



Formation doctorale : Molécules Bioactives, Santé et Biotechnologies

Discipline : Pharmacologie, physiologie, et santé environnementale

Spécialité : Physiologie, Pharmacologie, et santé environnementale

Laboratoire : Substances Naturelles, Pharmacologie, Environnement, Modélisation, Santé, et Qualité de Vie

THÈSE DE DOCTORAT

Présentée par
Driss OUSAID

LE VINAIGRE DE CIDRE DE POMME : PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES, IDENTIFICATION DES MOLÉCULES BIOACTIVES ET APPLICATIONS THÉRAPEUTIQUES

Soutenue le 11 / 12 / 2021 à 10h devant le jury composé de :

<i>Pr. Badiaa LYOUSSI</i>	<i>Faculté des Sciences Dhar El Mahraz Fès</i>	<i>Président</i>
<i>Pr. Abdelhak BELHAJ</i>	<i>Faculté des Sciences - Meknès</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>Pr. Fatima LAMCHOURI</i>	<i>Faculté Polydisciplinaire- Taza</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>Pr. Lahboub BOUYAZZA</i>	<i>Faculté des Sciences et Techniques -Settat</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>Pr. El houssine DERWICH</i>	<i>Faculté des Sciences Dhar El Mahraz Fès</i>	<i>Examineur</i>
<i>Pr. Hamid TOUFIK</i>	<i>Faculté Polydisciplinaire- Taza</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr. Mohammed MEZZOUR</i>	<i>Direction Provinciale de l'Agriculture – Séfrou</i>	<i>Invité</i>
<i>Pr. Ilham EL ARABI</i>	<i>Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès</i>	<i>Directeur de thèse</i>

Remerciements

عن أبي هريرة رضي الله عنه أن النبي صلى الله عليه وسلم قال: «لا يَشْكُرُ اللَّهُ مَنْ لا يَشْكُرُ النَّاسَ» (رواه أحمد وأبو داود والبخاري في الأدب المفرد وابن حبان والطيالسي، وهو حديث صحيح صححه العلامة الألباني).

Cette partie mérite d'être lue attentivement

Ce projet de thèse a été réalisé au laboratoire de Substances naturelles, Pharmacologie, Environnement, Modélisation, Santé et Qualité de vie (SNAMOPEQ), à la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz, USMBA, Fès, sous la direction du Professeur **Badiaa LYOUSSI**.

J'exprime toute ma profonde reconnaissance et gratitude à l'égard du professeur **Ilham EL ARABI** qui a encadré mon projet de thèse. Dans cette partie, vous trouverez mes sincères remerciements pour vos précieux conseils, les remarques objectives et les orientations bien structurées pour progresser et avancer dans ce projet de thèse et pour l'autonomie que vous m'avez développé en moi pour faire le mieux de moi-même.

J'adresse mes sincères remerciements au professeur **Badiaa LYOUSSI** pour m'avoir accueillie dans le laboratoire SNAMOPEQ afin réaliser mon projet de thèse dans les meilleures conditions. Je tiens à lui exprimer ma reconnaissance et ma gratitude d'avoir accepté la présidence du jury de cette thèse.

Je tiens à remercier profondément les membres de jury d'avoir si gentiment accepté la lourde tâche de juger ce travail de thèse. Ainsi, qu'a l'intérêt qu'ils ont porté à mon étude. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements :

- Monsieur le Professeur **Abdelhak BELHAJ** de la faculté des Sciences Meknès, qui me fait l'honneur d'accepter de juger mon travail de thèse en tant que rapporteur.

- Madame le Professeur **Fatima LMECHOURI** de la Faculté Polydisciplinaire Taza, qui a accepté de participer au jury de ce travail.

- Monsieur le Professeur **Lahboub BOUYAZZA** de la Faculté des Sciences et Techniques de Settat, qui a accepté de faire partie de jury de la présente thèse.

- Monsieur le Professeur **El houssine DERWICH** de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz de Fès, qui a accepté de juger ce travail.

- Monsieur le Professeur **Hamid TOUFIK** de la Faculté Polydisciplinaire de Taza, qui a accepté de juger la présente thèse.

- Monsieur **Mohammed MEZZOUR** expert en agriculture de la Direction Provinciale d'Agriculture de Séfrou, qui a accepté de faire partie de jury de ce travail.

Je ne saurai oublier également tous ceux et celles qui m'ont apporté leurs savoirs et leurs compétences, expériences si importantes pour accomplir et réaliser ce projet de thèse.

Ce rapport n'aurait pas été efficace sans l'intervention des membres de laboratoire SNAMOPEQ dont le savoir-faire et le savoir-être méritent d'être soulignés. Un grand merci à Hassan LAAROUSSI, Asmae ELGHOUZI, Meryem BAKOUR, Abdellatif ICHOU, et Ismail MANSOURI. Et que toutes les personnes de laboratoire SNAMOPEQ trouvent ici l'expression de ma vive reconnaissance.

Enfin, j'exprime toute mon affection à mes très chers parents, ainsi qu'à mes frères et mes sœurs.

Dédicace

A dieu, en qui j'ai toujours cru, en qui je croirai toujours,

A l'âme de ma mère, à mon cher père, sans qui je n'aurai jamais

réalisé et parcouru tout ce long chemin,

A mes frères : Mouhamed, Mimoun, et Said.

A mes sœurs : Fatima, Hadda, Aisha, et Sabah

Je les remercie pour leur amour de tous les jours, et leur

soutien, leurs encouragements continus et incessants.

Je dédie ce travail à toute ma famille et mes amis.

La liste des articles publiés :

- (1) **Ousaaid, D.**, Mansouri, I., Rochdi, M., Lyoussi, B., & El Arabi, I. (2017). Etude des paramètres physico-chimiques et de l'activité antioxydante de trois vinaigres de cidre traditionnels issus de trois variétés de pomme de la région de Midelt au Maroc Résumé-Study of physico-chemical parameters and antioxidant activity of thr. *Rev. ElWahat pour les Rech. les Etudes*, 10, 37-50.
- (2) **Ousaaid, D.**, Mansouri, I., Laaroussi, H., El Ghouizi, A., Lyoussi, B., & El Arabi, I. (2020). Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Flesh Fruits Rosa canina Extracts Collected from Ait Ayach Midelt. *Indian Journal of Agricultural Research*, 54(3): 1-5.
- (3) **Ousaaid, D.**, Mansouri, I., Laaroussi, H., Lyoussi, B., & El Arabi, I. (2020). Physicochemical properties and antioxidant activity of two varieties of apple cultivated in different areas in Morocco. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 10(4), 371-377.
- (4) **Ousaaid, D.**, Laaroussi, H., Bakour, M., ElGhouizi, A., Aboulghazi, A., Lyoussi, B., & ElArabi, I. (2020). Beneficial effects of apple vinegar on hyperglycemia and hyperlipidemia in hypercaloric-fed rats. *Journal of Diabetes Research*, 2020.
- (5) **Ousaaid, D.**, Imtara, H., Laaroussi, H., Lyoussi, B., & Elarabi, I. (2021). An Investigation of Moroccan Vinegars: Their Physicochemical Properties and Antioxidant and Antibacterial Activities. *Journal of Food Quality*, 2021.
- (6) **Driss Ousaaid**, Hassan Laaroussi, Meryem Bakour, Hayat Ennaji, Badiia Lyoussi, Ilham El Arabi, "Antifungal and Antibacterial Activities of Apple Vinegar of Different Cultivars", *International Journal of Microbiology*, vol. 2021, Article ID 6087671, 6 pages, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6087671>
- (7) **Ousaaid, D.**; Mechchate, H.; Laaroussi, H.; Hano, C.; Bakour, M.; El Ghouizi, A.; Conte, R.; Lyoussi, B.; El Arabi, I. Fruits Vinegar: Quality Characteristics, Phytochemistry, and Functionality. *Molecules* 2022, 27, 222. <https://doi.org/10.3390/molecules27010222>
- (8) **Driss OUSAID**, Hassan LAAROUSSI, Meryem BAKOUR, Asmae ELGHOUIZI, Naoual EL MENYIY, Badiia LYOUSSI, Ilham EL ARABI. Effect of a combination of Rosa canina fruits and apple vinegar against hydrogen peroxide-induced toxicity in experimental animal models, *Journal of food quality*, 2021 (Article accepté).
- (9) Laaroussi, H., Bouddine, T., Bakour, M., **Ousaaid, D.**, & Lyoussi, B. (2020). Physicochemical properties, mineral content, antioxidant activities, and microbiological quality of Bupleurum spinosum Gouan honey from the middle atlas in Morocco. *Journal of Food Quality*, 2020.
- (10) Laaroussi, H., Bakour, M., **Ousaaid, D.**, Aboulghazi, A., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., ... & Lyoussi, B. (2020). Effect of antioxidant-rich propolis and bee pollen extracts against D-glucose induced type 2 diabetes in rats. *Food Research International*, 138, 109802.
- (11) Laaroussi, H., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., Bakour, M., **Ousaaid, D.**, Teixeira, J. A., & Lyoussi, B. (2021). Unraveling the Chemical Composition,

Antioxidant, α -amylase and α -glucosidase Inhibition of Moroccan Propolis. Food Bioscience, 101160.

- (12) El Kamari, F., Laaroussi, H., **Ousaaid, D.**, El Atki, Y., Tarog, A., Aouam, I., ... & Abdellaoui, A. (2021). Diuretic effect of aqueous extracts of *Vitex agnus castus* leaves and seeds in Wistar Albinos rats. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1).
- (13) Fatima El Kamari, **Driss Ousaaid**, Amal Tarog, Yassine El Atki, Iman Aouam, Badiaa Lyoussi, and Abdelfattah Abdellaoui (2021). Bioactive ingredients of different extracts of *Vitex agnus-castus* L. Fruits from Morocco and their antioxidant potential. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 10(2), 267-270.
- (14) Meryem Bakour, Nawal Hammas, Hassan Laaroussi, **Driss Ousaaid**, Hinde EL Fatemi, Abderrazak Aboulghazi, Najoua Soulo, Badiaa Lyoussi, "Moroccan Bee Bread Improves Biochemical and Histological Changes of the Brain, Liver, and Kidneys Induced by Titanium Dioxide Nanoparticles", *BioMed Research International*, vol. 2021, Article ID 6632128, 13 pages, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6632128>
- (15) Meryem Bakour, Hassan Laaroussi, **Driss Ousaaid**, Bouchra Oumokhtar, Badiaa Lyoussi, "Antioxidant and Antibacterial Effects of Pollen Extracts on Human Multidrug-Resistant Pathogenic Bacteria", *Journal of Food Quality*, vol. 2021, Article ID 5560182, 11 pages, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5560182>
- (16) Hassan Laaroussi, Meryem Bakour, **Driss Ousaaid**, Pedro Ferreira-Santos, Zlatina Genisheva, Asmae El Ghouizi, Abderrazak Aboulghazi, José Antonio Teixeira, Badiaa Lyoussi, "Protective Effect of Honey and Propolis against Gentamicin-Induced Oxidative Stress and Hepatorenal Damages", *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2021, Article ID 9719906, 19 pages, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/9719906>

Articles soumis à publication

- **Driss OUSAID**, Hassan LAAROUISSI, Meryem BAKOUR, Asmae ELGHOUIZI, Badiaa LYOUSSI, Ilham EL ARABI. Artisanal and Industrial Apple Vinegars inhibit key enzymes (α -glucosidase and α -amylase) related to type 2 Diabetes in vitro.
- **Driss Ousaaid**, Meryem Bakour, Hassan Laaroussi, Badiaa Lyoussi, Ilham El arabi. Apple Vinegar Survey: Healthy Product for the Development of Two Rural Apple-Growing Areas in Morocco.
- **Driss OUSAID**, Hassan LAAROUISSI, Meryem BAKOUR, Badiaa LYOUSSI, Ilham EL ARABI. Effect of Apple Vinegar on Phenylhydrazine Induced Anemia in Rats

La liste des communications scientifiques

❖ Les communications orales

- ✓ **Driss OUSAID**, Hassan LAAROUISSI, Badiaa LYOUSSI et Ilham El ARABI. Etude des paramètres physico-chimiques et de l'activité antioxydante de vinaigre des fruits de la région de Midelt au Maroc. **Congrès international de la santé humaine et ressources naturelles oasiennes FST Errachidia 16-18/10/2019.**

- ✓ **Driss OUSAAID**, Hassan LAAROUSSI, Ismail MANSOURI, Mouad ROCHDI, Badiaa LYOUSSEI et Ilham EL ARABI. (2017). Etude des paramètres physico-chimiques et de l'activité antioxydante de trois variétés de vinaigres de pomme de la région de Midelt au Maroc. Journée scientifique : **La valorisation des produits de terroir dans le nord du Maroc**. Faculté Poly disciplinaire de Taza, Jeudi 07 Décembre 2017.

❖ **Les communications affichées**

- ✓ **Driss OUSAAID**, Ismail MANSOURI, Mouad ROCHDI, Hassan LAAROUSSI, Hayat ENNAJI, Badiaa LYOUSSEI, Ilham EL ARABI. Contribution à l'étude de l'activité antioxydante, antibactérienne du vinaigre de pomme traditionnel de Midelt. **Premier symposium international : les effets bénéfiques de l'huile d'argan sur la santé humaine**. Faculté des Sciences et Techniques Errachidia 04-06 Mai 2017. In Benefits of Argan Oil on Human Health-May 4-6 2017, Errachidia Morocco. International Journal of Molecular Sciences. **2017**, *18*(7), 1383; doi:[10.3390/ijms18071383](https://doi.org/10.3390/ijms18071383) (impact factor: 3,226).
- ✓ **Driss OUSAAID**, Ismail MANSOURI, Mouad ROCHDI, Badiaa LYOUSSEI (2016). Évaluation de l'activité antifongique in vitro du vinaigre de pomme de la région de Midelt. Forum National : **la biotechnologie environnementale : une voie vers le développement durable**. Faculté poly disciplinaire TAZA. 22 novembre 2016.
- ✓ **Driss OUSAAID**, Ismail MANSOURI, Mouad ROCHDI, Nozha COHEN, Hayat ENNAJI Badiaa LYOUSSEI, Ilham EL ARABI (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne in vitro du vinaigre de pomme. Journée nationale : **Impact des changements climatiques sur le fonctionnement des écosystèmes**. Faculté des Sciences et Techniques Fès, 24 novembre 2016.
- ✓ **Driss OUSAAID**, Ismail MANSOURI, Mouad ROCHDI, Hassan LAAROUSSI, Badiaa LYOUSSEI, Hayat ENNAJI, Ilham EL ARABI (2017). Contribution à l'étude de l'activité antioxydante, antibactérienne du vinaigre de pomme traditionnel de Midelt. **Premier symposium international : les effets bénéfiques de l'huile d'argan sur la santé humaine**. Faculté des Sciences et Techniques Errachidia 04-06 Mai 2017.
- ✓ **Driss OUSAAID**, Badiaa LYOUSSEI, Ilham EL ARABI (2017). Les Produits du Terroir : propriétés physico-chimiques, identification des molécules bioactives et applications thérapeutiques. **3ème Forum des doctorants 'scientifiques mais aussi artistes'**. Faculté de Médecine et de Pharmacie Fès 12 Décembre 2017. (Participation sous forme vidéo).

Résumé

La valorisation des sous-produits du pommier dans le domaine scientifique se veut prometteuse en se focalisant sur l'exploration de leurs propriétés biologiques. La pomme et ses dérivés sont une source inépuisable en molécules bioactives, ils peuvent constituer une alternative à l'utilisation des produits chimiques souvent accompagnés d'effets secondaires nuisibles pour la santé humaine.

Ce projet de thèse s'intéresse à la valorisation de différents échantillons de vinaigre de cidre de pomme (VCP) collectés dans différentes régions du Maroc en vue de les standardiser. Une étude ethno-pharmacologique a été réalisée sur les utilisations du VCP dans la médecine traditionnelle Marocaine afin d'archiver le patrimoine et le savoir-faire laissé en friche. La caractérisation physicochimique et phytochimique ont été évalués. Le profil antioxydant a été déterminé en suite, en utilisant deux méthodes complémentaires, la capacité antioxydante totale et le pouvoir antiradical DPPH. L'effet antibactérien de différents échantillons du VCP contre cinq souches bactériennes et des études *in vivo* sur des modèles animaux ont été réalisés. Nous avons ainsi examiné le pouvoir antidiabétique et hépato-néphroprotecteur du VCP contre les complications induites par le régime hypercalorique et le peroxyde d'hydrogène.

L'enquête ethnopharmacologique nous a permis de recenser les différentes utilisations traditionnelles du VCP pour traiter différentes maladies en particulier celles liées au système digestif et au système tégumentaire. L'analyse des résultats de la caractérisation physicochimique des différents échantillons révèlent que trois échantillons (S1, S2, et S6) répondent aux normes de qualité émancées par la Commission Codex Alimentarius et la législation Marocaine (**Décret n°2-10-385, 2011**) avec des valeurs variant entre 5 et 6°. L'étude microbiologique a permis que les trois échantillons exercent une activité antibactérienne importante avec des CMI allant de 0,781µl/ml à 3,125µl/ml. De plus, nos échantillons constituent une source considérable de composés d'intérêt biologique objectivée par une activité antioxydante intéressante. L'analyse phytochimique du VCP (S2) montre qu'il est riche en acides hydroxycinnamiques principalement l'acide trans-férulique (43,92%), l'acide férulique (40,15%), et l'acide sinapique (3,88%), et en flavonoïdes comme l'arbutine (3,73%) et l'apéginine (2,53%) comme composants majoritaires. L'évaluation des propriétés biologiques du VCP (S2) *in vivo* montrent qu'il améliore le désordre métabolique entrainé par le régime hypercalorique et présente un pouvoir antioxydant contre la

toxicité induite par le peroxyde d'hydrogène, ce qui confirme ses utilisations thérapeutiques dans la médecine traditionnelle Marocaine.

La présente étude contribue à la valorisation du VCP au niveau de la région de Fès-Meknès et celle de Deraa-Tafilalet. Le VCP est une source importante en molécules bioactives avec un potentiel antioxydant et antibactérien fort. L'utilisation du vinaigre de cidre de pomme peut prévenir le désordre métabolique induit par le régime hypercalorique et atténuer la toxicité entraînée par le peroxyde d'hydrogène.

Mots clés : vinaigre de cidre de pomme, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité antidiabétique, hépato-néphroprotecteur.

Abstract

The valorization of apple by products scientifically constitutes one of the basic methods for revealing their biological properties. Apple and its derivatives are an inexhaustible source of bioactive compounds of biological interest, they can constitute an alternative to the use of chemical drugs which induce serious problems for human health.

The present thesis is aimed to valorize apple vinegar collected from different areas in Morocco. The first step is designed to carry out an ethno medicinal study of apple vinegar in Fez-Meknes and Deraa-Tafilalet regions in order to archive the heritage and know-how neglected. On the other hand, the determination of phytochemicals of apple vinegars and their pharmacological properties including antibacterial, antidiabetic, antihyperlipidemic, and antioxidant activities. Additionally, the preventive potency of apple vinegar against hypercaloric diet and the toxicity of hydrogen peroxide were evaluated *in vivo*.

The survey enabled us to identify the different traditional uses of apple vinegar to treat different ailments especially those related to the digestive system. The physicochemical characterization of vinegars revealed that the samples S1, S2, and S6 meet the standards according to Codex Alimentarius Commission and Moroccan legislation (**Decree no.2-10-385, 2011**) with values vary between 5 and 6°. Microbiological study showed that three samples exhibited good antibacterial effect against different strains studied with MIC values ranging from 0,781µl/ml to 3,125µl/ml. Furthermore, all vinegar samples constitute an important source of bioactive compounds objectified by an interesting antioxidant activity. Phytochemical analysis revealed that ACV (S2) contains different bioactive molecules include trans-ferulic acid (43,92%), ferulic acid (40,15%), sinapic acid (3,88%), arbutin (3,73%), and apiginine (2,53%). Our sample (S2) constitute a considerable source of biological compounds (Phenols and flavonoids) which provide an interesting antioxidant activity, antibacterial potency, antidiabetic activity.

The current work contributes to the valorization of apple cider vinegar in two apple-growing regions (Fez-Meknes and Deraa-Tafilalet). The outcomes have shown that our vinegar samples are an excellent source of bioactive compounds with potent antioxidant

and antibacterial potentials. Therefore, the use of apple cider vinegar would have a very beneficial effect in the prevention of metabolic disorders caused by high-caloric food.

Keywords: Apple cider vinegar, antioxidant activity, antibacterial activity, antidiabetic effect, and hepatonephroprotector effect.

ملخص

إن تثمين خل التفاح من الناحية العلمية يعتبر من الطرق الأساسية لكشف خصائصها البيولوجية. إذ يعتبر التفاح ومنتجاته الثانوية من أهم مصادر الجزيئات النشطة ذات الأهمية البيولوجية على غرار المواد الكيميائية التي تكون في غالب الأحيان لها مضاعفات وأعراض جانبية متعددة.

مشروع البحث هذا يهتم بتثمين مختلف عينات خل التفاح التي تم جمعها عبر مختلف المناطق الفلاحية التي تهتم بزراعة التفاح في المغرب منها ميدلت، أزرو، إيموزار كندر، و صفرو من أجل توحيد القياسات وتثمينها كمنتجات مجالية ذات قيمة إقتصادية وطبية. دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية وقياس كمية الجزيئات النشطة من الأهداف الأولى المنشودة في هذا المشروع العلمي. وكذا تمحيص قدرة خل التفاح على مكافحة الجراثيم الممرضة وتثبيط الجذور الحرة و في الأخير دراسة قدرة خل التفاح على تنظيم نسبة السكر في الدم و قدرته المضادة للأكسدة.

يظهر من تحليل النتائج المحصل عليها من خلال هذا البحث أن عينات خل التفاح المدروسة لم تستوفي شروط الجودة المحددة في الظهير رقم 2-10-385 وكذا المعايير المحددة من طرف لجنة المراقبة العالمية Commission codex alimentarius باستثناء ثلاث عينات (S6, S2, S1). يعتبر خل التفاح من المصادر المهمة للجزيئات النشطة بيولوجيا كالمركبات الفينولية المعروفة بنشاطها المضاد للأكسدة. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت عينات خل التفاح نشاطا مضادا للبكتيريا خصوصا العينة S2 المأخوذة من محطة ميدلت. إن غنى خل التفاح بالمركبات ذات الأهمية البيولوجية ما يفسر قدرته على محاربة مرض السكري و مكافحة الجذور الحرة في الجسم، وكذا استعماله الاستشفائية في الطب القديم. التحليل الجزيئي لعينة الخل (S2) بينت وجود عدة جزيئات نشطة بيولوجيا مثل حمض ترونس-الفيروليك (43,92%) حمض الفيروليك (40,15%)، حمض سينابيك (3,88%)، أربوتين (3,73%)، وأبيجينين (2,53%).

تدخل هذه الدراسة في إطار التثمين العلمي للمنتجات مجالية في المغرب بالخصوص خل التفاح الذي ينتج على مستوى جهتي درعة تافيلالت و فاس مكناس، بينت النتائج المحصل عليها اختلاف التركيبة الفيزيوكيميائية وكذا الأنشطة البيولوجية لخل التفاح. بالإضافة إلى قدرته على محاربة ارتفاع نسبة السكر في الدم و مكافحة الجذور الحرة، ما يفسر نجاعته وأهميته للحفاظ على صحة وتمامية جسم الإنسان.

الكلمات المفتاح: خل التفاح، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المثبط للبكتيريا، النشاط المضاد للسكري، مضاد للأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي.

Sommaire

Remerciements	a
Dédicace	c
Résumé	g
Abstract	i
ملخص	k
Introduction générale	1
Partie I : Revue bibliographique	5
Chapitre 1 : Pomme et ses sous-produits dans l'alimentation humaine	6
I. Filière de la pomme au Maroc	7
II. Biologie du pommier	8
1. Taxonomie du pommier	8
2. Exigences climatoédaphique du pommier cultivé.....	10
III. Importance économique	10
IV. Valorisation de la pomme	11
1. Variétés cultivées au Maroc	11
2. Pomme fraîche.....	12
3. Pomme transformée.....	14
3.1. Jus	14
3.2. Confiture de pommes	15
3.3. Vinaigre de cidre de pomme.....	16
❖ Historique	16
❖ Réglementation	18
❖ Processus de la fabrication du vinaigre	19
V. Production du vinaigre de cidre de pomme (VCP).....	21
1. Au niveau mondial	21
2. Au niveau national	23

Chapitre 2 : Composés phytochimiques d'intérêt thérapeutiques du vinaigre de cidre pomme (VCP).....	25
I. Polyphénols	26
1. Aperçu général	26
2. Polyphénols du VCP	27
2.1. Acides phénoliques.....	28
2.2. Flavonoïdes	32
2.2.1. Flavan-3-ols.....	33
2.2.2. Flavonols.....	35
II. Mélanoïdines.....	35
III. Tétraméthylpyrazine	37
IV. Acides organiques.....	38
Chapitre 3 : Effets pharmacologiques du VCP	40
1. Diabète de type 2 et stress oxydatif	41
2. Effet antioxydant du VCP.....	42
3. Effet antidiabétique du VCP	42
4. Effet anti-obésité du VCP	44
5. Effet antibactérien du VCP	45
Partie II : Étude expérimentale.....	48
Chapitre 1 : Étude ethnopharmacologique et intérêt économique du vinaigre de cidre de pomme.....	49
I. Introduction	50
II. Matériel et méthodes.....	50
III. Résultats et discussion	52
1. Évolution de la production du VCP.	52
2. Importance économique	52
3. Étude ethnopharmacologique : Description de la population	53
4. Domaine d'utilisation du vinaigre de cidre de pomme.	54

5.	Utilisations médicinales du VCP	55
6.	Durée de traitement par le vinaigre de cidre pomme	57
7.	Degré de satisfaction	57
IV.	Conclusion	59
	Chapitre 2 : Caractérisations physicochimique et phytochimique de deux variétés de pomme.	60
I.	Introduction	61
II.	Matériel et méthodes	61
1.	Matériel végétal.....	61
2.	Méthodologie d'extraction du jus	62
3.	Méthodologie de préparation des extraits de pomme.....	62
4.	Paramètres physicochimiques	63
5.	Antioxydants et l'activité antioxydante.....	63
5.1.	Polyphénols	63
5.2.	Dosage des flavonoïdes	63
5.3.	Capacité antioxydante totale (CAT).....	64
5.4.	Piégeage des radicaux libres par le test DPPH.....	64
6.	Analyse statistique.....	64
III.	Résultats et discussion	65
1.	pH, conductivité électrique, acidité titrable, jutosité, densité et °Brix. 65	
2.	Antioxydants et activité antioxydante	67
2.1.	Quantification des polyphénols et des flavonoïdes des jus de deux variétés de pomme	67
2.2.	Quantification des polyphénols (TPC) et des flavonoïdes (TFC) des extraits de deux variétés de pomme	68
2.3.	Capacité antioxydante totale (CAT).....	70
A.	Pour les jus	70

B.	Pour les extraits.....	71
2.4.	Activité de piégeage du radical DPPH pour les jus et les extraits ..	72
A.	Pour les jus	72
B.	Pour les extraits.....	72
3.	Analyse multivariée et corrélation	74
IV.	Conclusion	75
Chapitre 3 : Étude comparative du VCP artisanal et du VCP industriel ..		76
I.	Introduction	77
II.	Matériel et méthodes.....	78
1.	Méthodologie de préparation du vinaigre de cidre de pomme.....	78
2.	Echantillons du VCP	79
3.	Caractérisation physicochimique	79
4.	Antioxydants et activité antioxydante	80
4.1.	Polyphénols	80
4.2.	Dosage des flavonoïdes	80
4.3.	Capacité antioxydante totale (CAT).....	80
4.4.	Piégeage des radicaux libres par le test DPPH.....	81
5.	Activité antidiabétique <i>in vitro</i>	81
5.1.	Test d'inhibition de l' α -amylase.....	81
5.2.	Test d'inhibition de l' α -glucosidase	81
III.	Résultats et discussion	82
1.	Paramètres physicochimiques	82
2.	Antioxydants et activité antioxydante	83
3.	Activité antidiabétique <i>in vitro</i> du VI et VA.....	83
IV.	Conclusion	85
Chapitre 4 : Caractérisations physicochimique et phytochimique, et activité antibactérienne des VCP de différentes régions au Maroc.		86
I.	Introduction	87

II.	Matériel et méthodes.....	87
1.	Matériel biologique	87
2.	Paramètres physicochimiques	89
3.	Dosage des éléments minéraux	89
4.	Antioxydants et l'activité antioxydante.....	90
4.1.	Polyphénols	90
4.2.	Dosage des flavonoïdes	90
4.3.	Capacité antioxydante totale (CAT).....	90
4.4.	Piégeage des radicaux libres par le test DPPH.....	90
5.	Activité antibactérienne.....	90
5.1.	Préparation des milieux de culture	90
5.2.	Souches bactériennes.....	90
5.3.	Préparation de la suspension bactérienne	91
5.4.	Méthode de diffusion sur disque	91
5.5.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	92
5.6.	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) ..	93
6.	Analyse statistique.....	93
III.	Résultats et discussion	93
1.	pH, conductivité électrique, acidité titrable, °Brix et densité.....	93
2.	Eléments minéraux	96
3.	Analyses phytochimiques.....	99
3.1.	Quantification des polyphénols totaux	99
3.2.	Quantification des flavonoïdes	100
3.3.	Capacité antioxydante totale (CAT).....	101
3.4.	Activité de piégeage du radical libre DPPH.....	102
4.	Activité antibactérienne.....	104
4.1.	Test de sensibilité sur le milieu gélosé Mueller Hinton.	104

4.2. Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	105
4.3. Concentration minimale bactéricide (CMB).	105
5. Analyse multivariée et corrélation des paramètres étudiés	106
IV. Conclusion	109
Chapitre 5 : Profil phénolique et pouvoir extracteur du VCP de la région de Midelt	110
I. Introduction	111
II. Matériel et méthodes	111
1. Préparation des extraits	111
2. Dosage des polyphénols	112
3. Dosage des flavonoïdes	112
4. Capacité antioxydante totale (CAT).....	112
5. Piégeage des radicaux libres par le test DPPH.....	112
6. Profil phénolique du VCP par UHPLC	112
III. Résultats et discussion	113
1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes des extraits	113
2. Activité antioxydante des extraits	114
3. Profil phénolique du VCP S2 de Midelt par UHPLC.	116
IV. Conclusion	117
Chapitre 6 : Étude de l'activité antidiabétique <i>in vivo</i> de l'échantillon S2 de la région de Midelt	118
I. Introduction	119
II. Matériel et méthodes	120
1. Matériel	120
2. Méthodes	121
3. Analyses biochimiques.....	121
III. Résultats et discussion	122

1.	Effet du VCP sur le poids corporel	122
2.	Effet du vinaigre de cidre de pomme sur la glycémie	123
3.	Effet du VCP sur le bilan lipidique.....	124
4.	Effet du VCP sur les enzymes hépatiques	126
5.	Évaluation du risque rénal	129
6.	Effet du VCP sur les électrolytes	130
IV.	Conclusion	131
Chapitre 7 : Etude de l'activité antioxydante <i>in vivo</i> de l'échantillon S2 de		
la région de Midelt		132
I.	Introduction	133
II.	Matériel et méthodes.....	133
1.	Matériel biologique	133
2.	Méthodes	134
3.	Analyses biochimiques.....	135
4.	Analyses histologiques.....	135
4.1.	Fixation.....	135
4.2.	Inclusion	136
4.3.	Coupe, étalement des lames, et coloration	136
III.	Résultats et discussion	136
1.	Effet du peroxyde d'hydrogène et du VCP sur les transaminases ...	136
2.	Effet du peroxyde d'hydrogène et du VCP sur les paramètres rénaux 138	
3.	Étude histologique.....	139
3.1.	Au niveau hépatique	139
3.2.	Au niveau rénal	140
IV.	Conclusion	141
Discussion générale		142

Conclusions et perspectives	153
Références	157
Annexe 1.....	177
Annexe 2.....	182
Annexe 3	183
Annexe 4.....	184

Liste des abréviations

AAF : fermentation acétique
ADP : Adénosine diphosphate
ACP : Analyse de la composante principale
AF : Fermentation alcoolique
AGCC : acides gras à chaîne courte
AMPK : Protéine kinase AMP dépendante
AMPc: Adénosine monophosphate cyclique
ALP : phosphatase alcaline
ALT : alanine aminotransférase
AST : aspartate aminotransférase
AP : processus de vieillissement
ATP : Adénosine triphosphate
BMC : mélanoidine liée
CAT : capacité antioxydante totale
CCl4 : Tétrachlorure de carbone
CMB : concentration minimale bactéricide
CMI : concentration minimale inhibitrice
CP : la composante principale
DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
EAA : équivalent d'acide ascorbique
EAG : équivalent d'acide gallique
EE : Extrait éthanolique
EQ : équivalent de quercétine
EM : extrait méthanolique
ERN : espèces réactives de l'azote
ERO : espèces réactives de l'oxygène
EtOH 50% : extrait éthanolique 50%
EtOH 70% : extrait éthanolique 70%
EV : extrait par vinaigre
GD : golden délicieux

G6-Pase: Glucose-6-phosphatase
GIP: Glucose-dependent insulin releasing polypeptide
GLP1: Glucagon-like peptide-1
GLU: Glutamic acid ions
GPx : Glutathione peroxydase
GRx : Glutarédoxine
IRF3: Interferon regulatory factor 3
JAK1 : Janus kinase
HDL-C : lipoprotéines de haute densité
H2O2 : peroxyde d'hydrogène
LDH : lactate deshydrogénase
LDL : low density lipoprotein
LDL-C : lipoprotéines de basse densité (LDL-C)
MDA : Malon aldéhyde
MeOH80% : extrait méthanolique
MHA: agar Muller-Hinton
MS: Matière sèche
P38-MAPK: P38 mitogen-activated protein kinase
PEPCK : Phosphoénolpyruvate carboxykinase
Pi : phosphate inorganique
PKC : protéine kinase C
PM : mélanoidines pures
PPO : polyphénoloxydase
ps : poids sec
RD : Red délicious
RyR : Récepteur de la ryanodine
SERBP-1: Sterol regulatory element-binding protein 1
SOD: Superoxyde dismutase
TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances
TFC : La teneur en flavonoïdes totale
TC : cholestérol
TG : triglycérides

TPC : la teneur en polyphénols totale

UHPLC : chromatographie liquide à ultra haute performance

VCP : Vinaigre de cidre de pomme

VCR : Vinaigrieres Chériennes Réunies

VMM : Vinaigrierie Mautarderie du Maroc

VLDL : lipoprotéines de très basse densité

Liste des figures

figure 1: l'evolution de la production des pommes au maroc selon les donnees de fao.	8
figure 2: la proportion de chaque variete cultivee au maroc en pourcentage de nombre de pieds par hectare (mapm, 2014).	12
figure 3: les varietes les plus cultivees dans la region de midelt (photos prises a ait ayach).	12
figure 4: les produits obtenus a partir de la pomme (mehinagic et al., 2010).	13
figure 5: diagramme de fabrication des jus et nectars selon braesco et al., (2013).	15
figure 6: diagramme de la fabrication des confitures selon albagnac et al., (2002).	16
figure 7: les methodes generales de la production du vinaigre selon tefsay et al. (2002), budak et al., (2014).	21
figure 8: l'evolution de la production du vinaigre de cidre de pomme au niveau international (aicv, 2020).	22
figure 9: les valeurs des importations et d'exportations en vinaigre par le maroc en milliers de kg (international trade statistics, 2019 valable a http://www.trademap.org/).	23
figure 10: la composition phyto-chimique de differentes parties de la pomme.	27
figure 11: formation des o-quinones par voies enzymatiques (ppo)(guyot et al., 2014).	31
figure 12: la variation de la teneur en polyphenols (tpc) et flavonoïdes (tfc) au cours de processus de la production du vinaigre selon duan et al., (2019).	32
figure 13: la structure de base de flavonoides.	32
figure 14: structures des proanthocyanidines(unusan, 2020).	34
figure 15: la structure des melanoidines contenues dans le vinaigre selon xia et al., (2020).	36
figure 16: la voie de biosynthese de la tetramethylpyrazine (xia et al., 2020).	38
figure 17: changement des parametres physicochimiques pendant le processus de brassage du vinaigre (af : fermentation alcoolique ; aaf : fermentation acetique ; ap : processus de vieillissement (duan et al., 2019).	39
figure 18: mecanisme d'action du controle de la glycemie par l'acide acetique (sakakibara et al., 2006).	44
figure 19: mecanisme de controle de la synthese des lipides par l'acide acetique via l'activation de la voie ampk (sakakibara et al., 2006)	45
figure 20: mecanisme d'action des acides organiques sur les bacteries (zhang et al 2011).	47
figure 21: localisation geographique des deux regions d'etude.	51
figure 22: évolution de la production du vinaigre de pomme par les cooperatives locales	52
figure 23: distribution des utilisateurs et des non utilisateurs de vinaigre de pomme	53
figure 24: description de la population interrogee de la region de deraa-tafilalet et fes-meknes.	54
figure 25: distribution des differentes utilisations du vcp.	55
figure 26: les differentes utilisations medicinales du vcp	56
figure 27: la duree de traitement par le vinaigre de pomme	57
figure 28: le degre de satisfaction de la population d'etude.	58
figure 29: les echantillons de jus des deux varietes de pomme	62

figure 30: projection de differents echantillons etudies et variables sur le plan factoriel forme par les deux premieres composantes principales.....	74
figure 31: les procedes de production du vcp	78
figure 32: materiels utilises pour la production du vcp industriel (cas de cooperative d'assif melloul bouzmou midelt)	79
figure 33: les differents echantillons du vcp.....	88
figure 34: localisation geographique des echantillons du vinaigre de cidre etudies. a : azrou, m : midelt, e : imouzzar kandar, s : sefrou.	88
figure 35: les etapes de la preparation de la suspension bacterienne	91
figure 36: principe de la methode de diffusion par disque.....	92
figure 37: zone d'inhibition des echantillons de vinaigre contre p.aeruginosa	92
figure 38: determination de la cmi de differentes bacteries	93
figure 39: dendrogramme de la comparaison des echantillons de vinaigre de pomme selon leur composition minerale.....	98
figure 40: analyse en composante principale (acp) des echantillons du vinaigre de cidre de pomme analyses en utilisant les parametres evalues : les phenols, les flavonoïdes, ic ₅₀ dpph, le ph, tac : la capacite antioxydante totale, ta : acidite titrable, ce : conductivite, di : diametre d'inhibition. ..	108
figure 41: fruit de rosa canina.....	112
figure 42: protocole experimental de l'evaluation de l'activite antidiabetique du vinaigre de cidre de pomme.	121
figure 43: effet du d-glucose et du vcp sur la glycemie des rats. *p < 0.05 vs. groupe traite par l'eau distillee. +p < 0,05 vs. groupe traite par le d-glucose.	123
figure 44: protocole experimental de l'evaluation de l'activite hepatonephroprotectrice du vinaigre de cidre de pomme contre le peroxyde d'hydrogene.	135
figure 45: les enzymes hepatiques des rats traitees par le d-glucose et le vinaigre de pomme a : aspartate aminotransferase (ast), b : alanine aminotransferase (alt), c : lactate deshydrogenase (ldh).	137
figure 46: bilan renal des rats traitees par le peroxyde d'hydrogene et le vinaigre de cidre de pomme, a : creatinine, b : uree.....	138
figure 47: a : eau distillee : tissu normal ; b : h ₂ O ₂ seul : les fleches montrent des congestions et des hemorragies ; c : h ₂ O ₂ +vinaigre : les fleches montrent des congestions	139
figure 48: a: eau distillee: tissu normal; b: h ₂ O ₂ seul: fleches montrent des congestions et des hemorragies; c: h ₂ O ₂ +vinaigre: fleches montrent des congestions	140
figure 49: mecanisme d'action propose selon zhang et al., (2011).et yagnik et al., (2021).....	145
figure 50: mecanismes d'action possibles du vcp contre les desordres metaboliques et le stress oxydatif	149

Liste des tableaux

tableau 1: position taxonomique du pommier selon (usda-nrcs, 2012)	10
tableau 2: la production international du vinaigre de cidre de pomme	22
tableau 3: la consommation du vinaigre de cidre au niveau international	22
tableau 4: les acides hydroxy-cinnamiques de la pomme (colin-henrion, 2008)	29
tableau 5: la proportion des composes majoritaires dans le vinaigre de cidre	29
tableau 6: les esters de l'acide hydroxy-cinnamique (guyot et al. 2014)	30
tableau 7: la teneur des composes bioactifs du vinaigre de cidre de pomme	30
tableau 8: les flavan-3-ols	33
tableau 9: donnees climatiques de trois stations d'echantillonnage	61
tableau 10: symbole des jus de deux varietes collectees a partir de trois stations	62
tableau 11: les parametres physicochimiques des jus de deux varietes de pomme collectees	66
tableau 12: la teneur des polyphenols et des flavonoïdes des jus de pomme	67
tableau 13: la teneur des polyphenols et des flavonoïdes des extraits des deux varietes	69
tableau 14: la capacite antioxydante totale des jus de pomme	70
tableau 15: la capacite antioxydante totale des extraits de deux varietes de pomme	71
tableau 16: le pouvoir antiradicalire des jus de deux varietes de pomme	72
tableau 17: le pouvoir antiradicalaire des extraits de deux varietes de pomme	73
tableau 18: coefficients de correlation de pearson entre les parametres phytochimiques et les activites antioxydantes de differents jus	75
tableau 19: presentation des echantillons de vinaigre de cidre de pomme	79
tableau 20: les parametres physicochimiques du vcp artisanal et du vcp industriel	82
tableau 21: les antioxydants et l'activite antioxydante du vcp artisanal et du vcp industriel	83
tableau 22: l'activite inhibitrice de l' α -amylase et l' α -glucosidase du va et du vi	84
tableau 23: les caracteristiques climatologiques des sites d'echantillonnage	89
tableau 24: les parametres physicochimiques des echantillons du vinaigre de cidre de pomme	94
tableau 25: la teneur des elements mineraux de differents echantillons de vinaigre de pomme en mg/l.	97
tableau 26: la teneur des polyphenols des echantillons de vinaigre de pommes de differentes regions	99
tableau 27: la teneur des flavonoïdes des echantillons du vcp de differentes regions	101
tableau 28: resultats de la capacite antioxydante totale de differents echantillons du vcp	102
tableau 29: resultats de l'activite anti radicalaire (dpph) de differents echantillons du vcp	103
tableau 30: diametres d'inhibition, en millimetres, des differents echantillons du vinaigre etudies contre cinq souches bacteriennes	104
tableau 31: la concentration minimale inhibitrice en μ l/ml de differents echantillons du vinaigre de cidre de pomme	105
tableau 32: la concentration minimale bactericide de differents echantillons du vinaigre de cidre de pomme	106
tableau 33: coefficients de correlation de pearson entre les parametres physicochimiques evalues, le diametre d'inhibition di, et la cmi des echantillons du vinaigre	109

tableau 34: les polyphenols et les flavonoïdes totaux des extraits de la pelure de fruits de rosa canina collectes dans la region d'ait ayach midelt.....	113
tableau 35: activite antioxydante des extraits de la pelure de rosa canina	115
tableau 36: profil phenolique du vinaigre de cidre de pomme s2.	116
tableau 37: la variation du poids corporel, en gramme, des rats males et femelles durant la periode d' experimentation	122
tableau 38: le bilan lipidique des rats traites par le d-glucose et le vcp.....	125
tableau 39: le bilan hepatic des groupes (asat, alat, et ldh).	127
tableau 40: le bilan renal des rats traites par le d-glucose et le vinaigre de cidre de pomme.....	129
tableau 41: les electrolytes plasmatiques de differents groupes	130

Introduction générale

Le Maroc possède une tradition bien établie sur plusieurs produits transformés transmise d'une génération à l'autre à travers plusieurs décennies. Actuellement, les produits locaux ont pu trouver un nouvel emplacement dans les stratégies et les politiques agricoles Marocaines, en vue de leur valorisation. La valorisation et la standardisation de ces produits constituent un sujet d'actualité pour plusieurs raisons :

- Le changement des modes de vie alimentaires ce qui suscite un intérêt croissant pour les produits de terroir.
- Le défi alimentaire n'est plus seulement d'ordre quantitatif mais aussi d'ordre qualitatif
- L'exigence de la qualité des produits offerts sur le marché et leur standardisation joue un rôle crucial dans la promotion de ces produits.
- La présentation des caractéristiques du produit, l'aire géographique et la méthode de son obtention contribuent au développement rural à travers la pérennisation du revenu agricole des agriculteurs.

Les produits alimentaires traditionnels sont actuellement consommés et appréciés par la population de certaines régions Marocaine et dans le monde. Au Maroc, le VCP figure parmi les produits locaux fermentés très prisé et souvent importé. La transformation biotechnologique des pommes dans les industries agroalimentaires constituerait une voie envisageable de valorisation du vinaigre de cidre de pomme dans notre pays afin de mettre sur le marché une nouvelle gamme de VCP.

La technologie de bioconversion utilisée dans la préparation du produit repose principalement sur le processus de la fermentation sous l'action des bactéries et levures qui colonisent naturellement les matières premières appelée aussi culture en surface (méthode traditionnelle) ou bien par l'utilisation des cultures submergées (méthode conventionnelle). Certes, ces sous-produits jouent un rôle important aussi bien au niveau économique qu'au niveau de la sécurité alimentaire. Pourtant, les mauvaises conditions de la préparation de ces produits et leur commercialisation par des voies informelles constituent un vrai danger qui peut nuire à la santé humaine. Par conséquent, la maîtrise des processus de transformation et d'amélioration organoleptique de ces produits permettent de produire des aliments de bonne qualité qui respectent les normes nationales et internationales.

Dans le but de valoriser, d'améliorer les techniques de production et d'éliminer les risques de contamination du vinaigre de cidre de pomme au niveau de la région de Midelt et aussi au niveau national, nous avons envisagé d'étudier les qualités physicochimiques et les propriétés biologiques de ce produit du terroir national.

Nos échantillons du vinaigre de cidre de pomme (VCP) ont été prélevés à partir de différentes régions du Maroc (Midelt, Azrou, Immouzer kandar et Sefrou) afin d'élargir l'aire géographique de notre étude et d'évaluer ce bioproduit en fonction de l'origine du fruit utilisé et le procédé de fabrication qui peut changer d'une région à une autre. En outre l'originalité de cette étude réside dans le fait que c'est un travail pionnier au Maroc aussi bien pour l'étude ethnopharmacologique de son utilisation en tant que remède naturel par la population indigène dans certaines régions du Maroc que pour les caractérisations physicochimique et biologique du VCP.

De ce fait, nous nous sommes proposés de vérifier les propriétés antioxydantes et antibactériennes ainsi que les effets protecteurs du VCP contre les complications induites par un régime hypercalorique, et le peroxyde d'hydrogène chez les rats. A cet effet, les objectifs de cette thèse ont été définis principalement pour répondre aux questions suivantes :

Le premier objectif : Quelles sont les différentes utilisations traditionnelles du VCP ?

Le second objectif : Est-il possible de caractériser et de standardiser une telle matrice aussi variable que le vinaigre de cidre de pomme de différentes origines géographiques ? quel est l'impact de la technique de production du VCP sur ses propriétés biologiques ?

Le troisième objectif : Quelles sont les principales molécules bioactives contenues dans nos échantillons du VCP ? et quel est leur degré d'activité antioxydante pour piéger les radicaux libres ?

Le quatrième objectif : Est-il possible d'utiliser le vinaigre de cidre de pomme comme un produit naturel pour éradiquer les microbes pathogènes ?

Est-ce que le VCP peut être utilisé comme solvant pour l'extraction des molécules bioactives contenues dans une plante vedette : *Rosa canina* ? qui se

développe naturellement au bord des vergers de pommier au niveau de la région de Midelt.

Le cinquième objectif : La nature est une pharmacie naturelle disposant d'une panoplie de molécules bioactives et d'énormes vertus thérapeutiques. Le vinaigre de cidre de pomme en tant que produit naturel, est-il capable de prévenir le désordre métabolique induit par un régime hypercalorique ? est-il capable d'atténuer la toxicité induite par le peroxyde d'hydrogène ?

Le premier chapitre de ce mémoire de thèse est consacré à l'étude bibliographique concernant l'importance de la pomiculture et la valorisation des fruits par le processus de la biotechnologie. Ce chapitre commence par une présentation de la filière de la pomme au Maroc. Il se poursuit par la mise en évidence de la chronologie d'évolution de la superficie cultivée et l'importance de ce secteur au niveau économique. La dernière partie du premier chapitre répertorie les différentes possibilités de valorisation des pommes fraîches ou transformées et les principales méthodes de la production du vinaigre de cidre de pomme.

Dans le deuxième chapitre nous avons décrit les différentes molécules d'intérêt biologiques contenues dans le VCP en mettant en lumière les substances biologiquement actives, nous avons ainsi criblé ses différents effets bénéfiques dans le dernier chapitre de la première partie.

La seconde partie de ce manuscrit est consacrée à l'étude expérimentale, elle comporte 7 chapitres :

- Étude ethnopharmacologique du vinaigre de cidre de pomme
- Étude physicochimique et étude phytochimique de deux variétés de pomme (*Golden délicious* et *Red délicious*).
- Étude des propriétés physicochimiques, l'activité antioxydante et le pouvoir antibactérien des VCP de différentes origines.
- Étude du profil phénolique du VCP et son pouvoir extracteur.
- Étude des effets antihyperglycémique et antihyperlipidémique sur le modèle animal.
- Étude de l'effet antioxydant du VCP *in vivo* chez les rats Wistar.

Par la suite, une discussion générale viendra confronter l'ensemble des résultats obtenus dans ce travail de thèse.

Le manuscrit s'achève par une conclusion et des perspectives de recherche qui sont proposées à la lumière des avancées obtenues dans ce travail de thèse.

Partie I : Revue bibliographique



Chapitre 1 : Pomme et ses sous-produits dans l'alimentation humaine

I. Filière de la pomme au Maroc

La pomme a été depuis les temps immémoriaux le fruit le plus populaire au monde, elle est intégrée dans l'alimentation humaine quotidienne. Cette intégration est due aux caractéristiques organoleptiques du fruit, la couleur, le goût et l'arôme etc. En outre, la pomme peut être consommée fraîche ou sous forme de produits transformés tels que le jus et le vinaigre.

La situation géographique du Maroc constitue un cadre naturel tout à fait original, il se caractérise par différents bioclimats méditerranéens favorisant la fructification de différentes espèces d'arbres fruitiers ainsi qu'une flore endémique riche et variée (Ghanmi et al., 2011). La richesse géographique et climatique est doublée par une richesse humaine et culturelle toute aussi grande par le contact continu de l'homme avec son environnement naturel (Baudot et al., 1997). Le bassin méditerranéen est une zone qui a été habitée pendant des millénaires, son écologie a été fortement influencée par les interactions homme nature, augmentant la diversité des paysages (Myers et al., 2000). Les principales productions du Maroc sont les agrumes, les céréales, les pommiers, ...etc. La culture de pommes occupe actuellement une superficie d'environ 63000 ha et se place au deuxième rang des rosacées après l'amandier (MAPM, 2014; Ousaid et al., 2020; Sellika and Faysse, 2015). Les premiers vergers commerciaux ont été développés en zones de montagnes (Midelt et Azrou) qui se caractérisent par un hiver froid et long ce qui favorise le développement et la fructification d'un certain nombre de cultivars. La culture de pomme a ensuite été étendue à d'autres zones du pays (Khénifra, Meknès, Marrakech ...) (MAPM, 2014).

