK BAYIHA Etienne Didier	Assistant	En poste
44	ESSAMA MBIDA Désirée Sandrine	Assistante	En poste
45	FEUGANG YOUMSSI François	Assistant	En poste
46	FOKAM Alvine Christelle Epse KEGNE	Assistante	En poste
47	GONWOUO NONO Legrand	Assistant	En poste
48	KOGA MANG DOBARA	Assistant	En poste
49	LEME BANOCK Lucie	Assistante	En poste
50	MAPON NSANGO Indou	Assistant	En poste
51	NWANE Philippe Bienvenu	Assistant	En poste
52	YOUNOUSSA LAME	Assistant	En poste

3- DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES (BPV) (32)

1	AMBANG Zachée	Professeur	<i>Chef Division/UYII</i>
2	BELL Joseph Martin	Professeur	En poste
3	DJOCGOUE Pierre François	Professeur	En poste

4	MBOLO Marie	Professeur	En poste
5	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
6	YOUMBI Emmanuel	Professeur	<i>Chef de Département</i>
7	ZAPFACK Louis	Professeur	En poste

8	ANGONI Hyacinthe	Maître de Conférences	En poste
9	BIYE Elvire Hortense	Maître de Conférences	En poste
10	MALA Armand William	Maître de Conférences	En poste
11	MBARGA BINDZI Marie Alain	Maître de Conférences	<i>CT/ MINESUP</i>
12	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
13	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Maître de Conférences	En poste
14	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy L.	Maître de Conférences	En poste
15	TONFACK Libert Brice	Maître de Conférences	En poste
16	TSOATA Esaïe	Maître de Conférences	En poste

17	DJEUANI Astride Carole	Chargé de Cours	En poste
18	GOMANDJE Christelle	Chargée de Cours	En poste
19	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Chargé de Cours	En poste
20	MAHBOU SOMO TOUKAM. Gabriel	Chargé de Cours	En poste
21	NGALLE Hermine BILLE	Chargée de Cours	En poste
22	NGOUO Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
23	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Chargé de Cours	En poste
24	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Chargé de Cours	En poste
25	ONANA JEAN MICHEL	Chargé de Cours	En poste

26	GODSWILL NTSOMBOH NTSEFONG	Assistant	En poste
27	KABELONG BANAHO Louis-Paul- Roger	Assistant	En poste
28	KONO Léon Dieudonné	Assistant	En poste
29	LIBALAH Moses BAKONCK	Assistant	En poste
30	LIKENG-LI-NGUE Benoit C	Assistant	En poste
31	TAEDOUNG Evariste Hermann	Assistant	En poste
32	TEMEGNE NONO Carine	Assistant	En poste

4- DÉPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (CI) (33)

1	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Professeur	En poste
3	Florence UFI CHINJE épouse MELO	Professeur	<i>Recteur Univ.Ngaoundere</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Ministre Chargé deMiss.PR</i>
5	NANSEU Njiki Charles Péguy	Professeur	En poste
6	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
7	NDIKONTAR Maurice KOR	Professeur	<i>Vice-Doyen Univ. Bamenda</i>
8	NENWA Justin	Professeur	En poste

9	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>DOYEN FS UDs</i>
10	NGOMO Horace MANGA	Professeur	<i>Vice Chancellor/UB</i>

11	ACAYANKA Elie	Maître de Conférences	En poste
12	BABALE née DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	<i>Chargée Mission P.R.</i>
13	EMADACK Alphonse	Maître de Conférences	En poste
14	KAMGANG YOUBI Georges	Maître de Conférences	En poste
15	KEMMEGNE MBOUGUEM Jean C.	Maître de Conférences	En poste
16	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
17	NDI NSAMI Julius	Maître de Conférences	En poste
18	NJIOMOU C. épse DJANGANG	Maître de Conférences	En poste
19	NJOYA Dayirou	Maître de Conférences	En poste
20	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Maître de Conférences	En poste

21	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	<i>CS/ ENS Bertoua</i>
22	CHEUMANI YONA Arnaud M.	Chargé de Cours	En poste
23	KENNE DEDZO GUSTAVE	Chargé de Cours	En poste
24	KOUOTOU DAUDA	Chargé de Cours	En poste
25	MAKON Thomas Beauregard	Chargé de Cours	En poste
26	MBEY Jean Aime	Chargé de Cours	En poste
27	NCHIMI NONO KATIA	Chargé de Cours	En poste
28	NEBA nee NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargée de Cours	<i>CT/ MINPROFF</i>
29	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargée de Cours	En poste
30	PABOUDAM GBAMBIE A.	Chargée de Cours	En poste

31	NJANKWA NJABONG N. Eric	Assistant	En poste
32	PATOUOSSA ISSOFA	Assistant	En poste
33	SIEWE Jean Mermoz	Assistant	En Poste

5- DÉPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (CO) (40)

1	DONGO Etienne	Professeur	<i>Vice-Doyen/FSE/UYI</i>
2	GHOGOMU TIH Robert Ralph	Professeur	<i>Dir. IBAF/UDA</i>
3	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de Département UDS</i>
4	NYASSE Barthélemy	Professeur	En poste
5	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur/ MINESUP/ Chef de Département</i>
6	WANDJI Jean	Professeur	En poste

7	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DPSAA</i>
8	AMBASSA Pantaléon	Maître de Conférences	En poste
9	EYONG Kenneth OBEN	Maître de Conférences	En poste
10	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
11	FOTSO WABO Ghislain	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste

13	KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
14	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
15	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste
16	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
17	MVOT AKAK Carine	Maître de Conférences	En poste
18	NGO MBING Joséphine	Maître de Conférences	<i>Sous/Direct. MINRESI</i>
19	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Maître de Conférences	<i>C.E/ MINESUP</i>
20	NOTE LOUGBOT Olivier Placide	Maître de Conférences	<i>C.S/ MINESUP</i>
21	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
22	TABOPDA KUATE Turibio	Maître de Conférences	En poste
23	TAGATSING FOTSING Maurice	Maître de Conférences	En poste
24	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Doyen /FS/ UYI</i>
25	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
26	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
27	ZONDEGOUMBA Ernestine	Maître de Conférences	En poste

28	KAMTO Eutrophe Le Doux	Chargé de Cours	En poste
29	NGNINTEDO Dominique	Chargé de Cours	En poste
30	NGOMO Orléans	Chargée de Cours	En poste
31	OUAHOUE WACHE Blandine M.	Chargée de Cours	En poste
32	SIELINOUE TEDJON Valérie	Chargé de Cours	En poste

33	MESSI Angélique Nicolas	Assistant	En poste
34	MUNVERA MFIFEN Aristide	Assistant	En poste
35	NONO NONO Éric Carly	Assistant	En poste
36	OUETE NANTCHOUANG Judith Laure	Assistante	En poste
37	TCHAMGOUE Joseph	Assistant	En poste
38	TSAFFACK Maurice	Assistant	En poste
39	TSAMO TONTSA Armelle	Assistante	En poste
40	TSEMEUGNE Joseph	Assistant	En poste

6- DÉPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (25)

1	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	<i>Chef Div.MINESUP</i>
2	FOUDA NDJODO Marcel Laurent	Professeur	<i>Chef Dpt ENS/Chef IGA.MINESUP</i>

3	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
---	---------------	-----------------------	----------

4	ABESSOLO ALO'O Gislain	Chargé de Cours	En poste
5	AMINOUE Halidou	Chargé de Cours	<i>Chef de Département</i>
6	DJAM Xaviera YOUH - KIMBI	Chargé de Cours	En Poste
7	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Chargé de Cours	En poste
8	EBELE Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
9	KOUOKAM KOUOKAM E. A.	Chargé de Cours	En poste

10	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
11	MONTHE DJIADEU Valery M.	Chargé de Cours	En poste
12	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
13	OLE OLE Daniel Claude Delort	Chargé de Cours	<i>Directeur adjoint Enset, Ebolowa</i>
14	TAPAMO Hyppolite	Chargé de Cours	En poste
15	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
16	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
17	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste

18	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
19	EKODECK Stéphane Gaël Raymond	Assistant	En poste
20	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
21	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
22	MAKEMBE. S . Oswald	Assistant	En poste
23	MESSI NGUELE Thomas	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistante	En poste
25	NKONDOCK. MI. BAHANACK.N.	Assistant	En poste

7- DÉPARTEMENT DE MATHÉMATIQUES (MA) (35)

1	AYISSI Raoult Domingo	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	EMVUDU WONO Yves S.	Professeur	<i>Inspecteur MINESUP</i>

3	KIANPI Maurice	Maître de Conférences	En poste
4	MBANG Joseph	Maître de Conférences	En poste
5	MBEHOU Mohamed	Maître de Conférences	En poste
6	MBELE BIDIMA Martin Ledoux	Maître de Conférences	En poste
7	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
8	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	<i>Chef service des programmes & Diplômes/FS/UYI</i>
9	TCHAPNDA NJABO Sophonie B.	Maître de Conférences	<i>Directeur/AIMS Rwanda</i>
10	TCHOUNDJA Edgar Landry	Maître de Conférences	En poste

11	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINPLAMAT</i>
12	BOGSO Antoine Marie	Chargé de Cours	En poste
13	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
14	DJIADEU NGAHA Michel	Chargé de Cours	En poste
15	DOUANLA YONTA Herman	Chargé de Cours	En poste
16	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
17	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
18	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bernard	Chargé de Cours	En poste
21	NIMPA PEFOUKEU Romain	Chargée de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste

23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
25	TETSADJIO TCHILEPECK M. E.	Chargé de Cours	En poste
26	TIAYA TSAGUE N. Anne-Marie	Chargée de Cours	En poste

27	BITYE MVONDO Esther Claudine	Assistante	En poste
28	FOKAM Jean Marcel	Assistante	En poste
29	LOUMNGAM KAMGA Victor	Assistante	En poste
30	MBATAKOU Salomon Joseph	Assistant	En poste
31	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
32	MEFENZA NOUNTU Thiery	Assistant	En poste
33	OGADOA AMASSAYOGA	Assistant	En poste
34	TCHEUTIA Daniel Duviol	Assistant	En poste
35	TENKEU JEUFACK Yannick Léa	Assistant	En poste

8- DÉPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MIB) (21)

1	ESSIA NGANG Jean Justin	Professeur	<i>Chef de Département</i>
2	NYEGUE Maximilienne Ascension	Professeur	<i>VICE-DOYEN / DSSE</i>
3	NWAGA Dieudonné M.	Professeur	En poste

4	ASSAM ASSAM Jean Paul	Maître de Conférences	En poste
5	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	En poste
6	KOUITCHEU MABEKU Epse KOUAM Laure Brigitte	Maître de Conférences	En poste
7	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
8	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste

9	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
10	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
11	ESSONO OBOUGOU Germain G.	Chargé de Cours	En poste
12	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargée de Cours	En poste
13	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

14	ESSONO Damien Marie	Assistant	En poste
15	LAMYE Glory MOH	Assistant	En poste
16	MEYIN A EBONG Solange	Assistante	En poste
17	MONI NDEDI Esther Del Florence	Assistante	En poste
18	NKOUDOU ZE Nardis	Assistant	En poste
19	SAKE NGANE Carole Stéphanie	Assistante	En poste
20	TAMATCHO KWEYANG Blandine Pulchérie	Assistante	En poste
21	TOBOLBAÏ Richard	Assistant	En poste

9. DEPARTEMENT DE PYSIQUE(PHY) (44)

1	BEN- BOLIE Germain Hubert	Professeur	En poste
2	DJUIDJE KENMOE épouse ALOYEM	Professeur	En poste
3	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Professeur	<i>Vice-Recteur. UN</i>
4	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
5	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
6	NANA ENGO Serge Guy	Professeur	En poste
7	NANA NBENDJO Blaise	Professeur	En poste
8	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	<i>Chef de Département</i>
9	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Professeur	En poste
10	NOUAYOU Robert	Professeur	En poste
11	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
12	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen FS Univ/Bda</i>
13	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
14	WOAFO Paul	Professeur	En poste
15	ZEKENG Serge Sylvain	Professeur	En poste

16	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>DG/HYDRO Mekin</i>
17	BODO Bertrand	Maître de Conférences	En poste
18	ENYEGUE A NYAM épouse BELINGA	Maître de Conférences	En poste
19	EYEBE FOU DA Jean sire	Maître de Conférences	En poste
20	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
21	HONA Jacques	Maître de Conférences	En poste
22	MBANE BIOUELE César	Maître de Conférences	En poste
23	MBINACK Clément	Maître de Conférences	En poste
24	NDOP Joseph	Maître de Conférences	En poste
25	SAIDOU	Maître de Conférences	<i>MINRESI</i>
26	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
27	SIMO Elie	Maître de Conférences	En poste
28	VONDOU Derbetini Appolinaire	Maître de Conférences	En poste
29	WAKATA née BEYA Annie	Maître de Conférences	<i>Directeur/ENS/UIYI</i>

30	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En poste
31	CHAMANI Roméo	Chargé de Cours	En poste
32	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
33	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cell. MINADER</i>
34	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
35	MELI'I Joelle Larissa	Chargée de Cours	En poste
36	MVOGO ALAIN	Chargé de Cours	En poste
37	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>DA/Univ Inter Etat/Sangmalima</i>
38	WOULACHE Rosalie Laure	Chargée de Cours	En poste

39	AYISSI EYEBE Guy François Valérie	Assistant	En poste
----	-----------------------------------	-----------	----------

40	DJIOTANG TCHOTCHOU Lucie Angennes	Assistante	En poste
41	LAMARA Maurice	Assistant	En poste
42	OTTOU ABE Martin Thierry	Assistant	En poste
43	TEYOU NGOUPOU Ariel	Assistant	En poste
44	WANDJI NYAMSI William	Assistant	En poste

10- DÉPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (ST) (43)

1	BITOM Dieudonné	Professeur	<i>Doyen / FASA / UDs</i>
2	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Professeur	En poste
3	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Professeur	En poste
4	NDJIGUI Paul Désiré	Professeur	<i>Chef de Département</i>
5	NGOS III Simon	Professeur	En poste
6	NKOUMBOU Charles	Professeur	En poste
7	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste

8	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen / DRC</i>
9	BISSO Dieudonné	Maître de Conférences	<i>Directeur/Projet Barrage Memve'ele</i>
10	EKOMANE Emile	Maître de Conférences	En poste
11	GANNO Sylvestre	Maître de Conférences	En poste
12	GHOGOMU Richard TANWI	Maître de Conférences	CD/Uma
13	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/ MINIMDT</i>
14	NGUEUTCHOUA Gabriel	Maître de Conférences	CEA/MINRESI
15	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
16	NYECK Bruno	Maître de Conférences	En poste
17	ONANA Vincent Laurent	Maître de Conférences	<i>Chef service Maintenance & du Matériel/UYII</i>
18	TCHAKOUNTE J. épouse NOUMBEM	Maître de Conférences	<i>Chef.cell / MINRESI</i>
19	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Maître de Conférences	En poste
20	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
21	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef Div. /MINTP</i>
22	ZO'O ZAME Philémon	Maître de Conférences	<i>DG/ART</i>

23	ANABA ONANA Achille Basile	Chargé de Cours	En poste
24	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	En poste
25	ELISE SABABA	Chargé de Cours	En poste
26	ESSONO Jean	Chargé de Cours	En poste
27	EYONG JOHN TAKEM	Chargé de Cours	En poste
28	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>Sec. D'Etat/MINMIDT</i>
29	LAMILLEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
30	MAMDEM TAMTO Lionelle Estelle	Chargé de Cours	En poste
31	MBESSE CECILE Olive	Chargée de Cours	En poste
32	MBIDA YEM	Chargé de Cours	En poste
33	METANG Victor	Chargé de Cours	En poste
34	MINYEM Dieudonné-Lucien	Chargé de Cours	CD/Uma
35	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargée de Cours	En poste
36	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargée de Cours	En poste

37	NOMO NEGUE Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
38	NTSAMA ATANGANA Jacqueline	Chargé de Cours	En poste
39	TCHAPTCHET TCHATO De P.	Chargé de Cours	En poste
40	TEHNA Nathanaël	Chargé de Cours	En poste
41	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	En poste

42	FEUMBA Roger	Assistant	En poste
43	MBANGA NYOBE Jules	Assistant	En poste

Répartition chiffrée des Enseignants de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I

NOMBRE D'ENSEIGNANTS					
DÉPARTEMENT	Professeurs	Maîtres de Conférences	Chargés de Cours	Assistants	Total
BCH	8 (01)	15 (10)	12 (05)	5 (01)	40 (17)
BPA	15 (01)	8 (06)	19 (06)	10 (03)	52 (14)
BPV	07 (01)	9 (01)	9 (06)	07 (01)	32 (9)
CI	10 (01)	10 (02)	10 (02)	03 (0)	33 (5)
CO	6 (0)	21 (06)	05 (01)	08 (02)	40(9)
IN	2 (0)	1 (0)	14 (01)	08 (01)	25 (2)
MAT	2 (0)	8 (0)	16 (01)	09 (02)	35 (3)
MIB	3 (1)	5 (02)	05 (01)	08 (02)	21 (6)
PHY	15 (01)	14 (01)	09 (02)	06 (0)	44 (4)
ST	7 (1)	15 (02)	19 (05)	02 (0)	45(8)
Total	75 (7)	106 (30)	118 (30)	66 (12)	367 (77)

Soit un total de **367 (77)** dont :

- Professeurs **75 (7)**
- Maîtres de Conférences **106 (30)**
- Chargés de Cours **118 (30)**
- Assistants **66 (12)**

() = Nombre de Femmes

77

DEDICACE

Par l'amour et la fidélité de Dieu mon père, je dédie ce précieux travail :

*Aux familles : Révérend Pasteur FOTSO Sílas et
SOUOP Símeon.*

*« La crainte de l'Éternel est le commencement de la science ; »
Proverbes 1: 7a*

REMERCIEMENTS

Je rends grâce de Jésus-Christ maître de toute science, mon Sauveur et Maître personnel. Lui qui est ma seule raison de vivre, d'étudier et l'unique chemin qui mène à la vie éternelle. Dans son amour et sa fidélité, il m'a permis de finir ce travail malgré l'adversité rencontrée, la douleur et le vide qu'ont laissé à la fin de ce travail les départs brusques de mon père (**Feu Révérend Pasteur FOTSO Silas**) et ma tante (**Feu DJUIDJE Hélène**), ainsi que celui de ma mère (**Feu METOUMGHO Jeanne**) il y a plus d'une décennie. Pour la réalisation de ce travail, Il a puissamment déployé et utilisé plusieurs personnes, laboratoires et programmes que je voudrais du plus profond de mon cœur remercier et sur qui j'implore les grâces et bénédictions de Dieu. Ma gratitude va à l'endroit :

De mes encadrants de thèse, **Pr FOKOU Elie** et **Pr NJAMEN Dieudonné**. Je serai à jamais reconnaissante envers vous pour votre amour, encadrement, soutien, présence, disponibilité. Vous êtes de véritables parents pour moi. Votre rigueur et vos qualités scientifiques m'ont façonné et m'ont permis de mener ce travail jusqu'à son terme. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude. Soyez particulièrement bénis Professeurs !

Du **Pr MOUNDIPA FEWOU Paul** (Chef de Département de Biochimie) pour le soutien institutionnel et tous les enseignants dudit Département en particulier les Professeurs **MBACHAM W, FEKAM F, OBEN J, ATOGHO B** et **NJAYOU N**; les Docteurs **AKINDEH, DONGMO B, LUNGA P, FONKOUA M, MBONG A, BEBOY** et **PECHANGOU S** pour les enseignements, les conseils et encouragements reçus.

Du **Dr TCHUENCHIEU Alex**, bien plus qu'un camarade de promotion, ami et frère, tu as été ma bénédiction durant cette thèse. Tu t'es laissé utiliser puissamment par Dieu et t'es investi à fond pour que je puisse réaliser cette thèse. Merci Alex pour tout, que Jésus-Christ te le rende immensément. Que ce travail soit pour toi un sujet de joie et satisfaction.

Du **Prof ZINGUE Stéphane** pour son soutien, son encadrement et ses encouragements inestimables pour la partie Physiologique de ce travail.

Du **Dr AWOUNFACK Charline** pour la réalisation des analyses phytochimiques (GC-MS) et certaines expérimentations animales.

Du **Dr MOUAFO Hippolyte** pour son inestimable contribution dans la réalisation de la partie optimisation. Merci pour ta disponibilité, tes encouragements, les efforts et sacrifices consentis pour la construction de ce travail.

Des **populations enquêtées, des responsables administratifs et traditionnels** des zones enquêtées pour leurs collaborations et participation à l'enquête de ce travail.

De maman **Lydie YABE, Jérémie DOUGABKA et son équipe, M. Jonas TCHASSEM** pour la collecte des échantillons de baobab et le soutien pendant l'enquête de ce travail.

De M. **TAKALA Jean Pierre**, pour sa participation dans ma formation sur les techniques histologiques ;

Du **Centre de Recherche en Alimentation et Nutrition** en particulier : **Dr MEDOUA, Dr FEUMBA, Dr YADAN, METSATEDEM Q, M. Thomas, M. Nestor, BASSOGOG C, NYOBE C, EDOUN E, RAMATOU**, pour l'aide apporté dans la réalisation du plus grand pourcentage de ce travail.

Du **Laboratoire de Technologie Alimentaire de l'IRAD** en particulier : **Dr EYENGA E, Mme NGONO S, M. AKHOBAKOH M** pour la réalisation des analyses physicochimiques.

Du **Ministère de l'Enseignement Supérieur** au travers des programmes « Work-Study » et de l'aide accordée aux jeunes filles en filières scientifiques qui ont soutenu une partie de ce travail.

Du **Laboratoire de Microbiologie des aliments de l'Université de Yaoundé I** en particulier : **Pr ESSIA J.J, Prof SADO S, M^{lle} YOUTE S** pour la réalisation de la partie microbiologie de ce travail, les conseils et le soutien multiforme. Mille fois merci.

De l'**Honorable KOUNCHE Albert** de l'Assemblée Nationale du Cameroun, qui au travers de son Programme d'Appui aux Doctorants (PAD) nous a apporté un soutien financier nécessaire à la réalisation d'une partie de cette thèse.

Des **membres du jury** de cette thèse pour leur disponibilité, critiques et contributions qui ont permis d'améliorer ce travail.

Des **enseignants du Laboratoire des Sciences Alimentaires et Métabolisme du Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I** : **Pr KANSCI G, Prof ACHU M, Prof KOTUE C, Dr DJUIKWO V, Dr MANANGA M, Dr BEBBE Fet Mme MBOUCHE M** recevez toute ma gratitude pour le soutien, les conseils, les encouragements et le temps consenti lors des séminaires de laboratoire et pour la relecture de ce travail.

De toutes les personnes qui se sont investies particulièrement pour la réalisation pratique et le suivi de ce travail : **Prof FOKOM R, Dr KAMDA A, Dr SAHA B, Dr DJOUHOU M, Dr TCHAGANG C, Dr ZEMO F, Dr KAMGA K, Mme MOTOUM F, Mme BAKAM B, M. MBASSI G, Mme MAFOGANG B et M. DJIKEM R, M. NANTCHOUANG A.**

De tous les **Docteurs et étudiants du Laboratoire des Sciences Alimentaires et Métabolisme du Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I**, particulièrement: **Dr KUAGNY B, Dr NGUEGWOUO E, Dr FOGANG A, Dr MIAFO P, Dr BOUELET S, KIDJE M, GHOMSI S, DJEUMEN A, HANKOU C, MONO S, KENMENI C, MVOGO**

R, SONKENG A, LEUMENI D, NGAMBO M, DEMFACK P, TADJIE A, HAROUN A et KOUANDJOUA D.

De toute l'équipe de recherche du Pr Njamen, particulièrement, Prof DJIOGUE S, Prof MVONDO M, Dr ATEBA S, Dr TCHOUPAN E, Dr SIMO V, M. NAMBO T, M. RIEPOU O, M. SIPPING M, Mme ADJOFFOIN C et Mme YOUMBI Y.

De Mme SIMO FOTSO Rachel Epse DJOMGANG, M. TEINWO FOTSO Stéphane, Mme MOTSO FOTSO Patience Epse MBOUNOU ; Papa SOUOP Simeon, Maman SOUOP Agathe ; M. DJOMGANG Honoré, M. MBOUNOU Mérimé, M. TALLA Rostand, Mme SIMO Aimée, Schékina, Paguiel, Rapha, Othniel, Rachel, Ithielle, merci pour votre soutiens spirituel, financier, affectif. Vous avez toujours été présents et malgré vos différents défis personnels, vous avez tout investi pour que j'aie jusqu'au bout. Puissiez-vous être honorés par ce travail.

Des **Moniteurs du Culte d'Enfants de la paroisse EEC de Melen** toutes générations confondues, ce travail est le fruit de l'exaucement de vos prières et de votre soutien inestimable.

Du **Pr TAMO TATSIETE Thomas et Dr TAMO Colette**, merci pour votre amour, votre soutien et vos encouragements. Ils ont contribué à me maintenir debout jusqu'à la fin de ce travail.

Des **grandes familles KENGNE, KUATE, GUEMTOUOM, METCHUINTESEU et TAMGA** pour le soutien multiforme.

Des **familles TCHIAZE Jean et Lysette, NGAMO Quentin et Emilia, DJUOPE Cédric et Amandine, TCHIAZE Igor et Eliane, NYIMGGA Armand et Micarème, ANOU Gérard et Pamela, NGAGOUE Eric et Aldrine, NDE Xavier et Ortavine, WAMBO Luc et Joëlle, KENZO Luther et Irène, WETHIE Charles et Huguette, CHOUNSA Patrice et Sorel et ZEBAZE Rodrigue** pour votre présence, attention, vos encouragements et le soutien spirituel et financier.

De **mes promotionnaires : NGUIMKENG B, NKOUNGNI J, BEYEGUE E, ESSOUMAN F, ESSOLA N, NOBEL S, MAMDJO C et NGUELE M** pour leur soutien moral inconditionnel.

De **toute la paroisse de l'Eglise Evangélique du Cameroun de Melen Yaoundé**, particulièrement la grande Commission de Vie Spirituelle, la cellule de prière d'Obili et le collège des diacres.

De **Campus Pour Christ Cameroun**, particulièrement : Campus life étudiants et professionnels Yaoundé I.

De tous ceux dont les noms ne figurent pas ici et qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à l'édification de ce travail. Mille fois merci, que Dieu vous comble de ses grâces. Sentez-vous honorés par ce travail qui est la preuve vivante de la grâce, la fidélité, la provision, la bonté, le soutien et l'amour de Jésus-Christ envers ceux qui choisissent de mettre entièrement leur confiance en Lui et qui persévèrent malgré les multiples obstacles. **A Jésus-Christ toute la gloire pour cette thèse !!!**

SOMMAIRE

DEDICACE.....	xii
REMERCIEMENTS	xiii
RESUME.....	xix
ABSTRACT	xxi
LISTE DES ABREVIATIONS	xxiii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxv
LISTE DES FIGURES.....	xxvii
LISTE DES ANNEXES.....	xxx
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE.....	5
I.1 Jus de fruits.....	5
I.1.1 Définition et classification.....	5
I.1.2 Procédés de production des jus de fruits	6
I.1.3 Composition biochimique des jus de fruits	8
I.1.4 Importance des jus de fruits pour la santé	9
I.1.5 Impacts des traitements technologiques sur la qualité nutritionnelle, sensorielle et fonctionnelle des jus de fruits	10
I.1.6 Microbiologie des jus de fruits	13
I.2 Généralités sur le baobab	15
I.2.1 Classification	16
I.2.2 Aire de répartition de <i>Adansonia digitata</i> L.....	17
I.2.3 Composition de <i>Adansonia digitata</i> L.....	18
I.2.4 Utilisations de <i>Adansonia digitata</i> L.....	19
I.2.5 Etudes antérieures sur la pulpe du fruit du baobab.....	21
I.3 Le stress oxydatif	24
I.3.1 Effets pathologiques des espèces oxygénées réactives sur les biomolécules	25
I.3.2 Implications pathologiques du stress oxydatif.....	27
I.3.3 Systèmes de défense antioxydants.....	29
I.3.4 Mécanisme d'action des antioxydants.....	30
I.4 Généralités sur les composés phénoliques	32
I.4.1 Structure chimique et classification des composés phénoliques	33
I.4.2 Rôle et propriétés des composés phénoliques	36

I.5 Œstrogènes	38
I.5.1 Définition.....	38
I.5.2 Sources endogènes des œstrogènes	39
I.5.3 Récepteurs aux œstrogènes.....	39
I.5.4 Rôles physiologiques des œstrogènes.....	40
I.5.5 Phyto-œstrogènes.....	45
I.6 Etat de l'art.....	49
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.....	51
II.1 Matériel.....	51
II.1.1 Présentation du cadre expérimental.....	51
II.1.2 Matériel végétal.....	54
II.1.3 Milieux de culture	54
II.1.4 Matériel biologique	54
II.1.5 Substances de références, d'anesthésies et de pansements	55
II.2 Méthodes.....	55
II.2.1 Evaluation des impacts des différentes pratiques artisanales de production du jus de baobab sur sa qualité.....	55
II.2.2 Définition des conditions de production optimale d'un jus de baobab apprécié avec le fer, les composés phénoliques, l'activité anti-radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale comme composés et activités d'intérêt.....	60
II.2.3 Détermination <i>in vitro</i> des propriétés antioxydantes du jus de baobab produit dans les conditions optimales et évaluation <i>in vivo</i> de ses effets œstrogéniques chez les rates albinos de souche Wistar	80
II.2.4 Analyses statistiques	88
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	89
III.1 Impacts des différentes pratiques traditionnelles de production du jus de baobab sur sa qualité	89
III.1.1 Enquête technologique et alimentaire.....	89
III.1.2 Effets des procédés artisanaux recensés pendant l'enquête sur la qualité du jus de baobab.....	102
III.2 Conditions de production optimales d'un jus de baobab apprécié avec le fer, les composés phénoliques, l'activité anti radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale comme composés et activités d'intérêt.....	105
III.2.1 Caractéristiques de la pulpe du fruit du baobab.....	105

III.2.2 Optimisation de la qualité du jus de la pulpe du fruit du baobab	117
III.2.3 Caractérisation du jus de baobab produit dans les conditions optimales.....	134
III.3 Propriétés fonctionnelles du jus de baobab produit dans les conditions optimales....	139
III.3.1 Teneurs en composés phénoliques et potentiel antioxydant <i>in vitro</i> du Jus baobab	139
III.3.2 Evaluation des effets œstrogéniques du jus de baobab	141
CONCLUSION, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS	155
CONCLUSION	155
PERSPECTIVES	156
RECOMMANDATIONS	156
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	157
ANNEXES	A
PUBLICATIONS	158

RESUME

La consommation régulière des fruits est capitale pour la santé. La majeure partie de la population qui en consomme est portée vers les fruits exotiques courants négligeant les fruits locaux qui sont autant riches et parfois plus en nutriments et phytonutriments. Le fruit du baobab fait partie des fruits locaux retrouvés au Cameroun, sa pulpe quoique très riche en nutriments, phytonutriments et propriétés médicinales est peu connue et reste encore sous exploitée. Elle est traditionnellement transformée en jus dans des conditions non contrôlées pouvant affecter ses qualités nutritionnelles et fonctionnelles. En vue de standardiser le procédé pour un produit de qualité, l'objectif de ce travail était de définir les conditions optimales de production d'un jus de baobab aux propriétés nutritionnelles et fonctionnelles majorées. Pour ce faire, des enquêtes ont été menées auprès des producteurs, commerçants et consommateurs du jus de baobab. Les principales méthodes traditionnelles de préparation recensées ont été appliquées et les teneurs en vitamine C et composés phénoliques, l'activité anti-radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale (CAT) ont été évaluées. Une caractérisation globale de la pulpe a précédé l'optimisation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles du jus fait à partir de la pulpe par la méthode des surfaces de réponses utilisant un plan composite centré avec la température, le ratio pulpe/eau, la quantité de sucre comme facteurs et la teneur en composés phénoliques, l'activité anti-radicalaire DPPH, la CAT, la teneur en fer et l'acceptabilité générale comme réponses. Les caractérisations nutritionnelles, microbiologiques et sensorielles du jus de baobab produit dans les conditions optimales ont été effectuées. Ses propriétés fonctionnelles (antioxydantes *in vitro* et anti-oestrogéniques *in vivo*) ont enfin été étudiées. Des résultats obtenus, il ressort que pour la production du jus, quatre principales méthodes consistant à une extraction aqueuse et se différenciant par la température de production sont généralement utilisées (macération à 25 °C, infusion à 40°C et 100°C et décoction). Les principaux ingrédients de préparation du jus étaient le fruit du baobab, l'eau, le sucre et les autres intrants constitués principalement d'arômes chimiques (84,74%) qui sont pour la plupart les poudres chimiques de boissons instantanées (42,37%) et les colorants chimiques (30,50%). Une différence significative pour les différents paramètres évalués a été notée dans l'application de ces méthodes traditionnelles, avec la décoction comme la plus efficace. La caractérisation de la pulpe a confirmé la présence de tous les macronutriments, sa richesse en vitamine C ($494,94 \pm 69,99$ mg/100g MS), minéraux et composés phénoliques, sa forte activité antioxydante, son pH acide et la présence des métabolites secondaires et des

composés volatils. Le modèle d'optimisation utilisé a été validé, la désirabilité totale optimale de 0,95 a permis d'obtenir le point optimal où les conditions de production du jus de baobab étaient de 131,28 g/L, 100 °C et 308,36 g pour le ratio pulpe/eau, la température et la quantité de sucre respectivement. Ces conditions ont permis d'avoir une teneur en composés phénoliques de 172,33 mg EAG/100ml, un pourcentage d'inhibition du radical DPPH de 39,45%, une CAT de 3,17 g EAA/100 ml, une teneur en fer de 12,19 µg/mL avec une acceptabilité générale de 6,84/9. Le jus optimisé qui a été accepté des panélistes, possédait une bonne qualité nutritionnelle et avait une qualité microbiologique conforme aux normes à la production. Ce jus était riche en composés phénoliques ($396,74 \pm 6,68$ mg EAG/ 100 mL pour l'extraction au HCl 1%), avait une grande activité antioxydante (FRAP : $1177,49 \pm 1,57$ mg FeSO₄/ 100 mL ; DPPH : 73,25% inhibition /100 mL ; CAT : $3,98 \pm 0,28$ g EAA/100 mL) *in vitro* et possédait des propriétés anti-oestrogéniques (diminution significative du poids relatif de l'utérus à toutes les doses) *in vivo* chez les rates albinos de souche Wistar. La consommation de ce jus de baobab pourrait contribuer à couvrir les apports journaliers recommandés (AJR) en plusieurs nutriments, à la prévention et à la gestion des maladies chroniques liées au stress oxydatif et des maladies oestrogéno-dépendantes.

Mots clés : *Adansonia digitata L.*, jus de baobab, optimisation, composés phénoliques, activité antioxydante, propriétés nutritionnelles, propriétés fonctionnelles, anti-oestrogènes.

ABSTRACT

Regular consumption of fruit is crucial for health. The fruit consuming population prefer common exotic fruits, neglecting local fruits which are equally rich and sometimes richer in nutrients and phytonutrients. Baobab's fruit is one of the local fruits found in Cameroon, its pulp, although very rich in nutrients, phytonutrients and medicinal properties, is less known and still remains under-exploited. It is traditionally processed into juice under uncontrolled conditions which can affect its nutritional and functional qualities. In order to standardize the process for a quality product, the objective of this work was to define optimal production conditions of baobab juice with enhanced nutritional and functional properties. Surveys were conducted among producers, traders, and consumers of baobab juice. The main traditional preparation methods identified were applied and the vitamin C and phenolic compound content, DPPH antiradical activity and Total Antioxidant Capacity (CAT) were evaluated. A global characterization of the pulp preceded the optimization of the nutritional and functional properties of the juice by the surface response method using a composite plan centered with temperature, pulp/water ratio, sugar content as factors and phenolic compound content, antiradical activity, CAT, iron content and general acceptability as responses. Nutritional, microbiological and sensory characterizations of the optimized baobab juice were performed. Its functional properties (antioxidant *in vitro*, anti-estrogenic *in vivo*) were also studied. From the results obtained, it appears that for the juice production, four main methods differing by the production temperature are generally used (aqueous extraction at 25 °C, 40 °C, 100 °C and decoction). The main ingredients for the preparation of the juice were baobab fruit, water, sugar and other inputs consisting mainly of chemical flavours (84.74%) most represented by chemical powders for instant drinks (42.37%) and chemical colourants (30.50%). A significant difference for the different evaluated parameters was noted in the application of these traditional methods, with the last method being the most effective. The characterization of the pulp confirmed the presence of all macronutrients, its richness in vitamin C (494.94 ± 69.99 mg/100 g DM), minerals and phenolic compound, its high antioxidant activity, its acidic pH and the presence of secondary metabolites and volatile compounds. The optimization model used was valid, with a total optimal desirability of 0.95 resulting in the optimal point where baobab juice production conditions were 131.28 g/L, 100 °C and 308.36 g for pulp/water ratio, temperature and sugar content respectively. These conditions resulted in a phenolic compound content of 172.33 mg EGA/100 mL, a percentage of DPPH radical inhibition of 39.45%, a CAT of 3.17 g EAA/100

mL, an iron content of 12.19 µg/ml with a general acceptability of 6.84/9. The optimized juice was accepted by the panelists, had good nutritional qualities and had a microbiological quality that met production standards. This juice was rich in phenolic compound (396.74 ± 6.68 mg EGA /100 mL for extraction with HCl 1%), had high antioxidant activity (FRAP: 1177.49 ± 1.57 mg FeSO₄/ 100 mL; DPPH: 73.25% inhibition /100 mL; CAT: 3.98 ± 0.28 g EAA /100 mL) *in vitro* and had anti-estrogenic effect (significant decrease in relative uterine weight at all doses) *in vivo* on Wistar female rats. The consumption of this baobab juice would contribute to cover the Reference Nutrient Intake (RNI) of several nutrients, to the prevention and management of chronic diseases related to oxidative stress and estrogeno-dependants diseases.

Keywords: *Adansonia digitata* L, baobab juice, optimization, phenolic compound, antioxidant activity, nutritional properties, functional properties, anti-estrogens.

LISTE DES ABREVIATIONS

AA: Acide ascorbique

AADM: Analyse Absolue de Déviation Moyenne

AG: Acide Gallique

ADN: Acide Désoxyribonucléique

Af: *Accuracy factor* (justesse du modèle)

AFSSA: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

AJR: Apports Journaliers Recommandés

AOAC: *Association of Official Analytical Chemists*

AP1: *Activator protein 1*

Bf : *Biais factor* (Biais du modèle)

CAT: Capacité antioxydante totale

DPPH: 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl

E₁: œstrone

E₂ : œstradiol

E₃: œstriol

E₂V: Œstradiol Valérate

EAA : Equivalent Acide Ascorbique

EAG : Equivalent Acide Galique

eNOS: *endothelial Nitric Oxide Synthase*

EOR: Espèces Oxygénées Réactives

ER: *Estrogen Receptor*

FAO: *Food and Agriculture Organization*

FDA: *Food and Drug Administration*

FMAT: Flore Mésophile Aérobie Totale

FRAP: *Ferric-Reducing Antioxidant Power*

GC: *Gas Chrommatography*

HDL: *High Density Lipoprotein*

HER2: *Human Epidermal growth factor Receptor 2*

HIF: *Hypoxia Inducible Factor*

IRAD : Institut de Recherche Agricole pour le Développement

LDL: *Low Density Lipoprotein*

MCV: Maladie Cardiovasculaire

MDA: Malonediadehyde

MRS: *Man Rogosa Sharpe broth*

MS: Matière Sèche

NF-KB: *Nuclear Factor-Kappa B*

NO: *Nitric Oxide*

OCDE: Organisation de Coopération et de Développement Economiques

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PC: Poids Corporel

PDA: *Potato Dextrose Agar*

PPO : Polyphénoloxydase

R² : Coefficient de détermination

SM: Spectrométrie de masse

SOD: Superoxydes dismutases

TNF α : *Tumor necrosis factor α*

WCRF: *World Cancer Research Fund*

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Propriétés nutritionnelles et fonctionnelles de quelques composantes des fruits.	10
Tableau II : Stabilité des vitamines dans les jus de fruits.....	11
Tableau III : Composition de la pulpe de <i>Adansonia digitata</i> L.....	18
Tableau IV : Les espèces oxygénées réactives (EOR)	25
Tableau V : Mécanisme d'action en fonction du type d'antioxydant exogène.....	31
Tableau VI : Importance des composés phénoliques	37
Tableau VII : Phyto-œstrogènes d'intérêt chez les humains et leurs sources alimentaires....	46
Tableau VIII : Mode opératoire du dosage des sucres solubles	66
Tableau IX : Mode opératoire de l'évaluation de la capacité antioxydante globale du standard FeSO ₄	69
Tableau X : Niveaux des variables indépendantes utilisés pour le plan composite centré.....	74
Tableau XI : Matrice d'expérience du plan composite centré.....	76
Tableau XII : Eléments de fiabilité des modèles mathématiques.....	77
Tableau XIII : Répartition des répondants en fonction du genre	89
Tableau XIV : Raisons et fréquence de consommation du jus de baobab.....	90
Tableau XV : Fréquence et raisons de production du jus de baobab.....	91
Tableau XVI : Proportions des ingrédients et des différents types d'intrants utilisés pour la production du jus de baobab.....	92
Tableau XVII : Quantités d'eau et de sucre utilisées pour la production du jus de baobab...	92
Tableau XVIII : Conservation du jus de baobab.....	95
Tableau XIX : Effets des procédés artisanaux de production des jus de baobab sur leurs activités antioxydantes et leurs teneurs en composés phénoliques et vitamine C	102
Tableau XX : Composition proximale, teneur en vitamine C et valeur énergétique de la pulpe du fruit baobab.....	105
Tableau XXI : Composition en éléments minéraux de la pulpe du fruit du baobab	109
Tableau XXII : Teneurs en composés phénoliques et activités antioxydantes de la pulpe du fruit du baobab en fonction des différents solvants d'extraction	112
Tableau XXIII : Composition en métabolites secondaires de la pulpe du fruit du baobab..	114
Tableau XXIV : Composés volatils détectés dans la pulpe du fruit du baobab	115

Tableau XXV : Quelques paramètres physicochimiques de la poudre de pulpe du fruit du baobab	117
Tableau XXVI: Effet des facteurs sur la teneur en composés phénoliques, la CAT, l'activité anti radicalaire DPPH, la teneur en fer et l'acceptabilité générale du jus de baobab	118
Tableau XXVII : ANOVA des réponses du plan composite centré pour la production du jus de baobab.....	120
Tableau XXVIII : Valeurs prédites et expérimentales des réponses obtenues dans les conditions optimales de la production du jus de baobab.....	133
Tableau XXIX : Taux de variation des réponses comparés aux procédés artisanaux	133
Tableau XXX: Composition proximale, teneur en vitamine C et valeur énergétique du jus de baobab	134
Tableau XXXI : Composition en éléments minéraux du jus de baobab.....	135
Tableau XXXII : Analyse qualitative des métabolites secondaires du jus de baobab	136
Tableau XXXIII : Charge microbiologique du jus de baobab	137
Tableau XXXIV : Caractéristiques physicochimique du Jus de baobab	138
Tableau XXXV : Caractéristiques organoleptiques du jus de baobab.....	139
Tableau XXXVI : Teneurs en composés phénoliques et activités antioxydantes du jus de baobab produit dans les conditions optimales en fonction des différents solvants d'extraction.....	140

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Procédés de production du jus de la pulpe du fruit de baobab	8
Figure 2 : Arbre du baobab (A); fruit du baobab (B); pulpe du fruit du baobab (C) et graines du fruit du baobab (D)	16
Figure 3 : Aire de répartition approximative de 8 espèces de baobab en Afrique continentale	18
Figure 4 : Pulpe et poudre de la pulpe du fruit du baobab (A) ; de la gauche vers la droite : nectar de baobab, deux différents types de sirop de baobab, deux différents types de confitures de baobab (B).....	20
Figure 5 : Actions des radicaux libres sur l'ADN.....	27
Figure 6 : Réactions clés des défenses enzymatiques antioxydantes	31
Figure 7 : Noyau flavonol dihydroxylé en position 3' et 4' (cycle B) montrant les sites de liaisons de coordination des complexes antioxydants-métaux	32
Figure 8 : Présentation des différentes classes de composés phénoliques et leurs structures carbonées générales	34
Figure 9 : Structure de base des flavonoides	35
Figure 10 : Structures chimiques des œstrogènes.	39
Figure 11 : Diagramme synoptique du travail.....	53
Figure 12 : Fruits du Baobab	54
Figure 13 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	59
Figure 14 : Equation de la réaction de l'acide ascorbique avec le 2,6-DCPIP	60
Figure 15 : Echantillons pour l'analyse sensorielle	80
Figure 16 : Protocole d'évaluation des effets utéro-trophiques du jus traditionnel de baobab	83
Figure 17 : Protocole d'évaluation des effets utéro-trophiques du jus de baobab produit dans les conditions optimales.....	84
Figure 18 : Protocole d'évaluation des effets anti-œstrogéniques du jus de baobab produit dans les conditions optimales	85
Figure 19 : Répartition des répondants en fonction de la région d'origine.....	89
Figure 20 : Quantité de jus obtenu à partir de 175 g de pulpe de baobab.....	93

Figure 21 : Différents procédés de production du jus de baobab.....	94
Figure 22 : Paramètres influençant la qualité du jus de baobab au cours de la production	95
Figure 23 : Paramètres de différence entre anciens et nouveaux fruits.....	97
Figure 24 : Moyens de conservation du fruit de baobab	98
Figure 25 : Durée de conservation du fruit du baobab.....	98
Figure 26 : Paramètres du jus affectés par la conservation du fruit du baobab	99
Figure 27 : Paramètres de différence entre le jus fait à base d’anciens et de nouveaux fruits	100
Figure 28 : Préférence des fruits en fonction de l’ancienneté pour la préparation du jus de baobab.....	100
Figure 29 : Connaissance de l’application de la pulpe du baobab en la santé	101
Figure 30 : Diagramme de Pareto illustrant l’effet des différents facteurs sur la teneur en composés phénoliques, l’activité anti-radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale du jus de baobab	123
Figure 31 : Diagramme de Pareto illustrant l’effet des différents facteurs sur la teneur en fer et l’acceptabilité générale du jus de baobab	124
Figure 32 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur la teneur en composés phénoliques du jus de baobab	125
Figure 33 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur l’activité anti-radicalaire DPPH du jus de baobab	126
Figure 34 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur la CAT du jus de baobab.....	128
Figure 35 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur la teneur en fer du jus de baobab	129
Figure 36 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur l’acceptabilité générale du jus de baobab.....	130
Figure 37 : Superposition des différentes réponses.....	132
Figure 38 : Effets utéro-trophiques du jus traditionnel de baobab sur le poids relatif de l’utérus (A) et la taille de l’épithélium utérin (B-C).....	143
Figure 39 : Effets utéro-trophiques du jus traditionnel de baobab sur la taille de l’épithélium vaginal (A-B).....	145

Figure 40 : Effets utérotrophiques du jus de baobab optimisé sur le poids relatif de l'utérus (A) et la taille de l'épithélium utérin (B-C).....	147
Figure 41 : Effets utérotrophiques du jus de baobab optimisé sur la taille de l'épithélium vaginal (A-B).....	149
Figure 42 : Effets antioestrogénique du jus de baobab optimisé sur le poids relatif de l'utérus (A) et la taille de l'épithélium utérin (B-C).....	151
Figure 43 : Effets antioestrogénique du jus de baobab optimisé sur la taille de l'épithélium vaginal (A-B).....	152

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Autorisations et fiches d'enquête	A
Annexe 2 : Analyse sensorielle	I
Annexe 3 : Courbes d'étalonnages	M
Annexe 4 : Milieux de cultures.....	R
Annexe 5 : Chromatogramme.....	S



INTRODUCTION

INTRODUCTION

La consommation régulière, suffisante et variée des fruits et légumes est essentielle pour un bon équilibre alimentaire et le maintien de la santé (Bellavia *et al.*, 2013). Selon l’OMS, environ 2,7 millions de vie pourraient être sauvées par an si les fruits et les légumes étaient suffisamment consommés (OMS, 2014). Plusieurs études épidémiologiques ont montré un lien étroit entre la consommation des fruits ou jus de fruits, la prévention et la gestion des maladies métaboliques et de la malnutrition par carences en micronutriments (vitamine A, fer, zinc et iode) dont les prévalences en Afrique subsaharienne restent élevées (FAO, 2006 ; Oyebode *et al.*, 2014). Prise pour exemple, la carence en fer touche 47% des enfants de moins de 5 ans au niveau mondial ; 40% en Amérique du Sud, 17% en Europe et 64,6% sur le continent Africain (Diouf *et al.*, 2015 ; Adebo *et al.*, 2018). En Afrique subsaharienne, 67% des enfants de moins de 5 ans en souffrent (Apouey *et al.*, 2016). Au Cameroun, elle touche 60% des enfants âgés de moins de 5 ans et 40% de femmes enceintes (INS et ICF International, 2012). La faible consommation des fruits et légumes par les africains serait l’une des principales causes de ces hautes prévalences (OMS, 2003).

Plusieurs études ont montré la présence des produits alimentaires locaux en Afrique qui pourraient contribuer efficacement à la nutrition, la sécurité alimentaire, la santé et aux revenus des communautés rurales. Cependant, leur importance et leur contribution à la sécurité alimentaire et à la réduction de la pauvreté tendent à être sous-estimée. De ce fait, ils ne sont pas exploités de manière optimale. Depuis plusieurs années, la FAO recommande fortement leur valorisation, leur vulgarisation et leur intégration systématique dans les programmes et politiques pertinents (FAO, 2015) ce d’autant plus qu’ils sont autant nutritifs et riches en composés phénoliques et antioxydants que les fruits exotiques (orange, ananas, papaye, banane...) voir meilleurs.

Le fruit du baobab (*Adansonia digitata* L) encore appelés « pain de singe » fait partie de cette catégorie de fruit locaux qui de nos jours n’est pas assez exploité au Cameroun. Le baobab appartient à la famille des bombacaceae, il est présent naturellement dans les zones sahélienne et soudano-sahélienne correspondant à la zone agro-écologique 5 du Cameroun constituée des régions du Nord et de l’Extrême-Nord (IRAD, 2008; Sanogo *et al.*, 2015).

La pulpe du fruit du baobab est un réservoir nutritionnel et fonctionnel de par sa richesse en nutriments (fibres alimentaires, glucides, acides aminés essentiels, minéraux, vitamine C),

composés bioactifs et son fort potentiel antioxydant (De Caluwé *et al.*, 2010 ; Cissé, 2013). C'est une excellente source de vitamine C (200 - 400 mg/100 g MS) et de minéraux (Ibrahim *et al.*, 2018). Elle recèle jusqu'à six fois plus de vitamine C que les oranges et davantage de calcium (3 - 701 mg/100 g MS) qu'un verre de lait (Donatien *et al.*, 2011 ; Chabite *et al.*, 2019). Raison pour lesquelles elle gagne de la popularité sur le marché international suite à l'augmentation de la demande des sources alimentaires de composés bioactifs. Plusieurs compagnies alimentaires et pharmaceutiques ont de ce fait prises conscience de ses potentiels bénéfiques thérapeutiques, ce qui a permis de l'autoriser comme nouvel aliment en Europe depuis 2008 (Sugandha et Shashi, 2017) et comme nouvel ingrédient alimentaire aux Etats-Unis d'Amérique en 2009 (FDA, 2009).

De par cette richesse en nutriments, composés phénoliques et antioxydants, la pulpe du fruit du baobab est un véritable alicament ayant plusieurs propriétés médicinales déjà démontrées parmi lesquelles les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antiplasmodiales, anti-diarrhéiques, antimicrobiennes, hépatoprotectrices, antipyrétiques, analgésiques, antidiabétiques, cardioprotectrices, anti-anémiantes, anticancéreuses... (Lesschaeve et Noble, 2005 ; Karumi *et al.*, 2008 ; Chadare *et al.*, 2009 ; Fahmy, 2013, Ghoneim *et al.*, 2016). Sokeng et collaborateurs ont caractérisé les métabolites secondaires de la pulpe du fruit de baobab récoltée au Cameroun. Elle est très riche en composés phénoliques parmi lesquels les différentes classes de flavonoïdes (flavonols, flavones, flavan-3-ols...) l'une des principale classe des phytoestrogènes (Kaempferol, apigenin) qui sont des perturbateurs endocriniens, analogues naturels des œstrogènes pouvant se fixer sur les récepteurs aux œstrogènes et entrainer des effets œstrogéniques ou antioestrogéniques bénéfiques ou nefastes selon la cible de consommation (FSA, 2003).

Au vu de sa richesse et de son profil phénolique, elle regorgerait encore plusieurs propriétés fonctionnelles non explorées qu'il serait bénéfique d'étudier. Parmi celles-ci, les propriétés œstrogéniques qui sont importantes pour la santé mais peu considérées en alimentation en Afrique et très souvent négligées dans les fruits et jus de fruits, bien que la production artisanale des jus soit majoritairement faite par les femmes et qu'elles consomment la pulpe du fruit du baobab dans certains pays pour stimuler la lactation chez les femmes allaitantes (Braca *et al.*, 2018). De nombreuses études ont montré la présence des phytoestrogènes dans plusieurs classes d'aliments parmi lesquelles les fruits (pulpe du baobab) et jus de fruits, ce qui a permis de classer désormais l'évaluation des phytoestrogènes comme critère de la qualité sanitaire des aliments (Gunter *et al.*, 2009 ; Gupta *et al.*, 2016). Il est de ce

fait important de considérer cela et d'évaluer dorénavant les effets œstrogéniques des jus de fruits que nous consommons.

Les méthodes de transformation des fruits en jus de fruits peuvent avoir un impact sur les qualités nutritionnelles, fonctionnelles et sensorielles des jus obtenues. Celles-ci peuvent diminuer ou être améliorées. Le jus de baobab est obtenu par une extraction aqueuse de sa pulpe. Il devrait de ce fait être autant riche que sa pulpe en nutriments et composés bioactifs responsables de ses bénéfices pour la santé. Cependant au Cameroun, sa production se fait de manière artisanale dans des conditions non contrôlées qui pourraient affecter ses qualités sensorielles, microbiologiques, nutritionnelles et fonctionnelles.

Jusqu'ici, les études antérieures visant à l'amélioration du procédé de production de ce jus n'ont porté que sur l'analyse des jus produits artisanalement (Adedayo *et al.*, 2011); la détermination des barèmes de pasteurisation sans modification des qualités nutritionnelles et organoleptiques (Cissé, 2013); la modélisation de la cinétique de perte de la vitamine C dans la boisson de baobab à différentes températures de pasteurisation et conservation (Abioye *et al.*, 2013), l'influence des techniques de pasteurisation et de conservation sur certains composés bioactifs (Tembo, 2016), l'optimisation des barèmes de pasteurisation du jus de baobab par la méthodologie des surfaces des réponses (Ndiaye *et al.*, 2020). Ces travaux pour la plupart ont utilisé un seul procédé et se sont focalisés sur la variation des conditions de pasteurisation sans considérer les autres procédés traditionnels existants. Ils n'ont pas pris en compte la variation du ratio pulpe/eau et n'ont pas utilisé la méthodologie des surfaces de réponses pour l'optimisation des propriétés fonctionnelles et sensorielles. Enfin le fer n'a pas encore été étudié dans ces processus d'optimisation.

Comment standardiser le procédé traditionnel pour la production d'un jus de baobab aux propriétés nutritionnelles, fonctionnelles et sensorielles optimisées ? Le développement d'un procédé impliquant la prise en compte des facteurs tels que le ratio quantité de pulpe/eau et la température appliquée qui auraient un impact sur les qualités nutritionnelles, fonctionnelles et sensorielles du produit final (Gan et Latiff, 2011; Singh *et al.*, 2011) est important. La méthode des surface de réponses lorsqu'elle est appliquée pour optimiser les conditions dans les recherches pharmaceutiques et alimentaires est un outil performant pour optimiser les processus de production (Muralidhar *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2009).

HYPOTHÈSE DE RECHERCHE

La standardisation du procédé traditionnel de production du jus de baobab en vue de l'obtention d'un jus aux propriétés nutritionnelles et fonctionnelles majorées passe par une optimisation multi réponse de l'extraction des composés nutritionnels et fonctionnels.

OBJECTIF GENERAL

Ce travail a pour objectif de définir les conditions optimales de production d'un jus de baobab aux propriétés nutritionnelles et fonctionnelles majorées.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

Plus spécifiquement il est question d'(e) :

- ✚ Evaluer les impacts des différentes pratiques traditionnelles de production du jus de baobab sur sa qualité ;
- ✚ Définir les conditions de production optimales d'un jus de baobab apprécié avec le fer, les composés phénoliques, l'activité anti-radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale comme composés et activités d'intérêt ;
- ✚ Déterminer *in vitro* les propriétés antioxydantes du jus produit et *in vivo* ses effets oestrogéniques chez la rate albinos de souche Wistar.



CHAPITRE I :
REVUE DE LA LITTERATURE

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I.1 Jus de fruits

I.1.1 Définition et classification

I.1.1.1 Définition

Le jus de fruits est le liquide non fermenté, mais fermentescible, obtenu de la partie comestible de fruits sains, matures et frais ou de fruits conservés dans de saines conditions par des moyens adaptés et/ou par des traitements de surface post-récolte appliqués conformément aux dispositions pertinentes de la Commission du Codex Alimentarius (CODEX STAN 247, 2005).

Le jus est obtenu par des procédés adaptés qui conservent les caractéristiques physiques, chimiques, organoleptiques et nutritionnelles essentielles du fruit dont il provient. Un jus simple est obtenu à partir d'un seul type de fruit. Un jus mélangé est obtenu en mélangeant deux ou plusieurs jus ou des jus et purées obtenus à partir de différents types de fruits (CODEX STAN 247, 2005).

I.1.1.2 Classification

Les jus de fruits sont classés en plusieurs catégories (CODEX STAN 247, 2005) :

- ✚ Jus de fruits pressé directement par des procédés d'extraction mécaniques (les "pur jus" ou 100% jus de fruits) ;
- ✚ Concentré de jus de fruits ;
- ✚ Jus de fruits à base de concentré ;
- ✚ Purée de fruits destinés à la production de jus et de nectars de fruits ;
- ✚ Concentré de purée de fruits destiné à la production de jus et de nectars de fruits ;
- ✚ Nectar de fruits ;
- ✚ Jus de fruits obtenu par extraction hydrique qui est le produit obtenu par diffusion dans l'eau du fruit à pulpe dont le jus ne peut être extrait par aucun procédé physique ou du fruit entier déshydraté.

Au cours de la fabrication des jus de fruits, certains ingrédients sont autorisés pour améliorer le goût ou assurer une bonne conservation. Leurs ajouts doivent se faire sous des instructions strictes et bien définies par des réglementations, et doivent être soigneusement mentionnés sur l'emballage du produit. Parmi ces molécules, on peut citer les sucres (le

saccharose, le dextrose anhydre, le glucose et le fructose), les sirops (saccharose liquide, sucre à canne liquide), l'acide citrique (citron, citron vert), les sels minéraux et les vitamines, principalement l'acide ascorbique pour ses propriétés antioxydantes (CODEX STAN 247, 2005).

I.1.2 Procédés de production des jus de fruits

La production des jus de fruits peut être industrielle ou artisanale. Elle passe par plusieurs procédés technologiques et opérations unitaires qui peuvent varier selon le type de fruit et de jus produit.

I.1.2.1 Production industrielle des jus de fruits

A l'échelle industrielle, les opérations unitaires clés généralement rencontrées sont :

- ✚ **La préparation des fruits pour la transformation :** Elle consiste en plusieurs étapes de prétraitements. Le triage, le lavage, le nettoyage et le calibrage qui consiste à classer les fruits selon leurs tailles (Nout, 2003 ; Benamara et Agougou, 2003). Ces prétraitements des fruits varient selon chaque espèce.
- ✚ **L'extraction du jus :** Le jus est contenu dans la vacuole de chaque cellule parenchymateuse du tissu comestible des fruits. Les fruits sont pressés ou broyés afin d'en extraire le jus tout en préservant ses qualités (Cendres, 2010).
- ✚ **Traitements des jus :** dans cette étape, la clarification est pratiquée pour donner à certains jus la transparence que désire le consommateur. Le jus sera ensuite pasteurisé pour assurer son innocuité et augmenter sa durée de conservation. Le jus obtenu est soit directement conditionné (100% jus de fruits), soit concentré puis reconstitué avec de l'eau (Jus à base de concentré) ou encore concentré et utilisé plus tard pour la réalisation de nectar de fruits. (Espiard, 2002 ; Mihajlovic *et al.*, 2013).

I.1.2.2 Production du jus de baobab

Le jus de baobab est obtenu à partir de l'extraction hydrique de la pulpe du fruit de baobab. Il est produit majoritairement suivant des procédés artisanaux qui sont modifiés dans le but de faciliter sa production et d'obtenir des jus de bonnes qualités.

✚ Procédés artisanaux de production du jus de baobab

Les fruits sont généralement achetés déjà débarassés de leurs coques. Le triage et le lavage des fruits précèdent la séparation de la pulpe des graines et des fibres qui est réalisée par

trempeage à froid, puis tamisage (1kg de pulpe dans 3L d'eau). Cette séparation est aisément obtenue en associant un trempage à froid de 30 min, à un malaxage de 4 min. Après tamisage, le jus est formulé par ajout du sucre et des autres ingrédients (lait, extrait vanille, jus d'autres types de fruits). Le jus obtenu est conditionné dans les bouteilles et stocké (Diop *et al.*, 2005).

Les différentes variations observées au niveau des procédés artisanaux concernent principalement le ratio quantité de fruit/eau, le nombre de lavage, le temps de trempage, la température de l'eau et les ingrédients ajoutés dans la formulation. Aussi, certains producteurs pasteurisent le jus. AFTER (2010) rapporte par exemple un trempage pendant une heure et la pasteurisation dans le procédé artisanal.

Procédé artisanal de production du jus de baobab modifié

Les modifications apportées par plusieurs auteurs dans le procédé artisanal de production du jus de baobab consistent généralement à l'élimination de l'étape de lavage et de trempage des fruits mûres. La pulpe est séparée des graines et des fibres par pilage et tamisage. Un séchage peut précéder ces étapes pour éliminer le maximum d'humidité en la rendant plus apte au pilage par séchage au soleil. La poudre de la pulpe est ensuite mise en solution pendant un temps relativement plus court (5-15 min) ; la formulation, le conditionnement et la pasteurisation clôturent le procédé modifié tel que présenté par la figure1 (AFTER, 2010 ; Cissé, 2012).

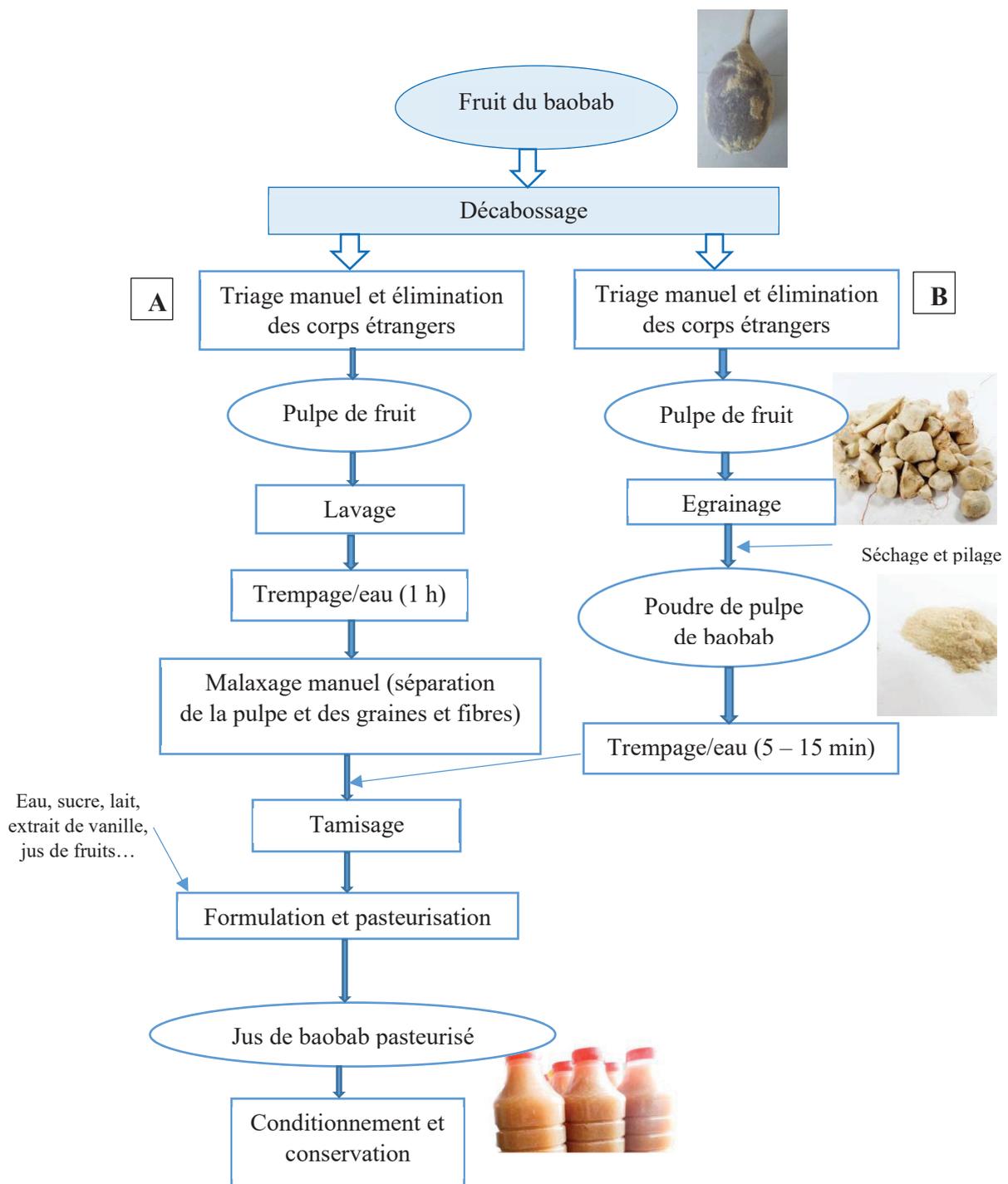


Figure 1 : Procédés de production du jus de la pulpe du fruit de baobab : A= Procédé artisanal ; B = Procédé artisanal modifié (AFTER, 2010 ; Cissé, 2012)

I.1.3 Composition biochimique des jus de fruits

Les jus de fruits ont une composition qui découle de celle des fruits dont ils sont issus. La composition d'un jus de fruits dépend de la variété, de l'origine, des conditions de

croissance du fruit (saison, climat, qualité du sol), du moment de la récolte, du stade de maturité, de la qualité des fruits, des procédés de traitement et de stockage utilisés (Carlen *et al.*, 2005 ; Camerlingo *et al.*, 2007).

Pendant la fabrication des jus de fruits, la plupart des composés nutritionnels et fonctionnels sont extraits. Cependant le rendement peut varier suivant le procédé, la localisation et la solubilité des constituants du fruit (Cendres, 2010).

Le constituant le plus important d'un jus de fruits est l'eau qui représente entre 75 et 90% de la masse, ce qui confère à cet aliment son rôle premier d'hydratation. En plus de l'eau, les autres constituants majeurs des jus de fruits sont les sucres, les acides organiques (acides citrique, malique, tartrique, ascorbique...), les composés azotés, les fibres alimentaires, les composés phénoliques, les sels minéraux et les vitamines (Camerlingo *et al.*, 2007). Ils contiennent également une petite quantité de protéines et de lipides. Leur faible apport énergétique et leur richesse en minéraux, et particulièrement en potassium, contribuent à leur intérêt nutritionnel (Dhuiquemayer, 2007).

Plusieurs classes de métabolites secondaires (composés phénoliques, alcoïdes, terpénoïdes, stérols...) sont retrouvées dans les fruits et par conséquent dans leurs jus. Leurs teneurs sont très variables en fonction des conditions agronomiques (saison, lieu, pratiques culturales) et des variétés de fruits.

L'extraction des composés phénoliques lors du transfert du fruit au jus est essentielle pour préserver l'intérêt nutritionnel et fonctionnel des jus de fruits. De plus, les composés phénoliques jouent un rôle organoleptique par leur impact sur la couleur, l'amertume, l'astringence. On retrouve principalement dans les jus de fruits les flavonoïdes (flavanols, flavonols et anthocyanes) et les dérivés d'acides hydroxycinnamiques (Cendres, 2010).

I.1.4 Importance des jus de fruits pour la santé

Les jus de fruits sont très appréciés par les consommateurs à cause de leurs goûts, valeurs nutritionnelles, fonctionnelles et leurs disponibilités. Ils font également partie de l'équilibre alimentaire dans plusieurs pays (Vantarakits *et al.*, 2011).

Les fruits sont une composante importante de l'alimentation saine, consommés quotidiennement en quantité suffisante, ils pourraient aider à prévenir des affections d'importance majeure, comme les malnutritions par carence en micronutriments, les maladies cardiovasculaires, le diabète, l'obésité et certains cancers (Escudero-Lopez *et al.*, 2016). Globalement, jusqu'à 2,7 millions de vies pourraient être sauvées chaque année en augmentant

suffisamment la consommation des fruits et légumes (OMS, 2014). Les effets bénéfiques des jus de fruits pour la santé connus depuis longtemps sont rattachés à leurs compositions. Ils sont d'excellentes sources en micronutriments protecteurs (minéraux, vitamines...), des sources de fibres alimentaires (Liu, 2013), de composés bioactifs (composés phénoliques, tocopherols, caroténoïdes et anthocyanines) indispensables pour la santé (Kongkachuichai *et al.*, 2015).

La consommation des jus de fruits est une stratégie efficace pour atteindre les apports journaliers recommandés en fruits et par ailleurs en plusieurs micronutriments. Le tableau ci-dessous présente les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles de quelques composantes des fruits

Tableau I : Propriétés nutritionnelles et fonctionnelles de quelques composantes des fruits (Tchuenchieu, 2017)

Composantes	Propriétés
Eau	Hydratation
Glucides	Carburant privilégié du cerveau et substrat pour l'activité musculaire ; interviennent dans le stockage du glycogène.
Vitamine C	Antioxydant ; accroît l'absorption du fer ; stimule la surrénale; régénère la vitamine E.
Magnésium	Favorise un bon fonctionnement neuromusculaire.
Potassium	Maintient l'équilibre acido-basique et hydro-électrolytique du milieu intérieur ; a un effet hypotenseur.
Fer	Antianémique ; joue un rôle dans la défense contre l'infection.
Zinc	Antioxydant ; intervient dans la faculté gustative ; ralentit le vieillissement cutané, de la croissance, de la fertilité.
Fibres	Favorisent le fonctionnement intestinal par prolifération symbiotique de la flore colique ; améliorent les métabolismes glucidique et lipidique.
Composés phénoliques	Antiagrégant plaquettaire ; antioxydant ; possèdent des effets de synergie avec la vitamine E ; ont un rôle dans le métabolisme osseux; anti-angiogénique ; participent au fonctionnement endothélial ; anticancéreuses ; phytoestrogènes ; anti-inflammatoires ; antimicrobiennes.

I.1.5 Impacts des traitements technologiques sur la qualité nutritionnelle, sensorielle et fonctionnelle des jus de fruits

La transformation des fruits en jus de fruits passe par des procédés technologiques dont certains permettent l'extraction des constituants, assurent l'innocuité et la durée de vie du jus. Cependant, ces procédés peuvent affecter les qualités sensorielles, nutritionnelles et fonctionnelles du jus en dégradant les constituants sensibles (vitamines, composés phénoliques,

sucres). L'obtention de jus de fruits prêts à consommer nécessite une succession d'opérations unitaires qui doivent être optimisées pour assurer un niveau de production suffisant sans nuire ni à la qualité, ni à la sécurité.

Impact sur les vitamines

La stabilité des vitamines dans les jus de fruits dépend de plusieurs facteurs : température, pH, oxygène, lumière, acides et la présence d'ions métalliques. Les principales réactions de dégradation sont l'oxydation, l'hydrolyse ou la réduction. Le Tableau ci-dessous donne une estimation des pertes en quelques vitamines occasionnées au cours de la fabrication et du stockage des jus de fruits. Les pertes dues au processus de fabrication (incluant la pasteurisation) sont relativement faibles comparativement aux pertes observées au cours du stockage (Belliot, 2003).

Tableau II : Stabilité des vitamines dans les jus de fruits (Belliot, 2003)

Vitamines	Pertes à la fabrication (%)	Pertes au stockage* (%)
β-carotène, E, B2	< 10	10 à 20
B1, B6, B12	5 à 20	10 à 20
B5, B9	5 à 20	40 à 60
C	5 à 20	30 à 60

* Stockage à température ambiante à l'obscurité (1 an à 20-25°C)

Gil-Izquierdo *et al.* (2002) ont mesuré les teneurs en vitamine C d'un jus d'orange avant et après pasteurisation à l'échelle industrielle et n'ont pas observé de pertes après traitement à 95°C pendant 30 s. Sanchez-Moreno *et al.* (2005) rapportent qu'une pasteurisation faible (70°C/30 s) n'occasionne pas de pertes en vitamine C et qu'une forte pasteurisation (90°C/1 min) entraîne environ 8 % seulement de pertes significatives. La dégradation de la vitamine C dans le jus provoque une perte de la qualité nutritionnelle mais aussi l'apparition de composés volatiles odorants à impact négatif et la formation de composés bruns responsables d'une modification de la couleur.

Impact sur les composés phénoliques

Les procédés de transformation incluent le plus souvent des traitements thermiques qui selon la classe de composés phénoliques, auront un impact plus ou moins dommageable.

Un traitement thermique adéquat permet une inhibition quasi-totale, voir totale de la Polyphénol oxydase (Vámos-Vigyázó, 1995).

Diverses études montrent la dégradation des anthocyanes et des flavonols pendant les procédés thermiques (Will et Dietrich, 2006). La dégradation thermique des anthocyanes et la formation de composés intermédiaires dépendent de la sévérité et du temps de chauffage (Patras *et al.*, 2010). Kim *et al.* (2003) ont montré une perte de 79% des teneurs en anthocyanes lors des procédés d'extraction, cependant cette dégradation peut être limitée par un faible pH permettant une stabilité plus élevée des anthocyanes.

La dégradation des flavonols augmente proportionnellement avec la température, cependant l'impact est moins important que pour les anthocyanes (Raynal, 1989). Peu de données nous informent sur la stabilité des flavonoïdes dans les jus de fruits ; cependant, Sanchez-Moreno *et al.* (2005) ont remarqué la stabilité de l'héspéridine par rapport à la narirutine (16% de pertes) dans les jus d'orange pasteurisés.

Brunissement

Le brunissement est l'ensemble des phénomènes qui participent à l'apparition de colorations brunes consécutives à des altérations des fruits ou légumes. Les cellules végétales renferment, souvent en abondance des composés phénoliques qui s'oxydent facilement en présence d'oxygène et sous l'action d'enzymes. A la suite de ces réactions d'oxydation, des brunissements apparaissent qui se traduisent par la formation des polymères bruns tirant au marron (Benamara et Agougou, 2003). Le brunissement des jus de fruits peut être causé par:

- La transformation des sucres ;
- L'interaction entre les sucres et les acides aminés ;
- La formation de l'hydroxyméthylfurfural ;
- L'oxydation des substances polyphénoliques et la désintégration des vitamines.

Les substrats préférentiels du brunissement peuvent varier suivant les végétaux bien que les acides hydroxycinnamiques et dérivés constituent les principales substances responsables de ce phénomène d'altération de couleur. Le brunissement dépend de la concentration de composés phénoliques, de l'activité de polyphénoloxydase (PPO) et de la concentration d'antioxydants dans le tissu. Cependant tous les phénols n'interviennent et ne réagissent pas de la même manière dans le brunissement enzymatique et non enzymatique. Les phénols sont oxydés par les composés phénoliques-oxydases (PPO) ou éventuellement les peroxydases, conduisant à la formation des polymères colorés. Deux étapes de réactions sont considérées dans cette transformation :

➤ **Brunissement enzymatique** qui correspond à la transformation par l'intermédiaire de système spécifique des composés phénoliques en présence d'oxygène moléculaire en polymère colorés (quinone éventuellement réductible), le plus souvent en brun ou noir sous l'action d'une enzyme : le polyphénol oxydase (PPO) (Nout *et al.*, 2003).

➤ **Brunissement non enzymatique** correspondant à une décomposition des quinones en un pigment brun (polymères colorés) appelé mélanoïdines (Cheriot, 2007). Le brunissement non enzymatique ou la réaction de Maillard se produit au cours des traitements thermiques ou durant la conservation prolongée des aliments. Ces réactions ont une importance considérable dans l'industrie alimentaire, car elles sont responsables de la formation de pigments bruns et des modifications de l'arôme et de la saveur des aliments (Bergheul *et al.*, 2015). La réaction de Maillard est l'ensemble des interactions résultant de la réaction initiale entre un sucre réducteur et un groupement aminé. Elle peut aussi donner naissance à des composés cancérigènes et également réduire la valeur nutritionnelle des aliments en dégradant des acides aminés essentiels (Bergheul *et al.*, 2015).

Impact sur la qualité sensorielle

Plusieurs constituants des fruits (sucres, acides organiques, composés phénoliques, protéines, les vitamines) interviennent dans la qualité organoleptique des jus de fruits. L'impact des procédés technologiques sur ces derniers affecte de ce fait la qualité organoleptique des jus.

La qualité organoleptique des fruits et jus de fruits et la stabilité sont fortement dépendantes de la composition en sucre. La teneur en acides organiques bien qu'elle soit plus faible que celle des sucres, a également un impact important pour la qualité des jus de fruits. C'est en fait l'ajustement de la balance sucre/acide qui détermine la perception et l'acceptabilité des jus.

Les composés phénoliques en plus de leurs propriétés antioxydantes, présentent aussi des caractéristiques organoleptiques. Ils contribuent à développer la couleur, l'arôme et le goût particulier de nombreux produits alimentaires. La dénaturation de la PPO permet une meilleure conservation des qualités organoleptiques des jus de fruits (Tiwari *et al.*, 2009).

I.1.6 Microbiologie des jus de fruits

Les jus de fruits comme tous les aliments acides peuvent être contaminés par des bactéries qui tolèrent l'acidité, et aussi par des levures et des moisissures (Vantarakis *et al.*, 2011).

Les microorganismes isolés des jus de fruits peuvent être regroupés en deux grands groupes : **les microorganismes d'altération**, qui ont un impact négatif sur la qualité sensorielle du jus, et **les microorganismes pathogènes** qui sont ceux à risque pour la santé des consommateurs (Tchuenchieu, 2017). Parmi les microorganismes responsables de l'altération des aliments, se trouvent la flore mésophile aérobie totale (FMAT), la flore fongique constituée par les levures et moisissures, les bactéries lactiques et acétiques (Nemer et Benseghir, 2019). Cette détérioration se manifeste par un changement d'apparence, de goût ou d'odeur du jus de fruits, qui le rend alors inacceptable pour les consommateurs (Tchuenchieu, 2017). Les jus de fruits sont en général des matrices de pH faible ($\text{pH} < 4,5$), les microorganismes qui les altèrent ont en commun une capacité à croître dans ces conditions acides (Bevilacqua *et al.*, 2011 ; Aneja *et al.*, 2014). Les microorganismes pathogènes responsables de toxiinfections alimentaires sont les anaérobies sulfite réducteurs: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli*, *Vibrio cholerae* et *Vibrio parahaemolyticus*.

Il existe deux grands groupes de procédés pouvant garantir la sécurité, la qualité et la stabilité des jus de fruits : les procédés thermiques et non thermiques.

Les procédés thermiques

Le traitement thermique est la méthode la plus utilisée pour désactiver les microorganismes et les enzymes indésirables (polyphénol oxydase, pectine méthyl-estérase) contenus dans les jus de fruits et donc prolonger leur durée de vie. Il se fait par pasteurisation et non par stérilisation afin d'éviter de modifier les caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et fonctionnelles des jus traités (Tchuenchieu, 2017). La pasteurisation reste la méthode la plus utilisée pour les jus, à cause de sa grande fiabilité (Rajauria et Tiwari, 2017), son principal but étant la destruction de microorganismes pathogènes, et la minimisation au travers d'un barème température-temps adéquat du taux de la flore d'altération qui sont susceptibles de croître durant le stockage et la distribution des jus (Ramaswamy *et al.*, 2005 ; Rajauria et Tiwari, 2017). La pasteurisation des jus de fruits est basée sur une réduction de 05 Log du pathogène infectant du jus de fruits (FDA, 2001). Selon le couple temps-température on distingue deux types (Rupasinghe et Yu, 2012 ; Chen *et al.*, 2013):

➤ La pasteurisation à température faible pendant un temps relativement long. Les jus de fruits sont traités en batch à 63-65 °C sur une période relativement longue, pas moins de 30 min à 63°C ;

➤ La pasteurisation à température haute pendant un temps court. C'est la plus utilisée vu qu'elle limite les changements de qualité de jus induit par la précédente. Le jus d'orange est par exemple pasteurisé à 90-95 °C pendant 15-30 s, et le jus de pomme à 77-88 °C pendant 25-30s. Ce sont généralement des échangeurs thermiques qui sont utilisés dans ce cas (système continu).

Les procédés non thermiques

Les traitements non thermiques utilisés sont entre autres (Rupasinghe et Yu, 2012 ; Aneja *et al.*, 2014) :

- Les procédés physiques : l'utilisation des hautes pressions hydrostatiques, des hautes pressions d'homogénéisation, de champs électriques pulsés, de l'ultrason (sonication), de la technologie « ultraviolet » et la filtration membranaire ;
- Les procédés chimiques : l'utilisation des conservateurs chimiques ;
- L'utilisation des conservateurs naturels ;
- La combinaison des procédés physiques et chimiques.

I.2 Généralités sur le baobab

Le baobab africain (*Adansonia digitata* L.) est un arbre emblématique de la savane africaine (Korbo *et al.*, 2013). Il est l'une des espèces ligneuses les plus frappantes et reconnaissables d'Afrique en raison de sa grande taille et peut atteindre plus de 25 m de hauteur (Figure 2) et persister plus de 1000 ans (Cissé *et al.*, 2013). L'utilisation des différentes parties (feuilles, écorces, racines, graines, pulpe du fruit, fleur) comme aliment et en médecine traditionnelle est largement documenté dans la littérature (Sidibe et Williams, 2002 ; De Caluwé *et al.*, 2010).

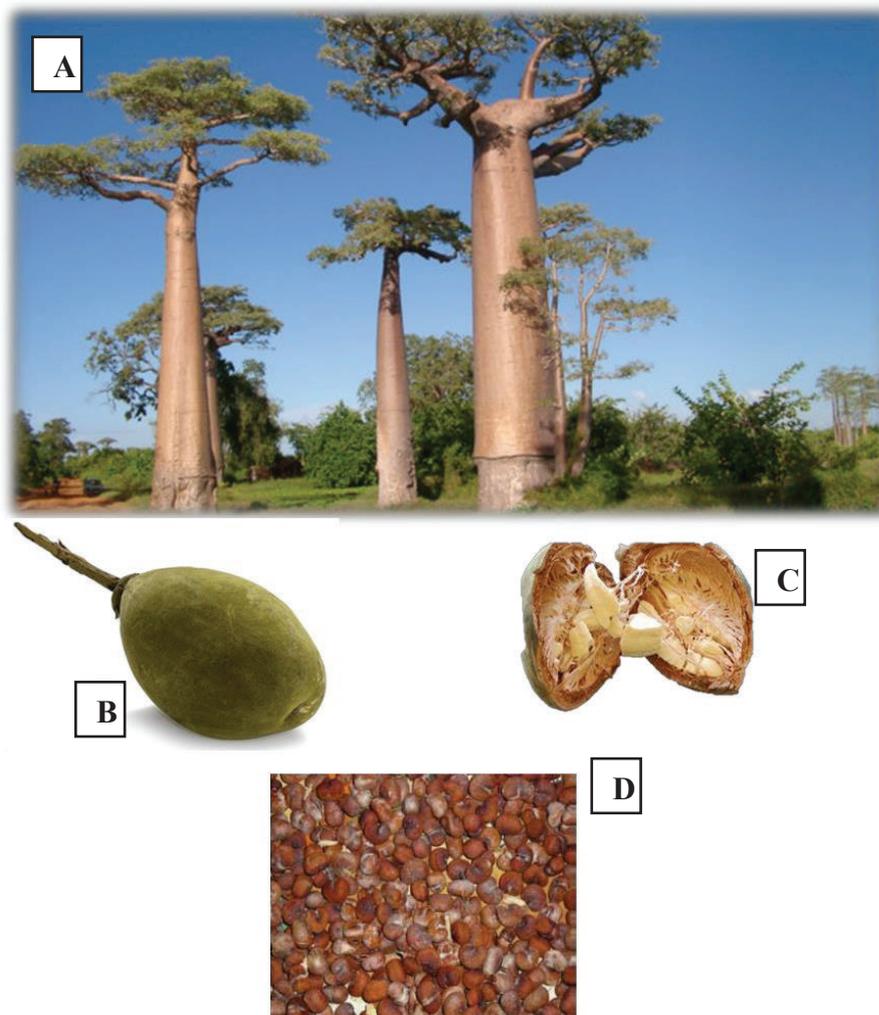


Figure 2 : Arbre du baobab (A); fruit du baobab (B); pulpe du fruit du baobab (C) et graines du fruit du baobab (D) (Tembo, 2016)

I.2.1 Classification

Le baobab fait partie du genre *Adansonia* qui appartient à la famille des Bombacacées et à l'ordre des Malvales, au même titre que le kapokier ou le fromager (Kerharo et Adam, 1974). Cette famille des Bombacaceae comprend environ 30 genres, 6 tribus et environ 250 espèces (Baum *et al.*, 1998). Le genre *Adansonia* est composé de huit autres espèces. Les six espèces (*A. grandidieri* Baill., *A. madagascarensis* Baill., *A. perrieri* Capuron, *A. rubrostipa* Jum. et H. Perrier, *A. suarezensis* H. Perrier et *A. za* Baill.) sont endémiques à Madagascar ; *A. gibbosa* (*A. Cunn.*) Guymer *ex D.* Baum est endémique à la région de Kimberley située au Nord-Ouest de l'Australie et enfin *A. kilima* qui est endémique à l'Afrique continentale (Wickens et Lowe, 2008 ; Pettigrew *et al.*, 2012). L'espèce *Adansonia digitata* Linn., présente sur le continent Africain, est l'espèce la plus répandue, la plus reconnaissable et la mieux décrite (Soloviev *et al.*, 2004).

Systematique de *Adansonia digitata*

- Nom scientifique : *Adansonia digitata*
- Règne : Plantae
- S/règne : Tracheobionta
- Embranchement : Spermatophyta
- S/ embranchement : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida ou Dicotyledone
- S/classe : Dilleniidae
- Ordre : Malvales
- Famille : Bombacaceae (Malgras, 1992), Malvaceae (Tina *et al.*, 2009)
- Genre : *Adansonia*
- Espèce : *digitata*
- Synonyme : *Adansonia sphaerocarpa* (Arama, 1980)
- Nom vernaculaire : Baobab

I.2.2 Aire de répartition de *Adansonia digitata* L.

Le baobab est présent naturellement dans les zones sahélienne, soudano-sahélienne, soudanienne, soudano-guinéenne et, guinéenne, où les précipitations annuelles moyennes sont respectivement de 300, 700, 800, 1100 et 1200 mm (Sanogo *et al.*, 2015). Cette espèce de baobab est présente dans la plupart des régions semi-arides et subhumides du sud du Sahara (Figure 3). La distribution du baobab est limitée dans certains pays. En effet, au Tchad, on ne le trouve que dans l'ouest, en Afrique du Sud, il se limite essentiellement au Transvaal et au Cameroun, on le retrouve uniquement dans les régions du Nord et de l'Extrême Nord (Sidibe et Williams, 2002 ; Assogbadjo *et al.*, 2006).

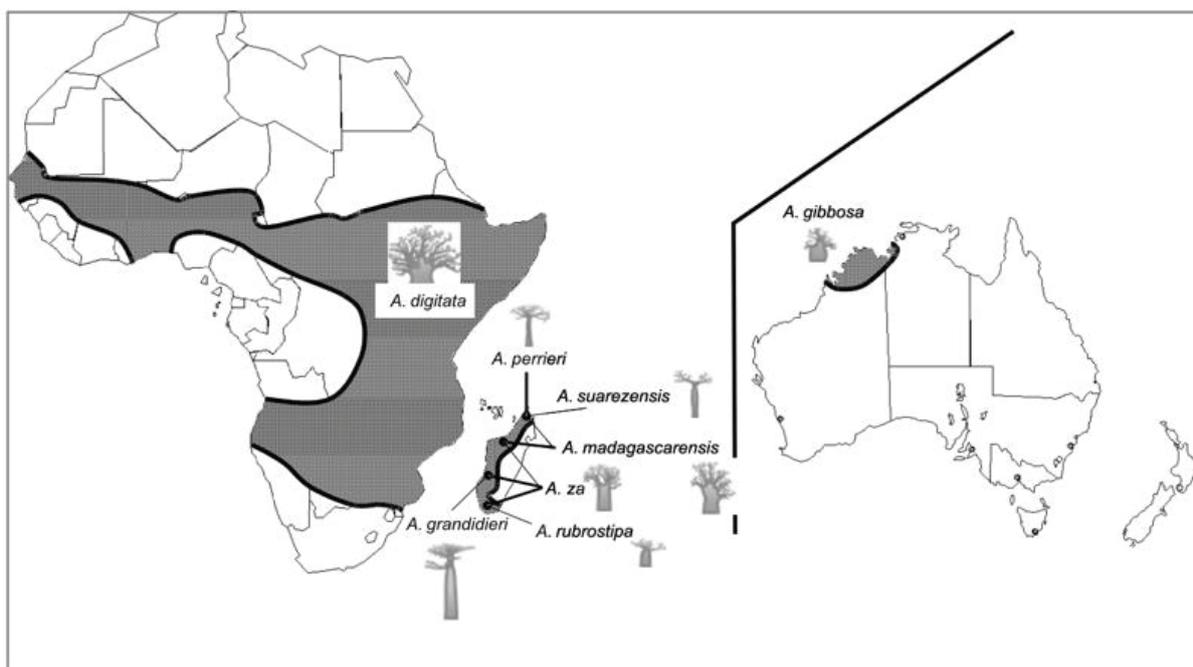


Figure 3 : Aire de répartition approximative de 8 espèces de baobab en Afrique continentale (Diop *et al.*, 2005)

I.2.3 Composition de *Adansonia digitata* L.

La pulpe du fruit et la feuille du baobab sont riches en composés nutritifs (glucides, protéines, composés phénoliques, caroténoïdes, acides et vitamines), et les éléments minéraux dont le calcium, le fer, le zinc, le potassium, et le phosphore (Boukari *et al.*, 2001). Le tableau suivant présente la composition de la pulpe de *Adansonia digitata* L.

Tableau III : Composition de la pulpe de *Adansonia digitata* L.

Eléments	Teneurs	Références
Teneur en eau (%)	2 - 27,5	Chadare <i>et al.</i> , 2009 ; Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Glucides totaux (g/100 g MS)	46,6 - 87,7	Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Protéines (g/100 g MS)	2,38 - 17	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Lipides (g/100 g MS)	0,2 - 15,5	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Fibre (g/100 g MS)	6 - 45,1	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Energie (Kcal/100 g)	280, 77 - 1495	Chadare <i>et al.</i> , 2009 ; Kouamé <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Vitamine C (mg/100g MS)	200 - 400	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018
Composés phénoliques (mg/100 g MS)	389,01 - 1085	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Kouamé <i>et al.</i> , 2018 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018

Capacité antioxydante (μ moles Eq Trolox/g)	109	Cissé <i>et al.</i> , 2013
Cendres (g/100 g MS)	1,9 - 6,4	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Ca (mg/100 g MS)	3 - 701	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Mg (mg/100 g MS)	100 - 300	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
P (mg/100 g MS)	0,0 - 425	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
K (mg/100 g MS)	586,01 - 3272	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Na (mg/100 g MS)	0,8 - 31,1	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Cu (mg/100 g MS)	0,2 - 1,8	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Fe (mg/100 g MS)	1,1 - 10,4	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Mn (mg/100 g MS)	0,4 - 2,1	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019
Zn (mg/100 g MS)	0,5 - 3,2	Cissé <i>et al.</i> , 2013 ; Ibrahim <i>et al.</i> , 2018 ; Chabite <i>et al.</i> , 2019

La pulpe représente entre 14 et 28% de la masse totale du fruit (Soloviev *et al.*, 2004). La pulpe semble contenir beaucoup d'amidon et de composés pectiques, pour la plupart solubles dans l'eau et faiblement méthoxylés (Maundu *et al.*, 1999). La teneur en protéines est voisine de 1,5 g/100 g et tous les acides aminés essentiels sont présents (Chadare *et al.*, 2009). La pulpe du fruit du baobab est riche en composés phénoliques et a une capacité antioxydante plus élevée que celle de plusieurs autres fruits. On y retrouve plusieurs classes de composés phénoliques bénéfiques pour la santé (Tembo *et al.*, 2017 ; Sokeng *et al.*, 2019). Le goût acidulé de la pulpe est dû aux acides organiques tels que l'acide citrique, acide tartrique, acide malique et succinique. Grâce aux caractéristiques nutritionnelles susdites la pulpe du fruit immergée dans l'eau permet de préparer une boisson rafraichissante et nourrissante.

I.2.4 Utilisations de *Adansonia digitata* L.

Toutes les parties du baobab (racines, écorces, bois, gomme, feuilles, fleurs, capsules, pulpe, graines, fibres) sont exploitées et utilisées traditionnellement. En Afrique, on a recensé environ trois cent (300) utilisations traditionnelles du baobab (Buchmann *et al.*, 2010). Les usages alimentaires et médicinales font partie des principales utilisations du baobab (De Caluwé *et al.*, 2010). Cependant, la pulpe du fruit reste la partie la plus exploitée et la plus consommée

(Cisse *et al.*, 2009). Nous nous limiterons aux différentes utilisations alimentaires et thérapeutiques de la pulpe du fruit.

I.2.4.1 Utilisation alimentaire

La pulpe contenue dans la capsule est obtenue après pilage et tamisage du contenu de la capsule. L'extraction de la pulpe et des graines à partir des fruits de baobab est réalisée par deux voies : la voie sèche et la voie humide. La pulpe entre ainsi dans la composition de nombreuses préparations céréaliers, telles que des bouillies ou des couscous (exemple : le « mutchoyan » au Bénin ou le « ngalakh » au Sénégal), des sauces ou des crèmes d'accompagnement (exemple : crème sucrée à base d'arachides grillées et pilées au Sénégal. La pulpe est parfois utilisée pour faire coaguler le lait, pour activer la fermentation alcoolique lors de la préparation de boissons à base de nectar de cannes à sucre ou de céréales, ou pour épaissir des préparations sucrées cuites à base de fruits (mangue, orange, etc). Elle est également transformée en sirop et confiture (Ambe, 2001 ; Cisse *et al.*, 2008). Par ailleurs, la pulpe du fruit de baobab est de plus en plus valorisée comme jus et commercialisée sur les places publiques et dans certains centres commerciaux en Afrique (Tembo, 2016). C'est cette dernière forme d'utilisation de la pulpe qui est la plus connue au Cameroun, mais pas encore assez vulgarisée et exploitée.



Figure 4 : Pulpe et poudre de la pulpe du fruit du baobab (A) ; de la gauche vers la droite : nectar de baobab, deux différents types de sirop de baobab, deux différents types de confitures de baobab (B) (De Caluwé *et al.*, 2010 ; AFTER, 2010)

I.2.4.2 Utilisations médicinales

Le baobab fait partie intégrante des pharmacopées africaines. Les utilisations médicinales de la plante sont nombreuses et variées. Partout en Afrique, les différentes parties du baobab telles que les racines, le tronc, l'écorce, les feuilles, la pulpe et les graines sont exploitées à des fins thérapeutiques. Dans la pharmacopée traditionnelle africaine le baobab entre dans la préparation de nombreux remèdes, en particulier pour les problèmes digestifs, mais aussi inflammatoires (Codjia *et al.*, 2001 ; Sidibe et Williams, 2002). La pulpe du fruit traiterait la diarrhée, la dysenterie, l'inflammation de l'intestin et du foie (Tal Dia *et al.*, 1997).

Dans la médecine traditionnelle, la pulpe est employée comme fébrifuge, analgésique, anti-diarrhéique, anti-dysenterie et dans le traitement de la variole et de la rougeole (Adam, 1974 ; Kerharo et Adam, 1974). Grâce à ses propriétés lubrifiantes et diluantes accompagnées par la présence de pectines et glucides, la pulpe du baobab a été employée comme base hydrophile de formulations pharmaceutiques de comprimés de paracétamol et théophylline avec action prolongée (Galil, 1996). La pulpe est employée dans le traitement radical de la diarrhée infantile (Galil, 1996). Elle possède également des propriétés antioxydantes, antiplasmodiales, analgésiques, anti-anémiques, cardioprotectrices, anticancéreuses, hépato-protectrices, antidiabétiques (Lesschaeve et Noble, 2005 ; Karumi *et al.*, 2008 ; Chadare *et al.*, 2009 ; Fahmy, 2013 ; Ghoneim *et al.*, 2016). Elle est utilisée comme galactogogues chez les femmes allaitantes (Braca *et al.*, 2018). Son profil en métabolites secondaires est intéressant et montre la présence des phytoestrogènes (flavonoïdes : Kaempferol, apigenin) pouvant avoir des effets oestrogéniques ou antioestrogéniques qu'il serait important d'explorer (Sokeng *et al.*, 2019).

I.2.5 Etudes antérieures sur la pulpe du fruit du baobab

Plusieurs études ont été effectuées sur la pulpe du fruit du baobab. Parmi celles-ci, les études sur sa transformation en jus et sur ses différentes propriétés médicinales.

I.2.5.1 Etudes sur la transformation de la pulpe en jus

Le jus de baobab fait partie de la classe des jus produit par extraction hydrique de la pulpe du fruit du baobab (CODEX STAN 247, 2005). Plusieurs études ont été menées sur la production de ce jus.

✚ Diop *et al.* (2005) dans le but de valoriser les produits locaux au Sénégal ont investigué la transformation de la pulpe du fruit du baobab en nectar en vue d'une production à grande échelle. Après une enquête sur les différentes utilisations de cette pulpe et les procédés de transformation en jus, ils ont produit le jus suivant le procédé traditionnel majeur recensé et ont ajouté une étape de pasteurisation et de microfiltration tangentielle pour palier au problème de courte durée de vie du jus. Ce qui a permis de passer d'une durée de conservation de 4 jours à 4°C, à 11 jours à cette même température. Ce temps de conservation restait court et les propriétés sensorielles (couleur et flaveur) étaient affectées à partir de 11 jours.

✚ Au Soudan, l'équipe de Abdalla en 2010 a produit et évalué la qualité des jus de baobab. Afin d'améliorer la qualité du jus et de résoudre le problème de durée de vie, ils ont associé à la pasteurisation l'ajout de la gomme arabique à différents pourcentages comme

stabilisateur, émulsifiant et pour préserver la saveur. Ils ont également évalué le potentiel de ce jus pour la production d'une boisson gazeuse. Le jus de baobab produit avec 1,5% de gomme d'arabique purifiée a été conservé à température ambiante pendant quatre mois sans changement notable des caractéristiques chimiques, microbiologiques et sensorielles. La boisson gazeuse à base de baobab quant à elle a fait montre d'une plus longue durée de conservation (6 mois) dans les mêmes conditions sans effet sur la teneur en vitamine C, le profil microbiologique et les propriétés sensorielles.

✚ Abioye *et al.* (2013) ont modélisé la cinétique de dégradation de la vitamine C dans le jus de baobab à différentes températures de pasteurisation et de conservation. Les températures de pasteurisation variaient entre 60-90 °C pendant 3 heures et celles de la conservation entre -5 à 40 °C pendant 35 jours. Ils ont conclu que la vitamine C dans le jus de baobab diminue avec l'augmentation de la température et cette perte à toutes les températures était bien décrite par un modèle de vitesse de réaction de premier ordre. La plus grande perte a été enregistrée entre 80-90 °C. La pasteurisation à des températures plus basses préservait mieux la vitamine C qui diminuait pendant la conservation. Le refroidissement brusque après pasteurisation diminuait l'effet de la température et limitait la perte en vitamine C.

✚ La teneur en composés phénoliques et la capacité antioxydante du jus de baobab a été évaluée par Konan *et al.* (2015) pendant leur étude sur les jus traditionnels consommés en Côte d'Ivoire. Les résultats de cette étude révèlent que le jus de baobab possède une forte teneur en composés phénoliques ($50,1 \pm 15,5$ mg Eq AG/mL) qui est plus élevée que celle des autres jus étudiés (roselle, citron, gingembre, fruit de la passion, tamarin). Il a également montré un fort potentiel antioxydant (méthodes DPPH, FRAP, ABTS) et l'un des plus grands indices en composés antioxydants (89,5).

✚ Tembo *et al.* (2017) ont étudié l'effet des traitements thermiques et de la conservation sur les composés bioactifs, les acides organiques et l'activité antioxydante du jus de baobab du Malawi. Il ressort de cette étude que les températures de traitement et de conservation incontrôlées affectent significativement le niveau des composés bioactifs et l'activité antioxydante du jus de baobab. L'utilisation des pasteurisations conventionnelles (72 °C, 15 s) est recommandée pour garder les composés bioactifs et améliorer l'activité antioxydante de ce jus. La fluctuation du flavan-3-ol pendant la conservation indique qu'il y a une série de réactions de transformation qui a lieu. La réfrigération à 6 °C préserve ces composés bioactifs pendant 60 jours.

✚ En 2020, Ndiaye *et al.* ont investigué l'optimisation des paramètres de pasteurisation du jus de baobab en utilisant la méthodologie des surfaces de réponses dans le

but d'optimiser la qualité sanitaire. Ils concluent que la pasteurisation à 80 °C pendant 10 minutes permet d'avoir un jus de bonne qualité hygiénique mais les teneurs en composés phénoliques, vitamines C et sucres sont affectées.

I.2.5.2 Etudes sur les propriétés de la pulpe du fruit du baobab

Plusieurs études ont exploré les propriétés de la pulpe du fruit du baobab, nous avons parmi celles-ci l'étude des :

✚ Propriétés antioxydantes

Des études ont mis en évidence l'importante activité anti-oxydante (hydrosoluble et liposoluble) de la pulpe du baobab (Cisse *et al.*, 2008 ; Chadare *et al.*, 2009). Cette activité antioxydante lui est conférée par de nombreux composés antioxydants qu'elle renferme à savoir la vitamine C et les composés phénoliques dont les teneurs sont plus élevées que dans plusieurs autres fruits. Plusieurs activités antioxydantes ont été mesurées : la capacité antioxydante totale, l'activité antioxydante FRAP, les activités antiradicalaires ABTS et DPPH ; l'activité antioxydante des extraits de fruits sur l'anion superoxyde et sur l'inhibition de la peroxydation lipidique (Tembo *et al.*, 2017 ; Braca *et al.*, 2018 ; Ismail *et al.*, 2019). Les résultats obtenus montrent que cette pulpe est une source d'antioxydant pouvant être bénéfique dans la lutte contre le stress oxydatif et par ricochet dans la prévention et la gestion des maladies liées au stress oxydatif. Ceci a été démontré dans une étude sur l'effet protecteur de la pulpe du fruit de baobab sur le stress oxydatif induit chez les rats de souche *Wistar* par une alimentation élevée en graisse. La pulpe du fruit du baobab a boosté chez les rats l'activité des enzymes antioxydantes (Superoxyde dismutase, Catalase, Glutathion peroxydase) qui diminue avec une alimentation élevée en graisse (Sami *et al.*, 2019).

✚ Propriétés anti-inflammatoires et antipyrétiques

Différents essais ont été effectués pour analyser l'activité biologique de l'extrait aqueux lyophilisé de la pulpe du fruit du baobab. Ces études ont mis en évidence une forte activité anti-inflammatoire avec des dosages de 400 -800 mg /kg de pulpe. Cet effet est comparable à celui produit par une dose de 15 mg/kg de phénylbutazone (Ramadan *et al.*, 1994). Les effets cités ci-dessus sont associés à la présence de stérols dans l'extrait aqueux (Ramadan *et al.*, 1994).

La pulpe du fruit du baobab a également montré des effets analgésiques et antipyrétiques comparable à celle de l'acide acétylsalicylique par voie orale. Ces résultats justifient

le large emploi de cette plante dans la médecine traditionnelle comme anti-pyrétique ou contre la fièvre (Ramadan *et al.*, 1994 ; Codja *et al.*, 2001).

Propriétés anti-diarrhéiques

La pulpe du fruit du baobab serait efficace contre la diarrhée (Sidibe et Williams, 2002). Si elle est utilisée convenablement, elle peut combattre efficacement cette maladie qui est très fréquente dans les pays africains. Une analyse effectuée sur 160 enfants âgés de 8 mois a démontré qu'une solution aqueuse de la pulpe du fruit du baobab a des avantages importants par rapport à la traditionnelle solution de l'OMS utilisée pour la réhydratation des enfants affectés par la diarrhée. Les composants essentiels pour cette activité semblent être les tanins, la cellulose, l'acide citrique et d'autres composés typiques de la pulpe du fruit. Une autre façon pour l'emploi de la pulpe du fruit dans le traitement de la diarrhée et de la dysenterie est la préparation de tisanes ou de suspensions dans le lait, toujours administrée par voie orale (Lesschaeve et Noble, 2005).

Activités anticancéreuses

La présence de plusieurs métabolites secondaires dans la pulpe du baobab, particulièrement les flavonoïdes lui confère des activités anticancéreuses. Fahmy, (2013) a observé un effet anti-tumoral de la pulpe de *Adansonia digitata* sur le carcinome ascitique d'Ehrlich chez les souris femelles.

I.3 Le stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre de la balance oxydant-antioxydant en faveur des oxydants. Il se développe lorsque les radicaux libres, des molécules oxydantes, sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme (Atamer *et al.*, 2008).

Les radicaux libres sont des espèces chimiques réactives possédant un électron non apparié sur l'orbital externe qui leur confère une instabilité. Cette configuration procure de l'énergie à ces radicaux qui peuvent ainsi interagir avec d'autres molécules notamment ; les protéines, les lipides, l'acide nucléique. Parmi les différentes classes de radicaux libres, les espèces oxygénées réactives (EOR) sont les plus abondantes (Sies *et al.*, 2017). Les dérivés de l'oxygène qui constituent cette classe sont représentés dans le Tableau IV.

Tableau IV: Les espèces oxygénées réactives (EOR) (Sies *et al.*, 2017)

Nom du radical	Formule
Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$
Anion superoxyde	O_2^-
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	OH^\cdot
Alcoxyles	RO^\cdot
Radical peroxyde	ROO^\cdot
hydroperoxydes	ROOH
Oxydes nitriques	NO^\cdot

La production endogène des radicaux libres est nécessaire au bon fonctionnement de l'organisme. Ils sont essentiels pour la régulation des processus métaboliques normaux tels que la croissance cellulaire, la production d'énergie, la phagocytose et la synthèse des acides nucléiques, des hormones et des protéines. Chez l'Homme, les EOR participent à la défense immunitaire, à l'apoptose cellulaire et sont impliquées dans les voies de la signalisation cellulaire (Zuo *et al.*, 2015 ; Niemann *et al.*, 2017). Les EOR peuvent aussi activer des gènes de fonctions cellulaires autres que ceux de la lutte contre les radicaux libres, par l'intermédiaire de facteurs redox sensibles comme AP1, HIF-1, ou NF-KB. Enfin, on peut citer le processus de fécondation, au cours duquel les spermatozoïdes sécrètent de grandes quantités d'EOR pour percer la paroi membranaire de l'ovule (Haddad, 2002 ; Kim, 2018).

I.3.1 Effets pathologiques des espèces oxygénées réactives sur les biomolécules

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires à cause du caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (Costa *et al.*, 2014). Bien que les radicaux libres aient la capacité d'infliger des dommages irréversibles aux macromolécules, ils ont un rôle essentiel à jouer dans certaines fonctions biologiques telles la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques. Toutefois, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques (Zou *et al.*, 2008).

I.3.1.1 Dommages oxydatifs sur les lipides

Les premières cibles des EOR sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. L'oxydation des lipides membranaires et cellulaires, appelé peroxydation lipidique est un phénomène qui aboutit à la formation de différents dérivés lipidiques par oxydation des acides gras polyinsaturés présents dans les phospholipides, engendrant des modifications de la fluidité et de la perméabilité des membranes, et un dysfonctionnement de nombreux récepteurs, enzymes et transporteurs membranaires (Favier, 2003). Elle fournit également une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), l'acide thiobarbiturique (TBARS) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) sont étudiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique (Echtay *et al.*, 2003).

I.3.1.2 Dommages oxydatifs sur les protéines

De façon comparable à l'oxydation des lipides, les protéines sont aussi susceptibles d'être oxydées par les EOR. Cette oxydation provoque l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine (Levine et Stadtman, 2001). Ces réactions d'oxydation sont fréquemment influencées par les cations métalliques comme le cuivre et le fer. Elles peuvent être classées en deux catégories: celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne protéique et les modifications des peptides par l'addition de produits issus de la peroxydation lipidique. Ces changements sont tels qu'ils conduisent à une modification structurale des protéines dont les conséquences sont majeures. Les radicaux libres peuvent interagir avec différents types de protéines : celles de soutien comme le collagène (vieillesse), les protéines circulantes (transferrine, albumine), les enzymes protéiques... Les acides aminés les plus sujets à des attaques radicalaires sont ceux possédant des chaînes latérales aromatiques (phénylalanine, tyrosine, histamine, tryptophane) et les acides aminés soufrés (méthionine, cystéine) (Servais, 2004).

I.3.1.3 Dommages oxydatifs sur l'ADN

Bien que l'ADN soit la mémoire de toute la composition biochimique des êtres vivants, il s'agit d'une molécule très sensible, à l'attaque par les radicaux de l'oxygène (Figure 5). Selon Favier (2003), HO• peut générer des dommages oxydatifs. Les bases qui composent l'ADN, et particulièrement la guanine, sont sensibles à l'oxydation. L'attaque radicalaire peut être directe et entraîner l'oxydation des bases, engendrant un grand nombre de bases modifiées. Mais le

stress oxydant peut aussi attaquer la liaison entre la base et le désoxyribose (Valko *et al.*, 2006), créant un site abasique, ou attaquer le sucre lui-même, créant une coupure de chaîne simple brin. L'ADN mitochondriale (ADNmt) est plus exposé à cette oxydation que l'ADN nucléaire (ADNn) du fait qu'il est à proximité de la chaîne respiratoire mitochondriale génératrice des EOR avec 2 à 3 fois plus de bases oxydées au niveau de l'ADNmt qu'au niveau de l'ADNn. Cette interaction induit des cassures mono et double brin de l'ADN, des modifications des bases, des interactions protéines-ADN, des altérations génétiques, le vieillissement et des mutations conduisant à l'apparition de cancer (Sies *et al.*, 2017).

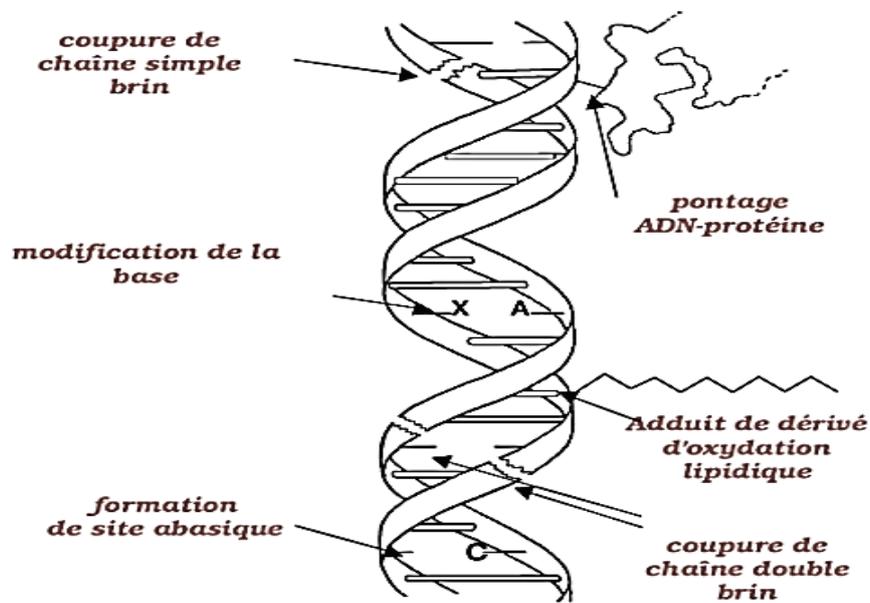


Figure 5 : Actions des radicaux libres sur l'ADN (Favier, 2003)

I.3.2 Implications pathologiques du stress oxydatif

En raison de leur réactivité élevée, les espèces réactives interagissent avec toute une série de substrats biologiques conduisant à l'altération de l'homéostasie cellulaire de l'organisme. Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine de phénomènes du stress oxydatif dont l'importance dans de nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications lors de leur évolution est maintenant largement démontrée. En fait, de nombreuses études, tant épidémiologiques que cliniques, indiquent que le stress oxydatif est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies humaines différentes allant de l'athérosclérose au cancer tout en passant par les maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives, le diabète (phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine), la cataracte,

la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aiguë, l'œdème pulmonaire, le vieillissement accéléré, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, les inflammations gastro-intestinale et les ulcères (Favier, 2006).

Le stress oxydatif est étroitement associé à l'origine et à la progression de plusieurs cancers. Le cancer se caractérise par une prolifération cellulaire rapide de cellules anormales, qui peuvent envahir des parties adjacentes de l'organisme, puis se disséminer dans d'autres organes. Ces cellules anormales se distinguent des cellules saines par plusieurs caractéristiques, communes à tous les types de cancers, qui leur permettent de survivre, de proliférer, et de se disséminer: une autosuffisance en signaux de croissance, une insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance, une capacité d'échappement à l'apoptose (mort cellulaire programmée), une capacité de prolifération illimitée, une capacité à induire l'angiogenèse, un pouvoir invasif et une capacité à métastaser...(Hanahan et Weinberg, 2011). La cancérogenèse se déroule en plusieurs étapes : l'initiation, la promotion, la propagation et les métastases. Le stress oxydatif peut intervenir à plusieurs niveaux de ces différentes étapes pour induire ou promouvoir le cancer. L'initiation consiste en une dérégulation au niveau de certains gènes aboutissant à une transformation cellulaire. Cette étape cible plusieurs types de gènes qui peuvent être entre autres les oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs, les gènes de réparation de l'ADN et les gènes de l'apoptose (Crevoisier, 2010). Elle peut être provoquée par des mutations et des perturbations épigénétiques causées par le stress oxydatif. Il a été suggéré également qu'un stress oxydatif intense peut aider les cellules cancéreuses à résister aux agents chimiothérapeutiques. En effet, un tel stress peut provoquer la peroxydation des lipides membranaires, ce qui amène une génération d'aldéhydes capables d'inhiber l'apoptose (Côté, 2006). Un stress oxydant chronique stimule la croissance tumorale et la dissémination métastatique en modifiant en profondeur le micro-environnement tumoral, dont les vaisseaux sanguins et les fibroblastes. Une étude de cohortes de patientes atteintes de cancers du sein a montré la relevance particulière de ces observations dans les cancers du sein invasifs de sous-type HER2. Il a été démontré que cet effet est dépendant des facteurs pro-angiogénique HIF (Hypoxia Inducible Factor) et pro-inflammatoire CXCL12. En effet, un stress oxydant chronique stabilise la protéine HIF en conditions normoxiques, générant une angiogénèse tumorale accrue, un stroma inflammatoire et une réaction desmoplastique importante, caractéristiques des cancers du sein invasifs de sous-type HER2 (Gerald *et al.*, 2004 ; Toullec *et al.*, 2010 ; Costa *et al.*, 2014).

Plus on avance en âge, plus les dommages causés par les radicaux libres deviennent apparents : rides, taches brunes sur la peau, perte de mémoire, essoufflement rapide, raideurs articulaires, fibroses, scléroses.

La prévention et la gestion du stress oxydatif sont assurées par les antioxydants.

I.3.3 Systèmes de défense antioxydants

Un antioxydant est par définition une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc : prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou désactive directement les EOR libres. Le maintien d'un niveau non cytotoxique d'EOR est assuré par des systèmes antioxydants. Un déficit ou un dysfonctionnement de ces systèmes engendre une augmentation des dommages tissulaires. On divise les antioxydants en deux grandes classes : les antioxydants endogènes (systèmes enzymatiques) et exogènes (non-enzymatiques) selon qu'ils soient produits ou non par l'organisme (Dröge, 2002).

I.3.3.1 Les antioxydants endogènes

Ils se retrouvent sous forme d'enzymes produites par l'organisme. Ils sont considérés comme la première ligne de défense de notre organisme contre les EOR. On en compte trois principales : la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase, toutes trois présentes dans le cytoplasme, le milieu extracellulaire et la mitochondrie. Ces enzymes jouent un rôle très important dans le maintien de la santé. En plus de ces trois enzymes, le corps produit d'autres antioxydants tels l'acide urique, la mélatonine, le N-acétylcystéine et la méthionine sulfate réductase. L'organisme a également la capacité de synthétiser quelques antioxydants aussi retrouvés dans l'alimentation. C'est le cas du glutathion, protéine composée de trois acides aminés (cystéine, acide glutamique et glycine), considéré comme le plus important antioxydant du cytosol. Il y a aussi l'acide alpha-lipoïque, l'albumine et la coenzyme Q10 (Rioux, 2009).

I.3.3.2 Les antioxydants exogènes

Pour leur part, les antioxydants exogènes sont fournis par l'alimentation. On retrouve entre autres le bêta-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E), le lycopène, le glutathion et les protéines thiol, le coenzyme Q10 et les composés phénoliques (Kim, 2018). Ces derniers incluent les flavonoïdes (très répandus dans les végétaux), les tanins (présents dans le cacao, le café, le thé, le raisin, etc.), les anthocyanes

(principalement dans les fruits rouges) et les acides phénoliques (présents dans les céréales, les fruits et les légumes). Alors que le bêta-carotène (et autres caroténoïdes), la vitamine E et la coenzyme Q10 sont des antioxydants liposolubles, les autres sont hydrosolubles. Parmi les antioxydants exogènes, il y a aussi divers minéraux tels que le zinc, le sélénium, le cuivre, le manganèse et le fer, ces derniers étant toutefois davantage des composés essentiels au bon fonctionnement des systèmes antioxydants en agissant comme cofacteurs des enzymes antioxydantes (le cuivre, le fer, le zinc et le manganèse de la superoxyde dismutase mitochondriale, le sélénium de la glutathion peroxydase) (Kim, 2018). L'activité de ces enzymes est directement liée à l'apport en oligo-éléments par l'alimentation.

I.3.4 Mécanisme d'action des antioxydants

Les mécanismes par lesquels les antioxydants agissent sont nombreux. Les antioxydants endogènes (enzymatiques) agissent en désactivant les EOR tandis que les antioxydants exogènes pour la plupart les neutralisent (Kim, 2018).

I.3.4.1 Mécanisme d'action des antioxydants endogènes

Parmi les antioxydants endogènes, les Superoxydes dismutases (SOD) représentent l'une des premières lignes de défense en agissant dès le début de la cascade oxydative par action directe sur l'anion superoxyde (O_2°). En effet, elles catalysent la réaction de dismutation de l'anion superoxyde (O_2°) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), prévenant ainsi l'accumulation de l'anion superoxyde (O_2°). La participation du cuivre, du zinc, du fer, et du manganèse est essentielle à l'action de ces enzymes. Aussi, un déficit en micronutriments pourra être à l'origine d'un dysfonctionnement de celles-ci. La catalase (CAT) quant à elle est une enzyme antioxydante qui catalyse la dismutation de l'eau oxygénée (H_2O_2) en eau (H_2O) et dioxygène (O_2). Les glutathion peroxydases activées par le sélénium catalysent la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en couplant sa réduction en eau (H_2O) avec l'oxydation du glutathion réduit (GSH) en bisulfure de glutathion (GS-SG). Cette oxydation de glutathion permet « d'éponger » de nombreux radicaux libres (Haleng *et al.*, 2007 ; Kim, 2018) (Figure 6).

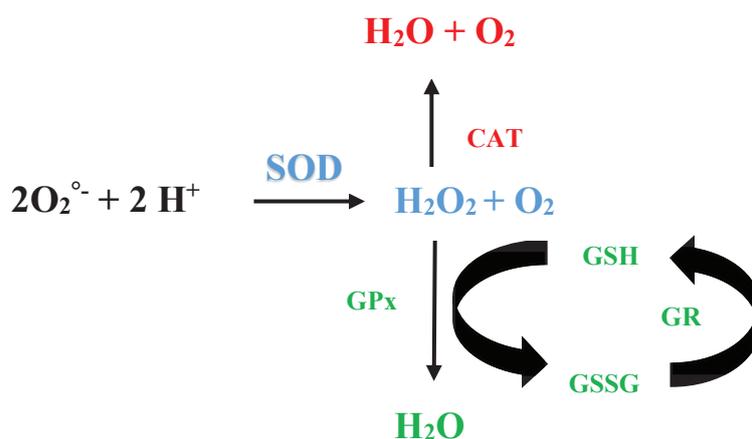


Figure 6 : Réactions clés des défenses enzymatiques antioxydantes (Kim, 2018)

I.3.4.2 Mécanisme d'action des antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes les plus efficaces sont ceux qui interrompent la réaction en chaîne des radicaux libres. Ces inhibiteurs consignés dans le tableau V représentent une classe de substances qui varient largement dans leur structure chimique et possèdent divers mécanismes d'action.

Tableau V : Mécanisme d'action en fonction du type d'antioxydant exogène (Choe et Min 2009)

Classe d'antioxydant	Mécanisme d'action et exemples d'activité	Exemples d'antioxydants
Piégeurs de radicaux libres	Inactivent les radicaux libres des lipides	Composés phénoliques
Stabilisateurs des hydro peroxydes	Préviennent la décomposition des hydroperoxydes en radicaux libres	Composés phénoliques
Synergistes	Promeut l'activité des antioxydants piégeurs des radicaux libres	Acide citrique, acide ascorbique
Chélateurs de métaux	Transforment les métaux lourds en composés inactifs	Acide phosphorique, composés de Maillard, acide citrique
Désactivateurs de l'oxygène singulet	Transforment l'oxygène singulet en oxygène triplet	Carotènes
Substances réductrices des hydro peroxydes	Réduisent les hydroperoxydes en composés non radicalaires	Protéines, acides amines

En cas de stress oxydatif les antioxydants phénoliques cèdent l'hydrogène du groupement hydroxyle aux radicaux libres formés et deviennent eux-mêmes des radicaux. Les intermédiaires radicaux résultant sont stabilisés par la délocalisation par résonance de l'électron

dans le cycle aromatique entraînant la formation des structures quinoniques stables et par réaction covalente avec un autre radical (Shahidi, 2015 ; Doudin *et al.*, 2016). Les produits formés lors de ces réactions sont inoffensifs et sont facilement éliminés par le corps.

Certains antioxydants possèdent au sein de leur structure des groupements fonctionnels tels que le groupement catéchol (1,2-dihydroxybenzène) ou encore galloyle (1,2,3-trihydroxybenzène). Ces groupements vont, en présence de métaux (fer, cuivre, zinc...), former des liaisons de coordinations permettant de les piéger (Figure 7). Ce mode d'action est désigné par le terme de chélation. La chélation a pour conséquence d'inhiber l'oxydation grâce à la formation de complexes insolubles, en diminuant le potentiel redox des métaux ou encore par simple encombrement stérique du complexe. Parmi les chélateurs de métaux, les flavonoïdes et les acides phénoliques vont être les plus nombreux et les plus efficaces (Pietta, 2000).

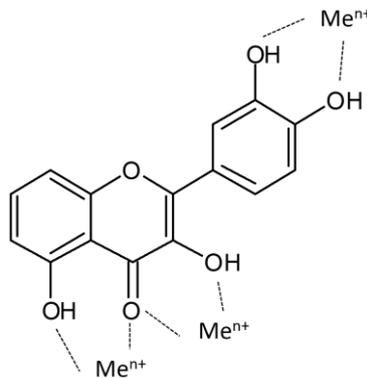


Figure 7 : Noyau flavonol dihydroxylé en position 3' et 4' (cycle B) montrant les sites de liaisons de coordination des complexes antioxydants-métaux (Pietta, 2000)

I.4 Généralités sur les composés phénoliques

Tel que mentionné plus haut, le stress oxydatif est à l'origine de plusieurs maladies métaboliques, neurodégénératives et respiratoires. La consommation des fruits et légumes s'est avérée efficace pour leur prévention et leur prise en charge. L'aptitude de ces derniers à neutraliser ces radicaux libres et à restaurer l'équilibre oxydatif *in vivo* est imputée à leurs richesses en composés phénoliques, antioxydants naturels aux forts potentiels antioxydants et cytoprotecteurs (Bouayed *et al.*, 2008).

Les composés phénoliques sont des composés naturels, exclusivement synthétisés dans le règne végétal. Leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques des plantes. Ce sont des métabolites secondaires des plantes et ils sont généralement impliqués dans la défense contre le rayonnement ultraviolet ou l'agression par des agents pathogènes (Heleno *et al.*, 2015). Ils n'exercent pas de fonction

directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal comme la croissance ou la reproduction (Pei *et al.*, 2016 ; Liu *et al.*, 2018). Il s'agit de molécules organiques possédant un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. On compte, pas loin de 8000 composés, ce qui permet de les utiliser dans des domaines variés tels que l'agroalimentaire et la pharmacologie (Collin et Crouzet, 2011).

Les composés phénoliques peuvent être classés en différents groupes en fonction du nombre de cycles phénols qu'ils possèdent et des éléments de structure qui se lient à ces cycles les uns aux autres. Ils peuvent se présenter sous la forme de molécules simples comme le pyrogallol, le catéchol, ou l'acide gallique jusqu'à des polymères à haut poids moléculaire comme les tanins (Manach *et al.*, 2004).

I.4.1 Structure chimique et classification des composés phénoliques

Les composés phénoliques se divisent en deux principales classes : les flavonoïdes et les non flavonoïdes (Del Rio *et al.*, 2013). Leur structure chimique est identique à tous les composés phénoliques : un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les composés phénoliques sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des éléments qui les relient.

Les composés phénoliques sont répartis en plusieurs classes (Figures 8) :

- ❖ Les phénols simples (C6) : un seul noyau phénol comme pour les acides phénoliques (C6-C1) ;
- ❖ Les flavonoïdes (C6-C3-C6) : 2 noyaux aromatiques reliés par un hétérocycle oxygéné ;
- ❖ Les tanins hydrolysable et non-hydrolysable ;
- ❖ Les stilbènes (C6-C2-C6) ;
- ❖ Les lignanes, les lignines et les coumestanes : 2 unités de phénylpropane ;
- ❖ Les phytostérols et les phytostanols. Bien qu'ils ne soient pas des composés phénoliques, on ajoute ordinairement à cette liste les isothiocyanates, qui dérivent de l'hydrolyse des glucosinolates (Dacosta, 2003).

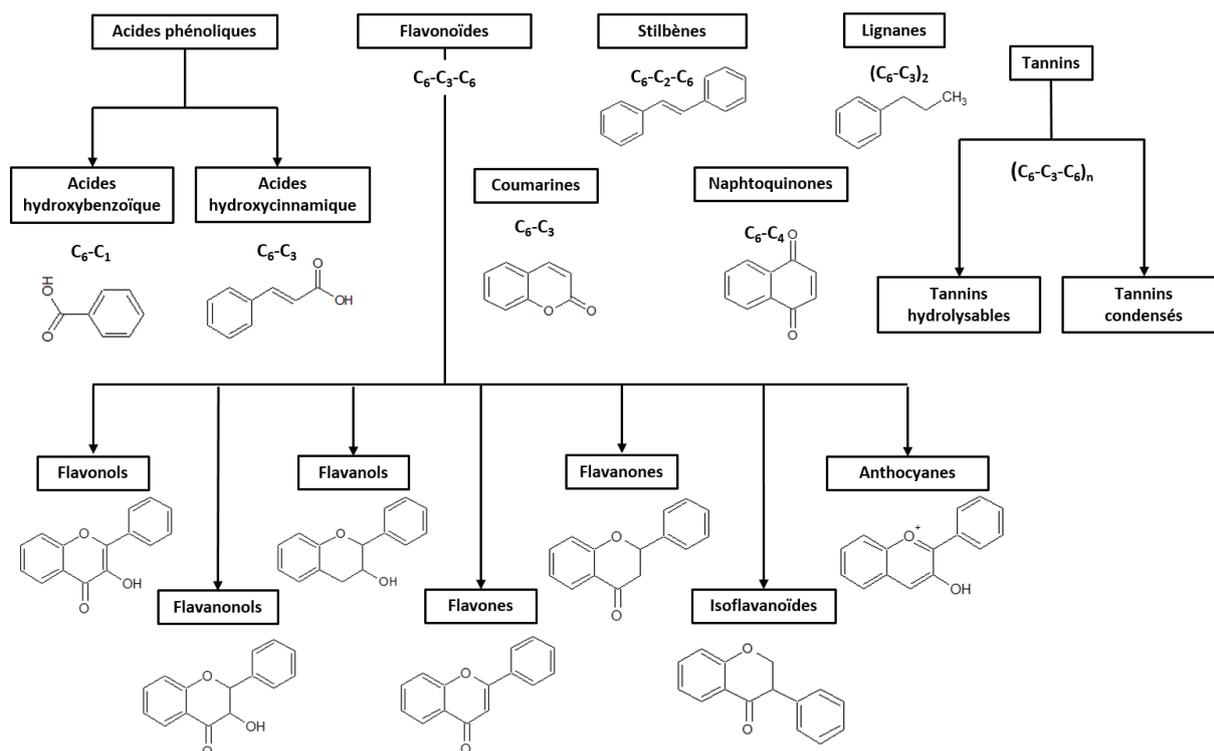
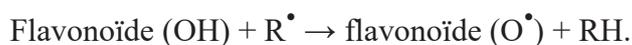


Figure 8 : Présentation des différentes classes de composés phénoliques et leurs structures carbonées générales (Dagmey, 2020)

I.4.1.1 Flavonoïdes

La plupart de propriétés thérapeutiques attribuées aux composés phénoliques (anti-inflammatoires, antivirales, anticancéreuses, antibactériennes, antioxydantes, œstrogéniques, anti-œstrogéniques...) proviennent des flavonoïdes. L'une des propriétés des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydant et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles (OH^\bullet), anions superoxydes ($\text{O}_2^{\bullet-}$) et radicaux peroxy-lipidiques, selon la réaction suivante :



Le terme flavonoïde rassemble de nombreux composés naturels répartis en plusieurs familles. On dénombre près de 6500 flavonoïdes répartis en 12 classes, et dont les plus importantes sont les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavan-3-ols, les flavanones et les anthocyanes (Stöckigt *et al.*, 2002 ; Manach *et al.*, 2004; Del Rio *et al.*, 2013; Alvarez-Suarez *et al.*, 2017). La structure chimique de base des flavonoïdes est présentée par la figure 9.

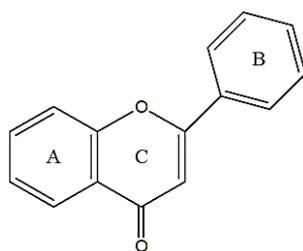


Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes (Michel, 2011)

Les flavan-3-ols forment un groupe hétérogène de flavonoïdes où sont inclus la catéchine, le gallate d'épicatéchine, l'épigallocatechine, le gallate d'épigallocatechine, les proanthocyanidines, les théaflavines et les thearubigines (Zanotti *et al.*, 2015 ; Blade *et al.*, 2016). La formation des isomères de ce flavonoïde dépend de niveau d'hydroxylation d'anneau B en position C2 ou C3 (Zanotti *et al.*, 2015). On les retrouve dans la pulpe du fruit du baobab, le thé vert, le vin rouge, le chocolat.

Les isoflavones diffèrent des autres flavonoïdes par la position du cycle B, qui dans ce cas est attaché en position 3 (en 2 pour les autres flavonoïdes), formant un squelette de base 1,2-diphénylpropane (Morel, 2011). Il existe plusieurs formes d'isoflavones tel que : 7-O- (6"-O-malonyl), 7-O- (6"-acétyl) glucosides et les aglycones (Del Rio *et al.*, 2013). Comme exemple : la daidzéine et la génistéine. Ils sont majoritaires dans les produits issus du soja, possèdent une structure chimique semblable à celle des œstrogènes et de ce fait sont de puissants phytoestrogènes.

I.4.1.2 Non-flavonoïdes

Les acides phénoliques sont dérivés de l'acide cinnamique (squelette C3-C6) avec un ou plusieurs substituants du groupe OH dans le cycle aromatique tel que les dérivés phénylpropanoïdes ou l'acide benzoïque avec un squelette C1-C6 tel que l'acide gallique, des aldéhydes (la vanilline), ou une structure C2-C6 tels que les acides phénylacétiques et les acétophénonnes (Alvarez-Suarez *et al.*, 2013 ; Del Rio *et al.*, 2013). Les acides hydroxycinnamiques sont très répandus dans le règne végétal. Dans ce groupe d'acides, on trouve essentiellement les acides p-coumariques, caféiques, féruliques et sinapiques. Ces acides sont rarement trouvés sous leur forme libre, sauf dans les aliments transformés ayant subi une congélation, une pasteurisation ou une fermentation. Les acides hydroxycinnamiques sont présents dans toutes les parties des fruits, bien que les plus hautes concentrations soient observées dans les parties extérieures des fruits mûrs (Manach *et al.*, 2004). Le plus abondant des acides hydroxycinnamiques et plus généralement des acides phénoliques est l'acide

caféique. Celui-ci se combine à l'acide quinique pour former l'acide chlorogénique, présent dans de nombreux fruits et à forte concentration dans le café (de 350 à 1750 mg/mL) (Manach *et al.*, 2004).

Les tanins hydrolysables sont divisés en deux sous-classes : gallotannins et ellagitannins. Le noyau de la molécule de tanin hydrolysable est formé par un hydrate de carbone, habituellement le D-glucose, où leurs groupes hydroxyles sont partiellement ou totalement estérifiés par un acide phénolique, tel que l'acide gallique ou l'acide ellagique (Bravo, 1998 ; Del Rio *et al.*, 2013 ; Santhakumar *et al.*, 2018).

Les stilbènes sont constitués par deux molécules benzéniques liées entre eux par l'éthanol ou l'éthylène. Le resvératrol (5 - [(E) -2- (4- hydroxyphényl) éthényl] benzène-1,3 diol) est le stilbène le plus répandu dans le règne végétal, Il existe sous deux formes des isomères : *cis* et *trans*. Le ptérostilbène (4-[(E)-2-(3,5-diméthoxyphényl) éthényl] fénel) est un stilbène méthylé structurellement similaire au resvératrol, à la différence près que l'on retrouve deux groupes méthoxy sur la molécule de ptérostilbène qui remplacent les groupes hydroxy sur le resvératrol (Del Rio *et al.*, 2013 ; Weiskirchen et Weiskirchen, 2016).

I.4.2 Rôle et propriétés des composés phénoliques

Dans les aliments, les composés phénoliques peuvent contribuer à la stabilité, l'amertume, l'astringence, la couleur, la saveur, l'odeur et l'oxydation.

Plusieurs études épidémiologiques ont montré qu'un régime alimentaire riche en fruits et légumes est associé à une réduction du risque d'un certain nombre de maladies chroniques, notamment les maladies cardiovasculaires, les cancers et les maladies neurodégénératives (Del Rio *et al.*, 2013 ; Demir *et al.*, 2017 ; Kent *et al.*, 2017 ; Lo Vasco *et al.*, 2017). Les effets bénéfiques de ces régimes ont souvent été attribués aux composés phénoliques qu'ils contiennent. En effet, des études cliniques ont montré qu'un apport alimentaire riche en composés phénoliques peut réduire le risque de telles maladies chroniques. (Cutler *et al.*, 2008; Del Rio *et al.*, 2013). Les composés phénoliques et phénols alimentaires font l'objet d'un intérêt scientifique croissant en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé humaine (Bhooshan et Rivzi 2009) tel que présenté par le Tableau VI.

Tableau VI : Importance des composés phénoliques (Dehak, 2013)

Composés phénoliques	Utilisations
Flavonols	Luttent contre la sénescence cérébrale, propriétés neurosédatives, antispasmodiques, antioxydants, anti-inflammatoires, diurétiques, anticancéreuses.
Anthocyanes	Utilisés dans les troubles de fragilité capillaire, antiseptique urinaires, propriétés d'améliorer la vision nocturne, diurétiques.
Tanins	Pouvoir astringent propriétés vasculoprotectrices, propriétés cicatrisante, anti-diarrhéique.
Acides phénoliques	Propriétés antipyrétiques, propriétés anti-inflammatoires.
Coumarines	Propriétés vasculoprotectrices, neurosédatives, diurétiques.
Quinones	Laxatifs stimulants.

Les composés phénoliques possèdent plusieurs activités biologiques, nous nous limiterons ici aux activités, anticancéreuses et œstrogéniques.

Activités anticancéreuses

Depuis longtemps, on associe le cancer au type d'alimentation ; de nombreux chercheurs ont étudié le rôle des nutriments et phytonutriments dans le développement des cancers (Mojarrab *et al.*, 2013 ; Khlifi *et al.*, 2013 ; Dhingra *et al.*, 2017). Les flavonoïdes seraient impliqués dans la prévention et la gestion des cancers. Plusieurs études *in vitro* ont montré l'effet antiprolifératif et cytotoxique des flavonoïdes vis-à-vis de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses ainsi qu'*in vivo* (Durgo *et al.*, 2007 ; Chen et Dou, 2008 ; Jeong *et al.*, 2009). Ajoutés au régime de divers animaux de laboratoire, ils limitent le développement de tumeurs induites expérimentalement par exposition à des agents carcinogènes. Ils sont actifs contre de nombreux cancers (colon, estomac, foie, sein, prostate, poumon, peau, vessie, etc.) à tous les stades de la cancérogenèse (initiation, promotion et progression) (Petti et Scully, 2009) en déclenchant la cascade proapoptotique par augmentation de l'expression de certains composants apoptotiques. Au stade d'initiation, ils agissent comme agents bloquants en empêchant l'activation de procarcinogènes, en piégeant les mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation des ADNs mutés. Au stade de promotion et de progression, ils agissent comme agents supprimeurs de tumeurs (Ho *et al.*, 2007). Les mécanismes impliqués peuvent là encore être très variés : prévention du stress oxydant, activité pro- ou antiœstrogénique

inhibition du métabolisme de l'acide arachidonique et des réactions inflammatoires associées, inhibition de la protéine kinase C et de la prolifération cellulaire, induction de l'arrêt du cycle cellulaire de l'apoptose (Petti et Scully, 2009), inhibition de l'angiogenèse, modification de la signalisation cellulaire (Garcia Lafuente *et al.*, 2009). Les preuves de leurs effets chez l'Homme restent cependant encore insuffisantes. Une étude clinique a permis de montrer une activité anticancéreuse de la quercétine, administrée par voie intraveineuse chez des patients atteints du cancer. Les études *in vitro* ont montré que les composés phénoliques pouvaient agir sur les voies de signalisation impliquées dans les phénomènes de prolifération et de différenciation (Chen et Chen, 2013).

Activité œstrogénique

Les prénylflavanones ont surtout été étudiés pour leur activité œstrogénique. L'hopéine est un phyto-œstrogène très puissant. Il est recommandé dans la prévention ou le traitement des symptômes de la (post)ménopause et de l'ostéoporose (Collin *et al.*, 2011). Une activité œstrogénique a été signalée pour certains stilbènes, tel que l'isomère trans du resvératrol (Baur et Sinclair, 2006). Les flavonoïdes pourraient aussi exercer des effets protecteurs contre les maladies hormono-dépendantes telle que l'ostéoporose en modulant la réponse aux œstrogènes endogènes. Certains composés phénoliques et plus particulièrement les isoflavones du soja très étudiées aujourd'hui, ont une affinité remarquable pour les récepteurs des œstrogènes et sont qualifiés pour cela de phyto-œstrogènes. Les fruits et légumes contiennent aussi des composés phénoliques tels la quercétine de l'oignon ou le kaempferol de la chicorée qui possèdent également des propriétés pseudo-œstrogéniques ou inhibent la perte osseuse chez la rate ovariectomisée (Saleh et Saleh, 2011).

I.5 Œstrogènes

I.5.1 Définition

Les œstrogènes sont des hormones stéroïdiennes lipophiles à 18 atomes de carbone synthétisées à partir du cholestérol à l'aide de la batterie des enzymes du cytochrome P450 (Ascenzi *et al.*, 2006). Il existe différents œstrogènes : l'œstrone (E₁), la 17β-œstradiol (E₂) qui est la forme d'œstrogène la plus fréquente et la plus active chez l'Homme, l'oestriol (E₃) et l'œstérol (E₄) (Coelingh, 2004 ; Handgraaf, 2013). A concentration égale, l'E₂ exerce un effet biologique plus puissant que l'E₁ qui lui est plus puissant que l'E₃. La structure chimique des œstrogènes montre qu'ils sont constitués en général d'un noyau aromatique (A), d'un groupement hydroxyle en position C-3 et d'un groupement méthyle en position C-13.

L'œstradiol (E₂), caractérisé par un groupement hydroxyle en position C-17 (Figure 10) et l'œstrone (E₁) avec un groupement cétone à cette même position, sont les œstrogènes majoritaires retrouvés dans le sang (Parl, 2000).

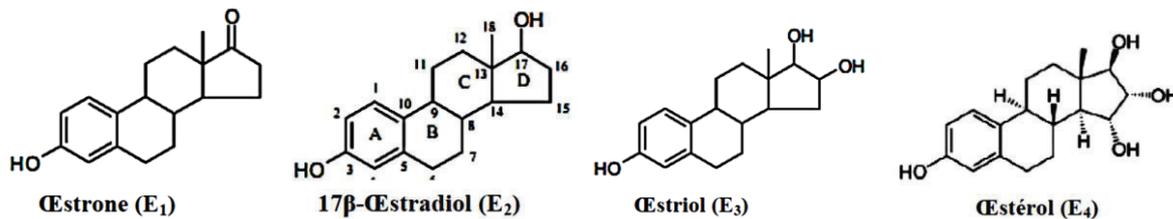


Figure 10 : Structures chimiques des œstrogènes (Parl, 2000 ; Handgraaf, 2013).

I.5.2 Sources endogènes des œstrogènes

L'œstradiol est majoritairement synthétisé chez la femme en dehors de la grossesse dans l'ovaire par les cellules de la granulosa et de la thèque interne du follicule actif et par les dérivés lutéinisés de ces cellules (Lieberman, 1996). Grâce à la 17β-HSD oxydoréductase, E₁ et E₂ sont interconvertibles ; leur métabolisme va aboutir à la production d'E₃. A côté des ovaires, les œstrogènes sont aussi synthétisés par conversion des androgènes en œstrogènes sous l'effet des aromatasés dans certains tissus périphériques : le muscle, le tissu adipeux, le tissu nerveux, la peau, la muqueuse vaginale, l'endomètre, la glande mammaire et le foie (Naftolin *et al.*, 1975 ; Matsumine *et al.*, 1991 ; Miller, 1991 ; Murakami *et al.*, 2001). Les surrénales secrètent de grandes quantités de précurseurs stéroïdiens tels que la DHEA (dihydroépiandrostérone) et l'androstènedione qui seront convertis en hormones actives dans les tissus périphériques. Chez la femme enceinte, le placenta est également un site important de production d'œstrogènes, car l'E₃ est synthétisé dans le syncytiotrophoblaste (Sllteri et Mac Donald, 1966) par aromatisation du 16α-hydroxyandrostènedione sulfate dérivé du 16α-hydroxyépiandrostérone sulfate (produit par le foie fœtal et désulfaté dans le placenta).

I.5.3 Récepteurs aux œstrogènes

En 1962, Jensen et Jacobsen ont observé la présence de sites de liaison du 17β -œstradiol au niveau de l'utérus et ont conclu que l'action des œstrogènes passe par une protéine réceptrice. Les récepteurs des œstrogènes (ERs) sont membres de la superfamille des récepteurs nucléaires dont la fonction, médiée par l'œstradiol, est l'activation de la transcription de gènes impliqués notamment dans la croissance, la différenciation cellulaire et les fonctions reproductrices. Il existe environ quatre récepteurs distincts pour les œstrogènes : deux facteurs de transcription ligand-dépendants (ERα et ERβ) (Toutain, 2009), un récepteur couplé à la protéine G (GPER)

et un quatrième moins bien défini, le récepteur ER-X dont l'existence a été mise en évidence lors des études portant sur le cerveau (Filardo *et al.*, 2002). Les récepteurs aux œstrogènes ER α et ER β sont retrouvés dans plusieurs tissus. Dans certains organes, les deux types de récepteurs sont présents en quantité similaire alors que dans d'autres, l'un ou l'autre prédomine. Ainsi les deux sous-types sont exprimés dans le cerveau, les glandes mammaires, le système cardiovasculaire, le tractus urogénital et les os (Couse *et al.*, 1997 ; Nilsson *et al.*, 2001).

Le ER α a été détecté principalement dans l'ovaire, l'utérus, le rein, la glande mammaire, les testicules, le foie, les os, le système cardiovasculaire et dans plusieurs régions du cerveau (Hess *et al.*, 2001 ; Hess, 2002).

Le ER β , quant à lui, se retrouve principalement dans la prostate, l'ovaire, l'utérus, le poumon, la rate, les os, la muqueuse intestinale, le système uro-génital, les spermatides et dans plusieurs régions du cerveau (Byers *et al.*, 1997 ; Fisher *et al.*, 1997).

I.5.4 Rôles physiologiques des œstrogènes

En tant qu'hormones sexuelles, les œstrogènes sont essentiels pour le développement des caractères sexuels et régulateurs du cycle sexuel féminin. Ils assurent également des fonctions dans le développement et la physiologie du tissu osseux, du système rénal, du système nerveux central et du système cardio-vasculaire. Ils interviennent dans l'activation de la production du lait maternel (Gruber *et al.*, 2002).

I.5.4.1 Effets des œstrogènes sur le système reproducteur

Longtemps considéré comme hormone essentiellement féminine, l'action des œstrogènes a été démontrée dans les systèmes reproducteurs femelle et mâle.

Chez la femme, les œstrogènes jouent un rôle central dans toutes les fonctions du système reproducteur. Ils permettent le développement et le maintien des caractères sexuels secondaires lors de la puberté en stimulant la maturation des ovaires, la croissance des cheveux, l'adoucissement de la peau, la croissance des seins, l'accumulation des graisses dans les cuisses, la hanche et les fessiers (Lubahn *et al.*, 1993 ; Zingué, 2014). Lors de chaque cycle menstruel, ils participent à la maturation de la muqueuse utérine et à la mise en place de la nidation en cas de fécondation. Ils permettent également le maintien de la grossesse et activent la lactogénèse (Ali *et al.*, 2011). Au niveau des ovaires, les œstrogènes contrôlent le développement et la maturation des follicules ovariens, le mécanisme d'ovulation et la formation du corps lutéal (Mvondo, 2013). Dans l'utérus, ils provoquent hyperémie, l'œdème et la prolifération cellulaire

de l'épithélium utérin, l'accroissement de son poids par gain d'eau, la synthèse protéique et enfin l'accroissement de sa motilité (Keshri *et al.*, 2008). Les cellules endométriales passent de l'état cubique à l'état cylindrique sous l'action des œstrogènes. Le vagin est l'organe le plus sensible aux œstrogènes (Schmitt, 1973) qui y induisent la croissance de l'épithélium vaginal ; celui-ci s'épaissit, se stratifie, se kératinise et se desquame (Gruber *et al.*, 2002). La stratification de l'épithélium vaginal laisse paraître quatre couches cellulaires qui sont de la base à la lumière vaginale, la couche germinative, la couche granuleuse, la couche cornée et la couche mucoïde (Njamen *et al.*, 2013 ; Zingue *et al.*, 2013). Les unités lobulaires des canaux terminaux du tissu mammaire des jeunes femmes sont hautement sensibles aux œstrogènes (Duquesnoy, 2005). Les œstrogènes dans le tissu mammaire stimulent la croissance et la différenciation de l'épithélium canalaire ductile, induisent l'activité mitotique des cellules ductiles cylindriques et stimulent la croissance du tissu conjonctif (Porter, 1974). Chez les rongeurs, les œstrogènes induisent une augmentation du diamètre de la lumière des alvéoles et une augmentation des sécrétions éosinophiles dans cette lumière (Njamen *et al.*, 2013 ; Zingue *et al.*, 2013).

Plusieurs études ont montré le rôle essentiel des œstrogènes dans le tractus reproducteur masculin. Tout comme chez la femelle, les œstrogènes sont également produits chez le mâle par aromatisation des androgènes dans les tissus cibles. Ils peuvent agir en se liant à leurs récepteurs, qui ont été retrouvés dans les cellules de Leydig, les cellules germinales et les spermatozoïdes (Lambard *et al.*, 2003 ; Carreau *et al.*, 2010) mais aussi au niveau de l'épithélium de l'épididyme (Kolasa *et al.*, 2006). Les œstrogènes produits chez les mâles ont un rôle physiologique important dans la régulation de la stéroïdogénèse testiculaire et la spermatogénèse (Miura *et al.*, 1999 ; Carreau *et al.*, 2009, 2010).

I.5.4.2 Effets des œstrogènes sur le système nerveux

Le système nerveux fait partie des systèmes au sein des quels les œstrogènes jouent un rôle très important. Les œstrogènes exercent des effets rapides sur la connectivité des neurones et la transmission synaptique en modifiant la conductance des ions au sein des cellules neuronales (Maggi *et al.*, 2004). Ils modulent plusieurs fonctions incluant : l'humeur, la peur, la dépression, la cognition et l'anxiété chez les humains et les animaux de laboratoire (Watson *et al.*, 2010). Les œstrogènes circulants induisent des changements morphologiques et fonctionnels au niveau du néocortex et de l'hippocampe (Woolley, 2007). Ils influencent aussi la différenciation sexuelle de l'hypothalamus (Naftolin, 1994). Une synthèse locale des

œstrogènes par l'aromatase située au niveau de l'hippocampe permet de compenser pour la diminution des œstrogènes circulants chez la femme après la ménopause (Yague *et al.*, 2008).

Les œstrogènes exercent un rôle neuroprotecteur contre les accidents cérébraux et les processus dégénératifs ; ils améliorent les performances qui impliquent la mémoire verbale et les fonctions cognitives dans les maladies d'Alzheimer et de Parkinson dont ils assurent également la prévention (Green et Simpkins, 2000).

I.5.4.3 Effets des œstrogènes sur le système cardiovasculaire

L'effet protecteur des œstrogènes au niveau du système cardiovasculaire repose sur le fait que l'incidence des maladies cardiovasculaires est plus faible chez les femmes avant la ménopause comparativement aux hommes (Khalid, 2012). Ce sont les trois populations cellulaires constitutives de la paroi vasculaire (cellules endothéliales, cellules musculaires lisses, lymphocytes et macrophages) qui constituent les cibles principales des œstrogènes, du fait de la présence de récepteurs des œstrogènes dans chacune d'entre elles, en particulier de récepteurs ER β . Dans la paroi vasculaire saine, les œstrogènes induisent l'activité de facteurs à action paracrine, tels que des cytokines et des facteurs vasoactifs, essentiellement le monoxyde d'azote (Arnal *et al.*, 1999).

Les œstrogènes exercent d'importants effets sur la vasodilatation dépendante de l'endothélium : ils stimulent la libération rapide de NO des cellules endothéliales en activant la eNOS (« Endothelial Nitric Oxide Synthase ») de façon calcium-dépendante. Le NO libéré inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses et l'adhésion des leucocytes dans les dépôts de plaques lipidiques. Les œstrogènes augmentent également la synthèse et la libération de prostaglandine I₂ qui est un vasodilatateur (Kim *et al.*, 1999).