Conformément aux données statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture, en 2013, la production Marocaine en pommes est estimée par 583046 tonnes (Figure 1). Selon les données présentées au cours du 15ème Salon International de l'Agriculture au Maroc (SIAM) la production nationale au titre de la campagne agricole 2017-2018 a été de l'ordre de plus 700000 tonnes (Figure 1), avec un rendement moyen de l'ordre de 14 tonnes/Ha selon Oukabli et al., (2011). Une production, en effet, de 882000 tonnes en 2019, avec une dominance remarquable à l'échelle de la région Draa-Tafilalt occupant une superficie de 39% avec une production qui représente plus de 60% de la production nationale concentrée au niveau de la province de Midelt (SIAM, 2019).

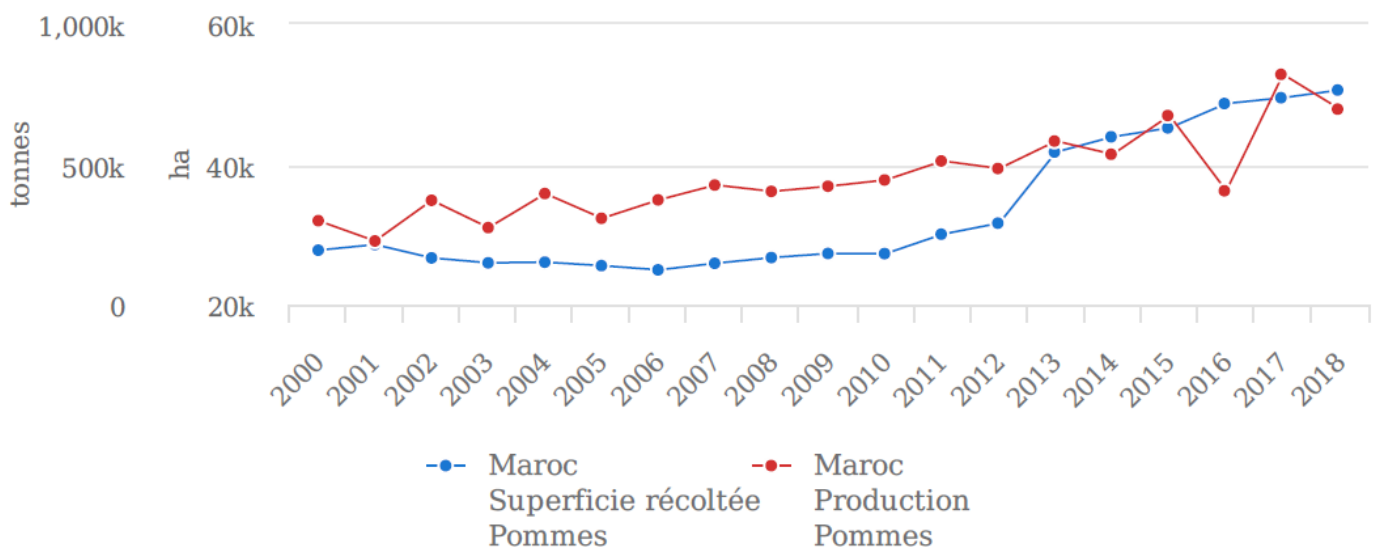


Figure 1: L'évolution de la production des pommes au Maroc selon les données de FAO.

II. Biologie du pommier

1. Taxonomie du pommier

Le pommier est une espèce pérenne à feuilles caduques, il appartient à l'ordre des Rosales, famille des Rosacées, sous famille des Maloideae et au genre *Malus*. Le pommier cultivé est un hybride interspécifique nommé *Malus domestica* ou *Malus pumila* (Tableau 1).

La pomme cultivée au Maroc est une espèce hybride avec une longue histoire complexe d'hybridation inter et intraspécifique (Korban and Skirvin, 1984). La famille des Rosacées comprend de nombreux genres bien connus et appréciés avec des fruits comestibles cultivés au niveau des zones tempérées et jouent un rôle économique

important surtout au niveau des zones montagneuses (Oukabli et al., 2011). Les Maloideae constituent l'une des nombreuses sous-familles des Rosacées réparties en fonction du type de fruit produit, cette dernière comprend presque 1000 espèces et 30 genres. Les fruits de ces espèces sont caractérisés par un fruit distinctif, les pépins, et un nombre basique en chromosomes d'ordre de $x=17$ (Evans and Campbell, 2002; Luby, 2003). La sous-famille des Maloideae comprend plusieurs espèces importantes sur le plan commercial dont les pommes, les poires et certaines plantes ornementales et médicinales (Shulaev et al., 2008). Des évidences scientifiques de la cytologie et la morphologie ont montré que la sous-famille des Maloideae est le résultat d'une hybridation entre un ancêtre Spiraeoideae et un ancêtre Prunoideae, suivie de la fusion des gamètes non réduits pour former un organisme fertile (Currie, 2000). D'autres chercheurs ont cru que les espèces résulteraient d'hybridations anciennes entre un ancêtre de $x=8$ chromosomes et d'autre de $x=9$ chromosomes suivies d'un dédoublement du matériel génétique (Hancock, 2008; Luby, 2003).

Le genre *Malus* se compose de cinq sections (*Malus*, *Sorbomalus*, *Chloromeles*, *Eriolobus*, et *Docyniopsis*) distinguées à la base des caractères morphologiques et des similitudes en flavonoïdes (Phipps et al., 1990). Il comprend 25 à 47 espèces, la difficulté de délimiter le nombre des espèces a été signalée comme provenant de la grande diversité génétique, du potentiel d'hybridation, la polyploidie et la présence d'apomixie (Campbell et al., 1991). La majorité des cultivars de pommier sont diploïdes $2n=34$, alors que certains cultivars sont triploïdes avec $2n=3x=51$ (Janssen et al., 2008; Pereira-Lorenzo et al., 2009). Les espèces de la sous-famille des Maloideae sont le résultat probablement d'une autopolyploidisation d'une progéniture de 9 chromosomes en 18 chromosomes. Ensuite, il a été suivi d'une perte chromosomique produisant les cultivars actuels qui ont 17 chromosomes alors que les autres sous-familles sont $x=7$, 8 ou 9 (Jorgensen et al., 2009).

Malus domestica comprend plus de 7500 cultivars de différentes origines mais seulement quelques dizaines d'entre eux sont cultivés commercialement à l'échelle mondiale et la gamme s'élargit au fil du temps.

Tableau 1: Position taxonomique du pommier selon (USDA-NRCS, 2012)

Règne	Plantae
Sous-règne	Trachéobiontes
Sous-embranchement	Spermatophytes
Classe	Magnoliopsides
Sous-classe	Rosidées
Ordre	Rosales
Famille	Rosacées
Sous-famille	amygdales
Tribu	Malées
Sous-tribu	Malinées
Genre	<i>Malus</i>
Espèce	<i>Malus domestica</i> Borkh

2. Exigences climatoédaphique du pommier cultivé

Le pommier porte un appareil reproducteur hermaphrodite et ne peuvent pas s'autopolliniser due à une auto-incompatibilité de type gamétophytique contrôlée par un seul locus multiallélique (Pereira-Lorenzo et al., 2009). Pour assurer une pollinisation croisée, le verger doit comprendre au moins deux cultivars pollinisateurs pour assurer une production stable. La transition du stade végétatif au stade reproducteur des fleurs du pommier passe par plusieurs changements physiologiques initiés à la fin d'été et se termine à la fin du mois d'avril (Dennis Jr, 2003). L'enlèvement de la dormance des bourgeons nécessite un refroidissement en accumulant plus de 1000 heures à une température moins de 7°C (Oukabli et al., 2011), ce qui explique la concentration de la pomiculture au niveau des zones montagneuses qui fournissent les conditions propices pour le développement et la fructification de ces espèces. Le refroidissement insuffisant durant l'hiver et l'augmentation ou la diminution de la température constituent des contraintes climatiques qui sabotent le développement normal du pommier (Jackson, 2003). Le sol doit être bien drainé et fertile à pH légèrement acide.

III. Importance économique

La culture du pommier au Maroc a été commencée depuis les années 20 avec des variétés de pommier espagnoles qui se développaient dans les zones les moins

froides (MAPM, 2014). Depuis, les régions de production du pommier au Maroc se sont étendues, les régions de production importantes du pommier sont localisées dans le Haut et le Moyen Atlas. Actuellement la superficie cultivée en pommier au Maroc occupe environ 63000 ha ce qui représente plus de 22% de la superficie totale cultivée dans tout le continent africain (MAPM, 2014; Ousaaid et al., 2020e).

Le secteur de pommier joue un rôle très important sur le plan économique. Cette culture constitue en effet la principale source de revenu des populations des zones montagneuses (Ait Ayach, Imilchil, Imouzzar kandar...).

Ce secteur offre plus de 40000 emplois qui s'étalent sur une période de plus d'un mois (début de septembre jusqu'à la moitié du mois d'octobre), ce qui donne à ce secteur un poids économique intéressant (1 million et 800 milles journées de travail) par la génération d'un revenu presque de 162.000.000 DH. (Le revenu total est calculé en multipliant le nombre des journées de travail par le prix moyen de chaque jour).

Cette importante production sert comme un point de départ pour plusieurs stratégies de développement du monde rural. La création des coopératives dans le but de valoriser ce produit phare de la région de Midelt en le transformant en jus et en vinaigre de cidre de pomme, et de renforcer la notoriété de l'offre Marocaine en produits bio locaux sur le marché national voir même international en mettant en exergue les atouts des zones montagneuses tels que la qualité, l'authenticité et la diversité. Ces coopératives aident également à l'amélioration du niveau de vie de la population locale des zones montagneuses défavorisées. En outre, la transformation de la pomme permet de mettre en valeur les récoltes à faible revenu par la diminution des pertes lors de la récolte, le transport et le stockage des fruits.

IV. Valorisation de la pomme

1. Variétés cultivées au Maroc

La pomiculture au Maroc a été commencée par un nombre restreint de variétés d'origine étrangère. Elle est concentrée au niveau des zones montagneuses. Ceci est dû aux besoins en froid hivernal nécessaire à la fructification de cette espèce des rosacés fruitières. L'adoption de la culture en axe vertical permet d'élargir la gamme des variétés cultivées dont le *Golden delicious* (GD) représentait la moitié du nombre des pieds par hectare (MAPM, 2014; Sellika and Faysse, 2015). De plus, *Starking delicious*

comme variété pollinisatrice de GD se classe en deuxième position avec une proportion de 14% de nombre de pieds cultivés par hectare (Figure 2 et 3).

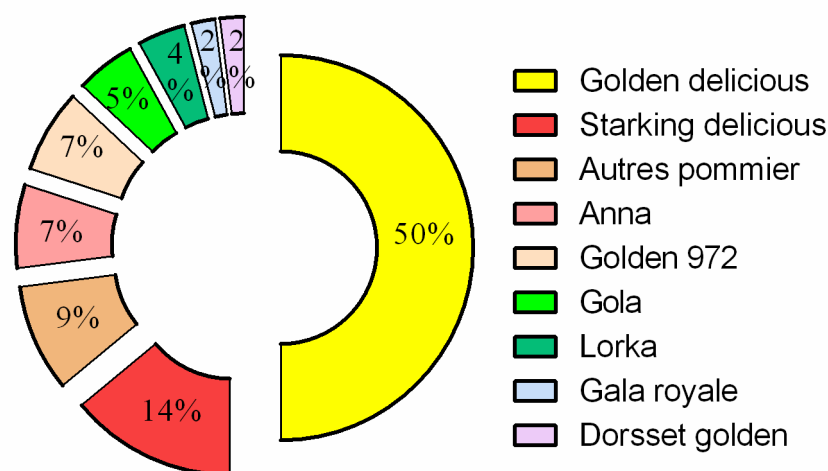


Figure 2: La proportion de chaque variété cultivée au Maroc en pourcentage de nombre de pieds par hectare (MAPM, 2014).



Golden délicieux

Starking délicieux

Red délicieux

Figure 3: Les variétés les plus cultivées dans la région de Midelt (Photos prises à Ait Ayach).

2. Pomme fraîche

La pomme, fruit consommé depuis des milliers d'années, est aujourd'hui une espèce fruitière de première importance mondiale tant au niveau, économique que scientifique. Elle est classée au deuxième rang des fruits les plus consommés au monde après les bananes (Hyun and Jang, 2016). Le programme 5 fruits par jour commencé depuis 1988 et qui s'est rapidement répandue dans le monde entier appelle la population à consommer au moins 5 fruits par jour.

La globalisation dans les dernières décennies avance à grand pas pour assurer une grande disponibilité des pommes frais tout au long de l'année grâce aux unités frigorifiques. Les produits à base de pommes sont nombreux et diversifiés, parmi

lesquels on peut énumérer les pommes conservées, les pommes fermentées, les pommes séchées et le jus des pommes (Figure 4). Un certain nombre de pays s'orientent vers l'industrie de transformation des pommes comme la Chine, les Etats unies, la France, l'Espagne ... ("Les Producteurs de pommes du Québec," 2017) qui reste par contre faible au Maroc.

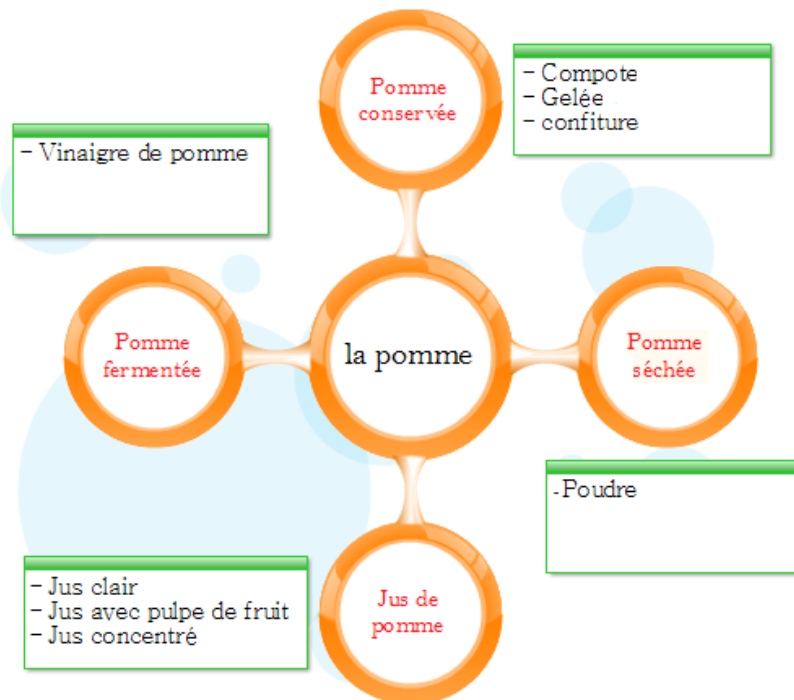


Figure 4: Les produits obtenus à partir de la pomme (Mehinagic et al., 2010).

Par sa composition riche et variée et son apport énergétique faible, la pomme est souvent considérée comme un fruit santé. Sa teneur en eau représente plus de 85% de sa masse totale et l'essentiel de ses calories est fourni par les sucres qui représentent presque 13%, principalement du fructose (44%), du glucose (5%), et du saccharose (4%) (Jensen et al, 2009). La pomme possède une large gamme de vitamines à différentes concentrations (A, B, C, E) (Ferretti et al., 2014; Jensen et al., 2009).

Plusieurs études ont montré les effets bénéfiques des pommes sur la santé humaine. En effet, d'après plusieurs études épidémiologiques faites au cours des dernières années, la consommation de pomme est corrélée négativement avec l'évolution des risques de développer des maladies comme l'asthme, le diabète et certains cancers ou certaines maladies liées au système cardiovasculaire (Boyer and Liu, 2004; Ferretti et al., 2014). La richesse de la pomme en fibres et en composés bioactifs serait la principale raison de ces effets protecteurs.

3. Pomme transformée

La biotechnologie de conversion de la pomme recouvre l'ensemble des opérations qui, du conditionnement à la transformation, ont pour rôle de conserver les propriétés organoleptiques des fruits sous différentes formes. Au Maroc, la transformation des fruits est négligeable et constitue l'une des voies envisageables pour la valorisation de la pomme dans le but de mettre sur le marché de nouveaux produits à intérêt alimentaire et économique importants tels que : le jus, le vinaigre, la confiture, la compote... vu que la disponibilité des fruits frais tout au long de l'année nécessite surtout une meilleure conservation.

3.1. Jus

Selon la norme générale CODEX STAN 247 des jus et nectars de fruits "Le jus de fruits est le liquide non fermenté, mais fermentescible, tiré de la partie comestible de fruits sains, parvenus au degré de maturation approprié et frais ou de fruits conservés dans des conditions aseptiques par des moyens adaptés et/ou par des traitements de surface post-récolte appliqués conformément aux dispositions pertinentes de la Commission du Codex Alimentarius (FAO-WHO, 2005). Le jus est une denrée peu transformée possède les caractéristiques nutritionnelles, chimiques, physiques et organoleptiques du ou des fruits dont il provient, encadrée par une réglementation spécifique (Décrit n°2-15-306, 2016). Comme il y'a souvent une consommation restreinte de fruits par la population, le jus de fruits constitue une bonne alternative pour pallier à cette sous-consommation qui est en relation étroite avec l'apparition d'un certain nombre de maladies dont le risque d'attraper un cancer (He et al., 2007; Riboli and Norat, 2003; Steinmetz and Potter, 1996)

La production du jus de fruits se déroule à travers plusieurs étapes optimisées afin d'assurer une meilleure productivité tout en gardant les qualités organoleptiques et nutritionnelles du fruit (Figure 5). Il existe différentes formes du jus, le jus avec pulpe de fruits, le jus concentré, le jus clair... Le jus obtenu immédiatement après l'extraction peut être également nommé "naturel" par sa composition riche en petite particules insolubles telles que les fragments des cellules végétales, des protéines et des pectines qui rendent le jus trouble (Kilara and Van Buren, 1989).

La clarification du jus qui est une étape importante dans les processus industriels de la production des jus et qui a un impact sur la teneur des jus en molécules bioactives

comme les polyphénols dont les activités antioxydantes sont importantes (Alper et al., 2011; Oszmiański and Wojdyło, 2007).

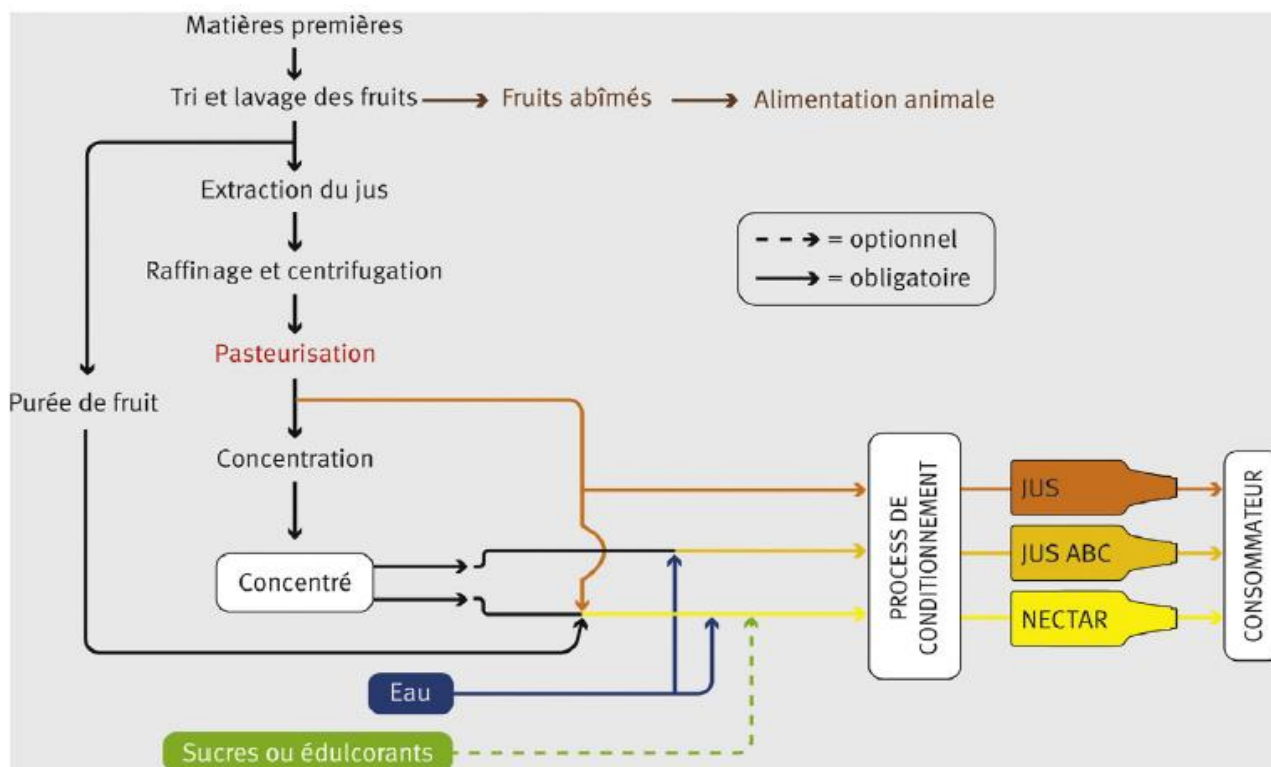


Figure 5: Diagramme de fabrication des jus et nectars selon Braesco et al., (2013).

3.2. Confiture de pommes

La confiture des fruits est définie par l'article 8 d'Arrêté viziriel du 5 mars 1928 (35-ARV.03-1928) 'la dénomination confiture est réservée aux produits obtenus exclusivement avec des fruits frais ou desséchés ou du jus des fruits, conservés sans addition d'antiseptique autre que l'anhydride sulfureux, il ne doit rester aucune trace de ce dernier dans le produit prêt à être mis en vente'. Le procédé de la fabrication de la confiture comprend un certain nombre d'étapes successives illustrées sur la figure 6 :

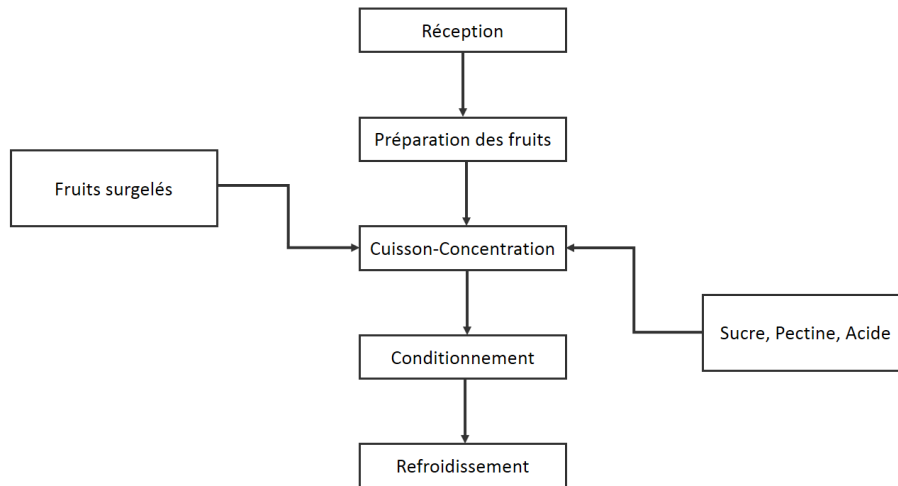


Figure 6: Diagramme de la fabrication des confitures selon Albagnac et al., (2002)

3.3. Vinaigre de cidre de pomme

❖ Historique

Le vinaigre est l'un des produits naturels qui a une longue histoire médicale, sa consommation était utilisée comme remède contre le diabète avant l'avènement d'une thérapie pharmacologique hypoglycémiante (O'Keefe et al., 2008). L'utilisation du vinaigre pour traiter différentes maladies remonte à Hippocrate (Johnston, 2009). Les anciennes prescriptions décrites dans le livre chinois *Fifty-Two diseases* (Chen et al., 2016a) montrent l'utilisation du vinaigre pour contrôler la glycémie. L'impact du vinaigre sur la glycémie à jeun a été étudié pour la première fois par Ebihara and Nakajima, (1988). Une diète qui contient 2% d'acide acétique réduisait significativement la glycémie des rats après l'ingestion de l'amidon (Ebihara and Nakajima, 1988). D'autres preuves scientifiques soutenaient l'effet hypoglycémiant du vinaigre, qui a été lié au contrôle de la satiété et à l'apport alimentaire réduit (Johnston et al., 2013, 2004).

Les caractéristiques organoleptiques du vinaigre (dont la couleur et l'arôme) sont étroitement liées à la matière première (Solieri and Giudici, 2009). En effet, le vinaigre est reconnaissable grâce à ses propriétés comme l'odeur, le goût piquant, et l'astringence. Il possède une histoire qui date de plus de 5000 ans, sa découverte est étroitement liée à la production du vin par les observations de Louis Pasteur et de ses transformations après son altération (Pasteur, 1868).

Ce bio liquide constitue un patrimoine culturel de plusieurs civilisations, les Egyptiens étaient probablement les premiers à découvrir et à utiliser le vinaigre, appelé à l'époque HmD (habituellement prononcé 'hemedj') (Mazza and Murooka, 2009). Les Sumariens avaient une connaissance considérable concernant la préparation des légumes ou des viandes marinées avec du vinaigre (<https://versatilevinegar.org/vinegar-lore/>). Les Babyloniens l'ont utilisé comme condiment et conservateur, ils ont aromatisé le vinaigre par des plantes aromatiques et les épices (<https://versatilevinegar.org/vinegar-lore/>)

Les qualités médicinales du vinaigre sont évoquées par Hippocrate et probablement était l'un des premiers remèdes utilisés contre un certain nombre de maladies (Cope, 1958; Mayer, 1951; Sonnenfeld et al., 1999).

Les premières productions industrielles ont été commencées vers 2000 av.J.-C. Le vinaigre n'est pas considéré comme un aliment à cause de sa faible valeur nutritionnelle (Solieri and Giudici, 2009).

Dans la culture musulmane, la signification du vinaigre a été établie selon le hadith raconté par Aisha, qu'Allah soit satisfait d'elle, que le Prophète, que la paix et bénédiction de dieu soient sur lui, a déclaré "Le meilleur des condiments est le vinaigre" (ibn Al-Hajjaj and al-Husain, 2007). Il a dit aussi (bénédiction et salut soient sur lui) "que Allah le Très Haut bénisse le vinaigre parce que c'était la sauce des prophètes avant moi". Rapporté par Ibn Madja (3318) et Dhaif al-Djami (5973).

عن جابر بن عبد الله رضي الله عنهما أن رسول الله صلى الله عليه وسلم سأل أهله الإدام، فقالوا: ما عندنا إلا الخل. فدعا به، فجعل يأكل به ويقول : نعم الإدام الخل، نعم الإدام الخل.

وعن عائشة رضي الله عنها، أن النبي صلى الله عليه وسلم قال :نعم الأدم، أو، الإدام الخل. رواه مسلم

En incitant les musulmans à consommer le vinaigre après l'interdiction de l'usage du vin, cela s'atteste dans la parole du Prophète (bénédiction et salut soient sur lui) : "Tout ce qui entraîne l'ivresse est khamr et tout est interdit" (Rapporté par Mouslim, 2003). La culture islamique accordait une grande importance au vinaigre par l'étude de ses propriétés chimiques par les alchimistes islamiques du 8^{ème} siècle. Jaber Ibn Hayyan (vers 721-815 après J-C) était l'un des scientifiques qui a été désigné comme le père de la chimie et a pu extraire l'acide acétique par la distillation du

vinaigre, ainsi que l'acide citrique et de l'acide tartrique à partir des résidus de la vinification (Mazza and Murooka, 2009).

Dans son livre nommé "Al-Quanon fit Tibb" "la loi de la médecine" d'Iben Sina ou Avicenne (980-1037) mentionnait aussi les propriétés du vinaigre tant que : agent de coagulation, calmant des maux de tête, expectorant, guérit aussi les brûlures et les inflammations cutanées (Mazza and Murooka, 2009).

Le vinaigre a été utilisé comme un agent antiseptique, selon le dictionnaire d'histoire de la pharmacie, le vinaigre des quatre voleurs a été utilisé contre la peste des années 1720 à Marseille (Harant et al., 1963).

Au cours de la guerre civile américaine, le vinaigre a été utilisé comme traitement de scorbut et comme traitement des blessures au cours de la première guerre mondiale (<https://versatilevinegar.org/vinegar-lore/>). Par la suite, Pasteur en 1872 dévoilait le mécanisme de la transformation du vin en vinaigre sous l'action des microorganismes vivant à la surface du liquide et entraînant la fermentation acétique, cette couche il l'appelait la mère du vinaigre. Cette transformation spontanée en pleine air constitue la méthode artisanale de la production du vinaigre appelée aussi la méthode d'Orléans (Pasteur, 1868). Indépendamment de la matière première, le vinaigre issu d'un processus artisanal possède en particulier des vertus thérapeutiques intéressantes (Budak et al., 2014).

❖ **Réglementation**

Selon le Décret n°2-10-385, (2011), la dénomination "vinaigre" est réservée au produit obtenu exclusivement par le procédé biologique de la double fermentation, alcoolique et acétique, de liquides ou d'autres substances d'origine agricole.

Etymologiquement le mot vinaigre c'est de vin et aigre "vin rendu aigre" qui est un liquide à goût fort issu d'une double fermentation, alcoolique et acétique. D'après le même décrit susdit, il existe plusieurs types :

- ✚ **Vinaigre de vin** : le vinaigre obtenu seulement à partir de vin par le procédé biologique de la fermentation acétique ;
- ✚ **Vinaigre de fruits ou de petits fruits** : vinaigre obtenu à partir de fruits ou de petits fruits par le procédé biologique de la fermentation alcoolique et acétique ;

- ✚ **Vinaigre de vin de fruits ou de vin de petits fruits** : vinaigres obtenus à partir de vin de fruits ou de vin de petits fruits par le procédé biologique de la fermentation acétique ;
- ✚ **Vinaigre de cidre** : vinaigre obtenu à partir de cidre par le procédé biologique de la fermentation acétique ;
- ✚ **Vinaigre d'alcool ou de table** : vinaigre obtenu à partir d'alcool de distillation d'origine agricole par le procédé biologique de la fermentation acétique ;
- ✚ **Vinaigre de céréales** : vinaigre obtenu sans distillation, à partir de n'importe quelle céréale dont l'amidon a été transformé en sucres par d'autres agents que les seules diastases de l'orge malté ;
- ✚ **Vinaigre de malt** : vinaigre obtenu sans distillation à partir d'orge malté, avec addition éventuelle de céréales dont l'amidon a été transformé en sucres uniquement par les diastases de l'orge malté ;
- ✚ **Vinaigre de malt distillé** : vinaigre obtenu sous pression réduite du vinaigre de malt comme défini ci-dessus. Ce vinaigre ne renferme que les constituants volatils du vinaigre de malt à partir duquel il est obtenu ;
- ✚ **Vinaigre épicé ou vinaigre aromatisé** : vinaigre défini aux paragraphes ci-dessus additionné d'herbes condimentaires ou d'arômes naturels ou d'autres ingrédients autorisés par la réglementation en vigueur.

La teneur acétique minimale des vinaigres est fixée à 6 grammes d'acide acétique pour 100 mL. La teneur en alcool résiduel des vinaigres est limitée à 0.5% en volume, sauf pour les vinaigres de vin dont la limite est fixée à 1% selon l'article 3 du (Décret n°2-10-385, 2011).

❖ **Processus de la fabrication du vinaigre**

Dans la littérature, la société sous le nom "Vinaigriers moutardiers sauciers distillateurs en eau-de-vie et esprit-de-vin buffetiers" a été probablement la plus ancienne société spécialisée dans la production du vinaigre à Orléans enregistré le 28 octobre 1394 (Mazza and Murooka, 2009). Au cours de cette période, la recette de préparation du vinaigre a été le secret du vinaigrier et semblait inconnue pour les débutants (Bourgeois and Barja, 2009). Christian Hendrik Persoon, en 1822, a repris les idées de Fabroni et Chaptal, il a indiqué que la production du vinaigre est due au film qui se forme à la surface du vin laissé à l'air libre. Il a supposé qu'il s'agissait d'un champignon nommé *Mycoderma* (Bourgeois and Barja, 2009). Le chimiste allemand

Döbereiner a publié l'équation de la transformation de l'alcool en acide acétique en présence d'oxygène, et il a décrit la mère du vinaigre comme un voile qui se forme à la surface du vin composé de bactéries acétiques (Bourgeois and Barja, 2009). Par ses études sur le vinaigre, Pasteur a publié son célèbre rapport, en 1864, sur la fermentation acétique et il a pu expliquer les véritables mécanismes de la préparation du vinaigre (Bourgeois and Barja, 2009).

Le vinaigre peut être produit par l'utilisation de différentes méthodes et à partir de plusieurs matières premières contenant de l'amidon ou du sucre par une double fermentation (Solieri and Giudici, 2009). Les matières premières les plus courantes sont les pommes, les poires, les raisins, le miel, les sirops, les céréales, les amidons hydrolysés, la bière et le vin (Solieri and Giudici, 2009). Les microorganismes impliqués dans les différentes étapes de la transformation sont ceux qui colonisent les matières premières (les légumes et fruits) tels que : les bactéries lactiques, les levures, les moisissures et les bactéries acétiques (Solieri and Giudici, 2009). La production traditionnelle du vinaigre nécessite une longue durée de maturation dans des futs de bois pour avoir une acidité élevée et résultant un produit relativement cher. Donc le recours aux nouvelles technologies constitue une alternative pour avoir des vinaigres presque de même qualité en temps plus court et moins cher (Tesfaye et al., 2002). Boehaave Hermann a pu inventer un procédé automatisé d'acétification continu qui a été le plus moderne à l'époque et présentait un outil pour comprendre l'importance de l'air dans le processus de la transformation (Bourgeois and Barja, 2009). La figure 7 constitue une représentation schématique des étapes d'élaboration du vinaigre avec les

deux méthodes de base (la culture en surface et la culture submergée) selon Tesfaye et al., (2002).

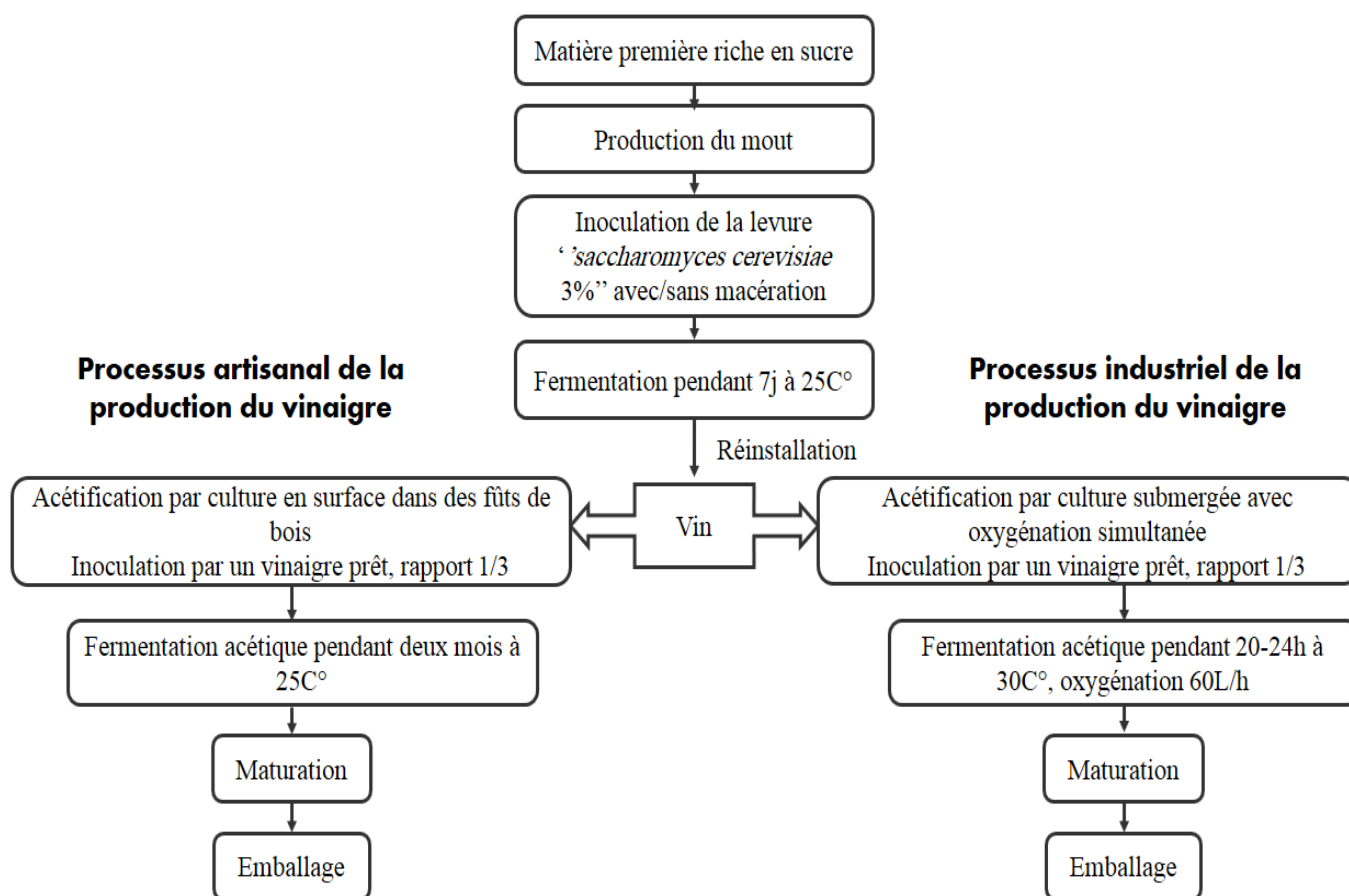


Figure 7: Les méthodes générales de la production du vinaigre selon Tefsay et al. (2002), Budak et al., (2014).

V. Production du vinaigre de cidre de pomme (VCP)

1. Au niveau mondial

Le vinaigre de cidre de pomme constitue l'un des produits les plus répandus dans le monde entier et disponible en forme filtrée et non filtrée (AICV, 2020; Mazza and Murooka, 2009). Le marché du vinaigre de cidre de pomme est en croissance continue grâce à ses avantages thérapeutiques et culinaires. La production du VCP passe de 1857,356 millions litres en 2010 à 2627,642 millions litres en 2018 avec un taux d'augmentation de 141.47% (AICV, 2020). Le tableau 2 représente les taux de production du VCP au niveau international, et la figure 8 représente l'évolution de la production du VCP au niveau mondial.

Tableau 2: La production international du vinaigre de cidre de pomme

Pays	Royaume-Uni	Espagne	France	Irlande	Allemagne	Pologne	Finlande	Ukraine	Russie	République tchèque	Suède	Maroc
Production (millions de litres)	1003.784	114.145	75.105	71.458	69.12	56.15	36.22	22.293	20.043	12.508	17.21	0.000056

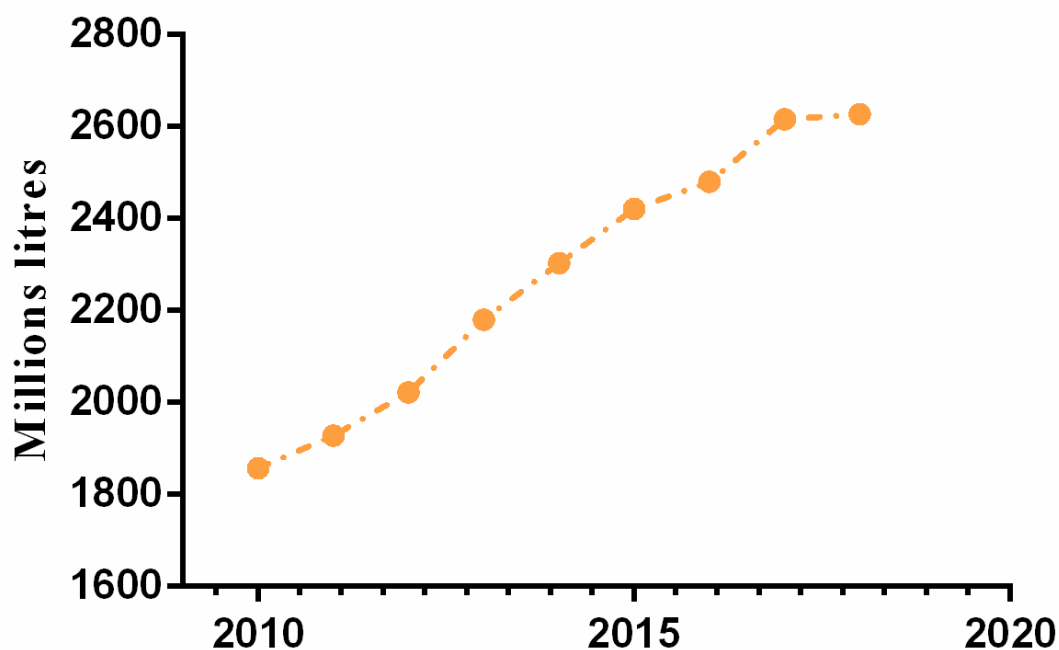


Figure 8: L'évolution de la production du vinaigre de cidre de pomme au niveau international (AICV, 2020).

Selon le même rapport la consommation du vinaigre de cidre de pomme à une prédominance au niveau européen avec une proportion de 55.7%. L'Afrique se positionne en deuxième rang avec une proportion de 12.3% (Tableau 3).

Tableau 3: La consommation du vinaigre de cidre au niveau international

	Europe de l'ouest	Afrique	Amérique du nord	Australie	Europe de l'est	Amérique latine	Asie	Moyen-Orient et l'Afrique du nord
Volume (ML)	146.316	322.826	308.432	201.89	166.343	120.759	34.367	0.865
%	55.7	12.3	11.7	8	6.3	4.6	1.3	0.1

2. Au niveau national

Le marché Marocain est approvisionné en vinaigre à une part de 90% par les cinq grandes sociétés dont les principaux fournisseurs sont : la société VCR (Vinaigrieres Chérifiennes Réunies) et VMM (Vinaigrierie Mautarderie du Maroc). La production nationale se tenait aux alentours de 34 millions de litres en 2010 (Indexbox), et selon les prévisions de la même étude la production nationale en 2020 reconnaît une légère diminution de -0.2 % (33.2 M litres). Une part considérable du marché marocain est assurée par les pays exportateurs du vinaigre et dérivés comme le montre la figure 9. La valeur des importations du vinaigre au Maroc est de l'ordre de 1.6 M \$ en 2019 dont l'Espagne et la France sont les principaux fournisseurs en vinaigre préparé par l'acide acétique avec une part combinée de 83% des importations du Maroc en vinaigre. L'Espagne est classé en première position avec une valeur destinée au Maroc d'ordre de 946 milles\$, la France (403 milles \$) et le Portugal en troisième position avec une valeur de 80 milles \$ (International Trade Statistics <https://trendeconomy.com/data/h2/Morocco/2209>).

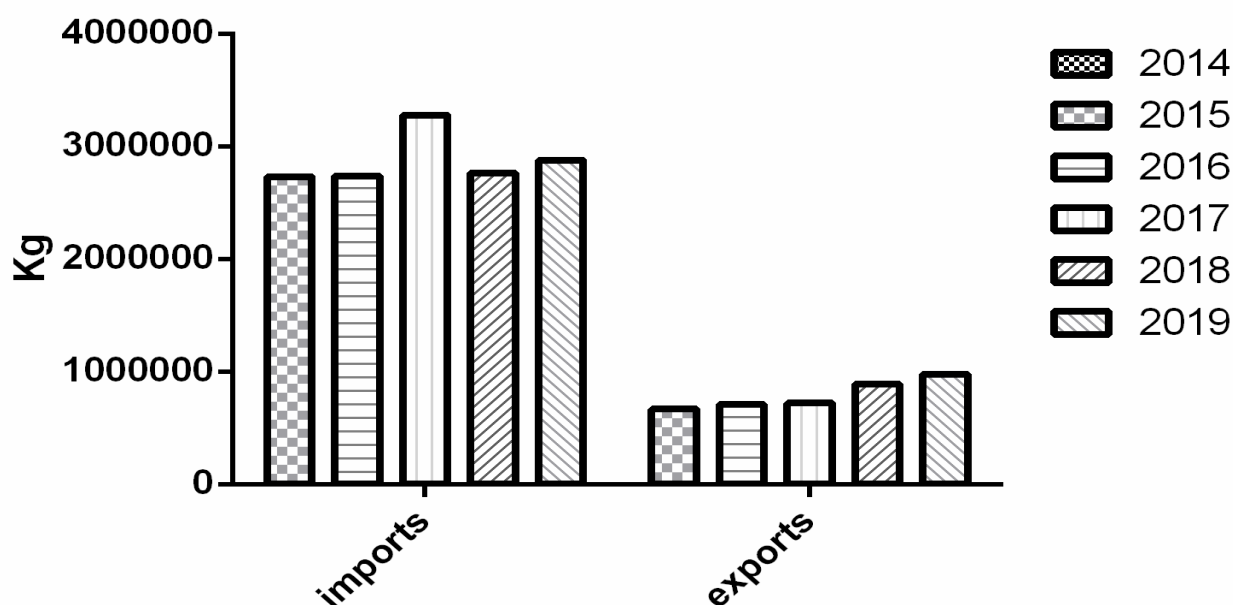


Figure 9: Les valeurs des importations et d'exportations en vinaigre par le Maroc en milliers de Kg (International Trade Statistics, 2019 valable à <http://www.trademap.org/>).

De même, le Maroc en tant que producteur, il exporte le vinaigre vers plusieurs pays dans le monde (Figure 8). Les exportations du vinaigre produit à la base d'alcool éthylique sont de l'ordre de 977728 Kg en 2019, ce qui représente un chiffre d'affaire de 710304\$ (International Trade Statistics, 2019, <https://trendeconomy.com/data/h2/Morocco/2209>). La principale destination du vinaigre produit au Maroc est la France avec une part qui représente 47% (338 milles \$), l'Espagne avec une valeur de 21% (151 milles \$), et la Belgique se classe en troisième rang avec une proportion de 20% (145milles \$) des exportations totaux en vinaigre (International Trade Statistics, 2019, <https://trendeconomy.com/data/h2/Morocco/2209>).

Chapitre 2 : Composés phytochimiques d'intérêt
thérapeutiques du vinaigre de cidre pomme
(VCP).

L'intérêt de la réorientation vers les produits locaux d'origine végétale a connu une augmentation importante durant les dernières années grâce à leurs propriétés biologiques remarquables. Cet engouement exprimé aux produits de terroir par les consommateurs est soutenu surtout par les vertus thérapeutiques qu'ils en découlent à l'égard des produits chimiques qui entraînent des effets secondaires nuisibles à la santé humaine.

Le VCP constitue une mine d'or thérapeutique inépuisable par sa richesse en métabolites secondaires dérivés des pommes et aussi des nouvelles molécules bioactives qui se forment durant le processus de la production et/ou le vieillissement du vinaigre comme les polyphénols (Duan et al 2019 ; Xia et al. 2020). En effet, le processus de la fermentation des aliments constitue l'une des méthodes les plus anciennes de préparation et de conservation des produits alimentaires qui non seulement augmente la durée de conservation de l'aliment mais améliore également les caractéristiques organoleptiques et la qualité nutritionnelle du produit fini (Boeckel et al., 2003).

Les composés bioactifs du vinaigre constituent un vaste groupe hétérogène de métabolites secondaires (les polyphénols), les acides organiques, les mélanoidines, et la tétraméthylpyrazine (Xia et al., 2020).

I. Polyphénols

1. Aperçu général

Les molécules bioactives comme les polyphénols contenues dans les produits alimentaires, contribuent amplement à leur qualité et leur aptitude thérapeutique. Les polyphénols issus du métabolisme secondaire des végétaux interviennent dans le processus de la protection et la défense des plantes contre les stress biotiques (herbivores, microorganismes, champignons...) et abiotiques (sécheresse, salinité, forte températures, froid, gel...); ces molécules ne sont pas nécessaire au métabolisme de base (Macheix et al., 2005). Elles se caractérisent par une structure de base qui comporte un cycle aromatique, substitué d'un ou plusieurs hydroxyles, libre ou lié aux autres fonctions sous forme d'esters et d'hétérosides.

Les fonctions physiologiques des fruits et leurs sous-produits peuvent être en partie attribuées à leur composition phénolique (Jakobek et al., 2020; Mateos-Aparicio

et al., 2020b; Wandjou et al., 2020). Plusieurs études expérimentales indiquent une corrélation négative entre une diète riche en fruits et légumes et leurs sous-produits et les risques des maladies antigéniques chroniques, comme le diabète, les maladies cardiovasculaires, et le stress oxydatif (Bakir et al., 2016; Ho et al., 2020; Xia et al., 2020, 2019).

Les polyphénols du VCP sont principalement dérivés de la matière première qui est la pomme. Elle englobe généralement deux classes : Les flavonoïdes et les acides coumariques (Guyot et al., 2001; S. Guyot et al., 2014). D'après l'analyse de la composition phytochimique de différentes parties de la pomme, une grande quantité de polyphénols s'accumule au niveau de la peau et des graines du fruit (Figure 10) (Duda-Chodak et al., 2011; Francini and Sebastiani, 2013; Lata et al., 2009).

Plusieurs facteurs ont un impact sur l'accumulation des composés actifs au niveau des fruits dont les conditions climatiques défavorables et ainsi que le cultivar (Viskeliš et al. 2019).

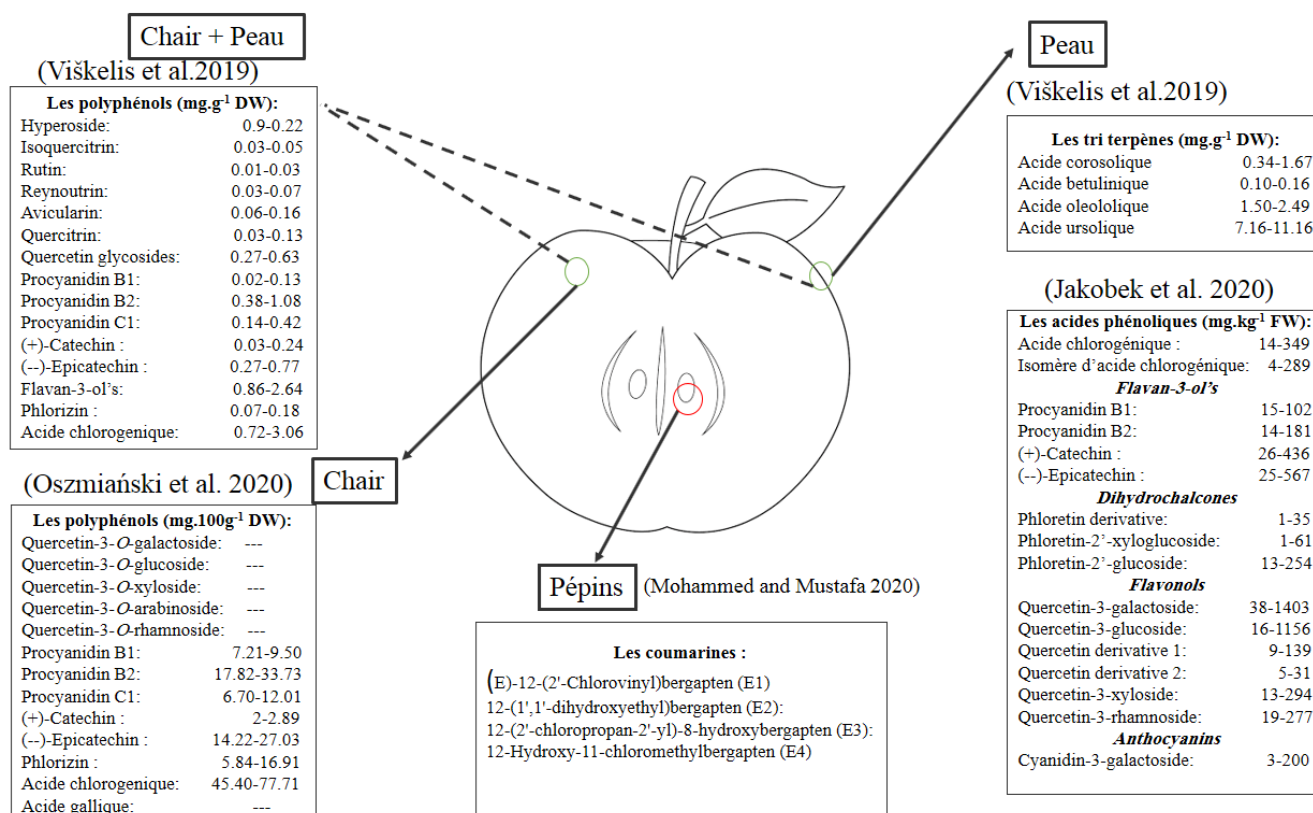


Figure 10: La composition phyto-chimique de différentes parties de la pomme.