Les œstrogènes jouent un rôle antiathérosclerotique en réduisant la densité des lipoprotéines (LDL) et en favorisant la fibrinolyse. Ils ralentissent la progression des lésions et permettent la relaxation et la vasodilatation des petites et des grandes artères (Caulin-Glaser *et al.*, 1997 ; Lantin-Hermoso *et al.*, 1997 ; Klouche, 2006).

Les œstrogènes ont des effets anti-thrombotiques et un rôle bénéfique dans la prévention de l'inflammation vasculaire (Herrington et Klein, 1998 ; Chakrabarti *et al.*, 2008). Ils exercent leurs effets anti-inflammatoires sur les vaisseaux à travers différents mécanismes impliquant un effet direct anti-oxydant (Strehlow *et al.*, 2003), la génération du NO (MacRitchie *et al.*, 1997), la prévention de l'apoptose des cellules vasculaires (Lu *et al.*, 2007) et la suppression des cytokines et du système rénine-angiotensine (Brosnihan *et al.*, 1997).

I.5.4.4 Effets des œstrogènes sur le tissu osseux

Un autre aspect majeur de l'action des œstrogènes concerne leurs propriétés de régulation de la croissance, de la maturation et du remodelage osseux. D'une part, la sécrétion des gonadotrophines à la puberté augmente la synthèse des œstrogènes qui induisent une croissance rapide des os pendant une période de 3 à 4 ans (Parfitt *et al.*, 2000). D'autre part, les œstrogènes participent à la préservation de la densité osseuse.

Deux types cellulaires majeurs participent en conditions normales à la construction du tissu osseux : les ostéoblastes synthétisent la matière osseuse alors que les ostéoclastes la détruisent, rendant ainsi compte de l'équilibre dynamique particulier en action dans ce tissu (Aubin *et al.*, 1996). Ces cellules osseuses expriment les deux sous-types du récepteur aux œstrogènes (Zallone, 2006). Sur les ostéoblastes, les œstrogènes induisent, d'une part, des effets positifs directs sur la formation osseuse par l'activation de la prolifération, l'induction de la sécrétion de protéines de la matrice extracellulaire osseuse et la sécrétion de facteurs de croissance (insulin-like growth factor, transforming growth factor β 3), à leur tour responsables d'une augmentation de la multiplication cellulaire et de leur différenciation (Ernst *et al.*, 1989 ; Yang *et al.*, 1996). D'autre part, les œstrogènes induisent des effets antirésorptifs indirects en inhibant la production, par les ostéoblastes ou les cellules stromales, de cytokines (comme l'IL-6), intervenant dans le recrutement des ostéoclastes (Syed et Khosla, 2005). Au niveau des ostéoclastes, seul un effet antiprolifératif direct a été jusqu'à présent démontré (Oursler *et al.*, 1991). Les œstrogènes pourraient donc avoir sur la croissance osseuse un double effet : inhibition de la résorption induite par les ostéoclastes et stimulation de la synthèse via les ostéoblastes (Manolagas *et al.*, 2002). La déficience en œstrogènes après la ménopause est bien reliée à l'ostéoporose (Imai *et al.*, 2010).

I.5.4.5 Les œstrogènes dans la tumorigénèse mammaire

Le cancer du sein est une pathologie caractérisée par une multiplication anarchique, excessive et incontrôlée des cellules de la glande mammaire pouvant donner naissance à une tumeur (Institut National du Cancer, 2016). Il est le plus mortel et le plus fréquent chez la femme. La majorité des cas de cancer du sein se trouve chez la femme, mais il existe également un cancer du sein chez l'homme (Sumit *et al.*, 2012 ; Berhan *et al.*, 2013). En 1896, Beaston et Boyd établirent le lien entre les hormones ovariennes et le cancer du sein par le fait que l'ablation des ovaires permet la régression des tumeurs chez les femmes pré ménopausées. Plus tard, en 2002, les œstrogènes ont été classés comme carcinogènes par le « *US National*

Toxicology Programme and Cancer ». Chez la femme, le cancer du sein est le plus souvent hormono-dépendant. L'exposition aux œstrogènes est un facteur déterminant dans l'initiation, la promotion et la progression du cancer du sein. Les facteurs augmentant les taux d'œstrogènes sont des facteurs de risque : l'âge des premiers cycles menstruels chez les femmes et le nombre de grossesses sont également à considérer en ce qui concerne le cancer du sein. Une ménarche précoce, une ménopause tardive et la nulliparité, c'est-à-dire l'absence de grossesse, augmentent toutes le risque de développer un carcinome mammaire (Ronco *et al.*, 2006 ; WCRF, 2007 ; Cheng *et al.*, 2012). Les jeunes filles qui entreprennent la puberté une année plus tard par rapport à la moyenne ont jusqu'à 20% de réduction du risque du cancer du sein. D'autre part, une ménopause avant l'âge de 45 ans réduit de 50% le risque de la maladie par rapport à une ménopause tardive après 55 ans (Bernstein et Ross, 1993 ; Shang, 2007).

Des études épidémiologiques prospectives ont permis de détecter des niveaux élevés d'œstrogènes au niveau du plasma des femmes qui ont pu développer des tumeurs mammaires 5 ans plus tard (Dorgan *et al.*, 1997 ; Foidar *et al.*, 2007) alors que des niveaux faibles des œstrogènes plasmatiques sont habituellement détectés au niveau des populations à faible risque (Bernstein *et al.*, 1990). L'incidence du cancer du sein demeure élevée chez des femmes ménopausées et elle est d'autant plus forte quand il s'agit de groupe de femmes avec un excès de poids (Foidar *et al.*, 2007). En fait, une synthèse locale des œstrogènes continue à s'effectuer au niveau de plusieurs autres tissus dont le tissu adipeux périphérique et au niveau de la glande mammaire par les cellules épithéliales. Cette production *in situ* est due à une forte expression de l'enzyme aromatasase qui synthétise les œstrogènes à partir de leurs précurseurs androgéniques (Miller et O'Neill, 1987). L'expression de cette enzyme au niveau des tumeurs mammaires est significativement plus grande que dans les lésions bénignes et permet d'atteindre des niveaux locaux très élevés en œstrogènes (O'Neill et Miller, 1987 ; Santen *et al.*, 1997). Il a été suggéré que le microenvironnement formé par les tumeurs et leur stroma stimule l'expression de l'aromatase par les fibroblastes du stroma via la production de plusieurs facteurs comme la prostaglandine E2, TNF α , IL 6 et IL11 (Simpson *et al.*, 2001). Ces facteurs activent également le recrutement des cellules du système immunitaire et influencent l'expansion et la progression des tumeurs mammaires (Gupta et Kuperwasser, 2006).

Plusieurs mécanismes non exclusifs peuvent expliquer l'effet carcinogénique des œstrogènes. Ces molécules induisent la prolifération des cellules épithéliales mammaires à travers les REs. D'autre part, une surexpression de ces récepteurs est caractéristique des deux tiers de tumeurs mammaires (Holst *et al.*, 2007). La prolifération rapide est en corrélation avec

une accélération du cycle cellulaire, elle réduit le temps nécessaire pour les mécanismes de réparation de l'ADN et augmente les niveaux de l'ADN endommagé et les risques de mutations (Jefcoate *et al.*, 2000).

Le métabolisme des œstrogènes génère des 3,4 œstrogènes quinones. Ces métabolites électrophiles forment des adduits avec les adénines et guanines menant à une dépurination de l'ADN et peuvent également causer des dommages oxydatifs aux protéines (Bolton et Thatcher, 2008 ; Yager et Davidson, 2006). La réaction d'hydroxylation du 17β-œstradiol est catalysée par les 4-hydroxylases P4501B1 et P4501A1 qui sont fortement exprimés dans les tumeurs mammaires. Des études épidémiologiques relient l'augmentation du risque du cancer du sein avec un polymorphisme des 4-hydroxylases (Singh *et al.*, 2005).

1.5.5 Phyto-œstrogènes

Les phyto-œstrogènes, souvent appelés "œstrogènes diététiques ou alimentaires" sont un groupe de métabolites secondaires retrouvés naturellement dans les plantes, pouvant appartenir à la classe des composés phénoliques non stéroïdiens qui après métabolisation ont une structure similaire à celle de l'œstradiol (E₂, 17β-œstradiol), de ce fait ils miment ou antagonisent les œstrogènes endogènes pour promouvoir ou inhiber la réponse œstrogénique. En effet, ils possèdent des groupes hydroxyliques et/ou phénoliques espacés d'une distance similaire à celle qui existe dans la structure de l'œstradiol. La structure chimique des phyto-œstrogènes détermine leur affinité, sélectivité et efficacité de liaison avec les récepteurs des œstrogènes ERα et ERβ comme mode d'action prédominant (FSA, 2003). Les phyto-œstrogènes se lient aux deux récepteurs avec une plus grande sélectivité pour les ERβ. Ils peuvent avoir de faibles effets œstrogéniques ou anti-œstrogéniques chez les mammifères et sont de deux types : flavonoïdes (Isoflavones, coumestanes, flavanones prénylées) et les non-flavonoïdes (lignanes, stilbènes, terpenoïdes, alcaloïdes) (Kuiper *et al.*, 1998 ; Cos *et al.*, 2003 ; FSA, 2003 ; Yildiz, 2005 ; Steinshamn *et al.*, 2008).

Parmi ces phyto-œstrogènes, certains ont une importance chez l'être humain et sont retrouvés dans divers aliments (Tableau VII).

Tableau VII : Phyto-œstrogènes d'intérêt chez les humains et leurs sources alimentaires (Gupta *et al.*, 2016)

Classe	Phyto-œstrogène	Sources alimentaires
Isoflavones	Génistéine, biochanine A, daïdzéine, formononétine, glycitéine	Soja, haricot, oignons, pommes, raisins, huile d'olive, pois, noix, café, le thé, trèfle rouge, arachide, graines de tournesol,
Flavanones	Naringénine, 8-prényl-naringénine, hespérétine, isosakuranétine, ériodictyol	Houblons, grains entiers, feuilles, légumes
Lignanes	Matairésinol, secoisolaricirésinol, entérodiol, entérolactone	Graines de lin, céréales, fruits sec, certains légumes, brocoli, noix de cajoux, grenades, kiwi, noix,
Stilbènes	Resvératrol	Raisin, vin, rhubarbe, arachide
Coumestanes	Coumestrol	Trèfle, haricot, pois, germe de soja

I.5.5.1 Mode d'action des phyto-œstrogènes

Dans l'alimentation, les phyto-œstrogènes sont sous formes glycosylées, formes biologiquement inactives. Après métabolisation, ils présentent une similarité avec la structure de l'œstradiol, et sont capables de se lier aux récepteurs des œstrogènes devenant ainsi actifs (AFSSA, 2005). Pour les isoflavones par exemple, la flore intestinale permet la métabolisation de la biochanine A en génistéine, et de la formononétine en daïdzéine puis en équol, métabolite particulièrement actif. Pour les lignanes, la métabolisation permet la transformation des précurseurs non actifs sécoisolaricirésinol et matairésinol, en enterodiol et enterolactone, métabolites actifs (AFSSA, 2005, Chatenet, 2008).

Les phyto-œstrogènes du fait de leur similarité structurelle et fonctionnelle avec les œstrogènes endogènes peuvent se fixer sur les récepteurs aux œstrogènes mais avec une affinité 10 à 1000 fois inférieure à celle de l'œstradiol (Morito *et al.*, 2001 ; Gardez, 2016), ils agiraient en modulant l'activité transcriptionnelle des récepteurs aux œstrogènes dont l'affinité diffère en fonction du récepteur ER (ER α ou ER β) et du phyto-œstrogène. La génistéine, la daïdzéine et le coumestrol se lient préférentiellement à ER β , mais le coumestrol est celui qui se lie à ER α avec une plus grande affinité et l'équol, aurait une affinité 10 à 80 fois supérieure à celle de la daïdzéine pour les récepteurs ER α et β , ce qui en fait une molécule particulièrement œstrogénique (Gardez, 2016). Les phytoestrogènes peuvent entrer en compétition avec l'œstradiol pour le site de récepteur et par conséquent, induire une action agoniste ou antagoniste, d'où leur noms d'adaptogènes (Andersen, 2000). En effet, lorsqu'un

phytoestrogène s'est lié à un ER, il empêche l'œstrogène d'induire ses effets. En moyenne, les phytoestrogènes ont environ 2% de la puissance des œstrogènes. Ainsi, en présence d'œstrogènes, les phytoestrogènes vont substituer les œstrogènes et induire moins d'activité œstrogénique à ce site de liaison donné. Inversement, si les niveaux d'œstrogènes sont bas et les sites de liaison d'œstrogènes libres, les phytoestrogènes vont se lier et entraîner une augmentation totale de l'effet œstrogénique (Andersen, 2000). La fixation des phytoestrogènes au récepteur active ce dernier qui prendrait une conformation différente de celle qu'il prend avec l'œstradiol. Cette nouvelle conformation permettrait le recrutement de cofacteurs habituellement non reconnus lors de la liaison du récepteur par l'œstradiol. Ce qui explique pourquoi selon le tissu, le type de récepteurs aux œstrogènes, la nature et la concentration du phyto-œstrogènes, la présence ou l'absence d'œstradiol endogène, on observe des effets œstrogéniques ou anti-œstrogéniques. L'action des phyto-œstrogènes sur l'activité des ER permet de les assimiler à des modulateurs des récepteurs aux œstrogènes naturels. Les phyto-œstrogènes sont aussi capables de se fixer à d'autres récepteurs nucléaires stéroïdiens : les récepteurs aux androgènes et à la progestérone (Gardez, 2016).

Les phyto-œstrogènes agissent également en affectant la production d'œstrogènes endogènes. En effet, ils peuvent inhiber les enzymes impliquées dans le métabolisme des œstrogènes comme la 17- β -hydroxystéroïde-oxyreductase ou l'aromatase ou baisser les niveaux de gonadotropines qui stimulent la synthèse d'œstrogènes dans les ovaires. Il en résulte un allongement du cycle menstruel qui est bénéfique pour la prévention des cancers œstrogéno-dépendants. Les niveaux bas de gonadotropines diminuent aussi les symptômes de la ménopause, en l'occurrence les bouffées de chaleur. Les phyto-œstrogènes agissent également chez les hommes en réduisant la fréquence de cancer de la prostate, mais ne semblant pas baisser les niveaux de testostérone (Mvondo, 2013 ; Gardez, 2016).

De manière générale, les phyto-œstrogènes exerceraient leur activité biologique de quatre façons : (1) en mimant l'action des œstrogènes endogènes ; (2) en agissant comme antagonistes des œstrogènes ; (3) en altérant le modèle de synthèse des hormones endogènes et leur métabolisme ; et (4) en modifiant le niveau d'expression des récepteurs d'hormones (Whitten *et al.*, 1995 ; Sonnenchein et Soto, 1998).

I.5.5.2 Phyto-œstrogènes et santé

Plusieurs études démontrent que les phyto-œstrogènes ont des effets bénéfiques sur la santé parmi lesquels la réduction du cancer du sein, du cancer de la prostate et du risque des

maladies cardiovasculaires, une protection possible contre l'ostéoporose et les symptômes de la ménopause. En plus de cela, certains phytoestrogènes (flavonoïdes et lignanes) possèdent des activités antioxydantes (Gupta *et al.*, 2016).

Les phyto-œstrogènes peuvent agir comme agonistes et apporter des effets bénéfiques (au niveau du système cardio-vasculaire et osseux) à la femme ménopausée chez qui le taux d'œstrogènes est nettement diminué. En revanche, ils peuvent soit augmenter le risque de cancer du sein et de l'utérus ; soit le diminuer en agissant comme antagonistes (anti-œstrogènes) avec un effet protecteur contre le cancer du sein ; exercer des effets toxiques au stade du développement, en interférant avec la différenciation sexuelle normale (Scippo et Maghuin-Rogister, 2007). Les principaux effets délétères sont liés à une exposition intra-utérine et néonatale aux phyto-œstrogènes, qui peut s'accompagner d'effets tératogènes et carcinogènes au niveau du système reproducteur (Scippo & MaghuinRogister, 2007). On doit aussi s'interroger quant à leur responsabilité dans l'augmentation des cas de gynécomastie, voire de cancers du sein, chez des sujets mâles âgés.

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que les personnes qui consomment une quantité élevée d'isoflavonoïdes dans leur alimentation ont une faible prévalence de plusieurs cancers tels que les cancers du sein, de la prostate et du colon. Un taux plasmatique élevé de lignanes, d'entérolactone est associé à une réduction du risque de cancer du sein, celui des isoflavonoïdes et lignanes alimentaires diminue les risques de développer les cancers de la thyroïdes, du sein et des ovaires chez les femmes pré-et post-ménopausées (Teressa *et al.*, 2004). L'effet protecteur des phyto-œstrogènes sur les cancers serait dû à leur capacité à baisser le taux des hormones sexuelles non conjuguées dont d'œstrogènes circulant, à antagoniser l'effet des œstrogènes (substitutifs et endogènes) chez les femmes ménopausées (Xu *et al.*, 2000; Hutchins *et al.*, 2001).

Les cancers œstrogéno-dépendants sont très fréquents chez les femmes, 2/3 des cancers du sein font partie de cette catégorie. Pour ce type de cancer, les phyto-œstrogènes utérotrophiques augmenteront le risque de survenue et auront des effets proliférateurs tandis que les phyto-œstrogènes anti-oestrogéniques protégeront et auront des effets anti-proliférateurs. Il a été également montré que les isoflavones n'avaient pas forcément un effet proliférateur sur d'autres types de cellules cancéreuses mammaires *in vitro* (Tonetti *et al.*, 2007) et que sur des cellules ne possédant que l'ER β les effets étaient plutôt antagonistes de celui de l'œstradiol (Rajah *et al.*, 2009). Notons que l'effet des phyto-œstrogènes dépend de la période d'exposition, plusieurs auteurs ont montré que les isoflavones de soja pouvaient prévenir le

développement de tumeurs chimioinduites si elles étaient administrées en préadolescence (Lamartinière *et al.*, 1995 ; Whitsett *et al.*, 2006). Il est particulièrement intéressant de noter que des études épidémiologiques montrent qu'en Asie une exposition aux isoflavonoïdes dans l'enfance, l'adolescence et pendant la première partie de la vie d'adulte prévient le risque de cancer à la ménopause (Wu *et al.*, 2002 ; Korde *et al.*, 2009 ; Lee *et al.*, 2009).

Les phyto-œstrogènes contribuent à prévenir les maladies cardiovasculaires. Ils baissent le taux de cholestérol total et de LDL cholestérol, augmentent celui du HDL cholestérol, réduisent la formation des thrombus, améliorent la concentration des lipides plasmatiques, de la conformité systémique artérielle et de l'activité antioxydante (Kris-Etherton *et al.*, 2002).

I.6 Etat de l'art

La diversité des travaux antérieurs effectués sur la transformation de la pulpe du fruit du baobab en jus montre l'intérêt réel pour cette pulpe qui est un véritable réservoir nutritionnel et fonctionnel contribuant à la nutrition, la santé et l'économie des populations qui la consomment. Ces travaux de manière générale portaient sur :

- Le recensement des méthodes artisanales de production, la caractérisation nutritionnelle, physico-chimique, antioxydante et phytochimiques des jus issus de ces méthodes dans différents pays (Diop *et al.*, 2005 ; Adedayo *et al.*, 2011 ; Konan *et al.*, 2015) ;

- La recherche des moyens d'améliorer le procédé de production et d'allonger la durée de vie des jus traditionnels (Diop *et al.*, 2005 ; Abdalla *et al.*, 2010 ; AFTER, 2010) ;

- L'étude de l'impact des traitements thermiques (pasteurisation) et de la conservation sur certains nutriments (vitamine C, les sucres...), sur les caractéristiques physico-chimiques (pH, Brix...), sur les composés bioactifs, sur les acides organiques et l'activité antioxydante (Tembo *et al.*, 2017);

- L'étude de la cinétique de dégradation de la vitamine C pendant la pasteurisation et la conservation du jus (Abioye *et al.*, 2013);

- L'optimisation des barèmes de pasteurisations du jus en utilisant la méthodologie surface de réponses (Ndiaye *et al.*, 2020).

L'enquête effectuée par Diop *et al.* (2005) a été très circonscrite et n'a pas relevé plusieurs informations parmi lesquelles : les paramètres pouvant affecter la qualité du jus lors de la production, les fréquences et raisons de production, les techniques et durées de conservation du jus traditionnel. Les travaux sur les jus traditionnels ont utilisé uniquement la méthode artisanale la plus fréquemment rencontrée négligeant les autres méthodes et les différentes

variations rencontrées. Les études de l'impact du procédé de production sur certains nutriments, composés bioactifs et sur l'activité antioxydante se sont appesanties uniquement sur la phase de pasteurisation évaluant seulement l'effet de la température de pasteurisation et du temps sans tenir compte des autres facteurs tels que le ratio pulpe/eau, la quantité de sucre et la température de préparation. Jusqu'ici la majorité de propriétés fonctionnelles investiguées a été effectuée sur la pulpe et n'ont pas été très considérées dans le jus dont lesdites propriétés peuvent être affectées par le procédé de production. Au vu de ce qui précède, l'évaluation efficace des procédés de production de ce jus devrait partir de la variation des quantités d'ingrédients utilisés dans la production artisanale, passant par les méthodes artisanales de préparation et enfin la pasteurisation pour une standardisation de ce procédé. Les propriétés sensorielles, nutritionnelles et fonctionnelles (teneur en composés phénoliques, activités antioxydantes) étant affectées lors de la production du jus et de la conservation, il serait judicieux de les combiner pendant les études en vue de la production d'un aliment fonctionnel apprécié pour contribuer à la lutte contre certaines maladies. L'optimisation par la méthodologie des surfaces réponses combinant plusieurs facteurs et ciblant simultanément plusieurs réponses serait appropriée pour cette étude.



CHAPITRE II :
MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1 Matériel

II.1.1 Présentation du cadre expérimental

De manière générale, cette étude s'inscrit dans le cadre de la valorisation et vulgarisation de la pulpe du fruit du baobab véritable réservoir en nutriments et composés bioactifs important pour la santé par sa transformation en jus. Cet alicament est sous exploité, mal connu de la plupart des camerounais particulièrement dans le grand Sud car assez restreint aux régions du Nord et de l'Extrême-Nord, zone agro-écologique où il est présent naturellement. Cette zone agro-écologique est la zone soudano-sahélienne qui couvre une superficie de 100353 km², avec une pluviométrie de 400 à 1200 mm/an (150 jours de pluie), des sols de grandes diversités (ferrugineux, lessivés, hydromorphes, alluvionnaires, lithosols, vertisols...) et caractérisée par la culture du coton, mil, sorgho, niébé, oignon, sésame (IRAD, 2008). Le but de ce travail est de valoriser le jus de la pulpe du fruit de baobab en alimentation et santé en standardisant son procédé de production qui est encore artisanal au Cameroun et réalisé dans les conditions non contrôlées. Ce qui permettra d'obtenir un jus amélioré de haute qualité en nutriments et composés bioactifs. Pour y parvenir, il fallait évaluer les impacts des différentes pratiques artisanales de production du jus de baobab sur sa qualité, déterminer les conditions optimales de production du jus ayant les teneurs en fer, composés phénoliques, activité anti radicalaire et capacité antioxydante majorées et d'évaluer l'activité des composés bioactifs par l'étude des propriétés antioxydantes *in vitro* et les effets œstrogéniques *in vivo* du jus produit dans les conditions optimales.

Dans un premier temps, une enquête technologique et alimentaire a été effectuée auprès des commerçants et consommateurs réguliers du jus de la pulpe du fruit du baobab. Cette enquête s'est déroulée dans le Département de la Bénoué (Garoua, Pitoa, Bibémi, Adoumri, Séboré), région du Nord Cameroun qui est l'un des principaux bassins de production de ce fruit. Les informations sur la consommation, les procédés de production artisanales et la conservation du jus de baobab ont ainsi été obtenues auprès de 92 répondants par le biais d'un questionnaire préalablement validé. Le jus de baobab a ensuite été produit en laboratoire (Laboratoire de Sciences Alimentaires et Métabolisme) selon les principaux procédés reportés et leurs impacts sur les teneurs en composés phénoliques et vitamine C, la capacité antioxydante totale et l'activité antiradicalaire (DPPH) ont été évalués.

Dans un second temps, une étude en vue d'une optimisation de la production du jus de baobab a été réalisée. Pour ce faire, par la méthodologie des surfaces de réponses, un plan expérimental de type composite centré a été utilisé avec comme variables indépendantes le ratio pulpe/eau, la température et la quantité de sucre (saccharose) testées respectivement dans les intervalles de 60,4 - 114,6 g/L, 40- 85 °C et 130,4 - 331,6 g. Ces derniers ont été définis sur la base de l'enquête précédemment réalisée. Les jus produits selon les différentes conditions du plan expérimental ont été pasteurisés à 65°C pendant 30 minutes et les réponses évaluées. La fiabilité et la validité des modèles prédictifs obtenus ont pu être appréciées au travers des paramètres statistiques que sont l'analyse absolue de déviation moyenne (AADM) (Bas et Boyac, 2007), le facteur de biais (Bf) et le facteur d'exactitude (Af) (Ross, 1996), le coefficient de détermination R^2 (Joglekar et May, 1987) et de la comparaison des résultats expérimentaux obtenus au point optimal avec ceux prédit par le modèle. La caractérisation nutritionnelle, physicochimique, phytochimique et antioxydante de la pulpe du fruit du baobab qui servait de matière première a précédé cette optimisation. Le jus produit dans les conditions optimales a également fait l'objet d'une caractérisation plus globale : nutritionnelle, physicochimique, sensorielle et microbiologique.

Dans un troisième temps, les propriétés fonctionnelles du jus par un screening phytochimique, l'évaluation de la teneur en composés phénoliques, des propriétés antioxydantes *in vitro* et des effets œstrogéniques (œstrogénicité et antioestrogénicité) *in vivo* du jus produit dans les conditions optimales ont été évaluées. La détermination de la teneur en composés phénoliques, de l'activité anti-radicalaire DPPH, de l'activité antioxydante FRAP et de la capacité antioxydante totale de ce jus a tout d'abord été effectuée en utilisant plusieurs solvants d'extraction (H₂O, éthanol 70%, méthanol 80% et acétone 70%). L'évaluation de l'effet œstrogénique de ce jus chez les rates albinos de souche *Wistar* par un test utéro-trophique et un test anti-œstrogénique a clôturé les travaux.

La figure 11 présente le diagramme synoptique du travail effectué.

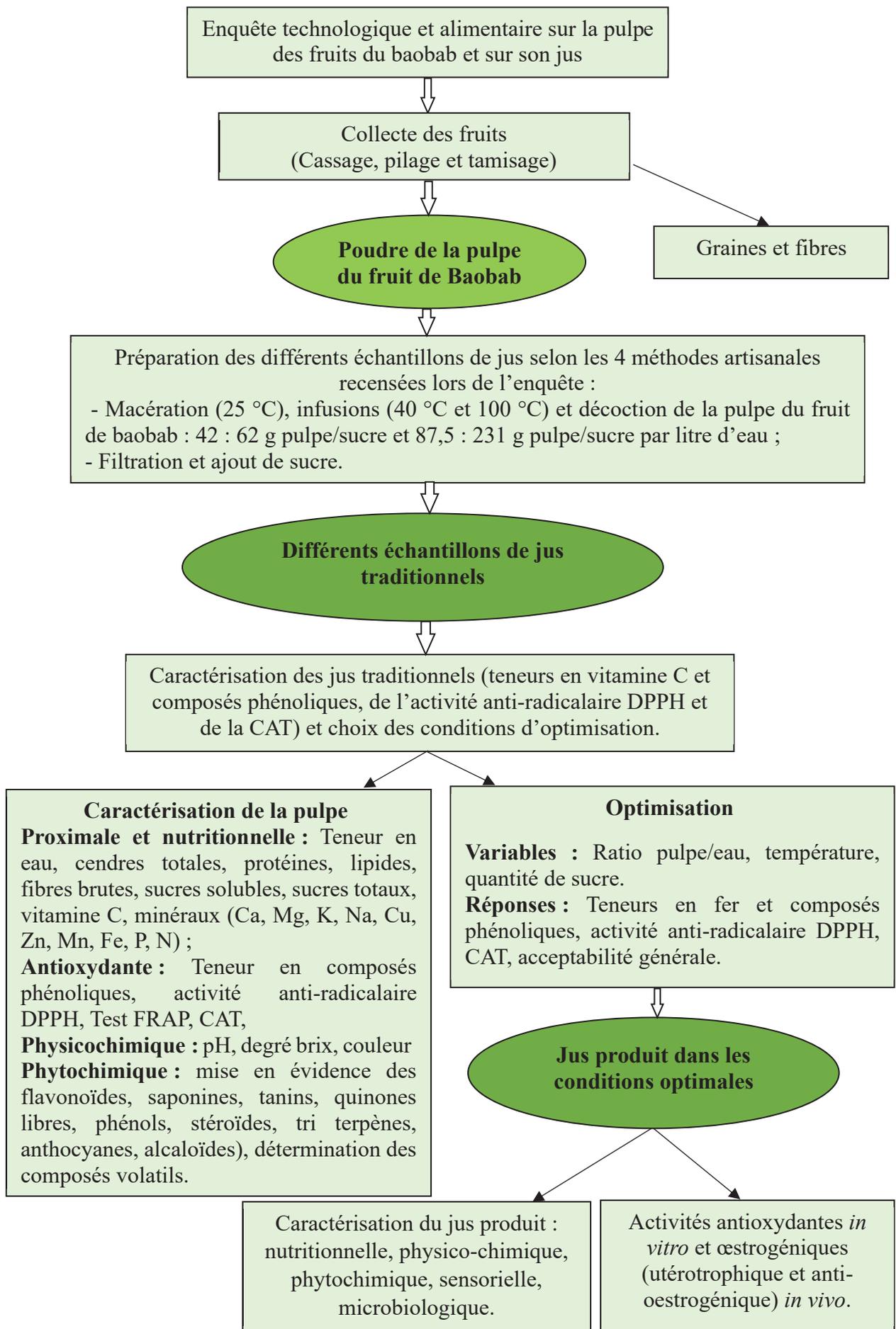


Figure 11 : Diagramme synoptique du travail

II.1.2 Matériel végétal

Les fruits matures secs du baobab ont été récoltés à Bachéo dans le Département de la Bénoué, Région du Nord Cameroun l'un des principaux bassins de production. Ils ont été immédiatement transportés au Laboratoire des Sciences Alimentaires et Métabolisme (LabSAM) du Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I (Cameroun). La récolte consistait à la cueillette des fruits à l'aide des crochets. Ils ont été cassés manuellement, conditionnés dans des sacs en polyéthylène hermétiquement scellés et conservés à température ambiante dans un endroit sec et à l'abri de la lumière pour utilisation ultérieure.



Figure 12 : Fruits du Baobab : Fruits dans la coque (A) ; fruits décoqué (Maptouom, dans cette étude)

II.1.3 Milieux de culture

Trois milieux de culture (annexe 4) ont été utilisés pour explorer les différentes flores microbiennes dans le jus au cours de ce travail. Il s'agit de :

- ✚ La gélose nutritive préparée en laboratoire pour la numération de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) ;

- ✚ Le milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*, Himedia, India) pour l'exploration de la flore fongique ;

- ✚ Le Milieu MRS (*Man Rogosa Sharpe agar*, Carl Roth GmbH, Allemagne) pour la numération des bactéries lactiques.

II.1.4 Matériel biologique

Les rats femelles albinos de souche Wistar, âgées d'environ 8 - 12 semaines et pesant en moyenne 150 - 200 g ont été utilisés. Ces animaux ont été élevés dans des cages en plastique à l'animalerie du Laboratoire de Physiologie Animale de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I. Ils ont été maintenus à température ambiante avec aération suffisante sous un

cycle lumineux naturel (diurne et nocturne) et ont eu un libre accès à l'eau potable et à l'aliment classique de laboratoire dépourvu de soja composé comme suit : farine de maïs (33%), son de blé (33%), farine de poisson (14%), farine d'os (8%), tourteau de palmiste (11,5%) et complexe multivitaminé (Prémix) (0,5%). Les conditions d'expérimentation utilisées étaient en accord avec les lignes directrices CEE Council 86/609 de l'Union Européenne adoptées par le Comité d'Ethique du Ministère de la Recherche Scientifique et de l'Innovation du Cameroun (Reg.no.FWA-IRD0001954).

II.1.5 Substances de références, d'anesthésies et de pansements

Les substances chimiques de référence utilisées au cours de l'évaluation des effets œstrogéniques étaient le diazépam (Valium® 10 mg/2ml, Roche, Fontenay-sous-Bois, France), l'œstradiol valérate (Progynova® 2 mg, Delpharm, Lille, France), la kétamine (Kétamine hypochloride 50 mg/kg, Rotex Medica, Tritau, Allemagne), la Betadine® (MEDA Manufactory, Merignag, France) et le fulvestrant (ICI 182,780 ; Tocris Biosciences, Bristol, UK). Les solutions de diazépam et kétamine ont été utilisées pour l'anesthésie des animaux, la Betadine® a été utilisé pour le pansement des animaux après l'ovariectomie, l'œstradiol valérate (E₂V) comme œstrogène de référence et le fulvestrant (ICI) comme anti-œstrogène de référence.

II.2 Méthodes

II.2.1 Evaluation des impacts des différentes pratiques artisanales de production du jus de baobab sur sa qualité

II.2.1.1 Enquête technologique et alimentaire auprès des commerçants et consommateurs du jus de baobab

Dès l'entame de ce travail, nous avons effectué une enquête technologique et alimentaire sur le fruit du baobab et son jus dans le but de recenser les ingrédients, les différentes pratiques artisanales de préparation et de conservation du jus de baobab et d'évaluer leurs impacts sur la qualité du jus.

A partir d'un sondage, nous avons conçu le questionnaire pour l'enquête. Cette enquête a été effectuée auprès des commerçants et consommateurs réguliers du Jus de baobab. Elle s'est déroulée en juin 2016 dans le Département de la Bénoué, Région du Nord Cameroun. Le Département de la Bénoué étant l'un des principaux bassins de production au Cameroun. Les villages et villes enquêtés étaient Garoua, Pitoa, Bibémi, Adoumri, Séboré du fait de la forte production, consommation et commercialisation du fruit du baobab dans ces zones. Les

informations ont été recueillies chez 92 répondants sur la composition des ingrédients et les techniques utilisées pour la préparation de ce jus, la conservation du fruit du baobab et du jus obtenu, l'impact de la durée et de la conservation du fruit et du jus sur la qualité du jus, les quantités consommées, les raisons de consommation de ce jus et les applications en santé et alimentaires de la pulpe du fruit du baobab.

Les critères de sélection des enquêtés ont été les suivants :

✚ **Critères d'inclusion** : être vendeuses (eurs) et/ou consommatrices (eurs) réguliers du jus de baobab.

✚ **Critères de non-inclusion** : n'avoir aucune connaissance sur le jus de baobab, avoir un problème de santé susceptible d'affecter son jugement au moment de l'étude.

II.2.1.2 Etude de l'effet des procédés artisanaux recensés pendant l'enquête sur la qualité du jus de baobab

II.2.1.2.1 Obtention de la poudre de pulpe de baobab

La pulpe du fruit sec du baobab a été séparée manuellement des graines en utilisant le procédé local qui consiste à piler le fruit dans un mortier traditionnel. La pulpe a été séparée des graines et des fibres à l'aide des passoirs dont le diamètre des mailles était de 6 mm. La poudre obtenue a été utilisée pour la production du jus.

II.2.1.2.2 Stérilisation du matériel de préparation du jus

Pour garantir la production d'un jus sain, les locaux et le matériel utilisé ont été nettoyés et désinfectés. Le nettoyage du matériel a été effectué comme décrit dans le projet AFTER (2010). Ainsi, 450 mL de javel (8° ; 2,6% de chlore actif) ont été dilués dans 30 L d'eau et laissé agir pendant 15 minutes. Ensuite ce matériel a été rincé avec de l'eau potable.

II.2.1.2.3 Différentes méthodes artisanales de préparation du jus de la pulpe du fruit de baobab

Les différentes méthodes artisanales répertoriées ont été appliquées pour la préparation de 8 échantillons. Pour chaque méthode, nous avons préparé 2 échantillons différents sur la base de la quantité de pulpe et de sucre (saccharose). L'un contenait 42 g de pulpe et 62 g de sucre et l'autre 87,5 g de pulpe et 231 g de sucre par litre d'eau.

II.2.1.2.3.1 Méthode de préparation 1 : Extraction aqueuse par macération (25 ± 2 °C)

La pulpe du baobab a été trempée dans de l'eau potable à température ambiante (25 ± 2 °C) pendant quinze minutes dans des bocaux en verre hermétiquement fermés. Le mélange a été directement tamisé à l'aide d'un tamis ayant pour diamètre des mailles 0,5 mm. Le sucre de table ou saccharose a été ajouté au filtrat. Le jus ainsi obtenu a été conditionné dans des bouteilles plastiques préalablement stérilisées et utilisé directement pour les analyses.

II.2.1.2.3.2 Méthode de préparation 2 : Extraction aqueuse par infusion à 40 °C (eau tiède)

La préparation a été effectuée comme sus-décrite à la seule différence que l'eau était tiède (40 °C).

II.2.1.2.3.3 Méthode de préparation 3 : Extraction aqueuse par infusion à 100 °C (eau bouillante)

La préparation du jus de baobab a été effectuée comme sus-décrite à la seule différence que l'eau était bouillante (100 °C).

II.2.1.2.3.4 Méthode de préparation 4 : Extraction aqueuse par décoction

Le fruit du baobab a été trempé dans de l'eau (température ambiante) puis porté immédiatement à ébullition. Le mélange était maintenu en ébullition pendant environ 5 minutes. Après refroidissement le mélange a été traité comme sus-mentionné.

II.2.1.2.4 Caractérisation des différents jus préparés par application des méthodes artisanales

L'évaluation des teneurs en composés phénoliques et en vitamine C, de la capacité antioxydante totale (CAT) et de l'activité anti-radicalaire (DPPH) a été effectuée sur les jus préparés par application des différentes méthodes traditionnelles recensées pendant l'enquête.

II.2.1.2.4.1 Evaluation de la teneur en composés phénoliques

a) Principe

La teneur en composés phénoliques a été évaluée par la méthode de Folin-Ciocalteu (Medina, 2011). Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit en milieu alcalin par les groupements oxydables des composés phénoliques, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la coloration bleue produite, dont le maximum d'absorption est

compris entre 725 et 750 nm, est alors proportionnelle à la quantité de phénols présents dans l'échantillon.

b) Mode opératoire

De façon pratique, un millilitre du jus a été préalablement dilué 4 fois dans de l'eau distillée. Ensuite, 0,5 mL du jus dilué a été introduit dans un tube à essai auquel nous avons ajouté 4,3 mL d'eau distillée et 0,2 mL de Folin Ciocalteu. Après agitation et repos pendant 5 min, 0,5 mL d'une solution de carbonate de sodium (20%) et 4,5 mL d'eau distillée y ont été encore ajoutés. Le tout a été agité et laissé au repos à température ambiante et à l'obscurité pendant 1 heure. L'absorbance a été mesurée à 725 nm et la teneur en composés phénoliques estimée en équivalent mg/L acide gallique sur la base d'une courbe d'étalonnage réalisée au préalable avec des solutions d'acide gallique de concentrations comprises entre 0 et 500 mg/L (Annexe 3, Figure A1). Chaque analyse a été faite en trois répétitions.

II.2.1.2.4.2 Evaluation de la capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène décrite par Prieto *et al.* (1999).

a) Principe

Cette méthode est basée sur la réduction des molybdènes Mo (VI) présents sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} en molybdène Mo (V) MoO^{2+} en présence d'un antioxydant pour former un complexe vert (phosphate/ Mo(V)) à pH acide. L'intensité de coloration est mesurée à 695 nm et est proportionnelle à la quantité d'antioxydant présent dans le milieu réactionnel.

b) Mode opératoire

Un volume d'un millilitre du jus a été dilué 4 fois dans de l'eau distillée. Nous avons prélevé 0,3 mL de jus dilué et mélangé à 3 mL de solution du réactif de phosphomolybdate (0,6 M acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4 mM molybdate d'ammonium). Les tubes ont été vissés et incubés à 95 °C pendant 90 minutes. Après refroidissement par immersion des tubes dans de l'eau à température ambiante, l'absorbance des solutions a été mesurée à 695 nm contre le blanc. L'acide ascorbique a été utilisé comme standard à concentrations (0,005 g/mL). Chaque analyse a été faite en trois répétitions.

$$CAT (g/mL) = \left(\frac{DO_{Echantillon}}{DO_{Standard}} \right) \times \text{Concentration du standard}$$

II.2.1.2.4.3 Evaluation de l'activité anti-radicalaire : DPPH

Cette activité a été évaluée par la méthode décrite par Plaza *et al.* (2006).

a) Principe

Cette méthode est basée sur la réduction en présence d'antioxydants du radical DPPH° (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle) de couleur violette en DPPH-H de couleur jaune (Figure 13), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. La décoloration est suivie par la mesure de l'absorbance à 515 nm.

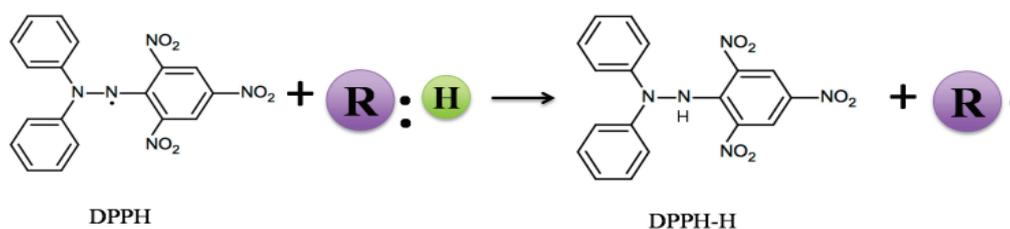


Figure 13 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

b) Mode opératoire

Le mode opératoire consistait à prélever 1 mL du jus et à le diluer 4 fois dans du HCl 1%. Par la suite, 0,2 mL du jus ainsi dilué ou de HCl 1% (contrôle) a été ajouté à 7,8 mL d'une solution méthanolique de DPPH (0,03 g/L). Le mélange obtenu a été ensuite agité et laissé au repos à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 min, suivi d'une lecture de l'absorbance à 515 nm. Cette activité anti-radicalaire a été estimée en pourcentage d'inhibition. Pour chaque échantillon l'analyse a été faite en triplicat.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{(DO_{\text{Contrôle}} - DO_{\text{Echantillon}})}{DO_{\text{Contrôle}}} \right] \times 100$$

II.2.1.2.4.4 Détermination de la teneur en vitamine C

La teneur en vitamine C a été déterminée par titration avec le 2,6-dichloro-phénol-indophénol (Peter *et al.*, 2010).

a) Principe

Le 2,6-dichloro-phénol-indophénol (DCPIP) est utilisé pour doser directement l'acide ascorbique présent en solution par titrage rédox. La méthode repose sur la réduction du 2,6 dichlorophénol indophénol en leucodérivé avec passage de coloration du bleu au rose pâle suivant l'équation :

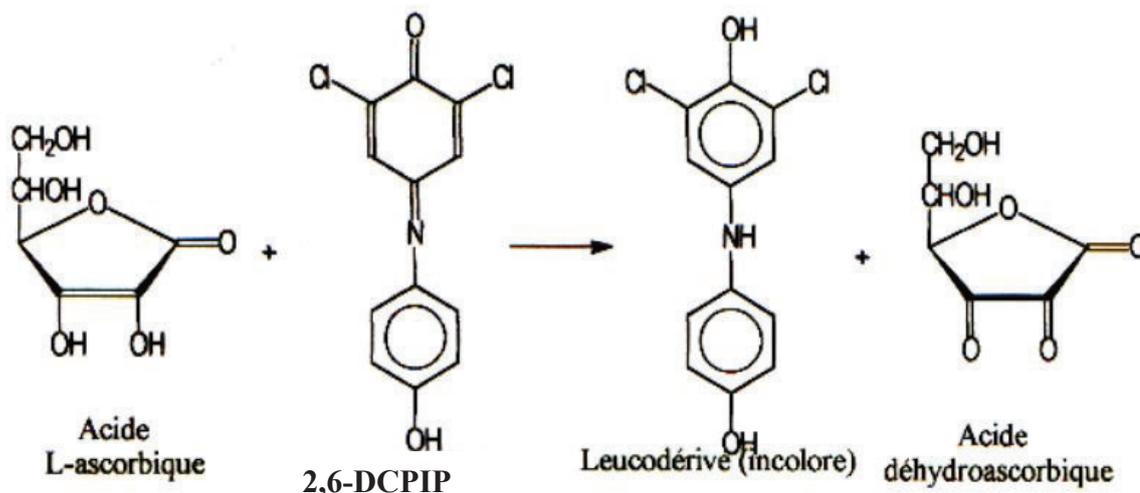


Figure 14 : Equation de la réaction de l'acide ascorbique avec le 2,6-DCPIP

b) Extraction dans la pulpe

A 0,5 g de pulpe, 10 mL d'acide acétique 90% ont été ajoutés, puis le tout agité à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 15 minutes. Le mélange a été ensuite filtré et le filtrat obtenu complété à 20 mL avec l'acide acétique 90%. De cet extrait, 50 µL ont été prélevés pour dosage de la vitamine C.

c) Mode opératoire

Le standard (Vitamine C 0,01 mg/mL d'acide acétique 90%), le blanc et les différents échantillons dilués 10 fois ont été titrés par la solution de DCPIP (50 µmol). L'équivalence était visualisée par l'apparition d'une coloration rose pâle persistant pendant 30 s.

De manière pratique, nous avons prélevé 50 µL de jus dilué auquel nous avons ajouté 450 µL d'acide acétique 90%, puis nous avons titré. Chaque titration a été faite en trois répétitions.

$$\text{Vitamine C (mg/100mL)} = \left(\frac{\text{Volume Echantillon} - \text{Volume Blanc}}{\text{Volume Standard} - \text{Volume Blanc}} \right) \times \text{Facteur de dilution}$$

II.2.2 Définition des conditions de production optimale d'un jus de baobab apprécié avec le fer, les composés phénoliques, l'activité anti-radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale comme composés et activités d'intérêt

Cette partie avait pour but de définir les conditions de production d'un jus de baobab apprécié ayant les teneurs en fer et composés phénoliques, l'activité anti-radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale optimales.

II.2.2.1 Caractérisation de la pulpe du fruit de baobab

Afin d'avoir les caractéristiques de la pulpe du fruit de baobab qui était la principale matière première utilisée, les propriétés suivantes ont été déterminées :

✚ **Nutritionnelle** : Teneurs en eau, cendres totales, protéines, lipides totaux, fibres brutes, sucres solubles, sucres totaux, minéraux (Ca, Mg, K, Na, Cu, Zn, Mn, Fe, P, N) ;

✚ **Antioxydante** : Teneur en composés phénoliques, activité anti-radicalaire DPPH, test FRAP, CAT ;

✚ **Physicochimique** : Evaluation du pH, degré brix, mesure de la couleur ;

✚ **Phytochimique** : screening phytochimique (mise en évidence des flavonoïdes, saponines, tanins, quinones libres, phénols, stéroïdes, triterpènes, anthocyanes, alcaloïdes), détermination des composés volatils.

Les analyses ont été faites en triplicat. Les résultats ont été exprimés pour 100 g de matière sèche de pulpe.

II.2.2.1.1 Analyse proximale et caractérisation nutritionnelle de la pulpe du fruit du baobab

II.2.2.1.1.1 Teneur en matières sèches et en eau

a) Principe

Les teneurs en matières sèches et en eau ont été déterminées par la méthode décrite par AOAC (1980). Elles sont basées sur la perte en masse des échantillons après étuvage à 105 °C, jusqu'à obtention d'une masse constante.

b) Méthode

Les creusets vides en porcelaine ont été séchés à l'étuve pendant 2 h, refroidis dans un dessiccateur et ensuite pesés pour déterminer leurs masses M_0 .

Environ 2 g (m) de pulpe ont été introduit dans les creusets, l'ensemble pulpe + creuset de masse (M_1) a été notée et mis à sécher dans une étuve à 105 °C jusqu'à ce que la masse (M_2) soit constante.

La matière sèche (MS) a été exprimée en pourcentage de matière sèche selon la formule:

$$\%MS = \left[\frac{(M_2 - M_0)}{(M_1 - M_0)} \right] \times 100$$

La teneur en eau (TE) de la pulpe a été déduite de la teneur en matière sèche par la formule :

$$TE (\%) = 100 - MS$$

II.2.2.1.1.2 Détermination de la teneur en cendres totales dans la pulpe

a) Principe

Le principe de la méthode repose sur l'oxydation de toute la matière organique par incinération dans un four à 550 °C. Le résidu obtenu après incinération représente la teneur en cendre de l'échantillon (AOAC, 1980).

b) Mode opératoire

Une masse M d'échantillon sec issu de l'étuvage à 105 ± 2 °C a été pesée en triple dans un creuset sec, préalablement pesé (M_0). L'ensemble échantillon + creuset ayant une masse (M_1) a été dans un premier temps carbonisé au-dessus d'une plaque chauffante. Ensuite, le creuset et son contenu carbonisé ont été introduits dans un four réglé à 550 °C pour y séjourner pendant 4 h. Après incinération, les creusets ont été retirés du four à l'aide d'une pince puis refroidis dans l'atmosphère d'un dessiccateur et pesés (M_2). La teneur en cendre, TC (% de matière sèche) est alors déterminée par l'expression :

$$TC (\%) = \left[\frac{(M_2 - M_0)}{(M_1 - M_0)} \right] \times 100$$

II.2.2.1.1.3 Détermination de la teneur en protéines dans la pulpe

La pulpe du baobab a été digérée par la méthode de Kjeldahl, puis l'azote total a été déterminé (Buondonno *et al.*, 1995).

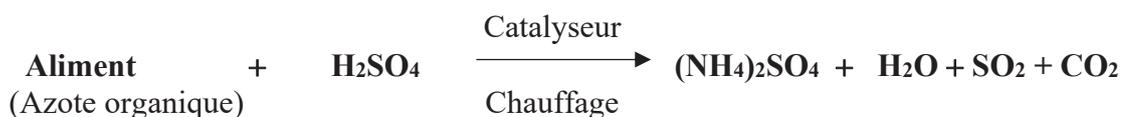
a) Principe

Il est basé sur la digestion par l'acide sulfurique concentré chaud des protéines et composés organiques présents dans l'échantillon à analyser, en présence de catalyseur (sulfate de potassium, sulfate de cuivre). Il s'en suit une libération d'azote qui se présente dans le mélange sous forme de sel d'ammonium. L'ajout d'une solution alcaline concentrée (NaOH) provoque une libération d'ammoniaque qui est distillé et recueilli dans une solution d'acide borique où il forme le sel de borate d'ammonium. L'azote organique de l'échantillon ainsi converti en sulfate d'ammonium, puis en ammoniaque (après distillation) et mesuré par titrimétrie avec le H_2SO_4 , 0,1 N. La teneur en protéine brute est déduite en multipliant la teneur en azote par le facteur de conversion (6,25).

b) Mode opératoire

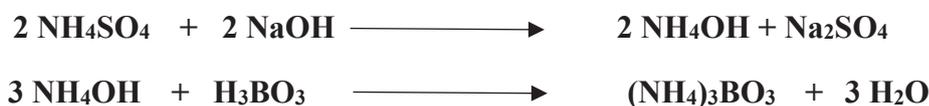
✚ Minéralisation

La minéralisation a été catalysée par H₂O₂ et menée comme suit : 11 mL de H₂SO₄ ont été ajoutés à 2,5 g d'échantillon et 4 mL de H₂O₂ (40% p/p) dans un matras de minéralisation. Le matras a été disposé dans la rame de minéralisation tel que le col du matras soit engagé dans un tube collecteur de fumée et l'ensemble a été porté à ébullition pendant 30 min, puis refroidi. L'échantillon a de nouveau été traité avec 4 mL H₂O₂ et ensuite porté à ébullition pendant 30 min, puis laissé refroidi.



✚ Distillation

Après minéralisation et refroidissement des échantillons, environ 25 mL d'eau distillée ont été ajoutées dans chaque matras contenant le minéralisat, puis monté sur l'appareil de distillation (BUCHI Distillation Unit K-350). Environ 25 mL de NaOH 50% ont été introduits dans le matras. La distillation a été effectuée et le distillat collecté dans un erlenmeyer contenant 2 mL d'acide borique (2% p/v) et 3 gouttes d'indicateur coloré rouge méthyle-bleu méthylène.



✚ Titration

Le distillat obtenu a été titré sous agitation avec une solution de H₂SO₄ 0,1 N jusqu'à virage de la couleur du vert au violet avec formation du sulfate d'ammonium et régénération d'acide borique a été noté selon l'équation suivante :



Un blanc contenant l'ensemble des réactifs à l'exception de l'échantillon a été réalisé parallèlement et la teneur en protéine a été calculée par la formule suivante :

$$\text{Protéine (\%)} = \frac{(\text{mL H}_2\text{SO}_4 \text{ échantillon} - \text{mL H}_2\text{SO}_4 \text{ blanc}) \times 0,1 \times 14,01 \times 6,25 \times 100}{\text{Masse de l'échantillon(g)} \times (100 - \text{TE})}$$

Où 6,25 est le facteur de conversion de l'azote en protéine, 14,01 l'azote équivalent à 0,1 N de H₂SO₄ en g/mole d'azote et TE la Teneur en eau de l'échantillon.

II.2.2.1.1.4 Détermination de la teneur en lipides totaux

La méthode utilisée est celle au Soxhlet encore appelé méthode Russe (Bourelly, 1982). Elle est basée sur la dissolution des lipides dans les solvants organiques.

a) Principe

L'extraction des lipides contenus dans un échantillon est basée sur la solubilité différentielle de ces derniers dans les solvants organiques. Elle se fait à chaud ; le solvant est ensuite éliminé par séchage à l'étuve et la teneur en lipide est calculée par différence de poids du sachet avant et après extraction complète des lipides.

b) Mode opératoire

Une masse de 5 g (M) de pulpe a été pesée et introduite dans une cartouche en papier Whatman N°1 préalablement séchée pendant 10 minutes dans une étuve à 105 °C et tarée (M₀). L'ensemble a ensuite été séché pendant 2 h dans l'étuve à 105 °C (M₁), et introduit dans l'extracteur de Soxhlet placé entre le réfrigérant à eau et le ballon contenant des billes de verre. Ensuite, environ 200 mL d'hexane ont été versés dans l'extracteur jusqu'à siphonage. Le chauffage a été lancé en vérifiant la bonne circulation de l'eau dans tout le dispositif, et laissé pendant 8 heures. Après arrêt du chauffage et refroidissement du dispositif, les cartouches ont été séchées à l'étuve à 65 °C pendant 12 h et pesées (M₂). La teneur en lipide a été calculée par la différence de poids du sachet avant et après l'extraction complète des lipides. Pour chaque échantillon trois essais ont été réalisés, l'exploitation de la relation ci-dessous nous donne la teneur en lipides de l'échantillon :

$$\text{Teneur en lipides} = \frac{M_1 - M_2}{M} \times 100$$

II.2.2.1.1.5 Teneur en fibres brutes

a) Principe

Les fibres brutes ont été déterminées suivant le protocole décrit par AOAC (1990). Cette méthode est basée sur la digestion séquentielle par les acides forts et les bases fortes de la poudre de la pulpe du fruit du baobab.

b) Mode opératoire

Une masse d'environ 0,5 g de pulpe (M) délipidée a été introduite dans un bécher de 200 mL et 100 mL d'acide sulfurique 0,26 N ont été ajoutés. Le bécher et son contenu ont été chauffés sur une plaque chauffante à 100 °C pendant 30 minutes. Le contenu du bécher a été

filtré à l'aide d'un verre fritté préalablement pesé et le résidu obtenu a été rincé 3 fois avec 30 mL d'eau distillée. Après avoir réintroduit le filtrat dans le même bécher, il a été ajouté dans ce bécher 100 mL de KOH 0,23 N et l'ensemble a été placé sur une plaque chauffante pendant 30 mn, ensuite le mélange a été filtré. Le résidu a été lavé 3 fois avec 10 mL d'acétone et séché à 100 °C pendant 8 heures, ensuite refroidi dans un dessiccateur avant d'être pesé (M1). Par la suite le résidu a été calciné dans un four à 500 °C pendant 3 heures, ensuite refroidi et le poids (M2) a été mesuré. La teneur en fibres a été déterminée en utilisant la formule ci-dessous. Pour chaque échantillon l'analyse a été faite en triple et la teneur en fibres brutes a été exprimée en g/100 g de matières sèches.

$$\text{Fibres brutes (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M} \times 100$$

II.2.2.1.1.6 Teneur en sucres solubles

Les sucres solubles ont été extraits et dosés selon la méthode au DNS décrite par Fischer et Stein (1961).

a) Principe

En milieu alcalin et à chaud, l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) réagit avec des sucres solubles et passe de sa forme oxydée jaune à sa forme réduite orangée présentant un maximum d'absorption à 540 nm. La coloration est proportionnelle à la concentration des sucres réducteurs en solution.

b) Mode opératoire

Extraction des sucres

Dans un tube à essai avec bouchon de 50 mL contenant 5 mL d'acide sulfurique 1,5 N, 0,2 g d'échantillon a été introduit. Le mélange a été porté au bain-marie à 100 °C pendant 45 minutes, puis refroidi à température ambiante. Après extraction, 2 mL d'éthanol 70% ; 0,1 mL de sulfate de zinc (2 g/ 100 mL) et 0,1 mL de ferrocyanure de potassium (10,6 g/10 mL) ont été ajoutés. Le mélange a été filtré à l'aide d'une fiole de 50 mL et le volume a été complété à 50 mL avec de l'eau distillée.

Préparation de la solution de DNS

Pour la préparation de la solution de DNS, 1 g de DNS a été dissout dans 20 mL de NaOH 10% et introduit dans une fiole de 100 mL ; ensuite 30 g de tartrate double de Na et de K dissout dans 50 mL d'eau distillée ont été ajoutés. Le volume a été complété à 100 mL avec l'eau distillée.

✚ Préparation du Standard de glucose

La solution standard de glucose de concentration 2 mg/mL a été préparée. Pour cela, 0,2 g de glucose a été mélangé dans 100 mL d'eau distillée.

Tableau VIII : Mode opératoire du dosage des sucres solubles

Tube	0	1	2	3	4	5	Echantillon
Glucose (mg/mL) μ L	0	125	250	375	500	625	0
Extrait	0	0	0	0	0	0	500
H ₂ O Distillée (μ L)	625	500	375	250	125	0	125
DNS (μ L)	125	125	125	125	125	125	125
L'ensemble a été bouilli pendant 5 minutes au bain-marie bouillant et plongé dans un bain de glace							
H ₂ O (mL)	2	2	2	2	2	2	2
La densité optique a été immédiatement lue à 540 nm							

✚ Expression des résultats

Les analyses ont été réalisées en triplicat. La quantité de sucres réducteurs de chaque prise d'essai a été déterminée en se reportant sur la courbe d'étalonnage d'équation de regression : $DO = aQ + b$ (Annexe 3, Figure A10).

Avec DO: Densité optique et Q : Quantité de sucres réducteurs ; a,b : Constantes ayant été déterminées.

Les résultats ont été exprimés en g/100 g de matières sèches

II.2.2.1.1.7 Teneur en glucides totaux

La teneur en glucides totaux a été déterminée par la méthode de différence décrite par AOAC (1990). Les pourcentages des différents teneurs (protéines totales, lipides totaux, eau, cendres totales, fibres brutes) ont été additionnés et soustraits de 100%. La teneur en glucides totaux de l'échantillon a été calculée par la formule suivante :

$$\% \text{ Glucides} = 100 - (\% \text{ eau} + \% \text{ cendres} + \% \text{ fibres} + \% \text{ protéines} + \% \text{ lipides})$$

II.2.2.1.1.8 Détermination de la valeur énergétique

La valeur énergétique a été déterminée par calcul en utilisant les facteurs de conversion: 4,0, 4,0 et 9,0 Kcal/g pour les protéines, les glucides et les lipides respectivement.

$$\text{Energie (kcal)} = \text{glucides totaux (g)} \times 4 \text{ kcal} + \text{protéines (g)} \times 4 \text{ kcal} + \text{lipides (g)} \times 9 \text{ kcal}$$

II.2.2.1.1.9 Teneurs en minéraux

La détermination des teneurs en minéraux a été effectuée par spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP- OES).

a) Principe

Il est basé sur la séparation des minéraux de la matrice de l'échantillon par digestion humide de la matière organique. Les minéraux séparés sont dilués dans de l'acide et leur teneur est déterminée par spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif. L'excitation ou l'ionisation des atomes contenus dans l'échantion minéralisé est à l'origine de l'émission des raies caractéristiques du minéral à doser ; le signal analytique est quantifié sous forme d'énergie électrique à la longueur d'onde spécifique au minéral recherché.

b) Mode opératoire

A 500 mg d'échantillons, 5 mL d'acide nitrique concentré ont été ajoutés et le mélange laissé reposer toute une nuit. Le jour suivant, l'échantillon contenu dans les capsules fermées a été minéralisé pendant 4 heures par chauffage des capsules à l'étuve à 105°C pendant une heure puis refroidissement ; et insinération dans des bombes à minéraliser bien scellées sur une plaque chauffante (130°C) pendant trois heures (Benton et Vernon, 1990). Le mélange a été ensuite dilué jusqu'à 50 mL et laissé reposer toute la nuit. Le surnageant a été transféré avec précaution dans les tubes gradués pour la détermination par ICP-OES.

Les standards certifiés pour chaque élément ont été préparés et après avoir calibré par spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP-OES), les différents minéraux (Ca, Mg, K, Na, Cu, Zn, Mn, Fe et P) ont été déterminés aux différentes longueurs d'onde correspondantes à chaque minéral.

II.2.2.1.2 Caractérisation antioxydante de la pulpe du fruit de baobab

II.2.2.1.2.1 Préparation des extraits

Afin de mieux apprécier la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante de la pulpe du fruit du baobab, les solvants d'extraction ont été diversifiés car l'extraction varie selon la polarité du solvant et la solubilité des molécules à extraire. Ainsi, les extraits ont été préparés avec les différents solvants suivant: H₂O, HCl (1%), éthanol (70%), méthanol (80%), acétone (70%) ; le HCl (1%) nous permettant d'avoir un aperçu de la digestion gastrique. A 2 g de pulpe, on a ajouté 20 mL de chaque solvant puis agité à l'aide d'un agitateur magnétique à 25 °C pendant 2 h. Le mélange a été ensuite filtré, les résidus dissous dans 10 mL de solvant

et extraits de nouveau dans les mêmes conditions pendant une heure. Après filtration, la même opération a été conduite avec 10 mL de solvant pendant 30 min. Le volume de chaque solvant obtenu après ces trois extractions a été complété à 25 mL avec chaque solvant d'extraction. L'extrait ainsi obtenu a été conservé à 4 °C.

II.2.2.1.2.2 Teneur en composés phénoliques

La détermination de la teneur en composés phénoliques a été effectuée suivant la méthode de Medina, (2011) décrite-en II.2.1.2.4.1 en utilisant 0,5 mL de chaque extrait.

II.2.2.1.2.3 Evaluation de la capacité antioxydante totale

La capacité antioxydante totale a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène décrite par Prieto *et al.* (1999) en II.2.1.2.4.2.

II.2.2.1.2.4 Evaluation de l'activité anti-radicalaire : DPPH

Cette évaluation a été effectuée suivant la méthode de Plaza *et al.* (2006) décrite-en II.2.1.2.4.3 en utilisant 0,2 mL de chaque extrait.

II.2.2.1.2.5 Test de FRAP (*Ferric-reducing antioxidant power*)

La méthode utilisée est celle décrite par Benzie et Strain (1996).

a) Principe

Il est basé sur la réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) due à la présence et à l'action des molécules antioxydantes présentes. Les ions Fe^{2+} formés, interagissent avec le 2,4,6-tris (2pyridyl) -s-triazine (TPTZ) pour former un complexe qui absorbe à 593 nm.

Le complexe perd sa couleur jaune pour un bleu foncé.

b) Mode opératoire

A 0,1 mL d'extrait, 3 mL de réactif de FRAP fraîchement préparé a été ajouté. Après 5 minutes d'incubation, l'absorbance du milieu réactionnel a été lue à 593 nm contre le blanc. Le Tableau IX ci-dessous présente le mode opératoire de l'évaluation de la capacité antioxydante du standard FeSO_4 .

Tableau IX: Mode opératoire de l'évaluation de la capacité antioxydante globale du standard FeSO₄

	Blanc	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
FeSO ₄ (µL)	/	20	40	60	80	100
Solvant (µL)	100	80	60	40	20	0
FRAP (µL)	300	300	300	300	300	300

Homogénéisation et incubation pendant 5 minutes à température ambiante
Lecture des absorbances à 593 nm

Les différentes absorbances obtenues à partir de 593 nm ont permis de déterminer la concentration en capacité antioxydante globale de chacun de nos extraits.

II.2.2.1.3 Caractérisation phytochimique

II.2.2.1.3.1 Screening phytochimique de la pulpe du fruit de baobab

Afin de déterminer les classes de métabolites secondaires présents dans la pulpe du fruit du baobab, les grandes familles de métabolites secondaires contenues dans les extraits hydroéthanolique (70%) et aqueux ont été identifiées.

II.2.2.1.3.1.1 Préparation des extraits

Les extraits ont été préparés avec différents solvants tel que décrit pour la caractérisation antioxydante.

II.2.2.1.3.1.2 Test de mise en évidence des flavonoïdes

Un volume de 5 mL d'une solution d'ammoniaque diluée a été ajouté à 1 mL d'extrait de pulpe. Au mélange, 1 mL d'acide sulfurique concentré a été ajouté. Une coloration jaune qui disparaissait au fil du temps caractérisait la présence des flavonoïdes (Harbone, 1976).

II.2.2.1.3.1.3 Mise en évidences des saponines

L'extrait de pulpe (2 mL) a été vigoureusement agité pendant 10 secondes au vortex. La présence d'une mousse épaisse d'un centimètre environ qui persistait plus d'une minute après agitation matérialisait la présence des saponines (Harbone, 1976).

II.2.2.1.3.1.4 Test de mise en évidence des glycosides

Dans 5 mL de H₂SO₄ concentré, 2 mL des différents extraits ont été dissout ; puis neutralisé par 5 mL d'une solution de NaOH à 5%. Une solution de Fehling (A + B) a été ajoutée au mélange et porté à ébullition. La présence des glucosides se manifestait par l'apparition d'un précipité rouge brique (Odebeyi et Sofowara, 1978).

II.2.2.1.3.1.5 Test de mise en évidence des tanins

A une solution d'extrait, quelques gouttes de chlorure ferrique ont été ajoutées. La présence des tanins se manifestait par un changement de coloration de la solution qui virait au bleu foncé (tanins galliques) ou alors au vert noirâtre marquant la présence des tanins catéchiques (Harbone, 1976).

II.2.2.1.3.1.6 Mise en évidence des quinones libres

A 1 mL d'une solution d'extrait, quelques gouttes de NaOH 10% et le chloroforme ont été ajoutées. Le virage de la phase aqueuse au rouge marquait la présence des quinones libres (Dohou *et al.*, 2003).

II.2.2.1.3.1.7 Test de mise en évidence des phénols

A une solution de 2 mL d'extrait, ont été ajoutées quelques gouttes de chlorure ferrique. La présence d'une coloration bleu-noirâtre matérialisait la présence des composés phénoliques (Békro *et al.*, 2007).

II.2.2.1.3.1.8 Test de mise en évidence des stéroïdes

L'extrait (2 mL) a été dissout dans 10 mL de chloroforme ; 2 mL d'acide acétique ont ensuite été introduits dans la solution et l'ensemble a été refroidi dans un bain de glace. L'acide sulfurique concentré y a été ajouté et la formation d'un anneau bleu-gris témoignait de la présence des stéroïdes (Sofowora, 1993).

II.2.2.1.3.1.9 Test de mise en évidence des triterpènes

A 10 mL d'une solution d'extrait à 10% (p/v), 2 mL de chloroforme ont été ajoutés et l'ensemble a été homogénéisé ; ensuite 3 mL d'acide sulfurique ont été ajoutés afin de former deux phases. La formation d'une interface brun rougeâtre traduisait la présence des terpénoïdes (Trease et Evans, 1989).

II.2.2.1.3.1.10 Mise en évidence des anthocyanes

A 1 mL d'une solution d'extrait quelques gouttes d'ammoniaque dilué $\frac{1}{2}$ ont été ajoutés et l'apparition de la coloration bleue matérialisait la présence des anthocyanes (Mamyrbékova-békro *et al.*, 2008).

II.2.2.1.3.1.11 Test de mise en évidence des alcaloïdes

Cinquante milligrammes de l'extrait ont été dilués dans 10 mL de H₂SO₄ à 2% ; le mélange a été homogénéisé et filtré. A 1 mL du filtrat, 5 gouttes du réactif de Mayer ont été ajoutées ; le développement d'une turbidité confirmait la présence des alcaloïdes (Odebeyi et Sofowara, 1978).

II.2.2.1.3.2 Détermination des composés volatils

Dans le but d'identifier les composés volatils retrouvés dans la pulpe du fruit de baobab, l'identification des molécules chimiques par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a été menée.

Le profil GC-MS a été effectué sur un système constitué d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent 7890 A (Agilent Technologies, Inc., Wilmington, Delaware, USA) couplé à un spectromètre de masse LECO Pegasus 4D-CGC x GC-TOFMS (LECO Corporation, St Joseph, MI, USA). Le système de colonne primaire et secondaire utilisé était respectivement : Rxi-5 SilMS (29,5 m × 0,25 mm × 0,25 µm) et Rxi 17 Sil MS (0,95 m × 0,25 mm × 0,25 µm) (Restek, Bellefonte, PA, USA). L'hélium a été utilisé comme gaz porteur. L'alignement du temps de rétention, la filtration appariée, la détection des pics et l'appariement des pics ont été effectués à l'aide du logiciel ChromaTOF (LECO, St Joseph, MI, USA).

a) Mode opératoire

La pulpe a été dissoute dans le méthanol de manière à avoir une concentration de 1mg/mL. Le volume d'injection était de 10 µL et le débit de 1 mL/min, le débit de l'hélium était constant (1 mL/min) et à une température d'entrée de 250 °C. La température initiale du four a été réglée à 40 °C et maintenue pendant 30 secondes, ensuite a progressivement augmenté de 10 °C/60 secondes jusqu'à 300 °C puis a été maintenue pendant 30 secondes à 250 °C. Le modulateur et le four secondaire ont fonctionné à une température de décalage de 5 °C au-dessus du four primaire. Le spectromètre de masse a été mis en place dans les conditions suivantes : retard au solvant de 180 secondes ; température de ligne de transfert à 300 °C ; ionisation d'électrons à -70 eV ; température de la source à 250 °C ; gamme de masse stockée :

45-600 u ; taux d'acquisition : 10 spectres/sec pour GC-TOF-MS ; la tension du détecteur a été réglée à 1650 V. L'alignement du temps de rétention, la filtration appariée, la détection des pics et l'appariement des pics ont été effectués grâce au logiciel ChromaTOF.

b) Identification

L'identification subséquente des composés a été faite par comparaison avec les bases de données du spectre de masse (NIST, Adams and EO libraries) et leurs probables formules brutes ont été déterminés. Une semi-quantification de chaque composé a été calculée sur la base des zones de pics et la concentration relative présentée en pourcentage (%).

II.2.2.1.4 Caractérisation physicochimique de la pulpe de baobab

II.2.2.1.4.1 Détermination du pH

Pour la détermination du pH, la méthode potentiométrique de l'AOAC (1990) a été utilisée.

a) Principe

L'évaluation est basée sur le dosage de la concentration des ions hydronium par conductimétrie à l'aide du pH-mètre.

b) Mode opératoire

Une quantité de 2,5 mg de poudre a été dissoute dans 25 mL d'eau distillée. Le mélange a été agité pendant 10 minutes à l'aide d'un agitateur magnétique. Le pH de la solution a été déterminé en plongeant l'électrode d'un pH-mètre (Mttler Toledo seven compact, sensibilité : 0,002 pH) préalablement étalonné dans un bécher contenant l'échantillon à température ambiante (25 ± 2 °C). Les essais ont été répétés trois fois.

II.2.2.1.4.2 Mesure du Brix (solides totaux dissous)

a) Principe

L'évaluation du Brix s'est faite par réfractométrie en utilisant un réfractomètre (VWRTm international ATC) selon la méthode de AOAC (2006). Cette méthode est basée sur le fait que lorsqu'un rayon lumineux traverse un milieu transparent à un autre de nature et de concentrations différentes, il est dévié d'un angle connu par rapport à l'eau distillée qui est utilisée comme référence.

b) Mode opératoire

Plusieurs gouttes de pulpe dissous dans de l'eau ont été déposées sur la surface du prisme du refractomètre et son couvercle a été fermé. La teneur en matière sèche soluble a été indiquée par la position, sur la graduation verticale, de la ligne de démarcation séparant la zone claire de la zone sombre. L'opération a été effectuée en triple.

II.2.2.1.4.3 Mesure de la couleur

a) Principe

La couleur a été mesurée par réflectance à l'aide d'un colorimètre (CR-10 Konica Minolta, Japon) qui enregistre le pourcentage de lumière réfléchi des trois composantes du système de couleur de base en trois dimensions L^* , a^* et b^* de la Commission Internationale de l'Eclairage (1976). L'indice L^* indique la clarté des poudres et leurs degrés de blancheur (0-100), les indices a^* et b^* sont les coordonnées de chromaticité qui indiquent les sens des couleurs (+ a^* rouge, - a^* vert, + b^* jaune et - b^* bleu).

b) Mode opératoire

Sur un fond blanc, les échantillons des poudres de la pulpe du fruit du baobab ont été étalés. L'orifice de mesure du colorimètre a été placé au dessus de l'échantillon (à la surface) qui a été éclairée par un flash d'une seconde. La lumière réfléchi par l'échantillon a été analysée et le pourcentage de réflexion transformé en un système à trois dimensions L^* , a^* , b^* dont les valeurs s'affichaient sur l'écran du colorimètre. Celles-ci correspondent aux coordonnées cartésiennes à la luminosité encore appelée clarté (L^*), la chromaticité rouge-vert (a^*) et la chromaticité jaune bleu (b^*).

II.2.2.2 Optimisation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles du jus de baobab

II.2.2.2.1 Préparation de l'échantillon

La préparation du jus a été faite suivant les méthodes artisanales recensées pendant l'enquête avec quelques modifications. Les différentes quantités de poudre de la pulpe du fruit du baobab ont été trempées dans 1 L d'eau potable à différentes températures pendant quinze minutes dans un récipient hermétiquement fermé. Le mélange obtenu est filtré à l'aide d'un tamis de 0,5 mm de diamètre, les quantités indiquées de saccharose ont été ajoutées au filtrat obtenu. Le jus a ensuite été pasteurisé à 65 °C pendant 30 minutes et refroidit dans une succession de bain de glace puis conditionné et conservé à 4 °C.

II.2.2.2.2 Recherche des conditions d'optimisation

II.2.2.2.2.1 Choix du plan d'expérience et des réponses expérimentales

Le plan d'expérience retenu pour ce travail est le plan composite centré. C'est un plan utilisé pour l'estimation de modèle d'ordre deux. Il présente des excellentes propriétés statistiques, de flexibilité, de mise en œuvre et d'analyse (Box et Draper, 1987). Il est approprié pour faire de la prédiction ou rechercher un optimum dans un domaine d'intérêt donné. En vue de définir les conditions optimales de production d'un jus de baobab apprécié aux propriétés nutritionnelles et fonctionnelles majorées, la production de ce jus a été optimisée. Les réponses mesurées étaient la teneur en composés phénoliques, l'activité anti radicalaire DPPH, la capacité antioxydante totale (CAT), la teneur en fer et l'acceptabilité générale par la méthode des surfaces de réponses.

II.2.2.2.2.2 Facteurs de variation

Les variables indépendantes étaient le ratio pulpe/eau (X_1), la température (X_2) et la quantité de sucre (X_3) ajoutée. Les domaines de variation des facteurs sont présentés dans le tableau X. Ces facteurs ont été sélectionnés en se basant sur les données de l'enquête et les résultats des travaux préliminaires.

Le nombre total N d'essais réalisé est donné par la formule :

$$N = Nf + 2K + N_0$$

Où, $Nf = 2^k$: nombre des essais du plan factoriel,

N_0 = nombre des essais au centre, k : nombre de variables.

Pour cette expérience, le nombre d'essais est $N = 2^3 + 2 \times 3 + 5 = 19$

Tableau X : Niveaux des variables indépendantes utilisés pour le plan composite centré

Variables indépendantes	Symboles	Formules	Niveaux des variables				
			-1,68	-1	0	1	1,68
Ratio Pulpe/eau (g/L)	X1	(R-87,5)/27,1	42	60,4	87,5	114,6	133
Température (°C)	X2	(T-62,5)/22,3	25	40	62,5	85	100
Sucre (g)	X3	(S-231)/100,6	62	130,4	231	331,6	400

Une opération de transformation des variables codées en variables réelles a été effectuée. La transformation utilisée est celle décrite par Mathieu *et al.* (1977) avec pour équation $x = U_j - U_j^0 / \Delta U_j$ où x_j = valeur de la variable codée j ; U_j = valeur de la variable réelle

j ; U^0j = valeur de la variable réelle j au centre du domaine et ΔUj est appelé « pas » de variation. Avec, $U^0j = Uj^{\max} + Uj^{\min}/2$ Uj^{\max} est la valeur maximale de la variable réelle j . Uj^{\min} est la valeur minimale de la variable réelle j .

La matrice d'expérience du plan expérimental est présentée par le Tableau XI. Dix neuf essais comprenant 4 essais au centre ont été exécutés en un bloc.

Les différentes réponses ont été évaluées en utilisant les méthodes suivantes :

- Capacité antioxydante totale: Prieto *et al.*, 1999;
- Teneur en composés phénoliques: Medina, 2011;
- Activité anti-radicalaire DPPH: Plaza *et al.*, 2006;
- Teneur en fer: Benton et Vernon 1990; Spectrométrie d'émission plasma à couplage inductif (ICP) ;
- Acceptabilité générale: Analyse sensorielle hédonique (Poste, 1991).

Tableau XI : Matrice d'expérience du plan composite centré

Essais	Ratio (g/L) X ₁	Température (°C) X ₂	Sucre (g) X ₃	CAT (gEAA /100 mL)	Composés phénoliques (mg EAG/100 mL)	DPPH (% Inhibition)	Fer (µg/mL)	Acceptabilité générale
1	1	-1	-1					
2	-1	1	-1					
3	-1	-1	-1					
4	0	0	0					
5	0	0	0					
6	1,68	0	0					
7	0	1,68	0					
8	-1	-1	1					
9	0	0	0					
10	0	0	1,68					
11	0	0	0					
12	-1	1	1					
13	1	-1	1					
14	0	0	0					
15	0	-1,68	0					
16	1	1	1					
17	1	1	-1					
18	0	0	-1,68					
19	-1,68	0	0					

La réponse générée par cette matrice est décrite par l'équation générale du modèle de second degré avec interaction de la forme :

$$Y = \alpha_0 + \alpha_1 X_1 + \alpha_2 X_2 + \alpha_3 X_3 + \alpha_{11} X_1^2 + \alpha_{12} X_1 X_2 + \alpha_{13} X_1 X_3 + \alpha_{22} X_2^2 + \alpha_{23} X_2 X_3 + \alpha_{33} X_3^2 + \varepsilon$$

Où Y est la réponse, α_0 la constante, α_i les coefficients linéaires, α_{ii} les coefficients carrés, α_{ij} les coefficients d'interaction.

II.2.2.2.3 Fiabilité et validation des modèles

Les indicateurs de fiabilité des modèles utilisés étaient les suivants : l'analyse absolue de déviation moyenne (AADM) (Bas et Boyac, 2007), l'application du facteur de biais (Bf) et du facteur d'exactitude (Af) (Goupy, 2006) et le coefficient de détermination R^2 (Malcolmson *et al.*, 1993). Le Tableau XII présente les éléments de fiabilité des modèles mathématiques (Malcolmson *et al.*, 1993 ; Dalgaard et Jorgensen, 1998).

Tableau XII : Eléments de fiabilité des modèles mathématiques

Eléments	Formule de calcul	Condition de validation
AADM	$AADM = \frac{\left[\sum_{i=1}^p \left(\frac{ Y_{i,obs} - Y_{i,cal} }{Y_{i,obs}} \right) \right]}{n}$	$0 < AADM < 0,3$
Facteur polarisé (Bf)	$B_f = 10^{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \log\left(\frac{Y_{cal}}{Y_{obs}}\right)}$	$0,75 < B_f < 1,25$
Facteur polarisé d'exactitude (Af)	$A_f = 10^{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left \log\left(\frac{Y_{cal}}{Y_{obs}}\right) \right }$	$0,75 < A_f < 1,25$
R^2 ajusté		$R^2 \geq 80$

Avec Y_{cal} : la réponse calculée à partir du modèle pour une expérience i ; Y_{obs} : la réponse observée pour cette expérience et n étant le nombre total d'expériences.

La validation des modèles a été faite en effectuant des essais en triple aux points optimaux de chaque réponse et les résultats obtenus comparés à ceux prédits par les différents modèles en utilisant le test-t de student. Les modèles sont considérés comme valides lorsqu'il n'existe pas de différence significative entre les données prédites et celles obtenues expérimentalement pour les différentes réponses.

II.2.2.2.4 Détermination de la zone optimale

Une optimisation multi réponses par le logiciel a été effectuée afin d'obtenir les valeurs des conditions optimales de production du jus de baobab. La superposition des différentes courbes iso réponses a été réalisée et la zone optimale a été définie. L'application de la fonction de la désirabilité est largement utilisée dans l'optimisation de réponses multiples pour déterminer le point optimal. Elle se concentre donc principalement sur l'optimisation des réponses moyennes. La fonction de désirabilité a été utilisée à cet effet. Elle permet une transformation des différentes réponses mesurées en une valeur de désirabilité comprise entre 0 (non désirable) et 1 (plus désirable). Dans l'optique d'optimiser simultanément toutes les réponses mesurées, les désirabilités des différentes réponses ont été combinées en utilisant une

moyenne géométrique pour déterminer la désirabilité totale. Le point optimal est celui ayant la plus grande désirabilité totale.

II.2.2.3 Caractérisation du jus produit dans les conditions optimales

Après optimisation, le jus produit dans les conditions optimales a été caractérisé. La caractérisation a porté sur les propriétés nutritionnelles (teneurs en cendres totales, protéines, lipides totaux, fibres brutes, sucres solubles, sucres totaux, vitamine C, Ca, Mg, K, Na, Cu, Zn, Mn, Fe, P, N), phytochimiques (screening des flavonoïdes, saponines, tanins, quinones libres, phénols, stéroïdes, tri terpènes, anthocyanes, alcaloïdes), microbiologiques (FMAT, flore fongique et les bactéries lactiques), physicochimiques (pH et couleur) et sensorielles (Couleur, goût, texture, odeur, acceptabilité générale).

Pour chacune des analyses, le jus lyophilisé ou non a été utilisé selon que c'était possible d'utiliser un échantillon solide ou liquide en fonction des méthodes d'analyse disponibles. Les analyses ont été faites en triple.

II.2.2.3.1 Analyse proximale et nutritionnelle

A l'exception de la teneur en eau, tous les autres éléments (nutriments) déterminés dans la pulpe (cendres, protéines, lipides totaux, fibres, sucres solubles, glucides totaux, minéraux et vitamine C) l'ont été dans le jus en utilisant les mêmes méthodes.

Le jus lyophilisé a été utilisé avec les mêmes méthodes et protocoles précédemment décrits pour la détermination des teneurs en cendres, protéines, lipides, fibres brutes et minéraux. Celle des sucres solubles et la vitamine C a été effectuée avec le jus non lyophilisé. Les résultats ont été exprimés dans 100 mL de jus.

II.2.2.3.2 Screening phytochimique

Extrait du jus

L'extraction du jus s'est faite en diluant 1 ml de jus dans 3 ml de chaque solvant (Eau et hydroéthanolique 70%). L'ensemble a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique à 0°C pendant 10 minutes puis filtré.

Toutes les analyses effectuées avec la pulpe du fruit de baobab l'ont été également avec le jus en utilisant les mêmes méthodes et les mêmes volumes d'extrait.

II.2.2.3.3 Contrôle qualité (analyses microbiologiques)

Afin de nous assurer de la qualité hygiénique du jus produit et d'appréhender l'effet des différents processus sur la qualité, une étude quantitative des germes présents dans ce jus et dans la pulpe servant à produire le jus a été réalisée. La numération a porté sur quelques indicateurs à savoir la flore mésophile aérobie totale, la flore fongique (levures et moisissures) et les bactéries lactiques.

La pulpe du fruit de baobab (1 g) et le jus ont été séparément dissout dans de l'eau peptonée à des dilutions décimales de 10^{-1} à 10^{-7} . La flore mésophile aérobie totale a été déterminée sur gélose nutritive par ensemencement en surface de 0,1 mL des différentes dilutions puis les boîtes de Pétri ont été incubées à 37 °C pendant 24 à 48 h. Les levures et les moisissures ont été dénombrées sur milieu PDA par un ensemencement en surface de 0,1 mL des différentes dilutions suivie par une incubation à 25 °C pendant 2 à 4 jours Pour ce qui était de la détermination des bactéries, elle a été effectuée sur milieu MRS par un ensemencement en profondeur de 1 mL des différentes dilutions puis une incubation à 37 °C pendant 24 et 48 h (Guiraud, 2003).

Les boîtes de Pétri contenant entre 30 et 300 colonies ont été retenues pour le comptage (Refray, 1981). Le calcul du nombre de microorganismes (flore mésophile aérobie totale, levures et moisissures, les bactéries) par millilitre d'échantillon de jus et par milligrammes de pulpe à partir du nombre de colonies obtenues dans les boîtes de Pétri choisies a été déterminé, les valeurs sont exprimées en log UFC/mL et log UFC/mg.

II.2.2.3.4 Caractérisation physicochimique

Dans cette partie, le pH et la couleur du jus ont été évalués suivant les méthodes précédemment décrites pour la pulpe. Pour l'évaluation du pH, 10 mL de jus ont été utilisés.

II.2.2.3.5 Analyse sensorielle hédonique

Elle a été menée suivant le protocole défini par Poste (1991).

II.2.2.3.5.1 Caractérisation des profils sensoriels

Les profils sensoriels du jus ont été caractérisés par une analyse sensorielle hédonique. L'épreuve repose sur le test descriptif, à échelle structurée. Celle-ci est utilisée pour évaluer l'appréciation du panel de dégustateurs sur les descripteurs spécifiques (le goût, la couleur, la texture, l'odeur et la flaveur) et sur leur appréciation globale du jus sur une échelle de notation

de 1 (extrêmement déplaisant) à 9 (extrêmement plaisant). Le protocole suivi est celui décrit par Stone *et al.* (1974).

Au cours de cette analyse, les juges semi-naïfs par rapport aux jus à évaluer devraient être capables d'apprécier les échantillons codés aléatoirement.

II.2.2.3.5.2 Modalités et déroulement de l'épreuve hédonique

Des juges volontaires (34) ont été préalablement éduqués sur l'objectif recherché, et ont reçu pour recommandation de s'abstenir de manger, boire (sauf de l'eau) et de fumer une heure avant la séance. L'analyse a été réalisée au Laboratoire des Sciences Alimentaires et Métabolisme (LabSAM) du Département de Biochimie de l'Université de Yaoundé I. Les jus étaient servis de manière aléatoire, les uns après les autres dans les gobelets plastiques identifiables par des codes (Figure 15). Les juges ont reçu progressivement trois échantillons de jus et des fiches de réponses pour donner leurs appréciations. Entre deux échantillons, ils ont observé une pause d'environ 2 minutes et se sont rincés la bouche avec de l'eau minérale.



Figure 15 : Echantillons pour l'analyse sensorielle (Maptouom, dans cette étude)

II.2.3 Détermination *in vitro* des propriétés antioxydantes du jus de baobab produit dans les conditions optimales et évaluation *in vivo* de ses effets œstrogéniques chez les rates albinos de souche Wistar

Dans cette dernière partie, il a été question d'évaluer les propriétés fonctionnelles (antioxydantes *in vitro* et œstrogéniques *in vivo*) du jus produit dans les conditions optimales.

II.2.3.1 Teneur en composés phénoliques et activités antioxydantes du jus de baobab produit dans les conditions optimales

Pour chaque solvant, 1 mL de jus a été dilué dans le solvant correspondant (H₂O, HCl (1%), éthanol (70%), méthanol (80%), acétone (70%)) et agité à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 10 à 30 minutes à température ambiante. Après avoir laissé décanter, le surnageant a été prélevé pour les différentes analyses (teneur en composés phénoliques, CAT,

activité anti-radicalaire DPPH, test de FRAP) suivant les méthodes précédemment décrites pour la pulpe. La capacité antioxydante totale a été évaluée uniquement avec de l'eau.

II.2.3.2 Evaluation des effets œstrogéniques du jus de baobab chez les rates albinos de souche Wistar

II.2.3.2.1 Détermination des doses de jus à administrer aux animaux expérimentaux

Le jus produit de manière artisanale (jus traditionnel) et celui produit dans les conditions optimales ont été séchés dans une étuve à ventilation de marque Memmert (modèle 500 ; précision : 0,5 °C ; Allemagne), à 60 °C pendant 48 h afin d'obtenir un concentré pour permettre l'administration exacte des différentes doses.

Un screening de dose a été préalablement effectué avec le jus traditionnel de baobab (ratio pulpe/eau : 34,32 g/L ; infusion à 40 °C) afin de définir les doses à utiliser pour l'étude avec le jus produit dans les conditions optimales. De ce fait, les doses ont été estimées de la consommation journalière du jus de baobab. En considérant un individu de 70 kg qui prend une bouteille de 0,35 mL (12,012 g de pulpe de baobab) par jour, la dose équivalente humaine (HED) calculée pour un individu de 70 kg a été de 171,63 mg/kg PC. La dose équivalente chez la rate n'induisant aucun effet secondaire (NOAL) a été calculée à partir de la formule : $NOAL = HED/0,16$ (FDA/CDER, 2005). Cette formule a permis d'obtenir la dose de 1000 mg/kg PC à administrer chez les rates. De cette dose, deux autres doses ont été générées: 500 et 2000 mg/kg PC.

Après analyse des résultats de ce screening de doses, la dose de 500 mg/kg PC s'étant avérée la plus efficace, elle a été retenue pour le test utéro-trophique avec le jus produit dans les conditions optimales. Cette dose a été encadrée par un facteur de 2 pour donner 250 et 1000 mg/kg PC utilisées dans le test anti-œstrogénique. Le jus de baobab préparé dans les conditions optimales avec sucre (JBS) et sans sucre (JBSS) a été utilisé. Seule la dose de 500 mg/kg PC a été prise pour le jus sans sucre dans les deux tests.

II.2.3.2.2 Mesure du poids corporel des animaux et du poids relatif de l'utérus

Le poids corporel des animaux a été mesuré à l'aide d'une balance de marque NOVA (NKS-7177 ; d : 1 g/0,1 oz ; Chine), en début d'expérimentation pour calculer les doses d'anesthésies à administrer à chaque rate avant l'ovariectomie, puis avant traitement pour calculer les doses de chaque substance de traitement (E₂V, ICI, JBS et JBSS) à administrer à chaque rate, aussi avant sacrifice pour calculer les poids relatifs de l'utérus.

Le poids de l'utérus prélevé lors du sacrifice a été mesuré à l'aide d'une balance sensible de marque Sartorius (CP 153 ; d : 0,001 g). L'évaluation du poids relatif de l'utérus (PU), exprimé en mg/kg de poids corporel (PC), s'est faite par la formule suivante :

$$PU \text{ (mg/kg PC)} = \frac{PU \text{ (en mg)}}{PC \text{ (en kg)}}, \text{ Pu étant le poids de l'utérus frais.}$$

II.2.3.2.3 Anesthésie et ovariectomie des animaux

L'ovariectomie qui est l'ablation des ovaires s'est faite par la méthode de Lane *et al.* (2003). Après anesthésie (diazépam 10 mg/kg PC *i.p.* et kétamine 50 mg/kg PC *i.p.*), les animaux ont été placés en décubitus ventral dans un bac à dissection et une petite boutonnière d'environ 1 cm a été réalisée sur le dos. A partir de cette ouverture, une incision du péritoine a été réalisée de chaque côté de l'abdomen. Les amas de graisse entourant les ovaires ont ainsi été mis en évidence. Les ovaires directement observables ont été séparés des cornes utérines après une ligature effectuée entre la corne utérine et l'ovaire. Des points de suture ont permis de fermer l'ouverture dorsale. Durant une semaine, la blessure a été traitée à l'aide de la Betadine®. Ces animaux ovariectomisés le premier jour ont subi un déclin hormonal pendant 14 jours avant le début des traitements avec le jus de baobab qui ont duré 3 jours (OCDE, 2007).

II.2.3.2.4 Evaluation des effets utérotropiques du jus de baobab

Le test utérotrophique de 3 jours (OCDE, 2007) a permis d'évaluer l'œstrogénicité du jus traditionnel de baobab sur certaines cibles primaires des œstrogènes afin de déterminer les doses à utiliser ultérieurement (screening).

Pour ce screening 25 rates de 10 à 12 semaines (150 ± 10 g) ont été ovariectomisées. Quatorze jours après ovariectomie, ces animaux ont été répartis en 5 groupes de 5 animaux chacun : un groupe témoin négatif recevant de l'eau distillée, un groupe témoin positif recevant la substance de référence (17β -œstradiol) à la dose de 1 mg/kg PC et trois autres groupes recevant le jus traditionnel de baobab aux doses de 500, 1000 et de 2000 mg/kg PC. Le volume d'administration des différentes substances était de 2 mL/100 g PC. Les traitements ont été effectués par gavage gastro-œsophagien pendant 3 jours à l'issue desquels les animaux, après un jeûne non-hydrique de 12 heures, ont été pesés et sacrifiés (OCDE, 2007). L'utérus et le vagin ont été prélevés. L'utérus a été aussitôt pesé et les deux organes suscités ont été fixés dans du formol à 10% pour analyse histologique (Figure 16).

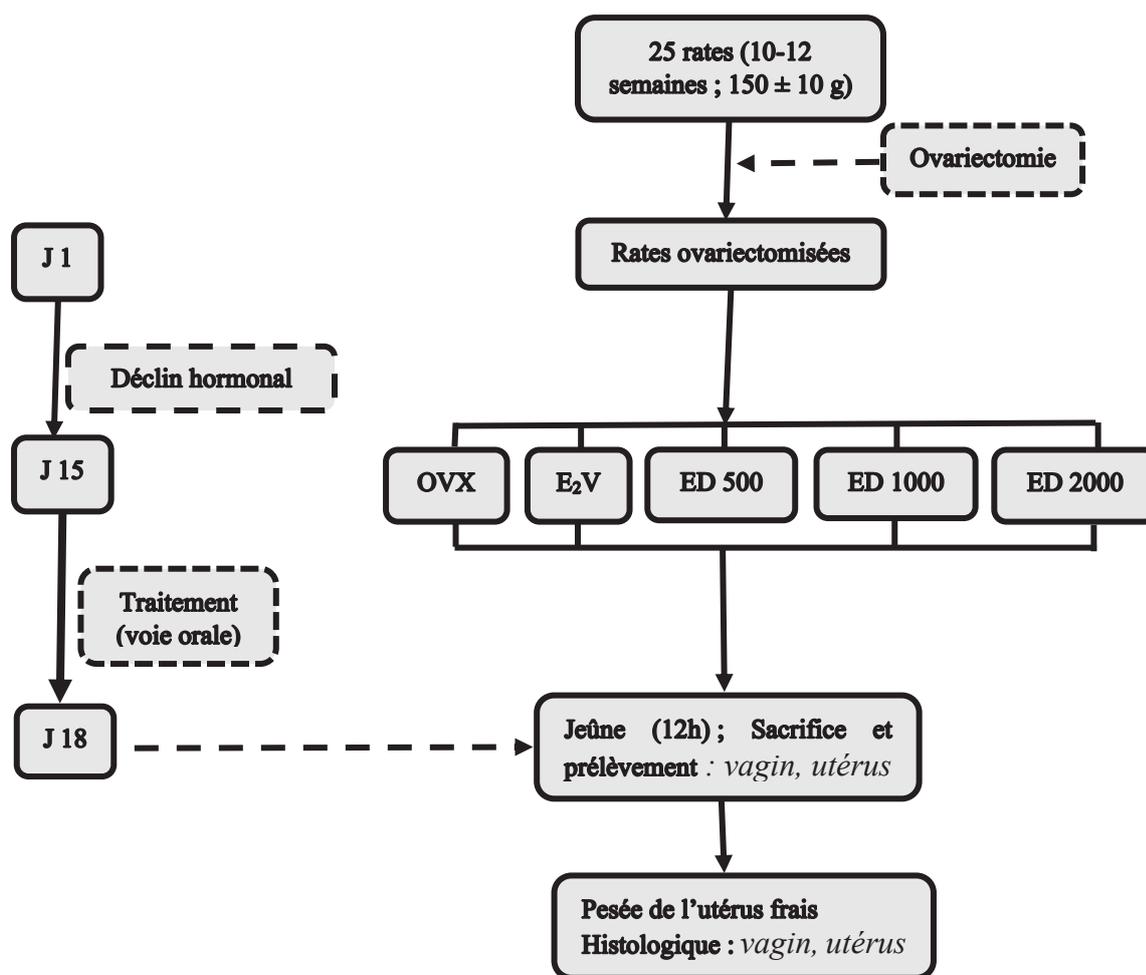


Figure 16 : Protocole d'évaluation des effets utérotrrophiques du jus traditionnel de baobab

OVX = animaux ovariectomisés et traités à de l'eau distillée, E₂V = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg PC, ED = animaux ovariectomisés et traités avec le jus traditionnel de baobab aux doses de 500 ; 1000 ; 2000 mg/kg PC.

Pour le test utérotrrophique fait avec le jus produit dans les conditions optimales, des 25 animaux utilisés, 20 rates de 10 à 12 semaines (150 ± 10 g) ont été ovariectomisées. Quatorze jours après ovariectomie (déclin hormonal endogène), les animaux ont été répartis en 5 groupes de 5 animaux chacun: un groupe SHAM : non ovariectomisé (chirurgie blanche) recevant de l'eau distillée, un groupe témoin négatif (OVX: ovariectomisé) recevant de l'eau distillée, un groupe témoin positif (E₂V) recevant la substance de référence (17β-œstradiol) à la dose de 1 mg/kg de poids corporelle (PC) et deux autres groupes recevant le jus de baobab avec (JBS) et sans (JBSS) sucre à la dose de 500 mg/kg PC. Le volume d'administration des différentes substances était de 2 mL/100 g PC. Les traitements ont été effectués par gavage gastro-œsophagien pendant 3 jours à l'issue desquels les animaux, après un jeûne non-hydrique de 12 heures, ont été pesés et sacrifiés (OCDE, 2007). L'utérus et le vagin ont été prélevés. L'utérus

a été aussitôt pesé. Tous les organes suscités ont été fixés dans du formol à 10% pour analyse histologique (Figure 17).

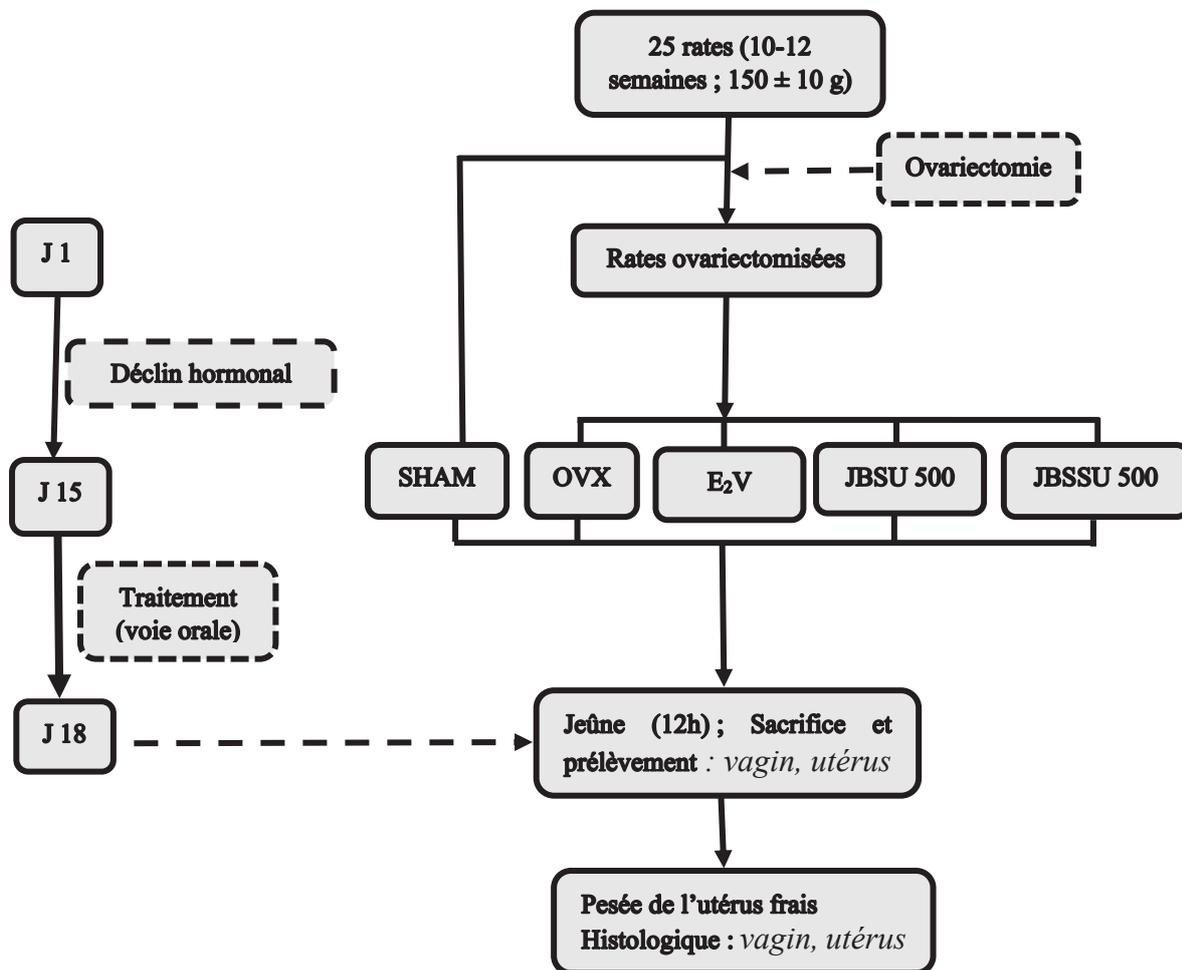


Figure 17 : Protocole d'évaluation des effets utérotrrophiques du jus de baobab produit dans les conditions optimales

SHAM= animaux non ovariectomisés, *OVX* = animaux ovariectomisés et traités à de l'eau distillée, *E₂V* = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg PC, *JBSU* et *JBSSU*= animaux ovariectomisés et traités respectivement au jus de baobab avec sucre et sans sucre à la dose de 500 mg/kg PC.

II.2.3.2.5 Evaluation des effets anti-œstrogéniques du jus

Les effets anti-œstrogéniques (OCDE, 2007) ont été réalisés avec 40 animaux dont 35 ont été ovariectomisés. Quatorze jours après ovariectomie, les animaux ont été répartis en 8 groupes de 5 animaux (avec un groupe constitué des 5 animaux opérés mais non ovariectomisés (chirurgie blanche) : groupe SHAM). Le premier groupe non ovariectomisé (SHAM) ainsi que le deuxième groupe ovariectomisé (OVX) recevaient le véhicule (eau distillée : 2 mL) ; le troisième groupe recevait l'œstradiol valérate (E₂V) à la dose de 1 mg/kg PC; le quatrième recevait le fulvestrant (300µg/Kg PC) et l'œstradiol valérate (0,75 mg/kg PC), les quatre

derniers groupes recevaient l'œstradiol valérate (0,75 mg/kg PC) et le jus de baobab aux doses respectives 250, 500 et 1000 mg/kg PC pour le jus de baobab sucré (JBS); et 500 mg/kg PC pour le jus de baobab sans sucre (JBSS). L'administration de l'anti-œstrogène pur se faisait par voie sous-cutanée (0,2 mL) tandis que celle des autres substances se faisait par gavage œsophagien (2 mL). Comme pour le test utérotrophique, les traitements ont duré trois jours, à l'issue desquels les animaux ont été sacrifiés (OCDE, 2007), l'utérus et le vagin ont été prélevés et l'utérus a aussitôt été pesé. Tous les organes prélevés ont été fixés dans du formol 10% pour l'analyse histologique (Figure 18).

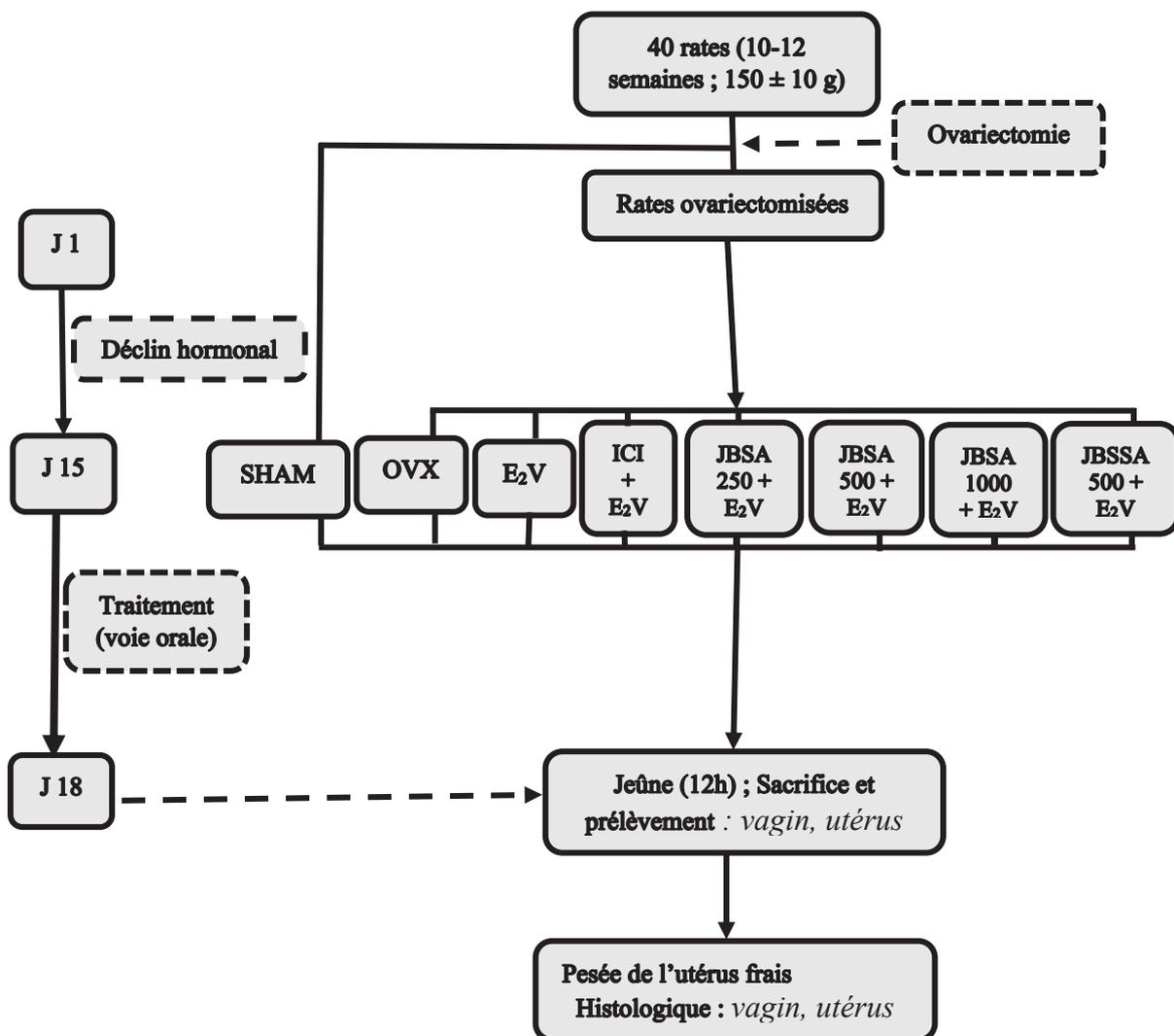


Figure 18 : Protocole d'évaluation des effets anti-œstrogéniques du jus de baobab produit dans les conditions optimales

SHAM = animaux non ovariectomisés, OVX = animaux ovariectomisés et traités à de l'eau distillée, E₂V = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg PC, ICI = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate (0,75 mg/kg PC) + fulvestrant (0,2 mL), JBSA et JBSSA = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate (0,75 mg/kg PC) + respectivement le jus de baobab avec sucre (JBSA aux doses de 250 ; 500 et 1000 mg/kg PC) et sans sucre (JBSSA à la dose de 500 mg/kg PC).

II.2.3.2.6 Prélèvement des organes

Pour prélever les organes, chacune des rates était placée en décubitus dorsal dans un bac à dissection après avoir été sacrifiée. L'ouverture de la cavité abdominale permettait de mettre en évidence l'appareil génital. L'isolement de l'utérus du vagin s'est fait en sectionnant au niveau de l'anneau utérin (limite entre les deux organes). Le vagin quant à lui a été isolé en coupant juste au-dessus de l'orifice génital. Les deux organes ont ensuite été fixés dans du formol 10% pour analyse histologique. Le poids frais de l'utérus a été mesuré avant la fixation de l'organe dans du formol.

II.2.3.2.7 Techniques d'histologie

L'histologie permet la préparation des tissus/organes en vue de leur observation au microscope. Les techniques utilisées sont celles décrites par Cannet (2004, 2006a, b).

Fixation par immersion et « trimming »

La fixation est la première étape et la base de la préparation des tissus en vue de leur observation au microscope. Le but de cette étape est de préserver les cellules et les constituants tissulaires dans un état aussi proche que possible de celui du vivant et de permettre au tissu de passer par les étapes de la technique histologique sans changement ni déformation. Le fixateur utilisé dans cette étude était du formol à 10%.

Le « trimming » s'est déroulé comme suit : Les différents organes fixés ont été sectionnés suivant un plan bien défini (transversal ou longitudinal) et disposés dans des cassettes histologiques étiquetées.

Déshydratation ou circulation

Elle comporte trois étapes à savoir : la deshydratation, l'éclaircissement et l'imprégnation.

➤ **La déshydratation** consiste à débarrasser les tissus à fixer de toute trace d'eau avant son inclusion dans la paraffine (en effet l'eau n'est pas miscible avec ce milieu d'inclusion). Pour ce procédé, 8 bacs d'alcool, à raison de 2 heures dans chaque bac, ont été utilisés successivement dans l'ordre ci-après : 1 bac d'éthanol à 80 % (1 x 2 h), 4 bacs d'éthanol à 95% (4 x 2 h) et 3 bacs d'éthanol à 100% (3 x 2 h).

➤ **L'éclaircissement** consiste à remplacer la solution de déshydratation par un solvant miscible dans le milieu d'inclusion. C'est une étape de transition réalisée par des hydrocarbures

benzéniques à l'instar du xylène ou du toluène. Ainsi, après déshydratation, deux bains dans du xylène (2 x 2 h) ont suffi pour réaliser cette opération.

➤ **L'imprégnation** consiste au remplacement de l'eau des cellules et des tissus par la paraffine qui durcit les prélèvements. En effet, l'obtention des coupes fines passe par la nécessité d'incorporer dans les tissus une substance neutre (la paraffine) qui durcit les fragments. Les cassettes contenant les fragments d'organes ont séjourné 4 h (2 x 2 h) dans de la paraffine en fusion (60 °C).

Inclusion et coupes

L'inclusion fournit un support externe aux tissus. Ce qui permet la réalisation des coupes au microtome. Les tissus sont placés dans des moules en inox remplis de paraffine en fusion (60 °C) qui est mise à solidifier sur une surface froide après orientation appropriée du tissu dans le bloc.

Les blocs obtenus ont été coupés sur un microtome à volant de marque LEICA RM 2125 RT. Des rubans de coupe de 5 µm d'épaisseur obtenus ont été étalés dans un bain-marie contenant de l'eau gélatinée. Au moyen de lames porte-objet propres et étiquetées, les coupes ont été recueillies et séchées à l'étuve à 45 °C pendant 24 h.

Coloration

La coloration permet de voir les constituants d'une cellule et d'un tissu en leur faisant capter et fixer des colorants de façon sélective. La coloration utilisée dans ce travail est la coloration à l'hématoxyline-éosine. L'hématoxyline colore les constituants acides du noyau en bleu-violacé et l'éosine colore les constituants basiques du cytoplasme en rose-rouge. La coloration s'est déroulée en deux étapes : le déparaffinage et réhydratation d'une part et la coloration proprement dite d'autre part.

➤ Les coupes ont été débarrassées de la paraffine (**déparaffinage**) dans des bains de xylène et réhydratées (**réhydratation**) dans des bains d'alcool à concentration décroissante jusqu'à l'eau distillée ; chaque bain ayant une durée de 5 min. Les coupes ont de ce fait séjourné dans les bains suivants : xylène (3 x 5 min), éthanol à 100% (3 x 5 min), éthanol à 95% (1 x 5 min), éthanol à 80% (1 x 5 min) et eau distillée (1 x 5 min).

➤ **La Coloration proprement dite** a été réalisée en plaçant les coupes d'organes déparaffinées successivement dans les bains suivants : Hématoxyline de Harris (2 x 5 min), eau de robinet (2 x 5 min), éthanol à 70% (1 x 5 min), éthanol à 95% (1 x 5 min), éosine alcoolique à 0,5% (1 x 5 min) et eau de robinet (1 x 5 min).

Montage

Une fine lamelle de verre a été utilisée pour protéger et conserver les coupes. Les coupes déshydratées ont été montées en utilisant comme milieu de montage la résine synthétique qui est non miscible à l'eau. Le montage s'est fait en deux étapes : la déshydratation dans trois bains d'alcool absolu (3 x 5 min) et l'éclaircissement dans trois bains de xylène (3 x 5 min).

Analyse histomorphométrique

L'analyse histomorphométrique des différentes coupes histologiques s'est effectué au moyen d'un équipement complet consistant en un microscope AxiosKop 40 relié à un ordinateur, où les images sont transférées et analysées avec les logiciels MRGrab 1.0 et AxioVision 3.1, tous fournis par ZEISS (Hallbermoos, Allemagne).

II.2.4 Analyses statistiques

Au cours de cette étude, les essais ont été effectués en triplicat et les résultats sont exprimés sous forme de moyennes \pm écarts-types.

Plusieurs logiciels et tests statistiques ont été utilisés pour analyser nos résultats selon les objectifs recherchés. Il s'agit de :

 Le logiciel SPSS 20.0 pour Windows au seuil de significativité de 5% qui a été utilisé pour l'analyse descriptive des résultats de l'enquête, l'analyse de Variance (ANOVA) couplée à un test *Post Hoc* Turkey LSD ou le test *Post hoc* Dunnett a été utilisé pour les comparaisons multiples (Jus préparés par les méthodes artisanales, caractérisation de la pulpe et du jus, l'étude des propriétés fonctionnelles). Les graphes ont été tracés avec le logiciel Microsoft Excel 2016 ;

 Le plan expérimental a été généré en utilisant le logiciel Statgraphics Plus 5.0 (Manugistics, Rockville, Maryland, USA, 1997). Les analyses des résultats de l'optimisation ont été effectuées à l'aide des logiciels Statgraphics Plus 5.0, SPSS 20.0 pour Windows et le tracé des courbes grâce au logiciel Sigmaplot. 11.0 (Systat software, C.A. USA). La signification statistique a été définie pour $p < 0,05$.



CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Impacts des différentes pratiques traditionnelles de production du jus de baobab sur sa qualité

III.1.1 Enquête technologique et alimentaire

III.1.1.1 Données socio-démographiques de la population d'étude

Les données socio-démographiques recueillies étaient : le genre et la région d'origine.

➤ Genre

Le tableau ci-dessous présente la répartition des répondants en fonction du genre.

Tableau XIII : Répartition des répondants en fonction du genre

Genre	Féminin	Masculin	Total
Effectifs	61	31	92
Fréquences (%)	66,3	33,7	100

Des 92 personnes enquêtées, il ressort que le genre féminin (66,3%) était le plus représenté.

➤ Région d'origine

La figure 19 présente la répartition des répondants en fonction de la région d'origine.

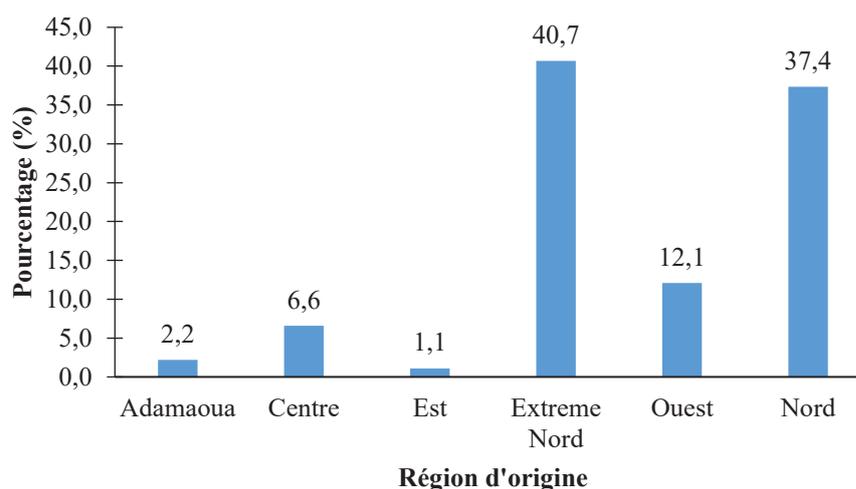


Figure 19 : Répartition des répondants en fonction de la région d'origine

Au regard de la figure ci-dessus, les acteurs de la vente ou de la production du jus de baobab dans les arrondissements enquêtés étaient originaires de l'Adamaoua, du Centre, de

l'Extrême-Nord, de l'Ouest, du Nord et de l'Est. La région de l'Extrême-Nord (40,7%) est la plus représentée suivi du Nord (37,4%) ; tandis que la région de l'Est (1,1%) était la moins représentée.

Le baobab est présent naturellement dans les zones sahéliennes, soudano-sahélienne, soudanienne, soudano-guinéenne et guinéenne, où les précipitations annuelles moyennes sont respectivement de 300, 700, 800, 1100 et 1200 mm (Muthai *et al.*, 2017). Au Cameroun, la zone agro écologique correspondante est la zone I (soudano-sahélienne) comprise entre 8°36" à 12°54" de latitude Nord, et 12°30" à 15°42" de longitude Est et qui couvre approximativement les régions de l'Extrême-Nord et du Nord (IRAD, 2008). Ceci traduit les meilleures connaissances qu'ont les populations de ces deux régions sur le jus de baobab. Aussi, le baobab est enraciné dans leur culture.

III.1.1.2 Consommation du jus de baobab

Le tableau ci-contre présente les raisons et la fréquence de consommation du jus de baobab.

Tableau XIV : Raisons et fréquence de consommation du jus de baobab

Parametres	Frequence (%)	Parametres	Frequence (%)
Raisons de consommation		Fréquence de consommation (nombre de fois/mois)	
Goût	37,8	[1-4]	50,8
Santé	38,9	[5-10]	12,8
Plaisir	36,7	[11-20]	16,4
Pas d'alcool	20,0	[21-30]	20
Autres	1,1		

Pour un nombre total de 92 personnes enquêtées, 90,2% des enquêtés avaient des connaissances sur la préparation du jus de baobab, tandis que la totalité des enquêtés le consommait. Les principales raisons de consommation de ce jus étaient respectivement : la santé 38,9%, le goût (37,8%), le plaisir (36,7%) et l'absence de l'alcool (20%). Cependant, 50,8% parmi eux consommaient le jus à une fréquence de 1 à 4 fois par mois et 20% de répondants en consommaient 21 à 30 fois /mois, soit quasiment chaque jour.

III.1.1.3 Production du jus de baobab

➤ Fréquence et but de la production

Le tableau suivant montre la fréquence et les raisons de production du jus de baobab.

Tableau XV : Fréquence et raisons de production du jus de baobab

Paramètres	Fréquence (%)	Paramètres	Fréquence (%)
Fréquence de production (nombre de fois/mois)		Raisons de production	
[1-4]	52,4	Consommation	45,8
[5-10]	17,5	Commercialisation	12,0
[11-20]	15,8	Les deux	42,2
[21-30]	14,3		

Du tableau XV nous notons que 52,4% de répondants produisaient le jus au plus 4 fois par mois. Dans les trois autres classes ([5-10] ; [11-20] et [21-30]), cette fréquence était respectivement de 17,5% ; 15,8% ; 14,3%. Les raisons de la production étaient variables : 45,8% de la population enquêtée préparaient le jus uniquement pour sa consommation propre, 12% uniquement pour la commercialisation et 42,2% pour les deux.

➤ Principaux ingrédients et différents intrants utilisés pour la préparation du jus de baobab

Le tableau XVI présente les proportions des ingrédients et des différents types d'intrants utilisés pour la production du jus de baobab. Il y ressort que les ingrédients principaux qui entrent dans la formulation du jus de baobab étaient : la pulpe du fruit du baobab (100%), l'eau (100%) et le sucre (100%). En plus de ces derniers, d'autres intrants étaient utilisés par 81,9% de répondants. Ces intrants étaient principalement constitués d'arômes chimiques (84,74%) qui sont pour la plupart des poudres chimiques de boissons instantanées (42,37%) et des colorants chimiques (30,50%).

Tableau XVI : Proportions des ingrédients et des différents types d'intrants utilisés pour la production du jus de baobab

Paramètres	Fréquence (%)	Paramètres	Fréquence (%)
Ingrédients		Différents intrants utilisés	
Pulpe de baobab	100,0	Arômes chimiques	84,74
Sucre	100,0	<i>Poudres chimiques de boissons instantanées</i>	42,37
Eau	100,0	<i>Colorants chimiques</i>	30,50
Intrants	81,9	Jus à base d'autres de fruits	5,08
		Natron	3,38
		Lait de vache	1,69

Les intrants étaient ajoutés dans la préparation pour des raisons commerciales ou sensorielles et les quantités varient selon qu'on prépare le jus pour la commercialisation ou la consommation. Les poudres chimiques de boissons instantanées étaient des édulcorants ; elles sont ajoutées pour réduire la quantité de sucre utilisée. Les colorants quant à eux sont ajoutés pour diversifier la couleur du jus et les arômes pour améliorer le goût. Les répondants justifiaient l'utilisation de ces additifs par le fait qu'ils réduiraient le coût de production, attireraient plus les clients et augmenteraient ainsi leurs bénéfices.

➤ **Volume d'eau utilisée pour 175 g de pulpe et quantité de sucre pour la préparation d'un litre de jus de baobab**

Les quantités d'eau et de sucre utilisées pour la production du jus de baobab sont consignées dans le tableau suivant.

Tableau XVII : Quantités d'eau et de sucre utilisées pour la production du jus de baobab

Paramètres	Fréquence (%)	Paramètres	Fréquence (%)
Volume d'eau (L)		Quantité de sucre (g)	
utilisé pour 175 g de pulpe		utilisée pour la préparation de 1L de jus	
[0,5-1[2,8	<50	4,2
[1-2[14	[50-100[28,0
[2-3[42,3	[100-150[42,2
[3-4[18,3	[150-200[8,4
[4-5[8,5	[200-250[4,2
[5-6[9,9	[250-300[8,4
[6-8]	4,2	[300-500]	4,2

La mesure traditionnelle couramment utilisée par les répondants était un bol qui contient environ 175 g de pulpe. Le volume d'eau utilisé pour 175 g de pulpe était compris entre 0,5 et 8 L. Pour cette quantité de pulpe, la majorité de répondants (42,3%) utilisait 2 à 3 L d'eau.

La quantité de sucre utilisée pour la préparation d'un litre de jus variait de 31,25 g à 500 g. La quantité la plus largement utilisée était comprise entre 100-150 g (42,2%), suivie par 50-100 g (28%).

Le ratio pulpe/eau et la quantité de sucre utilisée pour la préparation d'un litre de jus tendaient à varier en fonction du but de la préparation. Ceux qui préparaient le jus pour leur propre consommation étaient plus intéressés par les propriétés médicinales et le goût du jus. De ce fait, ils utilisaient une grande quantité de pulpe pour avoir un jus épais et plus ou moins de sucre selon leur état de santé et leur préférence. Au contraire, les commerçants étaient focalisés sur leurs bénéfices, ce qui les emmenaient à utiliser un faible ratio pulpe/eau, moins de sucre et l'addition des édulcorants.

➤ **Volume final de jus obtenu à partir de 175 g de pulpe de baobab**

La figure 20 présente les différentes quantités de jus obtenu à partir de 175 g de pulpe de baobab.

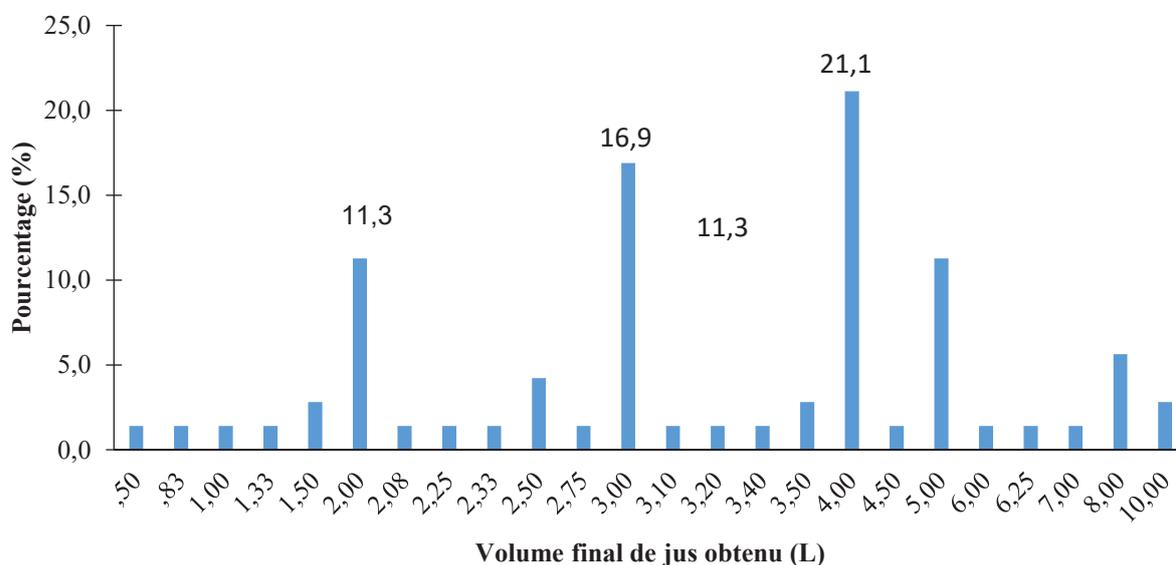


Figure 20 : Quantité de jus obtenu à partir de 175 g de pulpe de baobab

Le volume final de jus obtenu variait de 0,50 L à 10 L. Le plus représenté était de 4 L (21,1%), suivi de 3 L (16,9%), puis de 2 L (11,3%) et 5 L (11,3%).

➤ Procédés de production du jus de baobab

La figure suivante présente les différents procédés traditionnels de production du jus de baobab.

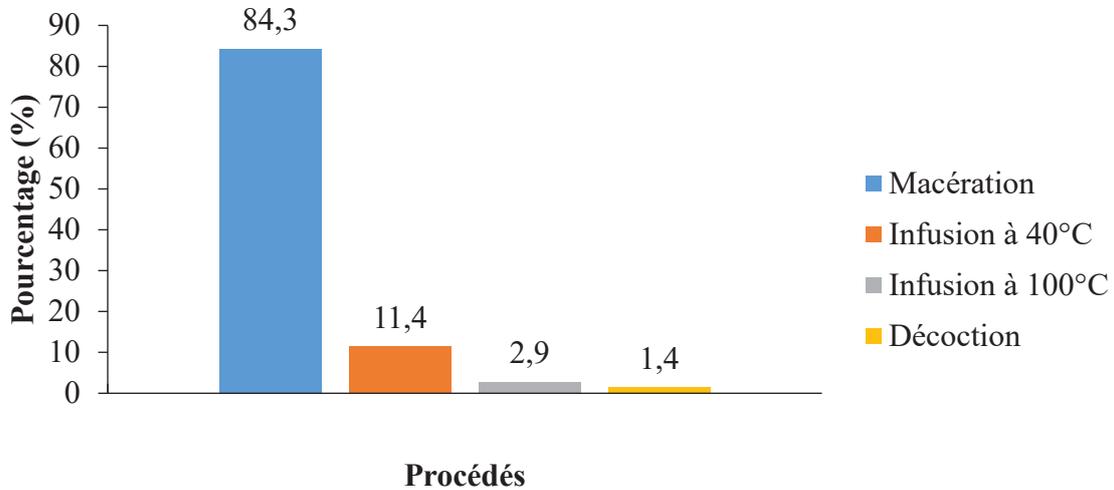


Figure 21 : Différents procédés de production du jus de baobab

Au cours de cette enquête, quatre procédés de production ont été répertoriés. Ils se différencient principalement par l'étape d'extraction. La majorité des répondants utilisait une macération (trempier le fruit du baobab dans de l'eau à température ambiante) (84,3%) pour la production du jus, tandis que 11,4% procédaient à une infusion à environ 40 °C (trempent dans de l'eau tiède), 2,9% à une infusion à environ 100 °C (dans de l'eau bouillante) et 1,4% à une décoction pendant environ 5 minutes.

Après extraction aqueuse, le jus était filtré et le sucre ajouté ainsi que les autres intrants le cas échéant.

➤ Paramètres influençant la qualité du jus au cours de la production

Plusieurs paramètres influencent la qualité du jus au cours de sa production comme nous le montre la figure 22.

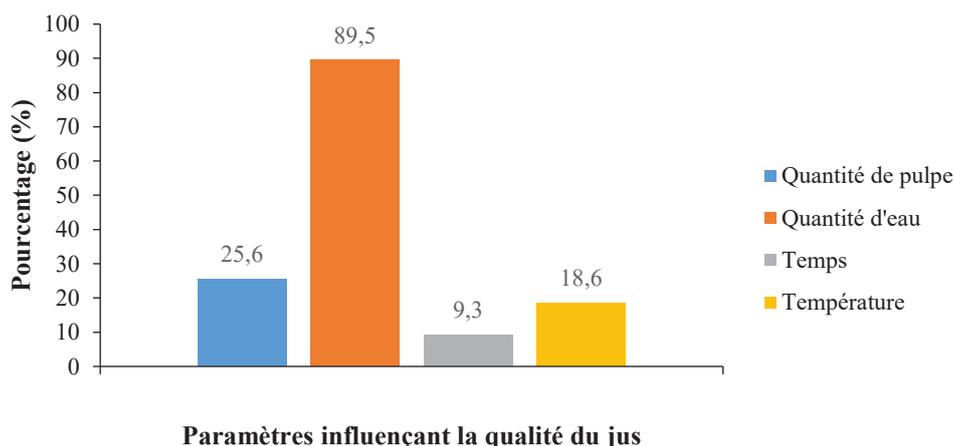


Figure 22 : Paramètres influençant la qualité du jus de baobab au cours de la production

De cette figure, on constate que les paramètres influençant la qualité du jus de baobab au cours de sa production étaient respectivement la quantité de pulpe (25,6%), la quantité d'eau (89,5%), la température de préparation (18,6%) et le temps de préparation (9,3%).

Le ratio pulpe/eau agit sur la texture du jus et détermine si le jus sera épais ou léger (Charles-Rodriguez *et al.*, 2007). La richesse en pectine de la pulpe de baobab est responsable de la texture du jus. Plus le ratio est élevé, plus il y aura de pectine et le jus sera plus épais. La température affecte les propriétés sensorielles du jus. Une température très élevée va causer le brunissement non enzymatique du jus qui sera responsable de l'altération de la couleur, de l'odeur et du goût (Bergheul *et al.*, 2015).

III.1.1.4 Conservation du jus de baobab

➤ Méthodes et durée de conservation

Les différentes méthodes ainsi que la durée de conservation du jus de baobab sont présentées dans le tableau XVIII.

Tableau XVIII : Conservation du jus de baobab

Paramètres	Fréquence (%)	Paramètres	Fréquence (%)
Méthodes de conservation		Durée de conservation	
Congélation	51,1	< 1 semaine	75,6
Refrigération	35,9	[1-4 semaines]	13,3
Méthodes traditionnelles	13,0] 1-3 mois]	5,6
		> 3 mois	5,6

La méthode de conservation la plus utilisée était la congélation (51,1%), suivie de la réfrigération (35,9%) et enfin de l'utilisation des méthodes de conservation traditionnelles (air libre, dans les canaris, près des canaris et sous les canaris) 13%.

Ces méthodes de conservation permettaient de conserver le jus pendant moins d'une semaine pour 75,6% des répondants, plus d'une semaine pour 13,3%, pendant un à trois mois pour 5,6% et au-delà de trois mois pour 5,6% de répondants. La congélation étant la méthode qui permettait une conservation de longue durée contrairement à la conservation avec les méthodes traditionnelles dont la durée était très limitée.

Les populations ont développé l'utilisation des méthodes traditionnelles à cause de la pauvreté et des multiples problèmes d'électricité rencontrés. La durée de conservation est fortement influencée par la raison de préparation. En général, ceux qui préparent pour la consommation le font au moment voulu, de ce fait, ils n'ont pas besoin de conserver pour longtemps. Les commerçants en vendent chaque jour, ils le conservent donc pour peu de temps.

III.1.1.5 Le fruit du baobab

➤ Collecte du fruit du baobab utilisé et différence entre nouveaux et anciens fruits

La majorité de personnes enquêtées se procurent le fruit du baobab dans des marchés (78,3%), tandis que 17,4% récoltent eux-mêmes et 4,3% l'obtiennent des paysans qui effectuent la récolte.

Parmi les répondants, 96,7% ont déclaré qu'il existerait des différences entre les nouveaux et anciens fruits. Les nouveaux fruits étant caractérisés par une couleur blanchâtre, une plus forte acidité et une plus faible densité tandis que les anciens fruits ont une couleur marron qui serait due à l'oxydation de la vitamine C et du fer, sont moins acides et seraient plus denses. Ces différences présentées par la figure 23 étaient perceptibles selon 72,4% de répondants au niveau de la couleur, 69% du goût, 31% de l'acidité et 10,3% d'autres paramètres.

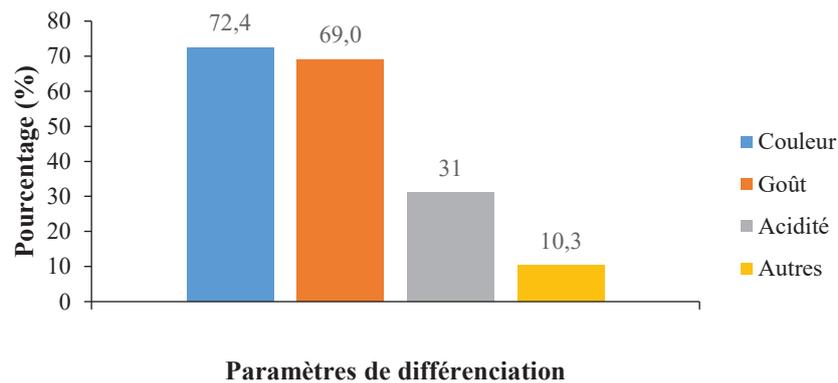


Figure 23 : Paramètres de différence entre anciens et nouveaux fruits

Les difficultés d'accès au baobab pourraient justifier la forte préférence du marché comme origine de la matière première par les producteurs de jus de baobab. Bien que retrouvé dans les brousses, certaines personnes ont cet arbre dans leurs propriétés. La taille très grande de l'arbre associée à son tronc qui est lisse constituerait une contrainte pour accéder aux fruits. Aussi, les femmes étant les actrices majoritaires de la production de ce jus, elles grimpent difficilement sur ces arbres, d'où l'achat des fruits. Une observation similaire a été rapportée par Chadare *et al.* (2009).

La pulpe du fruit du baobab est très riche en vitamine C qui s'oxyde facilement dans le temps lorsqu'elle est exposée à l'air et à la lumière. Cette oxydation affecte la couleur (qui change du blanchâtre au marron) et le goût (réduit l'acidité de la pulpe), ce qui pourrait expliquer quelques différences perçues entre les nouveaux et les anciens fruits.

➤ **Moyens de conservation du fruit de baobab**

La figure ci-dessous présente les différents moyens de conservation du fruit de baobab. Elle montre que 56,5% de répondants conservent le fruit du baobab dans les sacs en fibres synthétiques, 17,4% à l'air libre et 17,4% dans les récipients fermés ; tandis que 8,7% utilisent d'autres moyens de conservation (plastiques, dans la coque du fruit...).

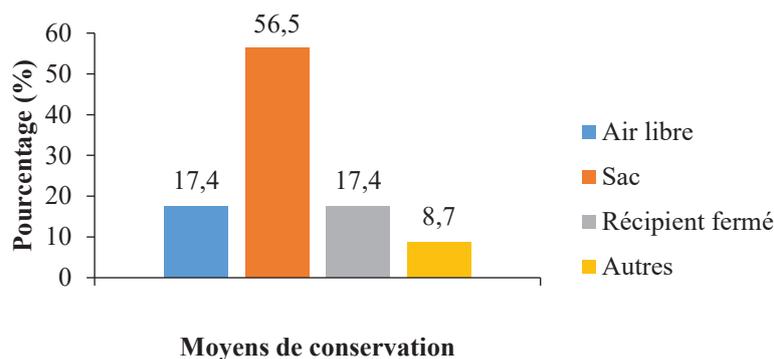


Figure 24 : Moyens de conservation du fruit de baobab

Le moyen de conservation influencerait fortement sur la stabilité ou non de la pulpe. Une mauvaise conservation causerait la détérioration de la pulpe. La conservation dans les sacs ainsi que la conservation à l'air libre exposeraient les fruits à l'oxygène et la lumière, ce qui causerait une oxydation rapide de certains constituants, principalement de la vitamine C. Cette oxydation affecterait les propriétés nutritionnelles, sensorielles et médicinales de la pulpe et par conséquent du jus. Il serait donc judicieux pour mieux conserver la pulpe de baobab de la conserver dans des emballages scellés à l'abri de l'oxygène, de l'humidité et de la lumière.

➤ **Durée de conservation du fruit du baobab**

La durée de conservation du fruit du baobab est présentée par la figure 25. Nous notons que 32,8% de personnes enquêtées conservent le fruit du baobab pendant moins d'une semaine, 24,7% conservent pendant plus d'une semaine, 13,5% conservent pendant plus d'un mois et 23,6% ont une durée autre (supérieure à trois mois).

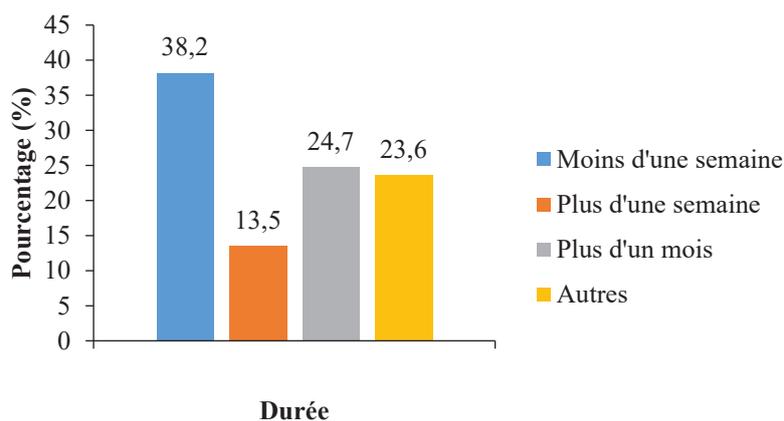


Figure 25 : Durée de conservation du fruit du baobab

La durée de conservation du fruit varie en fonction de l'utilisation. Ceux qui préparent le jus pour la consommation personnelle se procurent le fruit au moment où ils en ont besoin.

De ce fait, ils ne le conservent pas pour longtemps (moins d'une semaine). En outre, il est fastidieux et coûteux pour ceux qui commercialisent le jus de baobab d'acheter la pulpe en détails et chaque jour. Ils préfèrent acheter le fruit en semi-gros ou en gros et le conservent pour une durée moyenne (plus d'une semaine) ; par contre, ceux qui commercialisent le fruit stockent de grandes quantités pour vendre tout au long de l'année et au début de l'année suivante (pour ceux qui aiment les anciens fruits) car la production du fruit du baobab est saisonnière. Ce qui justifie la conservation à long terme.

➤ **Impact de la durée de conservation du fruit sur la qualité du jus**

Parmi les personnes enquêtées, 93,3% ont affirmé que la durée et le moyen de conservation des fruits ont un impact sur la qualité du jus. Les paramètres du jus affectés étant le goût selon 69,5% de répondants, la couleur (58,5%), l'acidité (24,4%), la fluidité (6,1%) et d'autres paramètres (14,6%) constitués de l'odeur, la fermentescibilité (Figure 26). Ces paramètres sont détériorés par un mauvais moyen de conservation et une durée longue.

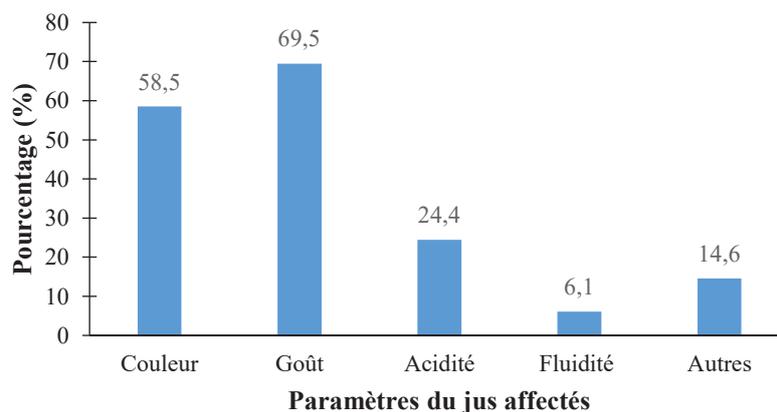


Figure 26 : Paramètres du jus affectés par la conservation du fruit du baobab

La qualité d'un jus de fruit est directement dépendante de celle du fruit dont il provient. Le fruit faisant partie des principaux ingrédients de la préparation du jus, sa dégradation affecterait inéluctablement celle du jus (Camerlingo *et al.*, 2007).

➤ **Existence d'une différence entre le jus fait à base des nouveaux ou des anciens fruits**

De cette étude, il ressort que 88,6% de répondants ont déclaré qu'il existe des différences entre les jus fait à base de nouveaux ou des anciens fruits. Les paramètres de ces différences sont présentés par la figure suivante :

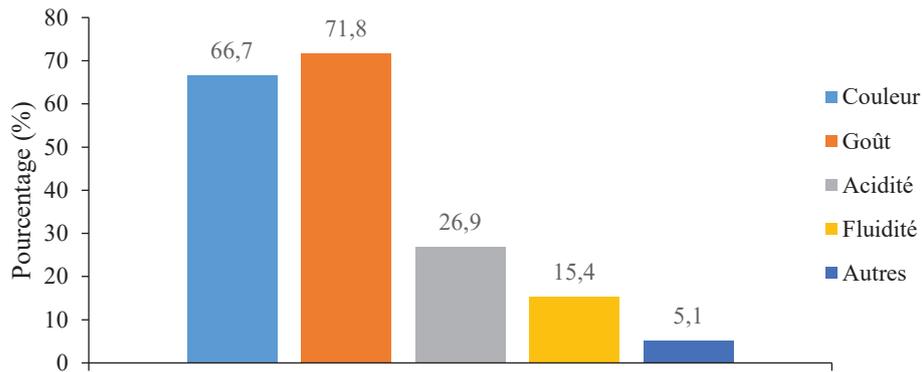


Figure 27 : Paramètres de différence entre le jus fait à base d’anciens et de nouveaux fruits

Les différences sont perceptibles au niveau du goût selon 71,8% de répondants, de la couleur (66,7%), de l’acidité (26,9%), de la fluidité (15,4%) et d’autres paramètres (5,1%).

Ces différences seraient corrélées avec celles existantes déjà au niveau des anciens et nouveaux fruits. La qualité des jus étant étroitement liée à celle des fruits utilisés pour leur production.

➤ **Fréquence de la préférence des fruits en fonction de l’ancienneté pour la préparation du jus de baobab**

Parmi les personnes enquêtées, 72,2% préfèrent le jus fait à base de nouveaux fruits, 17,5% celui fait à base des anciens fruits et 10% celui fait à base du mélange des nouveaux et anciens fruits (Figure 28).

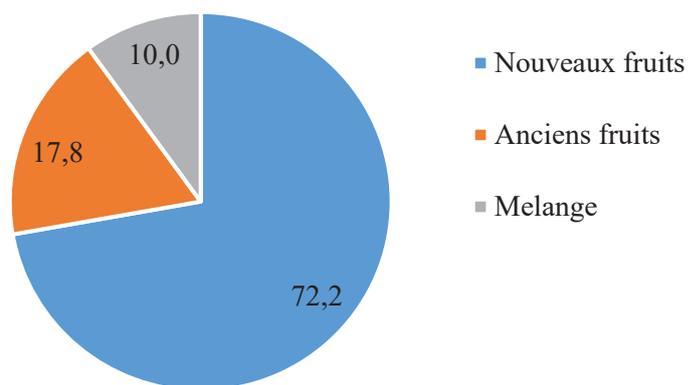


Figure 28 : Préférence des fruits en fonction de l’ancienneté pour la préparation du jus de baobab

Les appréciations varient en fonction des préférences personnelles. Chaque type de fruit utilisé (nouveau, ancien, mélange) donnant une qualité sensorielle différente. Les jus à base de nouveaux fruits ont une couleur blanchâtre, un goût plus acide et demandent un ratio pulpe/eau

plus élevé pour être épais, ce qui emmène les commerçants à les produire généralement plus léger. Les jus à base d'anciens fruits quant à eux ont une couleur marronne, sont moins acides et généralement plus épais ; ceux à base des mélanges ayant des caractéristiques intermédiaires. La préférence du jus fait à base de nouveaux fruits serait due à l'intégrité de ses constituants qui participeraient fortement à sa qualité sensorielle à savoir : la présence des acides organiques, de la vitamine C, de la pectine, des sucres et des composés phénoliques.

➤ **Connaissance de l'utilisation de la pulpe du baobab en la santé**

Parmi les 92 personnes enquêtées, 53,8% connaissent au moins une application du fruit du baobab pour la santé (Figure 29).

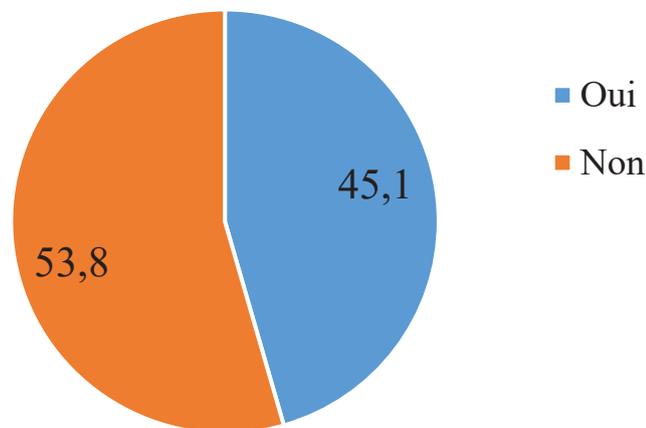


Figure 29 : Connaissance de l'application de la pulpe du baobab en la santé

Les propriétés thérapeutiques de la pulpe du fruit du baobab déjà investiguées sont nombreuses : antioxydante, anticancéreuse, anti-diarrhéique, anti-inflammatoire, anti-microbienne, antipaludéenne, tonifiante, etc (Codja *et al.*, 2001 ; Lesschaeve et Noble, 2005 ; Chadare *et al.*, 2009 ; Fahmy, 2013). Les populations du Nord et de l'Extrême-Nord qui ont des meilleures connaissances l'utilisent au quotidien. Quelques connaissances citées étaient : anti-anémiant, anti-paludéenne, tonifiante, anti-diarrhéique, laxative, stimulation de la lactation chez les femmes allaitantes...

A l'issue de cette enquête, nous notons que :

✚ La fréquence de consommation, de production, la quantité et la qualité d'ingrédients utilisés dans la production du jus de baobab sont liées à l'objectif de production (commercialisation ou consommation) ;

✚ Avec pour principaux ingrédients la pulpe du fruit du baobab, l'eau, le sucre et d'autres intrants, quatre procédés traditionnels (macération, infusion à 40 °C, infusion à 100 °C et décoction) de production de ce jus sont utilisés ;

✚ Selon les populations enquêtées, la qualité et la quantité de pulpe, la quantité de sucre, la température et le temps de préparation influenceraient la qualité finale du jus produit.

Il est de ce fait important d'étudier l'impact de ces différents procédés traditionnels de production du jus du baobab sur sa qualité.

III.1.2 Effets des procédés artisanaux recensés pendant l'enquête sur la qualité du jus de baobab.

Les différents procédés artisanaux répertoriés ont été appliqués pour la préparation de 8 échantillons. Pour chaque procédé, nous avons préparé 2 échantillons différents sur la base de la quantité de pulpe et du sucre. L'un contenait 42 g de pulpe et 62 g de sucre (code d'échantillon simple) et l'autre 87,5 g de pulpe et 231 g de sucre (code d'échantillon avec la mention prime (')) par litre d'eau. Les ratios ont été choisis de manière à simuler les préparations du jus respectivement pour la commercialisation et la consommation personnelle. Les quatre procédés étaient : la macération (procédé 1), l'infusion à 40 °C (procédé 2), infusion à 100 °C (procédé 3) et la décoction (procédé 4).

Le tableau ci-contre présente les effets des différents procédés artisanaux de production des jus de baobab sur leurs teneurs en composés phénoliques et vitamine C et leurs activités antioxydantes.

Tableau XIX: Effets des procédés artisanaux de production des jus de baobab sur leurs activités antioxydantes et leurs teneurs en composés phénoliques et vitamine C

Echantillons		CAT (g EAA/100 mL)	Composés phénoliques (mg EAG/100 mL)	DPPH (% inhibition) /100 mL	Vitamine C (mg/100 mL)
Procédé 1 (Macération)	1	0,65±0,05 ^a	24,05±0,70 ^a	10,85±0,70 ^a	19,25±1,48 ^a
	1'	4,06±0,17 ^c	39,67±1,61 ^{bc}	28,83±2,33 ^b	22,22±0,00 ^{ab}
Procédé 2 (Infusion à 40 °C)	2	1,85±0,02 ^b	22,97±0,44 ^a	8,69±1,66 ^a	22,96±0,74 ^{ab}
	2'	4,45±0,19 ^{cd}	37,14±0,45 ^{bc}	25,94±3,29 ^b	25,92±0,74 ^{ab}
Procédé 3 (Infusion à 100 °C)	3	2,06±0,16 ^b	26,16±1,13 ^a	14,57±1,00 ^a	24,44±1,28 ^{ab}
	3'	5,24±0,43 ^{de}	41,95±0,42 ^{cd}	28,40±1,74 ^b	31,11±0,00 ^{bc}
Procédé 4 (Décoction)	4	2,51±0,12 ^b	34,12±3,13 ^b	25,79±1,58 ^b	30,37±0,74 ^{bc}
	4'	5,76±0,26 ^e	46,72±0,61 ^d	33,08±2,48 ^b	38,51±5,34 ^c

1, 2, 3, 4 = Ratio sucre/pulpe de 62 g / 42 g par litre de jus; 1', 2', 3', 4' = Ratio sucre/pulpe de 231 g / 87,5 g par litre de jus. Dans les colonnes, les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes au seuil $p < 0,05$.

De manière générale, l'augmentation du ratio pulpe/eau dans le jus de baobab entraîne également de manière significative ($p < 0,05$) celle des différents paramètres analysés. Cependant, cette augmentation n'était pas statistiquement significative avec la vitamine C.