2. Polyphénols du VCP

Le VCP était le sujet d'étude de nombreuses recherches depuis plusieurs années. Récemment, des études sont menées pour déterminer les polyphénols contenus dans le

VCP. La nature et la quantité des substances biologiquement actives dans le vinaigre sont étroitement liées à la matière première utilisée, la technique adoptée pour sa production, et la nature des microorganismes qui interviennent dans le processus de la double fermentation (Chen et al., 2016b; Patrignani et al., 2020; Xia et al., 2020).

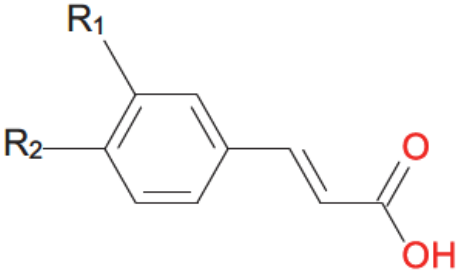
Ces molécules actives ne confèrent pas seulement des propriétés organoleptiques, qui caractérisent le VCP, mais jouent aussi un rôle important dans la prévention et le traitement de plusieurs maladies tels que les infections bactériennes et le diabète (Budak et al., 2014b; Chen et al., 2016a; HINDI et al., 2014; Yagnik et al., 2018).

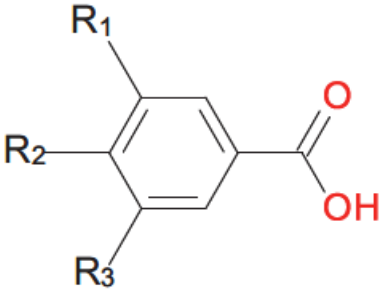
Les polyphénols du VCP sont répartis en deux groupes selon la structure de leur squelette de base : les acides phénoliques et les flavonoïdes.

2.1. Acides phénoliques

Les molécules d'intérêt biologique tels que les acides phénoliques (Tableau 4) sont des substances possédant un cycle aromatique de carbone liée à un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ces phénols ont une structure de type C₆-C₃ et C₆-C₁ pour les dérivés de l'acide hydroxycinnamique et les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque respectivement (Tableau 4). Ces molécules sont présentes dans les fruits sous deux formes, libre ou liée. Elles représentent 4 à 18 % de la totalité des polyphénols de la pomme (Vrhovsek et al., 2004). Les molécules liées peuvent être libérées par plusieurs processus sous l'action des enzymes ou par des réactions d'hydrolyse acide comme lors de la production du vinaigre de cidre de pomme. Ce qui explique les propriétés thérapeutiques du vinaigre conséquentes à sa richesse en molécules biologiquement actives. Le composé majoritaire des acides phénoliques du vinaigre est l'acide chlorogénique (environ 77%) suivi de l'acide gallique (environ 12%), l'acide caféique (environ 7%) et l'acide *p*-coumarique (environ 2%) (Tableau 5) (Kelebek et al., 2017).

Tableau 4: Les acides hydroxy-cinnamiques de la pomme (Colin-Henrion, 2008)

	Les acides hydroxy-cinnamiques		
	R1	R2	
Acide para-coumarique	H	H	
Acide caféique	OH	H	
Acide férulique	OCH ₃	H	
Acide sinapique	OCH ₃	OCH ₃	

	Les acides hydroxybenzoïques		
	R1	R2	R3
Acide gallique	OH	OH	OH
Acide protocatéchique	OH	OH	H
Acide vanillique	H	OH	OCH ₃
Acide syringique	OCH ₃	OH	OCH ₃

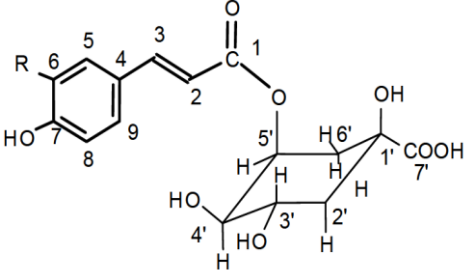
L'acide hydroxy-cinnamique est rarement sous forme libre, il est souvent estérifié (Škerget et al., 2005), et également associé avec des sucres ou avec l'acide quinique (Bruneton, 2008)

Tableau 5: La proportion des composés majoritaires dans le vinaigre de cidre

Le composé	Acide chlorogénique	Acide gallique	Acide caféique	Acide <i>p</i> -coumarique
La proportion (%)	77	12	7	2

L'ester hydroxy-cinnamique le plus rencontré dans la pomme est l'acide 5'-caféoylquinique qui désigne l'acide chlorogénique et parfois désigne les autres isomères de l'acide caféoylquinique (Tableau 6) (Colin-Henrion, 2008). C'est la raison pour laquelle il constitue l'élément majeur des acides phénoliques présents dans le vinaigre dérivé de la pomme comme matière première.

Tableau 6: Les esters de l'acide hydroxy-cinnamique (Guyot et al. 2014)

	Les esters de l'acide quinique	R
	Acide 5'- <i>para</i> -coumaroylquinique	H
	Acide 5'-caféoylquinique	OH

Dans l'étude menée par Kelebek et al., (2017), la teneur en acide chlorogénique varie de 2.96 à 16.29 mg/ L entre les échantillons du VCP, l'acide protochatechique (1.15-2.57), l'acide vanillique (0.63-3.42), l'acide gallique (0.47-2.57), l'acide caféique (0.19-1.77), et l'acide *p*-coumarique (0.13-0.81). De grandes quantités d'acide chlorogénique, d'acide gallique, et d'acide caféique sont enregistrées par Aykın et al., (2015) (Tableau 7).

Tableau 7: La teneur des composés bioactifs du vinaigre de cidre de pomme

Le composé bioactif	Acide protochatechique	Acide vanillique	Acide gallique	Acide caféique	Acide <i>p</i> -coumarique
La teneur en mg/L	1.15-2.57	0.63-3.42	0.47-2.57	0.19-1.77	0.13-0.81

Nakamura et al., (2010) ont étudié la variation de la teneur en acides phénoliques (l'acide chlorogénique, l'acide caféique, et l'acide *p*-coumaroylquinique) pendant le processus de la préparation du vinaigre. Ils ont rapporté que les quantités des trois acides étaient respectivement de 101, 99 et 105% de la teneur initiale au début de la fermentation alcoolique. L'impact de l'acétification sur les composés bioactifs du vin de pomme a été étudié par Andlauer et al., (2000), ils ont montré qu'au cours du processus de l'acétification, la teneur des polyphénols totaux a diminué de 40 % indiquant une forte dégradation ou transformation (Andlauer et al., 2000).

La production de vinaigre correspond à la succession de deux phases, fermentation alcoolique et fermentation acétique, durant lesquelles les polyphénols subissent des changements dû aux réactions biochimiques et chimiques ayant des conséquences sur les propriétés organoleptiques et la teneur en polyphénols du produit fini. Ces changements sont traduits par l'oxydation des polyphénols soit par voie enzymatique en présence d'oxygène soit par l'adsorption sur les polysaccharides insolubles des fruits (S. Guyot et al., 2014). En plus, les microorganismes intervenant

dans le processus ont un impact sur le changement de la composition phénolique de vinaigre (Marie, 2011).

La fermentation acétique crée des conditions qui favorisent l'oxydation d'une partie des composés phénoliques en présence d'oxygène par la polyphénoloxydase (PPO) en quinone par deux réactions successives suite à son activité crésolase et catécholase(figure 11) (S. Guyot et al., 2014).

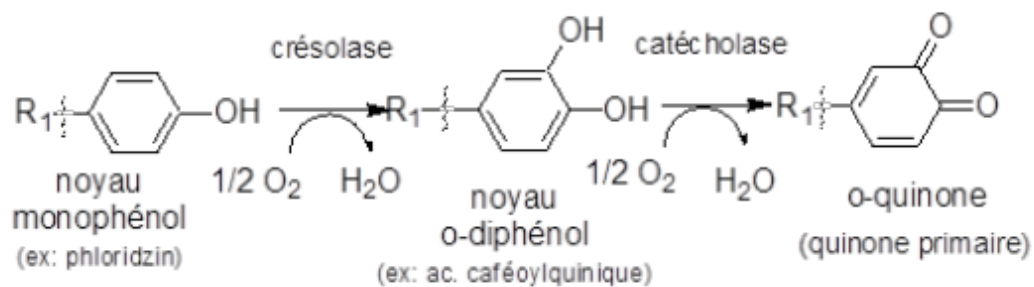


Figure 11: Formation des o-quinones par voies enzymatiques (PPO)(Guyot et al., 2014).

Les essais de surmonter le défi de la dégradation des composés actifs par les différents processus ne cessent de se développer. L'un des moyens les plus utilisés est l'aromatisation. L'étude du changement de la quantité des molécules bioactives durant le processus de la production du vinaigre révélait que la teneur de ces molécules augmente graduellement durant la deuxième phase (fermentation acétique) (Figure 12) (Duan et al., 2019).

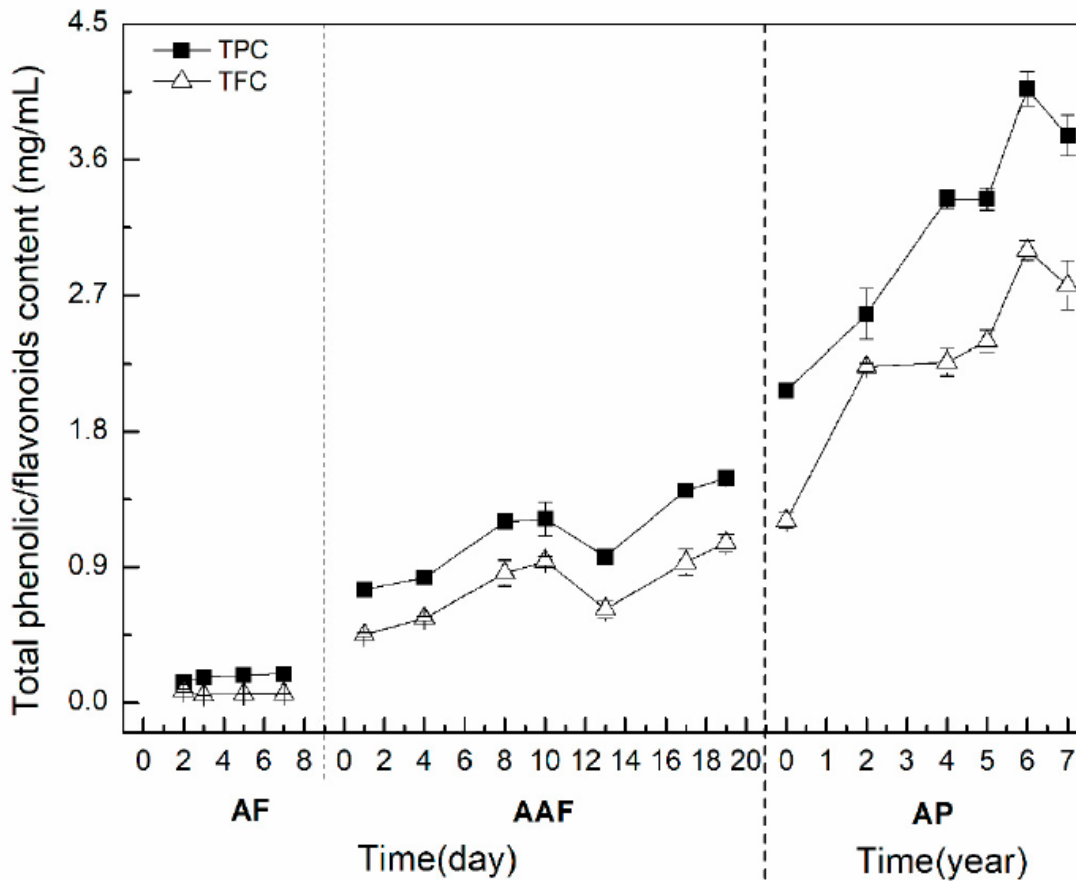


Figure 12: La variation de la teneur en Polyphénols (TPC) et Flavonoïdes (TFC) au cours de processus de la production du vinaigre selon Duan et al., (2019).

2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent un groupe de molécules dont la structure de base possède quinze atomes de carbones formant une structure $C_6-C_3-C_6$, dans laquelle les unités A et B sont de nature phénolique (Figure 13).

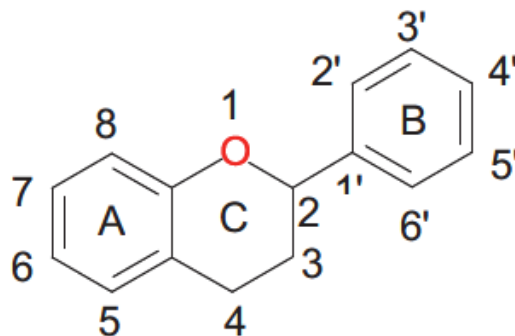


Figure 13: La structure de base de flavonoïdes.

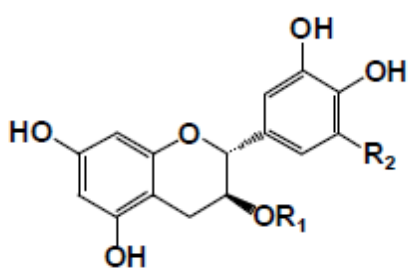
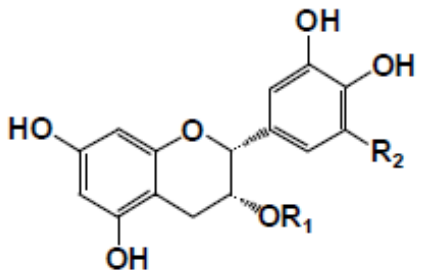
En raison de leur structure de base qui peut établir plusieurs substitutions et hydroxylations, les flavonoïdes se partitionnent en plusieurs groupes dont les principaux sont les anthocyanines, flavan-3-ols, et les flavonols (Tsao, 2010).

Le squelette des flavonoïdes est aglycone. Cependant, dans les matières végétales, la plupart de ces molécules se trouvent souvent sous forme de glycosides, associés aux sucres (glucose, rhamnose, galactose, arabinose, xylose etc.). Ces substances s'accumulent particulièrement au niveau de la pelure des fruits car elles nécessitent la lumière pour leur processus de biosynthèse.

2.2.1. Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols sont appelés catéchines (Tableau 8). Ils constituent un groupe de flavonoïdes les plus complexes. La catéchine est un isomère à configuration *trans* par contre l'épicatéchine a une configuration *cis*. Chacune des deux configurations possède deux stéréoisomères : (+) – catéchine, et (-) – catéchine pour la catéchine ; (+) - épicatechine et (-) – épicatechine pour l'épicatechine (Tableau 7) (Tsao, 2010). Les flavan-3-ols se retrouvent dans un bon nombre de matrices végétales en particulier dans la peau des pommes (Oszmiański et al., 2020), et leur sous-produit, y compris le VCP (Kelebek et al., 2017).

Tableau 8: Les flavan-3-ols

	Les flavanols	R1	R2
	(+)-Catéchine	H	H
	(+)-Catéchine gallate	gallyl	H
	(+)-Gallocatechine	H	OH
	(+)-Gallocatechine gallate	gallyl	OH
	(-)-Epigallocatechine	H	OH
	(-)-Epigallocatechine	gallyl	OH

La catéchine est une substance incolore et sensible à l'oxydation. Elle se trouve le plus souvent sous forme aglycone, mais parfois se trouve sous forme estérifiée avec l'acide gallique (Tsao, 2010). Elle constitue également un bon substrat pour la

polyphénoloxydase (PPO) qui joue un rôle important dans le brunissement du vinaigre en présence d'oxygène en formant des complexes bruns (voir la partie des mélanoidines) (van der Sluis et al., 2002).

La catéchine et l'épicatéchine, sont des flavanols sous forme monomère, pouvant former des polymères, qui sont souvent appelés proanthocyanidines. La polymérisation des polymères de flavanols conduit à la formation des proanthocyanidines en milieu acide par des liaisons interflavoniques fragiles des procyanidines (Renard et al., 2014).

Des liaisons simples qui s'établissent entre C₄-C₆ ou C₄-C₈ donnent naissance à des proanthocyanidines de type B tandis que les procyanidines de type A présentent des liaisons C₂-O-C₇ ou C₂-O-C₅ supplémentaires (figure 14) (Unusan, 2020).

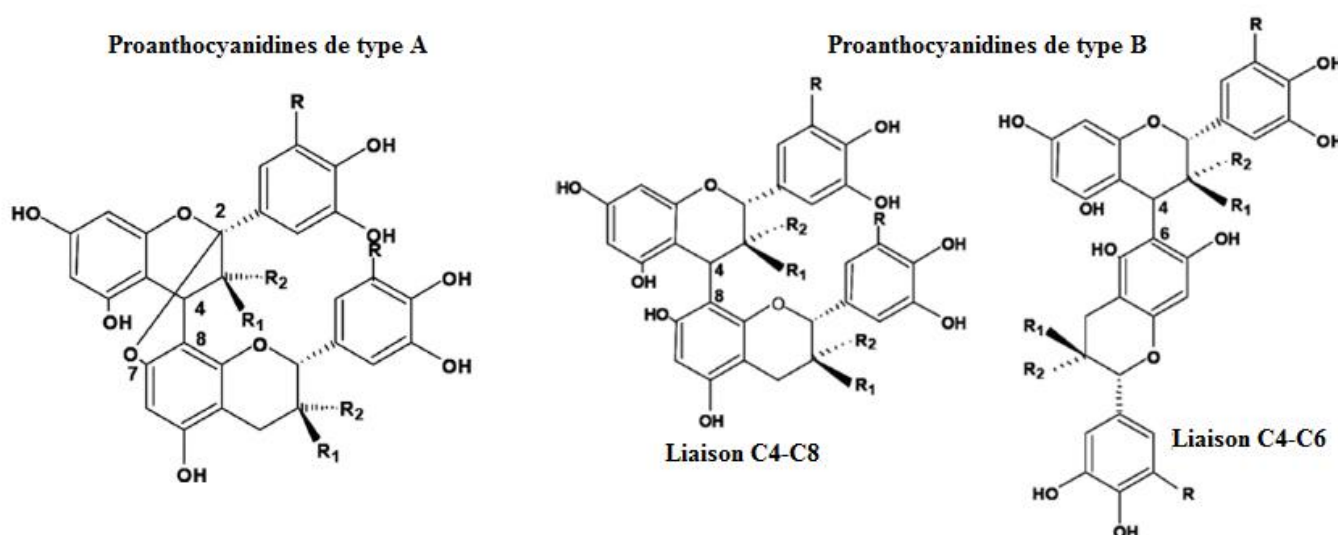


Figure 14: Structures des proanthocyanidines(Unusan, 2020).

Les flavanols se trouvent dans de nombreux fruits, en particulier dans les pommes et le VCP (Kelebek et al., 2017; Rupasinghe et al., 2013; Xia et al., 2020). Parmi les proanthocyanidines, la procyanidine B₂ se trouve à des taux importants dans le vinaigre de pommes (Kelebek et al., 2017). Les propriétés antioxydantes de ces composés ont été particulièrement étudiées. En effet, les proanthocyanidines présentent des effets thérapeutiques contre plusieurs maladies en raison de leurs propriétés redox, leur pouvoir à moduler les voies de signalisation cellulaires en se liant à des protéines cibles qui interviennent dans l'expression de gènes spécifiques via une cascade complexe de signalisation (Unusan, 2020).

2.2.2. Flavonols

Les flavonols constituent un sous-groupe de flavonoïdes présents dans le vinaigre de pommes. Ces composés sont exclusivement accumulés au niveau de la peau des pommes (Wojdylo et al. 2008). Ils sont souvent associés à différentes fractions de sucre comme le glucose, galactose, rhamnose, arabinose, et xylose (Lysiak et al., 2020; Wojdylo et al., 2008).

La phloridzine et la phlorétine ont été considérées comme les flavonols majeurs des vinaigres de pommes analysés. Les taux des deux molécules varient entre 0.59 et 7.86 ; 7.64 et 44.35 mg/L pour la phlorétine et la phloridzine respectivement (Kelebek et al., 2017). D'autres flavonols tels que la quercétine aglycones et ses formes glycosides sont également présents mais à des valeurs inférieures aux taux de la phloridzine et la phlorétine (Kelebek et al., 2017). La phloridzine et la phlorétine auxquelles est lié un glucose par une liaison glycosidique sur la fonction carboxylique C2 du composé A, et ses dérivés ont été signalés comme des molécules à fort potentiel antioxydant et ont une multitude de fonctions bioactives, telles que l'inhibition de l'oxydation lipidique, l'amélioration de la mémoire, et un effet anticancéreux (Jugdé et al., 2008).

II. Mélanoïdines

Les mélanoïdines sont un groupe très diversifié de composés macromoléculaires bruns formés par la réaction de Maillard entre les sucres et les composés azotés (Wang et al., 2011).

Dans le vinaigre, ces composés sont principalement produits au cours de processus de production et de vieillissement. Les sucres réducteurs et les acides aminés produits durant le processus participent à la réaction de Maillard et sont polymérisés pour former des mélanoïdines (Figure15) (Xia et al., 2020). La couleur du vinaigre, due à la présence des mélanoidines, est un paramètre de qualité critique qui influence fortement les préférences des consommateurs (Hough et al., 1992)

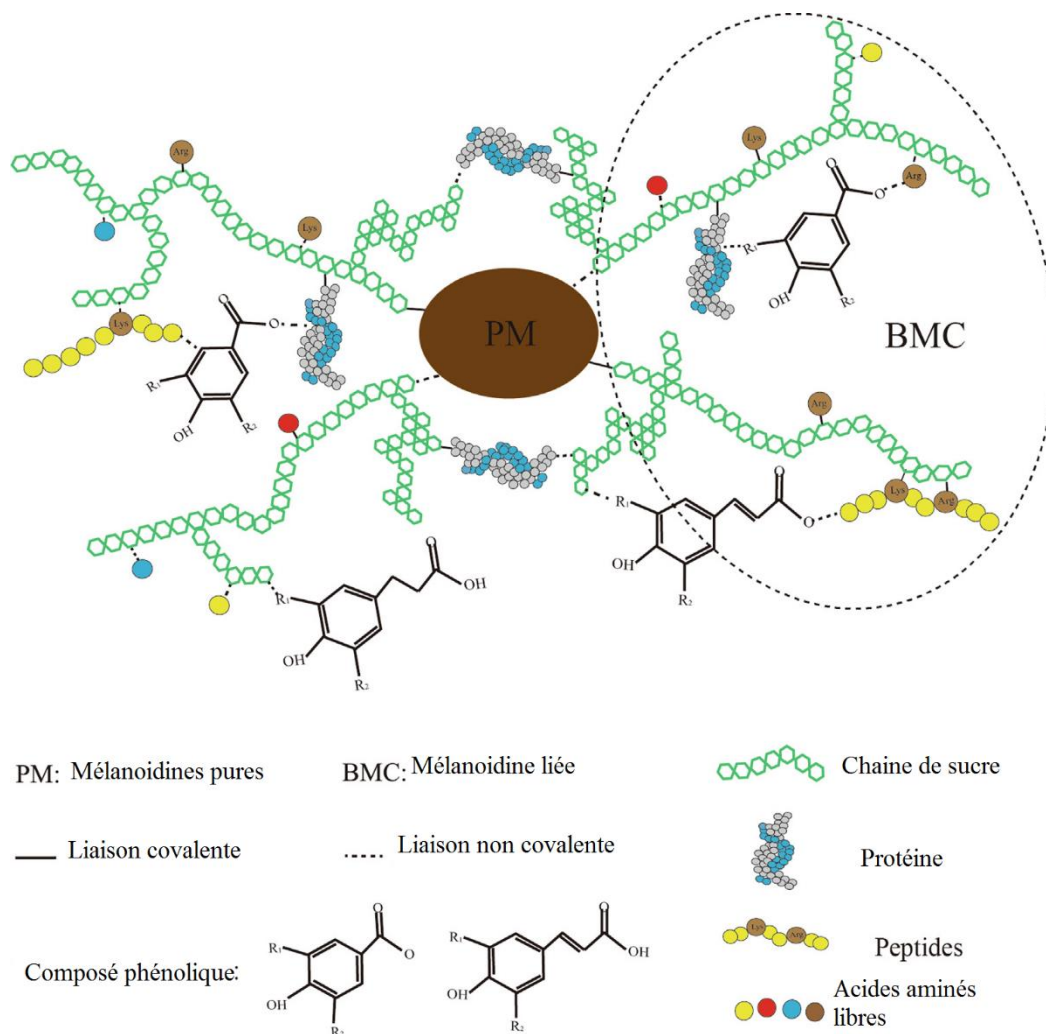


Figure 15: La structure des mélanoidines contenues dans le vinaigre selon *Xia et al., (2020)*.

Cependant, lors du vieillissement du vinaigre, l'eau s'évapore ce qui diminue sa teneur et certains composés phénoliques se libèrent de la matière première entraînant une augmentation de la teneur en polyphénols dans le vinaigre (Tesfaye et al., 2002). Les sucres, les protéines, les acides aminés libres et les composés phénoliques diffusent à partir de la matière première lors de la préparation du vinaigre subissant ainsi une polymérisation par des liaisons non-covalentes et deviennent des composés colorés, principalement les mélanoidines. Les composés générés ont un pouvoir antioxydant remarquable par leur effet chélateur des métaux en prévenant les réactions d'oxydo-réduction des ions métalliques (Tagliazucchi et al., 2010; Tagliazucchi and Verzelloni, 2014)

Les mélanoidines sont présentes dans plusieurs aliments traités et sont répandues dans notre diète. Récemment, elles gagnent un grand intérêt du aux effets biologiques qu'elles procurent. La fermentation de ces composés au niveau des intestins sous l'action du microbiote intestinal induit la production des acides gras à chaîne courte (AGCC) qui diminuent le pH luminal ce qui peut entraver la multiplication et la croissance des bactéries pathogènes. Le butyrate, l'un de ces acides gras à chaîne courte, constitue un substrat utilisé par les cellules épithéliales. L'acétate, le propionate et le butyrate sont les principaux AGCCs importants pour le maintien de la barrière intestinale (Ríos-Covián et al., 2016).

En outre, les AGCCs ont un rôle protecteur contre l'obésité (Lin et al., 2012), en interagissant avec les hormones intestinales afin de réduire l'apport alimentaire (Ríos-Covián et al., 2016). Ils pourraient également prévenir le cancer colorectal en réduisant l'inflammation et en augmentant l'apoptose cellulaire (Donohoe et al., 2014)

III. Tétraméthylpyrazine

La tétraméthylpyrazine nommée également ligustrazine, est un produit issu de la réaction de Maillard et de la fermentation microbienne (Xia et al., 2020). La concentration en tétraméthylpyrazine est un indicateur actif de la qualité du vinaigre (Wu et al., 2019).

La ligustrazine est un composé bioactif qui est traditionnellement utilisé en médecine chinoise pour le traitement de plusieurs maladies telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, le cancer, et le désordre hépatique (Zhao et al., 2016).

Des études ont analysé la variation de la teneur de la tétraméthylpyrazine durant le processus de la préparation du vinaigre. Xu et al., (2011), ont rapporté que la quantité de la tétraméthylpyrazine augmente durant le temps de stockage et que l'étape de la fermentation est considérée comme une phase d'accumulation des précurseurs nécessaires aux réactions de la biosynthèse de la ligustrazine (Figure 16). La tétraméthylpyrazine dans le vinaigre de cidre est estimée à 0.113 ± 0.001 mg/kg (Chen et al., 2010).

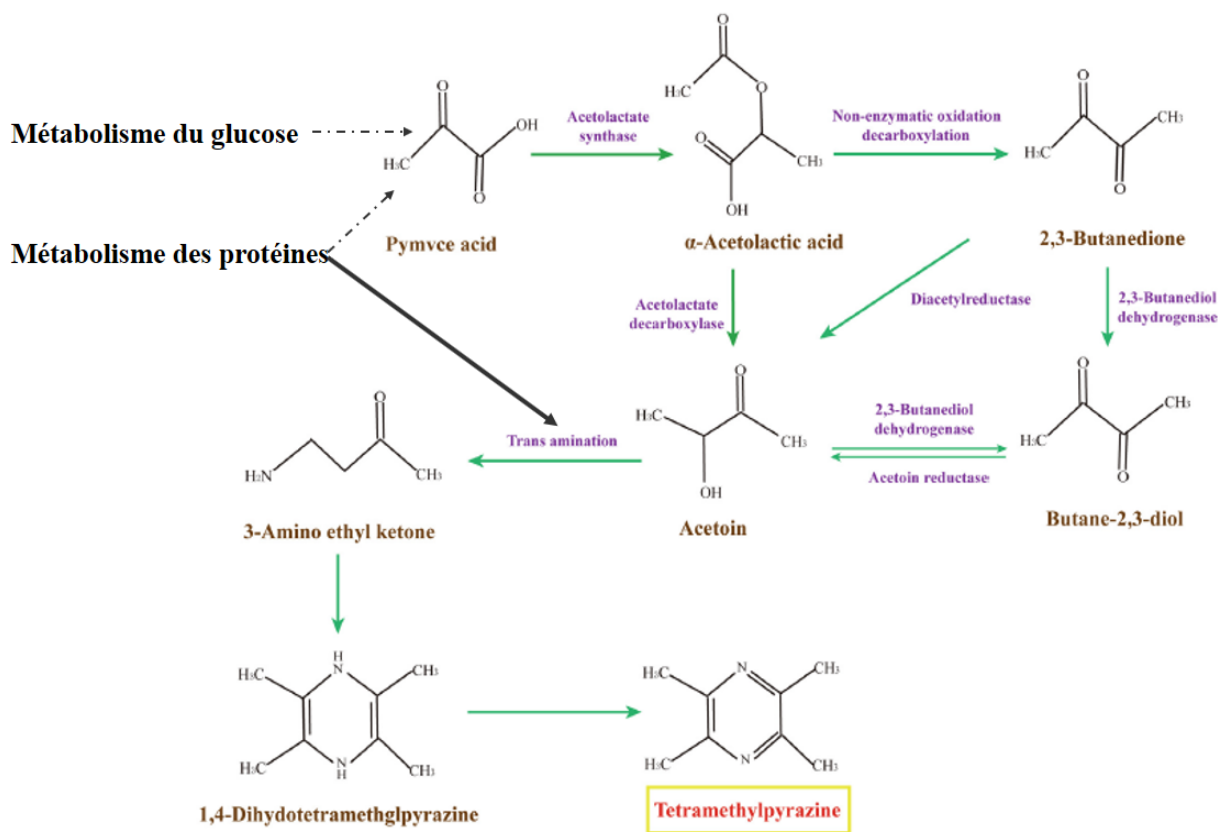


Figure 16: La voie de biosynthèse de la tétraméthylpyrazine (Xia et al., 2020)

IV. Acides organiques

Les acides organiques présents dans le VCP comprennent deux groupes : les acides organiques volatiles (l'acide acétique, l'acide formique, l'acide propionique, l'acide butyrique, et l'acide quinique) et les acides organiques non volatiles (l'acide malique, l'acide pyroglutamique, l'acide citrique et l'acide succinique) (Liu et al., 2019a; Ren et al., 2017).

Bien que le VCP contient de nombreux composants qui lui confère ses propriétés biologiques, l'acidité est l'un des paramètres clés pour surveiller et évaluer la qualité du produit, cette acidité doit être entre 5 et 6 degré (Décret n°2-10-385, 2011). Les acides organiques du VCP prennent naissance au cours de la fermentation où ils sont présents naturellement dans la matière première à savoir les pommes. L'acide acétique et l'acide lactique sont des acides prédominants dans le vinaigre, ils sont produits durant la fermentation acétique et la fermentation alcoolique respectivement (Nie et al., 2017; Ren et al., 2017).

L'acide acétique est l'acide le plus abondant avec une proportion de 92.64 à 93.22% suivi de l'acide succinique avec un pourcentage de 3.92 à 6.34%, alors que, l'acide oxalique, l'acide malique sont présents à des quantités faibles (Gao et al., 2017).

Duan et al., (2019), ont étudié le changement de la teneur des acides organiques du vinaigre durant le processus de brassage (fermentation alcoolique et acétique). Ils ont montré qu'au cours de la fermentation alcoolique, la teneur en acides organiques était faible et montrait une augmentation progressive qui s'est maintenue durant la deuxième phase (fermentation acétique) (figure 17). Ces acides présents dans le vinaigre ont des effets biologiques importants (voir la partie des propriétés pharmacologiques), ils inhibent la croissance bactérienne (Zhang et al., 2011) :

- Ils détruisent la membrane externe des bactéries.
- Ils consomment l'énergie des bactéries.
- Ils augmentent la pression osmotique intracellulaire.
- Ils stimulent la production des peptides antibactériens dans les cellules hôtes

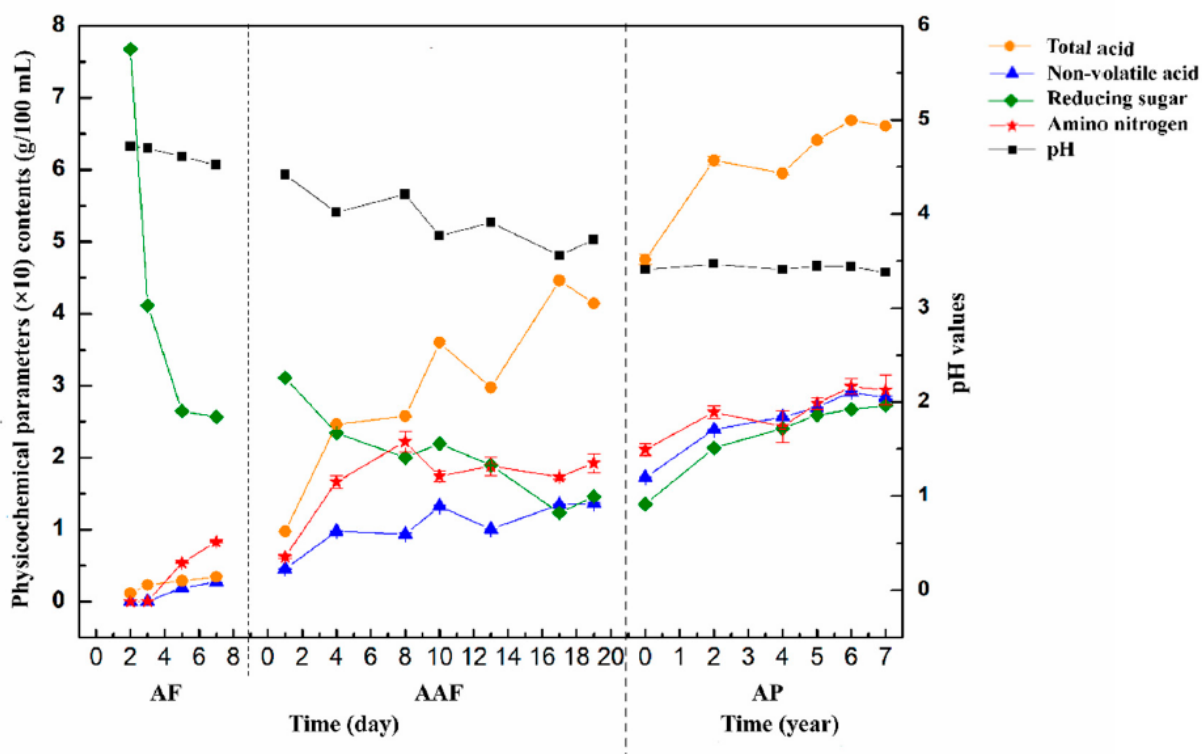


Figure 17: Changement des paramètres physicochimiques pendant le processus de brassage du vinaigre (AF : fermentation alcoolique ; AAF : fermentation acétique ; AP : processus de vieillissement (Duan et al., 2019).

Chapitre 3 : Effets pharmacologiques du VCP

Plusieurs civilisations avaient utilisé le vinaigre comme un aromatisant, conservateur, boisson saine et remède naturel contre plusieurs affections.

1. Diabète de type 2 et stress oxydatif

Le désordre métabolique se manifeste par une hyperglycémie anormale et persistante en raison d'une altération de la fonction des cellules pancréatiques ou d'une résistance à l'insuline. Généralement, le diabète est classé en deux grands types : le diabète insulino-dépendant ou diabète de type 1 et le diabète non insulino-dépendant ou diabète de type 2. Le diabète affecte plus de 463 millions de personnes représentant 8.8% de la population mondiale. Le diabète de type 2 est la forme la plus fréquente représentant plus de 90% de tous les cas déclarés (IDF, 2019). Le diabète de type 2 est caractérisé par l'incapacité des cellules pancréatiques à produire suffisamment d'insuline pour maintenir le contrôle glycémique en raison de la demande accrue d'insuline causée par l'insulinorésistance. Le dysfonctionnement et la différenciation cellulaires, et la réduction de la masse des îlots pancréatiques sont également suggérés comme étant un événement crucial dans le développement de la pathologie (Hudish et al., 2019). Les cellules pancréatiques sont particulièrement sensibles de la forte production des espèces réactives d'oxygène (ERO) y compris le système antioxydant de défense faible ce qui peut expliquer la défaillance cellulaire au niveau du pancréas (Gurgul-Convey et al., 2016). L'hyperglycémie, l'hyperlipidémie, et l'inflammation sont considérés comme des facteurs clés produisant les espèces réactives d'oxygène au niveau des cellules β pancréatiques. Le processus de production des ERO s'accompagne d'influx de calcium après la stimulation du glucose pour activer le canal RyR (Llanos et al., 2015). L'activation du canal RyR assure l'augmentation du calcium intracellulaire nécessaire à la sécrétion d'insuline (Llanos et al., 2015). Cependant, l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie augmentent les niveaux de nicotinamide adénine di nucléotide et de flavine adénine di nucléotide ce qui entraîne une augmentation de la production des ERO (Sakai et al., 2003). L'hyperglycémie chronique active plusieurs voies jouant un rôle important dans le processus de la glucotoxicité comme la voie des polyols, la voie des hexosamines, la voie de la protéine kinase C (PKC), et la voie des

produits avancés de glycation (Boyer, 2016). Le stress oxydatif est le carrefour de l'avènement de plusieurs pathologies chroniques.

2. Effet antioxydant du VCP

Le VCP est un produit fermenté, principalement à partir de pomme, il contient un cocktail d'antioxydants naturels soit dérivés de la matière première ou nouvellement formés durant le processus de brassage. Ces molécules ont la capacité d'interagir contre le stress oxydatif. Cette propriété confère au VCP des effets préventifs et thérapeutiques importants.

D'une part, les polyphénols présents dans le vinaigre ont un potentiel antioxydant intéressant dû à leur pouvoir de piéger les radicaux libres, chélater les ions métaux de transition et de réduire les oxydants (Bakir et al., 2016; Kelebek et al., 2017). Tant que, les molécules aromatiques, la présence des groupes $-CH_2COOH$ et $-CH=CHCOOH$ favorisent les activités antioxydantes des composés phénoliques en présence d'autres substituants sur le cycle benzénique. Ceci est dû à la capacité de donation d'électrons des groupes fonctionnels (Chen et al., 2020).

D'autre part, les mélanoidines font partie des composés bioactifs du vinaigre. En raison de leur charge négative et leurs propriétés macromoléculaires ont une forte capacité de chélation des ions métaux de transition en prévenant les réactions d'oxydation induites par les métaux. En outre, ils contiennent un grand système de liaisons π conjugué et d'abondantes structures de cétone de réduction ce qui leurs confère une bonne capacité d'élimination des radicaux libres et un pouvoir réducteur important (Wang et al., 2011).

De même, la tétraméthylpyrazine possède un effet antioxydant en stabilisant les niveaux des espèces réactives d'oxygène et en augmentant les niveaux d'enzymes antioxydantes, superoxyde dismutase et catalase (Chen et al., 2017).

3. Effet antidiabétique du VCP

Le diabète entraîne plusieurs complications telles que les maladies vasculaires périphériques, l'hypertension, la rétinopathie, la néphropathie, et la neuropathie (Jie Chee et al., 2020)

Un bon régime alimentaire constitue un facteur clé dans le maintien d'une bonne santé physique et morale, par son effet protecteur et/ou curatif contre plusieurs pathologies (Adedapo and Ogunmiluyi, 2020; Schuetz and Stanga, 2020).

Les produits naturels, ayant un effet puissant sur les enzymes digestives, constituent une approche pour diminuer le taux du glucose sanguin et l'installation ultérieure du diabète. Le VCP affecte le métabolisme des glucides qui peut être en partie dû à la stimulation de l'absorption du glucose et l'amélioration de l'action de l'insuline au niveau du muscle squelettique (Mitrou et al., 2015).

L'acide acétique qui est le composant majeur du vinaigre contrôle la glycémie par différentes voies (Petsiou et al., 2014) :

- Retarder la vidange gastrique
- Inhiber l'activité de la disaccharidase
- Améliorer la sensibilité à l'insuline
- Stimuler la production du glycogène

La régulation de la glycémie par l'acide acétique est principalement réalisée par l'activation de la voie de la protéine kinase activée par l'adénosine monophosphate (AMPK). La production de l'acétyl coenzyme A à partir de l'acide acétique consomme de l'énergie (ATP) et génère l'adénosine monophosphate (AMP), ce qui augmente le rapport AMP/ATP et par conséquent l'activation la voie AMP-activated protein kinase (AMPK). L'activation de la voie AMPK stimule le stockage du glucose sous forme de glycogène, réduit la glycémie, augmente la sensibilité à l'insuline et diminue la résistance à l'insuline en inhibant directement l'expression génétique des enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose et des lipides (Figure 18) (Sakakibara et al., 2006).

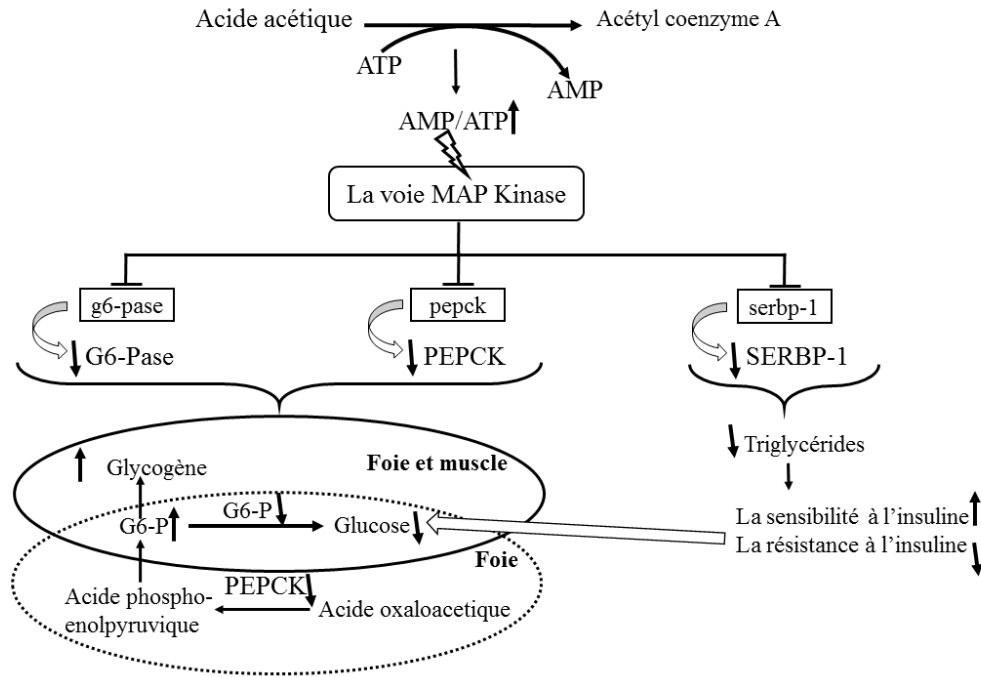


Figure 18: Mécanisme d'action du contrôle de la glycémie par l'acide acétique (Sakakibara et al., 2006).

4. Effet anti-obésité du VCP

L'obésité est considérée comme un trouble métabolique important qui se manifeste par la réduction de la sensibilité à l'insuline et des anomalies du métabolisme lipidique, tant chez les modèles animaux que chez les êtres humains (Marinou et al., 2010).

Les effets bénéfiques de plusieurs produits naturels contre l'obésité et ses complications ont été investigués par l'adoption des modèles animaux. Ces investigations fournissent des informations qui permettent de déterminer les différentes stratégies pour prévenir et traiter l'obésité par des méthodes alternatives telles que l'utilisation des remèdes naturels (Hasani-Ranjbar et al., 2013).

Le cocktail de composés bioactifs présents dans le VCP est responsable de ses effets thérapeutiques, puisqu'il contient des polyphénols et des acides organiques qui ont des effets bénéfiques sur la santé humaine (Bakir et al., 2016; Xia et al., 2020).

La consommation du vinaigre des fruits réduit à long terme les taux de cholestérol total, de triglycérides et de cholestérol à lipoprotéines de basse densité (LDL) par contre il augmente le taux de cholestérol à lipoprotéines de haute densité

(HDL) (A. Bouazza et al., 2016a; Budak et al., 2011; Halima et al., 2016; Nazırođlu et al., 2014a). Le composé majoritaire du VCP, l'acide acétique, joue également un rôle important dans la régulation du métabolisme lipidique via la voie AMPK (figure 19). L'activation de cette voie induit la réduction du cholestérol, des triglycérides, et du LDL par la régulation de l'expression génétique du gène *srebp-1*, ainsi que, l'inhibition de l'expression d'une série de gènes responsables de la synthèse des acides gras (Figure 19) (Sakakibara et al., 2006; Yamashita et al., 2009). En outre, l'acide acétique stimule l'oxydation des acides gras et la sécrétion de la bile (Fushimi et al., 2006).

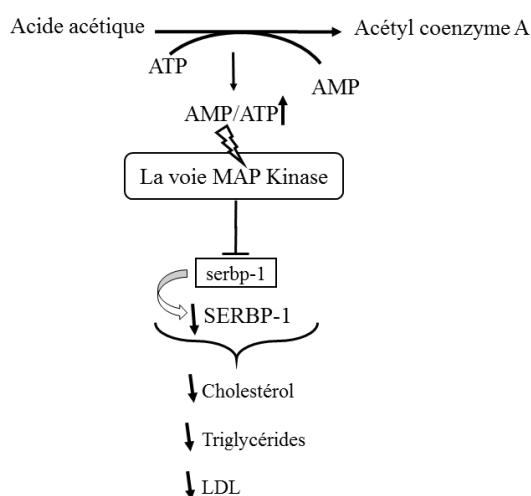


Figure 19: Mécanisme de contrôle de la synthèse des lipides par l'acide acétique via l'activation de la voie AMPK (Sakakibara et al., 2006)

5. Effet antibactérien du VCP

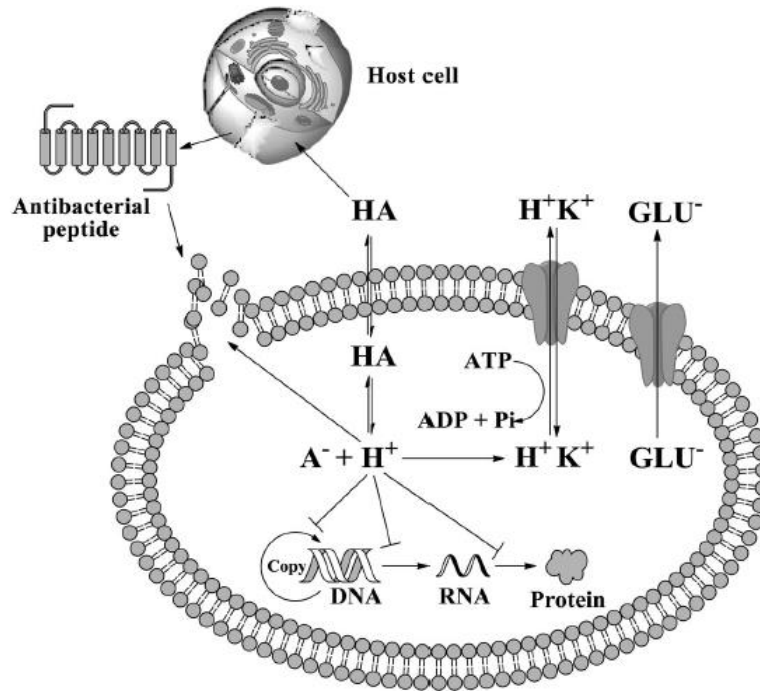
Le recours aux ressources naturelles pour surmonter le défi de l'antibio-résistance constitue une voie incontournable au cours de ces dernières années. Certes, un nombre considérable de produits naturels ont été sujet de plusieurs études pour tester leurs propriétés antimicrobiennes. Le VCP était souvent un candidat utilisé dans le traitement des infections microbiennes (Chen et al., 2016a). Plusieurs chercheurs ont montré que le VCP possède une importante activité antimicrobienne, ils mirent également en évidence qu'il agit contre plusieurs germes pathogènes (Chang and Fang, 2007; El-Sayed et al., 2019; Hindi, 2013; Hindi et al., 2014; Medina et al., 2007).

Ce pouvoir antimicrobien est étroitement lié à la teneur en acides organiques présents dans le vinaigre. Les acides organiques inhibent la croissance microbienne par plusieurs mécanismes (figure 20) (Chen et al., 2016) :

- Destruction de la membrane externe des bactéries ;
- Inhibition de la synthèse macromoléculaire ;
- Consommation de l'énergie des bactéries ;
- Changement de la pression osmotique intracellulaire ;
- Génération des peptides antibactériens dans la cellule hôte.

Les acides organiques passent facilement à travers la membrane cellulaire grâce à leurs propriétés liposolubles. La dissociation de ces acides à l'intérieur de la cellule va contribuer à abaisser le pH intracellulaire ce qui entraîne la protonation des groupes carboxyles et phosphate de la membrane cellulaire bactérienne (figure 20) (Alakomi et al., 2000; Brul and Coote, 1999; Hirshfield et al., 2003). En outre, la diminution du pH intracellulaire affecte les activités enzymatiques et par conséquent l'inhibition de la transcription du matériel génétique bactérien (Cherrington et al., 1991).

L'instauration de la pression osmotique nécessite l'expulsion des protons H^+ à l'extérieur de la cellule via un transport actif par l'activation des pompes à proton qui procure l'énergie et affecte la croissance bactérienne (Axe and Bailey, 1995; Zhang et al., 2011).



**ATP: Adenosine triphosphate, ADP: Adenosine diphosphate,
Pi: Dihydrogen phosphate, GLU^- : Glutamic acid ions**

Figure 20: Mécanisme d'action des acides organiques sur les bactéries (Zhang et al 2011).

Partie II : Étude expérimentale

Chapitre 1 : Étude ethnopharmacologique et
intérêt économique du vinaigre de cidre de
pomme.

I. Introduction

Les produits naturels occupent une place importante depuis longtemps dans la médecine traditionnelle comme un remède et une source principale de soins. Les pommes et leurs dérivés constituent une source importante en molécules bioactives qui sont souvent consommés quotidiennement par la population Marocaine (Ousaaid et al., 2021, 2020b, 2020a).

Dans la littérature, le vinaigre de cidre de pomme, est l'un des sous-produits de la pomme, utilisé traditionnellement pour assaisonner les repas. Il a été utilisé comme condiment ou comme boisson saine (Mazza and Murooka, 2009; Solieri and Giudici, 2009). Le vinaigre de cidre de pomme a montré des effets thérapeutiques énormes, notamment le pouvoir antidiabétique (Öztürk et al., 2009; Petsiou et al., 2014), l'activité antihyperlipidique (A. Bouazza et al., 2016a; Halima et al., 2016), l'activité antiinflammatoire (Chen et al., 2016a), et l'activité antibactérienne (D. N. K. Hindi, 2013; Ousaaid et al., 2021; Ozturk et al., 2015a).

Afin d'augmenter l'impact positif de la transformation de la pomme, plusieurs facteurs clés doivent être pris en compte pour promouvoir les produits dérivés de la pomme, notamment la diversification, la professionnalisation, la croissance du marché et la coordination. Au niveau de deux régions au Maroc, Fès-Meknès et Deraa-Tafilalet, les coopératives veillent à promouvoir la filière des coproduits de la pomme en permettant la réduction de la détérioration des fruits lors de leur conservation, la valorisation des fruits à faible coût, la préservation de savoir-faire ancestral d'élaboration des produits locaux, ce qui contribue au développement territorial dans certaines zones défavorisées (Ousaaid et al., 2020a). L'objectif de ce travail était de réaliser une enquête dans les deux régions, Fès-Meknès et Deraa-Tafilalet, afin d'évaluer, d'une part, l'évolution de la production du VCP au niveau des deux régions, et d'autre part, pour recueillir des informations sur les utilisations traditionnelles du vinaigre de cidre de pomme par la population dans les deux régions.

II. Matériel et méthodes

La région Deraa-Tafilalet sise au Sud-Est du Maroc, elle est limitée par quatre autres régions (30°54' N, 5° 36' O) (Figure 21). Cette région est dominée par les zones oasiennes à 88%, intégrant cinq provinces Ouarzazat, Zagora, Tinghir, Errachidia, et Midelt. Cette dernière province est connue pour sa pomiculture qui occupe 39% des

superficiés cultivées au niveau national avec 60% de la production nationale de pommes (Ousaaid et al., 2020e; SIAM, 2019).

La région de Fès-Meknès est située au Nord de celle de Deraa-Tafilalet (34°02'00' N, 500'00' O) (Figure 21). Les provinces de Sefrou et Boulmane sont également connues pour leur culture de la pomme qui constitue la principale raison pour la création de nombreuses coopératives de transformation des pommes au niveau de cette région.

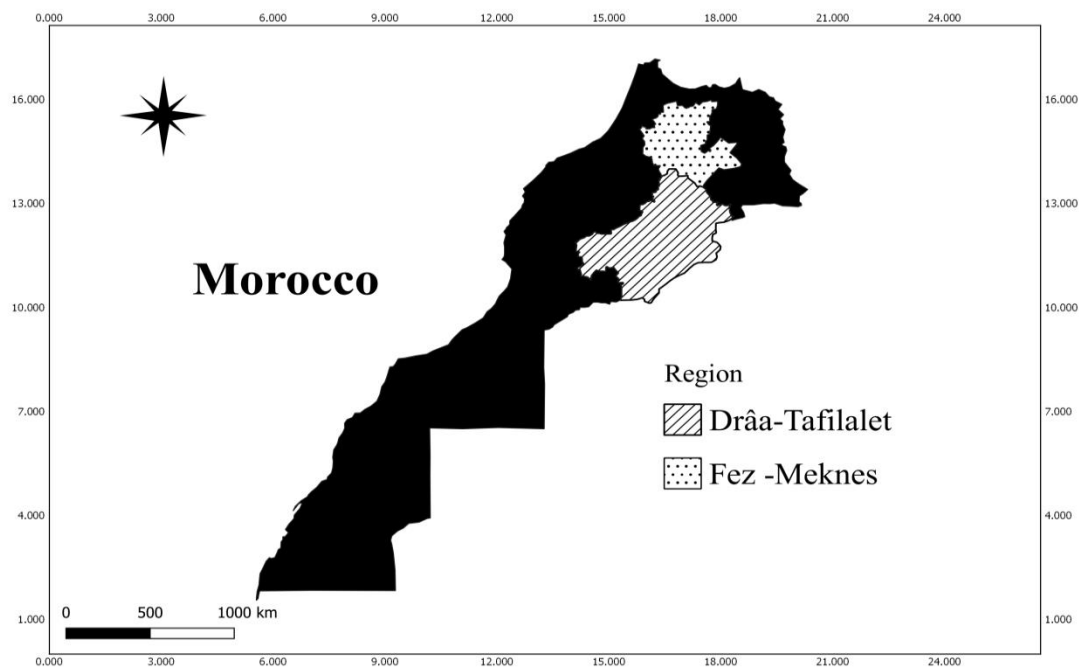


Figure 21: Localisation géographique des deux régions d'étude

Cette étude se divise en deux parties :

La première vise à connaître l'état de la production du VCP au niveau des deux régions d'étude, à cet effet, nous avons interrogé les présidents des coopératives, 6 coopératives à Fès-Meknès et 9 à Deraa-Tafilalet. Dans un deuxième temps, un questionnaire a été distribué à la population des deux régions. Au total 200 personnes ont participé à l'enquête. Le questionnaire a porté essentiellement sur :

- ƒ Des informations sur la personne interrogée : le sexe, le niveau d'étude, la tranche d'âge.
- ƒ Des informations sur les utilisations du VCP.
- ƒ Des informations sur le degré de satisfaction de l'utilisation du VCP.

III. Résultats et discussion

L'étude ethnopharmacologique constitue l'une des voies qui nous a permis de recenser les différentes utilisations du VCP et de constituer une base de données des vertus thérapeutiques du vinaigre de cidre de pomme afin de conserver et de garder le savoir ancestral dans le but de le transmettre d'une génération à l'autre.

1. Évolution de la production du VCP.

Au cours des dernières années le secteur coopératif booste la production du vinaigre à base des pommes grâce au plan stratégique du Maroc vert, la figure 22 représente l'évolution de la production du vinaigre de cidre de pomme au niveau de deux régions (la région Deraa-Tafilalet et la région Fès-Meknès) à vocation pomiculture par excellence par les différentes coopératives autorisées à produire le vinaigre des pommes. La première coopérative commençait ses activités dès 2008 et suivie par d'autres en enrichissant le marché national et les salons d'exposition par des produits locaux purement originaux. La production du VCP commençait par 0.4 tonne en 2008 pour atteindre une production de l'ordre de 56.4 tonnes en 2019. La production de VCP connaît une légère diminution durant l'année 2020 à cause de l'épidémie de coronavirus.

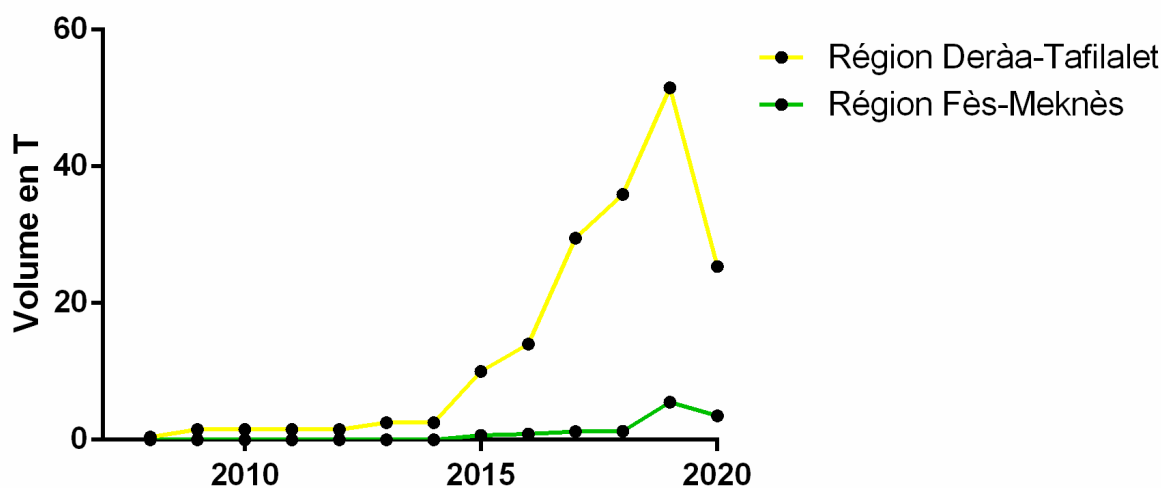


Figure 22: Évolution de la production du vinaigre de pomme par les coopératives locales

2. Importance économique

Au Maroc, la production de pomme s'élève aux alentours d'un million de tonnes et les pommes constituent un élément important dans l'alimentation humaine qui

fournissent divers composés biologiquement actifs. Ils se consomment sous différentes formes (fraîches ou transformées). Le vinaigre de cidre de pomme constitue un moyen important de valorisation des cultures fruitières dans les régions à vocation pomiculture. La transformation des pommes en VCP génère une valeur commerciale de l'ordre de 4512000DH (en multipliant le prix unitaire de chaque litre de VCP (80DH) par la quantité produite annuellement (56,4 tonnes)).

3. Étude ethnopharmacologique : Description de la population

Au total, 200 personnes des deux régions d'études (Deraa- Tafilalet et Fès-Meknès) ont été ciblées par l'étude ethnopharmacologique. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 23. Les utilisateurs du VCP représentent une proportion de 68% des personnes interrogées tandis que les non utilisateurs du VCP représentent une proportion de 32% des sujets interrogés.

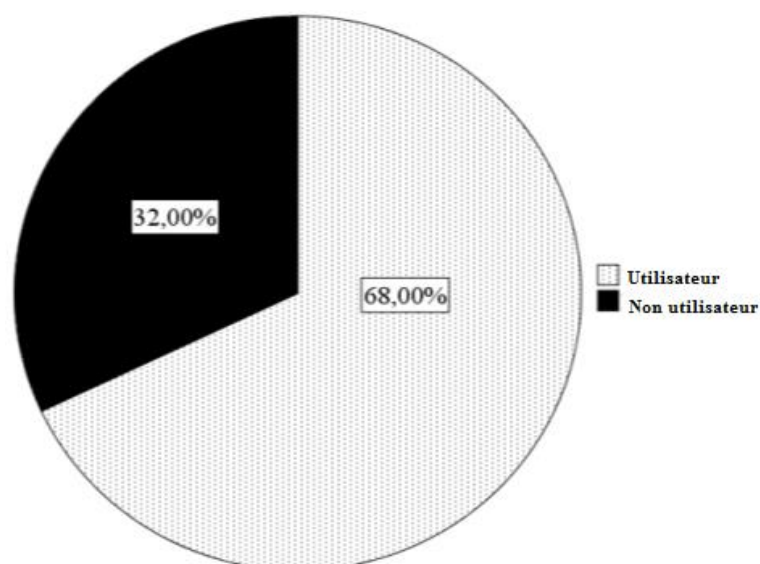


Figure 23: Distribution des utilisateurs et des non utilisateurs de vinaigre de pomme

Les résultats obtenus ont révélé que 62% des personnes interrogées qui utilisent le vinaigre étaient des femmes, alors que les hommes représentaient 38% (Figure 24). En ce qui concerne la tranche d'âge, les personnes âgées entre 20 et 30 ans représentaient une proportion de 75% des utilisateurs du VCP, alors que les personnes âgées de moins de 20 ans et plus de 30 ans représentaient 7% et 18% respectivement. L'utilisation du vinaigre de pomme selon le niveau d'instruction nous a révélé que 82% des personnes interrogées ont un niveau d'étude universitaire, alors que les personnes

qui ont un niveau secondaire, analphabète, et primaire représentaient 8%, 6%, et 4% respectivement (Figure 24).

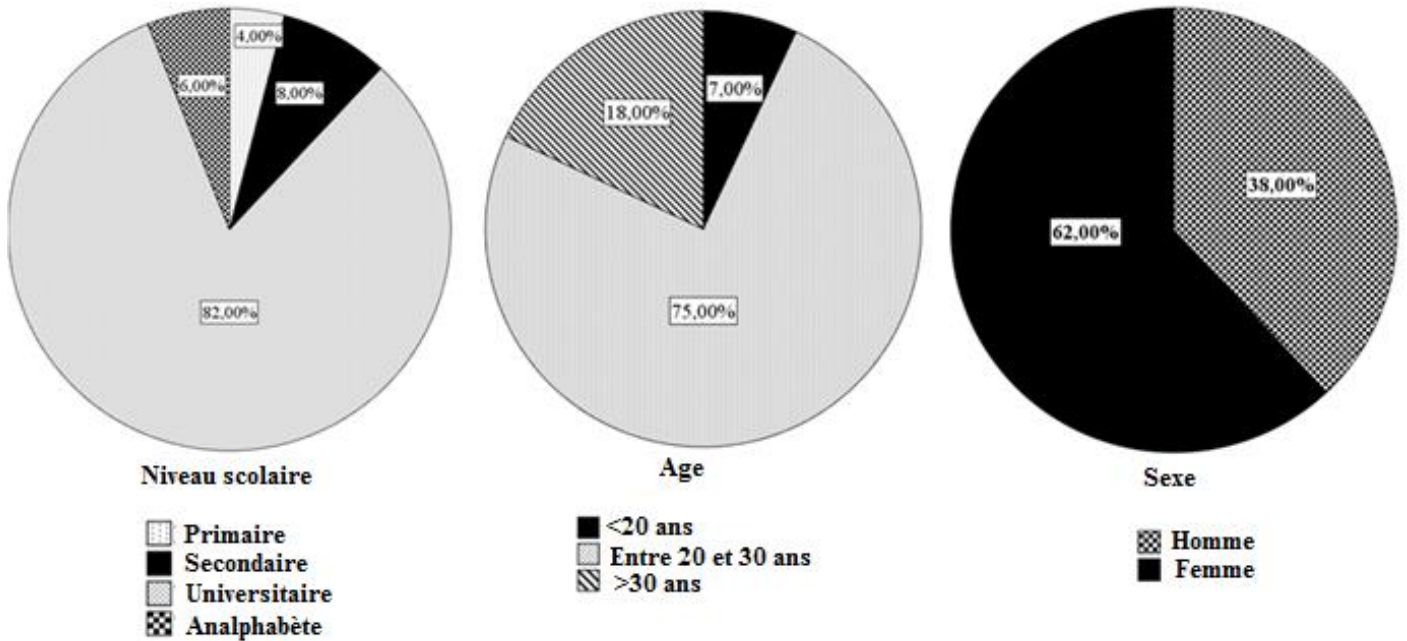


Figure 24: Description de la population interrogée de la région de Deraa-Tafilalet et Fès-Meknès.

4. Domaine d'utilisation du vinaigre de cidre de pomme.

Les usages du VCP dans la médecine traditionnelle sont très diversifiés. Cette partie de l'enquête est consacrée à recenser les différentes utilisations de ce produit naturel. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 25.

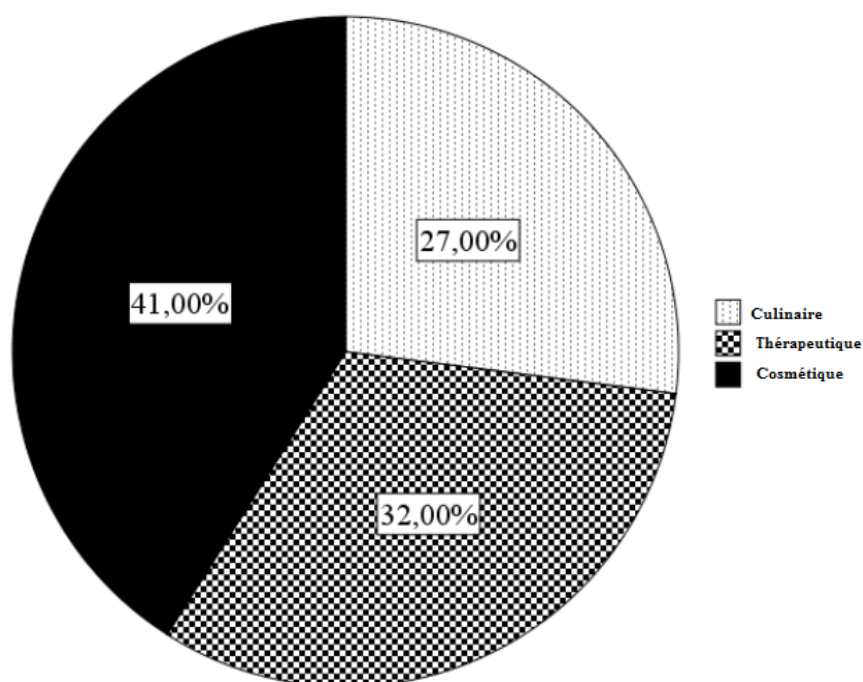


Figure 25: Distribution des différentes utilisations du VCP.

Les résultats montrent que 41% des personnes interrogées utilisent le VCP dans le domaine du cosmétique. 32% de la population d'étude l'utilise pour traiter les différentes affections, alors que 27 % l'utilise dans la cuisine (Figure 25). Le vinaigre de cidre de pomme est utilisé comme condiment et considéré comme une nécessité pour chaque foyer (Berry, 2011). Utilisé dans la conservation, le VCP maintient la qualité et la couleur des aliments (Ho et al., 2017; Öztürk et al., 2009). D'autre part, le vinaigre de pomme a une large gamme d'utilisations comme l'activité antioxydante, antimélatogène, anticellulite, séborégulatrice, et antiinflammatoire ce qui lui confère ses propriétés pour les soins de la peau (CUETO and CASTAÑEDA, 2019; KALABA et al., 2019).

5. Utilisations médicinales du VCP

Le vinaigre de cidre de pomme a pu avoir une place considérable dans la médecine traditionnelle. Il a été utilisé par plusieurs civilisations pour traiter plusieurs affections. Les résultats obtenus sur les différentes utilisations médicinales du VCP sont représentés dans la figure 26.

Le VCP est largement utilisé pour traiter et/ou prévenir plusieurs maladies. 42% des personnes interrogées utilisent le vinaigre pour traiter les problèmes liés au système

digestif. Le système tégumentaire a été placé au deuxième rang des affections traitées par le vinaigre de pomme avec une proportion de 33 % des personnes interrogées. Le système cardiovasculaire, le système respiratoire, le système génito-urinaire, et le système neuro-psychique ne représentaient que 8%, 6%, 6%, et 5% respectivement.

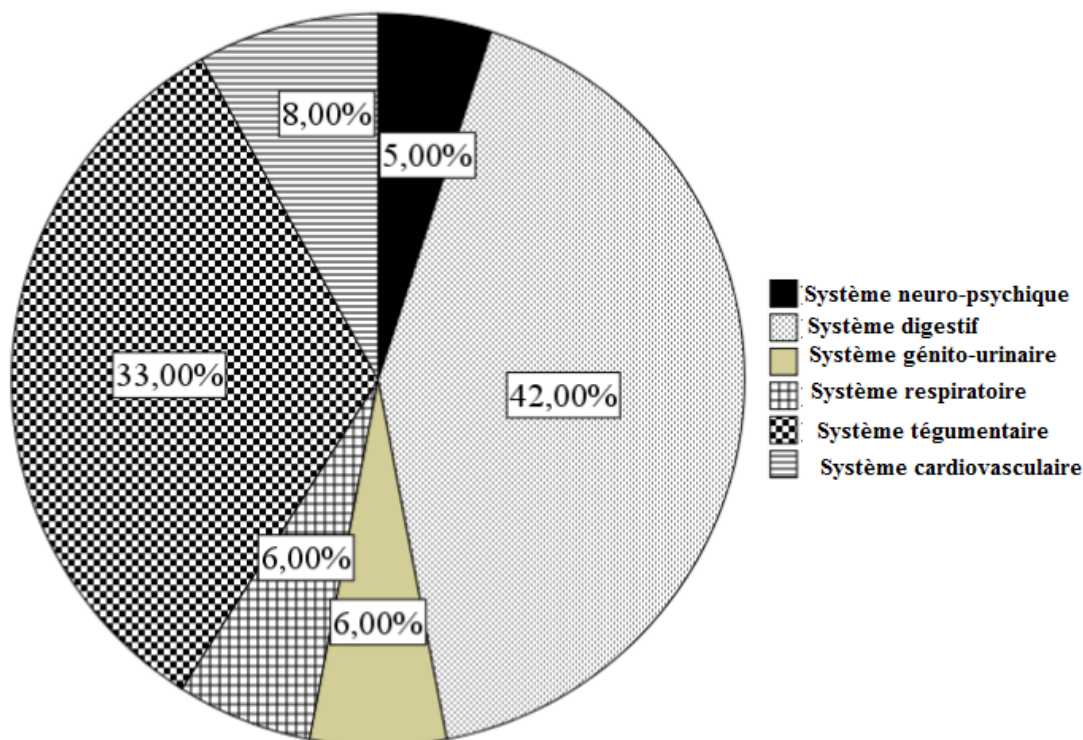


Figure 26: Les différentes utilisations médicinales du VCP

De nombreuses propriétés curatives du VCP ont été prouvées scientifiquement, comme l'effet antidiabétique (Ousaid et al., 2020; Rachmansyah et al., 2020; Thinathayalan et al., 2019), l'activité antioxydante (Ozturk et al., 2015; Öztürk et al., 2009), l'effet antibactérien (Ousaid et al., 2021; Ozturk et al., 2015), l'effet antialzheimer (Tripathi et al., 2020; Tripathi and Mazumder, 2020), et antilithiasique (Singh et al. 2020).

6. Durée de traitement par le vinaigre de cidre pomme

La durée de traitement varie selon le type de la maladie traitée par le vinaigre. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 27.

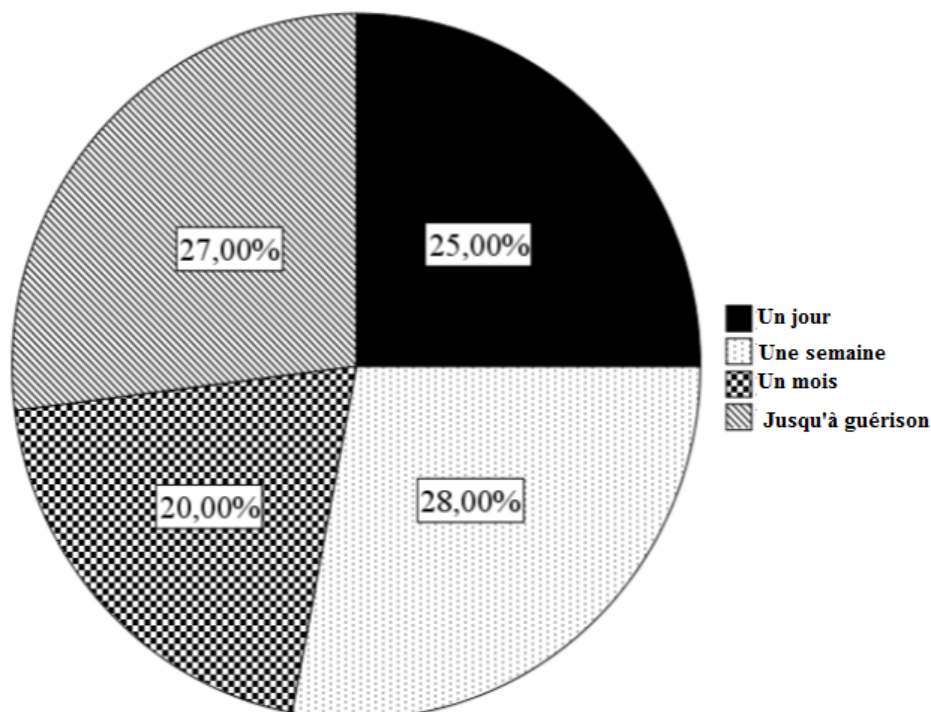


Figure 27: La durée de traitement par le vinaigre de pomme

La durée de traitement est étroitement liée à la nature du désordre traité. 28% des personnes interrogées ont utilisé le vinaigre de pomme pendant une semaine et 27% de la population interrogée ont évoqué que le traitement par le vinaigre s'étale jusqu'à la guérison. Cependant, 25% et 20 % des personnes interrogées ont utilisé le vinaigre pendant un jour et un mois respectivement.

7. Degré de satisfaction

Dans le cadre de la présente étude, nous avons enquêté sur le degré de satisfaction de la population, les résultats obtenus sont présentés dans la figure 28.

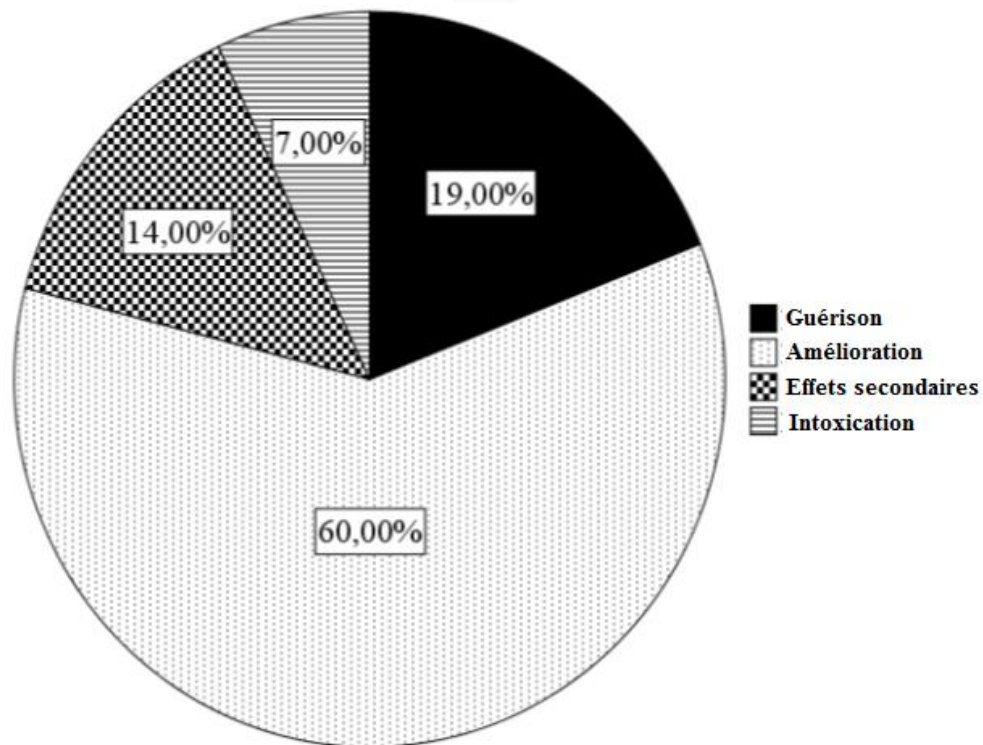


Figure 28: Le degré de satisfaction de la population d'étude.

La majorité des personnes interrogées a signalé que l'utilisation du vinaigre de pomme améliore l'état de la santé avec une proportion de 60 %, alors que 19 % de la population interrogée a déclaré que le VCP traite définitivement la maladie. Cependant, 14 % ont remarqué que l'utilisation du vinaigre s'accompagne d'effets secondaires et 7 % ont subi des intoxications. D'autres études sur les animaux et les êtres humains ont été menées pour démontrer les effets bénéfiques ou néfastes du VCP. D'une part, le vinaigre de pomme a prouvé sa capacité à contrôler la glycémie, la pression artérielle, et l'hyperlipidémie (Ousaid et al., 2020; Rachmansyah et al., 2020; Thinathayalan et al., 2019). D'autre part, Bounihi et al., (2017) ont rapporté que la consommation de 14 mL de vinaigre par kg par jour pendant 18 semaines n'a aucun effet indésirable ni toxicité ou létalité chez les animaux traités. Par contre, une utilisation inappropriée du VCP pourrait induire des effets indésirables et même une intoxication. Des études menées sur l'Homme ont rapporté que la consommation quotidienne de vinaigre de pomme pouvait induire des incidents hypoglycémiques (Johnston et al., 2008), une stimulation du vidange gastrique, une augmentation de la fréquence des rots (Hlebowicz et al., 2007), et une usure érosive des dents (Anderson et al., 2020).

IV. Conclusion

La région de Deraa-Tafilalet et la région de Fès-Meknès offrent un grand potentiel en pomiculture, principalement dû aux conditions pédoclimatiques qui favorisent le développement et la fructification des pommiers. Les deux régions sont les leaders de la culture des pommes notamment la province de Midelt, Sefrou, et Boulemane. Plusieurs coopératives actives dans le domaine de la transformation des pommes ont été installées pour valoriser ce produit phare considéré comme une source de revenu principale des populations locales dans les deux régions. En outre, l'étude ethnopharmacologique nous a permis de recenser et d'archiver un héritage thérapeutique sur l'utilisation du VCP dans la médecine traditionnelle comme produit naturel largement utilisé pour traiter diverses maladies.

Chapitre 2 : Caractérisations
physicochimique et phytochimique de deux
variétés de pomme.

I. Introduction

L'importance des fruits et de leurs sous-produits pour la santé humaine ne peut être sous-estimée. Les fruits sont considérés comme une part essentielle de l'alimentation quotidienne, ils sont très sollicités car ils assurent une alimentation saine et équilibrée.

La nature de la matière première et la maîtrise du processus de transformation des fruits constituent un facteur clé dans la qualité des sous-produits des pommes notamment le VCP. Avant d'étudier les caractéristiques physicochimiques et phytochimiques du VCP, nous avons choisi de caractériser la matière première permettant de produire nos différents échantillons du VCP à savoir les deux variétés de pomme *Golden délicious* et *Red délicious* utilisées pour produire le vinaigre dans les différentes régions d'origine de nos échantillons du VCP.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Nous avons sélectionné deux variétés de pomme (*Golden délicious* et *Red délicious*) collectées à partir de différentes stations à vocation pomiculture par excellence : station 1 : Imilchil, Station 2 : Ait Ayach, Station 3 : Imouzzar Kandar (Tableau 9). Les échantillons ont été collectés en octobre 2019.

Tableau 9: Données climatiques de trois stations d'échantillonnage.

Données climatiques	Station 1	Station 2	Station 3
Latitude	32°3'8.594N	32 ° 41' 23.124N	33°44'0.24 N
Longitude	5°46'9.105W	4 ° 54'29.33W	5°0'37.8W
Altitude	2138	1516	1317
Pluviométrie mm/ année	474	263	612
Température annuelle °C	11	15.20	13.5
Étage bioclimatique	Humide	Semi-aride	Sub-humide

2. Méthodologie d'extraction du jus

La préparation du jus a été faite à partir des deux variétés de pomme collectées durant la saison de récolte en octobre 2019.

Les fruits ont été lavés à l'eau distillée et mixés séparément à l'aide d'un mixeur Moulinex. Les jus obtenus ont été filtrés sur un papier filtre et conservés avant l'analyse dans un réfrigérateur. La nomination de différents échantillons du jus est présentée dans le tableau 10 et la figure 29.

Tableau 10: Symbole des jus de deux variétés collectées à partir de trois stations

Station	Variété	Symbole
Station 1	<i>Golden délicious</i>	S1GD
	<i>Red délicious</i>	S1RD
Station 2	<i>Golden délicious</i>	S2GD
	<i>Red délicious</i>	S2RD
Station 3	<i>Golden délicious</i>	S3GD
	<i>Red délicious</i>	S3RD

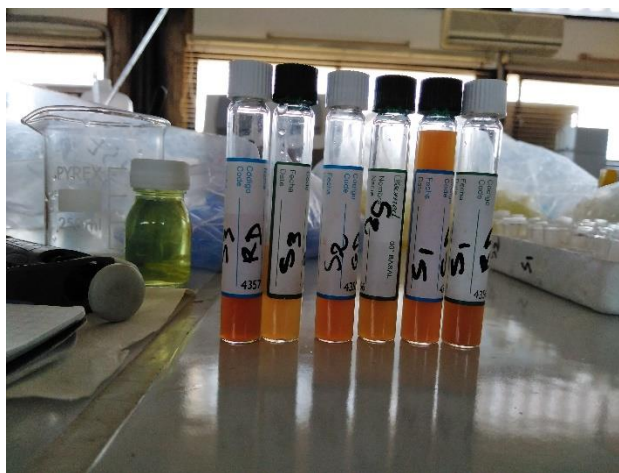


Figure 29: Les échantillons de jus des deux variétés de pomme

3. Méthodologie de préparation des extraits de pomme

Le processus d'extraction a été réalisé avec deux solvants organiques, l'éthanol à 70 % et le méthanol à 80 % avec sonication pendant 30 minutes. Le rapport solide/liquide était de l'ordre de 1/10. Les extraits obtenus ont été filtrés sur papier filtre puis analysés. Les deux solvants organiques utilisés pour préparer les extraits sont choisis sur la base d'efficacité d'extraire les molécules d'intérêt biologique.

4. Paramètres physicochimiques

La détermination du pH des différents échantillons s'effectue directement par l'utilisation du pH mètre (OHAUS ST2100 F). La conductivité électrique a été mesurée à l'aide d'un conductivimètre (CD20 Conductivity meter). Les résultats obtenus sont exprimés en millisimens par centimètre (mS/cm). La détermination de l'acidité titrable de différents échantillons de jus a été mesurée par titration à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium de normalité de 0.1 N en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré jusqu'à l'obtention d'une zone virage. Les résultats sont exprimés en g d'acide malique par 100 ml de jus respectivement. Le degré Brix reflète la teneur en solide soluble présents dans l'échantillon. Il a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre manuel ATC. La densité de différents échantillons est mesurée par l'utilisation d'un densimètre.

5. Antioxydants et l'activité antioxydante

5.1. Polyphénols

La quantification des polyphénols totaux a été réalisée selon la méthode adoptée par Singleton et al. (1999). Le test se base sur le changement de la couleur du réactif de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich) de couleur jaune. En bref, 100 µl de l'extrait, le jus, ou le standard sont déposés dans un tube à essai ensuite on ajoute 500 µl de la solution de Folin-Ciocalteu dilué. Après un repos presque de 5 min on ajoute 400 µl de carbonate de sodium. L'absorbance est lue à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-visible spectrophotometer UV-1650PC) à une longueur d'onde de 760nm après l'incubation du mélange réactionnel pendant 2 h à l'abri de la lumière. Les tests ont été répétés trois fois.

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent de l'acide gallique en utilisant la gamme d'étalonnage pour 100 ml du jus ou pour 1g de l'extrait (mg EAG/100 ml, mg EAG/g).

5.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée facilement par l'utilisation du chlorure d'aluminium selon le protocole adopté par Kong et al., (2012). 100 µl de jus ou d'extrait a été mélangé avec 100 µl d' AlCl_3 , 6H₂O₂ à 10%. Après une période de repos de 5 min, ajouter 200 µl de la soude NaOH au mélange réactionnel. L'absorbance est lue à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-visible spectrophotometer UV-1650PC) à

une longueur d'onde de 510nm après l'incubation du mélange réactionnel pendant 1 h à l'abri de la lumière.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de la quercétine par rapport à 100 ml du jus (mg EQ/100 ml) et par rapport à 1g d'extrait (mg EQ/g).

5.3. Capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène selon le protocole adopté par (Laaroussi et al., 2020c; Zengin et al., 2013a). Dans un tube à essai, on dépose 25 µl d'extrait ou du jus, puis on ajoute 1 mL de la solution de molybdate. Après 90 minutes dans un bain marie à 95 °C à l'obscurité, l'absorbance a été lue à 695 nm.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de l'acide ascorbique par rapport à 100 ml du jus (mg EAA/100 ml) ou par rapport à 1g d'extrait (mg EAA/g).

5.4. Piégeage des radicaux libres par le test DPPH

La détermination de l'activité anti radicalaire par le radical libre DPPH a été effectuée selon le protocole détaillé par Hogg et al., (1961). Il consiste à mesurer l'efficacité d'une substance naturelle en mesurant la diminution de la coloration pourpre bien caractéristique de la solution de DPPH. 25 µl du jus ou d'extrait, a été mélangé avec 1 ml de la solution de DPPH. Par la suite, le mélange réactionnel a été incubé pendant 60 minutes à l'obscurité. L'absorbance a été lue à 517 nm.

Le pourcentage d'inhibition est calculé comme suit :

$$PI = \left[\frac{(\text{absorbance de controle} - \text{absorbance de l'échantillon})}{\text{absorbance de controle}} \right] * 100$$

La concentration fournissant 50% d'inhibition radicalaire a été calculée à partir du graphe de pourcentage d'inhibition (Voir l'annexe) tracé en fonction de la concentration de l'échantillon. Les résultats sont exprimés en µl/ml.

6. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisé par ANOVA one way via le programme Past 3 pour déterminer la signification ($P < 0.05$). Les corrélations entre les paramètres des échantillons étudiés ont été obtenues par le coefficient de corrélation de Pearson (r) à

un niveau de signification 95% ($P < 0.05$). Les résultats ont été également soumis à une analyse multivariée (analyse en composantes principales).

III. Résultats et discussion

1. pH, conductivité électrique, acidité titrable, jutosité, densité et °Brix.

Les valeurs des paramètres physicochimiques varient en fonction de la variété de pomme et la station de prélèvement. Les résultats de la caractérisation physicochimique de base sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11: Les paramètres physicochimiques des jus de deux variétés de pomme collectées

Station	Variété de pomme	pH	Conductivité électrique $\mu\text{S}/\text{cm}$	Acidité titrable %	Jutosité mL/100 g pf	Densité	°Brix
S1	GD	3,31±0,01	241,33±6,42	1,82±0,13	67,5	1,1271	16,36
	RD	4,01±0,015	230,66±6,43	0,86±0,145	61,76	1,1297	16,65
S2	GD	4,03±0,02	221,67±2,51	0,48±0,133	58,82	1,1269	16,33
	RD	4,05±0,01	225±6,55	0,67±0,136	66,37	1,1283	16,49
S3	GD	4,1±0,01	223,34±9,01	0,68±0,144	60	1,1257	16,2
	RD	3,86±0,015	237,35±1,52	0,60±0,04	53	1,1266	16,3

S1GD: Station 1 *Golden delicious*, S1RD: Station 1 *Red delicious*.

S2GD: Station 2 *Golden delicious*, S2RD: Station 2 *Red delicious*.

S3GD: Station 3 *Golden delicious*, S3RD: Station 3 *Red delicious*.

Pf : Poids frais

Les jus obtenus à partir des deux variétés ont un pH acide qui ne dépasse pas 4,22. Les résultats obtenus sont en concordance avec ceux évoqués par plusieurs études en Pologne (Lata, 2007), en Tunisie (Boudabous et al., 2012), et en Chine (Tian et al., 2018). En ce qui concerne la conductivité électrique de différents jus, les résultats ont montré que les deux jus de *Golden délicious* de la station 1 et de *Red délicious* de la station 3 ont enregistré également les valeurs les plus élevées. Les résultats de l'acidité obtenus varient entre 1,82±0,13-0,48±0,133 % et 0,60±0,4-0,86±0,145 % pour la variété *Golden délicious* et *Red délicious* respectivement. Les résultats de l'acidité titrable des jus sont élevés par rapport à ceux documentés par Boudabous et al., (2012), mais similaires à ceux rapportés dans des études précédentes (Leahu et al., 2013; Tian et al., 2018a). L'acidité est l'un des éléments utilisés pour évaluer la qualité des fruits (Hagen et al., 2007). Elle donne le goût aigre dû à la présence d'acide malique (Hagen et al., 2007).

Les valeurs de la jutosité obtenues des deux variétés de pomme étudiées varient entre 67,5 et 53 %. Le *Golden délicious* de la station 1 a enregistré le plus grand rendement en jus avec un pourcentage de 67,5%. Pour le *Red délicious*, l'échantillon de la station 2 a enregistré également un rendement élevé 66,37 %. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par (Piagentini and Pirovani, 2017).

Les résultats de la densité varient entre 1,1257 et 1,1297. Les valeurs de la densité et du degré brix sont identiques.

2. Antioxydants et activité antioxydante

2.1. Quantification des polyphénols et des flavonoïdes des jus de deux variétés de pomme

Les molécules bioactives jouent un rôle très important pour la plante et le consommateur en même temps. Les analyses phytochimiques du jus des deux variétés de pomme collectées dans différentes stations des deux régions d'étude concernent la teneur en polyphénols totale et la teneur en flavonoïdes totale. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 12: La teneur des polyphénols et des flavonoïdes des jus de pomme.

Station/variété		TPC	TFC
		mg GAE/ 100 ml	mg QE/ 100 ml
S1	GD	81,16±4,41	6,76±0,02
	RD	115,91±3,16	7,43±0,13
S2	GD	135,41±6,66	5,07±0,09
	RD	107,34±4,08	3,91±0,04
S3	GD	98,5±7,41	3,10±0,02
	RD	94,91±3,66	4,91±0,11

TPC : teneur en polyphénols totaux, TFC : teneur en flavonoïdes totaux

Le taux des polyphénols varie de 81,16±4,41 à 135,41±6,66 mg EAG/100 ml pour le *Golden délicious* et de 94,5±3,66 à 115,91±3,16 mg EAG/100 ml pour le *Red délicious*. Le jus de *Golden délicious* de la station 2 et celui de *Red délicious* de la

station 1 ont enregistré les taux les plus élevés en polyphénols. En ce qui concerne les flavonoïdes les teneurs obtenues varient de $3,10\pm 0,02$ à $7,43\pm 0,13$ mg EQ/100 ml de jus. Les deux variétés de la station 1 ont enregistré les valeurs les plus élevées avec des teneurs de $6,76\pm 0,02$ à $7,43\pm 0,09$ mg EQ/100 ml pour le *Golden délicious* et le *Red délicious* respectivement. La teneur des polyphénols et des flavonoïdes des deux variétés de pomme varie selon la variété, l'origine géographique, les conditions climatiques, le stade de maturité et les conditions de stockage (Amiot et al., 1995, 1992; Mehinagic et al., 2011). Les résultats obtenus sont en concordance avec ceux rapportés par plusieurs études précédentes (Sylvain Guyot et al., 2014; Mehinagic et al., 2011; Tian et al., 2018b; Xu et al., 2016).

2.2. Quantification des polyphénols (TPC) et des flavonoïdes (TFC) des extraits de deux variétés de pomme

Les extraits des deux variétés sont réalisés par deux solvants organiques, l'éthanol et le méthanol, et les résultats du dosage des polyphénols et les flavonoïdes sont présentés dans le tableau 13.

Tableau 13: La teneur des polyphénols et des flavonoïdes des extraits des deux variétés.

Station	Variété/extrait		TPC	TFC
			mg GAE/ g pf	mg QE/ 100 g pf
S1	GD	EE	7,16±0,72	1,4±0,23
		EM	7,6±0,41	0,5±0,22
	RD	EE	5,15±1,12	1,24±0,46
		EM	7,01±0,72	7,03±0,71
S2	GD	EE	3,5±0,30	0,55±0,23
		EM	3,82±0,45	2,29±0,17
	RD	EE	7,89±0,28	0,43±0,11
		EM	7,61±0,57	1,17±0,90
S3	GD	EE	4,53±0,24	0,30±0,02
		EM	5,17±0,2	1,48±0,23
	RD	EE	3,88±0,02	0,55±0,20
		EM	5,43±0,08	3,56±0,46

EE : extrait éthanolique, EM : extrait méthanolique

Les extraits de *Golden délicious* de la station 1 et le *Red délicious* de la station 2 ont enregistré les valeurs les plus élevées en polyphénols totaux avec des valeurs de GDEE= 7,16±0,72 mg EAG/g pf ; GDEM= 7,6±0,41 mg EAG/g pf et RDEE= 7,89±0,28 mg EAG/g pf ; RDEM= 7,61±0,57 mg EAG/g pf respectivement. Les résultats obtenus sont élevés par rapport à ceux évoqués par (Goulas et al., 2014; Petkova et al., 2019). Wang et al., (2019) ont rapporté des teneurs en polyphénols variant entre 1,294±0,11 et 4,959±0,28 mg EAG/g.

Par contre, pour la teneur en flavonoïdes totaux, les valeurs les plus élevées ont été enregistrées pour les extraits GDEE et RDEM de la station 1 avec des valeurs de 1,4±0,23 et 7,03±0,71 mg EQ/g de poids frais respectivement. les résultats obtenus sont

en accord avec ceux évoqués par (Wang et al., 2019). La fluctuation de la teneur en flavonoïdes peut s'expliquer par la forte diminution des flavonoïdes au cours du développement du fruit (Renard et al., 2007).

2.3. Capacité antioxydante totale (CAT)

A. Pour les jus

Les résultats de la capacité antioxydante totale des jus obtenus à partir des fruits de deux variétés de pomme sont présentés dans le tableau 14.

Tableau 14: La capacité antioxydante totale des jus de pomme

Station/variété		TAC mg AAE/ 100 ml
S1	GD	1,93±0,306
	RD	2,47±0,026
S2	GD	2,06±0,090
	RD	2,36±0,067
S3	GD	2,37±0,028
	RD	2,11±0,009

Le jus de pomme a donné des activités antioxydantes remarquables. Les valeurs de la capacité antioxydante totale varient entre 1,93±0,306 et 2,471±0,026 mg EAA/100 ml de jus. Le jus de la variété *Red délicious* possède la valeur la plus élevée et le jus de la variété *Golden délicious* possède la valeur la plus faible, les deux variétés ont été collectées à partir de la région d'Imilchil (station 1). Les résultats indiquent que les différents échantillons ont une activité antioxydante remarquable. La différence entre les valeurs des capacités antioxydantes des échantillons de jus de pomme pourrait s'expliquer par les différentes conditions pédoclimatiques d'une station à l'autre. Les pommiers s'adaptent aux conditions défavorables en produisant des métabolites secondaires qui participent à leur protection au cours de leur développement (de Almeida Siqueira et al., 2013). De plus, la teneur en composés bioactifs des pommes dépend des cultivars, des conditions de stockage, et du stade de maturité des fruits (Amiot et al., 1995).

B. Pour les extraits

L'activité antioxydante totale a été évaluée également en utilisant l'éthanol et le méthanol comme solvants organiques pour extraire les molécules bioactives. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 15.

Tableau 15: La capacité antioxydante totale des extraits de deux variétés de pomme

Station	Variété/extrait	TAC mg EAA/100 g pf	
S1	GD	EE	6,01±0,55
		EM	3,6±0,5
	RD	EE	5,42±0,6
		EM	2,68±0,21
S2	GD	EE	3,12±0,3
		EM	2,29±0,24
	RD	EE	7,28±0,28
		EM	2,98±0,09
S3	GD	EE	5,46±0,19
		EM	1,13±0,07
	RD	EE	5,63±0,08
		EM	2,06±0,05

EE : extrait éthanolique, EM : extrait méthanolique

Les résultats obtenus varient selon le solvant organique utilisé et également selon la variété et la station de l'échantillonnage. Les valeurs de la capacité antioxydante totale varient de 1,13±0,070 à 7,28±0,280 mg EAA/100 g de poids frais de la pomme. Le méthanol est le solvant organique le plus approprié pour extraire les molécules bioactives (Tableau 13) qui ont un pouvoir antioxydant remarquable. L'extrait éthanolique de la variété *Red délicious* de la station 3 et l'extrait méthanolique

de la variété *Gloden délicious* de la station 3 ont enregistré les valeurs les plus élevées ($7,28 \pm 0,280$ et $5,63 \pm 0,081$ mg EAA/100 g pf respectivement).

2.4. Activité de piégeage du radical DPPH pour les jus et les extraits

Le deuxième test de l'activité antioxydante utilisé est l'activité de piégeage du radical DPPH.

A. Pour les jus

L'évaluation du pouvoir anti radicalaire des jus de pomme nous a permis d'avoir les résultats présentés dans le tableau 16.

Tableau 16: le pouvoir antiradicalaire des jus de deux variétés de pomme

Station/variété		DPHH IC ₅₀ µl/ml
S1	GD	1,46±0,19
	RD	1,82±0,02
S2	GD	1,13±0,22
	RD	0,92±0,01
S3	GD	1,22±0,07
	RD	1,9±0,11

Les différents échantillons de jus de pomme ont donné des valeurs de pourcentage d'inhibition (PI) variant de $0,92 \pm 0,01$ à $0,92 \pm 0,01$ µl/ml. Les jus des deux variétés de la station 2 ont enregistré l'activité antiradicalaire la plus intéressante par rapport aux autres échantillons de jus.

B. Pour les extraits

Nous avons également déterminé le pouvoir antiradicalaire des extraits de pomme par l'utilisation du test DPPH. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 17.

Tableau 17: Le pouvoir antiradicalaire des extraits de deux variétés de pomme

Station	Variété/extrait	DPPH IC ₅₀ µg/ml	
S1	GD	EE	0,75±0,43
		EM	2,43±0,97
	RD	EE	1,30±0,01
		EM	1,23±0,11
S2	GD	EE	1,99±0,11
		EM	2,04±0,50
	RD	EE	0,99±0,08
		EM	1,77±0,05
S3	GD	EE	2,17±0,14
		EM	1,81±0,09
	RD	EE	2,46±0,05
		EM	1,6±0,80

Les résultats de l'IC₅₀ DPPH varient de 0,75±0,43 à 2,46±0,05 µl/ml pour les extraits éthanoliques et de 1,23±0,11 à 2,43±0,97 µl/ml pour les extraits méthanoliques. Le *Golden délicious* de la station 1 et le *Red délicious* de la station 2 ont enregistré des activités antioxydantes les plus intéressantes.

3. Analyse multivariée et corrélation

Le test statistique utilisé dans cette partie est l'analyse de la composante principale et la corrélation des paramètres étudiés de différents jus et extraits. Deux composantes principales ont été extraites dans le modèle ACP des échantillons étudiés (Figure 30). Les deux composantes principales ont représenté une variance cumulative de 71,875 %.