Du tableau XIX, il ressort que la teneur en composés phénoliques varie de 22,97 - 46,72 mg EAG/100 mL de jus. Indépendamment du ratio, la température n'a pas significativement ($p > 0,05$) affectée la teneur en composés phénoliques pour tous les procédés sauf pour la décoction (Procédé 4). Pour chaque procédé, l'augmentation de la quantité de pulpe a conduit à une augmentation significative ($p < 0,05$) de cette teneur, la plus grande ayant été obtenue avec le procédé 4 ($46,72 \pm 0,61$ mg EAG /100 mL). Tembo (2016) a obtenu une teneur en composés phénoliques bien plus élevée que celle de cette étude ($260,80 \pm 0,27$ mg EAG /100 mL) pour des échantillons de jus de baobab du Malawi produit par macération pour un ratio pulpe/eau de 100 g/L ; de même que Konan *et al.* (2015) avec les jus de baobab commercialisés en Côte d'Ivoire ($50,1 \pm 15,5$ mg EAG /mL). Plusieurs auteurs ont relevé l'impact de l'élévation de la température sur la teneur en composés phénoliques. Elle causerait des réactions physiques et chimiques complexes qui affecteraient la composition phénolique, telles que la libération des composés phénoliques liés, la dégradation des composés phénoliques ainsi que la rupture et la transformation des composés phénoliques (Lo Scalzo *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2013). Aussi, les différences obtenues avec les autres auteurs pourraient être imputées à leurs ratios et à l'origine de leurs fruits (lieu de récolte, le type de sol) (Charles *et al.*, 2007).

Le pourcentage d'inhibition de l'activité-anti radicalaire DPPH variait entre 8,69-33,08%/100 mL. Cette activité ne dépendait pas de la température ($p > 0,05$) pour les différents procédés et les deux ratios. L'augmentation de la quantité de pulpe a entraîné une élévation significative ($p < 0,05$) de ce pourcentage d'inhibition pour tous les procédés sauf pour le procédé 4, le pourcentage d'inhibition le plus élevé ($33,08 \pm 2,48\%$) ayant été obtenu avec le procédé 4 pour le plus grand ratio. Ces valeurs sont inférieures à celles obtenues avec le jus de baobab commercialisé au Malawi ($80,94 \pm 0,72\%$) par Tembo (2016). Selon ce dernier, les valeurs élevées de DPPH observées avec les jus de baobab commercialisés au Malawi pourraient être attribuées à leur teneur élevée en composés phénoliques et métabolites des sucres (Tembo, 2016).

Le tableau XIX nous montre que la capacité antioxydante totale était comprise entre 0,65 et 5,76 g EAA/100 mL. Une différence significative ($p < 0,05$) a été relevée entre le procédé 1 et les trois autres qui n'étaient pas significativement différents ($p > 0,05$) pour les échantillons ayant les plus petits ratios pulpe/sucre/eau, tandis qu'aucune différence

significative n'a été observée avec les ratios élevés entre les procédés 1'&2'; 2'&3' et 3'&4'. L'infusion à 100°C et la décoction ont augmenté significativement ($p < 0,05$) la capacité antioxydante du jus. La capacité antioxydante totale a augmenté significativement ($p < 0,05$) avec le ratio au sein de chaque procédé. Balunkeswar *et al.* (2015) ont montré que les procédés thermiques augmenteraient l'activité antioxydante totale de certains végétaux.

Les méthodes traditionnelles explorées nous ont donné des teneurs en vitamine C se situant entre 19,25 et 38,51 mg/100 mL. Tel qu'observé précédemment avec la teneur en composés phénoliques, la CAT, l'activité anti-radicalaire DPPH, la teneur en vitamine C est plus élevée avec le procédé 4. Cette teneur en vitamine C plus élevée avec les plus hautes températures (Procédés 3 et 4) malgré la thermo-sensibilité de la vitamine C montre que la courte durée à haute température favoriserait l'extraction de la vitamine C et celle des composés bioactifs étudiés. Cette observation a été également faite par Ndiaye *et al.* (2020) qui ont obtenu une teneur en vitamine C plus élevée dans le jus de baobab pasteurisé à 80°C pendant 10 minutes comparé au jus non pasteurisé. Cissé *et al.* (2009) et Tembo (2016) ont obtenu des teneurs en vitamine C inférieures à celles de ces travaux avec le jus traditionnel de baobab du Sénégal (12-14 mg/100 mL) préparé en trempant la pulpe dans de l'eau à température ambiante pendant 5 à 480 minutes respectivement pour un ratio de pulpe de 1/3 (p/v) et le jus de baobab commercialisé au Malawi ($5,09 \pm 0,39$ mg/100 mL).

Selon Tembo (2016), en plus du fait que les différences observées viendraient des différents procédés de production, elles seraient également dues aux variations de la composition de la pulpe du baobab d'une région à une autre.

L'application des différents procédés traditionnels de production du jus de baobab nous montre qu'ils ont un impact sur la qualité du jus, particulièrement sur les teneurs en vitamine C et composés phénoliques, l'activité anti-radicalaire DPPH et la CAT que nous avons étudié. Cet impact pourrait également affecter les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles de ce jus. La standardisation du procédé de production de ce jus en vue de produire un jus de baobab aux propriétés nutritionnelles et fonctionnelles majorées est nécessaire. Elle passe par une optimisation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles de ce jus. La maîtrise de la matière première utilisée (pulpe du fruit du baobab) étant importante, il serait judicieux de précéder l'opération d'optimisation par sa caractérisation.

III.2 Conditions de production optimales d'un jus de baobab apprécié avec le fer, les composés phénoliques, l'activité anti radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale comme composés et activités d'intérêt

III.2.1 Caractéristiques de la pulpe du fruit du baobab

III.2.1.1 Caractéristiques nutritionnelles

III.2.1.1.1 Composition proximale, teneur en vitamine C et valeur énergétique

Le tableau XX présente les résultats des teneurs en eau, matière sèche, protéines, lipides, glucides totaux, sucres solubles, fibres brutes, cendres totales, vitamine C et la valeur énergétique de la pulpe du fruit du baobab.

Tableau XIX : Composition proximale, teneur en vitamine C et valeur énergétique de la pulpe du fruit baobab

Eléments	Teneur dans la pulpe du fruit du baobab
Teneur en matière sèche (g/100 g MF)	86,59 ± 0,42
Teneur en eau (g/100 g MF)	13,41 ± 0,42
Lipides totaux (g/100 g MS)	12,11 ± 1,02
Protéines totales (g/100 g MS)	3,95 ± 0,00
Glucides totaux (g/100 g MS)	57,62 ± 0,65
Sucres solubles (g Eq Glucose/100 g MS)	3,97 ± 0,69
Fibres brutes (g/100 g MS)	8,17 ± 1,03
Cendres totales (g/100 g MS)	4,73 ± 0,20
Vitamine C (mg/100 g MS)	494,94 ± 69,99
Valeur énergétique (kcal/100 g MS)	355,27

MF = matière fraîche ; MS = matière sèche.

La teneur en eau est de $13,41 \pm 0,42$ g/100 g MF soit une teneur en matière sèche de $86,59 \pm 0,42$ g/100 g MF. Ces résultats sont compris dans les gammes rapportées dans la littérature par Chadare *et al.* (2008) ($2-27,5$ g/100 g MF pour la teneur en eau et $73-98$ g/100 g MF pour celle de la matière sèche). Cependant, ces teneurs en eau et en matière sèche sont supérieures à la moyenne qu'ils ont trouvée ($11,6$ g/100 g MF) et aux teneurs des pulpes, de la Côte d'Ivoire, de la Tanzanie, de la Zambie, du Mali, du Kenya et du Malawi (Kinuthia *et al.*, 2017, Kouamé *et al.*, 2018). Cette différence serait due à la très grande variation de la composition de la pulpe en fonction de la zone géographique, du climat, de la qualité du sol, de la saison de récolte et de l'état de maturité du fruit tel que relevé par plusieurs auteurs (Tembo,

2016 ; Kinuthia *et al.*, 2017). Cette faible teneur en eau facilite et rallonge la durée de conservation de la pulpe qui est saisonnière afin de la rendre disponible toute l'année.

La teneur en lipide totale ($12,11 \pm 1,02$ g/100 g MS) quoique comprise dans la gamme mentionnée dans la littérature (0,2-15,5) (Lockett *et al.*, 2000 ; Murray *et al.*, 2001 ; Osman, 2004) est très élevée comparée à celle décrite par la plupart d'auteurs qui ont rapporté une teneur de l'ordre de 0,3 g/100 g MS (Osman, 2004), 0,42 g/100 g MS (Kouamé *et al.*, 2018) et 0,52 g/100 g MS (Ibrahim *et al.*, 2018). Cette teneur élevée serait due aux variations climatiques et géographiques citées plus haut. L'analyse du profil en acide gras de la pulpe de baobab fait mention de la présence de 65,5% d'acides gras insaturés et polyinsaturés qui sont importants pour la santé. La présence considérable des fibres brutes dans la pulpe aiderait à améliorer le profil lipidique de ceux qui consommeraient cette pulpe (Babio *et al.*, 2010).

La teneur en protéine ($3,95 \pm 0,00$ g/100 g MS) quant à elle est plus élevée que celle habituellement rencontrée dans les autres fruits. Ce résultat est supérieur à ceux trouvés par Osman (2004) (3,2 g/100 g MS), Cissé *et al.* (2013) (3,00 g/100 g MS), Kinuthia *et al.* (2017) (1,58 - 2,65 g/100 g MS) et Kouamé *et al.* (2018) (2,78 g/100 g MS), dans les pulpes du Soudan, du Mali, du Kenya, du Malawi, de la Côte d'Ivoire, de la Tanzanie et de la Zambie. Des fruits de grande consommation tels que la papaye (0,5 g/100 g MS), le kiwi (1,14 g/100 g MS) et le fruit de passion (2,6 g/100 g MS) (Besco *et al.*, 2007 ; Rodrigues *et al.*, 2001) ont des teneurs inférieures à celles du baobab. Quoiqu'ayant une faible teneur en protéines, le profil en acides aminés de la pulpe du baobab fait mention de plusieurs acides aminés dont les 8 essentiels que l'organisme ne peut pas synthétiser (leucine, lysine, isoleucine, valine, tryptophane, méthionine, phénylalanine et thréonine). Elle contient des quantités élevées de tyrosine, d'arginine, d'acide glutamique, d'acide aspartique (20,6 ; 7,6 ; 6,5 ; 6,4 mg/100 g de protéines respectivement) ; moyennes de valine, phénylalanine, leucine (4,8 ; 4,4 ; 4,3 mg/100 g) (Osman, 2004). Les protéines aident à la croissance et à la régénérescence cellulaire, la consommation de la pulpe du baobab ou des produits dérivés contribuerait à combler les besoins en acides aminés indispensables. Les acides aminés contribuent à la valeur nutritionnelle des aliments. Ils peuvent également participer à la production de composés d'arôme dans les aliments comme le fromage, vin, miel et autres denrées alimentaires fermentés (Ozcan *et al.*, 2008). Bien que la proportion d'acides aminés essentiels soit en quantités inférieures à celles recommandées par la FAO/WHO/UNU, ils sont intéressants en raison de leur diversité dans la pulpe de baobab (Cissé, 2012).

Les teneurs en glucides totaux et sucres solubles sont respectivement de $57,62 \pm 0,65$ g/100 g MS et $3,97 \pm 0,69$ g Eq Glucose/100 g MS, représentant comme pour la plupart des fruits, 50 à 70% de la matière sèche. La teneur en glucides totaux est comprise dans les proportions déjà retrouvées par d'autres auteurs (46,6-87,7 g/100 g MS) (Chadare *et al.*, 2008). Cependant, elle est inférieure à celle trouvée par Osman (2004) ($76,2 \pm 1,0$ g/100 g MS), Kouamé *et al.* (2018) (72,7 g/100 g MS). Les sucres solubles sont également inférieurs à la moyenne (4,8 g Eq Glucose/100 g MS) trouvée par Kouamé *et al.* (2018) mais comprise dans l'intervalle des pulpes qu'ils ont analysé (2,70-6,41 g Eq Glucose/100 g MS). Du fait de cette teneur importante en glucides totaux, ces fruits peuvent être considérés comme étant des aliments énergétiques.

L'échantillon analysé avait une moyenne de fibre de $8,17 \pm 1,03$ g/100 g MS qui est similaire à celle obtenue pour la pulpe du fruit du baobab du Kenya (Kinuthia *et al.*, 2017), supérieure à celle des pulpes du fruit du Soudan, Malawi, Mali, de la Zambie, la Tanzanie, la Côte d'Ivoire (Kinuthia *et al.*, 2017 ; Kouamé *et al.*, 2018). Lockett *et al.* (2000) et Osman (2004) ont mesuré ces teneurs à l'aide de différentes méthodes et ont rapporté une grande amplitude de variation, de 0,67 g/100 g MS à 12,57 g/100 g MS pour l'espèce *A. digitata*. Par ailleurs, Murray *et al.* (2001) ont trouvé, après une analyse des fibres, une valeur de 45,1 g/100 g MS, qui, jusqu'à ce jour demeure la plus haute valeur en fibre rapportée. La moyenne des valeurs observées par les autres auteurs est de l'ordre de 13,7 g/100 g MS. Ces différences peuvent s'expliquer par les variations dans les méthodes de concassage du fruit, de séparation des portions non comestibles, de pilage et tamisage utilisées (Ibrahim *et al.*, 2018). Cette teneur en fibre est plus élevée que celle des autres fruits habituellement consommés (ananas, avocat, mangue, orange, ananas, pomme...), des végétaux (choux, laitue), des céréales entières (maïs, riz, blé...).

Les fibres alimentaires baissent la pression artérielle, le tour de taille, la glycémie et la concentration plasmatique de la protéine C-réactive. Elles augmentent la satiété et la sensibilité à l'insuline contribuant ainsi à la prévention et à la prise en charge de l'obésité et de ses complications (Babio *et al.*, 2010). Une augmentation de la consommation d'un gramme de fibres totales diminue le poids corporel de 0,25 kg et les graisses de 0,25% (Tucker et Thomas, 2009). Les fibres contribuent également à l'amélioration du transit intestinal mais elles ont aussi une action préventive des maladies cardiovasculaires et certains cancers (Kouamé *et al.*, 2018). La pulpe du fruit du baobab contenant les fibres alimentaires, elle pourrait être un aliment fonctionnel.

La teneur en cendres est de $(4,73 \pm 0,20 \text{ g}/100\text{g MS})$. Plusieurs auteurs ont rapporté une teneur en cendre variant entre 1,9 et 6,4 g/100g MS avec une moyenne de 4,9 g/100g MS (Lockett *et al.*, 2000 ; Murray *et al.*, 2001 ; Osman, 2004). Ce résultat corrobore celui de Kinuthia *et al.* (2017), il est supérieur à celui de Osman, 2004 et inférieur à ceux de Cisse *et al.* (2013) ; Ibrahim *et al.* (2018) et Kouamé *et al.* (2018).

La pulpe de baobab analysée dans le cadre de ce travail a montré une teneur en vitamine C de $494,94 \pm 69,99 \text{ mg}/100 \text{ g MS}$. Parkouda *et al.* (2012) ont rapporté une teneur variant de 397-575 mg/100 g. Le résultat de ce travail est largement supérieur à ceux de Gebauer *et al.* (2002), Cisse *et al.* (2013), Ibrahim *et al.* (2018) et Kouamé *et al.* (2018) qui ont obtenu respectivement les valeurs de 300 ; 67 ; 263,27 ; 240 mg/100 g MS. Cette teneur en vitamine C est 8,5 fois celle d'une orange (58,30 mg/100 g), 8 fois celle d'une papaye (62 mg/100 g) et 3 fois celle d'un kiwi (98-180 mg/100 g) (Rodrigues *et al.*, 2001 ; Najwa et Azrina, 2017). Pour un adulte, 17 g de cette pulpe serait suffisant pour combler les apports journaliers recommandés en vitamine C (85 mg/j). Ces résultats permettent de classer le fruit du baobab parmi les fruits les plus riches en vitamine C, cela fait du baobab un aliment qui pourrait être intéressant pour participer à la prévention et au management des maladies métaboliques telles que les cancers via ses propriétés antioxydantes (Donovan et Harper, 2002).

La valeur énergétique de la pulpe du fruit du baobab a été de 355,27 kcal/100 g MS. Cette énergie métabolisable est dans la gamme mentionnée par Murray *et al.* (2001) et Osman (2004). Elle est supérieure à celle trouvée par Kouamé *et al.* (2018) pour les pulpes du fruit du baobab de la Côte d'Ivoire et Chabite *et al.* (2019) pour celles du Mozambique. Les variations géographiques, pédologiques et climatiques pourraient également justifier ces résultats.

III.2.1.1.2 Composition en éléments minéraux

La composition en macroéléments (Ca, K, Mg, Na, et P) et microéléments (Fe, Cu, Mn, et Zn) de la pulpe du fruit du baobab est consignée dans le tableau XXI.

Tableau XXI : Composition en éléments minéraux de la pulpe du fruit du baobab

Minéraux	Pulpe du fruit du baobab (mg/100 g de MS)
Ca	333,75 ± 0,01
Mg	167,45 ± 0,01
P	61,20 ± 0,04
K	2670,05 ± 0,012
Na	9,02 ± 0,012
Cu	0,77 ± 0,11
Fe	1,66 ± 0
Mn	0,86 ± 0,06
Zn	0,48 ± 0,01

Parmi les macroéléments, le calcium, le potassium et le magnésium ont été les plus abondants tandis que le phosphore et le sodium étaient les moins abondants. Leurs teneurs étaient respectivement de 333,7 ; 2670,1 ; 167,5 ; 61,2 ; 9,0 mg/100 g MS. Les microéléments ont été représentés de façon décroissante comme suit : le fer (1,66 mg/100 g MS), le manganèse (0,86 mg/100 g MS), le cuivre (0,77 mg/100 g MS) et le zinc (0,48 mg/100 g MS).

Calcium

La teneur en calcium de la pulpe du fruit du baobab qui a été analysée est comprise dans la gamme rapportée par différents auteurs (302-701 mg/100 g MS) selon Chadare *et al.* (2008). Elle était supérieure à celles des résultats obtenus pour les pulpes du Mali (250 mg/100 g MS), du Kenya (270 mg/100 g MS), de la Zambie (320 mg/100 g MS), de la Tanzanie (320 mg/100 g MS) et de la Côte d'Ivoire (187-297 mg/100 g MS) (Kinuthia *et al.*, 2017 ; Kouamé *et al.*, 2018), du Mozambique (Chabite *et al.*, 2019), mais inférieure à celle du Malawi (430 mg/100 g MS) et du Soudan (344 mg/100 g MS) (Kinuthia *et al.*, 2017 ; Ibrahim *et al.*, 2018). Le calcium fait partie des minéraux majeurs de l'alimentation humaine. Il est l'un des constituants majeurs dans la formation des os, ses ions jouent un rôle important dans plusieurs processus métaboliques (contraction musculaire). Une consommation élevée est spécialement recommandée aux femmes enceintes et aux enfants (Insel *et al.*, 2011). La pulpe du fruit du baobab est donc une importante source naturelle de calcium plus élevée que le lait qui pourrait être utilisée pour la supplémentation des alimentations pauvres en calcium chez les femmes enceintes ou allaitantes, les enfants et les personnes âgées (Cisse *et al.*, 2013 ; Kinuthia *et al.*, 2017). De plus, cette teneur en calcium de la pulpe du baobab est de loin supérieure à celle des

fruits couramment consommés tels que : la goyave (18 mg/100 g) et l'orange (11 mg/100 g) (Mahapatra *et al.*, 2012). Le baobab est une excellente source de calcium alimentaire.

Magnésium

La teneur en magnésium de la pulpe du fruit du baobab est différente de celles obtenues par plusieurs auteurs. Cette teneur ($167,45 \pm 0,01$ mg/100 g MS) était incluse dans la gamme rapportée dans la littérature (100-300 mg/100 g MS) par Chadare *et al.* (2008) mais inférieure à celle rapportée par la majorité d'auteurs (Osman, 2004 ; Cisse *et al.*, 2013 ; Kinuthia *et al.*, 2017 ; Ibrahim *et al.*, 2018). Cette teneur était tout de même supérieure à celle rapportée par Kouamé *et al.* (2018). Par ailleurs, il faut signaler que le magnésium fait partie des minéraux majeurs de l'alimentation humaine en tant que cofacteur de plusieurs enzymes et constituant essentiel dans la formation et le fonctionnement des os. Les résultats de ce travail démontrent que la pulpe du fruit du baobab a un potentiel pour le traitement de certaines affections telles que les faiblesses musculaires chroniques, les crampes, les fatigues, les pertes de mémoire et l'arythmie cardiaque (Jahnen-Dechent et Ketteler, 2012).

Potassium

Comme pour les minéraux précédemment cités, sa teneur est comprise dans la gamme rapportée dans la littérature (720-3272 mg/100 g MS) par Chadare *et al.* (2008). Comme dans la plupart des produits végétaux, le composé minéral qui prédomine est le potassium. Cette teneur est largement plus élevée que celle trouvée par plusieurs auteurs (Osman, 2004 ; Cisse *et al.*, 2013 ; Kinuthia *et al.*, 2017 ; Ibrahim *et al.*, 2018) et celle des fruits habituellement consommés : goyave (417 mg/100 g), banane (358 mg/100 g), orange (200 mg/100 g) et pomme (90 mg/100 g) (Mahapatra *et al.*, 2012).

Le baobab fait partie des principales sources de potassium qui est le minéral le plus abondant dans sa pulpe. Le potassium et le sodium sont très importants dans la régulation de la contraction musculaire et de la transmission de l'influx nerveux. Un ratio K/Na élevé jouerait un rôle dans l'excrétion de l'excès d'eau et de sel (Arthey et Ashurst, 2001). Dans cette étude, la teneur en sodium est plus faible que celle du potassium suggérant un ratio K/Na élevé.

Phosphore et sodium

La pulpe du fruit du baobab analysé a des concentrations en phosphore et sodium intéressantes. Le phosphore est important pour la croissance et le maintien des os, dents et muscles (Insel *et al.*, 2011), également pour la formation de l'énergie dans l'organisme. La pulpe du baobab peut donc être recommandée comme une excellente source des macroéléments

minéraux ; les différentes variations obtenues avec celles des autres auteurs seraient dues à la localisation géographique, les types de sols, de climats et les périodes de récoltes.

Les concentrations de microéléments (Fe, Cu, Mn, et Zn) trouvées dans la pulpe analysée montrent qu'il serait intéressant de consommer cette pulpe lorsqu'elle est disponible.

Fer

La teneur en fer dans la pulpe du fruit du baobab varie fortement de 1,1 mg/100 g (Arnold *et al.*, 1985) à 10,4 mg/100 g (Osman, 2004). La concentration en fer trouvée ici était comprise dans la gamme mentionnée dans la littérature (1,1-10,4) par Chadare *et al.* 2008 ; cependant inférieure à celle des différents travaux consultés (Osman, 2004 ; Cisse *et al.*, 2013 ; Kinuthia *et al.*, 2017 ; Ibrahim *et al.*, 2018 ; Kouamé *et al.*, 2018). Le fer est un oligo-élément minéral qui entre dans la composition de l'hémoglobine des globules rouges, de la myoglobine des muscles et de nombreuses réactions enzymatiques nécessaires à la respiration des cellules (Doudi et Atia, 2015). Sa carence entraîne l'anémie qui est un problème majeur de santé touchant environ deux millions de personnes dans le monde (OMS, 2017). La déficience en fer est caractérisée par la réduction de la réplication de l'ADN, de la synthèse des protéines et de la formation de certaines cellules. Cette déficience contribue à un important affaiblissement physique, cognitif et du développement du système immunitaire pendant l'enfance et à la baisse de la productivité chez les adultes (OMS, 2017). Au Cameroun, l'anémie par carence en fer demeure un problème de santé publique qui touchait environ de 60% des enfants de 5 à 59 mois et la carence en fer 40% de femmes en 2011 (INS ET ICF International, 2012). Les femmes perdent fortement le fer lors de leur menstruation et doivent consommer les aliments contenant le fer biodisponible. Le fer contenu dans les céréales, les légumes secs, les fruits, les légumes et les produits laitiers est le fer non héminique qui est mal absorbé (1 à 5%) (Minihane et Rimbach, 2002). Les acides organiques réducteurs (vitamine C) favorisent l'absorption du fer. La richesse de cette pulpe en vitamine C est un atout pour potentialiser l'absorption de ce fer non héminique qu'elle contient.

Teneur en manganèse, cuivre et zinc

Les teneurs en manganèse et cuivre rapportées dans cette étude sont en accord avec les résultats des autres auteurs tandis que celle de zinc ne l'était pas (Osman, 2004 ; Cisse *et al.*, 2013 ; Kinuthia *et al.*, 2017 ; Ibrahim *et al.*, 2018 ; Kouamé *et al.*, 2018). Les teneurs en microéléments dans la pulpe du baobab sont très variables d'un auteur à un autre à cause des différentes méthodes de préparation des échantillons et d'analyses (Chadare *et al.*, 2009). Aussi, ces différences pourraient être attribuées aux conditions climatiques qui

influencent la mobilité et des éléments minéraux du sol et l'absorption par les plantes (Kinuthia *et al.*, 2017).

III.2.1.2 Potentiel antioxydant de la pulpe du fruit du baobab

Le tableau suivant présente les teneurs en composés phénoliques, la capacité antioxydante globale par la méthode de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), l'activité anti radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale de la pulpe du fruit du baobab.

Tableau XXII : Teneurs en composés phénoliques et activités antioxydantes de la pulpe du fruit du baobab en fonction des différents solvants d'extraction

Solvant d'extraction	Composés phénoliques (mg EAG/100 g MS)	FRAP (mg FeSO ₄ / 100 g MS)	DPPH (% Inhibition 100 g MS)	CAT (g EAA/100 g MS)
H ₂ O	1151,79 ± 0,00 ^a	5364,31 ± 6,43 ^a	89,11 ± 5,41 ^b	8,171405 ± 0,18
HCl 1%	2529,25 ± 0,00 ^b	2481,04 ± 5,16 ^b	49,19 ± 9,38 ^a	
Ethanol 70%	569,59 ± 10,83 ^c	1996,22 ± 5,66 ^c	96,31 ± 2,13 ^{bc}	
Acétone 70%	1453,26 ± 17,64 ^d	5861,33 ± 12,98 ^d	93,99 ± 1,19 ^{bc}	
Méthanol 80%	427,52 ± 0,00 ^e	3781,88 ± 3,6 ^e	98,33 ± 1,14 ^{bc}	

Dans les colonnes, les moyennes affectées des lettres différentes sont significativement différentes au seuil $p < 0,05$.

De façon générale, la teneur en composés phénoliques totaux varie de 566,46 à 2529,25 mg EAG /100 g MS indépendamment du solvant utilisé. Kouamé *et al.* (2018) ont trouvé une variation de 389,0 à 975,00 mg/100 g MS avec une moyenne de 683,10 qui est supérieure à celle trouvée dans cette étude avec le même solvant (Ethanol 70%) mais environ deux à quatre fois inférieur à celui des autres solvants. De même, Tembo *et al.* (2017) ont obtenu avec le méthanol 80% une teneur de 1870 mg EAG /100 g qui était 4 fois supérieure à la nôtre, avec les pulpes du Malawi, mais également inférieur qu'avec le HCl 1%. Cissé *et al.* (2008) ont obtenu une teneur de 250 mg EAG /100g qui est inférieure à la nôtre ; tandis que Lamien-Meda *et al.* (2008) ont obtenu les teneurs les plus élevées de composés phénoliques (3518 - 4058 mg EAG /100 g) dans la pulpe du baobab du Burkina Faso. La pulpe analysée contenait une quantité plus élevée de composés phénoliques que celle de quelques fruits habituellement consommés et considérés comme riches en composés phénoliques tel que les pommes (205 mg EAG /100 g) (Pérez-Jiménez *et al.*, 2010).

Les résultats du tableau XXII montrent également que la pulpe du fruit du baobab a une activité et capacité antioxydante élevée (FRAP, DPPH et CAT). L'activité réductrice des ions ferriques (FRAP) était comprise entre 1996,27 et 5861,33 mg FeSO₄/ 100 g MS. Ce résultat est supérieur à celui obtenu par Braca *et al.* (2018) dont l'activité variait entre 293,99 et 458,50. Celui de Tembo *et al.* (2017) est compris dans la gamme que nous avons trouvée (4660 ± 11,8). L'activité anti-radicalaire DPPH se situait entre 49,19 et 98,33%. Elle est supérieure à celle trouvée par Tembo *et al.* (2017) (50,93 ± 0,4%). La capacité antioxydante totale était de 8,171405 ± 0,18 g EAA/100 g MS.

La pulpe du fruit du baobab est une source riche en composés phénoliques et en vitamine C qui peuvent jouer un rôle protecteur contre le stress oxydatif de par leurs activités antioxydantes connues. Les différentes classes de composés phénoliques de cette pulpe varient selon la plante et les régions géographiques (Braca *et al.*, 2018). Sokeng *et al.* (2019) ont rapporté la présence des procyanidines, acides phénoliques, des flavonols et glycosides dans la pulpe du Cameroun.

Ces composés phénoliques contiennent des molécules capables de libérer les protons H afin de stabiliser les radicaux libres de DPPH. L'activité de réduction des ions ferriques d'un extrait, mesure son habilité à céder les électrons et à réduire les intermédiaires oxydés du processus de peroxydation lipidique. Elle indique également que l'extrait peut agir comme un antioxydant primaire et secondaire (Kumar *et al.*, 2010 ; Tyug *et al.*, 2010). L'activité antioxydante élevée de la pulpe du baobab est attribuée à ses teneurs élevée en vitamine C et composés phénoliques totaux. Une forte corrélation entre les composés phénoliques totaux et l'activité antioxydante des produits dérivés des fruits est bien connue pour les fruits couramment consommés (Almeida *et al.*, 2011 ; Maizura *et al.*, 2011; Park *et al.*, 2011). Il est à noter que l'activité antioxydante du même échantillon varie en fonction du système de solvant utilisé pour l'extraction (Lamien-Meda *et al.*, 2008). Ces résultats suggèrent que ces composés sont en parties responsables de l'activité antioxydante déterminée. Ils agiraient en cédant les électrons et en réduisant les intermédiaires oxydés du processus de peroxydation lipidique (Kumar *et al.*, 2010 ; Tyug *et al.*, 2010)

III.2.1.3 Caractéristiques phytochimiques

III.2.1.3.1 Criblage phytochimique de la pulpe du fruit du baobab

Le tableau ci-dessous présente les résultats de l'analyse qualitative des métabolites secondaires de la pulpe du fruit du baobab.

Tableau XXII : Composition en métabolites secondaires de la pulpe du fruit du baobab

Métabolites	Pulpe (H ₂ O)	Pulpe (Ethanol 70%)
Flavonoïdes	+	+
Saponines	+	+
Glycosides	+	+
Tanins	+	+
Quinones	-	-
Phénols	+	+
Stérols	+	+
Triterpènes	-	-
Anthocyanes	-	-
Alcaloïdes	-	-

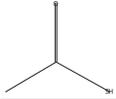
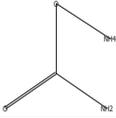
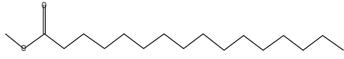
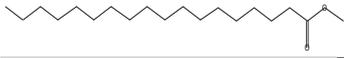
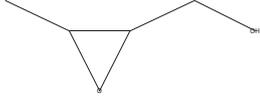
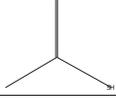
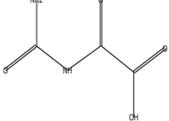
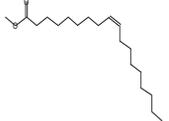
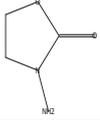
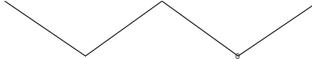
(+ = *présent* - = *absent*)

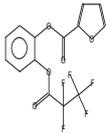
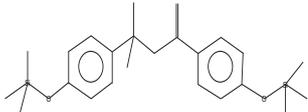
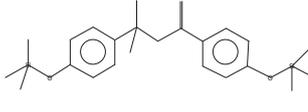
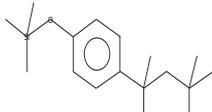
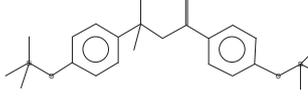
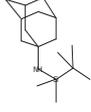
L'analyse qualitative des métabolites secondaires de la pulpe du fruit du baobab a révélé la présence des flavonoïdes, saponines, glycosides, phénols et stérols (Tableau XXIII). Sokeng *et al.* (2019) a également fait mention des flavonoïdes, phénols dans la pulpe du baobab du Cameroun.

III.2.1.3.2 Composés volatils présents dans la pulpe du fruit du baobab

Le tableau XXIV et l'annexe 5 présentent respectivement les composés volatils détectés dans la pulpe de baobab et son chromatogramme de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Tableau XXIIIIV : Composés volatils détectés dans la pulpe du fruit du baobab

Nom chimique	Nature du composé	Formule moléculaire	Temps de Rétention (s)	% Aire	Structure
Acide Thio acétique	Acide organique	C ₂ H ₄ OS	194,22	48,30	
Carbamate d'ammonium	Acide	CH ₆ N ₂ O ₂	188,32	25,03	
Acide hexadécanoïque de methyl ester	Ester d'acide gras saturé	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	1321,22	13,07	
Stearate de méthyl	Ester d'acide gras saturé	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	1433,92	2,08	
acide oxoacétique	Acide carboxylique	C ₂ H ₂ O ₃	182,72	1,8698	
(3-Methyl-oxiran-2-yl)-methanol	Alcool primaire	C ₄ H ₈ O ₂	184,4	1,7947	
Acide thioacétique	Acide organique	C ₂ H ₄ OS	182,66	1,6372	
Acide oxalurique	Acide	C ₃ H ₄ N ₂ O ₄	180,98	1,348	
2-2-Aminoethoxy Ethanol	Alcanolamine	C ₄ H ₁₁ NO ₂	181,9	1,0491	
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester Oléate de méthyl	Ester d'acide gras monoinsaturé	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	1420,38	0,9586	
3-Amino-2-oxazolidinone	Oxazolidinone	C ₃ H ₆ N ₂ O ₂	284,02	0,11969	
Methyl propyl ether	Ether	C ₄ H ₁₀ O	231,14	0,073855	
Hexamethylcyclotrisiloxane	Silicone	C ₆ H ₁₈ O ₃ Si ₃	2081,48	0,025134	

1,2-Benzenediol, O-(2-furoyl)-O'-(pentafluoropropionyl)-	Acide carboxylique α -substitué	$C_{14}H_7F_5O_5$	365,26	0,0189 43	
4-Methyl-2,4-bis(p-hydroxyphenyl)pent-1-ene, 2TMS derivative	Alcène	$C_{24}H_{36}O_2Si_2$	2088,86	0,0179 13	
4-Methyl-2,4-bis(p-hydroxyphenyl)pent-1-ene, 2TMS derivative	Alcène	$C_{24}H_{36}O_2Si_2$	2082,7	0,0152 08	
4-tert-Octylphenol, TMS derivative	Phénol	$C_{17}H_{30}OSi$	2193,88	0,0144 24	
4-Methyl-2,4-bis(p-hydroxyphenyl)pent-1-ene, 2TMS derivative	Alcène	$C_{24}H_{36}O_2Si_2$	1875,8	0,0143 85	
1-Adamantylamine, N-tert-butyl dimethylsilyl-	Amine	$C_{16}H_{31}NSi$	2109,12	0,0085 18	

La Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de Masse (GC-MS) de la pulpe de baobab a permis de détecter 72 Composés dont 19 ont été identifiés. Ces composés appartenant aux groupes de composés suivants : ester, polyphénol, ester d'acides gras, alcane, alcène, acides, amine, alcool, oxazolidinone, ont plusieurs propriétés parmi lesquelles les propriétés organoleptiques et médicinales (Cissé, 2012). Les noms de ces composés, leurs natures, leurs formules moléculaires, leurs temps de rétention, le pourcentage de leurs aires, leurs structures et leurs propriétés sont consignés dans le tableau XXIV. Parmi ceux-ci, les composés majoritaires étaient l'acide Thio-acétique (% aire : 48,30), le carbamate d'ammonium (% aire : 25,03), palmitate de méthyle (% aire : 13,07). Le profil des composés volatils obtenu est très différent de celui de la pulpe du Mali (Braca *et al.*, 2018). La pulpe du fruit du baobab a une constitution très variable selon la région d'origine (Braca *et al.*, 2018).

Plusieurs des composés identifiés ont des propriétés sensorielles et biologiques connues :

✚ L'acide acétique participe à la saveur acide qui est l'une des particularités de la pulpe du fruit de baobab qui est recherchée et appréciée par plusieurs consommateurs. Le groupement

acétyle de cet acide est fondamental pour la biochimie de quasiment toutes les formes de vie. Lorsqu'il est lié au coenzyme A, il a une importance centrale dans le métabolisme des glucides et lipides.

✚ Le carbamate d'ammonium joue un rôle clé dans la formation du carbamoyl phosphate qui est nécessaire pour la production des pyrimidines ; dans cette réaction enzymatique, l'ATP et le carbamate sont convertis en ADP et carbamoyl phosphate :



✚ Le diglycolamine a une odeur et une forte capacité d'absorption.

III.2.1.4 Caractéristiques physicochimiques de la pulpe du fruit du baobab

Le tableau ci-contre présente les résultats de l'analyse de quelques paramètres physicochimiques (pH, degré brix et couleur) de la pulpe du fruit du baobab.

Tableau XXIV : Quelques paramètres physicochimiques de la poudre de pulpe du fruit du baobab

Eléments	Pulpe du fruit du baobab		
pH (T= 29,6 °C)	3,37 ± 0,00		
° Brix (T= 20°C)	5,00 ± 0,00		
Couleur	L*= 44,50 ± 0,78	a*= 2,83 ± 0,15	b*= 4,23 ± 0,30

La pulpe du fruit du baobab a un pH de 3,37, un degré brix de 5. La valeur du pH obtenu est similaire à celle de Cissé *et al.* (2008) et Kouamé *et al.* (2018), tandis que celle du degré brix est inférieure comparé à celle (6,7 ± 0,10) de Cissé (2012). La forte acidité limiterait la prolifération des microorganismes sensibles au pH et favoriserait sa conservation.

III.2.2 Optimisation de la qualité du jus de la pulpe du fruit du baobab

III.2.2.1 Effet des facteurs sur les réponses

Le tableau XXVI présente l'effet des facteurs sur la teneur en composés phénoliques, la CAT, l'activité anti-radicalaire DPPH, la teneur en fer et l'acceptabilité générale du jus de baobab.

Tableau XXVI: Effet des facteurs sur la teneur en composés phénoliques, la CAT, l'activité anti radicalaire DPPH, la teneur en fer et l'acceptabilité générale du jus de baobab

Essais	Variables			Réponses				
	X1 (g/L)	X2 (°C)	X3 (g)	Composés phénolique (mg EAG/100 mL)	DPPH (% Inhibition)	CAT (g EAA/100 mL)	Fer (µg/mL)	Acceptabilité générale
1	114,6	40	130,4	151,04	36,95	1,62	3,91	6,55
2	60,4	85	130,4	147,10	38,04	1,62	4,93	6,4
3	60,4	40	130,4	163,77	38,00	3,17	4,62	6,71
4	87,5	62,5	231	176,2	37,68	1,34	2,86	6,22
5	87,5	62,5	231	193,77	37,68	2,26	6,74	6,8
6	133	62,5	231	175,80	39,37	1,46	4,28	6,03
7	87,5	100	231	162,44	39,45	2,95	10,40	6,71
8	60,4	40	331,6	155,70	38,16	0,9	3,14	5,0
9	87,5	62,5	231	90,09	23,67	1,51	0,79	5,0
10	87,5	62,5	400	150,83	38,08	1,42	2,06	6,44
11	87,5	62,5	231	128,48	32,28	1,84	2,49	5,12
12	60,4	85	331,6	110,06	36,15	1,97	0,13	5,7
13	114,6	40	331,6	156,41	39,61	1,6	3,95	6,06
14	87,5	62,5	231	132,69	35,26	1,11	1,86	5,0
15	87,5	25	231	142,30	37,68	2,14	2,0	6,1
16	114,6	85	331,6	116,22	32,20	1,02	1,21	5,65
17	114,6	85	130,4	175,80	35,5	1,46	3,87	6,5
18	87,5	62,5	62	155,70	38,88	1,33	4,96	5,64
19	42	62,5	231	88,90	36,95	1,51	3,11	6,66

X_1 = Ratio pulpe/eau, X_2 = Température, X_3 = quantité de sucre

III.2.2.2. Proposition et validation des modèles

III.2.2.2.1. Proposition des modèles

Les modèles polynomiaux qui expliquent les variations des différentes réponses expérimentales ont été générés suivant l'équation du modèle et les coefficients sont représentés dans le tableau XXVII.

L'équation du modèle ajusté pour la capacité antioxydante totale (CAT) est la suivante :

$$\text{CAT (g EAA/100mL)} = 2,85054 - 0,033306X_1 - 0,022655X_2 - 0,001303X_3 + 0,000159X_1^2 - 0,000009X_1X_2 + 0,000075X_1X_3 + 0,000217X_2^2 - 0,000030X_2X_3 + 0,000004X_3^2$$

La teneur en composés phénoliques est donnée par le modèle suivant :

$$\text{Composés phénoliques (mg EAG/100mL)} = -34,1559 + 2,42716 X_1 + 1,01863 X_2 + 0,014890 X_3 - 0,004618X_1^2 - 0,007507X_1X_2 - 0,000706X_1X_3 - 0,001516X_2^2 + 0,000056 X_2X_3 + 0,000017 X_3^2$$

L'équation du modèle ajusté pour l'activité anti-radicalaire (DPPH) est la suivante :

$$\text{DPPH (\% Inhibition)} = 9,00501 + 0,589561X_1 - 0,118066X_2 + 0,001826 X_3 - 0,002972X_1^2 + 0,000809785X_1X_2 - 0,000025 X_1X_3 + 0,001253 X_2^2 - 0,000395X_2X_3 + 0,000058 X_3^2$$

La teneur en fer est donnée par le modèle suivant :

$$\text{Fer (\mu g/mL)} = 9,43674 - 0,080653X_1 - 0,049748X_2 - 0,053291 X_3 + 0,000058X_1^2 + 0,000857X_1X_2 + 0,000382 X_1X_3 - 0,000469X_2^2 + 0,000335X_2X_3 + 0,000014X_3^2$$

L'équation du modèle ajusté pour l'acceptabilité générale est la suivante :

$$\text{Acceptabilité générale} = 2,20236 + 0,038367X_1 + 0,001702X_2 + 0,014377X_3 - 0,000243X_1^2 + 0,000210X_1X_2 + 0,000045X_1X_3 - 0,000226X_2^2 + 0,000014X_2X_3 - 0,000037X_3^2$$

Avec X_1 , X_2 et X_3 représentant respectivement le ratio pulpe/L d'eau, la température et la quantité de sucre/ L de jus.

III.2.2.2.2. Fiabilité des modèles

L'analyse des différents modèles montre que les valeurs de R^2 et R^2 ajusté sont supérieures à 80% (Tableau XXVII); ces modèles de second ordre expliquent donc plus de 80% du phénomène observé pour chaque réponse et peuvent être considérés comme fiables (Joglekar et May, 1987). De plus, toutes les valeurs de l'analyse absolue de déviation moyenne (AADM) sont proches de 0 et celles des facteurs d'exactitude (Af) et de biais (Bf) comprennent entre 0,75 et 1,25 tel que défini par Dalgaard et Jorgensen (1998) pour des modèles valides.

Tableau XXVII : ANOVA des réponses du plan composite centré pour la production du jus de baobab

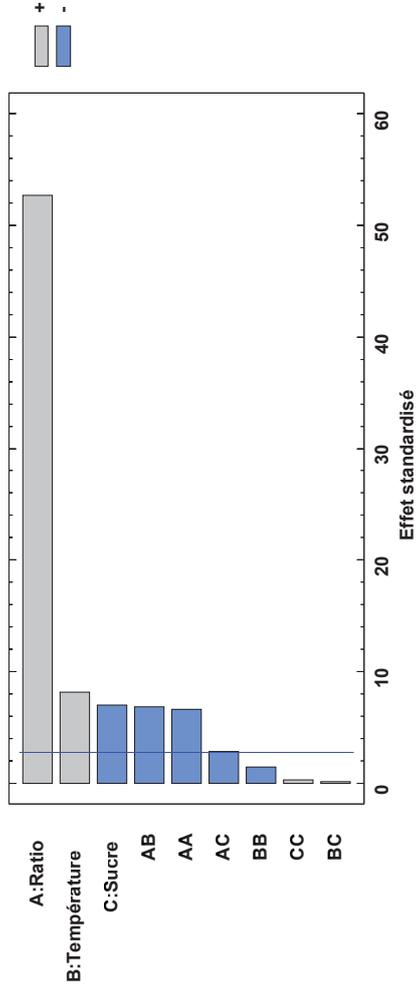
FACTEURS	CAT						DPPH								
	DL	Coefficient	SC	F-ratio	P-value	DL	Coefficient	SC	F-ratio	P-value	DL	Coefficient	SC	F-ratio	P-value
X0, Constant		2,850					-34,155					9,005			
<i>Linéaire</i>															
X1 : Ratio pulpe/eau (g/L)	1	- 0,033	1,312	169,13	0,0002***	1	2,427	9763,07	2770,08	0,0000***	1	0,589	130,187	116,69	0,0004***
X2 : Température (°C)	1	- 0,022	0,079	10,22	0,0330*	1	1,018	236,901	67,22	0,0012**	1	- 0,118	2,27369	2,04	0,2266
X3 : Quantité de Sucre (g/ L)	1	- 0,001	4,316	556,18	0,0000***	1	0,014	172,414	48,92	0,0022**	1	0,001	0,493	0,44	0,5424
<i>Quadratique</i>															
X1 ²	1	0,0001	0,186	24,06	0,0080**	1	- 0,004	157,032	44,55	0,0026**	1	- 0,002	65,067	58,32	0,0016**
X2 ²	1	0,0002	0,165	21,39	0,0098**	1	- 0,001	8,050	2,28	0,2052	1	0,001	5,495	4,93	0,0907
X3 ²	1	0,0000	0,031	4,12	0,1124	1	0,000	0,427	0,12	0,7453	1	0,000	4,791	4,29	0,1070
<i>Interaction</i>															
X1X2	1	- 0,000	0,000	0,03	0,8637	1	- 0,007	167,627	47,56	0,0023**	1	0,000	1,950	1,75	0,2566
X1X3	1	0,000	0,339	43,79	0,0027**	1	- 0,000	29,658	8,42	0,0441*	1	- 0,000	0,040	0,04	0,8589
X2X3	1	- 0,000	0,039	5,05	0,0880	1	0,000	0,129	0,04	0,8574	1	- 0,000	6,407	5,74	0,0746
Test de manque d'adéquation	5		0,228	5,88	0,0554	5		192,072	10,90	0,0191*	5		17,636	3,16	0,1438
Erreur pure	4		0,031			4		14,097			4		4,462		
Total (corr.)	18		6,659			18		10741,1			18		250,115		
R2		96,107					98,080					91,164			
R2 Ajusté		92,214					96,161					82,328			
AF		1,067					1,018					1,024			
BF		1,000					1,000					1,000			
AADM		0,065					0,018					0,023			

FACTEURS	FER						Acceptabilité generale					
	DL	Coefficient	SC	F-ratio	P-value	DL	Coefficient	SC	F-ratio	P-value		
X0, Constant		9,436					2,202					
<i>Linéaire</i>												
X1 : Ratio pulpe/eau (g/L)	1	-0,080	51,313	45,12	0,0026**	1	0,038	3,826	371,48	0,0000***		
X2 : Température (°C)	1	-0,049	13,361	11,75	0,0266*	1	0,001	0,160	15,54	0,0169*		
X3 : Quantité de Sucre (g/L)	1	-0,053	8,097	7,12	0,0559	1	0,014	0,432	42,04	0,0029**		
<i>Quadratique</i>												
X1 ²	1	0,000	0,025	0,02	0,8888	1	-0,000	0,435	42,33	0,0029**		
X2 ²	1	-0,000	0,771	0,68	0,4564	1	-0,000	0,179	17,39	0,0140*		
X3 ²	1	0,000	0,280	0,25	0,6457	1	-0,000	2,009	195,05	0,0002***		
<i>Interaction</i>												
X1X2	1	0,000	2,186	1,92	0,2379	1	0,000	0,132	12,83	0,0231*		
X1X3	1	0,000	8,697	7,65	0,0506	1	0,000	0,124	12,10	0,0254*		
X2X3	1	0,000	4,601	4,05	0,1146	1	0,000	0,008	0,83	0,4151		
Test de manque d'adéquation	5		3,301	0,58	0,7192	5		0,190	3,69	0,1148		
Erreur pure	4		4,549			4		0,041				
Total (corr.)	18		97,365			18		7,159				
R2		91,936						96,767				
R2 Ajusté		83,873						93,534				
AF		1,229						1,015				
BF		0,968						1,000				
AADM		0,209						0,014				

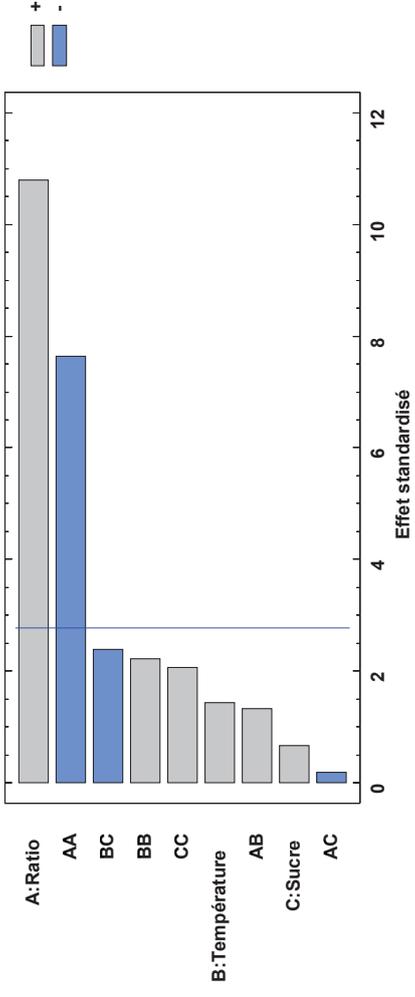
Les résultats de l'analyse des variances des différentes réponses montrent que pour la teneur en composés phénoliques, la CAT et l'acceptabilité générale tous les facteurs sont significatifs ($p < 0,05$). Par ailleurs, le ratio pulpe/eau et la température sont significatifs ($p < 0,05$) pour la teneur en fer tandis que seul le ratio pulpe/eau l'est pour l'activité antiradicalaire DPPH.

Les effets des différents facteurs sur les réponses mesurées sont illustrés par les diagrammes de Pareto (Figure 30 et 31). Le ratio pulpe/eau et la température influencent significativement ($p < 0,05$) en augmentant la quantité de composés phénoliques dans le jus de baobab. Par contre, la quantité de sucre, l'effet quadratique du ratio et les interactions entre le ratio et la température d'une part et entre le ratio et la quantité de sucre d'autre part réduit significativement ($p < 0,05$) la quantité de composés phénoliques. L'activité antiradicalaire est augmentée de manière significative ($p < 0,05$) par le ratio pulpe/eau tandis qu'elle est significativement ($p < 0,05$) diminuée par l'effet quadratique dudit ratio. La CAT est significativement ($p < 0,05$) augmentée par le ratio pulpe/eau, la quantité de sucre, les effets quadratiques du ratio et de la température et l'interaction entre le ratio et la quantité de sucre ; tandis qu'elle est significativement ($p < 0,05$) réduite par la température. Lorsqu'on s'intéresse à la quantité de fer présent dans les jus, les facteurs à effets positifs et significatifs ($p < 0,05$) sont le ratio pulpe/eau et la température. Pour ce qui est de l'acceptabilité générale des jus, à l'exception de l'interaction température-sucre, tous les facteurs, leurs interactions et leurs effets quadratiques ont montré une influence significative ($p < 0,05$) (Figure 31). Cette influence est positive pour le ratio, le sucre, les interactions ratio-sucre et ratio-température et négative pour la température et tous les effets quadratiques tel qu'illustrée par la figure 31.

Composés phénoliques



DPPH



CAT

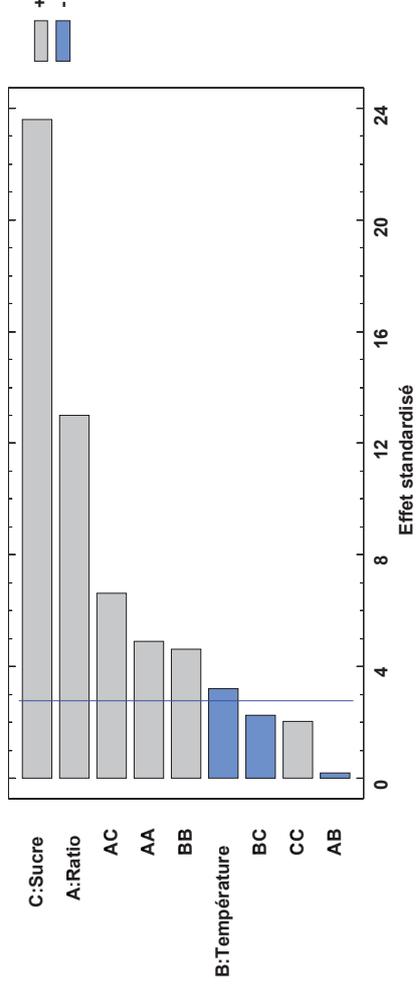
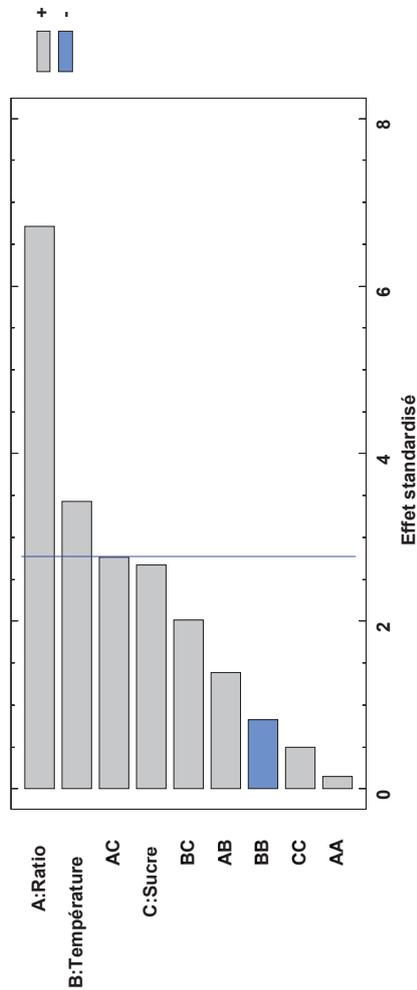


Figure 30 : Diagramme de Pareto illustrant l'effet des différents facteurs sur la teneur en composés phénoliques, l'activité anti-radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale du jus de baobab

Fer



Acceptabilité générale

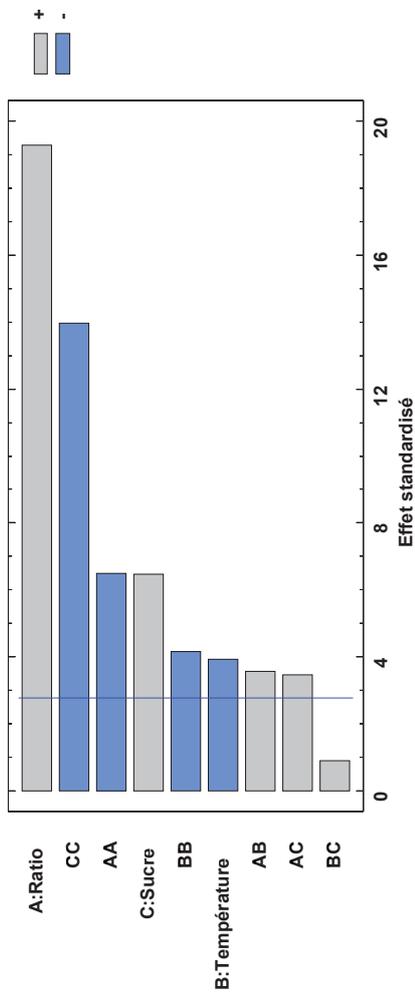


Figure 31: Diagramme de Pareto illustrant l'effet des différents facteurs sur la teneur en fer et l'acceptabilité générale du jus de baobab

III.2.2.3. Effet des facteurs sur la teneur en composés phénoliques du jus de baobab

La figure ci-contre présente l'effet du ratio pulpe/eau et de la température sur la teneur en composés phénoliques du jus de baobab.

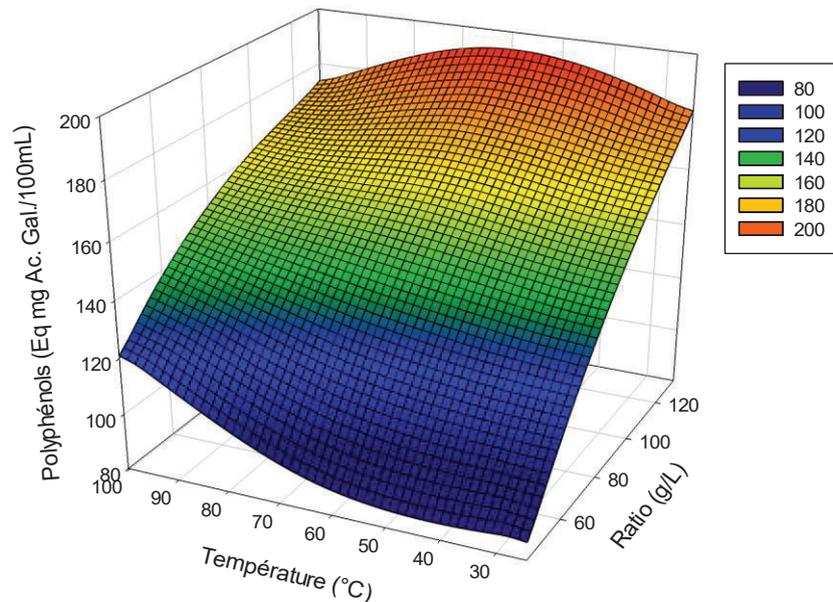


Figure 32 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur la teneur en composés phénoliques du jus de baobab

De la figure 32, on note que l'augmentation du ratio entraîne une augmentation de la teneur en composés phénoliques, la teneur maximale se situant entre 40 °C à 90 °C pour la température et au dessus de 120 g/L pour le ratio pulpe/eau. Lorsque la température et le ratio augmentent conjointement, la teneur en composés phénoliques augmente également, mais au-delà de 90 °C, l'augmentation de la température et du ratio entraîne plutôt une baisse de cette teneur. Ce résultat corrobore celui de Singh *et al.* (2011) qui ont constaté que l'extraction des composés phénoliques dépend des facteurs comme le ratio quantité de matière/eau et la température. Mang *et al.* (2015) ont également observé que les composés phénoliques diffusent de la pulpe à l'eau et sont solubilisés en établissant des ponts hydrogènes avec de l'eau. Théoriquement, la diffusion des composés phénoliques va continuer jusqu'à ce que la saturation soit atteinte. Plus la quantité de pulpe sera élevée en solution, plus rapidement la saturation sera atteinte. L'augmentation de la température tend à accélérer l'atteinte de cette saturation (Mang *et al.*, 2015).

De plus, il a également été rapporté que l'augmentation de la température peut favoriser le transfert de masse et la solubilité, réduire la viscosité de la solution et augmenter la vitesse

d'extraction des composés phénoliques (Zhang *et al.*, 2009). En effet, l'augmentation de la température causerait des réactions physiques et chimiques complexes qui libèreraient les composés phénoliques liés et certains enzymes tels que la polyphénol oxydase (désactivées par la chaleur) par la rupture des membranes cellulaires qui les contiennent (Abad-García *et al.*, 2007 ; Chen *et al.*, 2013). La diminution observée au-delà de 90 °C pourrait être due à dégradation de certains composés phénoliques causée par l'hydrolyse, les réactions redox internes et la polymérisation tel que rapporté par Alonso-Salces *et al.* (2001) et Bouba *et al.* (2014). Aussi, la perte de certains composés phénolique par volatilisation, décomposition thermique et complexation avec certaines molécules conduisant à leurs précipitations (Alonso-Salces *et al.*, 2001 ; Bouba *et al.*, 2014) pourrait également justifier la diminution de la teneur en composés phénoliques.

III.2.2.4. Effet des facteurs sur l'activité anti-radicalaire DPPH du jus de baobab

L'effet du ratio pulpe/eau et de la température sur l'activité anti-radicalaire DPPH du jus de baobab est présenté par la figure suivante.

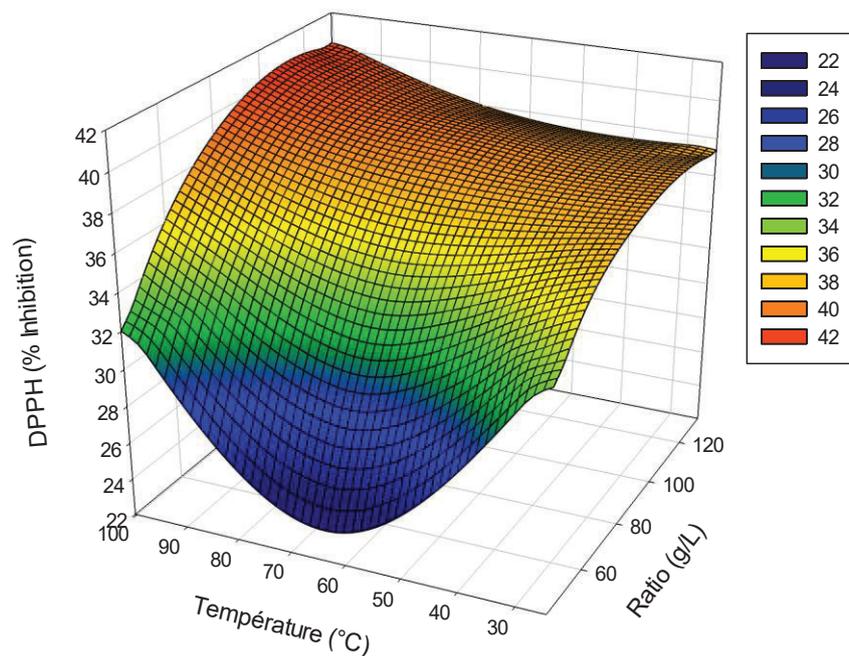


Figure 33 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur l'activité anti-radicalaire DPPH du jus de baobab

Il ressort de cette surface de réponses que l'activité anti-radicalaire DPPH augmente avec la température de 30 à 40 °C, mais pour les valeurs comprises entre 40 et 90 °C on note plutôt une inhibition, puis une augmentation jusqu'à 100 °C. Pour ce qui est du ratio, son

augmentation se traduit par une augmentation de l'activité anti-radicalaire. De même, pris simultanément, l'augmentation de la température et du ratio est associée à une augmentation de cette activité ; l'activité maximale est observée entre 90 -100 °C et entre 100-120 g/L. Plusieurs chercheurs ont reporté une corrélation positive, élevée et significative entre les composés phénoliques et l'activité antioxydante (Yang *et al.*, 2010 ; Maizura *et al.*, 2011) ; mais dans cette étude, le contraire est plutôt observé pour ce qui est de l'activité anti-radicalaire. L'augmentation de l'activité anti-radicalaire DPPH entre 90 et 100°C pourrait être attribuée à la formation des nouveaux composés non phénoliques (par la polymérisation des composés phénoliques) ayant des activités antioxydantes et par la formation des produits de la réaction de Maillard comme les mélanoidines qui possèdent également une activité antioxydante (Piljac-Žegarac *et al.*, 2009). En effet, au cours de la préparation du jus, nous avons remarqué un changement de la couleur blanchâtre au brun, ce qui traduirait la réaction de Maillard qui est un brunissement non enzymatique. Le brunissement non enzymatique du jus pendant le traitement thermique est probablement dû à celui de l'acide ascorbique. Le jus du fruit du baobab est acide (pH < 3,01) et contient une teneur élevée en acide ascorbique et acides aminés (Chadare *et al.*, 2009) avec la tyrosine, l'acide glutamique et l'acide aspartique comme acides aminés prédominants (Osman, 2004). Tout cela pourrait influencer le brunissement de l'acide ascorbique à une température élevée avec la formation des mélanoidines (Davies et Wedzicha, 1994) qui justifierai l'activité anti-radicalaire élevée observée.

III.2.2.5. Effet des facteurs sur la capacité antioxydante totale du jus de baobab

La figure suivante montre l'effet du ratio pulpe/eau et de la température sur la CAT du jus de baobab.

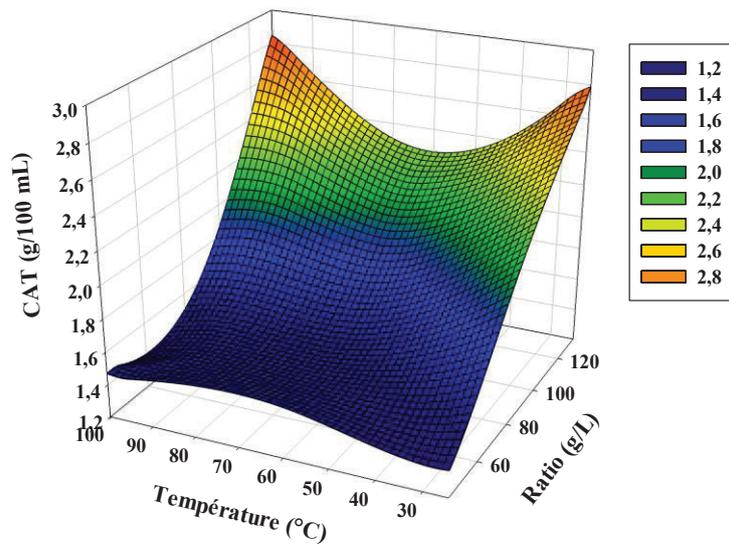


Figure 34 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur la CAT du jus de baobab

L'effet simultané du ratio pulpe/eau et de la température sur la CAT du jus de baobab est illustré par la figure 34. On observe que l'augmentation de la température seule n'a pas d'effet sur la CAT. Lorsque les températures et les ratios sont faibles, la CAT est faible. Lorsque le ratio augmente et la température est fixe, la CAT augmente. Quand la température et le ratio augmentent simultanément, on a également une augmentation de la CAT, la valeur maximale se situant entre 90-100°C pour la température et au-delà de 120 g/L pour le ratio pulpe/eau. L'augmentation de la CAT au fur et à mesure que le ratio et la température augmentent serait attribuable à la capacité de ces facteurs à stimuler l'extraction des composés phénoliques qui sont responsables de cette activité antioxydante. En effet, les températures élevées favorisent l'extraction des composés phénoliques par le biais de leurs actions sur les membranes cellulaires qui sont de nature phospholipidique. Une observation similaire a été faite par Singh *et al.* (2011). Ces auteurs ont également constaté que l'extraction des composés doués d'activité antioxydante était significativement importante pour des valeurs de température et ratio élevées. En outre, l'aptitude des températures élevées à rompre les liaisons entre les composés phénoliques et les membranes telle que souligné par Leong et Oey, (2012) dans leur étude, pourrait expliquer l'augmentation de la CAT sous l'effet des températures et ratio élevées. Mis à part la contribution des composés phénoliques dans l'augmentation de la CAT, la formation des composés bruns issus de la réaction de Maillard et qui sont doués d'activité antioxydante pourrait également justifier cette augmentation de la CAT. Kim *et al.* (2003) ont également notifié que les produits issus de la réaction de Maillard sont doués d'activité antioxydante.

III.2.2.6. Effet des facteurs sur la teneur en fer du jus de baobab

L'effet du ratio pulpe/eau et de la température sur la teneur en fer du jus de baobab est illustré par la figure qui suit.

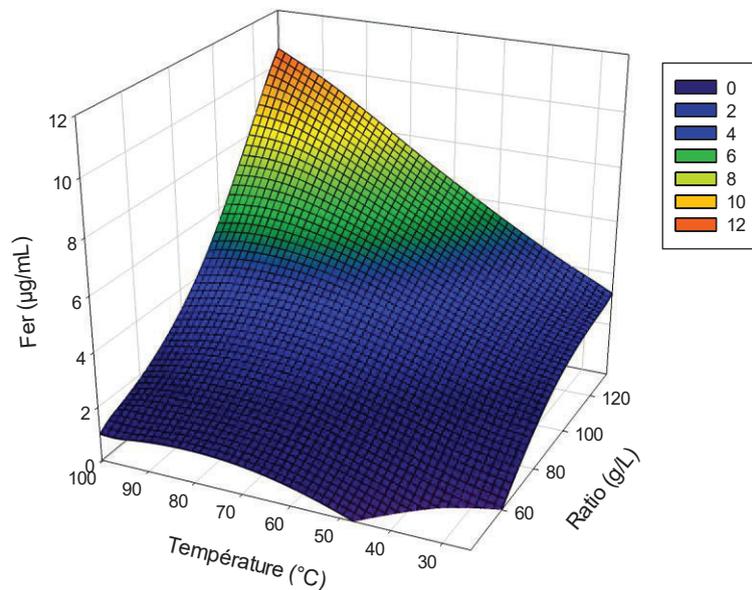


Figure 35 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur la teneur en fer du jus de baobab

L'augmentation du ratio jusqu'à 60 g/L conjointement à une augmentation de la température jusqu'à environ 48 °C a pour conséquence une baisse de la teneur en fer. Au-delà de 48 °C, on observe plutôt une augmentation significative la teneur en fer lorsque le ratio et de la température augmentent simultanément. Les concentrations en fer maximales sont obtenues entre 90-100 °C pour la température et au-delà de 120 g/L.

Le fer est apporté par la matrice alimentaire et les traitements thermiques n'ont pas d'effet sur sa teneur surtout au vu de la méthode d'analyse. Son augmentation serait donc principalement due au ratio. Plus le ratio est élevé, plus la quantité de fer contenue le sera également.

III.2.2.7 Effet des facteurs sur l'acceptabilité générale du jus de baobab

La figure 36 illustre l'effet du ratio pulpe/eau et de la température sur l'acceptabilité générale du jus de baobab.

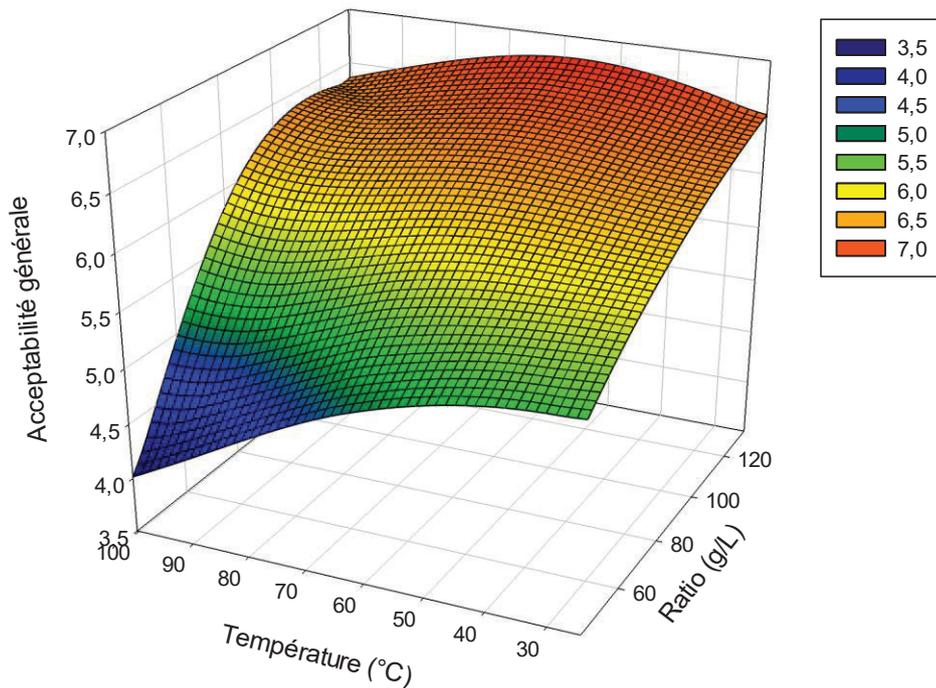


Figure 36 : Effet du ratio pulpe/eau et de la température sur l'acceptabilité générale du jus de baobab

Il ressort de la surface de réponse (Figure 36) que le jus est d'autant plus accepté par les consommateurs lorsque son ratio augmente. L'augmentation de la température et la baisse du ratio entraîne la baisse de l'acceptabilité générale tandis qu'une augmentation de la température et du ratio simultanément conduit à une augmentation de l'acceptabilité générale ; le jus étant plus accepté pour le ratio pulpe/eau compris entre 110-120 g/L et la température entre 40-80°C. En effet, le ratio pulpe/eau influence la texture du jus, il détermine si le jus sera épais ou léger (Charles *et al.*, 2007). L'épaisseur de ce jus est due à sa forte teneur en pectine et fibre (Tembo, 2017), plus le ratio est important, plus la quantité de fibre le sera et donc le jus sera plus épais et par ricochet plus accepté. L'impact négatif qu'a l'augmentation de la température seule et particulièrement les températures au-delà de 80 °C serait dû au fait que les traitements thermiques entraînent des changements au niveau des propriétés sensorielles des produits en affectant la couleur, l'odeur, la flaveur, le goût et par conséquent l'acceptabilité générale du jus. Le jus est d'autant plus accepté que sa couleur, son odeur et son goût sont proches de celui du fruit. Tel que relevé précédemment dans les résultats de l'enquête, les consommateurs préfèrent mieux la couleur blanchâtre caractéristique du fruit qui sous l'effet de la température change en brun par la réaction de Maillard. Aussi, les composés d'arôme sont pour la plupart volatils et très sensibles à la l'augmentation de la température ; ces derniers seraient donc détruits par

l'élévation de la température qui développerait également le goût du cuit. La qualité organoleptique des fruits et jus de fruit, la stabilité et la flaveur sont fortement dépendantes de la composition en sucre ; bien que la teneur en acides organiques soit plus faible que celle des sucres, leur impact est important pour la qualité des fruits. Le fruit du baobab a une teneur significativement élevée en acides organiques principalement les acides citrique, tartrique, malique et succinique (Tembo, 2017) qui le rend acide. De ce fait, une augmentation du ratio entrainerait une baisse du pH donc rendrait le jus plus acide et mieux apprécié des consommateurs qui pour la plupart sont attirés par cette acidité du fruit du baobab comme nous le montre plus haut l'enquête. Nous observons qu'entre 40 et 80 °C de même que l'acceptabilité générale est optimale, les composés phénoliques le sont également. Ceci traduirait une contribution significative des composés phénoliques sur l'acceptabilité générale. Il est également important de noter que les composés phénoliques participent à la qualité organoleptique, les propriétés les plus évidentes qui leurs sont attribuées étant la couleur et l'astringence (Chang *et al.*, 1994).

III.2.2.8 Conditions optimales et optimisation multi-réponses du jus de baobab

La combinaison des facteurs expérimentaux qui optimisent de façon simultanée toutes les réponses a été faite par superposition des différentes réponses (Figure 37) et par une optimisation multi-réponse utilisant la fonction de désirabilité. Cette superposition a permis d'obtenir la zone optimale qui se situe entre 90-100 °C pour la température et au-delà de 120 g/L pour le ratio pulpe/eau. La fonction de désirabilité permet une transformation des différentes réponses mesurées en une valeur de désirabilité comprise entre 0 (non désirable) et 1 (plus désirable). La désirabilité totale a donc été déterminée par combinaison des désirabilités des différentes réponses pour optimiser simultanément toutes les réponses mesurées. Ainsi, l'optimisation simultanée de toutes les réponses mesurées a été réduite à l'optimisation d'une seule réponse : la désirabilité totale nous a donné une désirabilité optimale de 0,95. Ce qui nous a proposé comme point optimal de production du jus de baobab un ratio pulpe/eau de 131,28 g/L, une température de 100 °C et une quantité de sucre de 308,36 g. Ces conditions permettent d'avoir une teneur en composés phénoliques de 172,33 mg EAG/100 mL, un pourcentage d'inhibition du radicale DPPH de 39,45%, une capacité antioxydante globale de 3,17 g EAA/100 mL, une teneur en fer de 12,19 µg/mL avec une acceptabilité générale de 6,84/9.