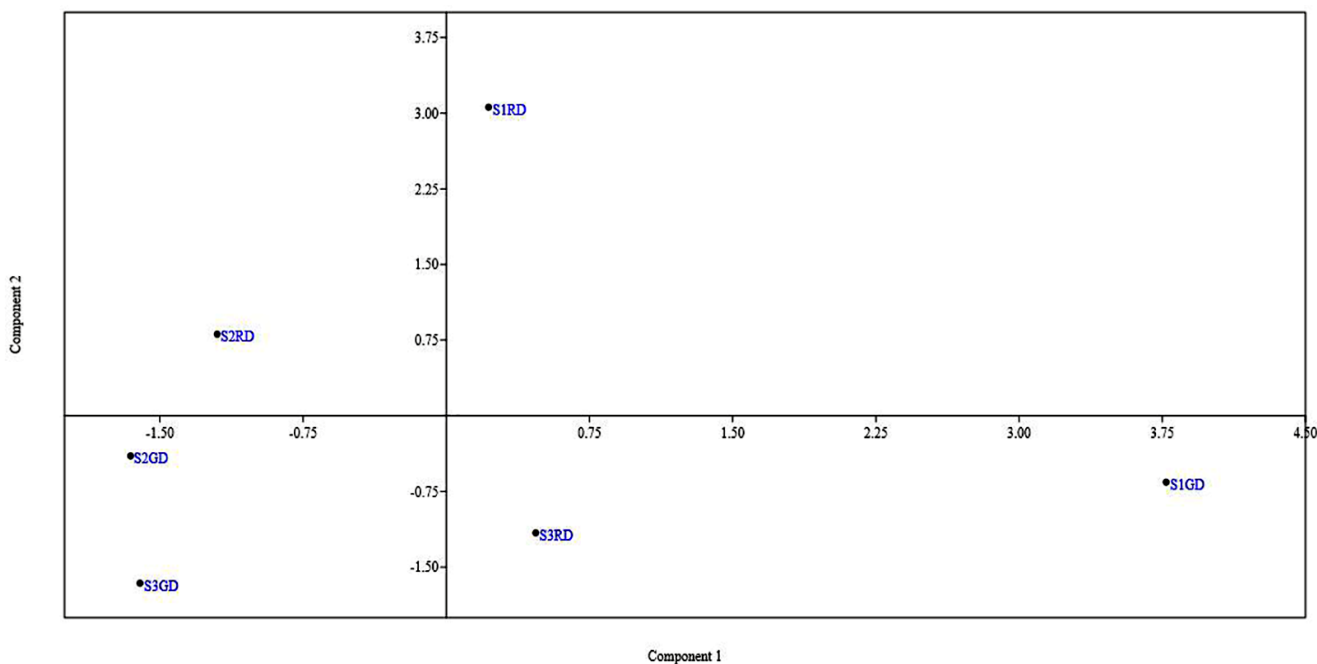


Figure 30: Projection de différents échantillons étudiés et variables sur le plan factoriel formé par les deux premières composantes principales

La première composante représente une proportion de 42,467 %, les échantillons S1GD, S2RD, et S3RD dominent la partie positive, tandis que les trois autres échantillons (S2RD, S2GD, et S3GD) dominent la partie négative de la première composante. La deuxième composante principale (CP2) représente une variance cumulative de 29,408 % des résultats obtenus, les échantillons S1RD et S2RD se trouvent dans la partie positive de CP2, tandis que les autres échantillons sis dans la partie négative de la même composante. Une bonne discrimination a été faite entre les variétés étudiées, qui ont été discriminées par la deuxième composante. Le S1RD et le S2RD se caractérisent par leur homogénéité en terme de composés phénoliques, ce qui a impliqué une corrélation positive avec l'activité antioxydante totale et une corrélation négative avec IC50 DPPH. Le S1GD a été éloigné de tous les autres échantillons étudiés en raison de son pH le plus faible, de sa conductivité électrique élevée, de son acidité

titrable élevée, et de sa jutosité élevée. D'après les résultats obtenus de l'ACP, on peut déduire que la distribution des différentes variétés étudiées a été corrélée avec la station et la variété (Tableau 18).

Tableau 18: Coefficients de corrélation de Pearson entre les paramètres phytochimiques et les activités antioxydantes de différents jus.

	pH	CE	AT	Jutosité	°Brix	Densité	TPC	TFC	CAT	IC ₅₀ DPPH
pH	1	0,033655	0,0091706	0,44083	0,87927	0,86349	0,14447	0,28074	0,094133	0,61654
CE	-0,84622	1	0,10216	0,90523	0,89792	0,9149	0,090988	0,22446	0,30824	0,14665
AT	-0,92076	0,72624	1	0,17193	0,87508	0,89435	0,14084	0,25216	0,35218	0,76086
Jutosité	-39302	0,063265	0,63904	1	0,46385	0,47135	0,66292	0,67578	0,96273	0,32156
°Brix	0,080659	0,068162	0,083471	0,37501	1	0,002489	0,59697	0,17195	0,35241	0,69148
Densité	0,091263	0,056794	0,070547	0,36921	0,99987	1	0,57812	0,17721	0,35104	0,70117
TPC	0,67111	-0,7424	-0,67554	-0,22871	0,27567	0,28933	1	0,96851	0,61461	0,59821
TFC	-0,52879	0,58311	0,55579	0,21968	0,63901	0,63901	- 0,020996	1	0,71452	0,21299
CAT	0,73777	-0,5038	-0,4655	0,024853	0,46531	0,46647	0,26299	- 0,19271	1	0,93433
ICA50%DPPH	0,26161	0,66847	0,16081	-0,49199	0,20871	0,20197	-0,27477	0,59482	- 0,043811	1

IV. Conclusion

Les paramètres physicochimiques et l'activité antioxydante de deux variétés de pommes récoltées dans différentes régions du Maroc ont été déterminés. La teneur en composés bioactifs dépend strictement de la variété de pomme. Les résultats obtenus ont révélé que la variété *Golden délicious* de la station 2 (S2GD) était la plus riche en contenu phénolique parmi tous les échantillons étudiés. De plus, l'origine géographique a eu un effet remarquable sur la teneur en composés bioactifs des pommes. Les pommes des zones montagneuses pourraient être une source inépuisable en molécules d'intérêt biologique. Ces variétés de pomme peuvent être une matière première pour la production de nombreux sous-produits à intérêt économique majeur.

Chapitre 3 : Étude comparative du VCP artisanal et du VCP industriel

I. Introduction

Plusieurs aliments traditionnels sont encore consommés et appréciés par les consommateurs comme le vinaigre de cidre de pomme grâce à ses importantes vertus thérapeutiques. La production du VCP implique deux étapes successives, la fermentation alcoolique qui s'effectue dans des conditions anaérobiques tandis que la deuxième étape, la fermentation acétique, s'effectue en présence de l'oxygène (Solieri and Giudici, 2009). Différentes méthodes ont été utilisées pour produire le VCP comme la méthode lente nommée la méthode d'Orléans (la culture en surface) et la méthode rapide (la culture submergée) (Mazza and Murooka, 2009; Solieri and Giudici, 2009). La longue période du processus artisanal contribue à la qualité du produit fini (le VCP) car elle dirige l'interaction biologique entre les microorganismes et les fûts de bois utilisés en générant de nouveaux composés ayant des fonctions biologiques (Budak et al., 2014a; Mazza and Murooka, 2009). Cependant, la méthode de la culture immergée nécessite un apport en oxygène élevé pour accélérer le processus de fabrication du VCP, malgré la courte durée de fabrication, l'excès d'oxygène accentue la dégradation des molécules bioactives mais ne permet pas la production de molécules biologiquement actives nouvellement générées comme la méthode traditionnelle (Budak and Guzel-Seydim, 2010).

Le vinaigre de cidre de pomme est utilisé comme un remède contre plusieurs pathologies (Budak et al., 2014a; Chen et al., 2016a). Parmi les anciennes prescriptions décrites ont été mentionnées par le livre chinois *Fifty-Two diseases* (Chen et al., 2016a). de nombreuses études ont rapporté les effets bénéfiques du VCP tels que l'effet anti-inflammatoire, l'effet antitumoral, l'effet antidiabétique, et l'effet antihypertenseur (Beh et al., 2017; Chen et al., 2016a; Golzarand et al., 2008). D'autres chercheurs ont rapporté que la consommation du VCP aidait à contrôler la glycémie et avait un effet inhibiteur de l' α -glucosidase (Fan et al., 2011; Gu et al., 2012).

L'inhibition des enzymes digestives constitue un facteur clé pour réduire la réponse postprandiale après la prise d'un repas. Sur la base de cette évidence, la présente étude fournit une évaluation des critères de qualité du VCP produit par deux méthodes artisanale et industrielle, ainsi que les propriétés physicochimiques, l'activité antioxydante, et le pouvoir antidiabétique *in vitro* par l'évaluation du pouvoir inhibiteur des enzymes de l' α -glucosidase et de l' α -amylase.

II. Matériel et méthodes

1. Méthodologie de préparation du vinaigre de cidre de pomme

Le processus de la production du VCP consiste en deux étapes successives, la fermentation alcoolique et la fermentation acétique.

La méthode traditionnelle se déroule hermétiquement dans des futs en plastique pendant un mois à une température ambiante (20-30°C) et à l'obscurité en utilisant des pommes coupées en petit morceaux. Par la suite, le mout fermenté est filtré et renversé dans un autre fut sec et muni de filtres à air stériles pour aérer le système pendant deux à trois semaines.

La méthode industrielle consiste à mettre le jus de pommes obtenu dans des futs en plastique en ajoutant des starters (*Saccharomyces cerevisiae*) à une température ambiante pendant une à deux semaines. La phase de la fermentation acétique qui est une phase d'oxydation d'éthanol en acide acétique est assuré par l'utilisation de l'acétateur pendant 6 à 8 h. (Figure 31 et 32).

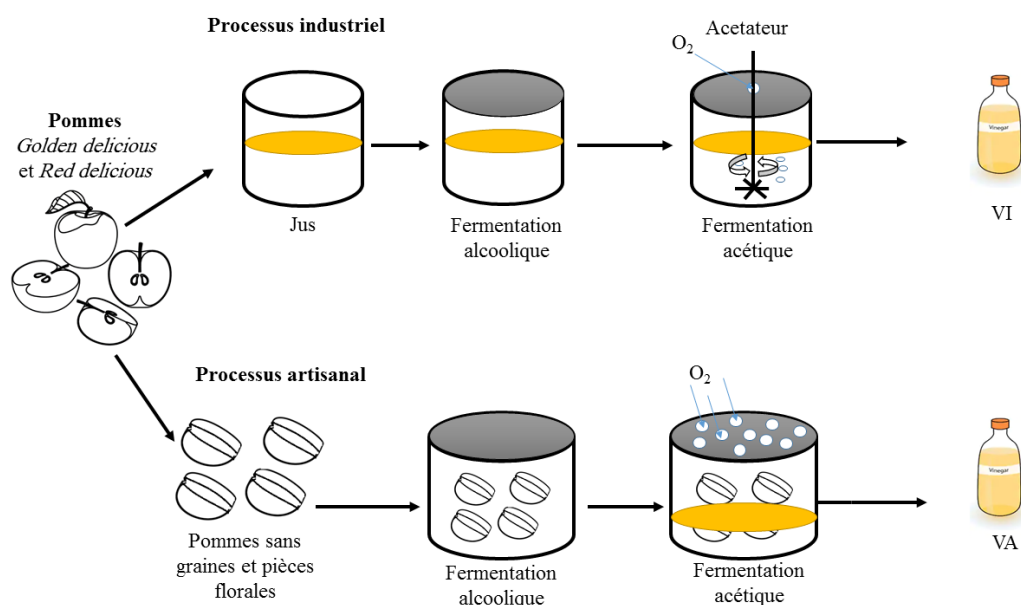


Figure 31: Les procédés de production du VCP

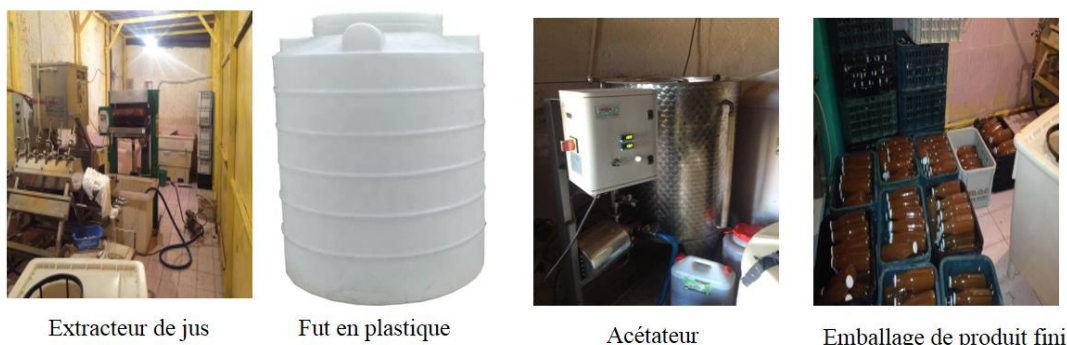


Figure 32: Matériels utilisés pour la production du VCP industriel (cas de coopérative d'Assif Melloul Bouzmou Midelt)

2. Echantillons du VCP

Nous avons choisi deux échantillons du VCP produits par deux techniques différentes et disponibles sur le marché au niveau de Midelt (32°41'47''N 4°45'03''W, 1508m). Le tableau 19 représente les informations sur les deux des échantillons de VCP étudiés dans ce chapitre.

Tableau 19: Présentation des échantillons de vinaigre de cidre de pomme

Symbole	Nature de produit	Matière première
VA	Vinaigre de cidre de pomme artisanal	Mélange de variétés de pommes
VI	Vinaigre de cidre de pomme industriel	Mélange de variétés de pommes

3. Caractérisation physicochimique

La détermination du pH des deux échantillons s'effectue directement par l'utilisation du pH mètre (OHAUS ST2100 F). La conductivité électrique a été mesurée à l'aide d'un conductivimètre (CD20 Conductivity meter). Les résultats obtenus sont exprimés en millisimens par centimètre (mS/cm). La détermination de l'acidité titrable des deux échantillons de vinaigre a été mesurée par titration à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium de normalité de 0,1 N en présence de phénolphaléine comme indicateur coloré jusqu'à l'obtention d'une zone virage. Les résultats sont exprimés en g d'acide acétique par 100 ml de vinaigre. Le degré Brix reflète la teneur en solide soluble présents dans l'échantillon. Il a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre manuel ATC. La densité de différents échantillons est mesurée par l'utilisation d'un densimètre.

4. Antioxydants et activité antioxydante

4.1. Polyphénols

La quantification des polyphénols totaux des vinaigres a été réalisée selon la méthode adoptée par Singleton et al. (1999). Le test se base sur le changement de la couleur du réactif de Folin-ciocalteu (Sigma Aldrich) de la couleur jaune. En présence des polyphénols, il est réduit pour former des oxydes de tungstène (W_8O_{23}) bleus et du molybdène (Mo_8O_{23}). 100 μ l du vinaigre ou le standard sont déposés dans un tube à essai ensuite on ajoute 500 μ l de la solution de Folin-Ciocalteu diluée. Après 5 min on ajoute 400 μ l de carbonate de sodium. L'absorbance a été lue à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-visible spectrophotometer UV-1650PC) à une longueur d'onde de 760nm après l'incubation du mélange réactionnel pendant 2 h à l'abri de la lumière.

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent de l'acide gallique par 100 ml du VCP en utilisant la gamme d'étalonnage (mg EAG/100 ml).

4.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été déterminée facilement par l'utilisation du chlorure d'aluminium selon le protocole adopté par Kong et al., (2012). 100 μ l du vinaigre a été mélangé avec 100 μ l d' $AlCl_3$, $6H_2O_2$ à 10%. Après une période de repos de 5 min, on ajoute 200 μ l de la soude NaOH au mélange réactionnel. L'absorbance est lue à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-visible spectrophotometer UV-1650PC) à une longueur d'onde de 510nm après une incubation du mélange réactionnel pendant 1 h à l'abri de la lumière.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de la quercétine par rapport à 100 ml du vinaigre (mg EQ/100 ml).

4.3. Capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale a été évaluée par la méthode de phosphomolybdène selon le protocole adopté par Laaroussi et al., 2020c; Zengin et al., 2013a). Dans un tube à essai, on dépose 25 μ l Du VCP puis on ajoute 1 mL de la solution de molybdate. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 90 minutes dans un bain marie à 95 °C à l'obscurité. Par la suite l'absorbance a été lue à 695 nm.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de l'acide ascorbique par rapport à 100 ml du vinaigre (mg EAA/100 ml).

4.4. Piégeage des radicaux libres par le test DPPH

La détermination de l'activité anti radicalaire par le radical libre DPPH a été effectuée selon le protocole détaillé par Hogg et al., (1961). Il consiste à mesurer l'efficacité d'une substance naturelle en mesurant la diminution de la coloration pourpre bien caractéristique de la solution de DPPH. Dans un tube à essai, on dépose 25 µl du vinaigre, puis on ajoute 1 ml de la solution de DPPH. Le mélange réactionnel a été incubé pendant 60 minutes à l'obscurité. Par la suite l'absorbance a été lue à 517 nm.

La pourcentage d'inhibition (PI) du radical DPPH est calculé comme suit :

$$PI = \left[\frac{(\text{absorbance de controle} - \text{absorbance de l'échantillon})}{\text{absorbance de controle}} \right] * 100$$

La concentration fournissant 50% d'inhibition radicalaire a été calculée à partir du graphe de pourcentage d'inhibition tracé en fonction de la concentration de l'échantillon (Voir l'annexe). Les résultats sont exprimés en µl/ml.

5. Activité antidiabétique *in vitro*

5.1. Test d'inhibition de l'α-amylase

La méthode décrite précédemment par (Ferreira-Santos et al., 2020) a été choisi pour déterminer le pouvoir inhibiteur de l'α-amylase. En bref, 500µl d'enzyme et de VCP ont été mélangés et incubés pendant 15 minutes à 37°C. Par la suite, une solution d'amidon (1%) a été préparée et 500µl ont été ajoutés au mélange réactionnel et incubés à 37°C pendant 15 minutes. 1ml d'acide dinitrosalicylique a été ajouté au mélange réactionnel et incubé dans un bain marie bouillant. L'absorbance a été lue à 540nm après une dilution de 1/10. L'acarbose et l'éthanol à 70% ont été utilisés respectivement comme contrôle positif et négatif.

5.2. Test d'inhibition de l'α-glucosidase

Un mélange de différentes concentrations du VCP et du nitrophenyl-R-d-glucopyranoside (pNPG, 3 mM) a été mélangé avec une solution de α-glucosidase (10UI/ml). Le mélange obtenu a été incubé à 37°C pendant 15 minutes. Une solution de Na₂CO₃ (1M) a été utilisée pour arrêter la réaction. Enfin, l'absorbance a été lue à 400 nm (Ferreira-Santos et al., 2020).

L'activité inhibitrice de l'α-amylase et l'α-glucosidase a été calculée en utilisant l'équation suivante :

$$I (\%) = (A0 - A1/A0) \times 100$$

A0 : absorbance de contrôle, A1 : absorbance de l'échantillon

Les valeurs fournissant 50% de l'activité de l' α -amylase et de l' α -glucosidase ont été calculées à partir d'une courbe d'étalonnage et les résultats ont été exprimés en $\mu\text{g/mL}$.

III. Résultats et discussion

1. Paramètres physicochimiques

Les paramètres physicochimiques du VCP industriel et artisanal sont présentés dans le tableau 20. Les valeurs de pH étaient comprises entre $3,19 \pm 0,021$ et $3,69 \pm 0,005$ pour le vinaigre industriel et artisanal respectivement. Les valeurs obtenues sont en accord avec les données rapportées par des études précédentes (Na et al., 2013; Sengun et al., 2019; Siddeeg et al., 2019). La différence de pH peut être due au développement des microorganismes et à la maîtrise du système d'aération du processus industriel. La conductivité électrique est comprise entre 3,6 et 5,4 mS/cm pour le VA et le VI respectivement. Les résultats obtenus dans la présente étude sont inférieurs à ceux documentés par (Siddeeg et al., 2019). En ce qui concerne le degré Brix, les valeurs obtenues oscillent entre $5,2 \pm 0,142$ pour le VA et $6,37 \pm 0,042$ pour le VI. Les résultats obtenus sont en concordance avec ceux rapportés par (Siddeeg et al., 2019), et supérieurs à ceux documentés par (Sengun et al., 2019). Alors que la densité des vinaigres testés présente des valeurs comparables. Cependant, (Siddeeg et al., 2019) ont rapportés des valeurs de densité élevées que celles obtenues dans notre étude.

Tableau 20: Les paramètres physicochimiques du VCP artisanal et du VCP industriel

Échantillon	pH	Conductivité électrique mS/cm	Acidité titrable %	°Brix	Densité
VA	$3,69 \pm 0,005$	$2,81 \pm 0,014$	$3,6 \pm 0,211$	$6,37 \pm 0,042$	$1,024 \pm 0,0001$
VI	$3,19 \pm 0,021$	$2,79 \pm 0,007$	$5,4 \pm 0,141$	$5,2 \pm 0,142$	$1,020 \pm 0,0005$

2. Antioxydants et activité antioxydante

Les polyphénols, les flavonoïdes, et l'activité antioxydante sont présentés dans le tableau 21. Les teneurs les plus élevées en polyphénols et en flavonoïdes ont été enregistrées pour le VA, alors que, les valeurs les plus faibles ont été trouvées dans le VI. Concernant l'activité antioxydante des deux types de VCP évaluée par deux test complémentaires (TAC et DPPH), les résultats obtenus ont révélé que le VA possède la capacité antioxydante totale la plus élevée ($9,17 \pm 0,86$ mg EAA/100ml) et la valeur la plus faible a été enregistré pour le VI ($4,22 \pm 0,26$ mg EAA/100ml). De même, le VA a présenté la capacité de piégeage du radical libre DPPH la plus élevée ($0,313 \pm 0,008 \mu\text{l/ml}$), alors que le VI a la capacité la plus faible ($0,899 \pm 0,026 \mu\text{L/ml}$). Des études publiées sur l'activité antioxydante du VCP indiquent que l'activité de piégeage du radical DPPH du VI était de l'ordre de $0,0178$ mmol TEAC/ml (Zhao et al., 2018). La comparaison de l'activité antioxydante de vinaigre artisanal et du VCP industriel montre que le vinaigre artisanal possède l'activité antioxydante la plus importante par rapport au vinaigre industriel avec des valeurs de $10.50 \mu\text{mol/ml}$ et $8.84 \mu\text{mol/ml}$ TE pour le vinaigre artisanal et industriel respectivement (Budak and Guzel-Seydim, 2010). Les propriétés bioactives des vinaigres sont influencées par multiple facteurs tels que la matière première, la technique de production, et la situation géographique de cultivar utilisé dans la production du vinaigre.

Tableau 21: Les antioxydants et l'activité antioxydante du VCP artisanal et du VCP industriel

Échantillon	TPC	TFC	TAC	IC ₅₀ DPPH
	mg AGE/100ml	mg QE/100ml	mg AAE/100ml	$\mu\text{l/ml}$
VA	$106,91 \pm 1,64$	$11,36 \pm 0,065$	$9,17 \pm 0,86$	$0,313 \pm 0,008$
VI	$68,08 \pm 0,23$	$3,47 \pm 0,254$	$4,22 \pm 0,26$	$0,899 \pm 0,026$

3. Activité antidiabétique *in vitro* du VI et VA

La première étape de la prise en charge du désordre métabolique nécessite l'inhibition des enzymes hydrolysant les glucides (Kim et al., 2011). L'inhibition de ces enzymes pourrait diminuer l'hyperglycémie postprandiale (Hirsh et al., 1997). De nombreuses études ont prouvé la capacité du VCP à réduire l'hyperglycémie (Halima et al., 2016; Johnston et al., 2013; P. Mitrou et al., 2015a; Öztürk et al., 2009). Dans ce contexte, l'activité inhibitrice de l' α -amylase et de l' α -glucosidase des VCP produits par deux différentes techniques a été évaluée et les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 22.

Tableau 22: l'activité inhibitrice de l' α -amylase et l' α -glucosidase du VA et du VI.

Echantillon	α -amylase IC ₅₀ (μ g / ml)	α -glucosidase IC ₅₀ (μ g / ml)
VA	16,32 \pm 0,01	156,53 \pm 0,07
VI	152,86 \pm 0,06	4024,28 \pm 5,12
Acarbose	35,42 \pm 1,00	1100 \pm 1,00

Les résultats obtenus ont révélé que le VA avait la plus forte activité contre les deux enzymes testées (α -amylase et α -glucosidase) avec des valeurs d'IC₅₀ de 16,32 \pm 0,01 μ g/ml et 156,53 \pm 0,07 μ g/ml respectivement. Les valeurs de l'IC₅₀ du vinaigre artisanal contre les deux enzymes testées étaient inférieures à celle exprimées par l'acarbose dont les valeurs d'IC₅₀ étaient de 35,42 \pm 1,00 μ g/ml et 1100 \pm 1,00 μ g/ml pour l' α -amylase et l' α -glucosidase respectivement.

L'inhibition de ces enzymes contribue à la gestion du diabète de type 2 en supprimant ou en interrompant l'absorption des glucides générant le glucose (Kim et al., 2011). La diminution de l'hydrolyse des glucides est considérée comme l'une des approches efficaces pour diminuer l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie (Halima et al., 2016).

La quantification phytochimique a révélé la présence de composés phénolique qui présentent une bonne activité d'inhibition enzymatique (Kim et al., 2011; Tan et al., 2017). Il a été montré que les flavonoïdes ont une activité d'inhibition plus élevée (Tan et al., 2017). Les composés phénoliques individuels présents dans le VCP notamment l'acide gallique, l'acide chlorogénique, l'acide férulique, l'acide caféique, et la catéchine, ont montré une inhibition significative par la liaison des enzymes hydrolysant les glucides (Tan et al., 2017). De plus, l'acide acétique, en tant qu'acide organique majeur présent dans le VCP a été suggéré comme facteur clé pour diminuer l'activité de la disaccharidase, la maltase intestinale, la lactase, et la sucrase (Halima et al., 2016; Ogawa et al., 2000). La consommation du VCP diminue le pH, ce qui pourrait inactiver l' α -amylase à différents stades de la digestion tout au long du tube digestif (Marunaka, 2018). Il a été déjà rapporté que l'acide citrique était l'acide organique le plus actif par rapport aux autres acides organiques présents dans le VCP comme l'acide malique, l'acide tartrique, et l'acide succinique (Noh et al., 2020). En effet, le VCP contient un cocktail de composés bioactifs comprenant les composés phénoliques influencé par la technique de production du VCP ainsi que le cultivar utilisé. En

générale, la méthode traditionnelle fournit des vinaigres de meilleure qualité grâce à une complexité organoleptique exceptionnelle (Garcia-Parrilla et al., 2017). Des études précédentes ont documenté que les composés phénoliques possèdent une activité inhibitrice des enzymes α -amylase et α -glucosidase (Abdelli et al., 2021; Figueiredo-González et al., 2019; Salahuddin et al., 2020). Les composés bioactifs présents dans le VCP agissent en synergie pour contrôler l'activité des enzymes digestives et par conséquent réduisant la glycémie.

IV. Conclusion

Dans cette étude, la comparaison entre le VCP artisanal et le VCP industriel a montré que le VCP artisanal possède une meilleure qualité en terme de propriétés physicochimiques et de teneur en molécules bioactives. Le VCP industriel se distingue par sa rapidité de production, cependant, avec cette production rapide, il perd certains composés bioactifs qui nécessitent une longue durée pour se former. Nos résultats ont montré que le VCP artisanal est plus efficace pour inhiber les enzymes (α -amylase et α -glucosidase) que le VCP industriel. La méthodologie de préparation du VCP affecte la composition phytochimique et par conséquent ses propriétés biologiques.

Chapitre 4 : Caractérisations
physicochimique et phytochimique, et activité
antibactérienne des VCP de différentes
régions au Maroc.

I. Introduction

Le vinaigre de cidre de pomme est une source importante de molécules thérapeutiques. Il est connu pour ses activités antibactériennes et antioxydantes, car il contient des quantités importantes de composés bioactifs qui jouent un rôle majeur dans le traitement des infections bactériennes (Ahmadniaye et al., 2019; Cushnie and Lamb, 2011; Safari and Sarkheil, 2018). Le vinaigre de cidre de pomme a une longue histoire dans la médecine traditionnelle Marocaine, il a été utilisé comme condiment alimentaire, agent de conservation pour maintenir la couleur et la qualité des aliments, il est également utilisé comme ingrédient pour éliminer les odeurs et , parfois, comme une boisson saine (Solieri and Giudici, 2009; Tesfaye et al., 2002). De plus le vinaigre de cidre de pomme possède diverses propriétés biologiques telles que le pouvoir antimicrobien, antidiabétique, et antioxydant (D. N. K. Hindi, 2013; Ryu et al., 1999). Il possède une propriété antibactérienne en raison de sa teneur en acides organiques, principalement l'acide acétique (Ryu et al., 1999). A notre connaissance, aucune étude antérieure n'a visé une caractérisation détaillée des échantillons du vinaigre de cidre de pomme Marocains. Par conséquent, l'objectif principal de ce travail était d'étudier les propriétés physicochimiques, l'activité antioxydante et le pouvoir antibactérien de différents échantillons du VCP collectés dans différentes régions afin de mieux évaluer leurs qualités organoleptiques et curatives.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

On a choisi de mener nos différentes expériences sur 7 échantillons du VCP (Figure 33).

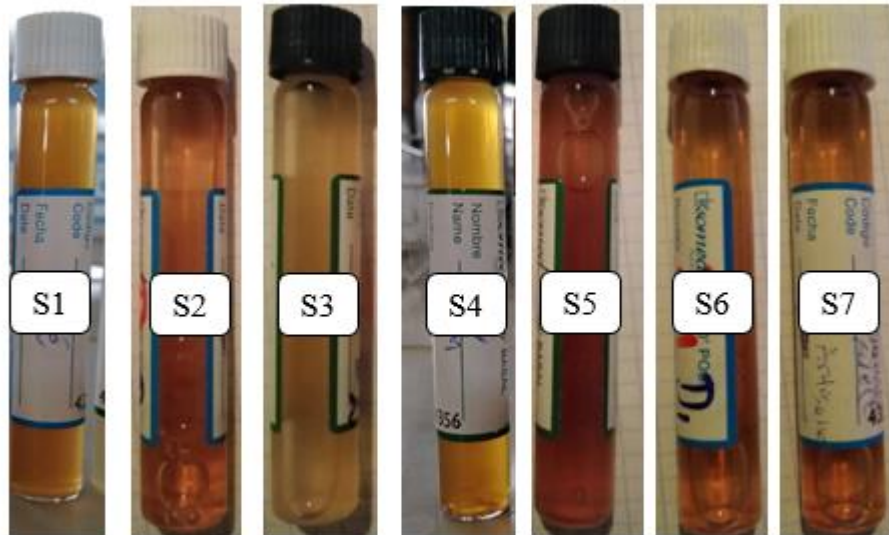


Figure 33: Les différents échantillons du VCP

Les VCP sont produits à base des cultivars de pommes les plus répandus dans les quatre stations d'étude (*Golden délicious*, *Red délicious* et *Straking délicious*) répartis comme suit (Figure 34 et tableau 23) :

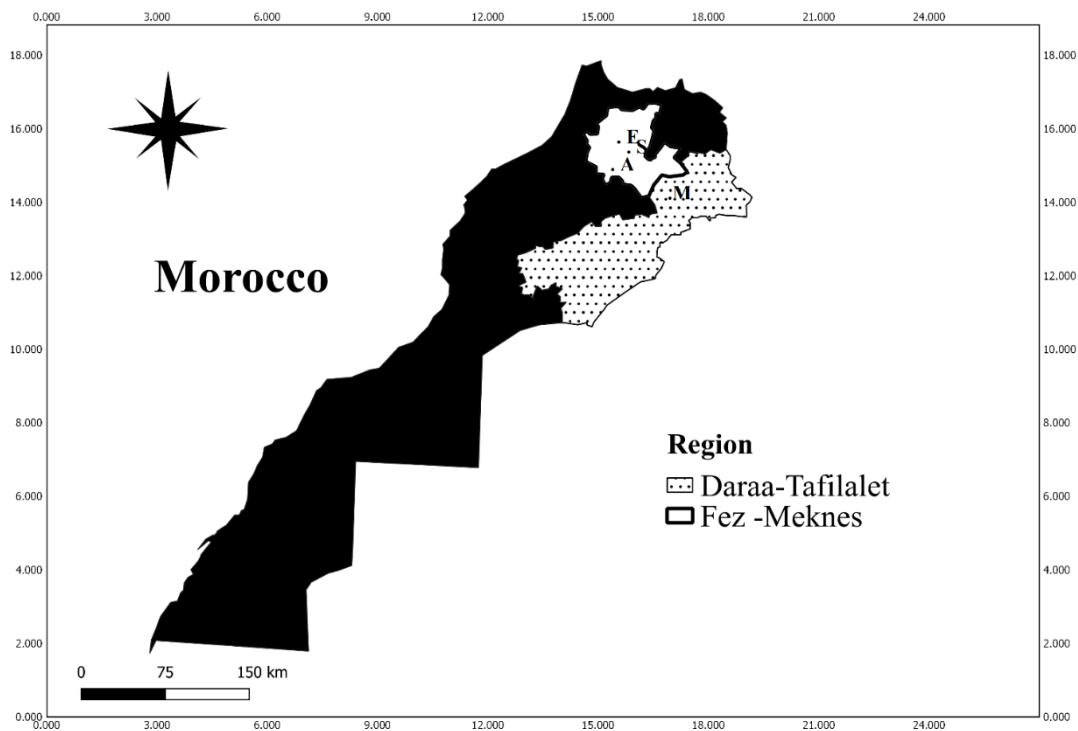


Figure 34: Localisation géographique des échantillons du vinaigre de cidre étudiés. A : Azrou, M : Midelt, E : Imouzzer Kandar, S : Sefrou.

Tableau 23: Les caractéristiques climatologiques des sites d'échantillonnage

Symbole	Site	Latitude (N)	Longitude (W)	Altitude (m)	Étage bioclimatique
S1	Midelt	32°40'48''	4°44'48''	1508	Aride
S2					
S3	Azrou	33°25'48''	5°12'36''	1250	Sub-humide
S4	Imouzzer kandar	33°43'48''	5°0'36''	1440	Sub-humide
S5					
S6	Sefrou	33°49'48''	4°49'48''	850	Sub-humide
S7					

2. Paramètres physicochimiques

La détermination du pH de différents échantillons s'effectue directement par l'utilisation du pH mètre (OHAUS ST2100 F). La conductivité électrique a été mesurée à l'aide d'un conductivimètre (CD20 Conductivity meter). Les résultats obtenus sont exprimés en millisimens par centimètre (mS/cm). La détermination de l'acidité titrable de différents échantillons de vinaigre a été mesurée par titration à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium de normalité de 0.1 N en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré jusqu'à l'obtention d'un zone virage. Les résultats sont exprimés en g d'acide acétique par 100 ml de vinaigre. Le degré Brix reflète la teneur en solide soluble présents dans l'échantillon. Il a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre manuel ATC. La densité de différents échantillons est mesurée par l'utilisation d'un densimètre.

3. Dosage des éléments minéraux

Les éléments minéraux de différents échantillons de vinaigre de pommes sont déterminés par spectrophotométrie d'absorption atomique (ICP-AES) selon la méthode adoptée par Akpinar-Bayizit et al., (2010). La mesure de l'absorption est faite à une longueur d'onde bien spécifique de chaque minéral à doser. Les éléments minéraux ont été déterminés par la technique d'ICP-AES à la Cité d'Innovation de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.

Cette méthode consiste à mesurer la concentration de l'élément à doser par la mesure de son absorption à une longueur d'onde convenable. Les échantillons du vinaigre ont été dilués à 1/50 avec 0.2 % (v/v) de l'acide nitrique HNO₃.

A partir des solutions préparées, nous avons déterminés les éléments minéraux suivants : K, Na, Ca, Mg, P, Fe, Zn, Mn, Cu, Pb, Cr et Cd.

4. Antioxydants et l'activité antioxydante

4.1. Polyphénols

Voir la partie 4.1. Dosage des polyphénols de l'étude 3.

4.2. Dosage des flavonoïdes

Voir la partie 4.2. Dosage des flavonoïdes de l'étude 3.

4.3. Capacité antioxydante totale (CAT)

Voir la partie 4.3 Capacité antioxydante totale (TAC) de l'étude 3.

4.4. Piégeage des radicaux libres par le test DPPH

Voir la partie 4.5 ; Piégeage des radicaux libres par le test DPPH de l'étude 3.

5. Activité antibactérienne

5.1. Préparation des milieux de culture

La préparation de milieu gélosé consiste à solubiliser le milieu Muller Hinton (MH) gélosé (38 g) dans un litre d'eau distillée à un pH neutre (7.5). Le bouillon a été préparé en dissolvant 21 g du MH dans un litre d'eau distillée. Les deux milieux ont été stérilisés à l'autoclave à une température de 115 °C pendant 15 min.

5.2. Souches bactériennes

Les microorganismes résistants utilisés pour les tests *in vitro* étaient les souches suivantes (Tableau 24): quatre bactéries gram négative (*Escherichia coli* BLSE (ATB : 87) BGN, *Escherichia coli* (ATB : 57) B6N, *Escherichia coli* (ATB : 97) BGM et *Pseudomonas aeruginosa*) isolées au sein du centre hospitalier Hassan II de Fès, et une bactérie Gram-positif (*Staphylococcus aureus*) obtenue auprès de Laboratoire de Microbiologie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Fès.

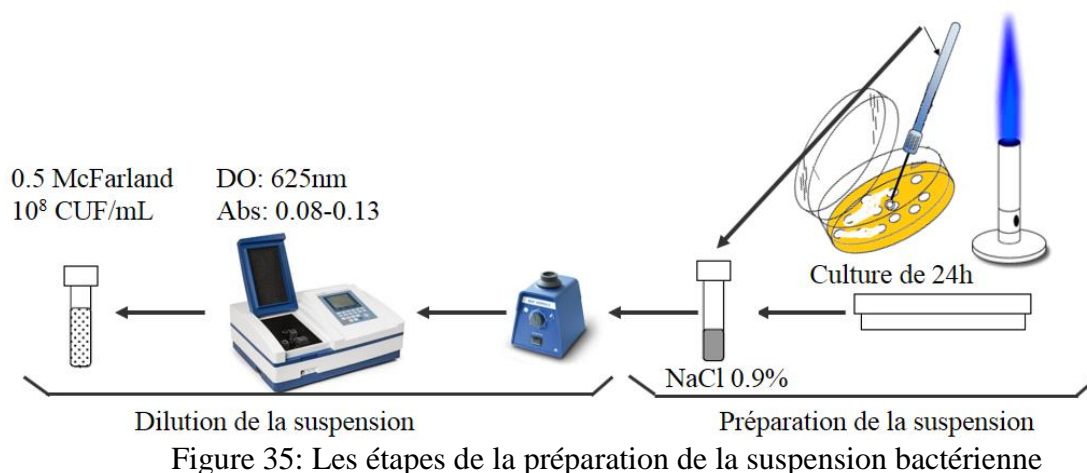
Tableau 24: Données sur les souches bactériennes testées

Bactérie	Antibiotiques
<i>Escherichia coli</i> BLSE (ATB : 87) BGN	CXM, AMX, CAZ, CRO, CTX, KF et CIP
<i>Escherichia coli</i> (ATB : 57) B6N	AMX, CTX, CXM, SXT et CIP
<i>Escherichia coli</i> (ATB : 97) BGM	AMX
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SXT et AMC
<i>Staphylococcus aureus</i>	VA

CXM: Céfuroxime; CRO: Ceftriaxone; AMX: Amoxicilline; CAZ: Ceftazidime; CTX: Céfotaxime; CIP: Ciprofloxacine; SXT: Triméthoprim/sulfaméthoxazole; AMC: Amoxicilline + acide clavulanique; VA: Vancomycine;

5.3. Préparation de la suspension bactérienne

L'inoculum bactérien a été obtenu à partir des colonies bactériennes fraîches (culture de 24 h). Les colonies ont été prélevées à l'aide d'une anse stérile et solubilisées dans une solution saline stérile (0.9 % NaCl) à l'aide d'un vortex pendant 20 secondes (Figure 35). La concentration de l'inoculum bactérien a été ajustée approximativement à 10^8 UFC/mL par la mesure de la densité optique (0.08-0.13), à une longueur d'onde de 625 nm, correspond à une densité de 0.5 McFarland (Dimitrijević et al., 2012).



5.4. Méthode de diffusion sur disque

La méthode de diffusion sur disque est une étape préliminaire pour le screening de l'activité antibactérienne. L'effet antibactérien des échantillons du vinaigre de pommes a été réalisé par la méthode décrite par Kirby-Bauer (Furtado and Medeiros, 1980). Elle consiste à ensemencer une culture jeune de microorganisme d'une suspension de 10^8 CFU/ml. Ensuite, on dépose un disque de papier Whatman stérile (6 mm), imbibé du VCP (10 μ l), sur les boîtes de pétri ensemencées. Les boîtes sont

incubées à 37 °C pendant 24 h. Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en mm (figure 36 et 37).

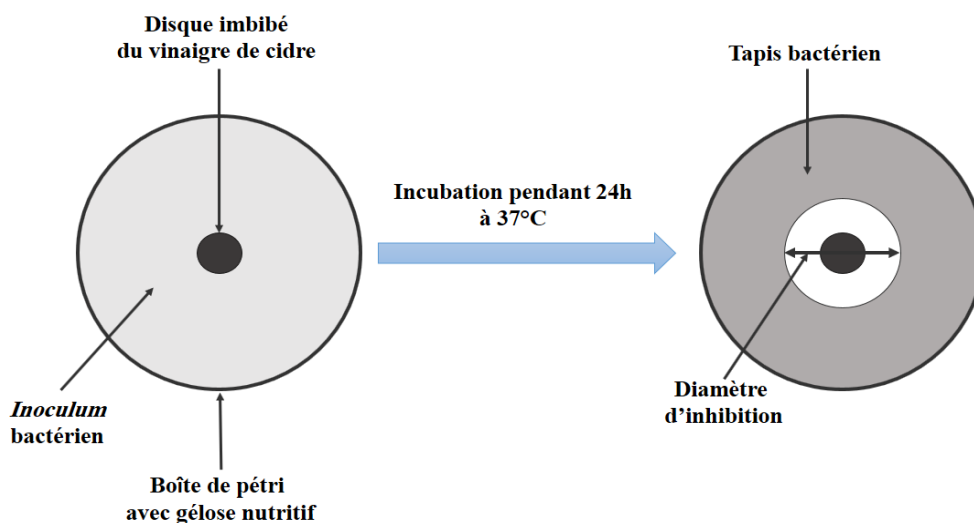


Figure 36: Principe de la méthode de diffusion par disque



Figure 37: Zone d'inhibition des échantillons de vinaigre contre *P.aeruginosa*

5.5.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

La concentration minimale inhibitrice a été déterminée par la technique de la micro-dilution en utilisant les microplaques de 96 puits (Master et al., 2004). Une série de dilution de dix concentrations du VCP dans des tubes à hémolyse stériles (1/2-1/512) a été préparé. 10µl de chaque dilution de VCP a été mis dans chaque puit contenant 180 µl de bouillon Mueller Hinton et 10µl de chaque suspension bactérienne d'une densité de $5 \cdot 10^5$ CFU/ml sont étalées dans les microplaques à 96 puits. Les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 18h. Après l'incubation, on ajoute à chaque puit 40 µl de chlorure de triphényltétrazolium à 0.5 % (TTC)

La concentration minimale inhibitrice correspond à la dose la plus faible qui ne produit pas de couleur rouge (Dimitrijević et al., 2012) (figure 38).

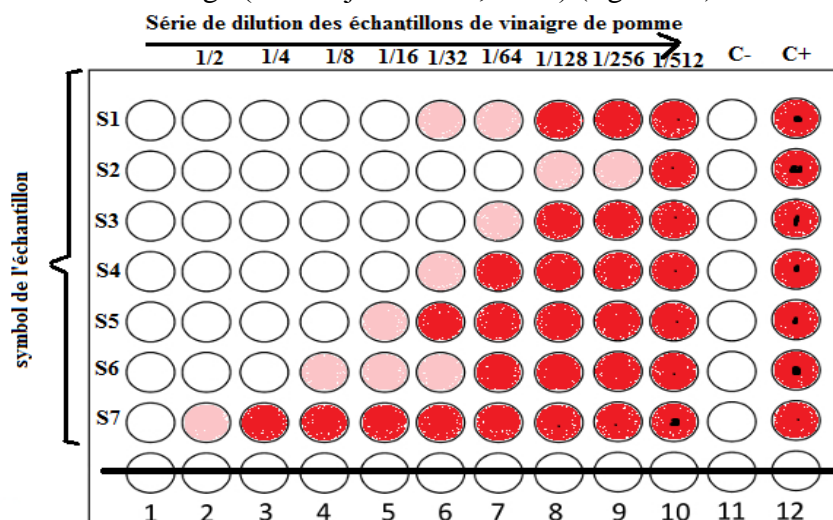


Figure 38: Détermination de la CMI de différentes bactéries

5.6. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB correspond à la plus faible concentration du VCP capable de tuer plus de 99.9% de l'inoculum bactérien initial après 24 h de culture à une température de 37 °C (Dimitrijević et al., 2012).

La méthode consiste à ensemencer 100 µl de chaque puit dépourvu de développement bactérien sur gélose nutritive. Les boîtes ensemencées sont incubées à 37 °C pendant 24 h. Après l'incubation, la CMB correspond à la concentration minimale en VCP pour laquelle aucun développement bactérien n'est remarqué.

6. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées par le coefficient de corrélation de Pearson (r) à un niveau de signification de 99% ($P < 0.01$). Le prétraitement des données et l'analyse de composante principale (ACP) ont été réalisés à l'aide de MultiBiplot 64 exécuté dans le logiciel MATLAB R2017a. Les comparaisons des échantillons du vinaigre de cidre de pomme ont été effectuées par le test de Tukey à l'aide du logiciel SPSS 23.

III. Résultats et discussion

1. pH, conductivité électrique, acidité titrable, °Brix et densité.

Les paramètres physicochimiques de différents échantillons reflètent la qualité du vinaigre de pomme. Le décret n°2-10-385, 2011 portant réglementation de la

production et du commerce de vinaigre se base sur deux paramètres comme indices de qualité : la teneur en acide acétique de l'ordre de 5 g/100 ml, et la teneur en alcool limitée à 0.5 %, les mêmes valeurs sont recommandées par la Commission Codex Alimentarius. Nous avons donc consacré cette partie à l'étude des paramètres physicochimiques de nos échantillons collectés dans différentes régions du Maroc afin de les utiliser comme normes de qualité pour le vinaigre de pomme. Les résultats des paramètres physicochimiques sont présentés dans le tableau 25.

Les échantillons du vinaigre de cidre de pomme sont produits à partir des variétés prédominantes (*Red délicious* et *Golden délicious*) des quatre stations d'étude.

Tableau 25: Les paramètres physicochimiques des échantillons du vinaigre de cidre de pomme.

Station/Échantillon		pH	Conductivité électrique (mS/cm)	Acidité Titrable %	°Brix	Densité
Midelt	S1	3,18±0,015 ^d	2,79±0,005 ^{ab}	5,4±0,1 ^a	5,2 ^b	1,020±0,0003 ^a
	S2	3,19±0,005 ^d	2,72±0,015 ^b	5,6±0,1 ^a	3,25 ^d	1,0123±0,0001 ^a
Azrou	S3	3,47±0,035 ^b	2,74±0,032 ^b	0,99±0,04 ^d	5,6 ^{ab}	1,0205±0,0016 ^a
Imouzzer	S4	3,54±0,028 ^b	2,80±0,009 ^b	3,04±0,07 ^b	4 ^c	1,0156±0,0003 ^a
kandar	S5	3,42±0,027 ^{bc}	2,90±0,015 ^a	2,19±0,04 ^c	5,22 ^b	1,0233±0,0011 ^a
Sefrou	S6	3,32±0,007 ^c	2,11±0,011 ^c	5,42±0,02 ^a	6 ^a	1,0217±0,0022 ^a
	S7	3,83±0,003 ^a	2,11±0,005 ^c	0,24±0,007 ^e	5,5 ^{ab}	1,0203±0,0013 ^a

a, b, c, d Les valeurs ayant la même lettre dans la colonne ne diffèrent pas significativement les unes des autres p<0,05.

La mesure du pH indique la richesse de l'échantillon en acides organiques issus du métabolisme des microorganismes lors de la production du vinaigre. Il est corrélé négativement à la teneur en acides organiques. Le pH des échantillons du VCP étudiés est compris entre 3,18 pour l'échantillon S1 et 3,83 pour S7. Généralement les échantillons de la région de Midelt présentent un pH plus faible, la différence entre le pH des deux échantillons de Midelt est non significative par contre elle est significative pour ceux de Sefrou. La différence entre les autres échantillons est significative (P<0,05). L'acidité titrable des différents échantillons varie entre 0,24±0,007 et 5,6±0,1 mg d'acide acétique pour 100 mL du VCP. Les résultats révèlent que la différence entre les deux échantillons de Midelt (S1 et S2) est non significative. L'échantillon S6 de la

région de Sefrou contient une teneur remarquable en acides organiques représentée en équivalent de l'acide acétique. Alors que les échantillons provenant d'Azrou (S3) et de Sefrou (S7) possèdent des valeurs très faibles d'acidité titrable par rapport aux autres échantillons du vinaigre étudié.

Le pH et l'acidité titrable peuvent servir comme des indices préliminaire et importants de la qualité du VCP, ce sont des facteurs sur lesquels se base le décret n°2-10-385 portant sur la production et la commercialisation du vinaigre au Maroc (Décret n°2-10-385, 2011). Le VCP est généralement acide suite au développement des microorganismes lors de processus de la fermentation des pommes qui transforment les glucides des pommes en acides organiques dont l'acide acétique qui est l'élément majoritaire (Patrignani et al., 2020; Solieri and Giudici, 2009). Ce pH acide confère au vinaigre ses propriétés antimicrobiennes (N. K. Hindi, 2013; HINDI et al., 2014; Hirshfield et al., 2003; Ousaaïd et al., 2021; Yagnik et al., 2018). Les acides organiques contribuent à la qualité organoleptique du VCP (Petsiou et al., 2014). De nombreux acides organiques se trouvent naturellement dans le vinaigre de pommes à des concentration modérées et qui n'ont aucun effet secondaire sur la santé des consommateurs (Liu et al., 2019b; Ryu et al., 1999; Sanarico et al., 2003), tels que l'acide acétique, l'acide lactique, l'acide ascorbique, l'acide citrique, l'acide malique, l'acide propionique, l'acide succinique, et l'acide tartrique. Le pH est corrélé négativement avec l'acidité titrable qui est d'une grande importance et qui se traduit par les propriétés bénéfiques du vinaigre de cidre de pomme (Nazırođlu et al., 2014a; Petsiou et al., 2014; Sakakibara et al., 2006; Zengin et al., 2013; Zhang et al., 2011), le pH diminue progressivement en raison de l'augmentation de la teneur des acides organiques (Duan et al., 2019). Les échantillons S1, S2 et S6 ont des valeurs proches de la valeur minimale exigée par la législation marocaine et fixée à 6 grammes d'acide acétique pour 100 mL (Décret n°2-10-385, 2011). Des études publiées ont rapportées que les valeurs de l'acidité des vinaigres de fruit varient entre $1,11 \pm 0,02$ (vinaigre de pomme) et $5,61 \pm 0,00$ (vinaigre de mandarine) en degré acétimétrique (Sengun et al., 2019), $6,33 \pm 0,13$ degré acétimétrique pour le vinaigre de pomme (Na et al., 2013), et $3,88 \pm 0,18$ degré acétimétrique pour le vinaigre des dattes (Siddeeg et al., 2019).

En ce qui concerne la conductivité électrique, elle renseigne sur la minéralisation des échantillons de VCP analysés. Les quatre premiers échantillons présentent des valeurs comparables de l'ordre de 2,72 à 2,80 mS/cm. L'échantillon S5

présente la conductivité électrique la plus élevée ($2,90 \pm 0,015$ mS/cm) et l'échantillon S7 a la valeur la plus faible ($2,11 \pm 0,005$ mS/cm). Elle reflète la teneur en sels minéraux des différents échantillons de vinaigres. Il n'y avait pas de valeurs règlementaires de la législation Marocaine pour le taux admissible ou maximum de la conductivité électrique pour les vinaigres mais nos échantillons présentent des valeurs remarquables (Tableau 25). La conductivité électrique du vinaigre des dattes est élevée par rapport au vinaigre de pomme (Siddeeg et al., 2019). Il est à savoir que l'eau de robinet ajoutée aux dattes pour produire le vinaigre se caractérise par une charge en sels minéraux non négligeable (HAFIDI and MESSAOUDI, 2015).

Le degré Brix de différents échantillons de vinaigre de cidre de pomme est représenté dans le tableau 25. Il permet d'informer sur la concentration des composés présents dans le vinaigre. Les résultats montrent que les valeurs varient entre $3,25$ et 6° indiquant des teneurs en solides solubles variables selon l'échantillon du vinaigre et son origine. La valeur minimale enregistrée concerne l'échantillon S3 par contre celle la plus élevée revient à l'échantillon S6. Le degré Brix est en relation étroite avec la matière première (Solieri and Giudici, 2009). Généralement, le $^\circ$ Brix varie entre $1,02$ et $20,80$ pour les vinaigres de fruit (Budak, 2015; Ozturk et al., 2015). Les résultats obtenus dans la présente étude sont élevés de ceux rapportés par (Sengun et al., 2019) pour le vinaigre de kaki ($3,00 \pm 0,00$), le vinaigre de mandarine ($3,50 \pm 0,00$), le vinaigre de raisin ($3,00 \pm 0,00$), le vinaigre d'abricot ($2,00 \pm 0,00$), le vinaigre des prunes ($5,00 \pm 0,00$), le vinaigre de figuier ($3,00 \pm 0,00$), le vinaigre des fruits d'églantier ($2,00 \pm 0,00$), le vinaigre de pomme ($1,00 \pm 0,00$), le vinaigre de grenade ($2,80 \pm 0,00$), et le vinaigre de mure ($2,70 \pm 0,00$).

La teneur minimale en solide soluble ou densité des différents échantillons mesurée à l'aide d'un réfractomètre présente des valeurs presque comparables.

2. Eléments minéraux

La teneur en éléments minéraux est étroitement liée à plusieurs facteurs comme la matière première utilisée pour la production du vinaigre, la variété des pommes, la nature du sol, et les fertilisants (Ousaaïd et al., 2021). La teneur des sels minéraux n'est pas considérée comme un marqueur de qualité selon le Décret n°2-10-385 portant sur la réglementation de la production et du commerce de vinaigre et la Commission Codex Alimentarius. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 26.

Tableau 26: La teneur des éléments minéraux de différents échantillons de vinaigre de pomme en mg/l.

Échantillon	K	Na	Ca	Mg	P	Fe	Zn	Mn	Cu	Pb	Cr	Cd
S1	32,90±0,02	10,67±0,1	4,05±0,12	5,33±0,1	1,33±0,08	0,03±0,02	1,34±0,03	ND	ND	ND	ND	ND
S2	39,15±0,04	4,59±0,02	2,63±0,08	3,71±0,04	1,36±0,1	0,02±0,01	0,24±0,02	ND	ND	ND	ND	ND
S3	37,87±0,03	6,12±0,03	3,21±0,9	3,72±0,08	1,72±0,3	0,09±0,03	0,25±0,04	ND	ND	ND	ND	ND
S4	30,54±0,02	4,23±0,12	2,17±0,03	3,09±0,1	2,12±0,09	0,02±0,01	0,04±0,01	ND	ND	ND	ND	ND
S5	32,89±0,04	4,12±0,06	1,86±0,02	2,10±0,03	0,98±0,05	0,04±0,01	ND	ND	ND	ND	ND	ND
S6	17,23±0,9	1,75±0,09	0,99±0,04	1,54±0,04	1,01±0,1	0,11±0,02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
S7	16,92±0,07	2,10±0,01	1,33±0,02	1,64±0,09	1,65±0,02	0,02±0,01	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND : non détecté.

D'après le tableau 26, le taux des éléments minéraux varie selon les échantillons et également selon la station d'échantillonnage. Le potassium est l'élément prépondérant dans le vinaigre de pomme, sa teneur atteint 39,15±0,04 mg/l pour l'échantillon S2 de la région de Midelt. Cependant les deux échantillons S6 et S7 collectés à partir de la région de Sefrou présentent des valeurs de potassium les plus faibles avec 17,23±0,9 et 16,92±0,07 mg/l respectivement. Les résultats montrent que l'échantillon S1 de Midelt présente les valeurs les plus élevées en sodium, calcium, et magnésium avec 10,67±0,1 mg/l, 4,05±0,12 mg/l et 5,33±0,1 mg/l respectivement. L'échantillon S6 possède des taux les moins faibles en sodium, calcium, et magnésium avec des valeurs de 1,75±0,09 mg/l, 0,99±0,04 mg/l et 1,54±0,04 mg/l respectivement.

Nous observons que le phosphore est abondant dans l'échantillon S4 d'Immouzzar kandar avec une valeur de 2,12±0,09 mg/l et l'échantillon S1 de Midelt contient la quantité la plus élevée en Zinc (1,34±0,03 mg/l). Les métaux lourds n'ont pas été détectés dans tous les échantillons analysés ce qui montre la pureté et la bonne qualité de nos échantillons.

La composition minérale d'un produit naturel est un indice de la détermination de l'origine botanique d'un produit donné (Laaroussi et al., 2020). Elle est étroitement liée à la matière première utilisée pour produire le cidre (Solieri and Giudici, 2009). En addition, la composition des pommes en éléments minéraux est affectée par plusieurs facteurs tels que la variété de fruit, l'origine géographique, et l'utilisation des fertilisants (Jackson et al., 1977).

La comparaison des échantillons de vinaigre selon leur composition minérale nous a permis de regrouper les échantillons selon les valeurs en éléments minéraux comparables (Figure 39).

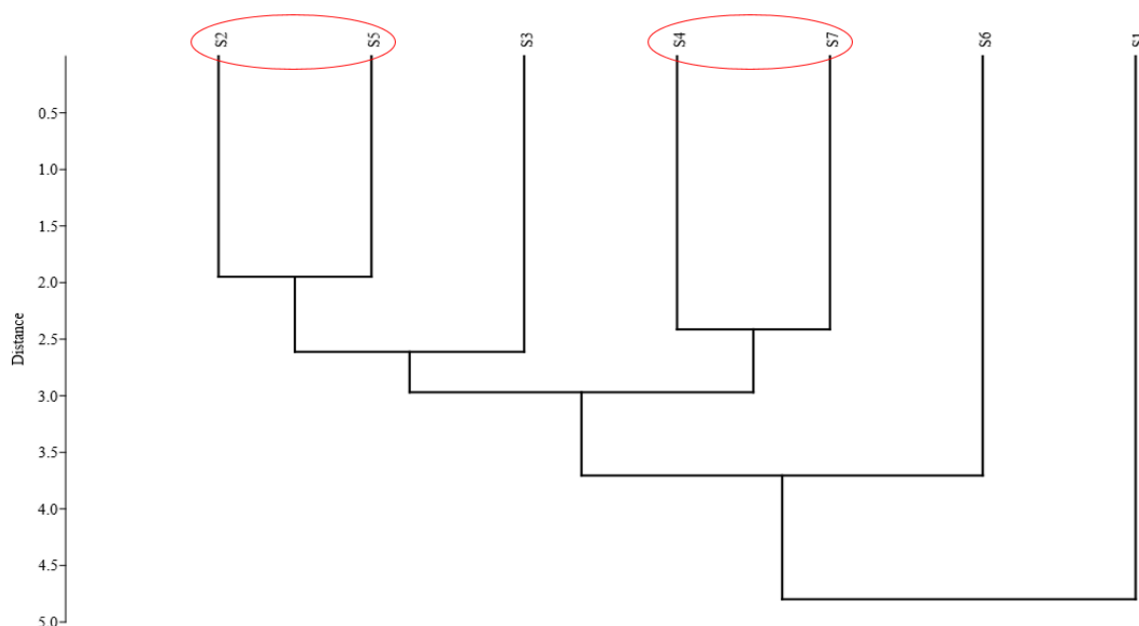


Figure 39: Dendrogramme de la comparaison des échantillons de vinaigre de pomme selon leur composition minérale

L'absence des métaux lourds dans nos échantillons montre leur pureté et leur conformité. D'autres études (Paneque et al., 2017), ont détecté la présence de 21 éléments minéraux et métaux lourds (Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, Sr, V, et Zn), et Fu et al., (2013) ont montré la présence de 20 éléments minéraux (Na, Mg, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Ba, et Pb).

Les oligoéléments jouent un rôle très important dans le bon fonctionnement de l'organisme en tant que seconds messagers et catalyseurs de plusieurs réactions biochimiques (Alqarni et al., 2014). Le zinc intervient dans plusieurs fonctions de l'organisme, il régule la somnolence (Cherasse and Urade, 2017; Hajianfar et al., 2020), il affecte les performance de croissance, le dépôt tissulaire de zinc, les métabolites lipidiques et l'expression des gènes impliqués dans la lipogenèse et la lipolyse (Shi et al., 2020), et booste le système immunitaire contre les affections (Derouiche, 2020; Sharma et al., 2020).

3. Analyses phytochimiques

3.1. Quantification des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux joue un rôle crucial dans le criblage préliminaire des échantillons pour choisir le meilleur candidat pour des études ultérieures *in vivo*. Ils sont déterminés par l'utilisation de la méthode colorimétrique (Folin-Ciocalteu) selon le protocole décrit dans la partie (**Dosage des polyphénols totaux**). Les valeurs sont exprimées en milligrammes équivalent de l'acide gallique pour cent millilitre du VCP (mg EAG/100 ml). Les résultats sont présentés dans le tableau 27.

Tableau 27: La teneur des polyphénols des échantillons de vinaigre de pommes de différentes régions.

Station	Échantillon	Polyphénols mg EAG/100 ml
Midelt	S1	118,25±6,5 ^{ab}
	S2	147,54±12,1 ^a
Azrou	S3	97,08±7,5 ^{bc}
Imouzzar kandar	S4	81,33±6,91 ^{bc}
	S5	95±4,58 ^{bc}
Sefrou	S6	68,91±4,5 ^c
	S7	88,91±2,33 ^{bc}

a, b, c, d Les valeurs ayant la même lettre dans la colonne ne diffèrent pas significativement les unes des autres $p < 0,05$.

Ce protocole expérimental nous a permis d'estimer la teneur de différents composés phénoliques contenus au niveau des échantillons de vinaigre de pommes collectés dans différentes régions du Maroc.

Les résultats de l'analyse des polyphénols totaux révèlent nettement que les échantillons de la région de Midelt ont les teneurs les plus élevées avec 118,25±6,5 et 147,54±12,1 mg EAG/100 ml pour S1 et S2 respectivement. Statistiquement, il existe une différence significative entre les échantillons étudiés ($P < 0,05$). Les échantillons S6 de la région de Sefrou et S4 de celle d'Imouzzar kandar contiennent des teneurs les moins faibles en polyphénols (68,91±4,51 mg EAG/100ml et 81,33±6,91 mg EAG/100 ml respectivement). Cette variabilité de la composition phénolique des échantillons de

vinaigre est liée à la nature de pommes utilisées pour la production de vinaigre, l'origine géographique de l'échantillon, la durée de processus de la fermentation, et la durée de stockage (Ousaaid et al., 2021). L'étude de la composition phénolique de vinaigre de pomme produit par différentes techniques a montré que le vinaigre issu de processus artisanal (culture en surface par macération) (figure 32) contenait la quantité la plus élevée en polyphénols (90,859 mg/100 ml et 41,69 mg/100 ml pour le vinaigre produit par la méthode artisanale et celui de la méthode industrielle respectivement) (Budak et al., 2011). Bouazza et al., (2016) ont déterminé la teneur en polyphénols totaux de vinaigre de pomme, vinaigre de grenade, et vinaigre de la figue de barbarie, les valeurs trouvées étaient de $33,06 \pm 0,06$; $37,90 \pm 0,33$, et $28,76 \pm 0,14$ mg/100 ml respectivement. En outre, le vinaigre de raisin contient des taux de polyphénols variant entre 101 ± 16 et 153 ± 19 mg EAG/100 ml, de même la teneur des polyphénols de vinaigre de pomme variait entre 424 ± 9 et 64 ± 14 mg EAG/100 ml. Ozturk et al., (2015) ont rapporté des valeurs inférieures à celles obtenues au cours de la présente étude (les polyphénols $43,48 \pm 7,55$ - $4,04 \pm 2,58$ mg EAG/100ml).

3.2. Quantification des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont déterminés par l'utilisation de la méthode de chlorure d'aluminium. Les valeurs sont exprimées en milligrammes équivalent de la quercétine pour cent millilitre du VCP (mg EQ/100ml). Les résultats sont présentés dans le tableau 28.

Tableau 28: La teneur des flavonoïdes des échantillons du VCP de différentes régions.

Station	Échantillon	Flavonoïdes mg EQ/100 ml
Midelt	S1	4,72±0,20 ^c
	S2	14,76±0,43 ^{ab}
Azrou	S3	13,93±3,16 ^{ab}
Imouzzar kandar	S4	7,34±0,32 ^{bc}
	S5	5,42±0,80 ^c
Sefrou	S6	5,14±1,64 ^c
	S7	15,32±0,20 ^a

^{a, b, c, d} Les valeurs ayant la même lettre dans la colonne ne diffèrent pas significativement les unes des autres $p < 0,05$.

Les flavonoïdes sont connus pour leur pouvoir antioxydant remarquable et leurs propriétés biologiques intéressantes. Ils constituent l'un des critères importants sur lesquels on s'est basé pour choisir le meilleur échantillon pour les études ultérieures *in vivo*. D'après le tableau 28, il s'avère que les valeurs en flavonoïdes varient d'un échantillon à l'autre et également d'une région à l'autre. L'échantillon S7 de la région de Sefrou présente la valeur la plus élevée (15,32±0,20 mg EQ/100 ml), par contre S1 de la région de Midelt contient la plus faible teneur en flavonoïdes avec une valeur de 4,72±0,20 mg EQ/100 ml. L'analyse statistique de la différence entre les échantillons montre une différence significative entre les échantillons du vinaigre ($P < 0,05$). Les échantillons S2, S3, et S7 présentent des teneurs en flavonoïdes presque comparables. Les valeurs en flavonoïdes obtenues sont moins faibles que celles évoquées par Sengun et al., (2019) pour le vinaigre de raisin (22,18±0,34 mg CE/100 ml), le vinaigre des prunes (47,08±0,36 mg CE/100ml), le vinaigre des fruits d'églantier (23,42±0,98), le vinaigre de grenade (26,51±0,33 mg CE/100 ml) et le vinaigre de mure (32,1±0,78 mg CE/100 ml).

3.3.Capacité antioxydante totale (CAT)

La capacité antioxydante totale de nos échantillons est déterminée par l'utilisation de la méthode de phosphomolybdène. Les résultats sont exprimés en

milligrammes équivalent de l'acide ascorbique pour cent millilitre du vinaigre de cidre (mg EAA/100 mL). Les résultats sont présentés dans le tableau 29.

Tableau 29: Résultats de la capacité antioxydante totale de différents échantillons du VCP.

Station	Échantillon	Capacité antioxydante totale mg EAA/100 ml
Midelt	S1	10,89±0,54 ^b
	S2	13,27±0,47 ^a
Azrou	S3	12,33±0,09 ^{ab}
Imouzzer kandar	S4	2,17±0,18 ^e
	S5	13,53±0,07 ^a
Sefrou	S6	5,44±0,08 ^d
	S7	8,62±0,06 ^c
BHT		-
Acide ascorbique		-

^{a, b, c, d} Les valeurs ayant la même lettre dans la colonne ne diffèrent pas significativement les unes des autres $p < 0,05$. BHT : Hydroxytoluène butylé

L'analyse des résultats révèle que tous les échantillons montrent une activité antioxydante intéressante. L'échantillon S5 de la région d'Imouzzer kandar présente la capacité la plus élevée avec une valeur de 13,53±0,07 mg EAA/100ml ($P < 0,05$). Par contre, la capacité antioxydante totale de l'échantillon S4 de la même région est la plus faible (2,17±0,18 mg EAA/100ml) parmi tous les autres échantillons ($P < 0,05$). Les échantillons S2, S3 et S5 présentent des valeurs presque identiques. Quant aux standard utilisés, les résultats obtenus montrent que l'hydroxytoluène butylé et l'acide ascorbique ne présentent aucune capacité antioxydante totale.

3.4. Activité de piégeage du radical libre DPPH.

Les résultats de l'activité de piégeage du radical libre sont exprimés en IC₅₀ (µL/ml) qui est la concentration inhibitrice médiane du radical (DPPH) de différents échantillons de vinaigre de cidre de pomme sont présentés dans le tableau 30.

Tableau 30: Résultats de l'activité anti radicalaire (DPPH) de différents échantillons du VCP.

Station	Échantillon	DPPH IC ₅₀ µl/ml
Midelt	S1	0,92±0,014 ^b
	S2	0,71±0,039 ^c
Azrou	S3	0,45±0,013 ^d
Imouzzar kandar	S4	0,47±0,003 ^d
	S5	0,66±0,005 ^c
Sefrou	S6	1,19±0,014 ^a
	S7	0,46±0,006 ^d
BHT (mg/ml)		0,021±0,01
Acide ascorbique		-

^{a, b, c, d} Les valeurs ayant la même lettre dans la colonne ne diffèrent pas significativement les unes des autres $p < 0,05$. BHT : Hydroxytoluène butylé

L'échantillon S3 montre la capacité de piégeage du radical libre DPPH la plus élevée (avec un IC₅₀ le plus faible, 0,45±0,013 µl/ml). Alors que, l'échantillon S6 possède l'activité de piégeage la plus faible parmi tous les échantillons étudiés avec une IC₅₀ la plus élevée (1,19±0,014 µl/ml) ($P < 0,05$). Quant aux autres échantillons S3, S4 et S7 ils ont des valeurs comparables. L'hydroxytoluène butylé (BHT) présente un pouvoir antiradical DPPH avec une valeur d'IC₅₀ d'ordre de 0,021±0,01 mg/ml, par contre l'acide ascorbique ne présente aucun effet contre le radical DPPH.

Le pouvoir antiradicalaire du VCP évalué en équivalent de Trolox varie entre 7,14 ±1 et 10,87±1,49 TEAC/ml (Bakir et al., 2016). Dans le même contexte, Zhao et al., (2018) ont rapporté des valeurs inférieures variant entre 0,017±0,001 et 0,054±0,007 mmol TEAC/ml. Dans une autre étude, le pouvoir antiradicalaire a atteint 0,147 ± 0,003 µg TE/ml pour le vinaigre de pomme, 0,0907 ± 0,008 µg TE/ml, pour le vinaigre de kaki, 0,217 ± 0,007 µg TE/ml pour le vinaigre de mandarine, 0,119±0,032 µg TE/ml, pour le vinaigre de raisin, 0,130±0,024 µg TE/ml pour le vinaigre d'abricot, 0,302±0,006 µg TE/ml, pour le vinaigre de prune, 0,047±0,003 µg TE/ml pour le vinaigre de figuier, 0,111±0,003 µg TE/ml pour le vinaigre d'égantier, 0,143±0,006 µg TE/ml pour le vinaigre de grenade 0,099±0,014 µg TE/ml pour le vinaigre de mure (Sengun et al., 2019).

4. Activité antibactérienne

4.1. Test de sensibilité sur le milieu gélosé Mueller Hinton.

La sensibilité des microorganismes testés est traduite par le diamètre de la zone d'inhibition de chaque échantillon du vinaigre de cidre de pomme. Les diamètres d'inhibition sont déterminés par la méthode de diffusion par disque sur le milieu gélosé Muller Hinton. Les résultats sont présentés dans le tableau 31.

Tableau 31: Diamètres d'inhibition, en millimètres, des différents échantillons du vinaigre étudiés contre cinq souches bactériennes.

Station / échantillon	<i>Escherichia coli</i> BLSE (ATB:87) BGN	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Escherichia</i> <i>coli</i> (ATB:57) B6N	<i>Escherichia</i> <i>coli</i> (ATB:97)BGM	
Midelt	S1	13,55±0,63 ^{ab}	15,6±0,56 ^b	22,5±2,12 ^{abc}	13,75±0,35 ^{bc}	16,5±0,70 ^{ab}
	S2	20,5±0,70 ^a	15,65±0,49 ^b	27,65±0,91 ^a	18,85±0,21 ^a	18,95±0,07 ^a
Azrou	S3	11,7±0,42 ^b	11,05±0,07 ^c	14,85±0,21 ^c	12,45±0,63 ^c	12,5±0,70 ^c
Imouzzer	S4	12,5±0,56 ^a	14,85±0,21 ^b	21,52±0,67 ^{bc}	12,01±0,007 ^c	13,25±1,06 ^{bc}
Kandar	S5	11,1±0,14 ^{ab}	13,75±0,35 ^b	17,6±0,56 ^{cd}	11,6±0,84 ^c	15,69±0,55 ^{abc}
Sefrou	S6	17,5±0,70 ^{ab}	17,95±0,21 ^a	26,75±0,35 ^{ab}	15,5±0,70 ^b	16,54±0,64 ^{ab}
	S7	--	--	--	--	--

^{a, b, c, d} Les valeurs ayant la même lettre dans la colonne ne diffèrent pas significativement les unes des autres $p < 0,05$.

La valeur moyenne des diamètres d'inhibition de différents échantillons varie entre 11,01±0,14 et 27,65±0,91 mm. Les échantillon S2 et S6 présentent un pouvoir antibactérien plus important par rapport aux autres échantillons sur les microorganismes testés.

Généralement, la souche gram-positive *Staphylococcus aureus* est sensible aux différents échantillons de vinaigre. Les résultats obtenus sont en accord avec d'autres études (N. K. Hindi, 2013; HINDI et al., 2014; Ozturk et al., 2015c; Yagnik et al., 2018; Zhang et al., 2011). De même, nous avons enregistré une sensibilité significative des bactéries Gram-négatives examinées. La résistance bactérienne pose des menaces sanitaires majeures dans le monde entier à des échelles inconcevables. Le vinaigre de pomme s'est avéré avoir une puissante activité antibactérienne contre les bactéries

résistantes à la méthicilline, la céfépime et la combinaison de la céfépime et l'enmetazobactame (Yagnik et al., 2021, 2018).

4.2. Concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) nous renseigne sur la faible concentration du vinaigre capable d'inhiber *in vitro* toute culture visible des souches étudiées. Elle est déterminée par l'utilisation de la méthode de micro-dilution sur microplaque. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 32.

L'analyse des résultats révèle que les valeurs de la CMI varient entre 0,781 et 25 µl/ml. L'échantillon S2 de la région de Midelt possède un pouvoir antibactérien remarquable traduit par les valeurs faibles de CMI contre les différentes souches bactériennes examinées dans cette étude. Par contre, l'échantillon S7 présente les valeurs les plus élevées de la CMI. Ces résultats montrent clairement que l'activité antibactérienne varie largement d'un échantillon du VCP à l'autre, ce qui est probablement expliqué par les différences entre les facteurs de l'environnement dans la production de pommes d'une région à une autre, la méthode de production et de conservation du VCP.

Tableau 32: La concentration minimale inhibitrice en µl/ml de différents échantillons du vinaigre de cidre de pomme.

Station / échantillon		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
		BLSE (ATB:87) BGN	<i>aeruginosa</i>	<i>aureus</i>	(ATB:57) B6N	(ATB:97)BGM
Midelt	S1	3,125	1,562	3,125	3,125	3,125
	S2	1,125	0,781	1,125	1,125	1,125
Azrou	S3	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5
Imouizzer kandar	S4	3,125	3,125	6,25	3,125	3,125
	S5	3,125	3,125	6,25	1,25	0,625
Sefrou	S6	1,562	1,562	1,562	1,562	1,562
	S7	25	12,5	25	25	25

4.3. Concentration minimale bactéricide (CMB).

La détermination de la CMB qui permet de détruire la totalité des bactéries présentes dans le milieu s'effectue par l'ensemencement d'une partie de chaque puit

dont la concentration est supérieure ou égale à la CMI sur un milieu gélosé MH. Les résultats obtenus oscillent entre 3,125 et 50 µl/ml (Tableau 33). L'échantillon S2 présente des valeurs de la CMB les plus faibles contre trois microorganismes (*Escherichia coli* BLSE (ATB :87 BGN et ATB : 97 BGM) et *Pseudomonas aeruginosa*). De même, l'échantillon S6 de la région de Sefrou possède les faibles CMB contre toutes les souches à l'exception de *Staphylococcus aureus*. Par contre, l'échantillon S7 possède des valeurs de la CMB les plus élevées. L'échantillon S1 possède une valeur de la CMI égale à la valeur de la CMB. Les valeurs de la CMB enregistrées sont égales au double ou plus de la CMI.

Tableau 33: La concentration minimale bactéricide de différents échantillons du vinaigre de cidre de pomme.

Station / échantillon		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
		BLSE (ATB:87) BGN	<i>aeruginosa</i>	<i>aureus</i>	(ATB:57) B6N	(ATB:97)BGM
Midelt	S1	3,125	6,25	12,5	6,25	6,25
	S2	3,125	3,125	6,25	6,25	3,125
Azrou	S3	12,5	25	25	12,5	25
Imouzzer	S4	6,25	6,25	12,5	12,5	6,25
kandar	S5	6,25	6,25	12,5	12,5	6,25
Sefrou	S6	3,125	3,125	6,25	3,125	3,125
	S7	50	25	50	50	25

5. Analyse multivariée et corrélation des paramètres étudiés

Pour comprendre la distribution des échantillons du vinaigre de cidre de pomme en fonction des paramètres évalués dans la présente étude, il est nécessaire d'utiliser des outils statistiques tels que l'analyse en composante principale qui est un excellent outil pour explorer le lien entre les variables et les similitudes entre les échantillons (Forina et al., 1987).

Les paramètres évalués sont concentrés dans un seul groupe formé par tous les paramètres étudiés (Figure 42). Dans notre étude, les deux premières composantes principales représentaient successivement 70,32 % et 14,08 % des informations contenues dans la matrice de données originales (Figure 42). La première composante

principale conserve les informations majeures, est corrélé positivement avec le pH, les flavonoïdes, et également la concentration minimale inhibitrice. Par conséquent, une corrélation négative peut être observée entre la même composante et les polyphénols, l'acidité titrable, la conductivité électrique, et les activités antioxydantes et antibactériennes. Compte tenu des similitudes des échantillons de vinaigre de pomme, la première composante a permis de distinguer deux groupes dont chacun avait des caractéristiques similaires en termes d'activités antioxydantes et antibactériennes. Le premier groupe composé d'échantillons S1 et S2 ont une teneur élevée en polyphénols et par conséquent des effets antioxydants et antibactériens remarquables. Le même groupe est situé dans la partie négative du graphe. L'échantillon S7 a des caractéristiques opposées et présent dans la partie droite du graphe (Figure 40). L'ACP nous montre qu'il existe une corrélation négative entre la concentration minimale inhibitrice de toutes les souches bactériennes étudiées et la teneur en polyphénols totaux et l'acidité titrable (cercles colorés en noir). En outre une corrélation positive a été remarquée entre le diamètre d'inhibition de différentes souches bactériennes et la teneur en polyphénols totaux et l'acidité titrable (cercles colorés en orange).

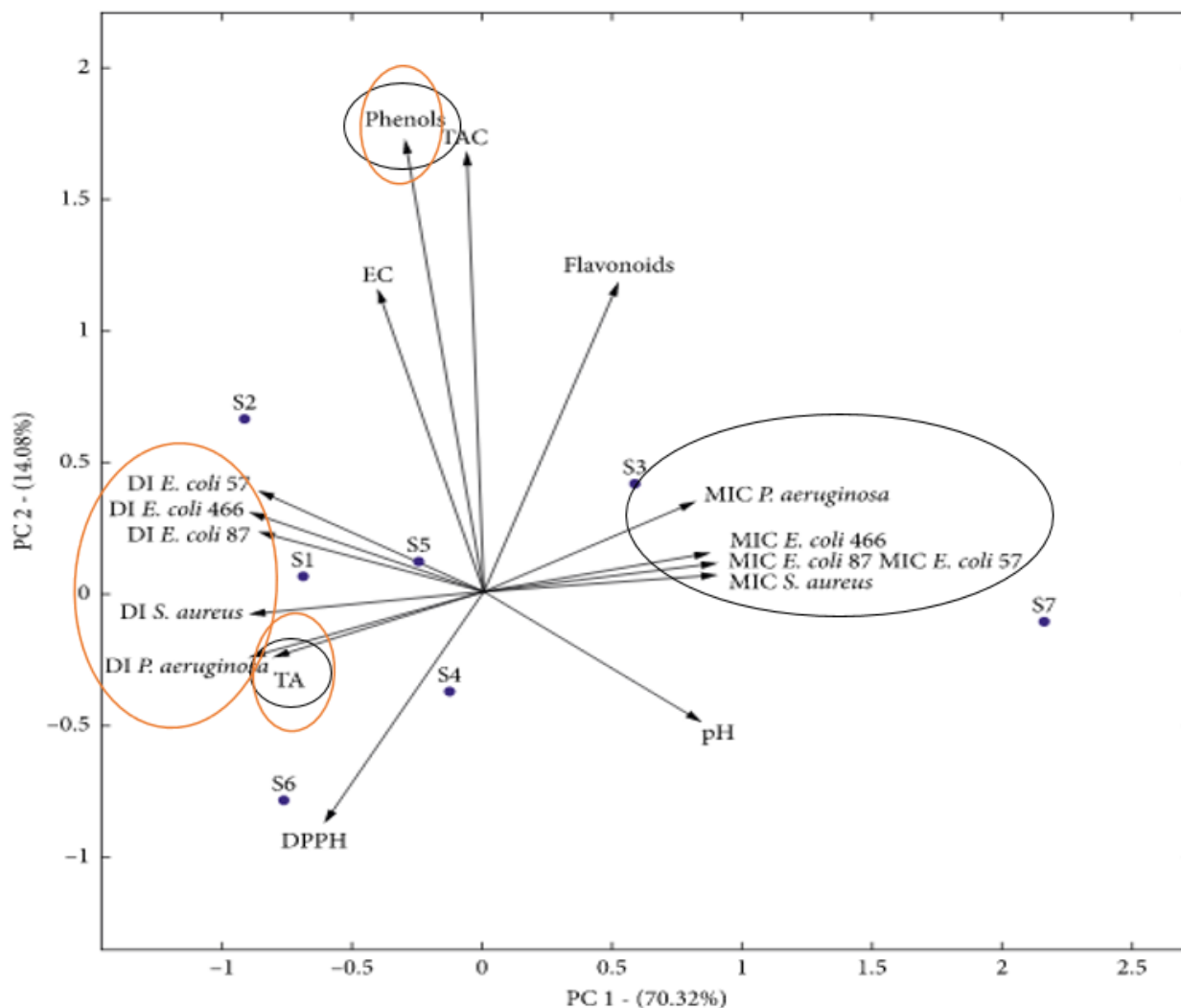


Figure 40: Analyse en composante principale (ACP) des échantillons du vinaigre de cidre de pomme analysés en utilisant les paramètres évalués : les phénols, les flavonoïdes, IC₅₀ DPPH, le pH, TAC : la capacité antioxydante totale, TA : acidité titrable, CE : conductivité, DI : diamètre d'inhibition.

Tableau 34: Coefficients de corrélation de Pearson entre les paramètres physicochimiques évalués, le diamètre d'inhibition DI, et la CMI des échantillons du vinaigre

	DPPH (IC ₅₀)	DI <i>E. coli</i> 87	DI <i>P. aeruginosa</i>	DI <i>S. aureus</i>	DI <i>E. coli</i> 57	DI <i>E. coli</i> 466	CMI <i>E. coli</i> 87	CMI <i>P. aeruginosa</i>	CMI <i>S. aureus</i>	CMI <i>E. coli</i> 57	CMI <i>E. coli</i> 466		
pH	-0,662	-0,889**	-0,856*	-0,885**	-	0,912**	0,930**	0,842*	0,765*	0,908**	0,826*	0,820*	
AT	0,809*	0,840*	0,808*	0,885**	0,796*	0,787*	-	0,808*	-0,887**	-	0,877**	0,776*	-0,764*
Phénols	-0,033	0,390	0,139	0,283	0,417	0,373	-0,222	-0,268	-0,285	-0,212	-0,208	-0,208	
Flavonoïdes	-0,589	-0,292	-0,633	-0,482	-0,312	-0,489	0,637	0,642	0,584	0,654	0,659	0,659	
CAT	-0,053	0,098	-0,061	-0,043	0,170	0,208	0,022	0,097	-0,025	-0,012	-0,023	-0,023	

** : corrélation est significative (P<0,01), * : corrélation est significative (p<0,05), DI: diamètre d'inhibition; TA: acidité titrable; CAT: capacité antioxydante totale

IV. Conclusion

Cette étude pionnière au Maroc a permis de déterminer les paramètres physicochimiques et les activités antioxydante et antibactérienne des vinaigres de cidre de pomme de plusieurs stations au Maroc. La caractérisation de ces paramètres est très importante afin de les utiliser comme normes de qualité pour le vinaigre de cidre de pomme au Maroc et ainsi de protéger les consommateurs des fraudes. Les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne montrent également l'importance du vinaigre de cidre de pomme dans l'éradication des bactéries pathogènes. D'autres investigations sont souhaitables pour étudier les mécanismes moléculaires responsables de cette activité afin de développer de nouveaux traitements contre les bactéries multi résistantes.

Chapitre 5 : Profil phénolique et pouvoir
extracteur du VCP de la région de Midelt

I. Introduction

Rosa canina connue dans la région de Midelt sous le nom vernaculaire amazigh ‘‘Tabgha’’. Cette plante médicinale possède plusieurs vertus thérapeutiques, ses feuilles sont utilisées dans la médecine traditionnelle par la population de cette région pour traiter les troubles de l’érection, les troubles de l’estomac, les maux de tête, et la chute des cheveux (Benlamdini et al., 2014). Les fruits de *Rosa canina* sont utilisés pour préparer le vin, le jus, le thé la confiture, la gelée et parfois mélangés avec des œufs secs de saumon (Moerman, 1998). Les fruits de cette plante sont une source précieuse pour l’industrie alimentaire et pharmaceutique. Au cours de la dernière décennie, l’églañtier a suscité davantage d’intérêt car il contient des composés connus pour avoir plusieurs propriétés anti-oxydantes, antimutagènes et anticancérigènes (Tumbas et al., 2012). Il a été documenté également que les cynorhodons ont été utilisé pour la prévention et le traitement du rhume, de la grippe et du diabète dans de nombreux pays européens (Chrubasik et al., 2008).

L’objectif de la présente étude vise à évaluer le pouvoir extracteur du VCP en le comparant à d’autres solvants organiques, comme étude préliminaire en vue d’approfondir les études *in vivo* de l’extrait de vinaigre. Le second objectif était d’analyser la composition phytochimique du VCP (S2) candidat des études *in vivo*.

II. Matériel et méthodes

1. Préparation des extraits

Les fruits de *Rosa canina* ont été collectés à Ait Ayach dans la région de Midelt. Cette plante médicinale se développe aux alentours des vergers de pommier (Figure 41). Les fruits ont été récoltés en Novembre 2016 à Ait Ayach (Zhira) (32°41’N 4°44’W). Avant l’extraction, les fruits ont été lavés puis séchés à l’air libre et débarrassés de graines. La pelure des fruits a été écrasée pour avoir une poudre. Le processus d’extraction a été réalisé avec cinq solvants, le vinaigre de cidre de pomme S2, l’éthanol 50 %, l’éthanol 70 % et le méthanol 80 % avec macération. Le rapport solide/liquide était d’ordre de 1/10. Les extraits obtenus ont été filtrés sur papier filtre

puis analysés. Les solvants ont été choisis selon l'efficacité d'extraction des composés d'intérêt biologiques.



Figure 41: Fruit de *Rosa canina*

2. Dosage des polyphénols

Voir la partie 5.1. Polyphénols (Etude 2).

3. Dosage des flavonoïdes

Voir la partie 5.2. Flavonoïdes (Etude 2).

4. Capacité antioxydante totale (CAT)

Voir la partie 5.3. Capacité antioxydante totale (CAT) (Etude 2).

5. Piégeage des radicaux libres par le test DPPH

Voir la partie 5.4. Piégeage des radicaux libres par le test DPPH

6. Profil phénolique du VCP par UHPLC

Préparation de l'échantillon : un aliquote du VCP de l'échantillon S2, (80mg) a été traité avec 1mL d'éthanol dans un tube eppendorf puis mélangé et incubé dans un bain à ultrasons pendant 60 minutes à 45°C. l'analyse qualitative a été réalisée par Shimadzu Ultra-High-Performance (UHPLC).

Analyse chromatographique : la chromatographie liquide (Nexera XR LC 40), a été combiné avec un détecteur MS/MS (LCMS 8060, Shimadzu Italie, Milan, Italie). Le MS/MS était utilisé avec une ionisation électrospray et le logiciel Lab Solution le contrôlait, ce qui permettait de passer immédiatement d'un balayage à faible énergie 4 V (MS à balayage complet) à un balayage à haute énergie (rampe de 10 à 60 V) pendant une LC simple. Les paramètres de la source ont été fixés comme suit : débit de gaz de nébulisation : 2,9 L/min, débit de gaz de chauffage : 10 L/min, température

d'interface : 300°C, température DL : 250°C, température du bloc chauffant : 400°C, et séchage débit de gaz : 10 L/min. L'injection en flux a été utilisée pour effectuer l'analyse (ce qui signifie qu'il n'y a pas eu de séparation chromatographique), avec la phase mobile constituée d'acétonitrile : eau + 0,01 % d'acide formique (5:95, v/v). L'instrument a été réglé pour une expérience SIM en mode négatif (uniquement l'acide syringique en ESI positif). L'identification des molécules a été confirmée en comparant le fragment typique identifié avec ceux de la bibliothèque de molécules développée en interne (45 standards) et une molécule a été considérée comme « positive » si son aire sous la courbe est plus élevée que celle du blanc et en conséquence l'abondance des molécules a été estimée. La différenciation entre des structures étroitement similaires a été effectuée par « temps de vol », car l'instrument est configuré pour acquérir le poids moléculaire dans le troisième quadripôle

III. Résultats et discussion

1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes des extraits

Cette partie est consacrée à l'étude de pouvoir extracteur de l'échantillon S2 du VCP on le comparant avec d'autres solvants (eau distillée, éthanol, et méthanol) largement utilisés pour extraire les molécules bioactives à partir des matrices végétales (*Rosa canina*). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 35.

Tableau 35: Les polyphénols et les flavonoïdes totaux des extraits de la pelure de fruits de *Rosa canina* collectés dans la région d'Ait Ayach Midelt

Extrait	Polyphénols totaux	Flavonoïdes totaux	Rendement
	mg EAG/g ps	mg EQ/g ps	
ED	40,16±0,25	19,68±0,22	35
EtOH50%	27,23±4,08	4,22±0,13	33
EtOH70%	26,06±0,91	13,55±0,06	38
MeOH80%	24,66±2,95	3,66±0,02	32
EV	55,51±1,16	22,15±0,45	40

ED : extrait aqueux ; EtOH 50% : extrait éthanolique 50% ; EtOH 70% : extrait éthanolique 70% ; MeOH80% : extrait méthanolique ; EV : extrait par vinaigre, ps : poids sec.

Les résultats obtenus montrent que l'extraction par le VCP possède les taux les plus élevés en polyphénols et en flavonoïdes. En outre, l'extrait préparé par le VCP présente un rendement élevé (40%) par rapport aux autres solvants utilisés. La teneur en polyphénols totaux varie de $24,66 \pm 2,95$ à $55,51 \pm 1,16$ mg EAG/g ps de la pelure des fruits de *Rosa canina*. En ce qui concerne le taux des flavonoïdes totaux, les valeurs obtenues varient entre $3,66 \pm 0,02$ et $22,15 \pm 0,45$ mg EQ/g ps. Cependant, les extraits méthanoliques ont enregistré les valeurs les plus faibles en polyphénols et en flavonoïdes avec des valeurs de $24,66 \pm 2,95$ mg EAG/g ps et $3,66 \pm 0,02$ mg EQ/g ps respectivement. Les données obtenues sont en accord avec plusieurs études antérieures, Ersoy et al., (2015) ont enregistré une moyenne variant entre 20,12 et 32,2 mg EAG/g pour l'extrait eau/méthanol, et Jemaa et al., (2017) ont rapporté une valeur de $21,918 \pm 1,784$ mg EAG/g pour l'extrait méthanolique. Cependant, Taneva et al., (2016) ont rapporté des valeurs élevées que celles obtenues dans notre étude. L'extraction verte ou écologique constitue une alternative convenable à l'utilisation des solvants organiques nocifs et basée sur la découverte et la conception de procédés d'extraction qui réduiront la consommation d'énergie. L'utilisation des solvants écologiques assure un extrait/produit de haute qualité (Chemat et al., 2019, 2012). Cette nouvelle technique d'extraction des molécules bioactives par le vinaigre de pomme donne un bon rendement d'extraction et l'extrait obtenu peut-être administré directement sans risque d'intoxication par contre les extraits obtenus par l'utilisation des solvants organiques peuvent être toxiques dues aux résidus chimiques.

2. Activité antioxydante des extraits

L'extraction douce constitue une voie incontournable. Elle est basée sur l'utilisation des solvants alternatifs et de produits naturels renouvelables en garantissant un extrait sain et de haute qualité. Dans cette vision nous avons utilisé le vinaigre de pomme comme un solvant écologique et naturel. L'ajout des matrices végétales (les plantes aromatiques et médicinales) durant l'élaboration du vinaigre de cidre joue un rôle très important dans l'enrichissement de produit fini en molécules bioactives grâce à son pouvoir extracteur. Les résultats de la méthode susdite sont présentés dans le tableau 36.

Tableau 36: Activité antioxydante des extraits de la pelure de *Rosa canina*

Extrait	TAC mg EAA/g	DPPH IC₅₀ µg/mL
ED	5,89±0,10	0,373±0,027
EtOH50%	5,22±0,05	0,441±0,015
EtOH70%	5,70±0,17	0,740±0,011
MeOH80%	5,13±0,05	0,814±0,025
EV	7,88±0,19	0,336±0,005
BHT (mg/ml)	-	0. 021±0.01
Acide ascorbique	-	-

ED : extrait aqueux ; EtOH 50% : extrait éthanolique 50% ; EtOH 70% : extrait éthanolique 70% ; MeOH80% : extrait méthanolique ; EV : extrait par vinaigre, ps : poids sec, BHT : Hydroxytoluène butylé.

Les résultats obtenus montrent que la capacité antioxydante totale de différents extraits varie de 5,13±0,05 à 7,88±0,19 mg EAA/g. La capacité antioxydante la plus élevée est enregistré au niveau de l'extrait de vinaigre et la capacité la plus faible est enregistré pour l'extrait méthanolique. Quant aux standards utilisés, ils ne présentent aucune capacité antioxydante totale. En ce qui concerne le pouvoir antiradical DPPH, l'extrait de vinaigre possède le pouvoir le plus intéressant par rapport aux extraits étudiés avec une valeur de IC₅₀ de 0,336±0,005 µg/ml. De même, les extraits de *Rosa canina* ont un pouvoir antiradical DPPH important par rapport au standard utilisé (BHT) qui présente un IC₅₀ d'ordre de 0,021±0,01mg/ml.

Différentes études mentionnaient que l'activité antioxydante des extraits de matrices végétales était positivement corrélée avec la teneur en composés bioactifs (Wenzig et al., 2008).

3. Profil phénolique du VCP S2 de Midelt par UHPLC.

Le profil phénolique du VCP identifié par une analyse UHPLC- MS/MS est présenté dans le tableau 37. Les résultats obtenus montrent que le VCP est riche en acides hydroxycinnamiques principalement l'acide trans-férulique, l'acide férulique, et l'acide sinapique, et des flavonoïdes comme l'arbutine et l'apégénine comme des composants majoritaires présents dans le VCP. Tandis que, l'acide syringique, l'acide gallique, la quercétine, l'acide p-coumarique, l'acide rosmarinique, l'acide ursolique, le Kaempferol-3-O-glucose, le Kaempferol-3-O-pentose, le p-hydroxy benzoïque\acide salicylique, l'acide caféique, et la catéchine gallate sont absents dans notre échantillon testé.

Tableau 37: Profil phénolique du VCP S2.

Composés phénoliques du VCP (%)					
Acide syringique	Acide gallic	Kaempferol	Rutine	Oleochantal	Hydroxytyrosol
ND	ND	0.192	0.125	0.132	0.019
Acide transférulique	Oleuropein	Hesperetin	Triméthoxyflavone	Arbutine	Acide rosmarinic
43.921	0.004	0.015	0.102	3.736	ND
Acide ursolic	Apigénine	Amentoflavone	Luteolin	Quercétin-3-O-glucoside	Acide quercétin-3-O-glucuronique
ND	2.539	0.047	ND	0.021	0.044
Kaempferol-3-O-glucose	Quercétin-3-O-hexose deoxyhexose	Isorhamnetin- 3-O Rutinoside	Isorhamnetin-7-O- Pentose / luteoilin 7-O-glucoside	Acide kaempferol-3-O-glucuronique	Narigine
ND	0.031	0.016	0.171	0.102	0.104
Kaempferol-3-O-hexose deoxyhexose	Tyrosol	Acide protocatechoic	Acide vanillique	Acide syringique	Acide phydroxybenzoic\salicylique
0.054	ND	0.238	0.193	0.953	ND
Acide gentisique	Acide caféique	Acide férulique	Acide sinapique	Acide trans-cinnamique	Acide chlorogénique
0.153	ND	40.155	3.887	1.835	0.372
Catéchin\epicatéchin	gallocatéchin\epigallocatéchin gallate	gallocatéchin\epigallocatéchin	Catéchin gallate	Procyanidin	Myricétin
0.213	0.255	0.128	ND	0.093	0.146

ND : non déterminé

Le VCP contient un profil de composé phénolique plus complexe qui varie selon l'origine géographique et le cultivar de pomme utilisé. les résultats obtenus dans la

présente étude révèle que l'acide férulique et trans-férulique sont les composants majoritaires de notre échantillon du VCP, tandis que Kelebek et al., (2017) ont trouvé que l'acide chlorogénique est le composant majoritaire en représentant une proportion de 77% des polyphénols présents dans le VCP. L'effet de la transformation des pommes en VCP sur le profil phénolique a été étudié. Les chercheurs ont trouvé que la teneur des composés phénoliques comme l'acide gallique, l'acide p-hydroxy benzoïque, la catéchine, l'acide syringique, l'acide caféïque, et l'acide p-coumarique ont été fortement diminués de plus de 10 fois (Bakir et al., 2016).

IV. Conclusion

Dans la présente étude, les extraits de la pelure des fruits de *Rosa canina* ont été étudiés et comparés pour leur pouvoir antioxydant, teneurs en polyphénols et en flavonoïdes. L'activité antioxydante la plus élevée et les teneurs les plus élevées en phénols et en flavonoïdes sont notées pour l'extrait préparé par le VCP. Les fruits de *Rosa canina* est une matrice végétale riche en molécules d'intérêt biologique.

En outre, le VCP contient un cocktail de molécules bioactives qui présentent des propriétés biologiques importante ce qui va booster les effets pharmacologiques des extraits préparés par le VCP.

Chapitre 6 : Étude de l'activité antidiabétique *in vivo* de l'échantillon S2 de la région de Midelt

I. Introduction

Traditionnellement, le rôle de l'alimentation a été de fournir l'énergie et les nutriments essentiels pour soutenir les différentes fonctions physiologiques du corps. Cependant, au fil des ans, le rôle de l'alimentation a changé, elle est de plus en plus sollicitée pour apporter des bénéfices physiologiques en termes de prise en charge et de prévention des pathologies. Les changements des modes de vie alimentaire (restauration rapide, consommation accrue, aliments stockés, et sédentarité) entre autres, sont des éléments clés facilitant l'installation des troubles métaboliques et l'apparition de nombreuses maladies (Oomah and Mazza, 2000). Notre alimentation actuelle est donc représentée par des apports glucidiques importants. L'augmentation de la consommation des glucides est liée à l'accentuation de la prévalence de l'obésité et de l'insulinorésistance prédisposant au diabète de type 2 (Rippe and Angelopoulos, 2016).

Le régime hypercalorique est le principal facteur qui provoque le développement du risque métabolique des maladies cardiovasculaires, de l'hypercholestérolémie, de l'hypertension, de l'hyperglycémie, du diabète de type 2, et de certains type de cancer (Grundy, 2004; Marinou et al., 2010; Singla et al., 2010). Des évidences scientifiques ont montré que l'administration chronique du glucose induit une hypertension, une résistance à l'insuline, une hyperglycémie, et un stress oxydatif vasculaire plus élevé (El Midaoui et al., 2016; Popkin et al., 2012; Shahidi and Miraliakbari, 2004; Zhao et al., 2004). Il est nécessaire de trouver des solutions alternatives pour réduire la propagation et la progression des maladies métaboliques. Plusieurs études se sont concentrées sur l'identification des thérapies alternatives pour diminuer l'incidence de la maladie, en particulier les inhibiteurs des disaccharidases et les inhibiteurs de l'alpha-glucosidase (Johnston et al., 2013; Ogawa et al., 2000).

Le vinaigre de cidre de pomme est largement utilisé et apprécié par la population Marocaine et dans le monde. Plusieurs études ont clairement démontré de nombreux avantages de la consommation du vinaigre, tels que l'effet hypoglycémiant chez les patients présentant des troubles de métabolisme du glucose (Halima et al., 2016; Johnston et al., 2013; P. I. Mitrou et al., 2015), l'amélioration de la sensibilité à l'insuline (Johnston et al., 2013), la diminution de l'index glycémique des aliments glucidiques pour les personnes diabétique et non diabétique (Johnston et al., 2013),

l'effet antihyperlipidémique (Halima et al., 2016), l'effet hépatoprotecteur (Omar et al., 2015), et la modulation de la peroxydation lipidique (Naziroğlu, 2012).

Puisqu'il n'y a pas eu d'études ultérieures de l'effet thérapeutique du vinaigre de cidre de pomme sur la glycémie induite par un régime riche en glucides, ce travail a été mené pour déterminer si un traitement subchronique pendant cinq semaines avec du vinaigre de cidre de pomme aurait un effet régulateur sur la modulation de l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie chez les rats nourris avec un régime hypercalorique.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel

VCP : Compte tenu des résultats intéressants obtenus sur la caractérisation physicochimique et phytochimique de l'échantillon S2 de la région de Midelt, nous l'avons choisi pour mener les études sur les propriétés antidiabétique et antioxydante du VCP chez les rats Wistar.

Rats Wistar : Les rats mâles et femelles de la souche Wistar, pesant 168 ± 8.5 g et 132 ± 8 g respectivement ont été choisis pour l'étude de l'activité antidiabétique. Les animaux ont été obtenus auprès du centre d'élevage d'animaux au sein de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz Fès. Ils sont placés sous conditions environnementales normales où la température est de 25 ± 1 °C et l'humidité est de 55 ± 5 % avec un rythme circadien de 12 heures le jour et 12 heures la nuit.

Le soin et la manipulation des animaux étaient conformes aux normes internationales de directives standard acceptées pour l'utilisation des animaux, et le protocole a été approuvé par le comité institutionnel de protection des animaux suivants les spécifications techniques françaises pour la production, le soin et l'utilisation des animaux de laboratoire.

L'approbation éthique a été obtenue de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah de Fès, sous la responsabilité de l'animalerie et du Laboratoire des Substances Naturelles, de la Pharmacologie, de l'Environnement, de la Modélisation, de la Santé et de la Qualité de Vie, Université de Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc (USMBA-SNAMOPEQ 2017-03).