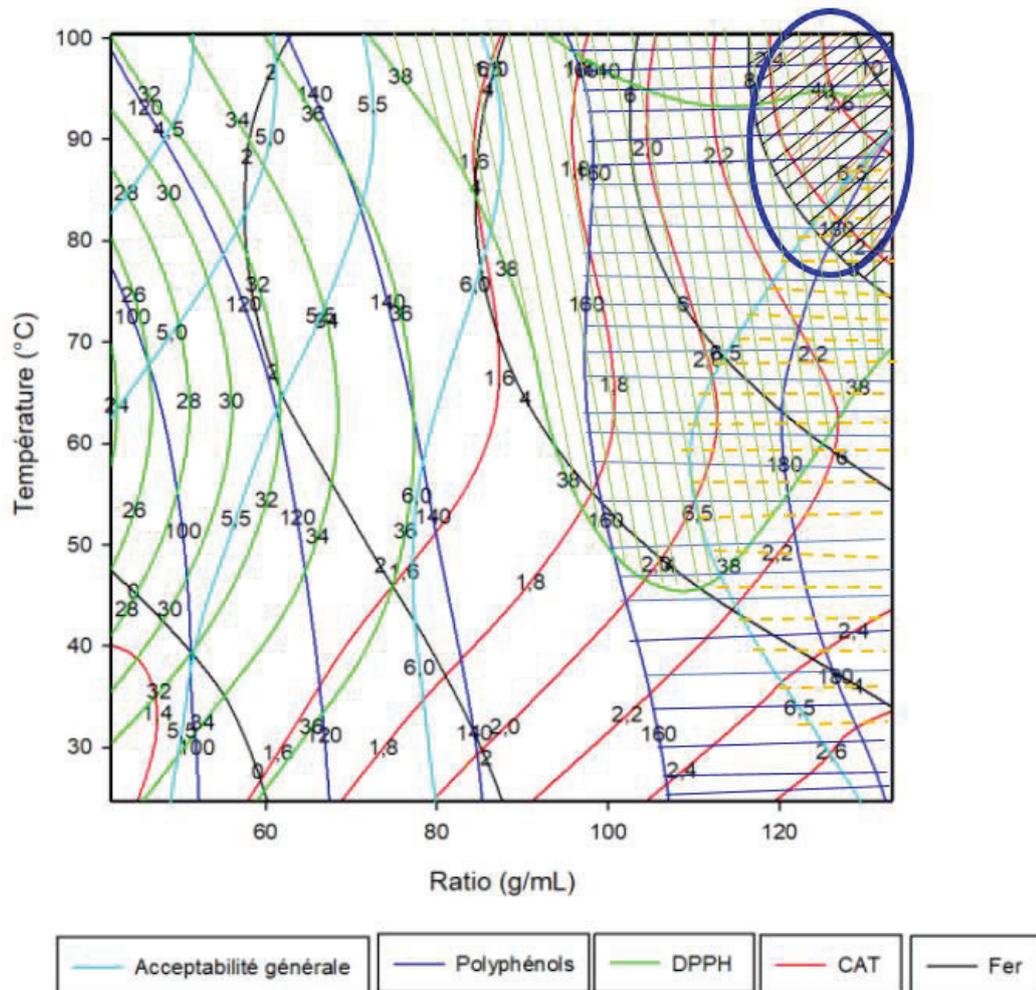


Figure 37 : Superposition des différentes réponses

Afin de valider le modèle proposé, des expériences ont été effectuées en triple au point optimal proposé par la désirabilité optimale. Les réponses observées à l'issue de ces expérimentations ont été comparées avec celles prédites par le modèle en utilisant le test-t de student (tableau XXVIII). Les résultats obtenus n'ont pas montré de différence significative ($p > 0,05$) entre les essais préparés dans les conditions expérimentales et les valeurs prédites. C'est la preuve que les équations de modèle précédemment obtenues pour chaque réponse sont adéquates pour expliquer le phénomène observé.

Tableau XXVIII: Valeurs prédites et expérimentales des réponses obtenues dans les conditions optimales de la production du jus de baobab

Réponses	Prédite	Expérimentale	P-Value
Composés phénoliques (mg EAG/100 mL)	172,33	172,30 ± 0,05	0,53
DPPH (% Inhibition)	39,45	36,05 ± 4,99	0,062
CAT (g EAA/100 mL)	3,17	4,15 ± 1,98	0,068
Fer (µg/mL)	12,19	13,15 ± 3,45	0,117
Acceptabilité générale	6,84	6,87 ± 0,05	0,44

*= Significatif à $p < 0,05$ à l'issue du test de t-Student

III.2.2.9 Comparaison du jus optimisé et des jus traditionnels

Le tableau ci-dessous nous montre les taux de variation des réponses de l'optimisation comparés aux procédés artisanaux. Il ressort que l'optimisation a amélioré tous les procédés artisanaux pour l'activité antiradicalaire DPPH et les teneurs en composés phénoliques. Les taux de variation les plus élevés étaient de + 353, 97% pour le pourcentage d'inhibition du radical DPPH et de + 650,23% pour les teneurs en composés phénoliques. La capacité antioxydante totale (CAT) a été augmentée comparée au lot 1 tandis qu'elle a diminué comparé au lot 2. La plus grande augmentation était de + 387,69% et la diminution la plus prononcée était de - 39,50%. L'optimisation a amélioré considérablement les procédés artisanaux.

Tableau XXIX : Taux de variation des réponses comparés aux procédés artisanaux

Réponses	Optimum	Traditionnel	Lot 1	% Variation	Lot 2	% Variation
CAT (g EAA/100 mL)	3,17	Macération	0,65	387,69	4,06	-21,92
		Infusion 40°C	1,85	71,35	4,45	-28,76
		Infusion 100°C	2,06	53,88	5,24	-39,50
		Decoction	2,51	26,29	5,76	-44,96
DPPH (% Inhibition)	39,45	Macération	10,85	263,59	28,83	36,8
		Infusion 40°C	8,69	353,97	25,94	52,08
		Infusion 100°C	14,57	170,76	28,4	38,90
		Decoction	25,79	52,96	33,08	19,25
Composés phénoliques (mg EAG/100mL)	172,33	Macération	24,05	616,54	39,67	334,40
		Infusion 40°C	22,97	650,23	37,14	364,00
		Infusion 100°C	26,16	558,75	41,95	310,79
		Decoction	34,12	405,07	46,72	268,85

III.2.3 Caractérisation du jus de baobab produit dans les conditions optimales

III.2.3.1 Caractéristiques nutritionnelles

III.2.3.1.1 Composition proximale, teneur en vitamine C et valeur énergétique du jus de baobab

Du tableau XXX, il ressort que les teneurs en lipides, protéines, glucides, fibres brutes et cendres sont respectivement de 3,09 ; 0,83 ; 86,66 ; 2,46 et 0,71 g/100 mL de jus pour une valeur énergétique totale de 377,77 kcal/100 mL de jus. Les teneurs en lipides, protéines, glucides et la valeur énergétique de ce jus sont supérieures à celles des jus d'orange, ananas, pamplemousse, pomme, tomate et raisin.

La teneur en vitamine C quant à elle est de 18,69 mg/100 mL de jus. Elle est supérieure à celle des jus traditionnels de baobab du Sénégal (12-14 mg/100 mL) et des jus de baobab commercialisés au Malawi (5,09 mg/100 mL) (Cissé *et al.*, 2009 ; Tembo, 2016). La consommation de 134 mL de ce jus par les enfants âgés de 4 à 8 ans et 455 mL par les adultes par jour couvrirait totalement leurs apports nutritionnels recommandés en vitamine C qui sont respectivement de 25 mg et 85 mg/jour. La vitamine C est un antioxydant, elle accroît l'absorption du fer, stimule la surrénale (antifatigue) et régénère la vitamine E.

Tableau XXX: Composition proximale, teneur en vitamine C et valeur énergétique du jus de baobab

Eléments	Teneur dans le jus de baobab
Lipides totaux (g/100 mL de jus)	3,09 ± 0,30
Protéines totales (g/100 mL de jus)	0,83 ± 0,00
Sucres solubles (g/100 mL de jus)	9,43 ± 0,55
Glucides totaux (g/100 mL de jus)	86,66 ± 0,82
Fibres brutes (g/100 mL de jus)	2,46 ± 0,48
Cendres totales (g/100 mL de jus)	0,71 ± 0,01
Vitamine C (mg/100 mL de jus)	18,69 ± 1,84
Valeur énergétique (kcal/100 mL de jus)	377,77

III.2.3.1.2 Composition en éléments minéraux

La teneur en minéraux des fruits et jus de fruit est l'un des critères qui guide le consommateur dans ses choix. Le tableau suivant présente les teneurs en différents minéraux du jus de baobab produit dans les conditions optimales.

Tableau XXVIII: Composition en éléments minéraux du jus de baobab

Minéraux	Jus baobab (mg/100 mL)
Ca	42,86 ± 0,00
Mg	22,20 ± 0,03
P	9,29 ± 0,01
K	370,77 ± 0,1
Na	4,13 ± 0,5
Cu	0,26 ± 0,04
Fe	0,85 ± 0,01
Mn	0,13 ± 0,21
Zn	0,17 ± 0,02

Les teneurs les plus élevées étaient celles du potassium et du calcium. Les teneurs en tous ces minéraux à l'exception du phosphore étaient plus élevées que celles retrouvées en moyenne dans la majorité de jus de fruits. Plus spécifiquement, le potassium et le magnésium étaient plus élevés que dans les jus d'orange, tomate, raisin, ananas, pamplemousse, pomme et multi fruits (Mahapatra *et al.*, 2012).

La consommation de 350 mL de ce jus par jour par un enfant de 4-8 ans contribuerait à couvrir 29,75% ; 18,75% et 14,5% de ses besoins journaliers respectifs en Fe, Ca et Zn. Une femme âgée de 19-50 ans qui consommerait à chaque repas 350 mL de ce jus couvrirait 29,75% ; 45% et 36,42% des mêmes besoins journaliers. Comme le cuivre, le zinc est un des cofacteurs essentiels de la SOD. Il est aussi capable d'inhiber les réactions de formation de ROS induites par des métaux de transition comme le fer ou le cuivre. Aussi, le rapport Cu/Zn, normalement inférieur à 1,5, est un excellent indicateur de l'état de stress oxydant d'un individu. La participation du cuivre, du zinc, du fer, et du manganèse est essentielle à l'action de ces enzymes. Aussi, un déficit en micronutriments pourra être à l'origine d'un dysfonctionnement de celles-ci. Le zinc agit également en stimulant les défenses immunitaires, en protégeant contre le vieillissement cellulaire et en maintenant la qualité de la peau, des ongles et des cheveux.

III.2.3.2 Screening phytochimique du jus de baobab

Les résultats de l'analyse qualitative des métabolites secondaires du jus de baobab sont consignés dans tableau ci-dessous.

Tableau XXIXII : Analyse qualitative des métabolites secondaires du jus de baobab

Métabolites	Extraction H ₂ O	Extraction Ethanol 70%
Flavonoïdes	+	+
Saponines	+	+
Glycosides	+	+
Tanins	+	+
Quinones	-	-
Phénols	+	+
Stérols	-	+
Triterpènes	+	+
Anthocyanes	-	-
Alcaloïdes	+	-

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires dans le jus de baobab. Nous avons noté la présence des flavonoïdes, saponines, glycosides, tanins, phénols, stérols, triterpènes et alcaloïdes. Cependant, les tests se sont révélés négatifs pour les anthocyanes, les quinones. Les stérols présents dans la pulpe ont été absents dans le jus (extrait aqueux) tandis que les triterpènes et les alcaloïdes absents dans la pulpe ont été présents dans le jus. Il a été démontré que les flavonoïdes, les terpenoïdes et les alcaloïdes peuvent avoir de faibles effets œstrogéniques ou anti-œstrogéniques chez les mammifères (Kuiper *et al.*, 1998 ; Cos *et al.*, 2003 ; FSA, 2003 ; Yildiz, 2005 ; Steinshamn *et al.*, 2008).

III.2.3.3 Qualité microbiologique du jus de baobab

Aussi important que peut être un jus sur le plan nutritionnel et fonctionnel, s'il ne respecte pas les normes microbiologiques de base il ne pourra pas être consommé sans danger. Ainsi, pour s'assurer de la qualité microbiologique du jus de baobab produit, les flores d'altération (la flore mésophile aérobie totale, la flore fongique et les bactéries lactiques) ont été explorées directement après production et les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXXIII : Charge microbiologique du jus de baobab

Analyses	Pulpe (log UFC/g)	Jus avant pasteurisation (log UFC/mL)	Jus pasteurisé (log UFC/mL)
FMAT	6,74	5,61	3
Flore fongique	6,71	5,61	0
Bactéries lactiques	5,54	3,55	0

III.2.3.3.1 Flore mésophile aérobie totale (FMAT)

La numération de la flore mésophile aérobie totale (Tableau XXXIII) fait état au jour de la production du jus de 3 log UFC/mL dans le jus. Au départ, le jus non pasteurisé contenait 5,61 log UFC/mL ; ce qui traduit une réduction presque de moitié de cette charge microbienne. Cissé *et al.* (2013) ont obtenu un taux de réduction (78,70%) supérieur à celui de cette étude. Ce résultat est en accord avec les normes microbiologiques qui fixe à un maximum de 5 log UFC/mL la charge de la FMAT acceptable d'un jus de fruit. Cependant la présence de cette charge de la FMAT pourrait cacher certains pathogènes quoiqu'étant dans le respect de la norme.

III.2.3.3.2 Flore fongique : Levures et moisissures

Le tableau XXXIII, montre que le jus obtenu directement à la fin de la production, a un niveau de flore fongique non détectable. Le procédé réduit totalement la charge microbienne du jus avant pasteurisation. Le jus obtenu est donc exempt de toute flore fongique détectable. Ces résultats sont en accord avec ceux de Abdalla *et al.* (2010) et Cissé *et al.* (2013) qui ont également obtenu une réduction totale de la flore fongique après pasteurisation du jus de baobab. L'altération des jus de fruits par les levures se caractérise principalement par la formation de CO₂ et d'éthanol issus de la fermentation alcoolique, certaines de ces levures ont la capacité de résister aux conservateurs souvent utilisés, ce qui constitue une véritable menace pour la stabilité des jus de fruits. Les moisissures quant à elles produisent des enzymes pectinolytiques qui affectent alors la stabilité des jus. Certaines espèces isolées sont connues pour leur résistance au traitement thermique (Tchuenchieu, 2017).

III.2.3.3.3 Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques étaient à un seuil non détectable dans le jus produit. Comme Diop *et al.* (2005) et Cissé *et al.* (2013), il a été noté une réduction totale des bactéries lactiques après pasteurisation. Le jus à la production était exempt de toute bactérie lactique détectable. Les

bactéries lactiques produisent des acides organiques, le CO₂ et l'éthanol qui altèrent la qualité physicochimique et organoleptique du jus.

L'ensemble de ces analyses microbiologiques démontrent la fiabilité du procédé d'optimisation utilisé. Suite à ce traitement, il reste des flores totales inconnues qu'il sera important de caractériser. La destruction totale de la flore n'étant pas atteinte, une date limite de consommation (DLC) du jus devrait être fixée. Il serait judicieux d'étudier la stabilité du jus dans le temps.

III.2.3.4 Paramètres physicochimique du jus de baobab

D'après le tableau XXXIV, le pH du jus produit dans les conditions optimales était de 3,39. Cette valeur est similaire à celles de Diop *et al.* (2005) et Cissé *et al.* (2013) pour le nectar de pulpe du baobab. La température et l'ajout du sucre n'ont pas eu d'effet sur le pH. Le faible pH de ce jus limiterait la prolifération des microorganismes sensibles aux milieux acides et serait un atout pour sa conservation.

Concernant la couleur, elle est mesurée par trois paramètres qui incluent la clarté ou luminosité visuelle (L*) qui varie de 0 (noir) à 100 (blanc), le rougissement ou le verdissement exprimé par la valeur d'une coordonné (a*) positive si rouge et négative si vert, et le jaunissement ou le bleuissement représenté par une coordonnée (b*), positive si jaune et négative si bleu (Commission Internationale de l'Eclairage, 1976). Comparé à la pulpe de départ, la clarté du jus diminue (44,5 à 37,83), sa tendance au rouge est stable tandis que la tendance au jaune diminue. Ceci serait dû au brunissement observé lors de la préparation.

Tableau XXXIV : Caractéristiques physicochimique du Jus de baobab

Eléments	Jus baobab
pH (T=29,75 °C)	3,39 ± 0,00
Couleur	L*= 37,83± 0,05 a*= 2,5 ± 0,2 b*= 2,36 ± 0,25

III.2.3.5 Paramètres organoleptiques du jus de baobab

Le tableau ci-contre présente les caractéristiques organoleptiques du jus de baobab produit dans les conditions optimales.

Tableau XXXII: Caractéristiques organoleptiques du jus de baobab

Paramètres organoleptiques	Score du jus baobab/9
Couleur	6,97 ± 1,08
Odeur	6,94 ± 1,20
Texture	7,05 ± 1,04
Goût	6,87 ± 1,45
Acceptabilité générale	6,88±0,28

Les paramètres organoleptiques du jus avaient des scores d'environ 7/9 pour tous les paramètres évalués (couleur, odeur, texture, goût et acceptabilité générale). Sur l'échelle hédonique de 9 utilisé, cela correspond à la mention « plaisant », ce qui montre que le jus produit par optimisation était de bonne qualité organoleptique et pourrait être largement accepté. Ces résultats sont similaires à ceux de Adedayo *et al.*, (2011) qui a également obtenu des scores de l'ordre de 7 pour la couleur, le goût et l'acceptabilité générale d'une boisson à base de la pulpe de baobab.

III.3 Propriétés fonctionnelles du jus de baobab produit dans les conditions optimales

Les propriétés fonctionnelles des plantes en générales et des aliments en particulier sont liées aux molécules qu'elles contiennent. Certains nutriments et métabolites secondaires en sont responsables. La pulpe du fruit du baobab a été qualifiée de « fruit miracle » ou encore « super fruit » à cause de sa richesse en plusieurs nutriments (vitamine C, calcium, fer, fibres, diversité en acides aminés...), en composés phénoliques et sa grande capacité antioxydante. Dans le jus de baobab, on retrouve plusieurs de ces composés qui confèrent à ce jus le potentiel d'aliment fonctionnel ou alicament qui peut être recommandé pour contribuer aux apports journaliers recommandés de plusieurs nutriments et de l'énergie chez les enfants et les femmes enceintes (Chadare *et al.*, 2009). Pour l'étude des propriétés fonctionnelles du jus de baobab produit dans les conditions optimales, l'attention a été portée sur les propriétés antioxydantes *in vitro* et oestrogéniques (oestronogénicité et antioestronogénicité) *in vivo* chez les rates albinos de souche Wistar.

III.3.1 Teneurs en composés phénoliques et potentiel antioxydant *in vitro* du Jus baobab

Les antioxydants sont des espèces chimiques diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Ils peuvent prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou en désactivant directement les EOR libres. Les antioxydants jouent un rôle crucial dans l'amélioration du problème grandissant de la prévention et la gestion des

maladies chroniques (cancer, diabète, maladie cardiovasculaires...). Les composés phénoliques sont l'une des principales molécules antioxydantes retrouvée dans l'alimentation qui réduisent le stress oxydatif (Sokeng *et al.*, 2019). Dans la présente étude, pour augmenter l'extraction des composés phénoliques et mieux apprécier l'activité antioxydante du jus produit dans les conditions optimales, nous avons effectué plusieurs tests antioxydants et utilisé cinq solvants d'extraction différents : l'eau, le HCl 1%, l'éthanol 70%, l'acétone 70% et le méthanol 80%. Le tableau qui suit présente les teneurs en composés phénoliques, la capacité antioxydante globale par la méthode de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), l'activité anti radicalaire DPPH et la capacité antioxydante totale du jus de baobab.

Tableau XXXIII : Teneurs en composés phénoliques et activités antioxydantes du jus de baobab produit dans les conditions optimales en fonction des différents solvants d'extraction

Solvant d'extraction	Composés phénoliques (mg EAG/100 mL)	FRAP (mg FeSO ₄ / 100 mL)	DPPH (% Inhibition 100 mL)	CAT (g EAA/100 mL)
H ₂ O	196,65 ± 2,84 ^a	1105,31 ± 9,79 ^a	61,96 ± 4,48 ^b	3,98 ± 0,28
HCl 1%	396,74 ± 6,68 ^b	509,65 ± 1,62 ^b	41,69 ± 1,43 ^a	
Ethanol 70%	107,69 ± 0,53 ^c	409,74 ± 1,80 ^c	73,19 ± 3,31 ^c	
Acétone 70%	228,09 ± 0 ^d	1177,49 ± 1,57 ^d	73,25 ± 3,92 ^c	
Méthanol 80%	154,48 ± 0 ^e	770,01 ± 0,49 ^e	68,66 ± 8,52 ^{bc}	

Dans les colonnes, les moyennes affectées des lettres différentes sont significativement différentes au seuil $p < 0,05$.

Tel que mentionné dans le tableau XXXVI, les teneurs en composés phénoliques dans 100 mL de jus variaient de 107,69 à 396,74 mg EAG /100 mL en fonction des solvants d'extraction utilisés, tous étant différents significativement ($p < 0,05$) l'un de l'autre avec le HCl 1% comme solvant le plus efficace. Cet acide retrouvé dans l'estomac humain permet d'avoir une idée de la digestibilité des composés phénoliques contenus dans le jus ; ces derniers seront assez bien extraits au niveau gastrique dont pourraient être biodisponible pour l'organisme. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Tembo (2016) pour les jus de baobab commercialisés au Malawi (1112,22 mg EAG /100 mL) et par Konan *et al.* (2015) pour les jus de baobab de la Côte d'Ivoire (5010 mg/100 mL). Klimczak *et al.* (2007) ont obtenu dans le jus de baobab une teneur en composés phénoliques comprise dans la gamme trouvée dans cette étude mais inférieur à la valeur la plus élevée. Le jus de baobab produit par

optimisation a une teneur en composés phénoliques plus élevée que dans plusieurs jus de fruit à l'instar du jus d'orange (68,42 mg EAG /100 mL) (Klimczak *et al.*, 2007).

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant les méthodes FRAP, DPPH et CAT. Les résultats de FRAP qui variaient entre 409,74 et 1177,49 mg FeSO₄/ 100 mL ont présenté une différence significative ($p < 0,05$) entre tous les solvants. Le jus produit avait une activité antioxydante FRAP supérieure aux jus de baobab commercialisés au Malawi (17,83 mg TEAC/100 mL) (Tembo, 2016). Pour l'activité anti-radicalaire DPPH, le pourcentage d'inhibition le plus bas a été trouvé avec le HCl 1% ($41,69 \pm 1,43\%$) qui est significativement ($p < 0,05$) plus bas qu'avec tous les autres solvants ; suivi de l'eau et du méthanol 80% qui sont statistiquement similaire ($p > 0,05$) puis de l'éthanol 70%, l'acétone 70% et le méthanol 80% qui ne sont pas significativement différent ($p > 0,05$). Ces résultats sont inférieurs à ceux des jus commercialisés du Malawi ($80,94 \pm 0,72\%$) (Tembo, 2016). La CAT était de $3,98 \pm 0,28$ g EAA/100 mL.

La grande variabilité qu'il y a entre ces résultats et ceux des autres auteurs pourrait être attribué à la composition de la pulpe qui est très affectée par la région, le climat, le sol ; au ratio pulpe/eau utilisé, à la méthode de préparation. Néanmoins, l'application par ces différents auteurs des conditions d'optimisation trouvées dans ce travail leur permettra d'obtenir l'optimum pour les composés phénoliques, DPPH, CAT dans leur jus de baobab. Les différences observées entre les solvants sont attribuées à la différence de polarité.

Les études antérieures ont montré une forte activité antioxydante (DPPH et FRAP) des extraits aqueux de la pulpe du baobab (Ismail, 2019). Cette forte capacité antioxydante attribuable à sa teneur élevée en vitamine C naturelle et composés phénoliques est également conférée au jus qui découle directement du fruit. Ces antioxydants protégeraient les cellules de l'organisme des dommages des radicaux libres et du stress oxydatif et contribueraient à la lutte contre les maladies métaboliques.

III.3.2 Evaluation des effets œstrogéniques du jus de baobab

Les œstrogènes sont principalement produits par les ovaires à partir de la puberté. Ils régulent la croissance et le développement des organes reproducteurs de même que l'homéostasie de plusieurs tissus (Zingué *et al.*, 2013). Les phytoestrogènes sont des composés phénoliques non stéroïdes d'origine végétale, qui possèdent une activité œstrogénique en raison de leurs similarités structurales et fonctionnelles avec les œstrogènes endogènes (E₂) ou avec les œstrogènes synthétiques (diethylstilboestrol). Les phytoestrogènes sont répartis dans

plusieurs classes de composés phénoliques incluant les flavonoïdes, les coumestanes et les lignanes (Mazur *et al.*, 1998). Tous sont des composés diphenoliques possédant une similarité structurale avec les œstrogènes et les anti-œstrogènes naturels et synthétiques (Kurtzer & Xu, 1997). Leur présence dans un aliment peut induire un effet œstrogénique néfaste car susceptible de favoriser les pathologies œstrogéno-dépendantes ou un effet anti-œstrogénique bénéfique dans ce cas. Les femmes étant les principales actrices de la production et les consommatrices principales du jus de baobab très riches en composés phénoliques connu comme étant des puissants phytoestrogènes (Kaempferol, apigénin), il nous a paru important d'étudier l'œstrogénicité de ce jus. L'œstrogénicité (test utéroprolifératif et antiœstrogénique) du jus de baobab a été évaluée suivant les recommandations de l'OCDE (2007) ciblant la masse relative de l'utérus, la taille des épithélias utérin et vaginal et les modifications histologiques induites sur l'utérus et le vagin, car le tractus génital des rates subit des modifications histologiques en rapport avec les changements des taux sériques d'œstradiol survenant au cours des différents stades du cycle œstral (Mendoza-Rodriguez *et al.*, 2003; Westwood, 2008).

III.3.2.1 Effets utéroprolifératifs

III.3.2.1.1 Effets utéroprolifératifs du jus traditionnel de baobab

a) Effets sur le poids relatif de l'utérus et la taille de l'épithélium utérin

La figure 38 présente le poids relatif de l'utérus (A), la taille de l'épithélium utérin (B) et les microphotographies de l'architecture de l'épithélium utérin avec les différentes couches cellulaires (C) des rates traitées au jus traditionnel de baobab (ratio pulpe/eau : 34,32 g/L ; infusion à 40 °C). L'œstradiol valérate a augmenté significativement ($p < 0,05$) le poids relatif de l'utérus ($2328,54 \pm 142,87$ mg/kg PC) et la taille de l'épithélium utérin ($8,20 \pm 1,18$ μ m) chez les rates ovariectomisées comparé au témoin négatif ovariectomisé non traité ($425,13 \pm 37,35$ mg/kg PC et $3,12 \pm 0,20$ μ m), soit une augmentation respective de 5,4 et 2,6 fois. Tels qu'observé sur leurs microphotographies, le traitement pendant trois jours avec le jus traditionnel de baobab à différentes doses a diminué significativement ($p < 0,05$) le poids de l'utérus ainsi que la taille des épithélias utérins comparé au témoin négatif (Figure 38 B et C). Aucune différence significative ($p > 0,05$) n'a été observée entre les différentes doses.

L'ovariectomie chez la rate est habituellement suivie de la réduction de la prolifération cellulaire et de l'augmentation de l'apoptose cellulaire (Zingué *et al.*, 2013). En effet, il a été rapporté que la croissance utérine est œstrogéno-dépendante. Les substituts des œstrogènes ou les composés ayant des activités similaires aux œstrogènes induisent la prolifération et/ou

l'imbibition d'eau. Les œstrogènes induisent dans un premier temps, la perméabilité vasculaire de l'utérus et entraînent une accumulation d'eau. Secondairement, les œstrogènes induisent la prolifération et l'hypertrophie des cellules utérines ; tous ces événements aboutissent à l'augmentation du poids de l'utérus et de la taille de l'épithélium utérin (Yamasaki *et al.*, 2003 ; Takahashi *et al.*, 2007). Hewitt *et al.* (2003b) ont rapporté que de tels événements utérins sont médiés via les récepteurs d'œstrogènes ER α . Ces effets comme attendus ont été observés avec E₂V, mais ils n'ont pas été observés avec le jus de baobab qui a plutôt baissé significativement ces paramètres suggérant que ce jus aurait plutôt un effet antioestrogénique sur l'utérus.

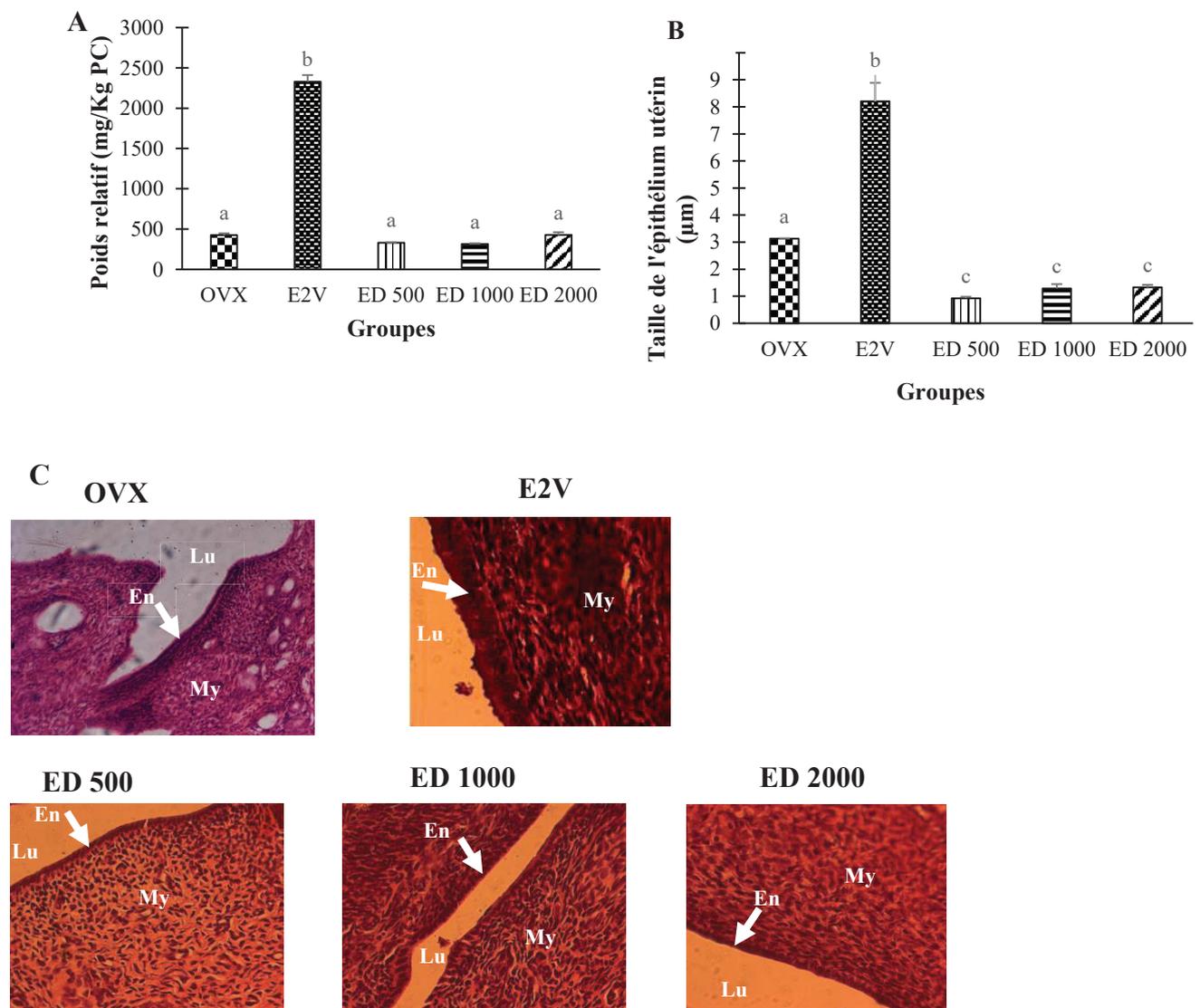


Figure 38 : Effets utéro-trophiques du jus traditionnel de baobab sur le poids relatif de l'utérus (A) et la taille de l'épithélium utérin (B-C)

Microphotographies de la coupe de l'utérus (C) (400 X, coloration à l'hématoxyline-éosine) ; OVX = animaux ovariectomisés et traités à de l'eau distillée, E₂V = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg PC, ED = animaux ovariectomisés et traités au jus de baobab aux doses de 500, 1000 et de 2000 mg/kg PC. $P < 0,05$ par rapport au témoin négatif OVX. Lu = Lumière utérine ; En = Endomètre ; My = Myomètre. Les moyennes affectées des lettres différentes sont significativement différentes au seuil $p < 0,05$.

b) Effets sur l'histomorphologie et la taille de l'épithélium vaginal

La figure 39A représente la taille de l'épithélium vaginal des rates après traitement. De cette figure, il ressort que, la prise de l'œstradiol par les rates a entraîné une augmentation significative ($p < 0,05$) de la taille de l'épithélium vaginal de $4,96 \pm 0,36 \mu\text{m}$ à $38,25 \pm 0,86 \mu\text{m}$, soit une augmentation de 7,7 fois. Indépendamment de la dose de l'extrait de jus baobab administré aux rates, une baisse significative ($p < 0,05$) de la taille de l'épithélium vaginal a été observée (Figure 39A) comparé au groupe témoin OVX. Lorsqu'on considère la dose de l'extrait, aucune différence significative ($p > 0,05$) de la taille de l'épithélium vaginal n'est à noter.

Les coupes histologiques du vagin des rates après traitement sont représentées par la figure 39B. L'épithélium vaginal des rates du témoin négatif était constitué d'une seule couche de cellules pavimenteuses, la couche germinative. Après traitement à l'E₂V, l'épithélium vaginal s'est stratifié et trois couches cellulaires pouvaient être distinguées : la couche germinative à la base, la couche granuleuse au milieu et la couche cornée superficielle. A différentes doses, l'épithélium n'était constitué que de la couche germinative qui est la moins épaisse en comparaison avec celle du témoin négatif.

Le vagin possède une activité cyclique contrôlée par les stéroïdes sexuels, en particulier les œstrogènes (Westwood, 2008). Plusieurs auteurs ont montré que les œstrogènes et les composés à activités œstrogéniques induisaient une prolifération et une différenciation cellulaire pour donner une stratification et une cornification de l'épithélium vaginal (Njamen *et al.*, 2013 ; Zingue *et al.*, 2013). Ils agissent en augmentant la vascularisation de l'épithélium vaginal qui devient plus perméable à divers facteurs de croissance responsables de l'angiogenèse réduisant la minceur de la paroi vaginale due à l'ovariectomie (Rockwell *et al.*, 2002 ; Kim *et al.*, 2006). Ces effets ont été observés avec le groupe E₂V tandis que le contraire l'a été avec les groupes traités suggérant que les phytoestrogènes contenus dans le jus de baobab n'auraient pas d'effet œstrogénique sur le vagin, mais possèderaient plutôt un effet antioestrogénique.

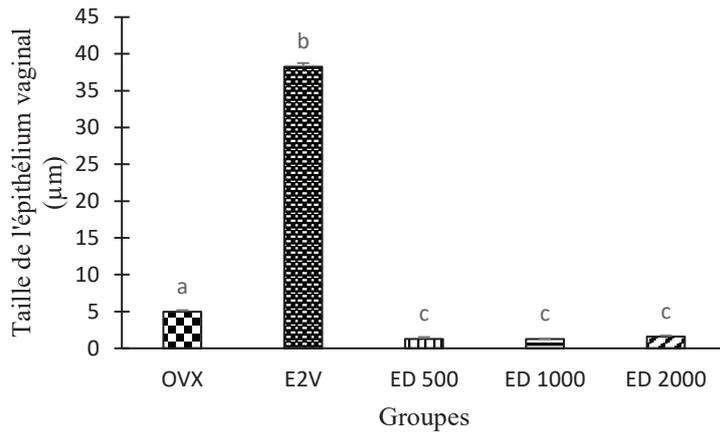
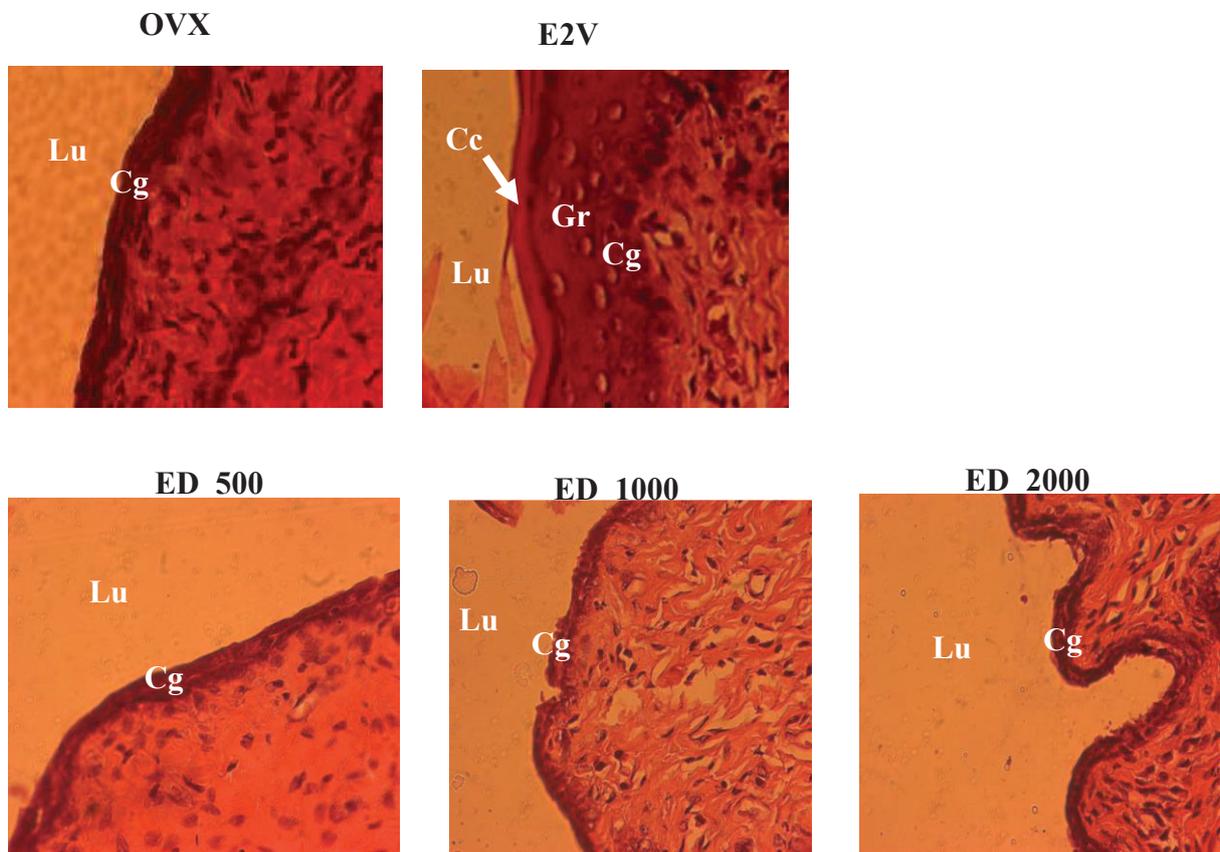
A**B**

Figure 39 : Effets utéro-trophiques du jus traditionnel de baobab sur la taille de l'épithélium vaginal (A-B)

Microphotographies de la coupe du vagin (B) (400 X, coloration à l'hématoxyline-éosine). OVX = animaux ovariectomisés et traités à de l'eau distillée, E2V = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg PC, ED = animaux ovariectomisés et traités au jus de baobab aux doses de 500, 1000 et de 2000 mg/kg PC. $P < 0,05$ par rapport au témoin négatif OVX Cg = Couche germinative, Gr = Couche granuleuse, Cc = Couche cornée, Lu = Lumière vaginale, les moyennes affectées des lettres différentes sont significativement différentes au seuil $p < 0,05$.

III.3.2.1.2. Effets utéro-trophiques du jus de baobab produit dans les conditions optimales

a) Effets sur le poids relatif de l'utérus et la taille de l'épithélium utérin

La figure 40 présente le poids relatif de l'utérus (A), la taille de l'épithélium utérin (B) et les microphotographies de l'épithélium utérin (C) des rates après traitement. L'ovariectomie a induit un déclin des œstrogènes endogènes après 14 jours se traduisant par une diminution significative ($p < 0,001$) du poids relatif de l'utérus et de la taille de l'épithélium utérin des animaux ovariectomisés non traités OVX ($507,38 \pm 49,18$ mg/kg PC et $14,69 \pm 1,62$ μ m) comparé aux animaux non ovariectomisés SHAM ($1822,09 \pm 204,35$ mg/kg PC et $39,48 \pm 6,22$ μ m). Chez les rates ovariectomisées et traitées à L'œstradiol valérate il a été observée une augmentation significative ($p < 0,001$) du poids relatif de l'utérus ($1625,13 \pm 271,67$ mg/kg PC) et de la taille de l'épithélium utérin ($30,88 \pm 1,78$ μ m) comparé au témoin négatif OVX ($507,38 \pm 49,18$ mg/kg PC et $14,69 \pm 1,62$ μ m).

Le traitement pendant 3 jours avec le jus de baobab sucré et non sucré produit dans les conditions optimales n'a pas eu d'effet significatif ($p > 0,05$) à la dose de 500 mg/Kg PC comparé aux témoins négatif (OVX) sur le poids de l'utérus ainsi que la taille des épithélia utérins tels qu'observé sur leurs microphotographies (Figure 40 B et C).

Les effets attendus ont été observés avec E₂V, mais ils ne l'ont pas été avec le jus de baobab produit dans les conditions optimales qui a plutôt baissé le poids relatif de l'utérus confirmant que ce jus aurait plutôt un effet antioestrogénique sur l'utérus.

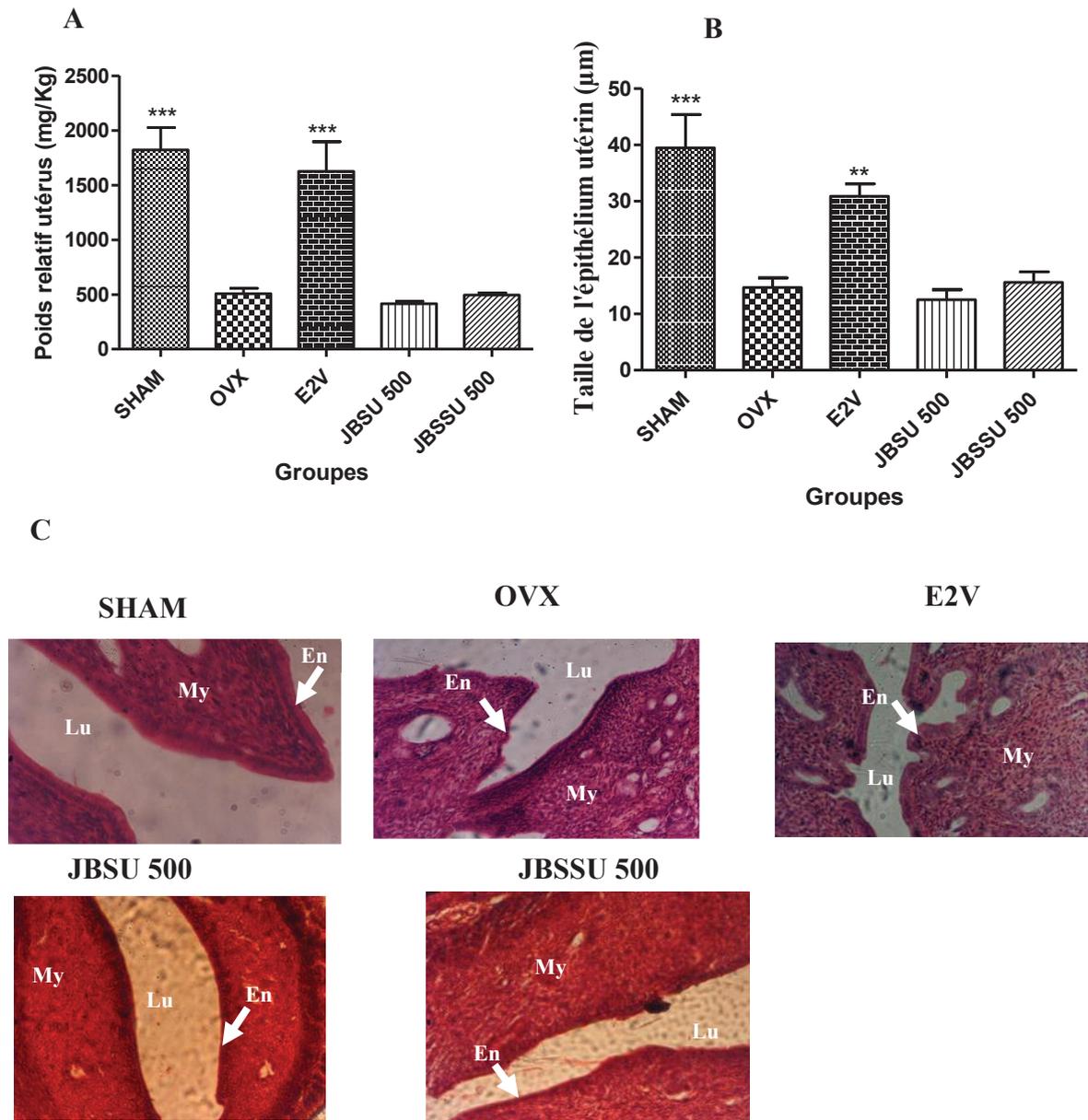


Figure 40 : Effets utéro-trophiques du jus de baobab optimisé sur le poids relatif de l'utérus (A) et la taille de l'épithélium utérin (B-C)

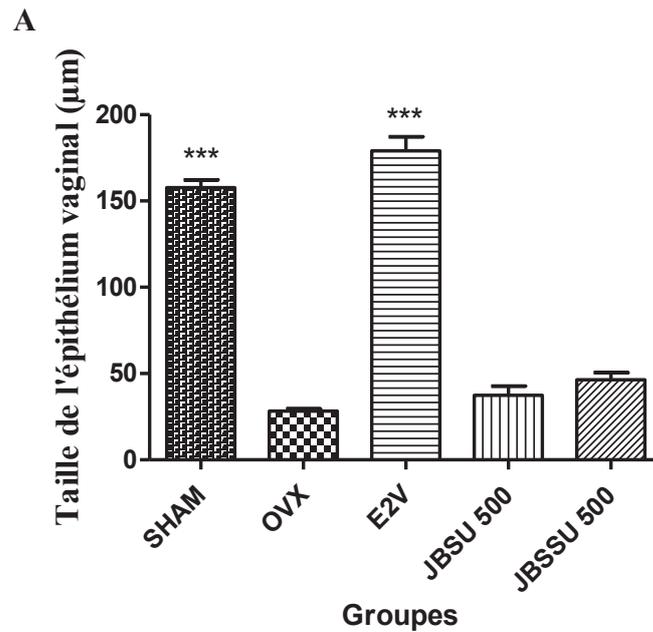
Microphotographies de la coupe de l'utérus (C) (400 X, coloration à l'hématoxyline-éosine). SHAM= animaux non ovariectomisés, OVX = animaux ovariectomisés et traités à de l'eau distillée, E2V = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg PC, JBSU et JBSSU= animaux ovariectomisés et traités respectivement au jus de baobab avec sucre et sans sucre à la dose de 500 mg/kg PC. ### = $p < 0,001$ par rapport au groupe normal SHAM ; * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$ par rapport au témoin négatif OVX, Lu = Lumière utérine ; En = Endomètre ; My = Myomètre.

b) Effets sur l'histomorphologie et la taille de l'épithélium vaginal

La figure 41A représente la taille de l'épithélium vaginal des rates après traitement. De cette figure, il ressort que le déclin hormonal suite à l'ovariectomie a baissé significativement ($p < 0,001$) la taille de l'épithélium vaginal chez les rates ovariectomisées non traitées (OVX) comparé à celles non ovariectomisées (SHAM). L'E₂V a augmenté significativement ($p < 0,001$) la taille de l'épithélium vaginal de $28,30 \pm 1,34 \mu\text{m}$ à $179,02 \pm 8,27 \mu\text{m}$, soit une augmentation de 6,32 fois plus. Le traitement avec le jus de baobab n'a pas eu d'effet significatif ($p > 0,05$) sur cette taille comparée au groupe témoin OVX.

Les coupes histologiques du vagin des rates après traitement sont représentées par la figure 41B. L'épithélium du témoin négatif était constitué d'une seule couche de cellules pavimenteuses, la couche germinative. Après traitement à l'E₂V, l'épithélium vaginal s'est stratifié et trois couches cellulaires pouvaient être distinguées : la couche germinative à la base, la couche granuleuse au milieu et la couche cornée superficielle. A différentes doses, l'épithélium n'était constitué que de la couche germinative comme celle du témoin négatif.

Les effets contraires observés avec les groupes traités comparés au groupe E₂V confirmerait le jus de baobab n'aurait pas d'effet œstrogénique sur le vagin.



B

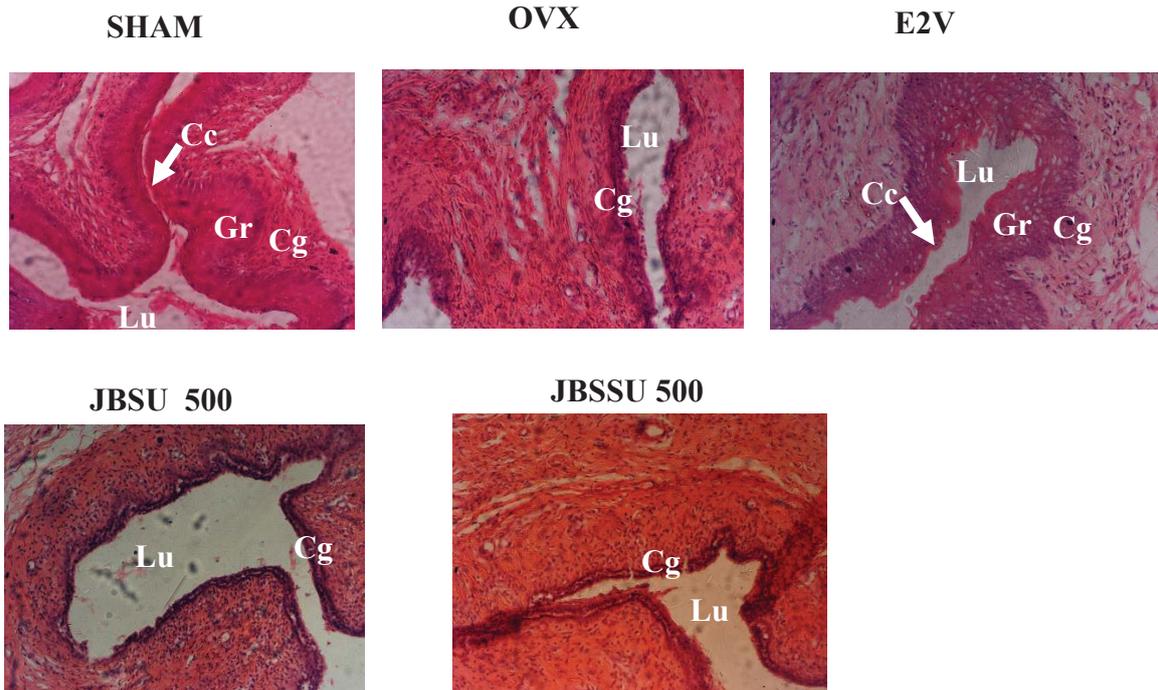


Figure 41 : Effets utéro-trophiques du jus de baobab optimisé sur la taille de l'épithélium vaginal (A-B)

Microphotographies de la coupe du vagin (B) (400 X, coloration à l'hématoxyline-éosine). SHAM= animaux non ovariectomisés, OVX = animaux ovariectomisés et traités à de l'eau distillée, E2V = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg PC, JBSU et JBSSU= animaux ovariectomisés et traités respectivement au jus de baobab avec sucre et sans sucre à la dose de 500 mg/kg PC. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ par rapport au témoin négatif OVX, Cg= Couche germinative, Gr= Couche granuleuse, Cc= Couche cornée, Lu= Lumière vaginale.

III.3.2.2 Evaluation des effets antiœstrogéniques du jus de baobab produit dans les conditions optimales

Le jus de baobab n'ayant pas montré d'effets œstrogéniques mais plutôt une tendance d'effet antioestrogénique, nous nous sommes proposé d'évaluer les effets antioestrogéniques du jus de baobab produit dans les conditions optimales. Ainsi, nous avons co-traité les animaux ovariectomisés avec l'œstradiol valérate (œstrogène de référence) et un antioestrogène de référence (Fulvestrant ou ICI 182) ou le jus de baobab sucré et non sucré à différentes doses.

III.3.2.2.1. Effets sur le poids relatif de l'utérus et la taille de l'épithélium utérin

La figure 42 présente le poids relatif de l'utérus (A), la taille de l'épithélium utérin (B) et les microphotographies de l'épithélium utérin (C) des rates après traitement. Il ressort que le poids relatif de l'utérus et la taille de l'épithélium utérin ont significativement augmenté ($p < 0,001$) chez les rates ovariectomisées traitées avec l'œstradiol valérate comparé au témoin négatif. Le co-traitement pendant 3 jours avec l'œstradiol valérate et le jus de baobab à différentes doses a diminué significativement ($p < 0,05$) le poids de l'utérus frais comparé au témoin positif (E₂V) pour toutes les doses à l'exception de la dose 1000 mg/kg PC ; les diminutions plus importantes ($p < 0,01$) ont été observées avec les doses de 250 et 500 mg/kg PC du jus de baobab sucré. Ce co-traitement n'a pas eu d'effet significatif sur la taille des épithélia utérins, entraînant une diminution non significative ($p > 0,05$) à toutes les doses sauf celle de 250 mg/Kg PC tels qu'observé sur leurs microphotographies (Figure 42 B et C).

Ces résultats suggèrent que le jus de baobab possède une activité antioestrogénique sur l'utérus. L'augmentation du poids relatif de l'utérus frais est principalement attribuée à une imbibition d'eau et/ou une prolifération cellulaire qui se traduit par l'augmentation de la taille de l'épithélium utérin (Hewitt et Korach, 2003). La diminution significative du poids relatif de l'utérus frais par le jus de baobab se ferait principalement par inhibition de l'imbibition d'eau. Ce jus diminuerait la microperméabilité vasculaire de l'utérus et empêcherait l'infiltration de l'eau dans l'utérus. Les légères variations observées avec la taille des épithélia signifient qu'il

A n'y aurait pas d'importantes proliférations ce B ires au niveau de l'utéro

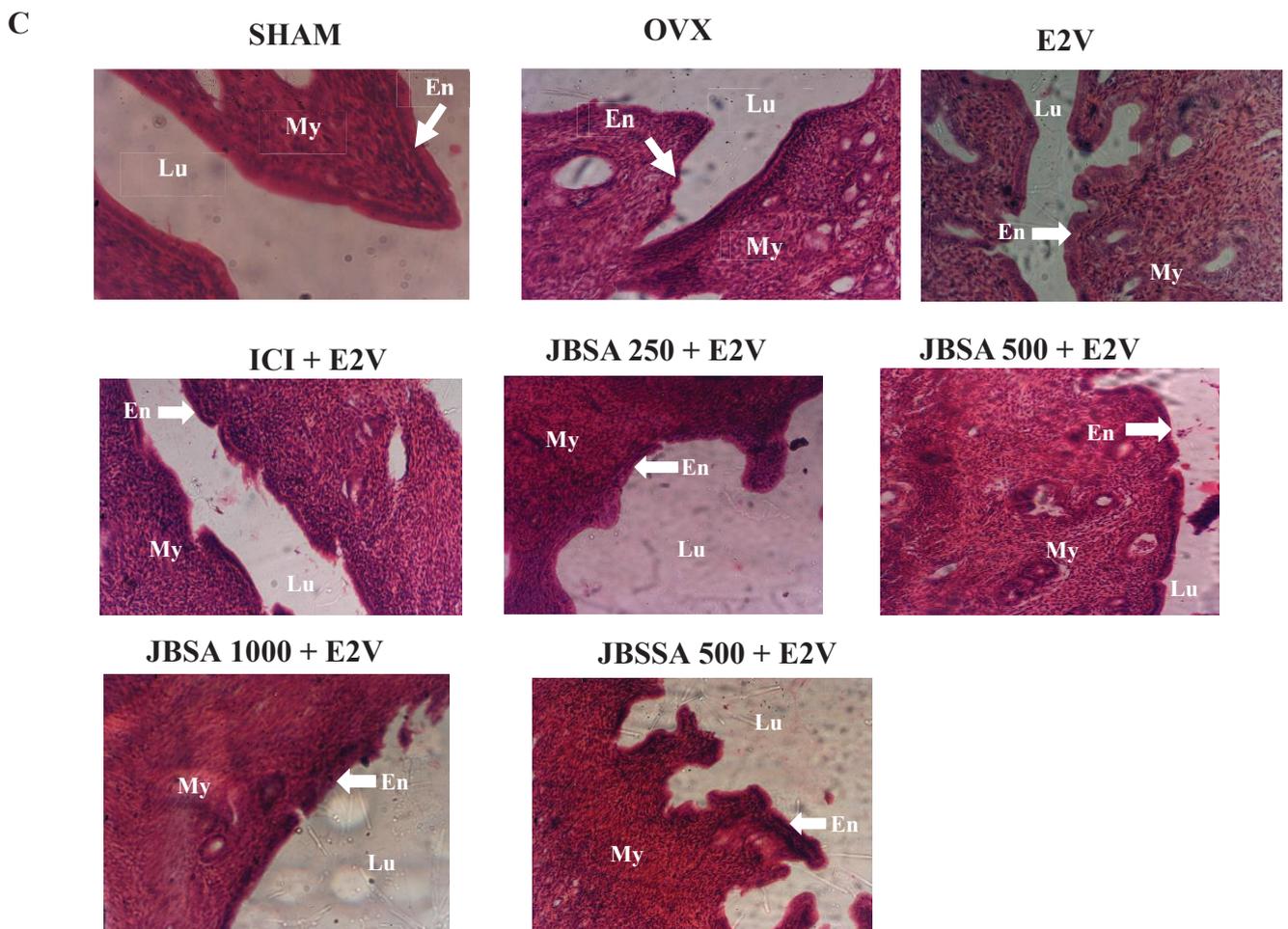
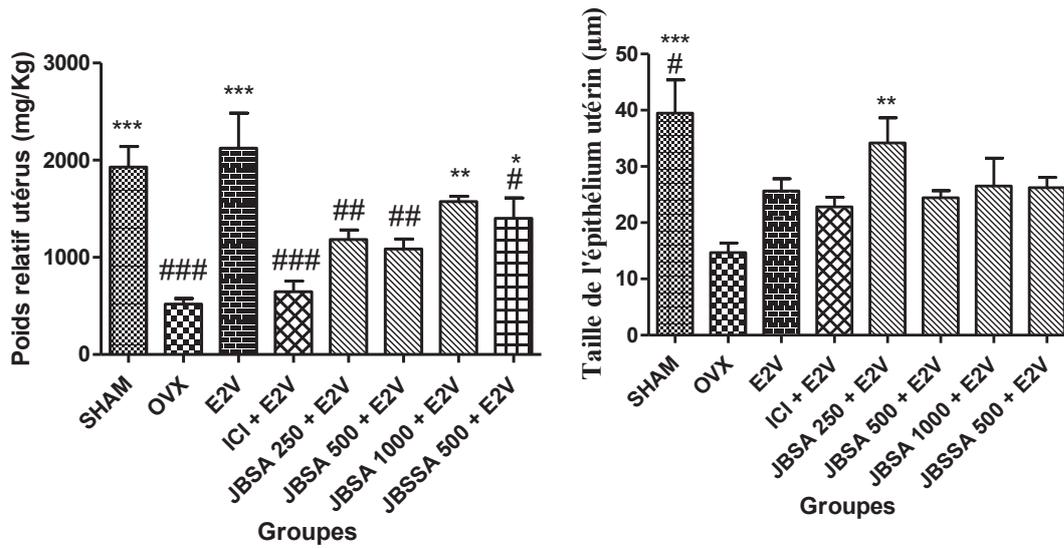


Figure 42 : Effets antioestrogénique du jus de baobab optimisé sur le poids relatif de l'utérus (A) et la taille de l'épithélium utérin (B-C)

Microphotographies de la coupe de l'utérus (C) (400 X, coloration à l'hématoxyline-éosine). SHAM= animaux non ovariectomisés, OVX = animaux ovariectomisés et traités à de l'eau distillée, E2V = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg PC, ICI = animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate (0,75 mg/kg PC) + fulvestrant (0,2 mL), JBSA et JBSSA= animaux ovariectomisés et traités à l'œstradiol valérate (0,75 mg/kg PC) + respectivement le jus de baobab avec sucre (JBSA aux doses de 250 ; 500 et 1000 mg/kg PC) et sans sucre (JBSSA à la dose de 500 mg/kg PC). ###p < 0,001 par rapport à OVX ; *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 par rapport au témoin positif E2V. Lu = Lumière utérine; En = Endomètre ; My = Myomètre.

III.3.2.2.2. Effets anti-oestrogénique du jus de baobab sur l’histomorphologie et la taille de l’épithélium vaginal

La figure 43A représente la taille de l’épithélium vaginal des rates après traitement. Cette figure nous montre que l’E2V a augmenté significativement ($p < 0,001$) la taille de l’épithélium vaginal. Le co-traitement aux doses de 500 mg/Kg PC a eu d’effets significatifs ($p < 0,05$) avec le jus sucré et sans sucre, l’effet du jus sans sucre étant plus prononcé ($p < 0,01$), ce qui a été observé sur les coupes (Figure 43B). Les effets antioestrogéniques du jus de baobab produit dans les conditions optimales sont également confirmés au niveau du vagin.

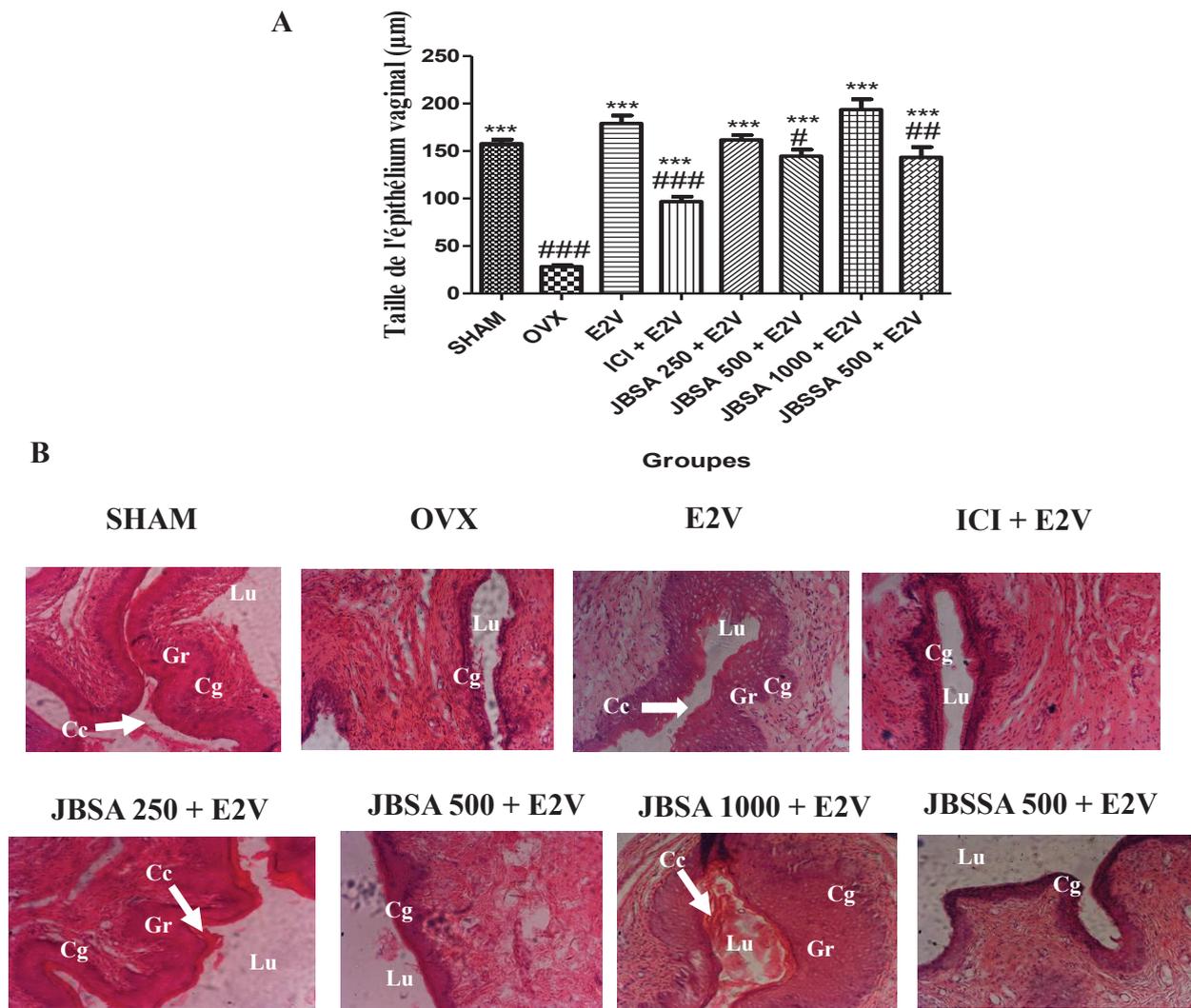


Figure 43 : Effets antioestrogénique du jus de baobab optimisé sur la taille de l’épithélium vaginal (A-B).

Microphotographies de la coupe du vagin (B) (400 X, coloration à l’hématoxyline-éosine). SHAM= animaux non ovariectomisés, OVX = animaux ovariectomisés et traités à de l’eau distillée, E2V = animaux ovariectomisés et traités à l’œstradiol valérate à la dose de 1 mg/kg PC, ICI = animaux ovariectomisés et traités à l’œstradiol valérate (0,75 mg/kg PC) + fulvestrant (0,2 mL), JBSA et JBSSA= animaux ovariectomisés et traités à l’œstradiol valérate (0,75 mg/kg PC) + respectivement le jus de baobab avec sucre (JBSA aux doses de 250 ; 500 et 1000 mg/kg PC) et sans sucre (JBSSA à la dose de 500 mg/kg PC)., ### $p < 0,001$ par rapport au témoin positif E2V ; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ par rapport à OVX. Cg= Couche germinative, Gr= Couche granuleuse, Cc= Couche cornée, Lu= Lumière vaginale.

De l'étude de l'œstrogénicité, il ressort que le jus de baobab possède des effets antioestrogéniques sur l'utérus et le vagin. Ces effets sont bénéfiques et limités selon les cibles concernées :

✚ Chez les femmes, la consommation de ce jus serait d'une aide à celles exposées aux oestrogènes et aux pathologies oestrogéno-dépendantes. Ainsi, les adolescentes ayant eu une puberté précoce, les femmes ayant eu des grossesses tardives et celles ménopausées qui prennent les oestrogènes synthétiques pour palier aux symptômes de la ménopause pourraient consommer ce jus qui inhiberait les effets des oestrogènes, les exposant moins aux cancers oestrogéno-dépendants et autres pathologies oestrogéno-dépendantes tels que les fibromes, myomes.

✚ La consommation de ce jus serait bénéfique chez les hommes chez qui une forte expression des oestrogènes tend à les féminiser et également pour prévenir le cancer de la prostate qui est une pathologie oestrogéno-dépendante.

Il serait judicieux pour ceux qui n'appartiennent pas à ces cibles de limiter la consommation du jus de baobab.

En somme, l'enquête alimentaire et technologique réalisée lors de cette étude a permis de recueillir plusieurs informations autour de la production, de la consommation et de la conservation du jus de baobab. De cette enquête, il ressort que quatre principales méthodes traditionnelles sont utilisées pour la transformation de la pulpe du fruit de baobab en jus, avec pour principaux ingrédients la pulpe, le sucre, l'eau et d'autres intrants. Lors de la préparation du jus, plusieurs paramètres (température, ratio pulpe/eau, quantité de sucre, temps) influencent la qualité du jus. L'application de ces méthodes traditionnelles en laboratoire a révélé qu'elles ont des impacts sur les teneurs en composés phénoliques et vitamine C et sur l'activité antioxydante (CAT, DPPH). L'appréciation du déroulement de la production du jus traditionnel de baobab sur le terrain et l'analyse des jus prélevés auprès de ces producteurs pourront nous apporter des informations complémentaires.

L'optimisation des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles du jus de la pulpe du fruit de baobab a été précédée par sa caractérisation. Cette caractérisation de la pulpe du Cameroun a montré sa richesse en nutriments, acides organiques, composés volatils, en composés bioactifs et une forte activité antioxydante responsable de ses propriétés fonctionnelles confirmant les études antérieures sur les pulpes d'autres pays. L'optimisation multiréponse effectuée par la méthode des surfaces de réponses utilisant un plan centré avait pour paramètres la température,

le ratio pulpe/eau, la quantité de sucre et comme réponse les teneurs en fer et composés phénoliques, l'activité anti-radicalaire DPPH, la capacité antioxydante totale et l'acceptabilité générale. Les conditions optimales de production obtenue étaient: ratio pulpe/eau : 131,28 g/L, sucre : 308,36 g et température : 100 °C. Le jus produit dans ces conditions optimales a une teneur en sucre très élevée pour les adultes. Quoiqu'il n'ait pas eu d'impact considérable sur les propriétés œstrogéniques, le taux élevé de sucre pourra causer d'autres pathologies comme l'obésité, le diabète de type 2. Il sera nécessaire d'explorer d'autres domaines d'études pour une formulation moins sucrée. L'innocuité du jus produit dans les conditions optimales a été assurée, mais sa stabilité dans le temps n'a pas été étudiée. L'étude de cette stabilité dans le temps est importante afin d'améliorer la durée de vie nécessaire pour faciliter sa commercialisation.

Le jus produit dans les conditions optimales est riche en composés phénoliques, possède une forte activité antioxydante *in vitro* et des propriétés antioestrogéniques *in vivo* sur l'utérus et le vagin des rats femelles de souche Wistar. Ces propriétés fonctionnelles bénéfiques dans la lutte contre plusieurs maladies métaboliques et œstrogéno-dépendantes pourraient être attribuées aux composés phénoliques. Ces derniers pouvant réagir avec d'autres constituants du jus qui pourraient affecter leurs propriétés, il sera intéressant de tester les fractions de jus enrichies en composés phénoliques. L'application des propriétés antioestrogéniques de ce jus dans la lutte contre les maladies œstrogéno-dépendantes pourrait s'effectuer sur les cancers œstrogéno-dépendants (sein, utérus, ovaire, prostate...) qui sont un problème de santé publique. De ce fait, une évaluation de sa cytotoxicité *in vitro* sur les cellules cancéreuses constituera une étude préliminaire dans cet axe de recherche.



**CONCLUSION, PERSPECTIVES
ET RECOMMANDATIONS**

CONCLUSION

L'objectif de cette thèse était de définir les conditions optimales de production d'un jus de baobab aux propriétés nutritionnelles et fonctionnelles majorées. Au terme de celui-ci, nous pouvons conclure que :

✚ Quatre méthodes artisanales (macération, infusion à 40°C ou à 100°C et décoction) sont principalement utilisées pour la production du jus de la pulpe du fruit du baobab. Elles ont un impact sur la qualité du jus produit en influençant les teneurs en vitamine C et composés phénoliques, la capacité antioxydante totale et l'activité anti-radicalaire DPPH.

✚ Les conditions optimales de production du jus de baobab se situent entre 90-100 °C pour la température et au-delà de 120 g/L pour le ratio pulpe/eau. Le point optimal ayant la plus grande désirabilité (0,95) étant de 131,28 g/L, 100 °C et 308,36 g pour le ratio pulpe/eau, la température et la quantité de sucre, respectivement. Ce point optimal permet d'avoir une teneur en composés phénoliques de 172,33 mg EAG/100 mL, un pourcentage d'inhibition du radical DPPH de 39,45%, une CAT de 3,17 g EAA/100 mL, une teneur en fer de 12,19µg/mL avec une acceptabilité générale de 6,84/9.

✚ Le jus de baobab produit dans les conditions optimales est riche en composés phénoliques ($396,74 \pm 6,68$ mg EAG/ 100 mL pour l'extraction au HCl 1%), a une grande activité antioxydante (FRAP : $1177,49 \pm 1,57$ mg FeSO₄/ 100 mL ; DPPH : 73,25% inhibition /100 mL ; CAT : $3,98 \pm 0,28$ g EAA /100 mL) *in vitro* et possède des propriétés anti-œstrogéniques (diminution significative du poids relatif de l'utérus à toutes les doses, diminution de la taille de l'épithélium vaginal) *in vivo* chez les rates albinos de souche Wistar ovariectomisées.

En définitive l'optimisation multiréponse de l'extraction des composés nutritionnels et fonctionnels du jus de baobab a permis de définir les conditions optimales de production d'un jus de baobab apprécié aux propriétés nutritives et fonctionnelles majorées. De par sa richesse en nutriments et composés phénoliques, son fort potentiel antioxydant et ses effets antioestrogéniques, le jus de baobab optimisé contribuera au maintien de la santé et à la lutte contre les maladies métaboliques liées au stress oxydatif et les maladies œstrogéno-dépendantes.

PERSPECTIVES

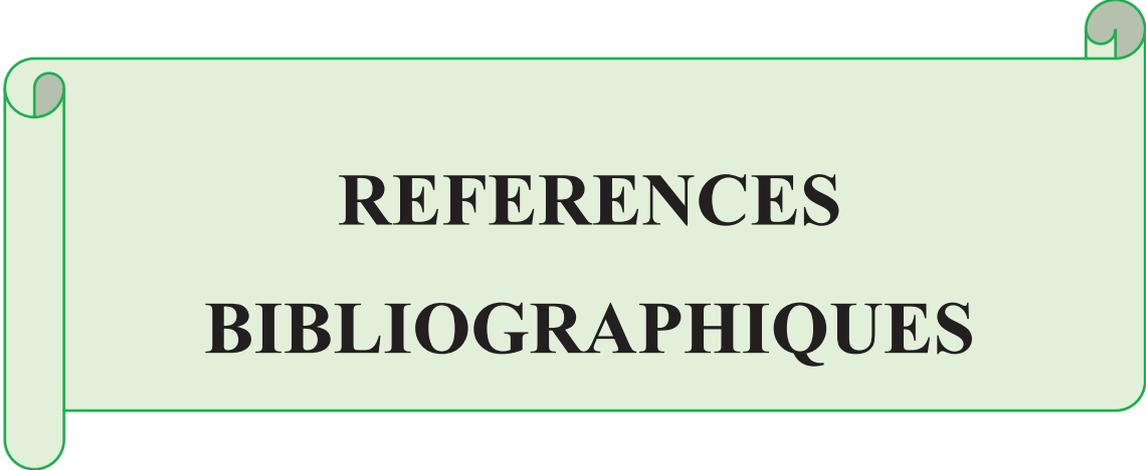
En vue de compléter ce travail, nous nous proposons dans un futur proche :

- ✚ D'explorer d'autres domaines expérimentaux d'études pour une formulation moins sucrée;
- ✚ D'étudier la stabilité du jus optimisé dans le temps ;
- ✚ D'étudier *in vivo* les propriétés antioxydantes du jus de baobab optimisé ;
- ✚ De faire une fraction enrichie en composés phénoliques et comparer les effets oestrogéniques au jus total ;
- ✚ D'évaluer la cytotoxicité sur les cellules cancéreuses oestrogéno-dépendantes.