2. Méthodes

Les animaux ont été répartis au hasard en trois groupes de huit rats (4 femelles et 4 mâles) traités pendant 5 semaines (figure 42) :

- **Groupe 1** : représente le groupe témoin, les rats ont un libre accès à l'eau du robinet uniquement et à une alimentation normale. Ils sont traités par l'eau distillée (2mL/kg).
- **Groupe 2** : les rats ont un libre accès à une solution de D-Glucose 10 % et une alimentation normale. Ils sont traités par l'eau distillée (2mL/kg).
- **Groupe 3** : les animaux ont un accès libre à une solution de D-Glucose 10 % et reçoivent chaque jour à l'aide d'une sonde de gavage 2 mL/Kg du vinaigre de cidre.

Après cinq semaines de traitement, les rats ont été mis à jeun pendant une nuit (16 h) et sacrifiés par décapitation sous anesthésie légère à l'éthyluréthane. Le sang a été prélevé dans des tubes secs et centrifugés à faible vitesse à $1500 \times g$ durant 15 min. le plasma récupéré a été conservé pour les analyses biochimiques.

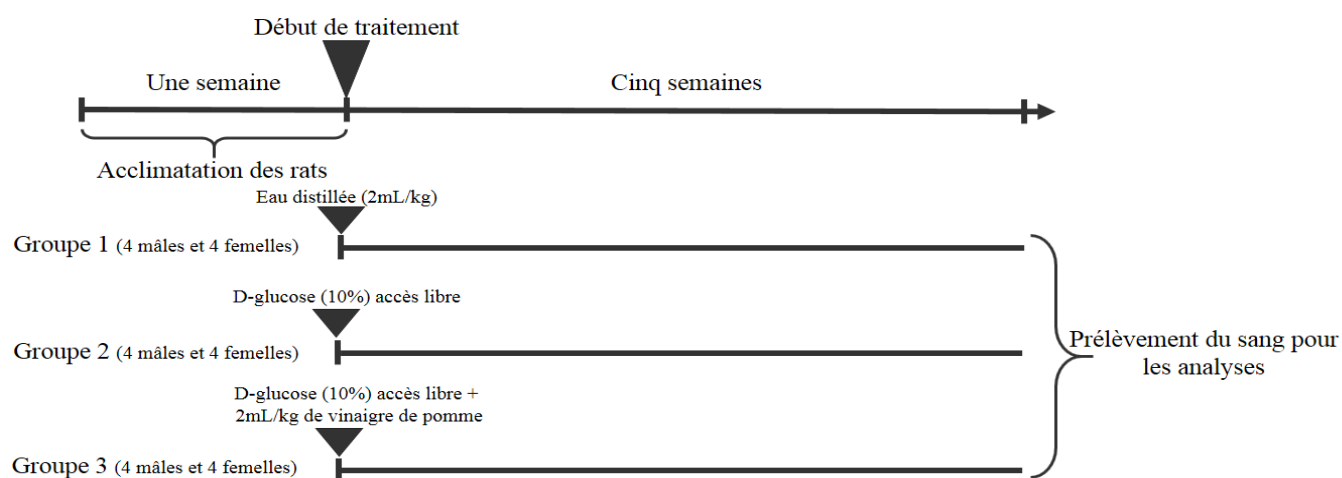


Figure 42: Protocole expérimental de l'évaluation de l'activité antidiabétique du vinaigre de cidre de pomme.

3. Analyses biochimiques

Le plasma a été obtenu pour analyser la glycémie, le cholestérol total (CT), les triglycérides (TG), le cholestérol à lipoprotéines de haute densité (HDL-c), le

cholestérol à lipoprotéines à faible densité (LDL-c), alanine Amin transférase (ALT), aspartate aminotransférase (AST), lactate deshydrogénase (LDH), créatinine, urée, calcium (Ca²⁺), sodium (Na²⁺), potassium(K⁺), et chlorure (Cl⁻).

III. Résultats et discussion

1. Effet du VCP sur le poids corporel

Dans le cadre de la démonstration des effets thérapeutique du vinaigre de pomme, cet axe est consacré à l'étude de l'effet préventif du vinaigre de cidre contre les complications d'un régime hypercalorique (D-Glucose 10%) chez les rats Wistar. Le tableau 38 montre les changements du poids des rats durant la période de traitement.

Tableau 38: La variation du poids corporel, en gramme, des rats mâles et femelles durant la période d'expérimentation

Groupe	Poids corporel (g)				Gain de poids corporel (g)	
	Jour 0		Jour 28		Mâles	Femelles
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles		
Groupe 1	175,5±2,12	126±2,82	195,5±3,53	141,5±0,70	20±5,65	15,5±2,12
Groupe 2	168,5±2,12	128±5,65	200,5±10,60	147,5±17,67	32±8,48	19,5±12,02
Groupe 3	172±2,82	126±2,82	185,5±6,36	138±5,65	13,5±3,53	12±8,48

Le suivi de l'évolution du poids corporel des animaux est maintenu tout au long de la durée d'expérimentation. Les rats sont répartis en trois groupes de 4 mâles et 4 femelles, le premier groupe a un libre accès à l'eau de robinet uniquement et une alimentation normale, le groupe 2 a un libre accès à une solution du D-glucose 10%, et le groupe 3 a un libre accès à une solution du D-glucose et traité par le vinaigre de cidre de pomme (2 ml/kg).

Les résultats sont présentés dans le tableau 38. Le poids corporel des rats issus du groupe 2 révèle une augmentation non significative par rapport au poids des rats du groupe 1 (contrôle) (19,5±12,02 vs 15,5±2,12). Par contre, l'administration du vinaigre de cidre aux rats du groupe 3 a abaissé non significativement la prise du poids comparativement au groupe 1 mais significativement par rapport au groupe 2. L'analyse des résultats nous permet de dire que le VCP contrôle le gain de poids corporel chez les rats traités par le D-glucose (10%).

Des études sur les modèles animaux obèses ont prouvé que l'administration à long terme d'une quantité de vinaigre réduit considérablement le poids corporel (de Dios Lozano et al., 2012). Ceci est dû à la régulation du métabolisme des lipides par le vinaigre de pomme (Chen et al., 2016).

2. Effet du vinaigre de cidre de pomme sur la glycémie

La figure 43 présente la glycémie des animaux des trois groupes après cinq semaines de traitement (ED, D-G, et D-G+VCP).

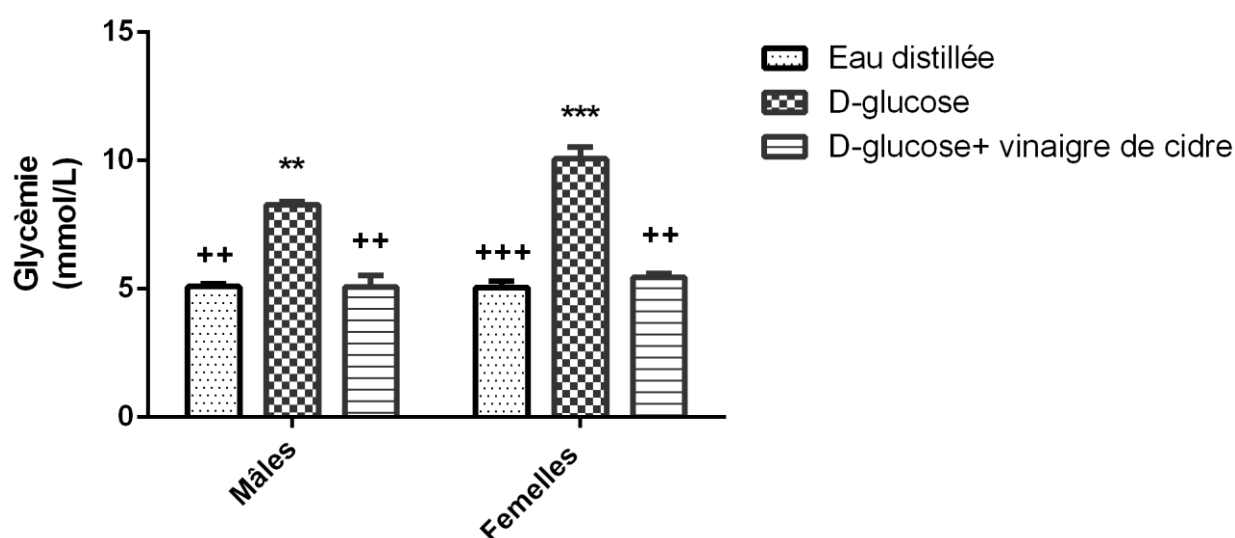


Figure 43: Effet du D-glucose et du VCP sur la glycémie des rats. * $p < 0.05$ vs. Groupe traité par l'eau distillée. + $p < 0,05$ vs. Groupe traité par le D-glucose.

Les rats traités par le D-glucose à 10% présentent une augmentation significative de la glycémie ($8,27 \pm 0,07$ et $10,065 \pm 0,33$ mmol/l pour les mâles et les femelles respectivement) par rapport aux deux autres groupes. Ces résultats montrent que le D-glucose déclenche l'installation du diabète du type 2. Le traitement des rats avec le VCP fait baisser significativement la glycémie à des valeurs comparables à celles de groupe contrôle pour les deux sexes. En effet, des études antérieures ont prouvé que le vinaigre de pomme réduit la glycémie à jeun (Ebihara and Nakajima, 1988; Johnston, 2009; Johnston et al., 2008, 2004; Liljeberg and Björck, 1998), en réduisant la réponse insulinique post-prandiale (Johnston and Buller, 2005). La consommation de vinaigre de pomme améliore la sensibilité à l'insuline et augmente l'absorption du glucose au niveau des muscles squelettiques (Mitrou et al., 2015). L'acide acétique en tant qu'élément majeur de vinaigre joue un rôle très important dans le ralentissement de la vidange gastrique (Liljeberg and Björck, 1998), et de la

diminution de l'activité de la disaccharidase dans l'intestin grêle (Ogawa et al., 2000), et les activités de la maltase, de la lactase et de la sucrase de l'intestin (Halima et al., 2016). L'administration du VCP aux sujets diabétiques (diabète de type 2) réduit la glycémie à jeun en interagissant avec le métabolisme des carbohydrates, il augmente également l'absorption de glucose et améliore la sensibilité à l'insuline au niveau de muscle squelettique (Mitrou et al., 2015). La consommation du VCP réduit le taux sérique de l'insuline et augmente la sensibilité des muscles squelettiques à son effet pour augmenter l'absorption de glucose par les tissus périphériques (Mitrou et al., 2015). L'analyse phytochimique du VCP révèle que l'acide férulique est le composé phénolique majoritaire (Tableau 29). L'acide férulique possède une activité antioxydante remarquable et inhibe les activités de l' α -glucosidase et l' α -amylase en favorisant l'absorption du glucose dans les muscles psoas isolé du rat (Salau et al., 2021). L'absorption du glucose induite par l'acide férulique dans les muscles psoas suggère sa capacité à réduire l'hyperglycémie, suggérant ainsi sa propriété antidiabétique. En outre, d'autres molécules comme l'apigénine, l'arbutine et l'acide sinapique sont présents dans notre échantillon du VCP à taux considérable et ont été trouvés qu'ils ont un effet anti hyperglycémique (Altındağ et al., 2021; Laaroussi et al., 2020a; Li et al., 2021; Saeedi et al., 2021). La faible capacité antioxydante des cellules β pancréatiques couplée à sa forte dépendance vis-à-vis du métabolisme oxydatif lors de la sécrétion d'insuline le rend très sensible aux effets oxydatifs (Wang and Roper, 2014). Les composés phénoliques sont bien reconnus pour leurs propriétés antioxydantes. Les activités antioxydantes des composés phénoliques sont attribuées à leur capacité à chélater les ions métalliques, piéger les radicaux libres, réduire les oxydants, et d'inhiber les enzymes (Bendary et al., 2013; Giada, 2013).

3. Effet du VCP sur le bilan lipidique

Cette partie est consacrée à l'étude de pouvoir hypolipidémiant du VCP. Le désordre métabolique des lipides se manifeste par l'augmentation des taux de cholestérol total (CT), les triglycérides (TG) et lipoprotéine de basse densité (LDL-c) et une diminution de taux sérique de lipoprotéine de haute densité (HDL-c), ce qui peut accentuer le risque d'installation des maladies cardiovasculaires (Bouazza et al., 2016; El Midaoui et al., 2016). Le recours aux produits naturels constitue une stratégie étayée sur des évidences scientifiques pour lutter contre l'obésité et le désordre métabolique des lipides.

Le tableau 39 présente les résultats d'analyse du bilan lipidique des animaux de différents groupes. Le taux du cholestérol total est significativement ($p \leq 0.05$) élevé chez les femelles et non pas chez les mâles du groupe traité par le D-glucose. De même, le D-glucose induit l'élévation des taux de triglycérides d'une manière non significative.

Tableau 39: Le bilan lipidique des rats traités par le D-glucose et le VCP.

Paramètres biochimiques	Groupe 1		Groupe 2		Groupe 3	
	Mâles	femelles	Mâles	Femelles	Males	Femelles
Profil lipidique						
CT (mg/dl)	42,5 ±3,53	44±1,41	55±14,14	73,5±2,12*	60±5,65	60±4,24
TG (mg/dl)	54,5±13,43	43,5±2,12	73±2,82	60±15,55	48±1,41	36±11,31
HDL-c (mg/dl)	0,24±0,4	0,21±0,15	0,14±0,01*	0,14±0,05*	0,21±0,01	0,15±0,005
LDL-c (mg/dl)	42,5±0,70	44,5±2,12	55,5±4,94*	52,5±2,12*	47±1,41	46,5±2,12

*p < 0,05 vs. Groupe 1. +p < 0,05 vs. Groupe 2.

Les concentrations LDL-c des rats du groupe traité par le D-glucose sont significativement élevées chez les deux sexes ($p \leq 0,05$). Tandis qu'on observe une diminution significative des concentrations de HDL-c également pour les deux sexes.

Le traitement simultané avec le VCP a amélioré le profil lipidique au niveau sérique en diminuant les taux des paramètres de profil lipidique. En effet, les résultats montrent clairement qu'il y a une diminution des taux du cholestérol total, des triglycérides, et du LDL-c. Le vinaigre de cidre de pomme augmente également le taux de HDL-c (Tableau 27). Nos résultats sont en accord avec d'autres études qui ont montré que le vinaigre de pomme améliore le profil lipidique (Bouazza et al., 2016; Halima et al., 2017; Setorki et al., 2010; Soltan and Shehata, 2012). Au niveau génétique, l'acide acétique inhibe les gènes responsables de la synthèse des acides gras et active la voie MAPK en induisant la réduction du cholestérol, des triglycérides, et du LDL par la régulation de l'expression du gène *srebp-1* (Figure 19) (Fushimi et al., 2006; Sakakibara et al., 2006). Il stimule également la sécrétion de la bile et l'oxydation des acides gras et par conséquent la réduction des paramètres de bilan lipidique (Fushimi et al., 2006; Fushimi and Sato, 2005). De surcroît, le vinaigre de cidre de pomme contient un cocktail de molécules bioactives dont l'acide chlorogénique, acide protochatechique, l'acide vanillique, l'acide gallique et l'acide caféique sont les plus

abondants et qui interviennent dans le contrôle de profil lipidique en inhibant l'installation du désordre métabolique des lipides (Aykin et al., 2015; Du et al., 2020; Kelebek et al., 2017; Mateos-Aparicio et al., 2020a; Meng et al., 2013; Zhang et al., 2021). Notre échantillon du VCP est riche en acide férulique qui possède une activité inhibitrice de la lipase pancréatique insinue le potentiel antiobésogène en retardant le processus lipolytique et réduisant l'absorption des lipides (Salau et al., 2021). En addition, l'acide férulique protège et restaure la fonction sécrétoire d'insuline par les cellules β pancréatique (Salau et al., 2021).

L'activité antioxydante importante des molécules bioactives présentes dans le VCP inhibe la peroxydation lipidique et par conséquent, il y a diminution du cholestérol LDL et du malondialdéhyde (MDA) (Goldstein et al., 1979). Les molécules bioactives contenues dans le VCP inhibent également l'accumulation des lipides par l'inhibition de leur absorption et par l'activation du métabolisme des lipides au niveau hépatique (Shimoda et al., 2006). La synergie entre les différentes molécules bioactives de vinaigre de pomme a des conséquences bénéfiques sur la santé, ce qui explique ses propriétés thérapeutiques exceptionnelles (Figure 52).

4. Effet du VCP sur les enzymes hépatiques

Le taux des enzymes hépatiques sont présentées dans le tableau 40. Le groupe traité par le D-glucose présente une augmentation significative des valeurs d'aspartate aminotransférase (ASAT) et la lactate déshydrogénase (LDH) chez les deux sexes ($p \leq 0.05$). L'alanine aminotransférase (ALAT) augmente également d'une manière non significative par rapport au groupe contrôle. Le traitement simultané avec le vinaigre de cidre contrebalance l'effet du D-glucose sur l'augmentation des trois enzymes hépatiques. Aussi bien pour les rats mâles et les femelles.

Tableau 40: le bilan hépatique des groupes (ASAT, ALAT, et LDH).

Paramètres biochimiques	Groupe 1		Groupe 2		Groupe 3	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Males	Femelles
Fonction hépatique						
ASAT (U/l)	109,5±3,53 ⁺	119±1,41	159,5±7,77*	174±15,55*	93,5±7,77 ⁺	129±12,79
ALAT (U/l)	35±2,82	20,5±10,60	42,5±3,53	50±2,82	17,5±2,12* ⁺	20±9,89
LDH (U/l)	396,5±10,60 ⁺	472±84,85 ⁺	852,5±24,93*	665,5±62,93*	373,5±38,89 ⁺	405±17,9 ⁺

*p < 0,05 vs. Groupe 1. +p < 0,05 vs. Groupe 2.

Les agressions hépatiques sont traduites par une élévation des taux sériques d'enzymes hépatiques qui sont conséquents à une toxicité liée au désordre métabolique. Par ailleurs, plusieurs études ont montré que l'administration du D-glucose entraîne une altération considérable de la fonction hépatique liée au stress oxydatif (Laaroussi et al., 2020). En effet, l'hyperglycémie chronique induit une surproduction des radicaux superoxydes. Elle augmente les équivalents réducteurs de la chaîne de transport d'électrons et le potentiel électrochimique à travers la membrane mitochondriale interne. L'élévation de la production du radical superoxyde inhibe directement ou indirectement l'enzyme GAPDH ce qui induit l'accumulation des produits intermédiaires glycolytiques (Brownlee, 2005, 2001; Rodacka et al., 2010). La génération des ERO par l'hyperglycémie s'effectue par la stimulation de quatre voies : (1) l'augmentation du flux de glucose à travers la voie des polyols, (2) la formation accrue des produits terminaux de glycation (AGE), (3) l'hyperactivité de la voie de l'hexoamine et (4) l'activation des isoformes des protéines kinase C (PKC) (Rains and Jain, 2011; Vanessa Fiorentino et al., 2013). Le vinaigre de pomme en tant que produit naturel possède une activité antioxydante remarquable (Bakir et al., 2016; Ozturk et al., 2015c). Il a été utilisé pour neutraliser et/ou prévenir les effets néfastes induits par plusieurs agents stressants tels que la nicotine, le diabète, l'hyperlipidémie, et le peroxyde d'hydrogène (Bouazza et al., 2016; Halima et al., 2017; Omar et al., 2015; Ousaaïd et al., 2020; Tripathi et al., 2020; Zou et al., 2018). Le stress oxydant se manifeste par la déstabilisation des mécanismes impliqués dans le système de défense antioxydant via les enzymes antioxydantes. La capacité des êtres humains à lutter contre les oxydants est primordiale pour rester en bonne santé. Les radicaux libres sont à l'origine de plusieurs pathologies comme l'arthrite, le choc hémorragique,

l'athérosclérose, le vieillissement, l'alzheimer, le dysfonctionnement gastro-intestinale... etc. Par conséquent, les antioxydants aussi bien endogènes qu'exogènes sont essentiels pour prévenir de telles maladies.

Des études ont prouvé que l'administration de vinaigre de cidre de pomme possède un effet préventif contre le stress oxydatif induit par le diabète sur des modèles animaux (Juskova et al., 2011 ; Sakakibara et al., 2006; Shishehbor et al., 2008) et chez l'être humain (Gheflati et al., 2019), l'ovariectomie chez les souris (Naziroğlu, 2012; Naziroğlu et al., 2014), le régime alimentaire riche en graisses (Bouazza et al., 2016; Halima et al., 2017), et le stress de contention chronique (Abdulrauf et al., 2018). Par son pouvoir antioxydant, le vinaigre de cidre de pomme a diminué le taux de la peroxydation lipidique au niveau du cristallin des rats ovariectomisés, de plus, il améliore l'activité de la machinerie enzymatique impliquée dans le système de la défense antioxydant (GSH-Px) (Naziroğlu, 2012). Ce qui peut prévenir les effets toxiques des ERO. De surcroît, l'administration du vinaigre de cidre de pomme aux rats soumis à un régime alimentaire hyperlipidémiant a augmenté les teneurs sériques des enzymes de système de défense antioxydant (SOD, GPx, GRx, et TAS) et a diminué le taux de TBARS dans le sérum et au niveau hépatique avec des proportions de 61.85% et 43.85% respectivement (Bouazza et al., 2016). La neutralisation des radicaux libres s'effectue par l'intervention des enzymes de défense endogènes comme la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la glutathion réductase, et la catalase (Sies, 1994). Cette machinerie enzymatique constitue la première ligne de défense contre les dégâts induits par les radicaux libres. Des études ont indiqué que les antioxydants exogènes peuvent inhiber et empêcher l'étendue de la peroxydation lipidique (Naziroğlu, 2012; Naziroğlu et al., 2014; Toulbi et al., 2020; Zou et al., 2018). Nakamura et al., (2010) ont rapporté que le vinaigre de cidre booste l'activité de la superoxyde dismutase. Le VCP contient en effet, un cocktail de molécules biologiquement actives comme l'acide chlorogénique qui représente 56.9% de la composition des polyphénols présents dans le vinaigre. Ces mêmes chercheurs, ont déterminé les constituants les plus efficaces pour augmenter l'activité de la superoxyde dismutase (Nakamura et al., 2010). L'acide caféique et l'acide p-coumatique sont deux autres molécules bioactives présentes dans le vinaigre de pomme qui boostent l'activité de la superoxyde dismutase à une proportion inférieure à celle de l'acide chlorogénique (Nakamura et al., 2010b). Le traitement par le vinaigre de pomme a atténué l'activité du malondialdéhyde sérique

(MDA), cela pourrait être dû à un possible effet adaptogène du vinaigre de cidre dans l'amélioration de la peroxydation lipidique excessive induite par le stress chronique (Abdulrauf et al., 2018) ou bien par un régime riche en cholestérol (Seydim et al., 2016). Seydim et al., (2016) ont étudié l'impact de différents échantillons du vinaigre produits par différentes techniques sur les enzymes de la défense antioxydante des rats sous un régime enrichi en cholestérol. Ils ont montré que l'administration du VCP produit par un processus artisanal a amélioré le statut antioxydant. La longue durée nécessaire pour produire le vinaigre de pomme par la méthode traditionnelle permet la production de composants bioactifs et d'une structure polysaccharidique complexe, appelée mère de vinaigre qui auraient un pouvoir antioxydant important (Seydim et al., 2016).

5. Évaluation du risque rénal

Le lien entre l'hyperglycémie et les anomalies rénales est particulièrement établi. L'augmentation de l'urée et de la créatinine est fortement associée à un risque d'attraper une affection rénale. De ce fait, l'étude de la variation de ces paramètres constitue un prédicteur de risque rénale lié à un régime hypercalorique. Le tableau 41 montre les valeurs des protéines totales, l'urée, et la créatinine de différents groupes.

Tableau 41: Le bilan rénal des rats traités par le D-glucose et le vinaigre de cidre de pomme

Paramètres biochimiques	Groupe 1		Groupe 2		Groupe 3	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
Fonction rénale						
Protéines totales (mg/dl)	56,5±12,02	49,5±3,53	51,5±2,12	52,5±2,12	60±5,65	60±4,24
Urée (mmol/L)	0,31±0,01 ⁺⁺	0,37±0,25 ⁺	0,39±0,4 ^{**}	0,41±0,15 [*]	0,25±0,9 ^{*+}	0,27±0,13 ^{*+}
Créatinine (µmol/L)	5±1,41	4,5±0,5	6,5±0,5	7±1	6,5±1,5	5,5±0,5

*p < 0,05 vs. Groupe 1. +p < 0,05 vs. Groupe 2.

Le D-glucose affecte significativement les taux de l'urée chez les mâles et les femelles (p<0,05). Par contre, il augmente les taux de la créatinine d'une manière non significative. Chez le groupe traité par le vinaigre de pomme, on observe une diminution significative des valeurs de l'urée (p<0,05). Le vinaigre affecte également, modérément par rapport au groupe témoin, les valeurs des protéines totales et celles de la créatinine.

La créatinine est le résultat de la dégradation de la créatinine musculaire, tandis que l'urée est l'un des déchets métaboliques des protéines (Baum et al., 1975), l'augmentation de ces deux biomarqueurs rénaux dans le groupe diabétique non traité est un signe de néphropathie diabétique. Weekers and Krzesinski, (2005) ont montré que la néphropathie diabétique est induite par une altération des glomérules rénaux due à la glycotoxicité, au stress oxydatif, et à une pression intraglomérulaire élevée. L'effet néphroprotecteur de vinaigre de pomme pourrait être dû à ses composés bioactifs en particulier le pyrogallol et la catéchine (Soltan and Shehata, 2012). Dans les groupes d'études, il a été remarqué que les deux molécules susdites peuvent prévenir les lésions rénales et réduire les niveaux de créatinine et d'uricémie (Halima et al., 2017; Wongmekiat et al., 2018).

6. Effet du VCP sur les électrolytes

Le tableau 42 montre les résultats d'analyse des électrolytes sériques de différents groupes d'expérimentation. Les taux plasmatiques en calcium Ca^{2+} augmentent significativement chez le groupe traité par le D-glucose pour les deux sexes. Par contre les autres électrolytes (Na^{2+} , K^+ , et Cl^-) avec une différence non significative. Le traitement simultané par le VCP augmente le taux sérique de calcium pour les rats mâles et femelles, par contre le VCP n'affecte pas les taux sériques de sodium et de chlore. Cependant, il diminue significativement le taux de potassium sans induire une hypokaliémie.

Tableau 42: Les électrolytes plasmatiques de différents groupes

Paramètres biochimiques	Groupe 1		Groupe 2		Groupe 3	
	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles	Mâles	Femelles
Statut des électrolytes plasmatiques						
Ca^{2+} (mmol/l)	20,5±0,70 ⁺	19±1,41 ⁺	64±1,41*	86,5±9,19*	96,5±2,10* ⁺	82,5±10,60*
Na^{2+} (mmol/l)	140,5±0,70	139,5±0,70	128,5±14,84	137,5±2,13	141,5±0,70	139±0,1
K^+ (mmol/l)	5,25±0,05	5,05±0,025	6,2±0,3	5,7±0,1	4,2±0,1* ⁺	4,7±0,2 ⁺
Cl^- (mmol/l)	97±2,82	101,5±0,71	88,5±2,12	106,5±2,11	102,5±0,69	102±4,24

*p < 0,05 vs. groupe 1. +p < 0,05 vs. groupe 2.

L'évaluation des électrolytes plasmatiques constitue une étape primordiale dans le diagnostic des troubles métaboliques, en particulier le diabète de type 2, car ils jouent

un rôle clé dans la régulation de la pression artérielle (Shahid and Mahboob, 2003). Le sodium est l'électrolyte principalement impliqué dans le développement de l'hypertension artérielle (hypertension) et d'autres complications cardiovasculaires. L'hypokaliémie exprimée par les rats diabétiques traités avec du vinaigre de pomme peut être due à une réponse compensatoire du système rénal pour modérer la concentration de sodium et ainsi maintenir l'équilibre du sodium sanguin (Zhue et al., 2009). Des études antérieures ont montré que le taux sérique élevé du calcium a été directement associé au risque de diabète type 2 (Akpınar-Bayizit et al., 2010; Kondo et al., 2001). Cependant, l'administration concomitante quotidienne de vinaigre de pomme n'a pas pu améliorer le taux plasmatique de calcium. Cela est probablement lié à sa richesse en calcium (Ousaaïd et al., 2017). De plus, le vinaigre de pomme a un effet stimulant sur l'absorption du calcium. Cela peut améliorer la réduction de la pression artérielle par le système rénine-angiotensine grâce à l'inhibition de la libération de rénine (Kondo et al., 2001).

IV. Conclusion

L'analyse chimique du vinaigre de cidre de pomme a révélé la présence des composés bioactifs tels qu'une teneur en flavonoïdes qui pourrait être responsables de ses propriétés biologiques exceptionnelles à savoir l'activité antioxydante, l'activité antihyperglycémique et l'activité antihyperlipidémique.

Les résultats obtenus montrent que le régime hypercalorique (D-glucose) est associé à une augmentation de la glycémie, des triglycérides, du cholestérol, des LDL, des taux d'enzymes hépatiques, de l'urée et de la créatinine. La consommation quotidienne du VCP pourrait offrir des effets protecteurs prometteurs contre les changements métaboliques induits par le régime hypercalorique.

Chapitre 7 : Etude de l'activité antioxydante *in vivo* de l'échantillon S2 de la région de Midelt

I. Introduction

Le stress oxydatif induit une augmentation de la production des radicaux libres qui causent des dommages au niveau de divers organes. Il pourrait inhiber l'activité des enzymes antioxydantes, augmenter la production de radicaux libres et induire un stress oxydatif au niveau du foie (Kovacic and Somanathan, 2008). De nombreux facteurs peuvent être induits par ce déséquilibre tels que l'acidose, l'oxyde nitrique, les métaux de transition, l'oxydation des LDL (Espino et al., 2012), et le peroxyde d'hydrogène (Okoko and Ere, 2012). De plus, le peroxyde d'hydrogène possède la capacité de traverser la membrane en tant qu'agent destructeur et génère des radicaux hydroxyles (Okoko and Ere, 2012). D'autres producteurs d'espèces réactives d'oxygène (ERO) peuvent induire une nécrose et une apoptose (Ben Saad et al., 2019). Des évidences scientifiques ont bien établi que le stress oxydatif est la cause majeure de diverses pathologies (A. B. Bouazza et al., 2016; Burgos-Morón et al., 2019; Halima et al., 2017). De nos jours, l'utilisation de produits naturels s'avère être une bonne alternative aux produits chimiques dont les effets secondaires peuvent être graves (Jin, 2019; Silvester et al., 2019).

Le vinaigre de cidre de pomme est un produit naturel riche en substance bioactives telles que les polyphénols, les flavonoïdes, et les acides organiques. Il est utilisé en médecine alternative pour traiter plusieurs maladies (Chen et al., 2016a). Le vinaigre des fruits était recommandé pour traiter la laryngite, la fièvre, les maux d'estomac (Budak et al., 2014a). Récemment, certaines études ont rapporté que le vinaigre présentait un effet protecteur sur les hépatocytes en atténuant la toxicité induite par le peroxyde d'hydrogène (Xia et al., 2019), il contient plusieurs antioxydants et possède une activité antioxydante élevée (Bakir et al., 2016; A. B. Bouazza et al., 2016).

Dans le présent travail, les effets hépato-néphroprotecteurs du vinaigre de cidre de pomme a été évalué sur des rats de laboratoire en étudiant la capacité de ce produit à protéger les organes contre la toxicité induite par le peroxyde d'hydrogène.

II. Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

VCP : Compte tenu des résultats intéressants obtenus sur la caractérisation physicochimique et phytochimique de l'échantillon de vinaigre de pomme S2,

Rat Wistar : Le test a été effectué sur 12 mâles rats Wistar, pesant 103 ± 9 g obtenus auprès du centre d'élevage d'animaux au sein de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz de Fès. Les animaux sont acclimatés selon les mêmes conditions citées préalablement dans le paragraphe (figure 44).

2. Méthodes

Les animaux ont été répartis au hasard en trois groupes, chaque groupe contient quatre rats, la durée de traitement est de 22 jours :

- **Groupe 1** : représente le groupe témoin, les rats ont un libre accès à l'eau du robinet uniquement et à une alimentation normale. Ils sont traités par l'eau distillée (10ml/kg).
- **Groupe 2** : les rats ont un libre accès à l'eau du robinet et à une alimentation normale. Ils sont traités par une solution de peroxyde d'hydrogène (10 ml/kg b.wt 10 % H_2O_2).
- **Groupe 3** : les rats ont un accès libre à l'eau du robinet et à une alimentation normale. Ils sont traités par une solution de peroxyde d'hydrogène (10 ml/kg b.wt 10 % H_2O_2) et le VCP (10 ml/kg b.wt).

Après 22 jours de traitement, les rats ont été mis à jeun pendant une nuit (16 h) puis sacrifiés par décapitation sous anesthésie légère à l'éthyluréthane. Le sang a été prélevé dans des tubes secs et centrifugé à faible vitesse à $1500 \times g$ durant 15 min. le plasma récupéré a été conservé pour les analyses biochimiques. Les organes (le foie et les reins) sont prélevés et fixés dans le liquide pour les analyses histologiques.

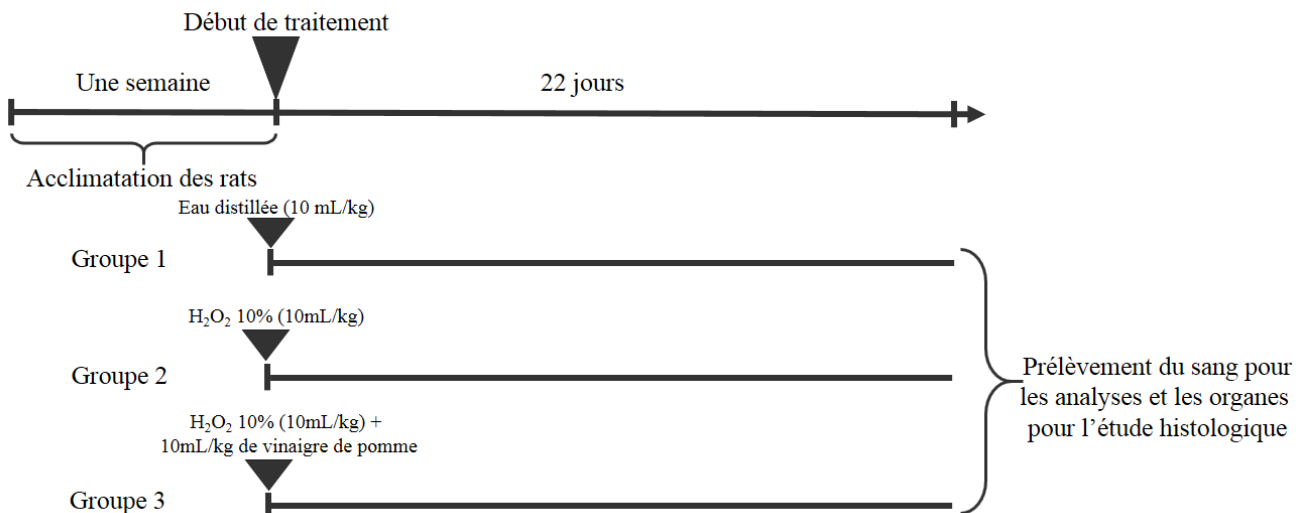


Figure 44: Protocole expérimental de l'évaluation de l'activité hépatonéphroprotectrice du vinaigre de cidre de pomme contre le peroxyde d'hydrogène.

3. Analyses biochimiques

Le plasma a été récupéré après centrifugation pour analyser les enzymes hépatiques (ALT, AST et PAL), la créatinine et l'urée.

4. Analyses histologiques

L'analyse histologique des organes (le foie et les reins) a été réalisée selon la méthodologie adoptée par Bakour et al., (2018). Les organes prélevés sont fixés immédiatement pendant 72 h dans des boîtes spécifiques contenant le formol dilué à 10 % et tamponné à la neutralité afin d'éviter la décomposition des tissus et de préserver leur architecture. Ensuite les tissus des organes ont été mis dans la paraffine afin de leur donner une consistance ferme nécessaire pour réaliser des coupes histologiques. La déshydratation des tissus a été réalisée par une série de concentrations croissantes d'éthanol (70 %, 95 % et 100 %), suivi d'une clarification dans le toluène. Enfin les coupes histologiques de 5-6 mm ont été préparées et colorées avec l'hématoxyline et de l'éosine pour l'observation microscopique.

4.1. Fixation

La fixation des organes (le foie et les reins) est faite par le formol dilué à 10 % pour éviter toute putréfaction des tissus à étudier. Les organes prélevés sont totalement immergés dans la solution fixatrice et y séjournent pendant 72 h.

4.2.Inclusion

Les organes fixés sont imprégnés dans des bains de la paraffine pour réaliser des blocs de paraffine qui facilitent la réalisation des coupes histologiques.

4.3.Coupe, étalement des lames, et coloration

Le microtome découpe les blocs en petites coupes de 3 μm d'épaisseur. Les rubans sont fixés par la suite sur des lames par l'utilisation d'une eau albumineuse et séchée à 55 °C. Le xylène est utilisé pour déparaffiner les lames fixées, ensuite les lames sont introduites dans des bains d'éthanol à des doses décroissantes pour les réhydrater.

Finalement, l'hématoxyline-éosine est utilisé comme colorant qui colore le noyau en bleu et le cytoplasme en rose.

III. Résultats et discussion

1. Effet du peroxyde d'hydrogène et du VCP sur les transaminases

Les résultats de l'étude de l'effet de peroxyde d'hydrogène et du vinaigre de cidre de pomme associés sur la fonction hépatique (ASAT, ALAT et PAL) sont présentés dans la figure 45 A, B et C.

L'administration de peroxyde d'hydrogène induit une augmentation significative des taux de l'aspartate amino-transférase (ASAT) (figure 45 A), alors que les taux d'ALAT et PAL n'ont pas été significativement augmenté. D'un côté, les taux d'ASAT et d'ALAT n'ont pas été significativement modifiés avec le traitement simultané par le vinaigre de cidre de pomme malgré une tendance à la baisse des

niveaux des deux enzymes hépatiques (Figure 47 A et B). D'un autre côté, le vinaigre de pommes n'a aucun effet sur les taux de PAL (figure 47 C).

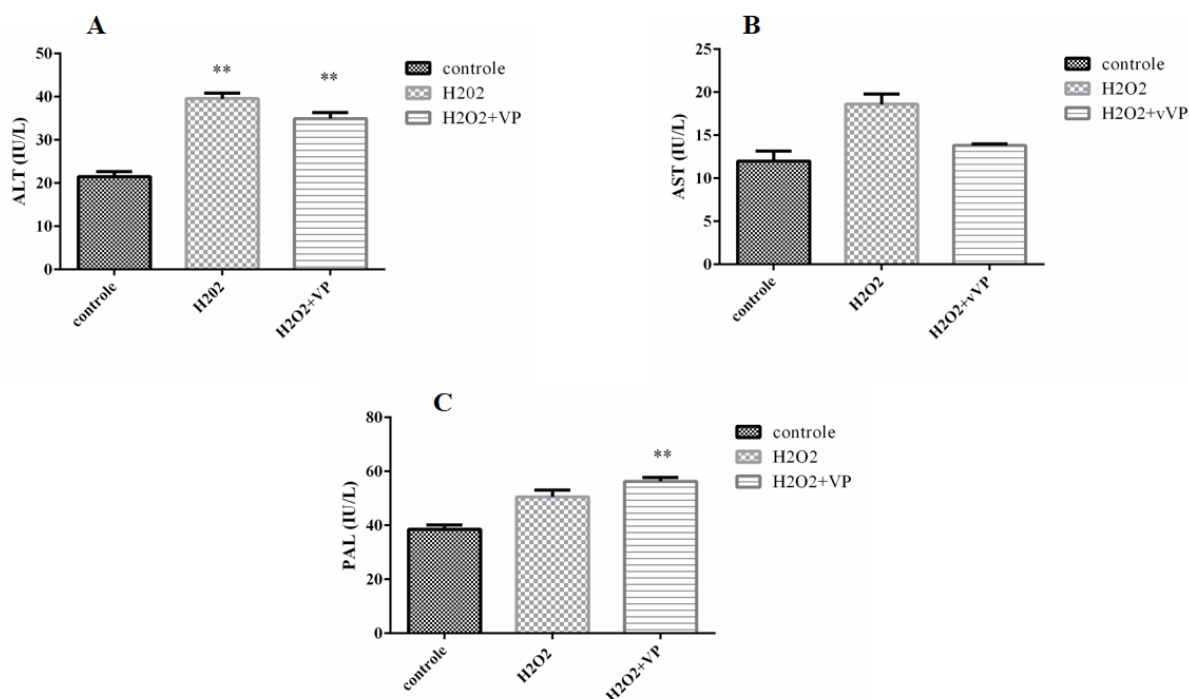


Figure 45: Les enzymes hépatiques des rats traités par le D-glucose et le vinaigre de pomme A : aspartate aminotransférase (AST), B : alanine aminotransférase (ALT), C : lactate déshydrogénase (LDH).

L'élévation des taux d'enzymes hépatiques est causée par la toxicité du peroxyde d'hydrogène. Il agit par sa capacité à pénétrer à travers les membranes cellulaires et génère des radicaux hydroxyles impliqués dans les lésions des organes (Okoko and Ere, 2012; Sam et al., 2019). Le taux élevé des enzymes hépatocellulaires indiquent une inflammation ou une lésion des cellules du foie expliquée par une fuite d'enzymes vers le plasma (Bakour et al., 2018a). Nos résultats sont en accords avec ceux rapportés par (Bakour et al., 2018). Il a été montré que le vinaigre de pomme réduit l'oxydation au niveau du foie et améliore la fonction enzymatique hépatocellulaires (Omar et al. 2015). Par sa riche composition en différents composés bioactifs qui ont un effet hépato protecteur en raison de leur capacité à diminuer la fuite d'enzymes hépatiques et favorise les défenses du système antioxydant (Halima et al., 2017; Omar et al. 2015; Öztürk et al., 2009)

2. Effet du peroxyde d'hydrogène et du VCP sur les paramètres rénaux

En ce qui concerne l'évaluation des paramètres rénaux, l'administration de peroxyde d'hydrogène a augmenté non significativement les taux de créatinine et d'urée sériques par rapport au témoin (Figure 46 A et B). L'administration en plus de vinaigre de pommes a induit une diminution non significative des taux de la créatinine (figure 46 A) mais il n'a aucun effet sur les taux de l'urée (figure 46 B).

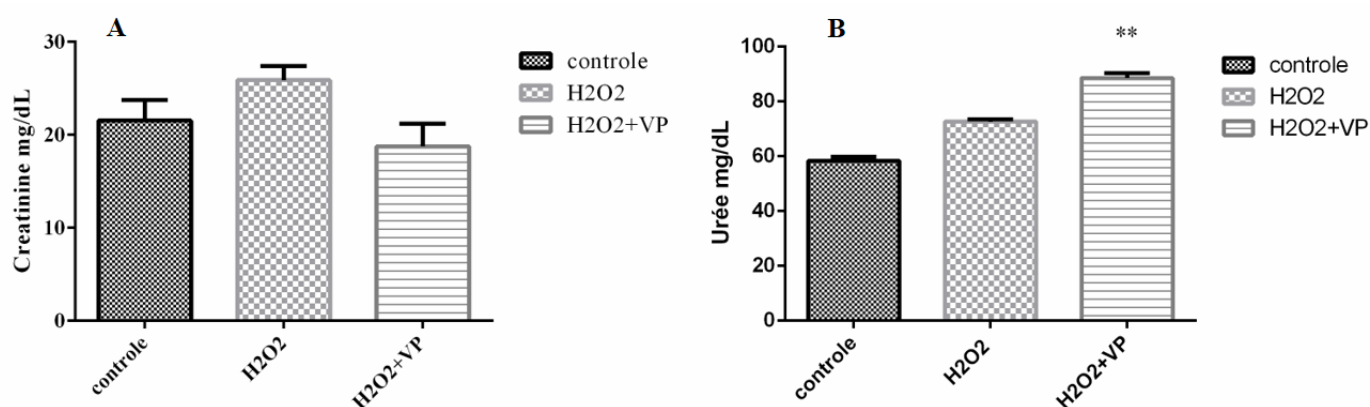


Figure 46: Bilan rénal des rats traités par le peroxyde d'hydrogène et le vinaigre de cidre de pomme, A : créatinine, B : urée.

Le rein est un organe extrêmement vital par son indispensable rôle métabolique (excrétion et régulation). L'exposition de cet organe aux xénobiotiques induit la néphro-toxicité qui est capable de compromettre son état physiologique et ses fonctions métaboliques (Schetz et al., 2005; Zager, 1997). Le peroxyde d'hydrogène est un xénobiotique typique et potentiel agent toxique largement utilisé pour évaluer le pouvoir néphroprotecteur d'un produit naturel contre la toxicité rénale (Bakour et al., 2018). Il est établi que les effets toxiques du peroxyde d'hydrogène sont liés à la génération des radicaux libres. De ce fait, le pouvoir néphroprotecteur, contre l'effet toxique de CCl₄, du vinaigre de cidre de pomme a été étudié. Dans cette étude, les chercheurs ont montré que le vinaigre de cidre de pomme a apparemment amélioré la capacité du rein à empêcher l'accumulation de la créatinine dans le sang en abaissant son taux sérique de 20.51% par rapport au groupe traité par le CCl₄ (Asejeje et al., 2020). Dans notre étude, le vinaigre de pomme n'a aucun effet sur le taux d'urée, par contre l'étude menée par (Bouazza et al., 2016) ont montré que l'administration de vinaigre de pomme réduit le taux d'urée par 33.33% par rapport au taux d'urée du

groupe hyperlipidémique. Des études antérieures ont prouvé que le vinaigre de pomme possède une activité antioxydante remarquable (Bouazza et al., 2016; Budak and Guzel-Seydim, 2010; Halima et al., 2016; Öztürk et al., 2009) ce qui peut expliquer son pouvoir néphroprotecteur contre le stress oxydant généré par l'administration du peroxyde d'hydrogène.

3. Étude histologique

3.1. Au niveau hépatique

L'étude histologique des organes (foie et rein) des rats du groupe témoin présente un aspect normal et une structure régulière des tissus hépatiques. Les hépatocytes présentent une architecture normale avec un cytoplasme granuleux, des espaces sinusoides, et une veine centro-lobulaire (figure 47 A). Les coupes histologiques du foie des rats traités par le peroxyde d'hydrogène montrent une architecture désorganisée et des cellules avec un cytoplasme clair entourent la veine centro-lobulaire dilatée (figure 47 B). Les coupes histologiques du foie de groupe traité simultanément par H₂O₂ et VCP montrent, par contre, une réorganisation de la structure du tissu hépatique avec un espace sinusoidal presque normal (figure 47 C).

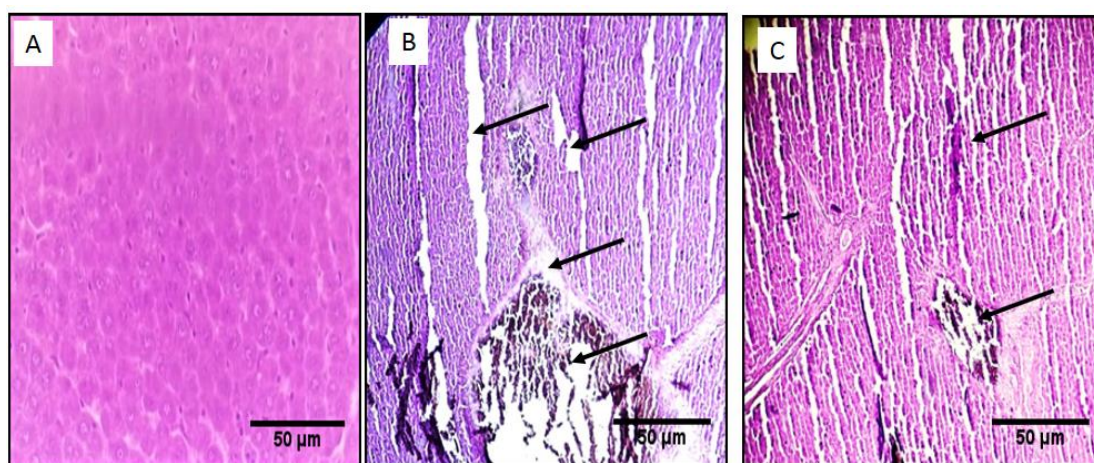


Figure 47: A : Eau distillée : tissu normal ; B : H₂O₂ seul : les flèches montrent des congestions et des hémorragies ; C : H₂O₂+vinaigre : les flèches montrent des congestions

La désorganisation de l'architecture hépatique constitue un signe de toxicité qui peut altérer la fonction hépatique. Le VCP contient un cocktail de molécules bioactives avec un potentiel hépato protecteur important. L'acide Trans-ferulique et l'acide ferulique sont les composants majoritaires présents dans le VCP. Différentes études ultérieures montrent que l'administration des deux composants (l'acide trans-ferulique

et l'acide ferulique) empêche l'hépatotoxicité et la peroxydation lipidique au niveau hépatique (ahmadipour et al., 2021; Hassanein et al., 2021; Yang et al., 2018). Hassanein et al., (2021) ont montré que l'acide trans-ferulique atténue efficacement les cytokines inflammatoires via une régulation négative de TLR4 et IRF3, P38-MAPK, JAK1, ERK1, et ERK2. En outre, le traitement par l'acide méthyl-ferulique a significativement diminué les activités des enzymes hépatiques (ALAT et ASAT) en augmentant également les taux de la superoxyde dismutase, la catalase, et la glutathion peroxydase et réduisant la concentration de malondialdéhyde au niveau hépatique (Yang et al., 2018) ce qui peut expliquer l'effet hépatoprotecteur du VCP.

3.2. Au niveau rénal

Cette partie est consacrée aux effets causés par l'administration du peroxyde d'hydrogène sur les reins des rats. Les coupes histologiques des reins du groupe témoin montrent une structure normale des capsules de Bowman (Figure 48 A). Le traitement par le peroxyde d'hydrogène induit une congestion avec des capsules dilatées et atrophiées (Figure 48 B). Les rats traités simultanément avec le vinaigre de pommes présentent des améliorations au niveau structurel et une architecture des capsules de Bowman normale et non atrophiée (Figure 48 C).

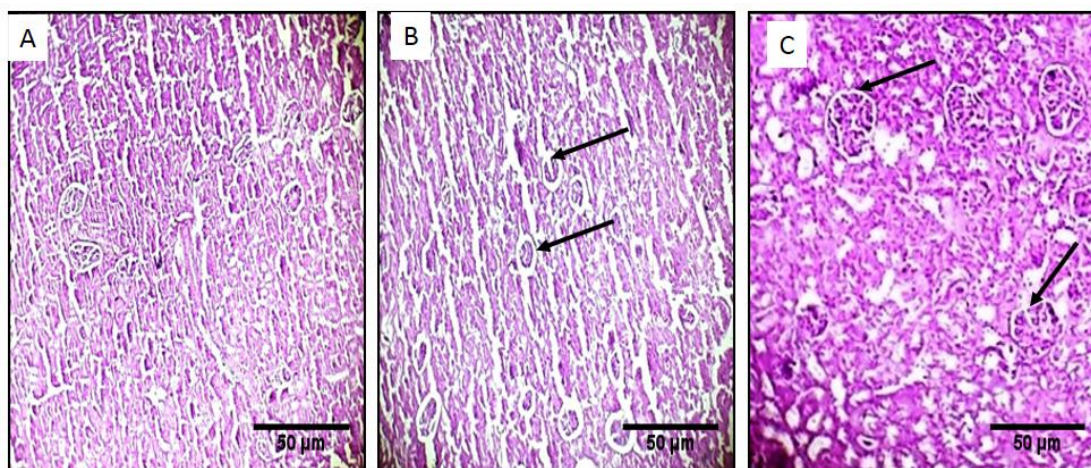


Figure 48: A: Eau distillée: tissu normal; B: H₂O₂ seul: flèches montrent des congestions et des hémorragies; C: H₂O₂+vinaigre: flèches montrent des congestions

Les dommages oxydatifs jouent un rôle clé dans la pathogénèse rénale induite par le peroxyde d'hydrogène et les radicaux libres générés qui sont au centre des mécanismes qui conduisent à la toxicité (Bakour et al., 2018; Upadhyay et al., 2019). L'interprétation des résultats suggèrent que l'administration du vinaigre de pomme a amélioré les dommages causés par le peroxyde d'hydrogène (Figure 50). La capacité néphroprotectrice du VCP contre les troubles rénaux peut être attribuée à sa richesse en

composés antioxydants comme l'acide trans-férulique, l'acide férulique, l'acide sinapique, l'apigénine, et l'arbutine. Les composés phénoliques sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes, hépatoprotectrices et néphroprotectrices (ahmadipour et al., 2021; Altındağ et al., 2021; Giada, 2013; Salau et al., 2021; Yang et al., 2018).