RECOMMANDATIONS

✚ **Aux populations qui commercialisent et consomment ce jus :** Bien conserver la pulpe à l'abri de l'air, l'humidité et la lumière pour éviter l'oxydation de la vitamine C et du fer ; préparer le jus avec un ratio pulpe/eau élevé, à haute température (100°C) pendant un court temps (15 min) ;

✚ **Aux pouvoirs publics :** Vulgariser ce jus, former et financer les groupes d'initiatives communes (GIC) qui le produisent artisanalement et soutenir la production industrielle de ce jus. Encourager la consommation régulière de ce jus particulièrement par les femmes ménopausées vu ses propriétés antioestrogéniques, sa richesse en antioxydants, calcium et nutriments.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abad-García., Berrueta L.A., Lopez-Márquez D.M., Crespo-Ferrer I., Gallo B. & Vicente F., Optimization and validation of a methodology based on solvent extraction and liquid chromatography for the simultaneous determination of several polyphenolic families in fruit juices, *Journal of Chromatography A*, 1154: 87- 96, (2007).
- Abdalla A.A., Nagla E. H., Yagoup. & Hassan A. M., Production and Quality Evaluation of Baobab (*Adansonia Digitata*) Beverages, *Journal of Applied Sciences Research*, 6(6): 729-741, (2010).
- Abioye., Adekanmi O., Abioye., Victoria F., Ade-Omowaye., Beatrice I.O. & Adedeji Akinbode A., Kinetic modeling of ascorbic acid loss in baobab drink at pasteurization and storage temperatures, *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 7(2) :17-23, (2013).
- Adam J., La pharmacopée sénégalaise traditionnelle Plantes médicinales et toxiques, *Paris France: Vigot Frères*. (1974).
- Adebo A. A., Yessoufou A. G., Behanzin J. G., Kabanoude A. A. & Abèbi K., Anémie chez les enfants de moins de 5 ans reçus en consultation au service de pédiatrie de l'Hôpital de Zone d'Abomey-Calavi/So-Ava (Sud du Bénin), *Journal of Applied Biosciences*, 123 : 12373-12378, (2018).
- Adedayo M.R., Olayemi F. F. Bamishaiye E. I., Proximate and Mineral Composition of a Local Drink Made from Baobab Fruit (*Adansonia digitata*) Pulp, *Advances In Bioresearch*, 2(2): 82 - 85, (2011).
- AFSSA., Sécurité et bénéfices des phytoestrogènes apportés par l'alimentation, recommandations, (2005).
- AFTER (G.A n°245025)-Deliverable 7.1.1.2, Guideline for the industry for Baobab, 22 p, (2010).
- Ali S., Buluwela L. & Coombes R.C., Antiestrogens and their therapeutic applications in breast cancer and other diseases, *Annual Review of Medecine*, 62: 217-32, (2011).
- Almeida M.M.B., de Sousa P.H.M., Arriaga Â.M.C., do Prado G.M., Magalhães C.E., Maia G.A. & de Lemos T.L.G., Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil, *Food Research International*, 44(7): 2155-2159, (2011).

- Alonso-Salces R.M., Korta E., Barranco A., Berrueta L.A., Gallo B. & Vicente F., Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenols in apple, *Journal of Chromatography*, 933 (1-2): 37-43, (2001).
- Alvarez-Suarez J.M., Carrillo-Perdomo E., Aller A., Giampieri F., Gasparri M., Gonzalez-Perez L., Beltran-Ayala P. & Battino M., Anti-inflammatory effect of Capuli cherry against LPS-induced cytotoxic damage in RAW 264.7 macrophages, *Food and Chemical Toxicology*, 102: 46-52, (2017).
- Alvarez-Suarez J.M., Giampieri F. & Battino M., Honey as a Source of Dietary Antioxidants: Structures, Bioavailability and Evidence of Protective Effects Against Human Chronic Diseases, *Current Medicinal Chemistry*, 20: 621-638, (2013).
- Ambe G., Les fruits sauvages comestibles des savanes guinéennes de Côte-d'Ivoire: Etat de la connaissance par une population locale, les Malinkés, *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 5(1): 43-58, (2001).
- Andersen GD., Phytoestrogens: what they are and how they work, *Dynamic Chiropractic*, 18 (21): 18-2, (2000).
- Aneja K.R., Dhiman R., Aggarwal N.K. & Aneja A., Emerging preservation techniques for controlling spoilage and pathogenic microorganisms in fruit juices, *International Journal of Microbiology*, 2014: 1-14, (2014).
- A.O.A.C., Official Methods of Analysis (13th ed.), William Horwitz, Washington D.C, *Association of Official Analytical Chemists*, (1980).
- A.O.A.C., Official Methods of Analysis (15th ed.), Arlington, *Association of Official Analytical Chemists*, (1990).
- A.O.A.C., Official Methods of Analysis (18th ed), Gaithersburg, Maryland, USA, *Association of Official Analytical Chemists*, (2006).
- Apouey B. H., Picone G., Wilde J., Coleman J., Kibler, R. Paludisme et anémie des enfants en Afrique subsaharienne: effet de la distribution de moustiquaires, Paris School of Economics-CNRS, 48 Boulevard Jourdan, 75014 Paris, France, 40 p, (2016).
- Arama Ené A., Médecine traditionnelle en pays dogon au Mali, Ecole nationale de médecine et pharmacie, 11 p, (1980).
- Arnal J-F., Elhage R., Maret A., Rami J., Faye J-C. & Bayard F., Œstrogènes et athérosclérose : données récentes et perspectives, *médecine/sciences*, 15 : 212-8, (1999).
- Arnold T., Well M. & Wehmeyer A., Khoisan food plants: taxa with potential for economic exploitation, In: Wickens, J. R., Goodin, and Field. D. V. London Ed. *Plants for Arid Lands* Allen and Unwin, pp 69-86, (1985).

- Arthey D. & Ashurst P. R., Fruit processing: nutrition, products, and quality management, USA: Aspen Publishers, (2001).
- Ascenzi P., Bocedi A. & Marino M., Structure-function relationship of estrogen receptor α and β : Impact on human health, *Molecular Aspects of Medicine*, 27: 299-402, (2006).
- Assogbadjo A., De Caluwé B., Sinsin J. & Codjia T., Indigenous Knowledge of Rural People and Importance of Baobab Tree (*Adansonia digitata* L.) in Benin, Z F Ertug (Ed.), *Proceedings of the Fourth International Congress of Ethnobotany ICEB 2005*, Yeditepe University, pp 39-47, (2006).
- Atamer A., Kocyigit Y., Ecdar S.A., Selek S., Ilhan N., Ecdar T. & Atamer Y., Effect of oxidative stress on antioxidant enzyme activities, homocysteine and lipoproteins in chronic kidney disease, *Journal of Nephrology*, 21(6): 924-930, (2008).
- Aubin J.E., Turksen K. & Heersche J.N.M., Osteoblastic cell lineage in cellular and molecular biology of bone, *Academic Press Inc*, pp 1-45, (1996).
- Babio N., Balanza R., Basulto J., Bulló M. & Salas-Salvadó J., Dietary fibre: influence on body weight, glycemic control and plasma cholesterol profile, *Nutricion hospitalaria*, 25(3): 327-340, (2010).
- Balunkeswar N., Rui H.L. & Juming T., Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains -A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55: 887-918, (2015).
- Bas D. & Boyac I. H., Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology, *Journal of Food Engineering*, 78 (3): 836 - 845, (2007).
- Baum D.A., Small R.L. & Wendel J.F. Biogeography and floral evolution of Baobabs *Adansonia*, *Bombacaceae* as inferred from multiple data sets, *Systematic Biology*, 47(2,1): 181-207, (1998).
- Baur J.A. & Sinclair D.A., Therapeutic potential of resveratrol: in the in vivo evidence, *Nature Reviews Drug Discovery*, 5: 493-506, (2006).
- Békro Y.A., Békro J.A.M., Boua B.B., TRA B.F.H. & Ehilé E.E., Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend et Zarucchi (*Caesalpinaceae*), *Review Sciences Natural*, 4 : 217-225, (2007).
- Belliot J. P., Stabilité des vitamines. In Les vitamines dans les industries agroalimentaires, C Bourgeois, editor, Paris : TEC & DOC, Lavoisier, 289 p, (2003).
- Benamara S. & Agougou A., Jus alimentaires, ed., 2.01.4280, Office des Publication Universitaire, 122 p, (2003).

- Benmeziane F., Abdourhamane A. M. & Guedaoura A., Nutritional quality and bioactive compounds of some fruit juices, *Advances in Environmental Biology*, 10(4): 242-250, (2016).
- Benton J. & Vernon C.W., Sampling, handling and analyzing plant tissue samples, In R.L. Westerman (ED) *Soil testing and plant Analysis*, 3rd Ed, Soil Science Society of America, Madison, 389-427, (1990).
- Benzie F.F. & Strain J.J., The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239:70-76, (1996).
- Bergheul H., Habis M. & Laib S., Evolution de la qualité de jus d’orange en fonction des conditions de conservation, Mémoire de Master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l’Univers, Département des Sciences Biologiques, Spécialité Analyses et contrôles de qualité des denrées alimentaires, Algérie, 97 p, (2015).
- Berhan G., Aynur S., Neslin S., & Skın Gül., Metastasis to the male breast from squamous cell lung carcinoma, *Case reports in oncological medicine*, 2013(4):593970, (2013).
- Bernstein L. & Ross R.K., Endogenous hormones and breast cancer risk, *Epidemiologic Reviews*, 15(1): 48-65, (1993).
- Bernstein L., Ross R.K., Pike M.C., Brown J.B. & Henderson B.E., Hormone levels in older women: a study of post-menopausal breast cancer patients and healthy population controls, *British Journal of Cancer*, 61(2): 298-302, (1990).
- Besco E., Braccioli E., Vertuani S., Ziosi P., Brazzo F., Bruni R., Sacchetti G. & Manfredini S., The use of photochemiluminescence for the measurement of the integral anti-oxidant capacity of baobab products, *Food Chemistry*, 102:1352-1356, (2007).
- Bevilacqua A., Corbo M.R., Campaniello D., D’Amato D., Gallo M., Speranza B. & Sinigaglia M., Shelf life prolongation of fruit juices through essential oils and homogenization: A review, *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, 2: 1157-1166, (2011).
- Bhooshan Pandey K. & Rivzi S.I., Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5): 270-278, (2009).
- Blade C., Aragonés G., Arola-Arnal A., Mugerza B., Bravo F.I., Salvado M.J., Arola L. & Suarez M., Proanthocyanidins in health and disease, *Biofactors*, 42: 5-12, (2016).
- Bolton J.L. & Thatcher G.R., Potential mechanisms of estrogen quinone carcinogenesis, *Chemical Research in Toxicology*, 21(1): 93-101, (2008).

- Bouayed J.H., Rammal C.H., Younos A., Dicko. & Soulimani R., Caractérisation et bioévaluation des composés phénoliques : nouveaux domaines d'application en santé et nutrition, *Phytothérapie*, 6(2): 71-74, (2008).
- Bouba A.A., Yanou N.N., Nkouam B.G., Mang D.Y., Mehanni E.A., Scher J., Montet D. & Mbofung C.M., Desorption isotherms, net isosteric heat and the effect of temperature and water activity on the antioxidant activity of two varieties of onion (*Allium cepa* L), *International Journal of Food Science and Technology*, 49(2): 444 - 452, (2014).
- Boukari I., Nathan W., Shier., Xinia E., Ferbandez R., Jacquelyn Frisch Bruce A., Wathins., Lisa Pawloski. & Alyce D. Fly., Calcium analysis of selected western african foods, *Journal of food composition and analysis*, 14 (1): 37-42, (2001).
- Bourelly J., Observations sur le dosage de l'huile des graines de cotonnier, *Coton et fibres Tropical*, 27 (2) : 183-196, (1982).
- Box G. & Drapper N.R., Empirical model Building and the response surfaces, *John Wiley & Sons New York*, 7 p, (1897).
- Braca A., Chiara S., Marinella D., Beatrice M., Pier Luigi C., Luigi M., Angela O., Sergio G. & Rokia S., Phytochemical Profile, Antioxidant and Antidiabetic Activities of *Adansonia digitata* L. (Baobab) from Mali, as a Source of Health-Promoting Compounds, *Molecules*, 23 : 2312-3104, (2018).
- Bravo L., Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, *Nutrition reviews*, 56(11): 317-333, (1998).
- Brosnihan K.B., Weddle D., Anthony M.S., Heise C., Li P., & Ferrario C.M , Effects of chronic hormone replacement on the reninangiotensin system in cynomolgus monkeys, *Journal of Hypertension*, 15: 719-726, (1997).
- Buchmann C., Prehsler S., Hartl A. & Vogl C. R., The Importance of Baobab (*Adansonia digitata* L.) in Rural West African Subsistence-Suggestion of a Cautionary Approach to International Market Export of Baobab Fruits, *Ecology of Food and Nutrition*, 49:145-172, (2010).
- Buondonno A., Rashad A. A. & Coppola E., Comparing tests for soil fertility. The hydrogen peroxide/sulfuric acid treatment as an alternative to the copper/selenium catalyzed digestion process for routine determination of soil nitrogen-Kjeldahl, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 26: 1607-1619 (1995).
- Byers M., Kuiper G.G., Gustafsson J.A. & Park-Sarge O.K., Estrogen receptor-beta mRNA expression in rat ovary, down-regulation by gonadotropins, *Molecular Endocrinology*, 11(2) : 172-182, (1997).

- Camerlingo C., Zenone F., Delfino I., Diano N., Mita, D. G. & Lepore M., Investigation on Clarified Fruit Juice Composition by Using Visible Light Micro-Raman Spectroscopy, *Sensors*, 7(10): 2049-2061, (2007).
- Cannet C., Artéfacts - Les colorations topographiques, *Revue Française d'Histotechnologie*, 19: 85-98, (2006b).
- Cannet C., Artéfacts - Les difficultés de la technique histologique: de la circulation à la coupe, *Revue Française d'Histotechnologie*, 19: 71-84, (2006a).
- Cannet C., Artéfacts - Les difficultés de la technique histologique: les gageures de la fixation, *Revue Française d'Histotechnologie*, 17: 11-20, (2004).
- Carlen C., Potel A.M., Bellon C. & Ançay A., Qualité des fraises : effets de la variété, du rapport feuille/fruit, de la période de récolte et du stade de maturité, *Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture*, 37(2) : 87-93, (2005).
- Carreau S., Delalande C. & Galeraud-Denis I., Mammalian sperm quality and aromatase expression, *Microscopy Research and Technique*, 72: 552-557, (2009).
- Carreau S., Wolczynski S. & Galeraud-Dennis I., Aromase, oestrogens and human male reproduction, *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 365:1571-1579, (2010).
- Caulin-Glaser T., Garcia-Cardena G., Sarrel P., Sessa W.C. & Bender J.R., 17 beta-estradiol regulation of human endothelial cell basal nitric oxide release, independent of cytosolic Ca²⁺ mobilization, *Circulation Research*, 81(5): 885-92, (1997).
- Cendres A., Procédé novateur d'extraction de jus de fruits par micro-onde : viabilité de fabrication et qualité nutritionnelle des jus, Thèse de Doctorat, Université d'Avignon, France, 227 p, (2010).
- Chabite I.T., Maluleque I.F., Cossa V.J., Presse I.J., Mazuze I., Abdula R.A. & Joaquim F., Morphological Characterization, Nutritional and Biochemical Properties of Baobab (*Adansonia digitata* L.) Fruit Pulp from Two Districts of Mozambique, *EC Nutrition*, 14(2): 158-164, (2019).
- Chadare F. J., Hounhouigan J. D., Linnemann A. R., Nout M. J. R. & Boekel M. A. J. S., van Indigenous Knowledge and Processing of *Adansonia Digitata* L, Food Products in Benin, *Ecology of Food and Nutrition*, 47: 338-362, (2008).
- Chadare F., Linnemann A., Hounhouigan J., Nout M. & Van Boekel M., Baobab food products: a review on their composition and nutritional value, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49: 254-274, (2009).

- Chakrabarti S., Lekontseva O. & Davidge S.T., Estrogen is a modulator of vascular inflammation, *IUBMB Life*, 60(6): 376-382, (2008).
- Chang T.S., Siddiq M., Sinha N. K. & Cash J. N., Plum Juice Quality Affected by Enzyme Treatment and Fining, *Journal of Food Science*, 59(5):1065-1069, (1994).
- Charles-Rodríguez A.V., Nevárez-Moorillón G.V., Zhang Q.H. & OrtegaRivas E., Comparison of Thermal Processing and Pulsed Electric Fields Treatment in Pasteurization of Apple Juice, *Food Bioproducts and Processing*, 85:93-97, (2007).
- Chatenet C., Les phyto-oestrogènes, *Actualités Pharmaceutiques*, 473 p, (2008).
- Chen D. & Dou Q.P., Tea polyphenols and their roles in cancer prevention and chemotherapy, *International Journal of Molecular Sciences*, 9: 1196-1206, (2008).
- Chen D., Sun Y., Wei Y., Zhang P., Rezaeian A H., Teruya-Feldstein J., Gupta S., Liang H., Lin H-K., Hung M-C. & Ma L., LIFR is a breast cancer metastasis suppressor upstream of the Hippo-YAP pathway and a prognostic marker, *Nature Medicine*, 18: 1511-1517, (2012).
- Chen Y., Yu L.J. & Rupasinghe H.V., Effect of thermal and non-thermal pasteurisation on the microbial inactivation and phenolic degradation in fruit juice: A mini-review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(5): 981-986, (2013).
- Chen A.Y. & Chen, Y.C., A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention, *Food Chemistry*, 138: 2099-2107, (2013).
- Cheriot S., Rôle des produits de la réaction de Maillard dans l'inhibition de l'oxydation enzymatique des phénols et des lipides, Thèse de Doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agronomie Paris Technology, Spécialité sciences de l'aliment, 241 p, (2007).
- Choe E. & Min D. B., Mechanisms of Antioxidants in the Oxidation of Foods, *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, 8: 345-358, (2009).
- Cisse I., Caractérisation des propriétés biochimiques et nutritionnelles de la pulpe de baobab des espèces endémiques de Madagascar et d'Afrique continentale en vue de leur valorisation, Thèse de Doctorat/Ph.D, Université de Montpellier Supagro, France, 167 p, (2012).
- Cissé I., Montet D., Reynes M., Danthu P., Yao B. & Boulanger R., Biochemical and nutritional properties of baobab pulp from endemic species of Madagascar and the African mainland, *African Journal of Agricultural Research*, 8: 6046-6054, (2013).
- Cissé M., Sakho M., Dornier M., Diop C M., Reynes M. & Sock O., Caractérisation du fruit du baobab et étude de sa transformation en nectar, *Fruits*, 64 :19-34. (2009).

- Cisse M., Sakho M., Dornier M., Diop C., Reynes M. & Sock O., Caractérisation du fruit du baobab et étude de sa transformation en nectar, *Fruits*, 64 : 19-34, (2008).
- CODEX STAN 247., Codex general standard for fruit juices and nectars, *Codex Alimentarius Commission (CAC)*, 19 p, (2005).
- Codja C., Fonton K., Assogbadjo A. & Ekue M., Le baobab une espèce à usage multiple au Bénin. Cent. Int. d'Ecolo. Dév. integr. (CECODI) Cotonou, Bénin, (2001).
- Coelingh B.H.J., Are all estrogens the same? *Maturitas*, 47(4): 269-75 (2004).
- Collin S. & Crouzet J., Composés phénoliques et procédés: Transformation des composés phénoliques au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire, Agence universitaire de la francophonie, *Edition Lavoisier*, p1-300, (2011).
- Commission Internationale de l'Eclairage (CIE)., *Encyclopedia Universalis*. Disponible à l'adresse: www.universalis/encyclopedia/colorimetrie/#i_36343, (1976).
- Cos P., De Bruyne T., Apers S., Vanden Berghe D., Pipers L. & Vlietinck A.J., Phytoestrogens: recent developments, *Planta Medica*, 69(7): 589-599, (2003).
- Costa A., Scholer-Dahirel A. & Mechta-Grigoriou F., The role of reactive oxygen species and metabolism on cancer cells and their microenvironment, *Seminars in Cancer Biology*, 25: 23-32, (2014).
- Côté P-A., Cytotoxicité de l'isocaryophyllène sur les cellules L-929 : caractérisation du mécanisme d'action, Mémoire de Maîtrise, Université Du Québec à Chicoutimi, Canada, 97 p, (2006).
- Couse J.F., Lindzey J., Grandien K., Gustafsson J.A. & Korach K.S., Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor-alpha (ER alpha) and estrogen receptor beta (ER beta) messenger ribonucleic acid in the wild-type and ERalpha-knockout mouse, *Endocrinology*, 138: 4613-4621, (1997).
- Crevoisier R., Cancérogène développement tumoral, classification, Département de Radiothérapie, *Centre Eugène Marquis*, 15-17, (2010).
- Cutler G.J., Nettleton, J.A., Ross, J.A., Harnack, L.J., Jacobs, D.R., Jr., Scrafford, C.G., Barraj L.M., Mink P.J. & Robien K., Dietary flavonoid intake and risk of cancer in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study, *International Journal of Cancer*, 123: 664-671, (2008).
- Dacosta E., Les phytonutriments bioactifs, Yves Dacosta (éd). Paris, 317 p, (2003).
- Dagmey A., Enrichissement d'huiles alimentaires riches en acides gras polyinsaturés, par des composés phénoliques d'origine naturelle, afin de les protéger de la peroxydation lipidique, en vue d'une encapsulation pour augmenter la durée de conservation de ces

- huiles, Thèse de Doctorat en Biotechnologie, Ecole Doctorale : Sciences Pour l'Ingénieur (ED 71), Université de Technologie de Compiègne, France, 228 p (2020).
- Dalgaard P. & Jørgensen L.V., Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold-smoked salmon, *International Journal of Food Microbiology*, 40(1-2): 105-115, (1998).
- Davies C.A. & Wedzicha B., Ascorbic acid browning: the incorporation of C1 from ascorbic acid into melanoidins, *Food Chemistry*, 49(2):165-167, (1994).
- De Caluwé E., De Smedt S., Assogbadjio A., Samson R., Sinsin B. & Van Damme P., Ethnic differences in use value and use patterns of baobab (*Adansonia digitata* L.) in Northern Benin, *Journal of African Economies*, 47(3): 433-440, (2009).
- De Caluwé E., Halamova K. & Van damme A., Review of traditional use, phytochemistry and pharmacology, *Afrika focus*, 1(23): 11-51, (2010).
- Dehak K., Méthodes d'extraction et de séparation des substances naturelles : Composés phénoliques, Université KasdiMerbah, Ouargla, 19 p, (2013).
- Del Rio D., Rodriguez-Mateos A., Spencer J.P., Tognolini M., Borges G. & Crozier A., Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases, *Antioxidants & redox signaling*, 18: 1818-1892, (2013).
- Demir Y., Isik M., Gulcin I. & Beydemir S., Phenolic compounds inhibit the aldose reductase enzyme from the sheep kidney, *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31 p, (2017).
- Dhingra N., Kar A., Sharma R. & Bhasin S., In-vitro antioxidative potential of different fractions from *Prunus dulcis* seeds: Vis a visa ntiproliferative and antibacterial activities of active compounds, *South African Journal of Botany*, 108:184-192, (2017).
- Dhuiquemayer C., Evaluation de la qualité nutritionnelle des jus d'agrumes (estimation in vitro de la biodisponibilité des caroténoïdes), Thèse de doctorat, Université Montpellier II, 167 p, (2007).
- Diop A., Sakho M., Dornier M., Cisse M. & Reynes M., Le baobab africain (*Adansonia digitata* L.) : principales caractéristiques et utilisations, *Fruits*, 61 :55- 69, (2005).
- Diouf S., Folquet M., Mbofung K., Ndiaye O., Brou K., Dupont C. D., N'dri., Vuillerod M. & Azaïs-Braesco V. T., Prévalence et déterminants de l'anémie chez le jeune enfant en Afrique francophone et implication de la carence en fer, *Archives de pédiatrie*, 22 (11) p , (2015).

- Dohou N., Yamni K., Tahrouch S., Hassani L. M., Badoc A. & Gmira N., Screening phytochimique d'une endémie ibéro-marocaine, *thymelaea lythroïdes*, *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, 42 : 61-78, (2003).
- Donatien K., Hagrétou S-L., Bréhima D., Clarisse S.C., Mamoudou H.D. & Mogens J., A review of baobab (*Adansonia digitata*) products, Effect of processing techniques, medicinal properties and uses, *African Journal of Food Science*, 5:833-844, (2011).
- Donovan S. & Harper D., Trechmann's footsteps: the geology of southeast Barbados, In Anon (ed). In C. G. Conference (Ed.), (Vol. 16th-21st Barbados, June: Field Guides, 16th, pp 85-98, (2002).
- Dorgan J.F., Longcope C., Stephenson H.E., Jr., Falk R.T., Miller R., Franz C., Kahle L., Campbell W.S., Tangrea J.A. & Schatzkin A., Serum sex hormone levels are related to breast cancer risk in postmenopausal women, *Environ Health Perspect*, 105 (3): 583-5, (1997).
- Doudi D. & Atian., Evaluation du métabolisme de fer, de cuivre et de stress oxydatif chez des femmes enceintes dans la région d'El-OUED, mémoire de Master, Faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de biologie cellulaire et moléculaire, Université echahid hamma lakhdar d'el-oued, Algérie, 106p, (2015).
- Doudin K., Al-Malaika S., Sheena H. H., Tverezovskiy V. & Fowler P., New genre of antioxidants from renewable natural resources: Synthesis and characterisation of rosemary plant-derived antioxidants and their performance in polyolefins, *Polymer Degradation and Stability*, 130: 126-134, (2016).
- Dröge W., Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function Physiological, *Reviews*, 82(1): 47-95, (2002).
- Duquesnoy N., Les substances naturelles à effet oestrogénique dans l'alimentation des ruminants : revue de la littérature, *Annuaire de Médecine Vétérinaire*, 149 : 202-212, (2005).
- Durgo K., Vuković L., Rusak G., Osmak M. & Čolić J.F., Effect of flavonoids on glutathione level, lipid peroxidation and cytochrome P450 CYP1A1 expression in human laryngeal carcinoma cell lines, *Food Technology and Biotechnology*, 45: 69-79, (2007).
- Echtay K.S., Esteves T.C., Pakay J.L., Jekabsons M.B., Lambert A.J., Portero-Otín M., Pamplona R., Vidal-Puig A.J., Wang S., Roebuck S.J. & Brand M.D., A signalling role for 4-hydroxy-2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling, *The EMBO Journal*, 22(16): 4103-4110, (2003).

- Ernst M., Heath J.K. & Rodan G.A., Estradiol effects on proliferation, messenger ribonucleic acid for collagen and insulin-like growth factor-I, and parathyroid hormone-stimulated adenylate cyclase activity in osteoblastic cells from calvariae and long bones, *Endocrinology*, 125: 825-833, (1989).
- Escudero-López B., Cerrillo I., Gil-Izquierdo Á., Hornero-Méndez D., Herrero-Martín G. & Berná G., Effect of thermal processing on the profile of bioactive compounds and antioxidant capacity of fermented orange juice, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 67(7): 779-788, (2016).
- Espiard E., Introduction à la transformation industrielle des fruits, ed., TEC et DOC, Lavoisier, Paris, pp 6, 12, 52, 162, 305-309, (2002).
- Fahmy G.E., The Effect of Seeds and Fruit Pulp of *Adansonia digitata* L. (Baobab) on Ehrlich Ascites Carcinoma, *Food and Nutrition Sciences*, 4: 38-46, (2013).
- FAO., Investir dans l'agriculture pour la sécurité alimentaire. Journée mondiale de l'alimentation / Téléfood, Rome : Italie, (2006).
- FAO., Promotion of Fruit and Vegetables for Health, Report of the Pacific Regional Workshop, (2015).
- Favier A., Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *L'actualité Chimique*, 108-115, (2003).
- Favier A., Stress oxydant et pathologies humaines, *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 64 : 390-396, (2006).
- FDA (Food and Drug Administration)., Hazard analysis and critical control points (HACCP); procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice; final rule, *Federal Register*, 66(13): 6137-6202, (2001).
- FDA., Agency Response Letter GRAS Notice No, GRN 000273. USFDA, UK, (2009).
- Filardo E.J., Quinn J.A., Frackelton A.R. & Bland K.I., Estrogen action via the G protein-coupled receptor, GPR30: stimulation of adenyl cyclase and cAMP-mediated attenuation of the epidermal growth factor receptor-to-MAPK signaling axis, *Molecular Endocrinology*, 16: 70-84, (2002).
- Fischer E. & Stein E. A., DNS Colorimetric Determination of Available Carbohydrates in Foods, *Biochemical Preparation*, 8: 30-37, (1961).
- Fisher J.S., Millar M.R., Majdic G., Saunders P.T., Fraser H.M. & Sharpe R.M., Immunolocalisation of estrogen receptor-alpha within the testis and excurrent ducts of

- the rat and marmoset monkey from perinatal life to adulthood, *Journal of Endocrinology*, 153(3): 485-495, (1997).
- Foidart J.M., Desreux J., Pintiaux A. & Gompel A., Hormone therapy and breast cancer risk, *Climacteric*, 10 (2): 54-61, (2007).
- FSA., Committee on toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment, phytoestrogens and health, *Food Standards Agency*, UK, (2003).
- Galil N., Evaluation of baobab Gonglase solution for home management of diarrhea in Sudanese children, Thèse de Doctorat/Ph D, Université de Khartoum, Soudan, 165 p, (1996).
- Gan C.Y. & Latiff A.A., Optimisation of the solvent extraction of bioactive compounds from *Parkia speciosa* using response surface methodology, *Food Chemistry*, 124: 1277-1283 (2011).
- Garcia-Lafuente A., Guillamon E., Villares A., Rostagno M.A. & Martínez J.A., Flavonoids as antiinflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease, *Inflammation Research*, 58:537-552, (2009).
- Gardez S., Les principaux traitements alternatifs de la ménopause : phytothérapie, aromathérapie et homéopathie, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Lille 2, France, 170 p, (2016).
- Gerald D, Edurne Berra, Yves M Frapart, Denise A Chan, Amato J Giaccia, Daniel Mansuy, Jacques Pouysségur, Moshe Yaniv, & Fatima Mechta-Grigoriou., JunD reduces tumor angiogenesis by protecting cells from oxidative stress, *Cell*, 118(6):781-94, (2004).
- Ghoneim M.A., Hassan A.I., Mahmoud M.G. & Asker M.S., Protective effect of *Adansonia digitata* against isoproterenol-induced myocardial injury in rats, *Animal Biotechnology*, 27: 84-95, (2016).
- Gil-Izquierdo A., I. Gil M. & Ferreres F., Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5107-5114, (2002).
- Goupy J., Les plans d'expériences, *Revue MODULAD*, 34: 74 - 116, (2006).
- Green P.S. & Simpkins J.W., Neuroprotective effects of estrogens: potential mechanisms of action, *International Journal of Developmental Neuroscience*, 18(4-5): 347-58, (2000).
- Gruber C.J., Tschugguel W., Schneeberger C. & Huber J.C., Production and actions of oestrogens, *The New England Journal of Medicine*, 346 (5): 340-352, (2002).

- Guinko S., Rôle de quelques espèces ligneuses spontanées pour les programmes d'amélioration génétique et de reforestation, Act. Séminaire régional sur les semences forestières. Ouagadougou, Burkina Faso, (1988).
- Guiraud J.P., Microbiologie alimentaire, Collection industries agro-alimentaire, ed. Dunold-RIA DL, Paris, 696p, (2003).
- Gunter G.C., Kuhnle., Caterina D.A., Sue M., Aspinal., Shirley A., Runswick., Annemiek M.C.P., Joosen., Angela A., Mulligan. & Sheila A.B., Phytoestrogen content of fruits and vegetables commonly consumed in the UK based on LC-MS and ¹³C-labelled standards, *Food Chemistry*, 116: 542-554, (2009).
- Gupta C., Prakash D. & Gupta S., Phytoestrogens as pharma foods, *Advances in Food Technology and Nutritional Sciences*, 2(1): 19-31 (2016).
- Gupta P.B. & Kuperwasser C., Contributions of estrogen to ER-negative breast tumor growth, *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 102(1-5): 71-8, (2006).
- Gustad G., Dhillion, S. & Sidibe D., Local use and cultural and economic value of products from trees in the parklands of the municipality of Cinzana, Mali, *Economic Botany*, 58: 578-587, (2004).
- Haddad J. J., Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox(y)-sensitive transcription factors, *Cellular Signalling*, 14(11): 879-897, (2002).
- Haleng J., Pincemail J., Defraigne J. O., Charlier C. & Chapelle J. P., Le stress Oxidant, *Journal of Food science*, 62: 628- 638, (2007).
- Hanahan D. & Weinberg R.A., Hallmarks of cancer: the next generation, *Cell*, 144: 646-74, (2011).
- Handgraaf S., Prévention de l'obésité et du diabète de type 2 par les œstrogènes: rôle des fonctions transactivatrices du récepteur des œstrogènes α , Thèse de doctorat, physiopathologie, Université de Toulouse, 210 p, (2013).
- Harbone J. B., Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis, *Chapman and Hall*, 78 p, (1976).
- Heleno S. A., Martins A., Queiroz M. J. & Ferreira I. C., Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: *A review*, *Food Chemistry*, 173: 501-513, (2015).
- Herrington DM. & Klein KP., Estrogen replacement and prevention of coronary artery disease in postmenopausal women, *Menopausal Manage*, 7: 8-16 (1998).

- Hess R.A., The efferent ductules: structure and functions. In *The epididymis: from molecules to clinical practice*, (eds B. Robaire & B. Hinton), New York, NJ: Kluwer Academic, pp 49 - 80, (2002).
- Hess R.A., Zhou Q., Nie R., Oliveira C., Cho H., Nakai M. & Carnes K., Estrogens and epididymal function, *Reproduction, Fertility and Development*, 13: 273-283, (2001).
- Hewitt S.C. & Korach K.S., Oestrogen receptor knockout mice: roles for oestrogen receptors alpha and beta in reproductive tissues, *Reproduction*, 125(2): 143-149, (2003).
- Hewitt S.C., Deroo B.J., Hansen K., Collins J., Grissom S., Afshari C.A. & Korach K.S., Estrogen receptor-dependent genomic responses in the uterus mirror the biphasic physiological response to estrogen, *Molecular Endocrinology*, 17: 2070-2083, (2003b).
- Ho Y.C., Yang S.F., Peng C.Y., Chou M.Y. & Chang Y.C., Epigallocatechin-3- gallate inhibits the invasion of human oral cancer cells and decreases the productions of matrix metalloproteinases and urokinase-plasminogen activator, *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 36: 588-93, (2007).
- Holst F., Stahl P.R., Ruiz C., Hellwinkel O., Jehan Z., Wendland M., Lebeau A., Terracciano L., Al-Kuraya K., Janicke F., Sauter G. & Simon R., Estrogen receptor alpha (ESR1) gene amplification is frequent in breast cancer, *Nature Genetics*, 39(5): 655-60, (2007).
- Hutchins A.M., Martini M.C., Olson B.A., Thomas W. & Slavin J.L., Flaxseed consumption influences endogenous hormone concentrations in postmenopausal women, *Nutrition and Cancer*, 39: 58-65, (2001).
- Ibrahim Y.E., Mahgoub I.S., Omer A.O., Alshifaa M.A., Rana Emad Ahmed. & Afra Altayeb Mohamed., Proximate and Elemental Composition of Baobab Fruit (*Adansonia digitata* L) Pulp, *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences*, 9(1): 042-051, (2018).
- Imai Y., Kondoh S., Kouzmenko A. & Kato S., Mini review: osteoprotective action of estrogens is mediated by osteoclastic estrogen receptor alpha, *Molecular Endocrinology*, 24(5): 877-85, (2010).
- Insel P., Ross D., McMahon K. & Bernstein M., *Nutrition* (4th edn), Sudbury, MA, USA: Jones and Bartlett Publishers, (2011).
- Institut National de la Statistique (INS) et ICF., International. Enquête Démographique et de Santé et à Indicateurs Multiples du Cameroun 2011, Calverton, Maryland, USA : INS et ICF International, (2012).
- Institut National du Cancer (INC)., *Les traitements des cancers du sein*, Collection Guides patients Cancer info, 11-12, (2016). WWW.e-Cancer.fr.

- IRAD., Rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture, IRAD, Yaoundé, (2008).
- Ismail B. B., Pu Y., Guo M., Ma X. & Liu D., LC-MS/QTOF identification of phytochemicals and the effects of solvents on phenolic constituents and antioxidant activity of baobab (*Adansonia digitata*) fruit pulp, *Food Chemistry*, 277: 279-288, (2019).
- Jahnen-Dechent W. & Ketteler M., Magnesium basics, *Clinical Kidney Journal*, 5(Suppl 1): i3-i14, (2012).
- Jefcoate C.R., Liehr J.G., Santen R.J., Sutter T.R., Yager J.D., Yue W., Santner S.J., Tekmal R., Demers L., Pauley R., Naftolin F., Mor G. & Berstein L., Tissue-specific synthesis and oxidative metabolism of estrogens, *Journal of the National Cancer Institute Monographs*, (27): 95-112, (2000).
- Jensen E.V. & Jacobson H.I., Basic guides to the mechanism of estrogen action, *Recent Progress in Hormone Research*, 18: 387-414, (1962).
- Jeong J.H., An J.Y., Kwon Y.T., Rhee J.G. & Lee Y.J., Effects of low dose quercetin: Cancer cell-specific inhibition of cell cycle progression, *Journal of Cellular Biochemistry*, 106: 73-82, (2009).
- Joglekar A.M. & May A.T., Product excellence through design of experiments, *Cereal Foods World*, 32:857-868, (1987)
- Karumi Y., Augustine A.I. & Umar I.A., «Gastroprotective effets of aqueous extract of *A. digitata*. Leaf on Ethanol- Induced ulceration in Rat», *Asian Network for scientific information*, 8:225-228, (2008).
- Kent K., Charlton K.E., Netzel M. & Fanning K., Food-based anthocyanin intake and cognitive outcomes in human intervention trials: a systematic review, *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 30: 260-274, (2017).
- Kerharo J. & Adam J., La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques, Vigot Frères, Paris, France, 1007 p, (1974).
- Keshri G., Kumar S., Kulshreshtha DK., Rajendran SM. & Singh MM., Postcoital interceptive activity of *Wrightia tinctoria* in Sprague Dawley rat: a preliminary study, *Contraception*, 78 : 266-270, (2008).
- Khalid H., Mécanismes d'action des anti-oestrogènes totaux, Thèse de Doctorat (PhD), Université de Montréal, Département de biochimie, Faculté de Médecine, Faculté des études supérieures et postdoctorales, 293 p, (2012).
- Khlifi D., Sghaier R.M., Amouri S., Laouini D., Hamdi M. & Bouajila J., Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta*

- chalpensis L. and Peganum harmala L, *Food and Chemical Toxicology*, 55: 202-208, (2013).
- Kim D., Diabètes et stress oxydant, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Faculté de Pharmacie Université d'Aix-Marseille, France, 76 P (2018).
- Kim D-O., Ock K.C., Young J.K., Hae-Yeon M. & Chang Y.L., Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidant Capacity in Fresh Plums, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22): 6509-6515, (2003).
- Kim H.P., Lee J.Y., Jeong J.K., Bae S.W., Lee H.K. & Jo I., Nongenomic stimulation of nitric oxide release by oestrogen is mediated by oestrogen receptor alpha localized in caveolae, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 263 (1): 257-262, (1999).
- Kim M.Y., Woo E.M., Chong Y.T., Homenko D.R. & Kraus W.L., Acetylation of estrogen receptor alpha by p300 at lysines 266 and 268 enhances the deoxyribonucleic acid binding and transactivation activities of the receptor, *Molecular Endocrinology*, 20(7): 1479-1493, (2006).
- Kinuthia U.M., Mbuthia S.K., Alice M., Abwao S.I., Catherine D., Simon M. & Ramni J., Nutritional variation in baobab (*Adansonia digitata* L.) fruit pulp and seeds based on Africa geographical regions, *Food Science & Nutrition*, 5(6):1116-1129 (2017).
- Klimczak, I., Małecka, M., Szlachta, M. & Gliszczyńska-Świąło A., Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices, *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3-4): 313-322, (2007).
- Klouche M., Estrogens in human vascular diseases, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1089: 431-43, (2006).
- Kolasa A., Epididymis in an experimental model of DHT deficiency: immunolocalization of ERalpha and ERbeta in rat epididymal epithelial cells: In vivo and in vitro studies, *Annales Academiae Medicae Stetinensis*, 52: 13-21, (2006).
- Konan A.G., Konan Y. & Kone M.W., Polyphenols content and antioxidant capacity of traditional juices consumed in Côte d'Ivoire, *Journal of Applied Biosciences*, 87: 8015-8021, (2015).
- Kongkachuichai R., Charoensiri R., Yakoh K., Kringkasemsee A. & Insung P., Nutrients value and antioxidant content of indigenous vegetables from Southern Thailand, *Food Chemistry*, 173: 838-846, (2015).

- Korbo A., Kjær E.D., Sanou H., Ræbild A., Jensen J.S. & Hansen J.K., Breeding for high production of leaves of baobab (*Adansonia digitata* L) in an irrigated hedge system, *Tree Genetics and Genomes*, 9: 779-793, (2013).
- Korde L.A., Wu A.H., Fears T., Nomura A.M., West D.W., Kolonel L.N., Pike M.C., Hoover R.N. & Ziegler R.G., Childhood soy intake and breast cancer risk in Asian American women, *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 18(4):1050-9, (2009).
- Kouamé B.A., Justine B.A. & Kouamé M.K., Caractérisation biochimique et microbiologique de la pulpe de baobab (*Adansonia digitata*) Vendue sur le marché d'Abidjan, *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 7(5): 320-340, (2018).
- Kris-Etherton P.M., Hecker K.D., Bonanome A., Coval S.M., Binkoski A.E, Hilpert K.F., Amy E.G. & Etherton T.D., Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer, *The American Journal of Medicine*, 113 (suppl 9B): 71-88, (2002).
- Kuiper G., Lemmen J., Carlsson B., Corton C., Safe S., van der Saag P., van der Burgh B. & Gustafsson J-A., Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β , *Endocrinology*, 139(10): 4252-4263, (1998).
- Kumar N.B., Kang L., Pow-Sang J., Xu P., Allen K., Riccardi D., Bester-man-Dahan K. & Krischer J.P., Results of a randomized phase I dose-finding trial of several doses of isoflavones in men with localized prostate cancer: administration prior to radical prostatectomy, *Journal of the Society for Integrative Oncology*, 8(1):3-13, (2010).
- Kurtzer M.S. & Xu X., Dietary phytoestrogens, *Annual Review of Nutrition*, 17: 353-381, (1997).
- Lamartiniere C.A., Moore J., Holland M. & Barnes S., Neonatal genistein chemoprevents mammary cancer, *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 208(1):120-3, (1995).
- Lambard S., Galeraud-Denis I., Bouraima H., Bourguiba S., Chocat A. & Carreau S., Expression of aromatase in human ejaculated spermatozoa: a putative marker of motility, *Molecular Human Reproduction*, 9: 117- 124, (2003).
- Lamien-Meda A., Lamien C.E., Compaoré M.M., Meda R.N., Kiendrebeogo M., Zeba B., Millogo JF. & Nacoulma O.G., Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Fourteen Wild Edible Fruits from Burkina Faso, *Molecules*, 13: 581-594, (2008).
- Lane N.E., Yao W., Kinney J.H., Modin G., Balooch M. & Wronski T.J., Both hPTH (1-34) and bFGF increase trabecular bone mass in osteopenic rats but they have different

- effects on trabecular bone architecture, *Journal of Bone Mineral Research*, 18: 2105-2115, (2003).
- Lantin-Hermoso R.L., Rosenfeld C.R., Yuhanna I.S., German Z., Chen Z. & Shaul P.W., Estrogen acutely stimulates nitric oxide synthase activity in fetal pulmonary artery endothelium, *American Journal of Physiology*, 273: 119-26, (1997).
- Latifou L., Madjid A., Yann A. & Ambaliou S., Antifungal, antibacterial and antioxidant properties of *Adansonia digitata* and *Vitex doniana* from Bénin pharmacopeia, *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 4: 44-52, (2012).
- Lee S.A., Shu X.O., Li H., Yang G., Cai H., Wen W., Ji B.T., Gao J., Gao Y.T. & Zheng W., Adolescent and adult soy food intake and breast cancer risk: results from the Shanghai Women's Health Study, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 89(6):1920-6, (2009).
- Leong S. & Oey I., Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables, *Food Chemistry*, 133(4): 1577-1587, (2012).
- Lesschaeve I. & Noble A., Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on foods and beverage preferences, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81: 330-335, (2005).
- Levine R. L. & Stadtman E. R., Oxidative modification of proteins during aging, *Experimental gerontology*, 36: 1495-1502, (2001).
- Lieberman S., Are estradiol-producing cells incompletely endowed? A chronicle of the emergence of certitude from conjecture, *Gynecol Obstet Invest*, 41: 147-172, (1996).
- Liu G., Xiang X., Qinfeng H. & Yanxiang G., Supercritical CO₂ extraction optimization of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil using response surface methodology, *LWT, Food Science and Technology*, 42(9): 1491-1495, (2009).
- Liu R.H., Health-promoting components of fruits and vegetables in the diet, *Advances in nutrition*, 4(3): 384S-392S, (2013).
- Liu Y., Tikunov Y., Schouten R. E., Marcelis L. F., Visser R. G. F. & Bovy A., Anthocyanin Biosynthesis and Degradation Mechanisms in Solanaceous Vegetables: A Review, *Frontiers in Chemistry*, 6: 52, (2018).
- Lo Scalzo R., Iannocari T., Summa C., Morelli R. & Rapisarda P., Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice, *Food Chemistry*, 85:41-47, (2004).
- Lo Vasco V.R., Leopizzi M., Di Maio V., Di Raimo T., Cesa S., Masci A. & Della Rocca C., LPS, Oleuropein and Blueberry extracts affect the survival, morphology and

- Phosphoinositide signalling in stimulated human endothelial cells, *Journal of Cell Communication and Signaling*, 11: 317-327, (2017).
- Lockett C., Calvert C. & Grivetti L., Energy and micronutrient composition of dietary and medicinal wild plants consumed during drought. Study of rural Fulani, Northeastern Nigeria, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51(3): 195-208, (2000).
- Lu A., Frink M., Choudhry MA., Schwacha MG., Hubbard WJ., Rue LW III., Bland KI., Chaudry IH., Mitochondria play an important role in 17beta-estradiol attenuation of H(2) O(2)-induced rat endothelial cell apoptosis, *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 292, E585-E593, (2007).
- Lubahn D.B., Moyer J.S., Golding T.S., Couse J.F., Korach K.S. & Smithies O., Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(23):11162-6, (1993).
- MacRitchie AN., Jun SS., Chen Z., German Z., Yuhanna IS., Sherman TS. & Shaul PW., Estrogen upregulates endothelial nitric oxide synthase gene expression in fetal pulmonary artery endothelium, *Circulation Research*, 81: 355-362, (1997).
- Magdi O A., Chemical and nutrient analysis of baobab (*Adansonia digitata*) fruit and seed protein solubility, *Plant foods for human nutrition*, 59(1): 29-33, (2004).
- Maggi A., Ciana P., Belcredito S. & Vegeto E., Estrogens in the nervous system: mechanisms and nonreproductive functions, *Annual Review of Physiology*, 66: 291- 313, (2004).
- Mahapatra A. K., Mishra S., Basak U. C. & Panda P. C., Nutrient analysis of some selected wild edible fruits of deciduous forests of India: an explorative study towards non-conventional bio-nutrition, *Advanced Journal of Food Science and Technology*, 4: 15-21, (2012).
- Maizura M., Aminah A. & Wan Aida W.M., Total phenolic content and antioxidant activity of kesum (*Polygonum minus*), ginger (*Zingiber officinale*) and turmeric (*Curcuma longa*) extract, *International Food Research Journal*, 18: 529-534, (2011).
- Malcolmson L. J., Matsuo P. R. & Balshaw R., Textural optimization of spaghetti using response surface methodology: Effects of drying temperature and durum protein level, *Cereal Chemistry*, 70: 417- 423, (1993).

- Malgras Denis., Arbres et arbustes guérisseurs des savanes maliennes, ed : ACCT- Karthala, 478 p, (1992).
- Mamyrbékova-Békro J.A., Konan M.K., Békro Y.A., Djié Bi M.G., Zomi Bi T.J., Mambo V. & Boua B. B., Phytochemicals of the extracts of four medicinal plants of Côte d'Ivoire and assessment of their potential antioxidant by thin layer chromatography, *European Journal of scientific Research*, 24 : 219-228, (2008).
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C. & Jiménez L., Polyphenols: food sources and bioavailability, *The American journal of clinical nutrition*, 79(5): 727-747, (2004).
- Mang Y.D., Abdou B.A., Njintang Y.N., Djiogue M.J.E., Clémence B. & Mbofung C.M.D., Application of desirability-function and RSM to optimize antioxidant properties of mucuna milk, *Food Measure*, 13 p, (2015).
- Manolagas SC., Kousteni S. & Jilka RL., Sex steroids and bone, *Recent Progress in Hormone Research*, 57: 385-409, (2002).
- Mathieu D., Feneuille D. & Phan-Tan-Lu R., Méthodologie de la recherche expérimentale : Etude des surfaces de réponse, IUT de l'Université d'Aix-Marseille, (1977).
- Matsumine H., Herbst M.A., Ou S.H., Wilson J.D. & McPhaul M.J., Aromatase mRNA in the extragonadal tissues of chickens with the henny-feathering trait is derived from a distinctive promoter structure that contains a segment of a retroviral long terminal repeat. Functional organization of the Sebright, Leghorn, and Campine aromatase genes, *Journal of Biological Chemistry*, 266 (30): 19900-19907, (1991).
- Maundu P., Ngugi G. & Kabuye C., Traditional Food Plants in Kenya, *Kenya, Nairobi: National Museums of Kenya Nairobi*, 270 p, (1999).
- Mazur W.M., Wahalak., Rasku S., Salakka A., Hase T. & Adlercreutz H., Lignan and isoflavonoid concentration in tea and coffee, *British Journal of Nutrition*, 127: 1260-1268, (1998).
- Medina M.B., Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method, *Journal of Functional Foods*, 3(2): 79-87, (2011).
- Mendoza-Rodriguez C.A., Merchant-Larios H. & Segura-Valdez M.L., C-fos and estrogen receptor gene expression pattern in the rat uterine epithelium during the estrous cycle, *Molecular Reproduction and Development*, 64: 379-388, (2003).
- Michel T., Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*), Thèse de Doctorat Thèse de Doctorat, Université d'Orléans, France, 289 p, (2011).

- Mihajlovic B., Dixon B., Couture H., & Farber J. Evaluation qualitative des risques microbiologiques que comportent les jus de fruits non pasteurisés de pommes et d'autres fruits, *International Food Risk Analysis*, 3 : 1-21, (2013).
- Miller W.R. & O'Neill J., The importance of local synthesis of estrogen within the breast, *Steroids*, 50(4-6): 537-48, (1987).
- Miller W.R., Aromatase activity in breast tissue, *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 39 (5B): 783-790, (1991).
- Minihane A.M. & Rimbach G., Iron absorption and the iron binding and antioxidant properties of phytic acid, *International Journal of Food Science and Technology*, 37: 741-748, (2002).
- Miura T., Miura C., Ohta T., Nader M.R., Todo T. & Yamauchi K., Estradiol-17-beta stimulates the renewal of spermatogonial stem cells in males, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 264 : 230-4, (1999).
- Mojarrab M., Lagzian MS., Emami SA., Asili J. & Tayarani-Najaran Z., In vitro antiproliferative and apoptotic activity of different fractions of *Artemisia armeniaca*, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23(5) :783-788, (2013).
- Morel Sylvie., Etude phytochimique et évaluation biologique de *Derris ferruginea* Benth. (Fabaceae), Thèse de Doctorat, Chimie des Biomolécules, Université d'Angers, France, 266 p, (2011).
- Morito K., Hirose T., Kinjo J., Hirakawa T., Okawa M., Nohara T., Ogawa S., Inoue S., Muramatsu M. & Masamune Y., Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors alpha and beta, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 24: 351-356, (2001).
- Murakami H., Harada N. & Sasano H., Aromatase in atherosclerotic lesions of human aorta, *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 79 (1-5): 67-74, (2001).
- Muralidhar M.M., Jirsa N., Sakai M. & Murakami., Optimization of matrix chemical ratio for high flux pinning in ternary (Nd–Eu–Gd) Ba₂Cu₃O_y, *Applied Physics Letters*, 79: 3107, (2001).
- Murray S.S., Schoeninger M.J., Bunn H.T., Pickering T.R. & Marlett J.A., Nutritional composition of some wild plant foods and honey used by Hadza foragers of Tanzania, *Journal of Food Composition and Analysis*, 14: 3-13, (2001).
- Muthai KU., Karori MS., Muchugi A., Indieka AS., Dembele C., Mng'omba S. & Jamnadass R., Nutritional variation in baobab (*Adansonia digitate* L.) fruit pulp and seeds based on Africa geographical regions, *Food Science and Nutrition*, 5: 1116-1129, (2017).

- Mvondo M.A., Effets œstrogéniques/anti-œstrogéniques d'une isoflavone et d'une flavanone isolées de *Erythrina lysistemon* Hutch (Fabaceae), Thèse de Doctorat, Université de Yaoundé I, Cameroun, 227 p, (2013).
- Naftolin F., Brain aromatization of androgen, *The Journal of Reproductive Medicine*, 39: 257-261, (1994).
- Naftolin F., Ryan K.J., Davies I.J., Petro Z. & Kuhn M., The formation and metabolism of oestrogen in brain tissues, *Advances in the Biosciences*, 15: 105-121, (1975).
- Najwa F.R. & Azrina A., Comparison of vitamin C content in citrus fruits by titration and high performance liquid chromatography (HPLC) methods, *International Food Research Journal*, 24(2): 726-733 (2017).
- Ndiaye N.A., Bassama J., Dieng M., Toure/kane N. C. & Montet D., Optimization scale pasteurization of baobab juice using Response Surface Methodology (RSM), *Food and Nutrition Sciences*, 11(2): 113-122, (2020).
- Nemer A. & Benseghir R., Analyse physico-chimiques et microbiologiques d'un jus IFRUIT, commercialisé au niveau de la Wilaya d'Ain Témouchent, Mémoire de Master en Microbiologie appliquée, Institut des sciences, Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent, Algérie, 53 P, (2019).
- Niemann B., Rohrbach S., Miller M. R., Newby D. E., Fuster V. & Kovacic J. C., Oxidative Stress and Cardiovascular Risk: Obesity, Diabetes, Smoking, and Pollution, *Journal of the American College of Cardiology*, 70 (2): 230-251, (2017).
- Nilsson S., Makela S., Treuter E., Tujague M., Thomsen J., Andersson G., Enmark E., Pettersson K., Warner M. & Gustafsson J.A., Mechanisms of estrogen action, *Physiological Reviews*, 81(4): 1535-65, (2001).
- Njamen D., Djiogue S., Zingue S., Mvondo MA. & Nkeh-Chungag BN., In vivo and in vitro estrogenic activity of extracts from *Erythrina poeppigiana* (Fabaceae), *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 10: 63-73, (2013).
- Nout R., Honnhoniganj D. & Boekelt V., Les aliments: transformation, conservation et qualité, ed., CTA, Germany, pp 37-42, 109-119, 134-261, (2003).
- OCDE., Guideline for Testing of Chemicals, Test No. 440: Uterotrophic Bioassay in Rodents: A short-term screening test for oestrogenic properties, Adopted 16th October 2007, OECD Environnement Directorate, Paris. <http://www.oecd-ilibrary.org/papers/2007>, (2007).
- Odebeyi O.O. & Sofowara F.H., Antimicrobial alkaloids from a Nigerian Chewing Stick (*Fagara zanthoxyloides*), *Planta Medica*, 36: 204-207, (1978).

- O.M.S., Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases, Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, WHO Technical Report Series 916, Geneva, (2003).
- O.M.S., Importance of fruit and vegetables for public health and food safety, Pacific Regional Workshop on Promotion of Fruit and Vegetables for Health - PROFAV Nadi, Fiji, 20-23 October (2014).
- O.M.S., Note d'orientation sur l'anémie [Global nutrition targets 2025 : anaemia policy brief], Genève : (WHO/NMH/NHD/14.4), Licence : CC BY-NC-SA 3.0 IGO, Cibles mondiales de nutrition 2025, (2017).
- O'Neill J.S., & Miller W.R., Aromatase activity in breast adipose tissue from women with benign and malignant breast diseases, *British Journal of Cancer*, 56(5): 601-4, (1987).
- Osman M., Chemical and nutrient analysis of baobab (*Adansonia digitata*) fruit and seed protein solubility, *Plant Foods for Human Nutrition*, 59(1): 29-33, (2004).
- Oursler M.J., Osdoby P., Pyfferoen J., Riggs B.L. & Spelsberg T.C., Avian osteoclasts as estrogen target cells, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88: 6613-7, (1991).
- Oyebode O., Gordon-Dseagu V., Walker A. & Mindell J.S., Fruit and vegetable consumption and all-cause, cancer and CVD mortality, analysis of Health Survey for England data, *Journal of Epidemiology and Community Health*, 68: 856-862, (2014).
- Ozcan U., Ozcan L., Yilmaz E., Duvel K., Sahin M., Manning B. & Hotamisligil G., Loss of the tuberous sclerosis complex tumor suppressors triggers the unfolded protein response to regulate insulin signaling and apoptosis, *Molecular Cell*, 29: 541-551, (2008).
- Parfitt A.M., Travers R., Rauch F. & Glorieux F.H., Structural and cellular changes during bone growth in healthy children, *Bone*, 27(4): 487-94, (2000).
- Park Y.-S., Leontowicz H., Leontowicz M., Namiesnik J., Suhaj M., Cvikrová M., Martincová O., Weisz M. & Gorinstein S., Comparison of the contents of bioactive compounds and the level of antioxidant activity in different kiwifruit cultivars, *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7): 963-970, (2011).
- Parkouda C., Sanou H., Tougiani A., Korbo A., Nielsen D. S., Tano-Debrah, K. & Jensen, J. S., Variability of baobab (*Adansonia digitata* L.) fruits' physical characteristics and nutrient content in the West African Sahel, *Agroforestry systems*, 85(3): 455-463, (2012).
- Parl F.F., Estrogen, estrogen receptor and breast cancer, *Biomedical and Health Research*, 36: 1-263, (2000).

- Patras A., Brunton N. P., O'Donnell C. & Tiwari B. K., Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation, *Trends in Food Science & Technology*, 21(1): 3-11, (2010).
- Pei K., Ou J., Huang J. & Ou S., p -Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96 (9): 2952-2962, (2016).
- Pérez-Jiménez J., Neveu V., Vos F. & Scalbert A., Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database, *European Journal of Clinical Nutrition*, 64:112-120, (2010).
- Peter A.I., John J.M. & Mohammed A., Effects of Storage Period on Some Nutritional Properties of Orange and Tomato, *Technical Report, AU Journal of Technology*, 13:181-185 (2010).
- Petti S., & Scully C., Polyphenols, oral health and disease: A review, *Journal of dentistry*, 37: 413-423, (2009).
- Pettigrew J.D., Bell K.L., Bhagwandin A., Grinan E., Jillani N., Meyer J., Wabuyele E. & Vickers C.E., Morphology, ploidy and molecular phylogenetics reveal a new diploid species from Africa in the baobab genus *Adansonia* (Malvaceae: Bombacoideae), *Systematics and Phylogenys*, 61(6): 1240-1250, (2012).
- Pietta P.-G., Flavonoids as Antioxidants, *Journal of Natural Products*, 63 (7): 1035-1042, (2000).
- Piljac-Zegarac J., Belscak A. & Piljac A., Antioxidant capacity and polyphenolic content of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaf infusions, *Journal of Medicinal Food*, 12(3): 608-614, (2009).
- Plaza L., Sánchez-Moreno C., Elez-Martínez P., De Ancos B., Martín-Belloso O. & Cano M.P., Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization, *European Food Research and Technology*, 223(4): 487-493, (2006).
- Porter J.C., Proceedings: Hormonal regulation of breast development and activity, *Journal of Investigative Dermatology*, 63: 85-92, (1974).
- Poste L.M., Mackie D.A., Bulter G. & Larmond E., Méthodes d'analyse sensorielle des aliments en laboratoire, Monographie, Direction générale de la recherche, *Agriculture Canada*, Publication 1864/F, 112 p, (1991).

- Prieto P., Pineda M. & Aguilar M., Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E, *Analytical Biochemistry*, 269: 337-341, (1999).
- Rajah T.T., Du N., Drews N. & Cohn R., Genistein in the presence of 17beta-œstradiol inhibits proliferation of ERbeta breast cancer cells, *Pharmacology*, 84(2):68-73, (2009).
- Rajauria G. & Tiwari B. K., Fruit Juices : Extraction, Composition, Quality and Analysis, *Elsevier Science and Technology*, ISBN: 9780128024911 0128024917 : 910 p, (2017).
- Ramadan A., Harraz F. & El-Mougy S., Anti-inflammatory analgesic and antipyretic effects of the fruit pulp of *Adansonia digitata*, *Fitoterapia*, 65: 418-422, (1994).
- Ramaswamy H. S., Chen C. & Marcotte M., Novel processing technologies for food preservation, *In Processing Fruits: Science and Technology*, ed. by Barrett DM, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp 201-204, (2005).
- Raynal I., Intervention of phenolic compounds in plum technology.1. Changes during drying, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37:1046-1050, (1989).
- Refray M. K., Analyse microbiologique, *Etude F.A.O. Alimentation*, 14-04: 202 p, (1981).
- Rioux C., Stress oxydatif et prévention des maladies chroniques : La supplémentation s'impose-t-elle? Mémoire de Master, Université Laval Québec, Canada, 83p, (2009).
- Rockwell L.C., Pillai S., Olson C.E. & Koos R.D., Inhibition of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor action blocks oestrogen-induced uterine edema and implantation in rodents, *Biology and Reproduction*, 67: 1804-1810, (2002).
- Rodrigues R., De Menezes H., Cabral L., Dornier M. & Reynes M., An amazonian fruit with a high potential as natural source of vitamin C: the camu-camu (*Myrciaria dubia*), *Fruits*, 56: 345-354, (2001).
- Ronco A.L., De Stefani E., Boffetta P., Deneo-Pellegrini H., Acosta G. & Mendilaharsu M., Food patterns and risk of breast cancer: A factor analysis study in Uruguay, *International Journal of Cancer*, 119 (7): 1672-1678, (2006).
- Rupasinghe H.P.V. & Yu L.J., Emerging Preservation Methods for Fruit Juices and Beverages, *Food Additive*, Prof. Yehia El-Samragy (Ed.), ISBN: 978-953-51-0067-6, InTech, pp 65-82, (2012).
- Russo M., Ronci M.B., Vilmercati A., Gionfriddo M., Fanali C., Dugo L., Locato V., Mondello L. & De Gara L., African baobab (*Adansonia digitata*) fruit as promising source of procyanidins, *European Food Research and Technology*, 3: 342-9, (2019).

- Saleh N.K. & Saleh H.A., Olive Oil effectively mitigates Ovariectomy-induced Osteoporosis in Rats, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, p 11(1): 10, (2011).
- Sami A. A., Sulaiman M. A., Tariq I. A., Essam M. H. & Hassan M. M.; Protective Effect of Baobab Fruit Pulp (*Adansonia digitata* L.) from Oxidative Stress Induced in Rats by High-Fat Diet, *Life Science Journal*, 16(1): 63-71, (2019).
- Sánchez-Moreno C., Plaza L., Elez-Martínez P., De Ancos B., Martín-Belloso O. & Cano M.P., Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11): 4403- 4409, (2005).
- Sanogo D., Badji M., Diop M., Samb C., Tamba A. & Gassama Y., Évaluation de la production en fruits de peuplements naturels de Baobab (*Adansonia digitata* L.) dans deux zones climatiques au Sénégal, *Journal of Applied Biosciences*, 85 : 7838-7847, (2015).
- Santen R.J., Santner S.J., Pauley R.J., Tait L., Kaseta J., Demers L.M., Hamilton C., Yue W. & Wang J.P., Estrogen production via the aromatase enzyme in breast carcinoma: which cell type is responsible? *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 61(3- 6): 267-71, (1997).
- Santhakumar A.B., Battino M. & Alvarez-Suarez J.M., Dietary polyphenols: Structures, bioavailability and protective effects against atherosclerosis, *Food and Chemical Toxicology*, 113: 49-65, (2018).
- Schmitt H., *Eléments de pharmacologie*, 5e Ed. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 580 p, (1973).
- Scippo M.L. & Maghuin-Rogister G., Les perturbateurs endocriniens dans l'alimentation humaine: impact potentiel sur la santé, *Annales de Médecine Vétérinaire*, 151 (1) : 44-54, (2007).
- Servais S., Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone : Effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3. Physiologie [q-bio.TO], Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard - Lyon I, France, 164 p, (2004).
- Shahidi F., Antioxidants: Principles and applications, *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*, 1-14, (2015).
- Shang Y., Hormones and cancer, *Cell Research*, 17(4): 277-9, (2007).
- Sidibé & Williams J., Baobab: *Adansonia digitata*, fruits for the future, *International center for underutilised crops*, Southampton, UK, 4: 100p, (2002).

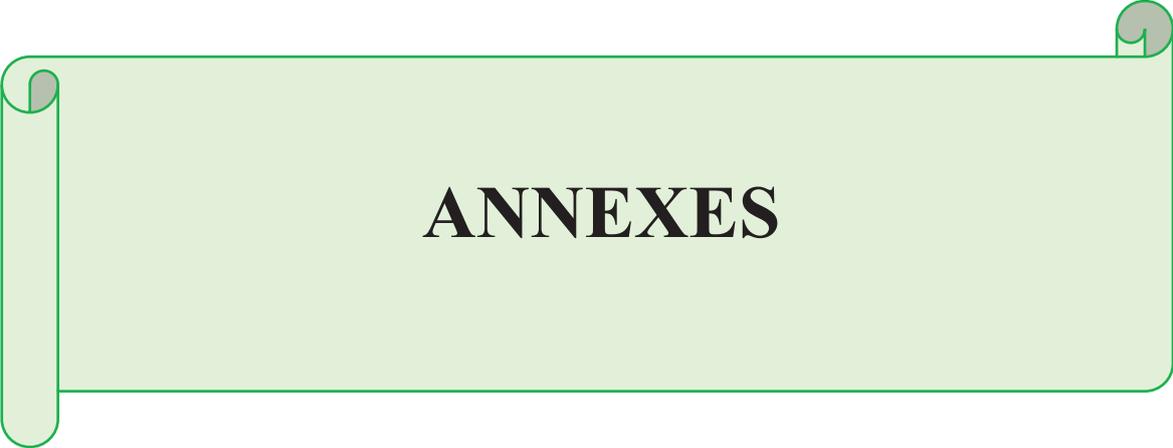
- Sidibe., Scheuring D., Tembely M., Hofman M. & Frigg M., Baobab-Homegrown Vitamin C for Africa, *Agroforestry Today*, 8(2): 13-15, (1996).
- Sies H., Carsten B., Dean P. & Jones., Oxidative Stress, *Annual Review of Biochemistry*, 86: 715-748, (2017).
- Silvia V., Braccioli E., Buzzoni V. & Manfredini S., Antioxidant capacity of *Adansonia digitata* fruit pulp and leaves, *ACTA Phytotherapeutica*, 2: 2-7, (2002).
- Simpson E.R., Clyne C., Speed C., Rubin G. & Bulun S., Tissue-specific estrogen biosynthesis and metabolism, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 949: 58-67, (2001).
- Singh A., Kuila A., Yadav G. & Banerjee R., Polyphenol Extraction from Okara, *Food Science and Technology*, 49(3): 322-328, (2011).
- Singh S., Chakravarti D., Edney J.A., Hollins R.R., Johnson P.J., West W.W., Higginbotham S.M., Cavalieri E.L. & Rogan E.G., Relative imbalances in the expression of estrogen-metabolizing enzymes in the breast tissue of women with breast carcinoma, *Oncology Reports*, 14(4): 1091-6, (2005).
- Sllteri P.K. & Mac Donald P.C., Placenta oestrogen biosynthesis during human pregnancy, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 26: 751-761, (1966).
- Sofowora A., Medicinal plants and traditional medicine in Africa, 2 Spectrum Books Limited, Ibadan, Nigeria, 289 p, (1993).
- Sokeng A.J.T., Sobolev A.P., Di Lorenzo A., Xiao J., Mannina L., Capitani D. & Daglia M., Metabolite characterization of powdered fruits and leaves from *Adansonia digitata* L. (Baobab): A multi-methodological approach, *Food Chemistry*, 272: 93-108, (2019).
- Soloviev P., Niang T., Gaye A. & Totte A., Variabilité des caractères physicochimiques des fruits de trois espèces ligneuses de cueillette, récoltés au Sénégal: *Adansonia digitata*, *Balanites aegyriaca* et *Tamarindus indica*, *Fruits*, 59 : 109-119, (2004).
- Sonnenschein C. & Soto A.M., An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists, *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 65: 143-150, (1998).
- Steinshamn H., Purup S., Thuen E. & Møller H.J., Effects of clover-grass silages and concentrate supplementation on the content of phytoestrogens in dairy cow milk, *Journal of Dairy Science*, 91(7): 2715-2725, (2008).
- Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. & Stöckigt D., High performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary

- electrophoretic electrospray ionization mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups, *Journal of chromatography A*, 967: 85-113, (2002).
- Stone H., Sidel J. L., Oliver S., Woolsey A. & Singleton R.C., Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis, *Food Technology*, 28(11): 24-34, (1974).
- Strehlow K., Rotter S., Wassmann S., Adam O, Grohe C., Laufs K., Bohm M. & Nickenig G., Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen, *Circulation Research*, 93: 170-177, (2003).
- Sugandha S. & Shashi R., spectroscopic determination of total phenol, flavonoid content and anti-oxidant activity in different parts of *Adansonia digitata* L.: an important medicinal tree, *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 4(2): 549-552, (2017).
- Sumit S., Samir B., Arnab G., Apurb G. & Samindranath B., Male breast cancer: a clinicopathologic study of 42 patients in eastern India, *Indian journal of surgical oncology*, 3(3): 245-9, (2012).
- Syed F. & Khosla S., Mechanisms of sex steroid effects on bone, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 328(3): 688-696, (2005).
- Takahashi O., Oishi S., Yoneyama M., Ogata A. & Kamimura H., Antiestrogenic effect of paradichlorobenzene in immature mice and rats, *Archives of Toxicology*, 81: 505-517, (2007).
- Tal Dia A., Touré K. & Sarr M., Qualité technique des consultations prénatales au Sénégal, *Dakar-Médical*, 68-73, (1997).
- Tchuenchieu K.A., Traitement des jus de fruits à température modérée en présence de carvacrol : Influence de l'acido-adaptation et de la matrice sur l'inactivation microbienne, Thèse de Doctorat/Ph.D, Université de Yaoundé I, Cameroun, 155 p, (2017).
- Tembo D.T., Holmes M.J. & Marshall L.J., Effect of thermal treatment and storage on bioactive compounds, organic acids and antioxidant activity of baobab fruit (*Adansonia digitata*) pulp from Malawi, *Journal of Food Composition and Analysis*, 58: 40-51 (2017).
- Tembo DT., Optimisation of Baobab (*Adansonia digitata*) fruit processing and handling techniques for increased human nutrition and commercialisation in Malawi, Thèse de Doctorat/Ph D, The University of Leeds, UK, 286 p, (2016).
- Teresa C., Wendie C. & Ilya R., Dietary phytoestrogens and health, *Phytochemistry*, 65 (2004): 995-1016, (2004).
- Tina K., Achille E., Assogbadjo., Olivier J., Hardy., Romain G.K., Brice S., Patrick V.D. & Godelieve G., «Spatial genetic structuring of baobab (*Adansonia digitata*, Malvaceae)

- in the traditional agroforestry systems of West Africa», *American Journal of Botany*, 96(5): 1- 8 (2009).
- Tiwari B.K., O'Donnell C.P. & Cullen P.J., Effect of non-thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices, *Trends in Food Science and Technology*, 20(3-4): 137-145, (2009).
- Tonetti D.A., Zhang Y., Zhao H., Lim S.B. & Constantinou A.I., The effect of the phytoestrogens genistein, daidzein, and equol on the growth of tamoxifen-resistant T47D/PKC alpha, *Nutrition and Cancer*, 58(2):222-9, (2007).
- Toullec A., Gerald D., Despouy G., Bourachot B., Cardon M., Lefort S., Richardson M., Rigail G., Parrini M-C., Lucchesi C., Bellanger D., Stern M-H., Dubois T., Sastre-Garau X., Delattre O., Vincent-Salomon A. & Mechta-Grigoriou F., Oxidative stress promotes myofibroblast differentiation and tumour spreading, *EMBO Molecular Medicine*, 2:211-230, (2010).
- Toutain C., Effets vasculoprotecteurs des œstrogènes dans l'ischémie cutanée et après agression artérielle, Thèse de Doctorat/ Ph.D, Université de Toulouse, France, 184 p, (2009).
- Trease G.E. & Evans W.C., Pharmacognosy, 13th Edition, Bailliere Tindall, London, pp 683-684, (1989).
- Tucker L.A. & Thomas K.S., Increasing Total Fiber Intake Reduces Risk of Weight and Fat Gains in Women, *The Journal of Nutrition*, 139 (3): 576-581 (2009).
- Tyug T.S., Prasad K.N. & Amin I., Antioxidant capacity, phenolics and isoflavones in soybean by-products, *Food Chemistry*, 123 (3): 583-589 (2010).
- Valko M., Rhodes C J., Moncol J., Izakovic M. & Mazur M., Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *Chemico Biological Interactions*, 160: 1-40, (2006).
- Vámos-Vigyázó L., Prevention of enzymatic browning in fruits and vegetables, a review of principles and practice, Dans *Enzymatic Browning and Its Prevention*, Eds. C.Y. Lee and J.R. Whitaker. *American Chemical Society*, Washington, pp 49- 62, (1995).
- Vantarakis A., Affifi P., Kokkinos M., Tsibouxi M. & Papapetropoulou M., Occurrence of microorganisms of public health and spoilage significance in fruit juices sold in retail markets in Greece, *Anaerobe*, 17: 288-291, (2011).
- Watson C.S., Alyea R.A., Cunningham K.A. & Jeng Y.J., Estrogens of multiple classes and their role in mental health disease mechanisms, *International Journal of Women's Health*, 2: 153-166, (2010).

- Weiskirchen S. & Weiskirchen R., Resveratrol: How Much Wine Do You Have to Drink to Stay Healthy? *Advances in Nutrition*, 7:706-718, (2016).
- Westwood F.R., The Female Rat Reproductive Cycle: A Practical Histological Guide to Staging, *Toxicologic pathology*, 36: 375-384, (2008).
- Whitsett T.G. & Lamartiniere C.A., Genistein and resveratrol: mammary cancer chemoprevention and mechanisms of action in the rat, *Expert Review of Anticancer Therapy*, 6(12):1699-706, (2006).
- Whitten P.L., Lewis C. & Russel E., Potential adverse effects of phytoestrogens, *Journal of Nutrition*, 125: 771S-776S, (1995).
- Wickens. & Lowe P., The baobabs: pachycauls of Africa, Madagascar and Australia, Dordrecht London: Springer, 498p, (2008).
- Will F. & Dietrich H., Optimised processing technique for colour and cloud stable plum juices and stability of bioactive substances, *European Food Research and Technology*, 223(3): 419- 425, (2006).
- Woolley C.S., Acute effects of estrogen on neuronal physiology, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 47: 657-80, (2007).
- World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Second Expert Report – Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: A Global Perspective WCRF/AICR, Washington, (2007).
- Wu A.H., Wan P., Hankin J., Tseng C.C., Yu M.C. & Pike M.C., Adolescent and adult soy intake and risk of breast cancer in Asian-Americans, *Carcinogenesis*, 23(9):1491-6, (2002).
- Xu X., Duncan A.M., Wangen K.E. & Kurzer M.S., Soy consumption alters endogenous estrogen metabolism in postmenopausal women, *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 9: 781-786, (2000).
- Yager J.D. & Davidson N.E., Estrogen carcinogenesis in breast cancer, *The New England Journal of Medicine*, 354(3): 270-82, (2006).
- Yague J.G., Wang A.C., Janssen W.G., Hof P.R., Garcia-Segura L.M., Azcoitia I. & Morrison J.H., Aromatase distribution in the monkey temporal neocortex and hippocampus, *Brain Research*, 1209: 115-27, (2008).
- Yamasaki K., Takeyoshi M., Sawaki M., Imatanaka N., Shinoda K. & Takatsuki M., Immature rat uterotrophic assay of 18 chemicals and Hershberger assay of 30 chemicals, *Toxicology*, 183: 93-115, (2003).

- Yang J., Gadi R., Paulino, R. & Thomson T., Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage, *Food Chemistry*, 122(3): 627- 632, (2010).
- Yang N.N., Bryant H.U., Hardikar S., Sato M., Galvin R.J., Glasebrook A.L. & Termine J.D., Estrogen and raloxifene stimulate transforming growth factor-beta 3 gene expression in rat bone: a potential mechanism for estrogen- or raloxifene-mediated bone maintenance, *Endocrinology*, 137 (5): 2075-2084, (1996).
- Yildiz F., Phytoestrogens in Functional Foods, Taylor and Francis Ltd, 3-5: 210-211, (2005).
- Zallone A., Direct and indirect estrogen actions on osteoblasts and osteoclasts, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1068: 173-179, (2006).
- Zanotti I., Dall'Asta M., Mena P., Mele L., Bruni R. Ray S. & Del Rio D., Atheroprotective effects of (poly) phenols: a focus on cell cholesterol metabolism, *Food and Function*, 6: 13-31 (2015).
- Zhang B., Cui Y., Yin G., Li X. & Zhou X., Alkaline Extraction Method of Cotton seed Protein Isolate, *Modern Applied Science*, 3(3): 77-82, (2009).
- Zingue S., Effets œstrogéniques de quelques extraits de *Millettia macrophylla* Benth. (Fabaceae) et contribution à sa caractérisation phytochimique, Thèse de Doctorat/Ph.D, Université de Yaoundé I, Cameroun, 286 p, (2014).
- Zingue S., Njamen D., Tchoumtchoua J., Halabalaki M., Simpson E., Clyne C., & Magne Nde CB., Effects of *Millettia macrophylla* (Fabaceae) extracts on estrogen target organs of female Wistar rat, *Journal of Pharmacological Sciences*, 123: 120-131, (2013).
- Zou Y., Zhong-Ji Q., Yong L., Moon-Moo K., Sang-Hoon L. & Se-Kwon K., Antioxidant effects of phlorotannins isolated from *Ishige okamurae* in free radical mediated oxidative systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16): 7001-7009, (2008).
- Zuo L., Zhou T., Pannell B. K., Ziegler A. C. & Best T. M., Biological and physiological role of reactive oxygen species - the good, the bad and the ugly, *Acta Physiologica*, 214 (3): 329-348, (2015).



ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Autorisations et fiches d'enquête

A. Autorisations d'enquête

REPUBLIQUE DU CAMEROUN Paix-Travail-Patrie ***** REGION DU NORD ***** DEPARTEMENT DE LA BENOUE ***** ARRONDISSEMENT DE GAROUA IER ***** SOUS-PREFECTURE DE GAROUA IER ***** BUREAU D'APPUI AU DEVELOPPEMENT LOCAL *****		REPUBLIC OF CAMEROON Peace-Work-Fatherland ***** NORTH REGION ***** BENUE DIVISION ***** GAROUA I SUBDIVISION ***** GAROUA I DIVISIONAL OFFICE ***** LOCAL DEVELOPMENT SUPPORT OFFICE *****
--	---	--

N° 051 /AE/04.01.01/BADL

AUTORISATION D'ENQUETE

Dans le cadre de la formation doctorale à la Faculté des Sciences de l'Université Yaoundé I,

Le Sous-Préfet de l'Arrondissement de Garoua 1^{er} soussigné, autorise Mademoiselle **MAPTOUOM FOTSO Christiane Laure**, étudiante en Doctorat au Département de Biochimie (Laboratoire des Sciences Alimentaires et Métabolisme) à mener une enquête académique portant sur le fruit du baobab (*Adansonia digitata*) auprès des producteurs, commerçants et consommateurs de cet aliment dans l'Arrondissement de Garoua 1^{er}, au cours de la période juin-juillet 2016.

En foi de quoi la présente autorisation est établie et délivrée à l'intéressée pour servir et valoir ce que de droit. /-

Garoua, le 09 JUIN 2016

LE SOUS-PREFET,



Saidouna Ali
Administrateur Civil Principal

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie

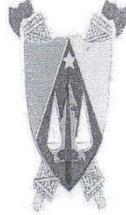
REGION DU NORD

DEPARTEMENT DE LA BENOUE

ARRONDISSEMENT DE GAROUA II

SOUS-PREFECTURE DE POUPOUMRE

BUREAU DES AFFAIRES D'APPUI AU
DEVELOPEMENT LOCAL



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland

NORTH REGION

BENOUE DIVISION

GAROUA II SUBDIVISION

POUMPOUMRE SUBDIVISIONAL OFFICE

AUTORISATION D'ENQUÊTE N° 58 /ASC/040107/BADL

Le Sous-Préfet de l'Arrondissement de Garoua II, soussigné autorise Mademoiselle MAPTOUOM FOTSO Chritiane, Etudiante en Doctorat à l'Université de Yaoundé I, à mener une enquête sur le terrain sous le thème « **recherche sur le fruit de Baobab** » au cours de la période allant du Juin-Juillet 2016 et Février-Avril 2017.

La présente autorisation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit. /-

Poumpourré, le 10 JUN 2016

Copies :

- Préfet/Bénoué : ATCR
- Intéressée
- Dossier
- Archives



Mabuya Esomba François
Administrateur Civil

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie

REGION DU NORD

DEPARTEMENT DE LA BENOUE

ARRONDISSEMENT DE BIBEMI

SOUS-PREFECTURE DE BIBEMI



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-work-fatherland

NORTH REGION

BENOUE DIVISION

BIBEMI SUBDIVISION

BIBEMI SUBDIVISIONAL OFFICE

BP :
TEL :
N° 104/L/04 0102/BAG

Le Sous-préfet de l'Arrondissement de Bibémi
A
Mlle MAPTOUOM FOTSO Christiane Laure
étudiante en Doctorat à l'Université de Yaoundé1

Objet : Enquête académique portant
sur le fruit du baobab.

Mademoiselle,

Suite à la demande du Département de Biochimie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé 1 en date du 09 Juin 2016 relative à l'objet susvisé,

J'ai l'honneur de marquer mon accord de principe, tout en vous invitant au strict respect des règles déontologiques, couplées aux exigences éthiques que requiert une recherche de cette nature.

Veuillez agréer Mademoiselle, l'expression de ma parfaite considération.

Bibémi, le 09 JUN 2016

Le Sous-préfet



Jean Richard Farcice Banga
Administrateur Civil Principal

REGION DU NORD

DEPARTEMENT DE LA BENOUE

ARRONDISSEMENT DE PITOA

SOUS-PREFECTURE

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie
--

N° 07 /AE/04.01.03/BAG

/-)UTORISATION D'ENQUETE

/_E SOUS-PREFET DE L'ARRONDISSEMENT DE PITOA SOUSSIGNE,
Autorise dans le cadre des recherches en vue de valoriser le fruit
du baobab en encourageant son utilisation dans les conditions qui
garantissent ses propriétés nutritionnelles, sensorielles et thé-
rapeutiques, Mlle MAPTOUM FOTSO Christiane Laure, étudiante en
Doctorat, à mener cette enquête au courant de Juin-Juillet 2016 et
Février-Avril 2017 dans l'Arrondissement de Pitoa, pour son mémoi-
re de fin de formation .

En foi de quoi, la présente autorisation est délivrée
à l'intéressée pour servir et valoir ce que de droit./-

PITOA, le 10 JUN 2016



Pour le Sous-Prefet et par Délégation
L'Adjoint

Redjo Jean Laurès
Secrétaire d'Administration Principal
(Breveté de l'ENAM)

B. Fiche d'enquête

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

BP 812 Yaoundé, Cameroun



THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

PO Box 812 Yaoundé, Cameroon

Laboratoire des Sciences Alimentaires et Métabolisme

Laboratory for Food Science and Metabolism

FICHE D'ENQUETE

Fiche N° _____

Date : _____

Lieu : _____

I- Préambule

Je me nomme MAPTOUOM FOTSO Christiane Laure, étudiante en PhD/Doctorat de Biochimie option Nutrition et Sciences des Aliments au Département de Biochimie de la Faculté des Sciences de l'Université de Yaoundé I. J'effectue mes travaux de recherche sous la direction des Professeurs FOKOU Elie et NJAMEN Dieudonné des Départements de Biochimie et Biologie et Physiologie Animale respectivement.

Nos travaux de recherche portent sur l'**optimisation des propriétés nutritionnelles de la boisson de la pulpe du fruit de baobab communément appelée « jus de baobab »**. Les résultats de ces travaux nous permettront de valoriser le jus de baobab et de proposer les meilleures conditions de préparation d'un jus aux propriétés nutritionnelles, organoleptiques et microbiologiques améliorées. Pour mener à bien nos recherches, nous avons besoin des informations que nous croyons pouvoir trouver auprès de vous. Nous vous garantissons la stricte confidentialité de vos informations et vous remercions d'avance pour votre participation et votre sincérité.

II- Identification du répondant

1- Noms et Prénoms :

2- Contact (Tel et email) :

3- Sexe : M F

4- Région d'origine : Adamaoua Centre Est Extrême-Nord
Littoral Ouest Nord Nord-Ouest
Sud Sud- Ouest

5- Profession : _____

III- Questionnaire

1. Connaissez-vous préparer le jus de baobab ? Oui Non

2. Combien de fois la préparez-vous ? -----fois/semaine -----fois/mois

9. Comment vous procurez-vous le fruit du baobab ? J'achète au marché Je prends chez les producteurs Je récolte moi-même Autres _____

10- a) Comment le conservez-vous ? A l'air libre Dans les sacs Dans les récipients fermés Autres _____

b) Pendant combien de temps ? Moins d'une semaine Plus d'une semaine Plus d'un mois Autres _____

11- a) Le temps et la manière de conserver les fruits a-t-il un impact sur la qualité du jus ?

Oui Non

b) Si oui sur quels paramètres ? La couleur Le goût L'acidité La fluidité Autres _____

12. Quel type de fruit de baobab ou de jus les consommateurs préfèrent-ils ?

Nouveaux fruits Anciens fruits Mélange

13- a) Ya t-il des différences entre les nouveaux fruits et les anciens ? Oui Non

b) Si oui lesquelles ? La couleur Le goût L'acidité

Autres _____

c) Qu'est ce qui cause cette différence ? _____

14- a) Ya t-il des différences entre le jus fait à base des nouveaux fruits et celui fait avec les anciens ?

Oui Non

b) Si oui lesquelles ? La couleur Le goût L'acidité La fluidité

Autres _____

Comment pouvez-vous expliquer cela ? _____

15. a) Selon vous, quels sont les autres paramètres qui peuvent influencer la qualité du jus ?

a- la quantité de fruit de départ b- la quantité d'eau utilisée

c- le temps de préparation d- la température de préparation (à froid, à chaud)

b) Expliquez comment ? _____

16. Pour quelle (s) raison (s) consommez-vous ce jus ? Goût Santé Plaisir C'est sans alcool

Autres _____

17. Connaissez-vous l'utilité du fruit du baobab et de son jus en médecine (traditionnelle ou moderne) ?

Oui Non

Si oui énumérez-les :

18. Quels sont les autres usages du fruit du baobab (pulpe, graines) ?

Merci pour votre collaboration

Annexe 2 : Analyse sensorielle

A. Codification

Tableau A I. Codification de l'analyse sensorielle pour l'optimisation

Echantillon	Code
1	720
2	234
3	545
4	715
5	368
6	890
7	133
8	479
9	943
10	255
11	686
12	141
13	364
14	816
15	437
16	799
17	562
18	900
19	326

B. Fiche d'analyse sensorielle

REPUBLIQUE DU CAMEROUN

REPUBLIC OF CAMEROON

PAIX-TRAVAIL-PATRIE

PEACE-WORK-FATHERLAND



UNIVERSITE DE YAOUNDE I

THE UNIVERSITY OF YAOUNDE I

FACULTE DES SCIENCES

FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY

LABORATOIRE DES SCIENCES DES ALIMENTS ET METABOLISME

LABORATORY FOR FOOD SCIENCE AND METABOLISM

Code Panéliste

(A ne pas remplir)

ANALYSE SENSORIELLE : OPTIMISATION DU JUS DE BAOBAB

FICHE D'ENREGISTREMENT DU PANELISTE

Noms:..... Contact :..... Date :..... Age:.....

Code Panéliste

(A ne pas remplir)

NB : Pour chaque échantillon de jus qui vous est présenté, il vous est demandé d'apprécier chacun selon l'échelle ci-dessous.

Note	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Appréciation	Extrêmement déplaisant	Très déplaisant	Déplaisant	Un peu déplaisant	Indifférent	Un peu plaisant	Plaisant	Très plaisant	Extrêmement plaisant

Reportez vos résultats sous forme de chiffres et justifiez les dans le tableau ci-dessous, ensuite, faites vos observations :

Echantillon 686	Note	Justifications
Texture		
Couleur		
Odeur		
Goût		

Echantillon 141	Note	Justifications
Texture		
Couleur		
Odeur		
Goût		
Acceptabilité général		

Echantillon 364	Note	Justifications
Texture		
Couleur		
Odeur		
Goût		
Acceptabilité générale		

Echantillon 816	Note	Justifications
Texture		
Couleur		
Odeur		
Goût		
Acceptabilité générale		

Echantillon 437	Note	Justifications
Texture		
Couleur		
Odeur		
Goût		
Acceptabilité générale		

Echantillon 799	Note	Justifications
Texture		
Couleur		
Odeur		
Goût		
Acceptabilité générale		

Echantillon 562	Note	Justifications
Texture		
Couleur		
Odeur		
Goût		
Acceptabilité générale		

Echantillon 900	Note	Justifications
Texture		
Couleur		
Odeur		
Goût		
Acceptabilité générale		

Echantillon 326	Note	Justifications
Texture		
Couleur		
Odeur		
Goût		
Acceptabilité générale		

OBSERVATIONS GENERALES (Sentez-vous libre de faire un commentaire si vous voulez)

MERCI POUR VOTRE COLLABORATION

Annexe 3 : Courbes d'étalonnages

A. Composés phénoliques

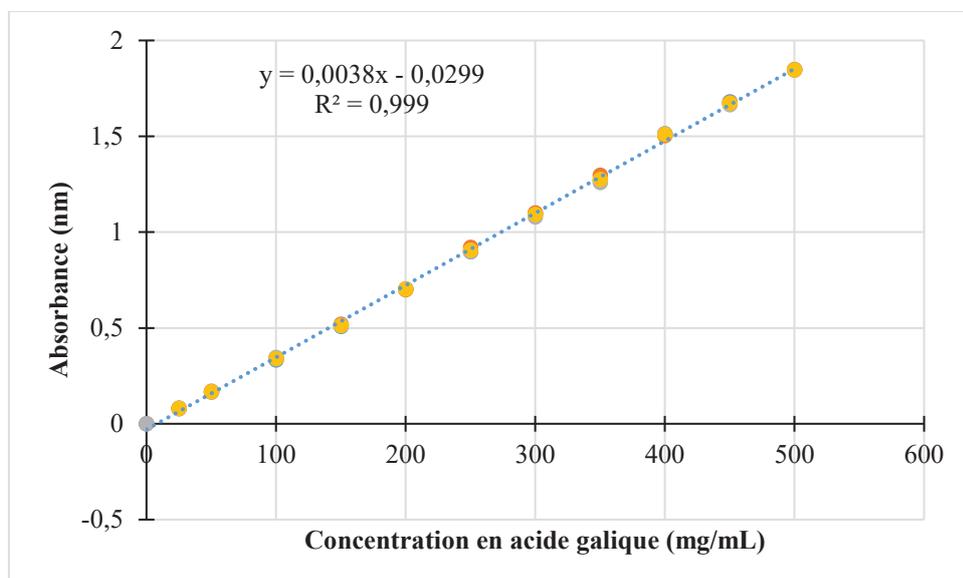


Figure A1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux extrait à l'eau

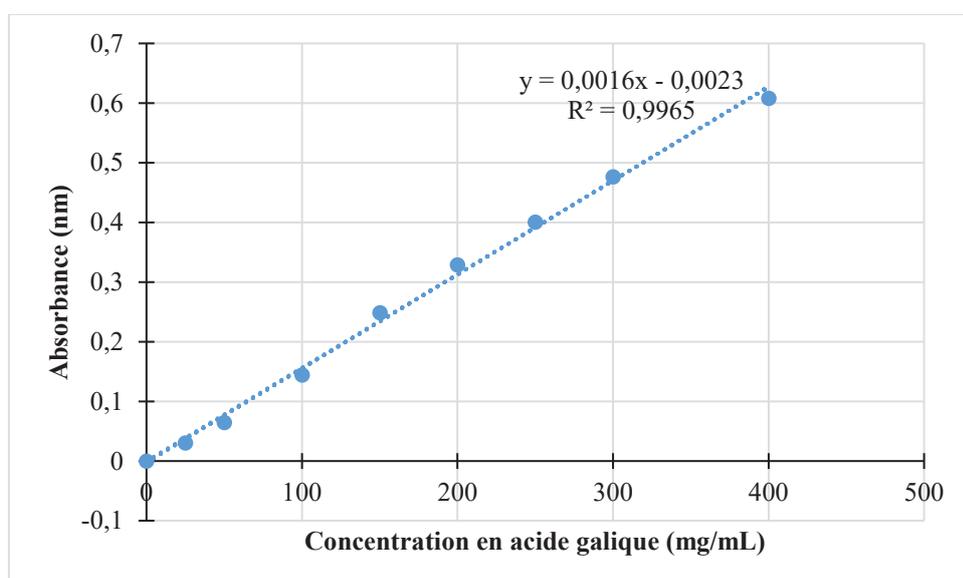


Figure A2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux extrait au HCl 1%

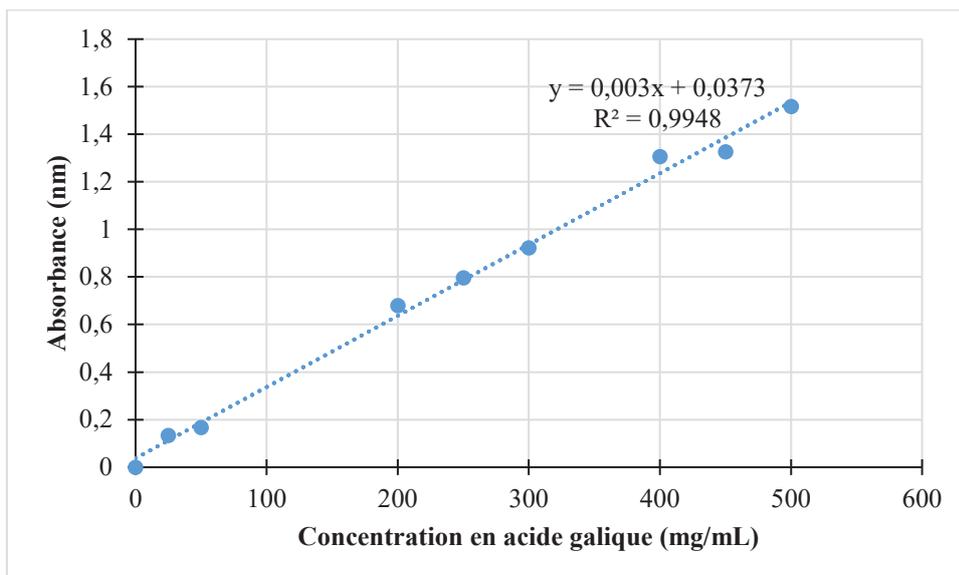


Figure A3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux extrait à l'éthanol 70%

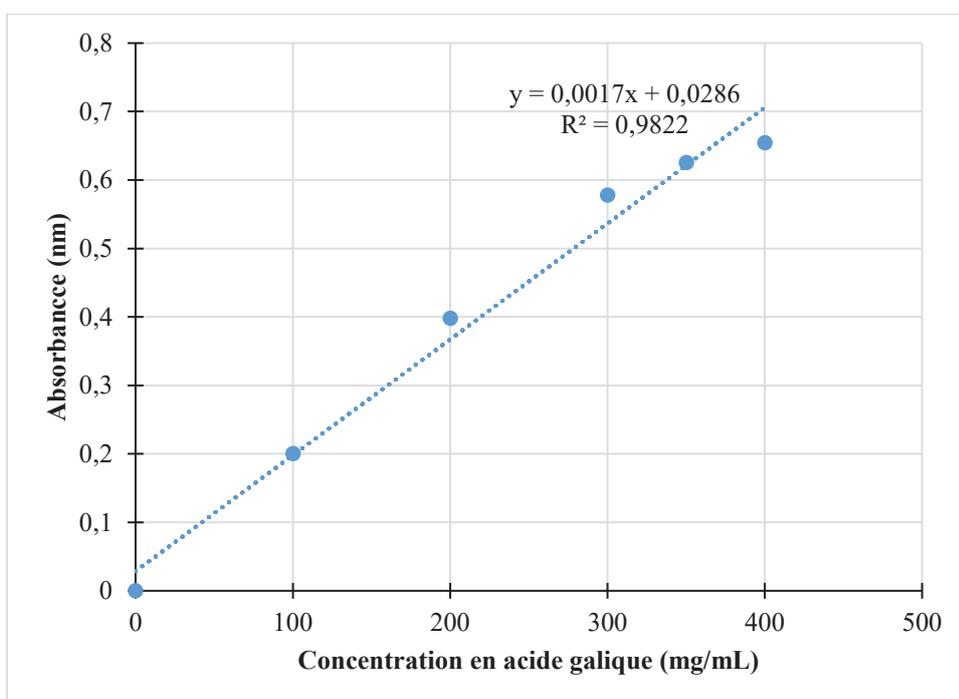


Figure A4 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénoliques totaux extrait à l'acétone 70%

B. FRAP

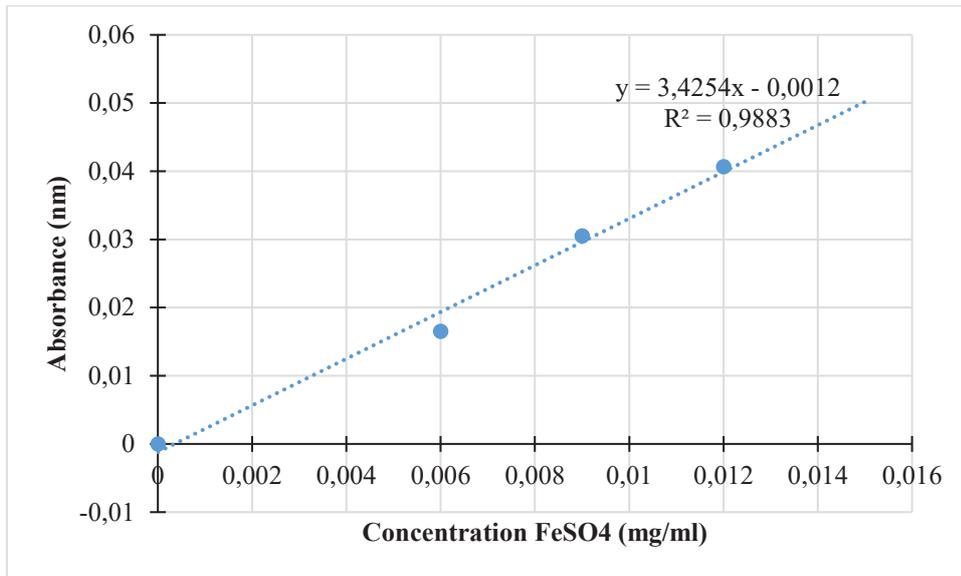


Figure A5 : Courbe d'étalonnage du FeSO₄ pour la capacité antioxydante FRAP extrait à l'eau

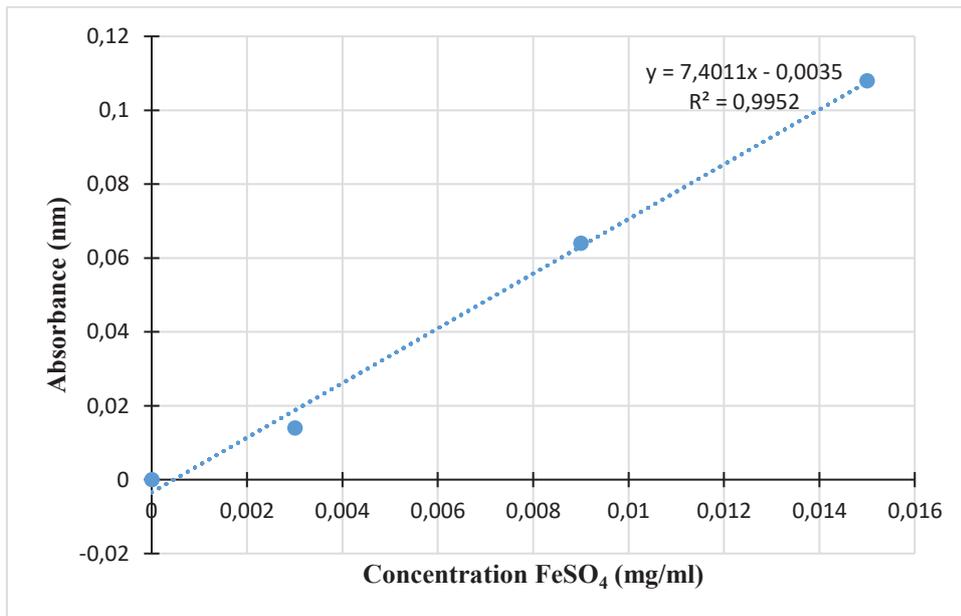


Figure A6 : Courbe d'étalonnage du FeSO₄ pour la capacité antioxydante FRAP extrait à HCl 1%

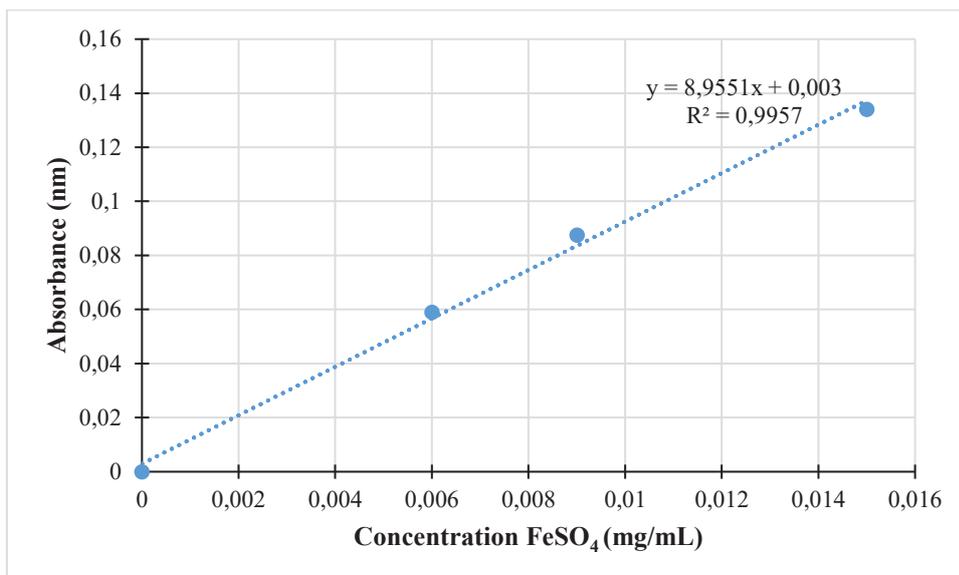


Figure A7 : Courbe d'étalonnage du FeSO₄ pour la capacité antioxydante FRAP extrait à l'éthanol 70%

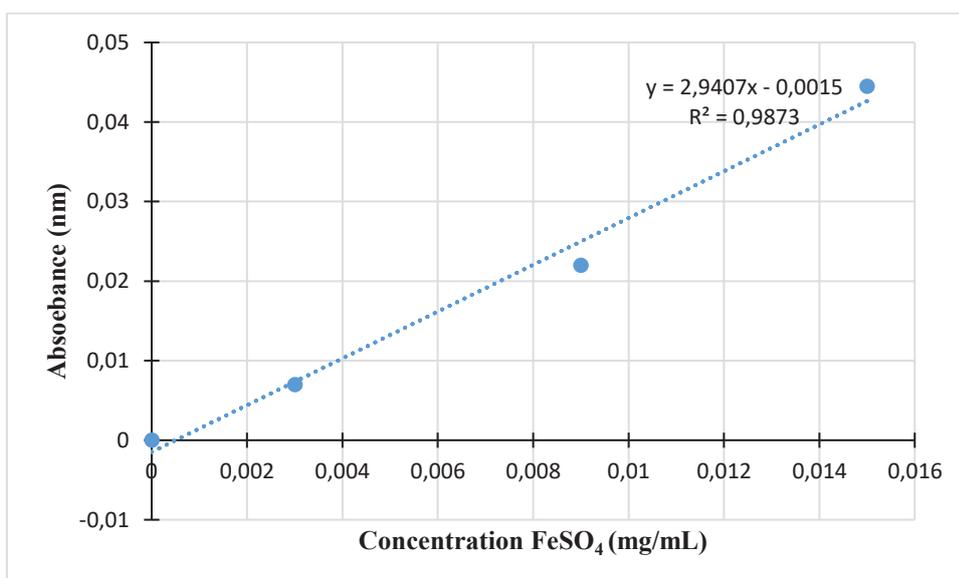


Figure A8 : Courbe d'étalonnage du FeSO₄ pour la capacité antioxydante FRAP extrait à l'Acétone 70%

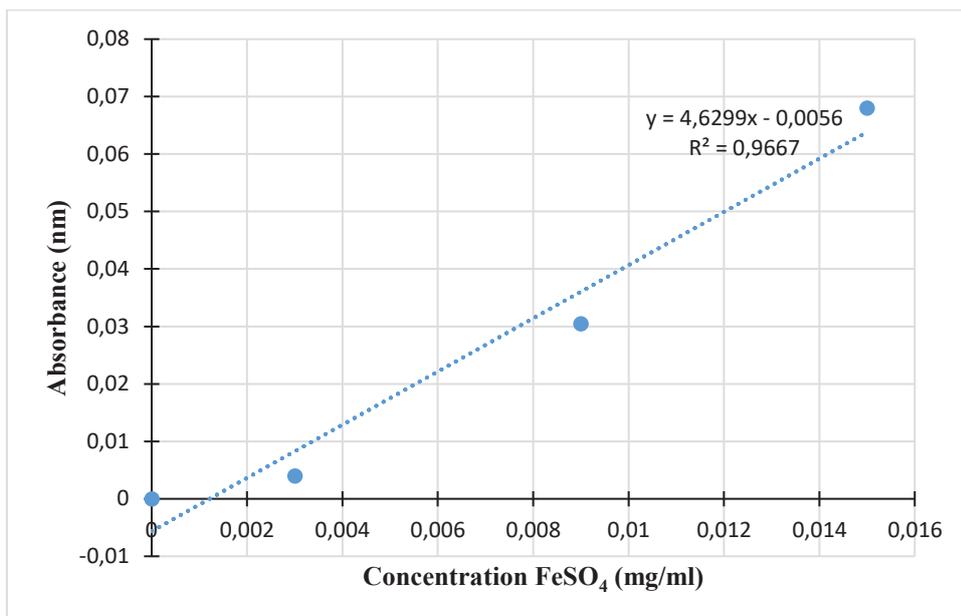


Figure A9: Courbe d'étalonnage du FeSO₄ pour la capacité antioxydante FRAP extrait au Méthanol 80%

C. Glucose

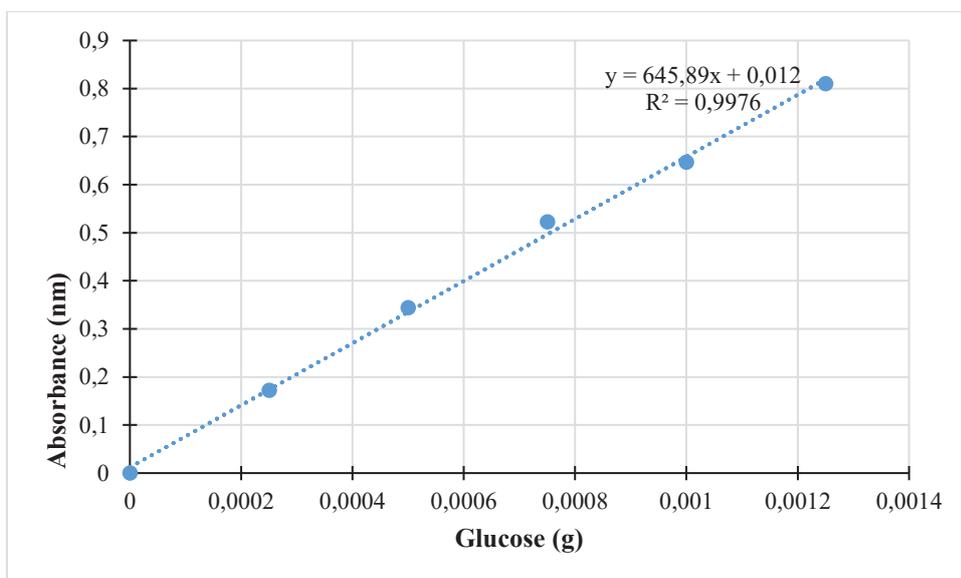


Figure A10: Courbe d'étalonnage du glucose

Annexe 4 : Milieux de cultures

A. Flore mésophile aérobie totale : Gélose nutritive (pH : 7,4)

Tableau AII : Composition de la Gélose nutritive

Constituants	Quantité (g/L)
Peptone	5
Extrait de viande	1
Extrait de levure	2
Chlorure de sodium	5
Agar	15

B. Flore fongique : *Potato Dextrose Agar* prêt à l'emploi (pH : 5,6± 0,2). HIMEDIA, GMH 096-500G

Tableau AIII : Composition du milieu PDA

Constituants	Quantité (g/L)
Infusion de pomme	200
Dextrose	20
Agar	15

C. Bactéries lactiques : *Man Rogosa Sharpe broth* prêt à l'emploi (Carl Roth GmbH)

Tableau AIV : Composition du milieu MRS

Constituants	Quantité (g/100 g)
Peptone	1
Extrait de bœuf	1
Extrait de levure	0,4
Glucose	2
Acétate de sodium trihydraté	0,5
Polysorbate 80	0,1
Dihydrogénophosphate de potassium	0,2
Citrate de triammonium	0,2
Sulfate de magnésium heptahydraté	0,02

Annexe 5 : Chromatogramme

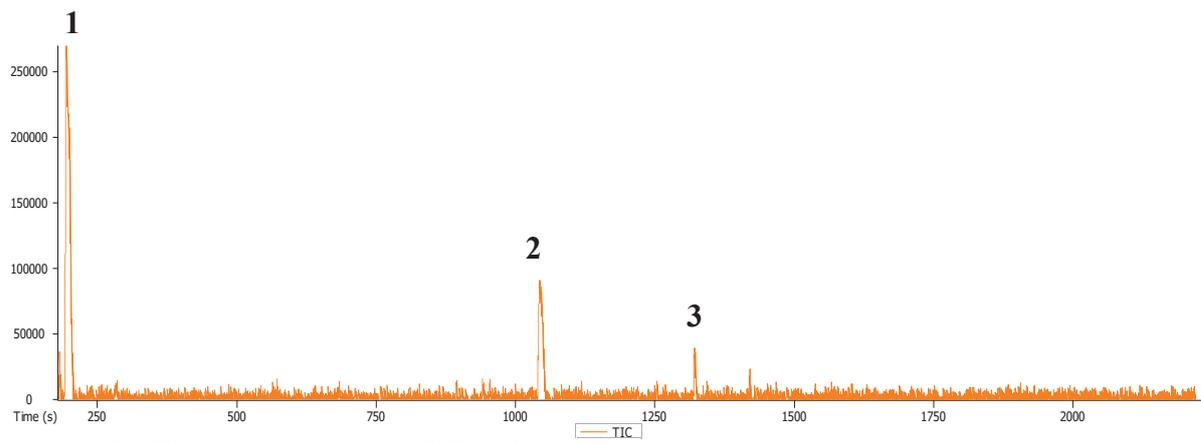


Figure A11 : Chromatogramme GC-MS de la pulpe du fruit du baobab

1 = Acide Thio acétique

2 = Non identifié

3 = Acide hexadécanoïque de methyl ester



PUBLICATIONS

PUBLICATIONS

✚ Déjà publié

1. Laure MAPTOUOM, Alex TCHUENCHIEU, Brice SAHA, Quentin METSATEDEM, Ferdinand EDOUN, Romelle FEUMBA, Gabriel MEDOUA, Dieudonné NJAMEN and Elie FOKOU (2020). **Influence of different traditional production processes on the antioxidant capacity and vitamin C content of baobab (*Adansonia digitata*) juice.** African Journal of Food Science Vol. 14(1) pp. 16-24. DOI : 10.5897/AJFS2019.1887.

✚ Articles en cours de préparation :

1. MAPTOUOM. L, SAHA. B, TCHUENCHIEU. A, TENE. H, METSATEDEM. Q, EDOUN. F, FEUMBA. F, MEDOUA. G, NJAMEN. D and FOKOU. E. ***Optimisation of the production process of baobab juice and characterisation of the juice.*** Food sciences and nutrition.
2. MAPTOUOM. L, ZINGUE. S, KAMGA. S, MOTOUM. F, AWOUNFACK. C, ZEMO. F, NGUENANG. S, DJUIKEM. R, BAKAM. B, NJAMEN. D and FOKOU. E. ***Evaluation of antioxidant properties and estrogenic effect of baobab (*Adansonia digitata*) juice on wistar female rat.*** Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology.

Full Length Research Paper

Influence of different traditional production processes on the antioxidant capacity and vitamin C content of baobab (*Adansonia digitata*) juice

Laure MAPTOUOM¹, Alex TCHUENCHIEU^{2,3}, Brice SAHA⁶, Quentin METSATEDEM², Ferdinand EDOUN², Romelle FEUMBA^{2,4}, Gabriel MEDOUA², Dieudonné NJAMEN⁵ and Elie FOKOU^{1*}

¹Department of Biochemistry, Faculty of Science, P. O. Box 812, University of Yaoundé I, Cameroon.

²Centre for Food and Nutrition Research, IMPM, P. O. Box 6163 Yaoundé, Cameroon.

³Food Evolution Research Laboratory, School of Tourism and Hospitality, University of Johannesburg, South Africa.

⁴Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Science, P. O. Box 63, University of Buea, Cameroon.

⁵Department of Animal Biology and Physiology, Faculty of Science, P. O. Box 812, University of Yaoundé I, Cameroon.

⁶Department of Biochemistry, Faculty of Science, University of Bamenda PO Box 39 Bambili, Cameroon.

Received 19 November, 2019; Accepted 14 January, 2020

This study aims to assess the effect of traditional production processes of baobab juice on its antioxidant and vitamin C content. A survey was conducted in the North region of Cameroon and the 4 main processes identified were subsequently used to prepare juice samples at two different baobab pulp/sugar ratios per litre (42 g/62 g and 87.5 g/231 g) that were analysed. The main difference between the 4 processes reported by the 92 respondents was at the steeping step. Steeping was mostly done for 6 h in fresh water (84.3% of them); 3 h in warm or boiling water; or by boiling the pulp-water mixture for ± 5 min. A high pulp/water ratio and temperature led to a significant increase in the antioxidant properties of the juice. The juice with the highest pulp content produced using the last steeping approach had the highest quality (Total Antioxidant Capacity, 5.76 ± 0.26 g AAE/100 ml; Total Phenolic Content, 46.72 ± 0.61 mg GAE/100 ml; Radical Scavenging Activity: $33.08 \pm 2.48\%$ of DPPH Inhibition/100 ml; Vitamin C, 38.51 ± 5.34 mg/100 ml). High temperature of water during the production of baobab juice is recommended to optimize health value of baobab juice.

Key words: *Adansonia digitata*, juice, production process, antioxidants, vitamin C.

INTRODUCTION

Baobab (*Adansonia digitata* L.) is an indigenous fruit tree belonging to the Malvaceae family and associated with Savannah dry lands of sub-Saharan Africa of which the

North and Far North regions of Cameroon are part (Bremer et al., 2009; Muthai et al., 2017). This tree produces relatively large silvery green or brownish

*Corresponding author. E-mail: elfokou@yahoo.fr. Tel: +237677735816.

Author(s) agree that this article remain permanently open access under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

indehiscent fruits, with an outer hard shell, an inner soft whitish powdery pulp containing kidney-shaped dark brown seeds, all bound together by thin and light brown fibres (Sidibe and Williams, 2002). The baobab fruit is well known in Africa both for its medicinal properties and social uses (Cissé et al., 2013). Biochemical studies have shown that the pulp content is particularly rich in dietary fibres, carbohydrates, essential amino acids, minerals (Potassium, Calcium, Magnesium, Iron, Sodium, Zinc and Manganese) and extremely low in fat (Magdi, 2004; Soloviev et al., 2004; Chadare et al., 2009 and De Caluwé et al., 2010). This pulp has also been described as an excellent source of Vitamin C, since its ascorbic acid content (2.8-3 g/kg) was estimated to be six times higher than in orange (Sidibé et al., 1996; Donatien et al., 2011). Furthermore, the baobab pulp has a higher antioxidant capacity than commonly consumed fruits such as orange, strawberry, apple and kiwi fruits (Silvia et al., 2002; Latifou et al., 2012). Indeed, the Integral Antioxidant Capacity value of baobab fruit pulp is 10 times higher than that of orange pulp, with values of 11.1 mmol/g (Equivalent Trolox) and 0.3 mmol/g (Equivalent Trolox), respectively (Silvia et al., 2002). Epidemiological studies have shown a link between the intake of ascorbic acid and other antioxidant micronutrients to better health. This is associated to their capability in trapping the reactive oxygen species responsible for a broad-spectrum of damages to biological systems (degenerative diseases, cancer) (Elsayed, 2001).

The baobab fruit is exploited traditionally for the treatment of microbial diseases (dysentery, diarrhoea) in many African countries including Cameroon; it also has hepatoprotective effect (Hanafy et al., 2016), cardioprotective (Ghoneim et al., 2016), antidiabetic (Ironi et al., 2017) and is used by many communities as an alternative to imported Western drugs (FAO, 1993; Kamatou et al., 2011). This indigenous fruit contributes to nutrition and food security, health and income generation of local communities in Sub-Saharan Africa (Muthai et al., 2017), especially during times of seasonal food shortages or emergencies such as drought and floods (Saka et al., 2004). Baobab fruits may be processed into different products including juice, yoghurt, gruel, sour dough, oil and coffee-like drinks. It can also be dried as food reserve (Saka et al., 2002). Despite its nutritional and health properties, it is not extensively studied (Russo et al., 2019) and remains underutilized in Cameroon. The small section of the population who knows about this indigenous fruit usually consumes it in the form of juice, a locally made beverage for home consumption or sold on the streets. This leads to a variety of production processes involved, each with a different impact on health value of the final juice. Eulalia and Agnieszka (2009) showed that the antioxidant capacity of a product is influenced by the technological processes involved. This study is therefore aimed at

identifying the traditional processes of baobab juice production in Cameroon and their impact on its antioxidant and vitamin C contents.

MATERIALS AND METHODS

Survey on the consumption and production of baobab juice

A survey was carried out in June 2016 in the Benoue Subdivision (North Region of Cameroon) where baobab trees are naturally found and its juice is highly consumed by the population. A total of 92 persons (either sellers or consumers) randomly selected took part in the study. The only inclusive criterion was the consumption or the production of baobab juice. A questionnaire was used to collect information on the level of consumption and motivations, ingredients and production process used for preparation, factors determining its quality, and preservation methods.

The influence of traditional production processes on baobab juice antioxidants and vitamin C

Baobab fruits were harvested in the Benoue Subdivision and immediately transported to the laboratory. Sugar (from sugarcane) was purchased from a local market. The baobab fruit pods were broken and lightly pounded in a traditional mortar to separate the pulp from the seeds. Samples for juice were then prepared following the main traditional production processes identified from the survey and their antioxidant content directly assessed by determining their Total Antioxidant Capacity (TAC), Total Phenolic Content (TPC), Radical Scavenging Activity (RSA) and Vitamin C (ascorbic acid) content. All the analyses were performed in triplicate.

Determination of total antioxidant capacity

One millilitre of juice was diluted in 3 ml of distilled water; then 0.3 ml of the diluted juice was mixed with 3 ml of phosphomolybdenum reagent solution and put in a boiling Water Bath at 95°C for 90 min. The mixture was cooled to room temperature (25°C) and the absorbance was measured at 695 nm against the reagent blank. Ascorbic acid was used as standard at a concentration of 5 mg/mL. The TAC of the samples was calculated using Equation 1 and results expressed in mg Ascorbic Acid Equivalent (AAE)/100 mL of juice (Prieto et al., 1999).

$$\text{TAC} = (\text{DO Sample}/\text{DO Standard}) \times \text{Concentration of Standard} \quad (1)$$

Determination of total phenolic content

The Total Phenolic Content (TPC) was determined using the Folin-Ciocalteu method (Medina, 2011). 0.5 ml of diluted juice (1 ml of juice in 3 ml of distilled water) was mixed with 4.3 ml of distilled water and 0.2 ml of Folin-Ciocalteu reagent. The mixture was homogenized and incubated for 5 min at room temperature. Into each tube, 0.5 ml of 20% sodium carbonate was added, followed by 4.5 ml of distilled water. The tubes were homogenized and incubated in the dark for 1 h at room temperature and the absorbance was read at 725 nm. A standard curve was plotted using different concentrations of gallic acid which was used as standard (0, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 and 500 mg/L). The TPC was expressed as mg Gallic Acid Equivalent

Table 1. Consumption of baobab juice.

Parameter	Incidence (%)	Parameter	Incidence (%)
Reasons for consumption		Frequency of consumption (No of times/month)	
Taste	37.8	[1-4]	50.8
Health	38.9	[5-10]	12.8
Pleasure	36.7	[11-20]	16.4
No alcohol	20.0	[21-30]	20
Other	1.1		

(GAE)/100 ml of juice.

Determination of radical scavenging activity

The Radical Scavenging Activity (RSA) was evaluated using the 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical. The analysis was carried out as described by Plaza et al. (2006). 7.8 ml of methanolic solution of DPPH (0.03 g/L) was added to 0.2 ml of diluted juice (1 ml of juice in 3 ml of HCl 1 %). The tubes were homogenized and incubated in the dark for 30 min at room temperature, followed by the reading of the absorbance at 515 nm. The DPPH solution was also read at the same wavelength using the reagent blank (HCl 1% + 0.03 g/L of DPPH). The RSA was calculated using the formula of Yen and Duh (1994) (Eq 2):

$$\text{RSA \%} = \text{AA \%} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Sam}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100 \quad (2)$$

Where, A_{DPPH} = the absorbance of the DPPH control and A_{Sam} = the absorbance of the sample.

The RSA was expressed as antioxidant activity (AA %), which is the percentage of inhibition with respect to the control.

Determination of vitamin C content

The vitamin C content was determined by the titrimetric method (Peter et al., 2010). 50 μ l of diluted fruit juice (10 times with distilled water) was put in a tube and 450 μ l of glacial acetic acid 90% was added. The mixture was homogenized and a dye solution of dichloro-2,6-phenolindophenol (2,6-DCPIP) was added until a permanent light pink colour was obtained. The titre (T) was recorded. The titration was repeated and the sample replaced with 50 μ l of water (for the control) ($B1$) and 50 μ l of ascorbic acid, 0.2 mg Ascorbic acid/20 ml glacial acetic acid 90% (for the standard solution) (st).

The vitamin C content of the sample was calculated using the following Equation 3:

$$\text{Vitamin C (mg/100 ml)} = [(T - B1) / (st - B1)] \times \text{Dilution factor} \quad (3)$$

Statistical analysis

The data collected during the survey were edited, coded and registered into a Microsoft Excel spreadsheet where they were treated, and the mean standard deviation of the values obtained was calculated. The software SPSS 20.0 for Windows was used to perform Analysis of Variance (ANOVA) and the post-hoc Turkey

test to assess the significant differences observed ($p < 0.05$) between these values.

RESULTS AND DISCUSSION

Survey

Socio-demographic variables

Among the 92 participants who took part in the survey, 66.3% were females. Most of these respondents were from the Far North (40.7%) and North (37.4%) regions of Cameroon, which are the only regions where baobab trees are naturally found due to the climate (Savannah drylands of sub-Saharan Africa) (Muthai et al., 2017). The other few respondents originated from the West (12.1%), Centre (6.6%), Adamawa (2.2%) and East (1.1%) regions of Cameroon. Baobab is rooted in the culture of the North and Far North regions of Cameroon, where the juice is often used as the main entertainment beverage in traditional ceremonies. This juice (the main product from baobab pulp) is recognised for its nutritional and health value and it is a source of income for these communities (Muthai et al., 2017).

Consumption of baobab juice

The data collected on baobab juice consumption (Table 1) shows that the surveyed population consume it for its healthy value (38.9%), its taste (37.8%), for pleasure (36.7%) and also because it is a non-alcoholic beverage (20%). Half of them consume the juice at a frequency of 4 times maximum/month (50.8%). Up to 20 % of respondents consume this juice, 21 to 30 times/month which means almost every day.

Production of baobab juice

Frequency of production: 52.4% of the respondents prepare baobab juice, maximum 4 times /month. The number of people was almost the same in the 3 other

Table 2. Parameters associated to baobab juice production.

Parameter	Incidence (%)	Parameter	Incidence (%)	Parameter	Incidence (%)
Frequency of production (times/month)		Reasons for production		Ingredients for juice preparation	
[1-4]	52.4	Consumption	45.8	Baobab's pulp	100.0
[5-10]	17.5	Commercial	12.0	Sugar	100.0
[11-20]	15.8	Both	42.2	Water	100.0
[21-30]	14.3			Extra ingredients	81.9
Source of baobab fruits		Extra ingredients used		Parameters that affect the quality of juice	
Market	78.3	Chemicals aroma	84.74	Quantity of water	89.5
Harvest	17.4	Chemicals instant drink (powder)	42.37	Quantity of pulp	25.6
Directly from Producers	4.3	Colouring	30.50	Temperature	18.6
		Other fruit juice	5.08	Duration	9.3
		Natrum	3.38		
		Milk	1.69		
Volume of water (L) for 175 g of pulp (One plate)		Quantity of sugar (g) used for the preparation of 1L of Juice		Steeping of pulp	
[0.5-1]	2.8	<50	4.2	In fresh water (25°C)	84.3
[1-2]	14	[50-100]	28.0	In lukewarm water (40°C)	11.4
[2-3]	42.3	[100-150]	42.2	In hot water (100°C)	2.9
[3-4]	18.3	[150-200]	8.4	Boiling the mixture of pulp and fresh water	1.4
[4-5]	8.5	[200-250]	4.2		
[5-6]	9.9	[250-300]	8.4		
[6-8]	4.2	[300-500]	4.2		

classes: [5-10]; [11-20] and [21-30] times of juice production/month (Table 2).

Reasons for production: From the people interviewed, 45.8% prepare baobab juice only for home consumption, 12% for sale and 42.2% for both reasons.

Source of Baobab fruits: Most of respondents (78.3%) buy baobab fruits from the markets, 17.4% harvest it by themselves and 4.3% buy directly from producers. This tree is mostly found in bushes in mountainous areas, while some people have it in their land. It is difficult to climb because of the large size of the tree, which reaches, 18-25 m tall (Chadare et al., 2009), the reason why most of them buy it.

Main ingredients for Baobab juice: Baobab pulp, water and sugar were the main ingredients used by all respondents (100 %) in the formulation of baobab juice.

Extra ingredients for Baobab juice: 81.9% of the people add extra ingredients (chemical aroma, 84.74%; chemical instant drink, 42.37%; colouring agents, 30.50%; other fruit juices 5.08%; natron, 3.38% and milk, 1.69%) for

commercial and/or sensory reasons. They add other sweeteners to reduce the quantity of sugar used, colouring agents to diversify the colour of the juice and other ingredients to modify the taste. These food additives were said to reduce the cost of production, attract customers and increase profits.

Volume of Water for one plate of pulp: The volume of water generally used for 175 g (one plate) of the baobab fruit pulp varied from 0.5 to 8 L. For this quantity of pulp, most people (42.3%) used between 2-3 L of water.

Quantity of sugar used/litre of juice: The quantity of sugar used for the preparation of 1 L of baobab juice varied from 31.25 g to 500 g, but the most widely used quantity ranged from 100-150 g (42.2%) followed by the range, 50-100 g (28%). The pulp/water ratio and the quantity of sugar used for 1 L of juice tended to change depending on the aim of production. Those who prepare it for their own consumption focused on the health value and the taste. They therefore apply a high pulp/water ratio to have a thick juice, and little or much sugar according to their preference. Sellers rather apply a low pulp/water ratio, less sugar and additional sweeteners, in

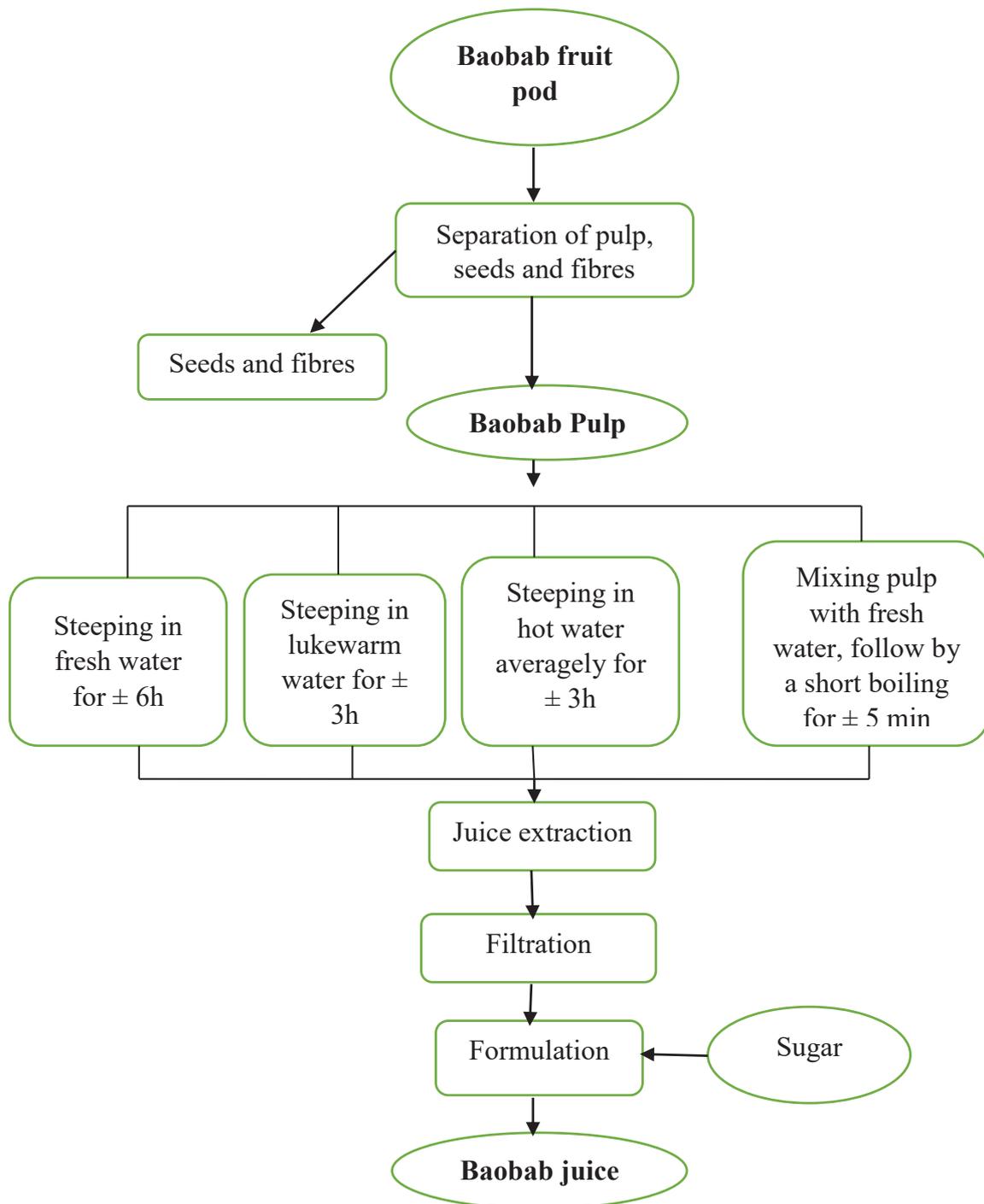


Figure 1. Diagram of the traditional production processes of baobab juice.

order to have more benefits.

Production processes: Figure 1 gives an overview of the 4 traditional production processes identified. They all include the following steps: The separation of baobab

pulp from seeds and fibres, steeping with water, extraction and filtration of the juice and addition of sugar. It is at this last step that the other extra ingredients previously cited are added by the producers who use

Table 3. Preservation of baobab juice.

Parameter	Incidence (%)	Parameter	Incidence (%)
Storage methods		Duration of preservation	
Freezing	51.1	Less than one week	75.6
Refrigeration	35.9	Between one-four weeks	13.3
Traditional methods	13.0	Between one-three months	5.6
		More than three months	5.6

them. The way steeping is conducted was the key step differentiating the processes.

Steeping of pulp: Most of the respondents (84.3%) used the method which consisted of steeping the pulp in fresh water for an average of 6 h, while 11.4% steeped the pulp in warm water and 2.9% in hot water for about 3 h; and 1.4 % put the pulp in fresh water followed by boiling for a short time, \pm 5 min (Table 2).

In order of importance, respondents estimated that the volume of water (89.5%), quantity of pulp (25.6%), steeping temperature (18.6%) and duration of steeping (9.3%) determine the quality of the baobab juice (Table 2). As reported by Charles et al. (2007), the pulp/water ratio influences the texture of juice. It determines whether the juice will be dense or light. The temperature affects the colour, odour, flavour and taste of the juice.

Preservation of baobab juice

Methods of preservation: Freezing was the most commonly used preservation method (51.1%), followed by refrigeration (35.9%) (Table 3). 13% of the surveyed population use other traditional preservation methods like steeping the bottle of juice in clay pots containing water (limited efficiency). This was due to poverty or electricity problems.

Duration of preservation: These different methods of preservation were usually needed to preserve juice for less than one week (75.6% of respondents). Generally, the consumers prepare juice only when they need to consume it, they do not have to preserve it for long. For traders, they sell it every day, so they do not also keep it for long.

Preparation of Baobab juice samples using different traditional processes

Eight different juice samples were prepared following the 4 traditional processes identified in the survey. In fact, for each process, baobab juice with two different pulp / sugar ratios (42 g/62 g, Process 1-4 and 87.5 g/231 g, Process

1'-4') per litre was prepared. These ratios were chosen to simulate those used when preparing this juice for sale and home consumption, respectively. As a pilot study, the first three processes were those where the pulp was steeped in fresh water at 25°C (Process 1), warm water at 40°C (Process 2) and hot water at 100°C (Process 3) all for 15 min. For process 4, the pulp was mixed with fresh water and directly boiled for 2 min. These durations were the shortest reported from the survey. The temperature profile for this steeping step, under the 8 conditions tested is presented in Figure 2. It was not affected by the change of pulp/water ratio. All the extracted juice samples were filtered using a sieve of 0.5 mm diameter before addition of sugar.

Antioxidants and vitamin C contents of baobab juice

The results obtained from the biochemical analysis of the juice samples are presented in Table 4.

Baobab pulp is known to be a rich source of antioxidants and vitamin C (Donatien et al., 2011). As expected, an increase in the pulp/water ratio of baobab juice led to an increase in the values obtained for the different parameters analysed. However, this rise was not statistically significant in the case of vitamin C.

The Total Antioxidant Capacity (TAC) of the 8 samples varied between 0.65 g AAE/100 ml and 5.76 g AAE/100 ml. For the ratio of pulp/sugar/water of 42 g/62 g/1 L, there was a significant difference ($p < 0.05$) between Process 1 and the 3 others which had the same TAC. For a high ratio of pulp/sugar/water (87.5 g/231 g/1 L), there was no statistical difference ($p > 0.05$) among processes (1'&2'; 2'&3' and 3'&4'). The use of boiling water for the steeping step (Process 3) or boiling of water and pulp mixture for a short time (Process 4) significantly ($p < 0.05$) enhanced the TAC of the juice. In each Process, the TAC significantly ($p < 0.05$) increased with the amount of pulp.

The Total Phenolic Content (TPC) of the juice ranged from 22.97-46.72 mg GAE/100 ml. Irrespective to the ratio, the temperature did not show any effect on TPC ($p > 0.05$). In each process, increase of pulp amount was associated with a significant increase in TPC ($p < 0.05$). Process 4' had the highest content of total phenolic

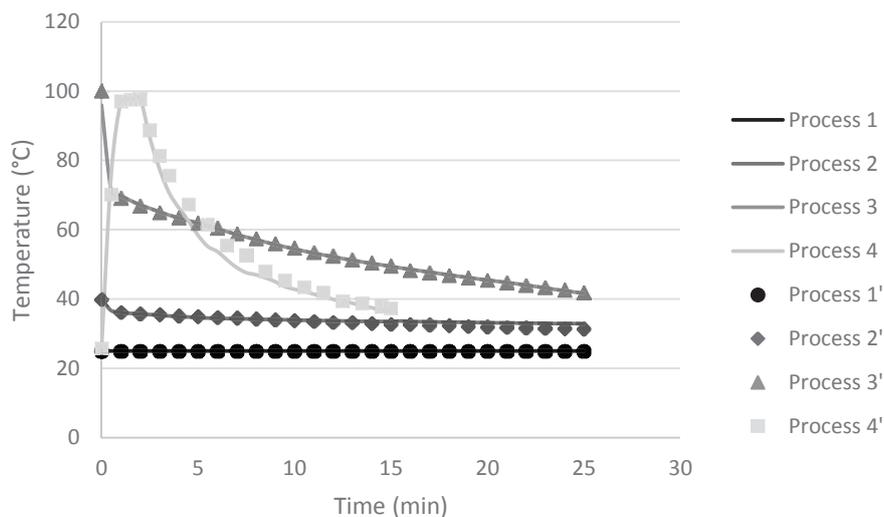


Figure 2. Temperature profiles during the steeping step. Processes 1, 2, 3 & 4= Pulp / sugar ratio of 42 g / 62 g per litre of juice; Processes 1', 2', 3' & 4'= pulp / sugar ratio of 87.5 g /231 g per litre of juice.

Table 4. Biochemical characteristics of baobab juice samples produced.

Samples*		TAC	TPC	DPPH	Vitamin C
		(g AAE /100 ml)	(mg GAE/100 ml)	(% of Inhibition)/100 ml	(mg/100 ml)
Process 1 (Fresh water : 25°C, 15 min)	1	0.65±0.05 ^a	24.05±0.70 ^a	10.85±0.70 ^a	19.25±1.48 ^a
	1'	4.06±0.17 ^c	39.67±1.61 ^{bc}	28.83±2.33 ^b	22.22±0.00 ^{ab}
Process 2 (Lukewarm water : 40°C, 15 min)	2	1.85±0.02 ^b	22.97±0.44 ^a	8.69±1.66 ^a	22.96±0.74 ^{ab}
	2'	4.45±0.19 ^{cd}	37.14±0.45 ^{bc}	25.94±3.29 ^b	25.92±0.74 ^{ab}
Process 3 (Boiling water : 100°C, 15 min)	3	2.06±0.16 ^b	26.16±1.13 ^a	14.57±1.00 ^a	24.44±1.28 ^{ab}
	3'	5.24±0.43 ^{de}	41.95±0.42 ^{cd}	28.40±1.74 ^b	31.11±0.00 ^{bc}
Process 4 (Boil the mixture of pulp and water for 2 min)	4	2.51±0.12 ^b	34.12±3.13 ^b	25.79±1.58 ^b	30.37±0.74 ^{bc}
	4'	5.76±0.26^e	46.72±0.61^d	33.08±2.48^b	38.51±5.34^c

*1, 2, 3, 4= Pulp / sugar ratio of 42 g / 62 g per litre of juice; 1', 2', 3', 4'= pulp / sugar ratio of 87.5 g /231 g per litre of juice

Means in the same row with different superscript letters are significantly different ($p < 0.05$), **AAE**= Equivalent Ascorbic Acid; **GAE**= Equivalent Gallic Acid

compounds (46.72 ± 0.61 GAE/100 ml). The TPC of our samples was much lower than the values (260.80 ± 0.27 mg GAE/100 ml), reported by Tembo (2016) for baobab juice samples from Malawi made with fresh water (pulp/water ratio of 100 g/1 L), and by Konan et al. (2015) with commercialised baobab juice (CBJ) in Ivory Coast (50.1 ± 15.5 mg GAE/ml). However, the use of Process 4 (boiling pulp-water mixture for 2 min) led to a significantly ($p < 0.05$) high TPC of the final products. Balunkeswar et al. (2015) showed that thermal processing increased the total antioxidant activity of some vegetables. It may cause complex physical and chemical reactions affecting the phenolic composition, such as release of phenolic compounds from their bound forms, degradation of

polyphenols and the breakdown and transformation of phenolic compounds (Lo Scalzo et al., 2004; Chen et al., 2013).

The radical scavenging activity (RSA) of the juice ranged from 8.69-33.08% of Inhibition/100mL. The DPPH scavenging activity from the different processes and the two ratios was not temperature-dependent ($p > 0.05$). An increasing amount of baobab pulp had a positive effect on DPPH inhibition ($p < 0.05$), except in Process 4. The highest percentage of inhibition obtained was $33.08 \pm 2.48\%$ (Process 4') which was lower than the DPPH inhibition value ($80.94 \pm 0.72\%$) of commercial baobab juice (CBJ) in Malawi. The higher DPPH values observed in CBJ could be attributed to high TPC and sugar

metabolites (Tembo, 2016).

Vitamin C content

The Vitamin C content was from 19.25 mg/100 ml (with fresh water) to 38.51 mg/100 ml (boiled mixture of pulp and water for 2 min). The vitamin C was also highest in the sample that was prepared using Process 4, as for TAC, TPC and DPPH. Since, vitamin C is known to be a thermosensitive compound (Ranu and Uma, 2012), its highest content in samples produced by boiling (using Process 3 and 4) suggests that the short duration at high temperature during the steeping step (Figure 2) helps to enhance its extraction and also that of the bioactive compounds studied. The vitamin C content of these samples (19.25-38.51 mg/100 ml) was higher than the one obtained with traditional baobab juices in Senegal (12-14 mg/100 ml) made by steeping pulp in fresh water for 5 to 480 min at the ratio of 1/3 (w/v) and to the values obtained with commercialised baobab juice in Malawi (5.09 ± 0.39 mg/100 mL) (Cissé et al., 2009; Tembo, 2016). Besides the differences in the production processes, the difference in values may be also be associated to the variation of baobab pulp composition from one region to another, as noticed by Tembo (2016) when comparing the TPC of pulp samples from Malawi (1866.81 ± 1.61 mg /100 g FW) to those from Burkina Faso (3518-4058 mg GAE/100 g by Lamien-Meda et al., 2008) and Madagascar (1085 mg GAE /100 g, by Cissé et al., 2013),

Conclusion

This study reveals that, both men and women produce and consume baobab juice in the North and Far North regions of Cameroon. The main ingredients used are baobab pulp, water and sugar, and many people add extra ingredients for commercial and/or sensory reasons. The pulp/water ratio and the quantity of sugar used for 1 L of juice varies depending on the aim of production (consumption or for sale). Four main traditional processes of baobab juice production (steeping the pulp in fresh water for 6 h, in warm water or in hot water for about 3 h; and boiling the pulp-water mixture for a short time, ± 5 min) in Cameroon were identified, the main difference being the temperature of water during the steeping step. In order of importance, the volume of water, quantity of pulp, steeping temperature and duration of steeping determine the quality of the baobab juice prepared. These production methods differently affect the final antioxidants and vitamin C contents of the juice. The highest TAC, TPC, DPPH and vitamin C was in the sample that was prepared using a short boiling step. The process involving a short boiling step or steeping with hot water shall be recommended to optimize their

extraction from the pulp.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors have not declared any conflict of interests.

ACKNOWLEDGEMENT

We are very grateful to all those who sacrificed their time to participate in survey for this study. We are also grateful to Prof Mercy Achu, Pr Wilfred MBACHAM, Dr Aristide Kamda, Dr Charles Kotue, Dr Aymar Fogang, M. Jonas Tchasse, Michelle Djouhou and Borelle Mafogang for their support in this work.

REFERENCES

- Balunkewar N, Rui HL, Juming T (2015). Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains -A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55:887-918.
- Bremer B, Bremer K, Chase MW, Fay MF, Reveal JL, Bailey LH, Soltis DE, Soltis PS, Stevens PF (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161:105-121.
- Chadare F, Linnemann A, Houhougan J, Nout MJ, Van Boekel MAJ (2009). Baobab Food Products: A Review on their Composition and Nutritional Value. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 49:254-274.
- Charles-Rodriguez AV, Nevárez-Moorillón GV, Zhang QH, Ortega-Rivas E (2007). Comparison of Thermal Processing and Pulsed Electric Fields Treatment in Pasteurization of Apple Juice. *Food Bioprocess and Processing* 85:93-97.
- Chen Y, Yu L, Rupasinghe H (2013). Effect of thermal and non-thermal pasteurisation on the microbial inactivation and phenolic degradation in fruit juice: a mini-review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93:981-986.
- Cissé M, Sakho M, Dornier M, Diop C M, Reynes M, Sock O (2009). Caractérisation du fruit du baobab et étude de sa transformation en nectar. *Fruits* 64:19-34.
- Cissé I, Montet D, Reynes M, Dantho P, Yao B, Boulanger R (2013). Biochemical and nutritional properties of baobab pulp from endemic species of Madagascar and the African mainland. *African Journal of Agricultural Research* 8:6046-6054.
- De Caluwé E, Damme P, Van, Halamova K (2010). *Adansonia digitata* L. A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Afrika Focus* 23:11-51.
- Donatien K, Hagrétou S-L, Bréhima D, Clarisse SC, Mamoudou HD, Mogens J (2011). A review of baobab (*Adansonia digitata*) products: Effect of processing techniques, medicinal properties and uses. *African Journal of Food Science* 5:833-844.
- Elsayed NM (2001). Antioxidant mobilization in response to oxidative stress: a dynamic environmental-nutritional interaction. *Nutrition* 17:828-834.
- Eulalia JB, Agnieszka N (2009). Antioxidant properties of Berry fruit juices as dependent on raw material quality and technological processing: A Review. *Functional Plant Science and Biotechnology* 3:39-45.
- Food and Agriculture Organization (FAO) (1993). *Indigenous Multipurpose Trees of Tanzania: Uses and Economic Benefits for People*. Available at: <http://www.fao.org/docrep/x5327e/x5327e0g.htm>.
- Hanafy A, Aldawsari HM, Badr JM, Ibrahim AK, Abdel-Hady SS (2016).

- Evaluation of hepatoprotective activity of *Adansonia digitata* extract on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 7p.
- Ghoneim MA, Hassan AI, Mahmoud MG, Asker MS (2016). Protective effect of *Adansonia digitata* against isoproterenol-induced myocardial injury in rats. Animal Biotechnology 27:84-95.
- Irondi EA, Akintunde JK, Agboola SO, Boligon AA, Athayde ML (2017). Blanching influences the phenolics composition, antioxidant activity, and inhibitory effect of *Adansonia digitata* leaves extract on α -amylase, α -glucosidase, and aldose reductase. Food Science and Nutrition 5:233-242.
- Kamatou GPP, Vermaak I, Viljoen AM (2011). An updated review of *Adansonia digitata*: A commercially important African tree. South African Journal of Botany 77:908-919.
- Konan A G, Konan Y, Kone MW (2015). Polyphenols content and antioxidant capacity of traditional juices consumed in Côte d'Ivoire. Journal of Applied Biosciences 87:8015-8021.
- Lamien-Meda A, Lamien CE, Compaoré MMY, Meda RNTT, Kiendrebeogo M, Zeba B, Millogo JF, Nacoulma OG (2008). Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Fourteen Wild Edible Fruits from Burkina Faso. Molecules 13:581-594.
- Latifou L, Madjid A, Yann A, Ambaliou S (2012). Antifungal, antibacterial and antioxidant properties of *Adansonia digitata* and *Vitex doniana* from Bénin pharmacopeia. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy 4:44-52.
- Lo Scalzo R, Iannocari T, Summa C, Morelli R, Rapisarda P (2004). Effect of thermal treatments on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. Food Chemistry 85:41-47.
- Magdi AO (2004). Chemical and nutrient analysis of baobab (*Adansonia digitata*) fruit and seed Protein solubility. Plant Foods for Human Nutrition 59:29-33.
- Medina MB (2011). Determination of the total phenolics in juices and superfruits by a novel chemical method. Journal of Functional Foods 3:79-87.
- Muthai KU, Karori MS, Muchugi A, Indieka AS, Dembele C, Mng'omba S, Jamnadass R (2017). Nutritional variation in baobab (*Adansonia digitata* L.) fruit pulp and seeds based on Africa geographical regions. Food Science and Nutrition 5:1116-1129.
- Ranu P, Uma G (2012). Effect of thermal treatment on ascorbic acid content of pomegranate juice. Indian Journal of Biotechnology 11:309-313.
- Peter AI, John JM, Mohammed A (2010). Effects of Storage Period on Some Nutritional Properties of Orange and Tomato. Technical Report, AU Journal of Technology 13:181-185.
- Plaza L, Sánchez-Moreno C, Elez-Martínez P, De Ancos B, Martín-Belloso O, Cano MP (2006). Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. European Food Research and Technology 223:487-493.
- Prieto P, Pineda M, Aguilar M (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry 269:337-341.
- Russo M, Ronci MB, Vilmercati A, Gionfriddo M, Fanali C, Dugo L, Locato V, Mondello L, De Gara L (2019). African baobab (*Adansonia digitata*) fruit as promising source of procyanidins. European Food Research and Technology. DOI: 10.1007/s00217-019-03342-9.
- Saka JDK, Mwendu-Phiri E, Akinnifesi FK (2002). Community processing and nutritive value of some miombo indigenous fruits in central and southern Malawi. In: Akinnifesi FK, Gumya AA, eds. Proceedings of 14th Southern African Regional Review and Planning Workshop, 3-7 September 2001, Harare, Zimbabwe, International Centre for Research in Agroforestry. Harare: ICRAF, pp. 164-169.
- Saka JDK, Mkonda A, Schomburg A, Kwesiga F, Akinnifesi FK, Swai R (2004). Processing and utilisation of indigenous fruits of the miombo in southern Africa (F. Rao, M.R and Kwesiga, ed.). Nairobi, Kenya: World Agroforestry Centre.
- Sidibé M, Scheuring JF, Tembely D, Sidibé MM, Hofman P, Frigg M (1996). Baobab – Homegrown vitamin C for Africa. Agroforestry Today 8:13-15.
- Sidibé M, Williams JT (2002). Baobab, *Adansonia digitata* L. International centre for underutilized crops, University of Southampton, United Kingdom 102 p. ISBN 0854327649.
- Silvia V, Elena B, Valentina B, Stefano M (2002). Antioxidant capacity of *Adansonia digitata* fruit pulp and leaves. Acta Phytotherapeutica 2(5):2-7.
- Soloviev P, Niang TD, Gaye A, Totte A (2004). Variabilité des caractères physico-chimiques des fruits de trois espèces ligneuses de cueillette, récoltés au Sénégal: *Adansonia digitata*, *Balanites aegyptiaca* et *Tamarindus indica*. Fruits 59:109-119.
- Tembo DT (2016). Optimisation of Baobab (*Adansonia digitata*) fruit processing and handling techniques for increased human nutrition and commercialisation in Malawi. 286p.
- Yen GC, Duh PD (1994). Scavenging Effect of Methanolic Extracts of Peanut Hulls on Free-Radical and Active-Oxygen Species. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42:629-632.