IV. Conclusion

Les résultats de cette étude montrent que le peroxyde d'hydrogène modifie les taux d'enzymes hépatiques, de créatinine, et d'urée. Les paramètres étudiés étaient peu marqués en raison de la durée de traitement. Le vinaigre de cidre de pomme est un produit naturel qui peut être utilisé pour prévenir et/ou traiter les complications du stress oxydatif grâce à sa richesse en molécules bioactives.

Discussion générale

Le désordre métabolique et le stress oxydatif sont les conséquences d'une mauvaise hygiène de vie, de la sédentarité, et d'une mauvaise alimentation. Le diabète et ses complications sont en effet le problème majeur du siècle (Moreira, 2013). La prévalence du diabète augmente mondialement de façon exponentielle. Le régime hypercalorique est le principal facteur impliqué dans le développement du risque cardiovasculaire, de l'hypercholestérolémie, de l'hypertension, de l'hyperglycémie, et de quelques types de cancer (Grundy, 2004; Marinou et al., 2010; Singla et al., 2010). Des études antérieures ont prouvé que la consommation chronique du glucose cause l'hypertension artérielle, l'insulinorésistance, l'hyperglycémie, et le stress oxydatif au niveau vasculaire (El Midaoui et al., 2016; Popkin et al., 2012; Shahidi and Miraliakbari, 2004; Zhao et al., 2016). Le stress oxydatif est à l'origine de plusieurs pathologies comme le diabète, qui peut être évité par une consommation de produits naturels riches en antioxydants, entre autres le VCP riche en molécules bioactives.

En effet, différentes structures phénoliques ont été déterminées jusqu'à présent dans le VCP avec leur occurrence fortement liée à la variété de pomme. De plus, le processus d'élaboration du VCP, la fermentation, la durée de macération avec ou sans la pulpe et la pelure, le pressurage et la maturation affectent la composition phytochimique du produit fini (Garcia-Parrilla et al., 2017). En générale, la méthode traditionnelle fournit des VCP de meilleure qualité grâce à une excellente complexité moléculaire due à la longue période du processus en permettant la formation de nouveaux molécules par polymérisation et également assurer une meilleure libération des composés bioactifs de la matière première (Budak and Guzel-Seydim, 2010; Garcia-Parrilla et al., 2017). Par contre, la méthode industrielle provoque un changement plus important au cours de la fermentation acétique grâce au flux d'oxygène élevé qui accentue l'oxydation des composés phénoliques, ainsi que la courte durée de production achève rapidement le processus de la formation des nouveaux composés (Mazza and Murooka, 2009; Solieri and Giudici, 2009). Ceci peut expliquer la richesse du VCP artisanal en molécules bioactives. Le VCP en tant que bioliquide sain peut être utilisé comme un solvant vert pour l'extraction des molécules bioactives à partir d'une matrice végétale à la place des solvants organiques. Le VCP est un liquide polaire, avec une densité, une viscosité, une acidité et une activité qui peuvent faciliter le processus d'extraction des molécules bioactives (Filly et al., 2016). L'extraction douce et durable par le VCP respecte l'environnement pour la préparation

des échantillons sans risque d'intoxication par les résidus comme ceux des solvants organiques.

La résistance bactérienne aux antibiotiques pose, en outre des menaces sanitaires majeures et mondiales. Le vinaigre de cidre de pomme s'est avéré avoir une puissante activité antibactérienne contre les bactéries résistantes (Yagnik et al., 2021, 2018). Le VCP contient un cocktail d'ingrédients bioactifs comme les acides organiques qui inhibent la croissance bactérienne par la destruction de la paroi bactérienne, l'inhibition de la synthèse des macromolécules, la consommation de l'énergie de la bactérie, l'augmentation de la pression osmotique, et la promotion de la synthèse des peptides antibactériens dans la cellule hôte (Figure 49) (Zhang et al., 2011). Récemment, Yagnik et al., (2021) ont étudié l'effet du VCP sur la multiplication de deux souches bactériennes résistantes (*Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline et *Escherichia coli* résistante à céfépème et céfépème-enmetazobactame combinés).

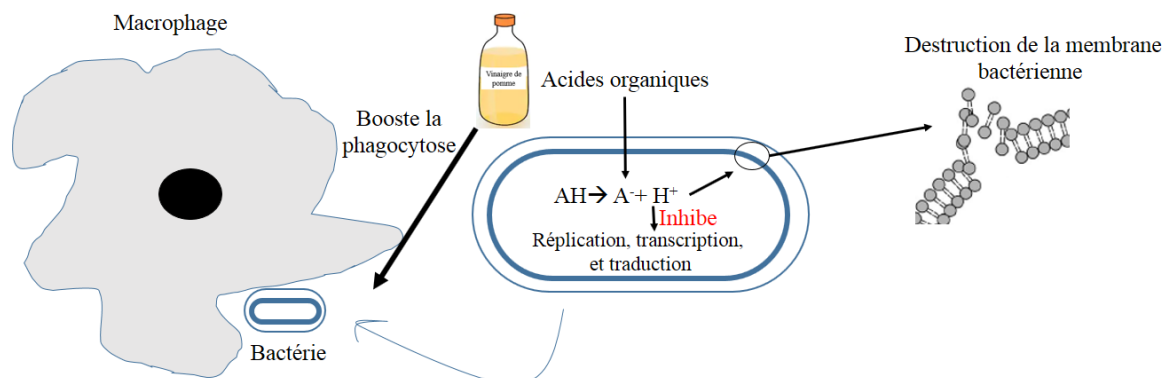


Figure 49: Mécanisme d'action proposé selon Zhang et al., (2011).et Yagnik et al., (2021)

Les mêmes chercheurs ont montré par l'analyse protéomique, que les deux bactéries traitées par le VCP sont dépourvues des enzymes clés de la réplication de l'ADN, de protéines glycolytiques et respiratoires. Les protéines absentes après le traitement par le vinaigre de pomme pour *E.coli* sont : les protéines ribosomales 30 s, la sous-unité alpha d'ARN polymérase dirigée sur l'ADN, le facteur d'élongation TU et G OS-E. coli, le formiate C -acétyltransférase 1 OS E-coli, la protéine chaperon, la chaperonine OS E. coli 60 kDa. Les protéines absentes après le traitement par le vinaigre de pomme pour *S.aureus* sont : le facteur d'élongation TU et la phosphoglycérate kinase (Yagnik et al., 2021). L'absence de ces protéines montre l'effet antibactérien de vinaigre de pomme. En effet, le passage des acides organiques à travers la membrane plasmique des bactéries réduit le pH interne par la libération des protons H^+ en induisant la protonation des macromolécules et une déstabilisation de la membrane cellulaire (Figure 51) (Alakomi et al., 2000; Brul and Coote, 1999; Hirshfield et al., 2003). D'autres études ont montré un effet antibactérien remarquable du vinaigre de pomme en le comparant avec plusieurs détergents contre différents microorganismes (AL-Salihi, 2019; Jia et al., 2019). Le vinaigre de pomme en tant que produit sain a été utilisé comme une boisson diluée. Ce bioliquide a montré ses propriétés antifongiques contre *Candida albicans* spp. impliqué dans la stomatite

dentaire (Mota et al., 2015). El-Sayed et al., (2019) ont montré également que l'utilisation de vinaigre de pomme à l'aide du système d'irrigation Endovac présente des résultats prometteurs pour éradiquer *Enterococcus faecalis* (ATCC29212).

La consommation de vinaigre de pomme n'affecte pas les paramètres sanguins, il n'a aucun effet sur les monocytes humains en culture même après 24h d'exposition directe à des doses élevées (Yagnik et al., 2021). En effet, une augmentation de la capacité phagocytaire des monocytes exposés au vinaigre de pomme a été remarquée en présence de *Staphylococcus aureus* ou *E.coli* résistantes avec des proportions de 21,2% et 33,5% respectivement (Figure 51) (Yagnik et al., 2021). Ceci montre que le vinaigre de pomme booste l'immunité contre les infections.

La régulation de la glycémie par le vinaigre de pomme est le résultat de plusieurs interactions de ses composés actifs et les fonctions biologiques de l'organisme. L'acide acétique en tant qu'acide organique majoritaire du VCP prouve son pouvoir à réduire la glycémie à jeun après un repas riche en carbohydrates (Ogawa et al., 2000). De plus l'effet hypoglycémiant du VCP a été évident quand il a été administré avec des carbohydrates complexes, mais non pas avec des monosaccharides (Johnston et al., 2010; van Dijk et al., 2012). Le contrôle de l'hyperglycémie commence par l'inhibition des enzymes hydrolysant les carbohydrates comme une première étape de traitement du diabète. L'étude de l'activité inhibitrice de l' α -glucosidase et l' α -amylase du VCP produit par deux techniques différentes constitue le premier pas de l'évaluation du pouvoir antidiabétique du VCP. L'inhibition de ces deux enzymes peut réduire l'hyperglycémie postprandiale (Hirsh et al., 1997). Dans notre étude, le vinaigre de cidre de pomme artisanal exerce un pouvoir inhibiteur remarquable sur les deux enzymes ce qui contribue à la suppression ou l'interruption de l'hydrolyse des carbohydrates comme approche de contrôle de l'hyperglycémie (Halima et al., 2016; Kim et al., 2011). Il a été prouvé que la méthode traditionnelle pour produire le VCP fournit des produits de meilleure qualité grâce à complexité en molécules bioactives (Garcia-Parrilla et al., 2017). En outre, la régulation de la glycémie est étroitement liée à la sécrétion de l'insuline et de son action sur les tissus périphériques. La consommation du VCP réduit le taux sérique de l'insuline et augmente la sensibilité des muscles squelettiques à son effet pour augmenter l'absorption de glucose par les tissus périphériques (Mitrou et al., 2015). L'acide acétique améliore la glycogénogénèse en réduisant la glycolyse, retarde la vidange gastrique, inhibe

l'activité des disaccharidases et améliore la sensibilité à l'insuline (Petsiou et al., 2014). L'activation de la voie AMPK par l'acide acétique stimule le stockage du glucose sous forme de glycogène, réduit la glycémie, augmente la sensibilité à l'insuline et diminue la résistance à l'insuline en inhibant directement l'expression génétique des enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose et des lipides (Sakakibara et al., 2006).

Les polyphénols sont présents dans le VCP à des proportions différentes, l'analyse phytochimique du VCP nous a permis de détecter 32 molécules bioactives. L'acide trans-ferulique, l'acide ferulique, l'acide sinapique, l'arbutine, l'apigénine, et l'acide trans-cinnamique se trouvent avec des proportions de 43.92%, 40.15%, 3.83%, 3.73%, 2.53%, et 1.83% respectivement. Ces molécules bioactives sont bien connues pour leurs propriétés antioxydantes, antihyperglycémiques, antihyperlipidémique, et antiinflammatoires (ahmadipour et al., 2021; Altındağ et al., 2021; Giada, 2013; Wang and Roper, 2014). La composition phytochimique varie selon le cultivar et la méthodologie de production du VCP. Dans une autre étude, Kelebek et al., (2017) ont trouvé que l'acide chlorogénique représente environ 77% suivi de l'acide gallique (environ 12%), l'acide caféique (environ 7%), et l'acide *p*-coumarique (environ 2%). L'étude menée par Bakir et al., (2016) montre que la catéchine est le composé actif majoritaire avec une quantité de $2,4 \pm 0,1$ mg/100 ml, suivi par l'acide gallique ($0,8 \pm 0,4$ mg/100 ml), l'acide caféique ($0,4 \pm 0,01$ mg/100 ml), et l'acide *p*-Hydroxy benzoïque ($0,2 \pm 0,1$ mg/100 ml).

Les polyphénols exercent leurs effets bénéfiques par le biais de trois mécanismes d'actions jouant sur le pouvoir antioxydant de ces molécules biologiquement actives. Ils ont la capacité de transférer (Dangles, 2020; Hu et al., 2019) :

- Un atome d'hydrogène à un radical libre pour le neutraliser et le rendre inoffensif.
- Un électron stabilisant énergétiquement le radical libre

Le troisième mécanisme d'action est la chélation des métaux lourds qui ont des effets toxiques sur la santé humaine.

L'un des composés actifs majoritaire du VCP est l'acide chlorogénique qui est considéré comme un sensibilisant naturel à l'insuline, il potentialise l'effet de l'insuline, son effet est similaire à l'action thérapeutique de la metformine. Il inhibe

également l'absorption du glucose au niveau intestinal (Welsch et al., 1989). L'acide chlorogénique a un effet similaire aux incrétines en diminuant le taux sérique de peptide glucose-dépendent insulinothrophique (GIP) et augmente le taux du glucagon-like peptide-1 (GLP-1) (McCarty, 2005). Le GLP-1 booste la production de l'AMPc dans les cellules bêta en activant un récepteur membranaire connu par son effet trophique sur la fonction des cellules bêta des îlots de Langerhans ce qui amplifie la sécrétion de l'insuline dépendante au glucose. Ce qui peut inverser le dysfonctionnement des cellules bêta chez les sujets diabétiques de type 2 et par conséquent une diminution de la glycémie (Drucker, 2003; MacDonald et al., 2002; Thorens and Waeber, 1993). Récemment, l'effet préventif des molécules bioactives contre les complications induites par un régime hypercalorique a été étudié par Laaroussi et al., (2020), ils ont montré que l'interaction entre différentes molécules bioactives dont l'acide gallique, l'acide hydroxy benzoïque, la catéchine, l'acide chlorogénique, et l'acide *p*-coumarique, inhibe l'augmentation de la glycémie et le taux sérique de l'insuline due à la consommation chronique du D-glucose et en suite la suppression des complications accompagnées de l'hyperglycémie chronique. L'effet préventif du VCP résulte de l'interaction de nombreux composés biologiquement actifs présents dans le vinaigre dont les polyphénols et les acides organiques (Figure 50).

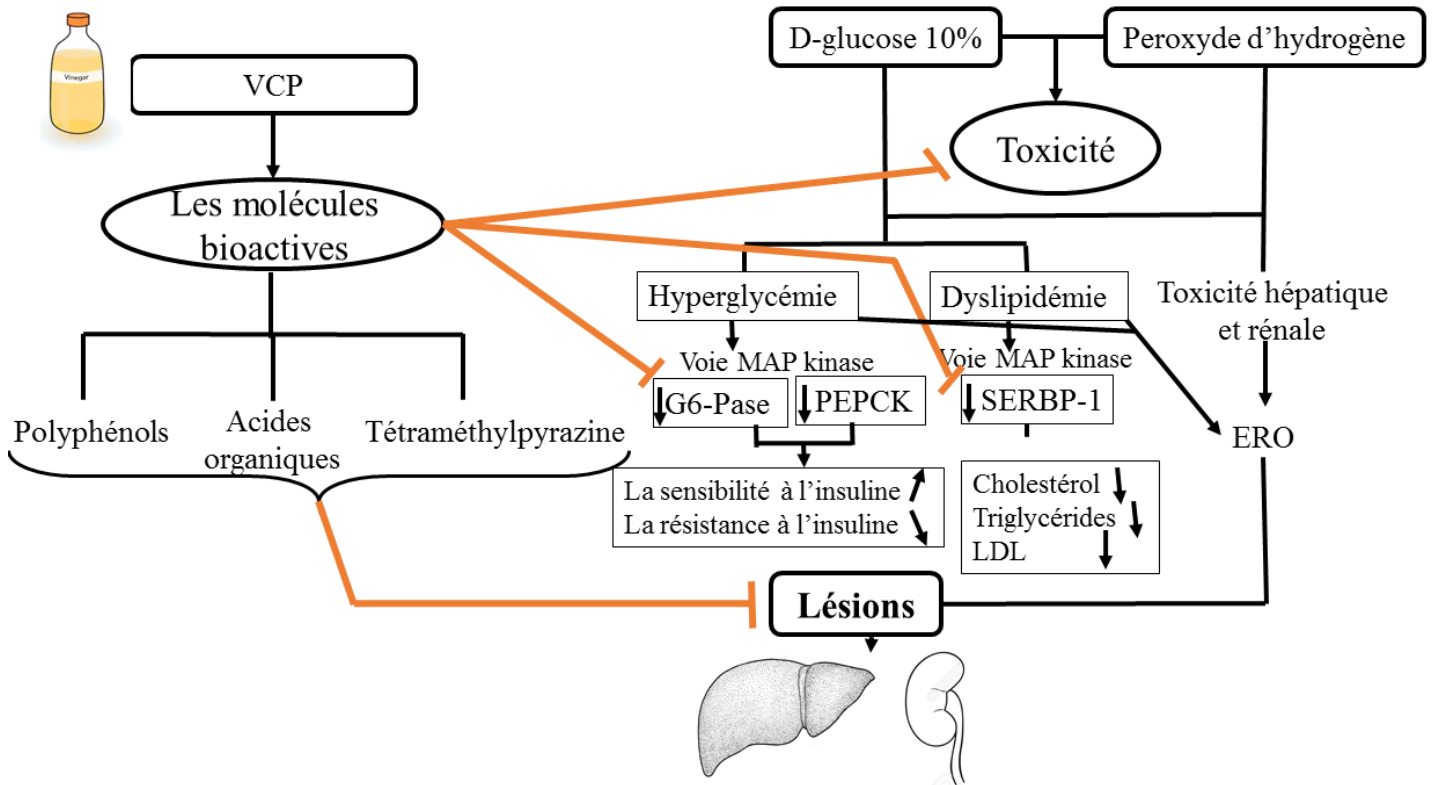


Figure 50: Mécanismes d'action possibles du VCP contre les désordres métaboliques et le stress oxydatif

L'hyperglycémie persistante s'accompagne de complications au niveau hépatique. Donc le bilan hépatique est un marqueur important pour l'évaluation des complications liées au régime hypercalorique adopté dans notre étude. L'administration du D-glucose aux rats Wistar pendant 22 jours, montre clairement que ce régime hypercalorique augmente les paramètres du bilan lipidique et des enzymes hépatiques et réduit le taux du bon cholestérol (HDL). Le traitement simultané par le VCP améliore les taux du cholestérol, des triglycérides, du LDL-c, et du HDL-c mais d'une manière non significative. De même, le VCP rétablit significativement les taux normaux des enzymes hépatiques. Nos résultats sont en accord avec d'autres études qui ont montré que le vinaigre de pomme améliore le profil lipidique (Bouazza et al., 2016; Halima et al., 2017; Setorki et al., 2010; Soltan and Shehata, 2012). Au niveau génétique, l'acide acétique contenu dans le VCP, inhibe les gènes responsables de la synthèse des acides gras et active la voie MAPK en induisant la réduction du cholestérol, des triglycérides, et du LDL par la régulation de l'expression du gène *srebp-1* (Figure 44) (Fushimi et al., 2006; Sakakibara et al., 2006). Il stimule également la sécrétion de la bile et l'oxydation des acides gras et ainsi la réduction des paramètres du bilan lipidique (Fushimi et al.,

2006; Fushimi and Sato, 2005). De surcroît, le vinaigre de pomme contient un cocktail de molécules bioactives comme l'acide trans-férulique, l'acide férulique, l'acide sinapique, l'apigénine, et l'arbutine. Ces molécules bioactives présents dans le VCP possèdent des propriétés antioxydantes, hépatoprotectrices, et néphroprotectrices, en agissant sur le statut du système antioxydant de défense (ahmadipour et al., 2021; Altındağ et al., 2021; Giada, 2013; Yang et al., 2018). D'autres chercheurs ont détecté d'autres molécules majoritaires du VCP qui sont présentes dans notre échantillon à faibles proportions comme l'acide chlorogénique, l'acide protochatechique, l'acide vanillique, l'acide gallique, et l'acide caféique qui sont les plus abondants et qui interviennent dans le contrôle du profil lipidique en inhibant l'installation du désordre métabolique des lipides (Aykin et al., 2015; Du et al., 2020; Kelebek et al., 2017; Mateos-Aparicio et al., 2020; Meng et al., 2013; Zhang et al., 2021). L'activité antioxydante importante des molécules bioactives présentes dans le VCP inhibe la peroxydation lipidique et par conséquent il y a diminution du cholestérol, du LDL, et du malondialdéhyde (MDA) (Goldstein et al., 1979). Les molécules bioactives contenues dans le VCP inhibent également l'accumulation des lipides par l'inhibition de leur absorption et par l'activation du métabolisme des lipides au niveau hépatique (Shimoda et al., 2006). La synergie entre les différentes molécules bioactives de vinaigre de pomme a des conséquences bénéfiques sur la santé, ce qui explique ses propriétés thérapeutiques exceptionnelles (Figure 50).

Le stress oxydatif se manifeste par une surproduction des espèces réactives d'oxygène et d'azote (ERO et ERA). Il est défini comme "un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants en faveur des oxydants, conduisant à une perturbation de la signalisation et du contrôle redox et/ou des dommages moléculaires (Sies, 2015). Les espèces réactives interagissent avec toute une série de molécules biologiques essentielles comme les protéines, les acides nucléiques, et les lipides membranaires. La destruction de ces molécules induit différentes pathologies.

L'hyperglycémie chronique induit une surproduction des radicaux superoxydes. Elle augmente les équivalents réducteurs de la chaîne de transport d'électrons et le potentiel électrochimique à travers la membrane mitochondriale interne. L'élévation de la production du radical superoxyde inhibe directement ou indirectement l'enzyme GAPDH ce qui induit l'accumulation des produits intermédiaires glycolytiques (Brownlee, 2005, 2001; Rodacka et al., 2010). La génération des ERO par

l'hyperglycémie s'effectue par la stimulation de quatre voies : (1) l'augmentation du flux de glucose à travers la voie des polyols, (2) la formation accrue des produits terminaux de glycation (AGE), (3) l'hyperactivité de la voie de l'hexoamine et (4) l'activation des isoformes des protéines kinase C (PKC) (Rains and Jain, 2011; Vanessa Fiorentino et al., 2013). La surproduction des ERO constitue une situation de stress oxydant lorsque les systèmes de défense sont affaiblis par des agents stressant dont l'hyperglycémie et le peroxyde d'hydrogène qui ont fait l'objet de notre étude.

L'une des stratégies efficaces contre les agents stressants est l'utilisation des produits naturels, grâce à leur pouvoir antioxydant puissant pour neutraliser les radicaux libres. Le vinaigre de pomme en tant que produit naturel possède une activité antioxydante remarquable (Bakir et al., 2016; Ozturk et al., 2015). Il a été utilisé pour neutraliser et/ou prévenir les effets néfastes induits par plusieurs agents stressants tels que la nicotine, le diabète, l'hyperlipidémie, et le peroxyde d'hydrogène (Bouazza et al., 2016; Halima et al., 2017; Omar et al., 2015; Ousaaïd et al., 2020; Tripathi et al., 2020; Zou et al., 2018). Le stress oxydant se manifeste par la déstabilisation des mécanismes impliqués dans le système de défense antioxydant via les enzymes antioxydantes. La capacité des êtres humains à lutter contre les oxydants est primordiale pour rester en bonne santé. Les radicaux libres sont à l'origine de plusieurs pathologies comme l'arthrite, le choc hémorragique, l'athérosclérose, le vieillissement, l'alzheimer, la dysfonction gastro-intestinale... etc. En conséquence, les antioxydants aussi bien endogènes qu'exogènes sont essentiels pour prévenir de telles maladies.

Des études ont prouvé que l'administration de vinaigre de cidre de pomme possède un effet préventif contre le stress oxydatif induit par le diabète sur des modèles animaux (Juskova et al., 2011 ; Sakakibara et al., 2006; Shishehbor et al., 2008) et chez l'être humain (Gheflati et al., 2019), l'ovariectomie chez les souris (Naziroğlu, 2012; Naziroğlu et al., 2014), le régime alimentaire riche en graisses (Bouazza et al., 2016; Halima et al., 2017), le stress de contention chronique (Abdulrauf et al., 2018). Par son pouvoir antioxydant, le vinaigre de cidre a diminué le taux de la peroxydation lipidique au niveau du cristallin des rats ovariectomisés, de plus, il améliore l'activité de la machinerie enzymatique impliquée dans le système antioxydant de défense (GSH-Px) (Naziroğlu, 2012). Ce qui peut prévenir les effets toxiques des ERO. En outre, l'administration de vinaigre de cidre aux rats soumis à une hyperlipidémie a augmenté les teneurs sériques des enzymes en système de défense antioxydant (SOD, GPx, GRx,

et TAS) et a diminué le taux de TBARS dans le sérum et au niveau hépatique avec des proportions de 61.85% et 43.85% respectivement (Bouazza et al., 2016). La neutralisation des radicaux libres s'effectue par l'intervention des enzymes de défense endogènes comme la superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase, la glutathion réductase et la catalase (Sies, 1994). Cette machinerie enzymatique constitue la première ligne de défense contre les dégâts induits par les radicaux libres. Des études ont indiqué que les antioxydants exogènes peuvent inhiber et empêcher l'étendue de la peroxydation lipidique (Nazıroğlu, 2012; Nazıroğlu et al., 2014; Toualbi et al., 2020; Zou et al., 2018). Nakamura et al., (2010) ont rapporté que le vinaigre de cidre booste l'activité de la superoxyde dismutase.

Il en ressort que l'administration de vinaigre de pomme améliore les paramètres sériques dont le profil lipidique, la glycémie, et le bilan hépatique et rénal.

Ceci est dû à la richesse de vinaigre de pomme en polyphénols, en flavonoïdes, en acides organiques, ainsi qu'en éléments minéraux. Nos résultats montrent que le vinaigre de cidre de pomme protège efficacement les tissus en particulier le foie et les reins (Figure 46) contre les effets néfastes du stress oxydatif induit par le peroxyde d'hydrogène.

Conclusions et perspectives

La pomme constitue une mine inépuisable des éléments biologiquement actifs pour une diète saine et équilibrée. Au Maroc, depuis des décennies, la pomiculture constitue une source de revenu pour les populations des montagnes. Elle s'étend sur une superficie d'environ 63000 ha et qui est en expansion continue grâce au plan Maroc vert. La transformation des pommes au niveau des deux régions d'étude se fait grâce à la création de nombreuses coopératives agricoles dans le but de valoriser la culture des pommes par la production des sous-produits comme le jus et le vinaigre de cidre de pomme. Le VCP est le plus apprécié pour ses nombreuses propriétés culinaires et thérapeutiques. La valorisation et la standardisation de ce produit local peut renforcer l'attention porté aujourd'hui aux produits de terroir en les projetant dans la sphère marchande avec une forte identité en se basant sur les résultats obtenus dans la présente étude.

Pour répondre aux objectifs sur lesquels on s'est focalisé dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés dans un premier temps à mener une étude ethnopharmacologique de vinaigre de cidre de pomme afin de connaître la productivité du VCP par les coopératives des deux régions et aussi pour mener une enquête auprès de la population pour savoir comment le VCP est utilisé et dans quels buts. L'enquête ethnopharmacologique sur les utilisations de vinaigre de pomme a été menée dans la région de Fès-Meknès et la région de Deraa-Tafilalet, dans un but de recueillir et de préserver le savoir-faire ancestral de la population locale pour les générations futures. Le VCP est utilisé pour le traitement de plusieurs affections. Sur l'ensemble des affections traitées par le vinaigre de pomme, le désordre du tube digestif et les affections de la peau représentaient les maladies la plus répondues.

Nous avons par la suite procédé à la caractérisation de la matière première du vinaigre de pomme à savoir les deux variétés de pommes le *Golden délicious* et le *Red délicious* considérées comme les variétés les plus prédominantes dans les deux régions d'étude, la région de Deraa-Tafilalet et la région de Fès-Meknès. Il en ressort que ces deux variétés de pomme possèdent des caractéristiques physicochimiques et phytochimiques intéressantes, ainsi qu'une bonne activité antioxydante. L'analyse des résultats obtenus des différents échantillons de pommes révèle une grande variabilité des paramètres étudiés selon l'origine géographique et la variété de la pomme. Les tests de la quantification des antioxydants ont révélé que les variétés de pommes utilisées dans la fabrication de nos échantillons de VCP présentent des activités antioxydantes

remarquables avec des teneurs élevées en molécules bioactives notamment les flavonoïdes. La pomme constitue en effet une source importante en molécules bioactives qui se trouvent dans le VCP, une fois produit à partir de ces pommes, et qui lui procure son remarquable pouvoir antioxydant. La technique de production de VCP a un impact considérable sur la teneur en molécules bioactives ainsi que l'activité inhibitrice des enzymes l' α -glucosidase et l' α -amylase.

Par la suite, notre projet s'est focalisé sur la caractérisation physicochimiques, phytochimiques, ainsi que les activités antioxydantes des échantillons du VCP collectés dans différentes stations au niveau des deux régions d'étude. Ce travail révèle que nos échantillons du VCP contiennent des teneurs élevées en polyphénols et notamment en flavonoïdes et ils possèdent ainsi, des activités antioxydantes élevées.

Nous avons également déterminé dans ce travail de thèse le pouvoir antibactérien de nos différents échantillons du VCP, qui montre clairement que nos échantillons possèdent une activité antibactérienne importante, notamment l'échantillon S2 originaire de Midelt qui a donné un diamètre d'inhibition allant jusqu'à 27.65mm pour *Staphylococcus aureus*. L'activité antibactérienne de nos échantillons a montré une efficacité élevée en éradiquant tous les germes testés. L'analyse de la composante principale a révélé qu'il y a une relation étroite entre la teneur en molécules bioactives à savoir les polyphénols, les acides organiques (l'acidité), et le pouvoir antibactérien. Le VCP peut être utilisé comme un solvant écologique avec un pouvoir extracteur remarquable.

L'analyse par UHPLC du VCP a permis d'identifier la présence d'un cocktail de molécules bioactives comme les acides hydroxycinnamiques principalement l'acide trans-ferulique, l'acide ferulique, et l'acide sinapique, et des flavonoïdes comme l'arbutine et l'apéginine.

Le pouvoir antidiabétique, le pouvoir antihyperlipidémie, et l'effet antioxydant chez les rats Wistar ont été élaborés en les soumettant à un régime hypercalorique ou à l'eau oxygénée.

Le pouvoir antidiabétique de nos échantillons du VCP a été testé sur un modèle animal (les rats Wistar mâles et femelles) rendu diabétique par un régime hypercalorique pendant 5 semaines. L'administration du vinaigre de pomme aux rats inhibait l'installation du diabète chez les deux sexes. Le régime hypercalorique

induisait un désordre métabolique par l'élévation des biomarqueurs sériques comme les enzymes hépatiques, l'urée, la créatinine, la glycémie, le profil lipidique, et les électrolytes sanguins. Il en ressort de ce travail que l'administration du VCP rétablit le désordre provoqué par un régime hyperglycémiant à des valeurs presque normales comparables au groupe contrôle.

Notre travail a été achevé par l'étude du pouvoir antioxydant de vinaigre de pomme sur le modèle animal contre la toxicité induite par le peroxyde d'hydrogène. L'étude s'étalait sur une période de 22 jours, les rats traités par le peroxyde d'hydrogène montraient une augmentation des taux d'enzymes hépatiques, de l'urée et de la créatinine. En revanche, le traitement simultané par le VCP a diminué les taux des enzymes hépatiques et de la créatinine par rapport au groupe normale, par contre, le VCP n'a aucun effet sur l'urée.

La continuité des études sur le vinaigre de cidre de pomme est souhaitable pour approfondir les recherches sur plusieurs niveaux :

- Détermination de la composition chimique de différents échantillons et éléments majoritaires responsables des effets thérapeutiques.
- Élucider le mécanisme d'action qui explique le pouvoir antibactérien de vinaigre de cidre de pomme en élargissant la gamme des souches microbiennes testées.
- Élaboration de nouveaux protocoles expérimentaux pour évaluer les effets bénéfiques de vinaigre de cidre de pomme sur les maladies cardiovasculaires (l'hypertension artérielle, l'athérosclérose, l'agrégation plaquettaire ...), le cancer, certaines allergies, l'asthme...
- Le VCP possède des propriétés avérées qui permettent de renforcer le système immunitaire, d'éliminer les mucosités et de réduire l'inflammation, donc c'est judicieux de voir son impact sur la prévention et la guérison de certaines maladies virales, comme ce que nous vivons depuis ces deux dernières années, la pandémie du Covid 19.

Références

- 35-ARV.03-1928.FR_c3.pdf, n.d.
- Abdelli, I., Benariba, N., Adjdir, S., Fekhikher, Z., Daoud, I., Terki, M., Benramdane, H., Ghalem, S., 2021. In silico evaluation of phenolic compounds as inhibitors of A-amylase and A-glucosidase. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics* 39, 816–822.
- Abdulrauf, R.A., Dawud, F.A., Emmanuel, N.S., Muhammad, H.D., Dange, A.S., David, B.A., Ogweje, A.E., Alexander, A.U., Yahuza, M., 2018. Lipid Peroxidation and Some Antioxidant Enzymes Evaluation in Apple Cider Vinegar (ACV) Treated Male and Female Wistar Rats Exposed to Chronic Restraint Stress. *Advances in Enzyme Research* 06, 21.
- Accueil - Les Producteurs de pommes du Québec, n.d. URL <https://producteursdepommesduquebec.ca/> (accessed 11.26.20).
- Adedapo, A.A., Ogunmiluyi, I.O., 2020. The Use of Natural Products in the Management of Diabetes: The Current Trends. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 10, 153–162.
- ahmadipour, A., Sharififar, F., ANANI, H., KARAMI-MOHAJER, S., 2021. Protective Effects of Ferulic Acid Against Isoniazid-Induced Hepatotoxicity in Rats 46, 119–128.
- Ahmadniaye, M., Safari, O., Paolucci, M., 2019. Effect of different levels of milkweed (*Calotropis persica*) seed powder on the growth parameters, immunity and gut microbiota of oncorhynchus mykiss. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology* 11, 43–67.
- AICV, 2020. *European Cider Trends 2019*.
- Akpınar-Bayızit, A., Turan, M.A., YILMAZ-ERSAN, L., Taban, N., 2010. Inductively coupled plasma optical-emission spectroscopy determination of major and minor elements in vinegar. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 38, 64–68.
- Alakomi, H.-L., Skyttä, E., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T., Latva-Kala, K., Helander, I.M., 2000. Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2001–2005.
- Alper, N., Onsekizoglu, P., Acar, J., 2011. Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and organic acid compositions of pomegranate (*Punica granatum L.*) juice. *Journal of Food processing and preservation* 35, 313–319.
- Alqarni, A.S., Owayss, A.A., Mahmoud, A.A., Hannan, M.A., 2014. Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society* 18, 618–625.
- AL-Salihi, S.S., 2019. Antibacterial Activity of Some Disinfectants and Detergents on some pathogenic bacteria. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 11, 590–597.
- Altındağ, F., Rağbetli, M.Ç., Özdek, U., Koyun, N., Alhalboosi, J.K.I., Elasan, S., 2021. Combined treatment of sinapic acid and ellagic acid attenuates hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology* 156, 112443.
- Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S., Nicolas, J., 1992. Phenolic composition and browning susceptibility of various apple cultivars at maturity. *Journal of Food Science* 57, 958–962.
- Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S.Y., Oleszek, W., 1995. Influence of cultivar, maturity stage, and storage conditions on phenolic composition and enzymic

- browning of pear fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 1132–1137.
- Anderson, S., Gonzalez, L.A., Jasbi, P., Johnston, C.S., 2020. Evidence That Daily Vinegar Ingestion May Contribute to Erosive Tooth Wear in Adults. *Journal of Medicinal Food*.
- Andlauer, W., Stumpf, C., Fürst, P., 2000. Influence of the acetification process on phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 3533–3536.
- Asejeje, F.O., Ighodaro, O.M., Asejeje, G.I., Adeosun, A.M., 2020. Protective role of apple cider vinegar (APCV) in CCl₄-induced renal damage in wistar rats. *Metabolism Open* 8, 100063.
- Axe, D.D., Bailey, J.E., 1995. Transport of lactate and acetate through the energized cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. *Biotechnology and bioengineering* 47, 8–19.
- Aykin, E., Budak, N.H., Güzel-Seydim, Z.B., 2015. Bioactive components of mother vinegar. *Journal of the American College of Nutrition* 34, 80–89.
- Bakir, S., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Beekwilder, J., Capanoglu, E., 2016. Fruit antioxidants during vinegar processing: Changes in content and in vitro bio-accessibility. *International journal of molecular sciences* 17, 1658.
- Bakour, M., Soulo, N., Hammas, N., Fatemi, H.E., Aboulghazi, A., Tarog, A., Abdellaoui, A., Al-Waili, N., Lyoussi, B., 2018a. The Antioxidant Content and Protective Effect of Argan Oil and *Syzygium aromaticum* Essential Oil in Hydrogen Peroxide-Induced Biochemical and Histological Changes. *International Journal of Molecular Sciences* 19, 610.
- Baudot, P., Bley, D., Brun, B., Pagezy, H., Vernazza-Licht, N., 1997. Impact de l'Homme sur les milieux naturels: perceptions et mesures.
- Baum, N., Dichoso, C.C., Carlton Jr, C.E., 1975. Blood urea nitrogen and serum creatinine: physiology and interpretations. *Urology* 5, 583–588.
- Beh, B.K., Mohamad, N.E., Yeap, S.K., Ky, H., Boo, S.Y., Chua, J.Y.H., Tan, S.W., Ho, W.Y., Sharifuddin, S.A., Long, K., 2017. Anti-obesity and anti-inflammatory effects of synthetic acetic acid vinegar and Nipa vinegar on high-fat-diet-induced obese mice. *Scientific Reports* 7, 1–9.
- Ben Saad, H., Ben Amara, I., Kharrat, N., Giroux-Metgès, M.-A., Hakim, A., Zeghal, K.M., Talarmin, H., 2019. Cytoprotective and antioxidant effects of the red alga *Alsidium corallinum* against hydrogen peroxide-induced toxicity in rat cardiomyocytes. *Archives of physiology and biochemistry* 125, 35–43.
- Bendary, E., Francis, R.R., Ali, H.M.G., Sarwat, M.I., El Hady, S., 2013. Antioxidant and structure–activity relationships (SARs) of some phenolic and anilines compounds. *Annals of Agricultural Sciences* 58, 173–181.
- Benlamdini, N., Elhafian, M., Rochdi, A., Zidane, L., 2014. Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale du Haut Atlas oriental (Haute Moulouya). *Journal of applied biosciences* 78, 6771–6787.
- Berry, B., 2011. Le marché mondial du vinaigre: Possibilités pour les exportateurs canadiens de vinaigre Agri-Réseau.
- Boeckel, T.P. van, Hounhouigan, J.D., Nout, R., 2003. Les aliments: transformation, conservation et qualité. CTA.
- Bouazza, A., Bitam, A., Amiali, M., Bounihi, A., Yargui, L., Koceir, E.A., 2016a. Effect of fruit vinegars on liver damage and oxidative stress in high-fat-fed rats. *Pharmaceutical biology* 54, 260–265.

- Boudabous, M., Ben Marzouk, I., Marzougui, N., Lechiheb, B., Ben Yahia, L., Ferchichi, A., 2012. Physicochemical characterization of the local apple cultivar 'Douce de Djerba' compared with introduced cultivars in Tunisia, in: International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM 2012 997. pp. 117–128.
- Bounihi, A., Bitam, A., Bouazza, A., Yargui, L., Koceir, E.A., 2017. Fruit vinegars attenuate cardiac injury via anti-inflammatory and anti-adiposity actions in high-fat diet-induced obese rats. *Pharmaceutical biology* 55, 43–52.
- Bourgeois, J.F., Barja, F., 2009. The history of vinegar. *Archives des Sciences* 62, 147–160.
- Boyer, F., 2016. Stress oxydant et pathologie diabétique : impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses (phdthesis). Université de la Réunion.
- Boyer, J., Liu, R.H., 2004. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition journal* 3, 5.
- Brownlee, M., 2005. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *diabetes* 54, 1615–1625.
- Brownlee, M., 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 414, 813–820.
- Brul, S., Coote, P., 1999. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International journal of food microbiology* 50, 1–17.
- Bruneton, J., 2008. Acides phénols. *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp198-260.
- Budak, H.N., Guzel-Seydim, Z.B., 2010. Antioxidant activity and phenolic content of wine vinegars produced by two different techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90, 2021–2026.
- Budak, N.H., 2015. Total antioxidant activity and phenolic contents with advanced analytical techniques in the mulberry vinegar formation process. *Fruit Science*.
- Budak, N.H., Aykin, E., Seydim, A.C., Greene, A.K., Guzel-Seydim, Z.B., 2014a. Functional properties of vinegar. *Journal of food science* 79, R757–R764.
- Budak, N.H., Kumbul Doguc, D., Savas, C.M., Seydim, A.C., Kok Tas, T., Ciris, M.I., Guzel-Seydim, Z.B., 2011. Effects of apple cider vinegars produced with different techniques on blood lipids in high-cholesterol-fed rats. *Journal of agricultural and food chemistry* 59, 6638–6644.
- Burgos-Morón, E., Abad-Jiménez, Z., Martínez de Marañón, A., Iannantuoni, F., Escribano-López, I., López-Domènech, S., Salom, C., Jover, A., Mora, V., Roldan, I., 2019. Relationship between oxidative stress, ER stress, and inflammation in type 2 diabetes: the battle continues. *Journal of clinical medicine* 8, 1385.
- Campbell, C.S., Greene, C.W., Dickinson, T.A., 1991. Reproductive biology in subfam. Maloideae (Rosaceae). *Systematic Botany* 333–349.
- Chang, J.-M., Fang, T.J., 2007. Survival of Escherichia coli O157: H7 and Salmonella enterica serovars Typhimurium in iceberg lettuce and the antimicrobial effect of rice vinegar against E. coli O157: H7. *Food Microbiology* 24, 745–751.
- Chemat, F., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.S., Strube, J., Uhlenbrock, L., Gunjevic, V., Cravotto, G., 2019. Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 118, 248–263.

- Chemat, F., Vian, M.A., Cravotto, G., 2012. Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences* 13, 8615–8627.
- Chen, H., Chen, T., Giudici, P., Chen, F., 2016a. Vinegar functions on health: Constituents, sources, and formation mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 15, 1124–1138.
- Chen, H., Zhou, Y., Shao, Y., Chen, F., 2016b. Free phenolic acids in Shanxi aged vinegar: Changes during aging and synergistic antioxidant activities. *International journal of food properties* 19, 1183–1193.
- Chen, J., Tian, J., Ge, H., Liu, R., Xiao, J., 2017. Effects of tetramethylpyrazine from Chinese black vinegar on antioxidant and hypolipidemia activities in HepG2 cells. *Food and Chemical Toxicology* 109, 930–940.
- Chen, J., Yang, J., Ma, L., Li, J., Shahzad, N., Kim, C.K., 2020. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Scientific reports* 10, 1–9.
- Chen, J.-C., Chen, Q.-H., Guo, Q., Ruan, S., Ruan, H., He, G.-Q., Gu, Q., 2010. Simultaneous determination of acetoin and tetramethylpyrazine in traditional vinegars by HPLC method. *Food chemistry* 122, 1247–1252.
- Cherasse, Y., Urade, Y., 2017. Dietary zinc acts as a sleep modulator. *International journal of molecular sciences* 18, 2334.
- Cherrington, C.A., Hinton, M., Mead, G.C., Chopra, I., 1991. Organic acids: chemistry, antibacterial activity and practical applications, in: *Advances in Microbial Physiology*. Elsevier, pp. 87–108.
- Chrubasik, C., Wiesner, L., Black, A., Müller-Ladner, U., Chrubasik, S., 2008. A one-year survey on the use of a powder from *Rosa canina* lito in acute exacerbations of chronic pain. *Phytotherapy research* 22, 1141–1148.
- Cope, Z., 1958. The treatment of wounds through the ages. *Medical history* 2, 163–174.
- CUETO, M.S., CASTAÑEDA, A.Z., 2019. Design and Evaluation of Cosmetics with Apple Vinegar and Extract. EDICIONES UNIVERSIDAD DE SALAMANCA 4.
- Currie, A.J., 2000. Quantitative genetics in apple (*Malus x domestica* (Borkh.)) breeding: fruit shape traits, genetic parameter estimation and breeding strategy development: a thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Animal Science (Breeding and Genetics) at Massey University, Palmerston North, New Zealand (PhD Thesis). Massey University.
- Cushnie, T.P.T., Lamb, A.J., 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* 38, 99–107.
- Dangles, O., 2020. Le potentiel antioxydant des aliments : mythes et réalités. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 55, 176–183.
- de Almeida Siqueira, E.M., Rosa, F.R., Fustinoni, A.M., de Sant’Ana, L.P., Arruda, S.F., 2013. Brazilian savanna fruits contain higher bioactive compounds content and higher antioxidant activity relative to the conventional red delicious apple. *PloS one* 8, e72826.
- de Dios Lozano, J., Juárez-Flores, B.I., Pinos-Rodríguez, J.M., Aguirre-Rivera, J.R., Álvarez-Fuentes, G., 2012. Supplementary effects of vinegar on body weight and blood metabolites in healthy rats fed conventional diets and obese rats fed high-caloric diets. *Journal of Medicinal Plants Research* 6, 4135–4141.

- Décret n°2-10-385, 2011. réglementation de la fabrication et du commerce des vinaigres.
- Décret n°2-15-306, 2016. Décret n° 2-15-306 du 6 Jomada II437 (15 février 2016) relatif à la qualité et la sécurité sanitaire des jus et des concentrés de jus de fruits et de légumes et des nectars de fruits commercialisés.
- Dennis Jr, F., 2003. Flowering, pollination and fruit set and development. Apples: botany, production and uses 153–166.
- Derouiche, S., 2020. Zinc Supplementation Prevents the Complications of COVID-19 Infection in Cancer Patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Care* 5, 137–141.
- Dimitrijević, D., Stanković, M., Stojanović-Radić, Z., Ranđelović, V., Lakuscaron, D., 2012. Antioxidant and antimicrobial activity of different extracts from leaves and roots of *Jovibarba heuffelii* (Schott.) A. Lve and D. Lve. *Journal of Medicinal Plants Research* 6, 4804–4810.
- Donohoe, D.R., Holley, D., Collins, L.B., Montgomery, S.A., Whitmore, A.C., Hillhouse, A., Curry, K.P., Renner, S.W., Greenwalt, A., Ryan, E.P., 2014. A gnotobiotic mouse model demonstrates that dietary fiber protects against colorectal tumorigenesis in a microbiota-and butyrate-dependent manner. *Cancer discovery* 4, 1387–1397.
- Drucker, D.J., 2003. Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes care* 26, 2929–2940.
- Du, P., Zhou, J., Zhang, L., Zhang, J., Li, N., Zhao, C., Tu, L., Zheng, Y., Xia, T., Luo, J., Song, J., Wang, M., 2020. GC × GC-MS analysis and hypolipidemic effects of polyphenol extracts from Shanxi-aged vinegar in rats under a high fat diet. *Food Funct.* 11, 7468–7480.
- Duan, W., Xia, T., Zhang, B., Li, S., Zhang, C., Zhao, C., Song, J., Wang, M., 2019. Changes of Physicochemical, Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity during the Brewing Process of Zhenjiang Aromatic Vinegar. *Molecules* 24, 3935.
- Duda-Chodak, A., Tarko, T., Tuszyński, T., 2011. Antioxidant activity of apples—an impact of maturity stage and fruit part. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria* 10, 443–454.
- Ebihara, K., Nakajima, A., 1988. Effect of acetic acid and vinegar on blood glucose and insulin responses to orally administered sucrose and starch. *Agricultural and biological chemistry* 52, 1311–1312.
- El Midaoui, A., Haddad, Y., Couture, R., 2016. Beneficial effects of argan oil on blood pressure, insulin resistance, and oxidative stress in rat. *Nutrition* 32, 1132–1137.
- El-Sayed, T.S., Nour El-Deen, M.M., Rokaya, M.E., Sherif, M.M., 2019a. Evaluation of the Antibacterial Effect of Apple Vinegar as a Root Canal Irrigant Using Endovac Irrigation System. *Al-Azhar Dental Journal for Girls* 6, 53–59.
- Ersoy, N., Bagci, Y., Zenginbal, H., Ozen, M.S., Elidemir, A.Y., 2015. Antioxidant properties of Rosehip fruit types (*Rosa canina* sp.) selected from Bolu-Turkey. *International Journal of Science and Knowledge* 4, 51–59.
- Espino, J., Pariente, J.A., Rodríguez, A.B., 2012. Oxidative stress and immunosenescence: therapeutic effects of melatonin. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2012.
- Evans, R.C., Campbell, C.S., 2002. The origin of the apple subfamily (Maloideae; Rosaceae) is clarified by DNA sequence data from duplicated GBSSI genes. *American journal of botany* 89, 1478–1484.

- Fan, J., Zhang, Y., Zhou, L., Li, Z., Zhang, B., Saito, M., Wang, X., 2011. Nutritional composition and α -glucosidase inhibitory activity of five Chinese vinegars. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ* 45, 445–456.
- FAO-WHO, 2005. Accueil | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO. URL <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/fr/>.
- Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., Botelho, C., Santos, J., Ramos, C., Teixeira, J.A., Rocha, C.M.R., 2020. Unravelling the Biological Potential of *Pinus pinaster* Bark Extracts. *Antioxidants* 9, 334.
- Ferretti, G., Turco, I., Bacchetti, T., 2014. Apple as a source of dietary phytonutrients: bioavailability and evidence of protective effects against human cardiovascular disease. *Food and Nutrition Sciences* 2014.
- Figueiredo-González, M., Reboredo-Rodríguez, P., González-Barreiro, C., Carrasco-Pancorbo, A., Cancho-Grande, B., Simal-Gándara, J., 2019. The involvement of phenolic-rich extracts from Galician autochthonous extra-virgin olive oils against the α -glucosidase and α -amylase inhibition. *Food Research International* 116, 447–454.
- Filly, A., Fabiano-Tixier, A.S., Louis, C., Fernandez, X., Chemat, F., 2016. Water as a green solvent combined with different techniques for extraction of essential oil from lavender flowers. *Comptes Rendus Chimie, Workshop on alternative solvents for extraction, purification and formulation (WAS2014)* 19, 707–717.
- Forina, M., Lanteri, S., Armanino, C., 1987. Chemometrics in food chemistry, in: *Chemometrics and Species Identification*, in: *Chemometrics and Species Identification*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 91–143.
- Francini, A., Sebastiani, L., 2013. Phenolic Compounds in Apple (*Malus x domestica* Borkh.): Compounds Characterization and Stability during Postharvest and after Processing. *Antioxidants* 2, 181–193.
- Fu, L., Nie, X., Xie, H.-L., Ferro, M.D., 2013. Rapid multi-element analysis of Chinese vinegar by sector field inductively coupled plasma mass spectrometry. *Eur Food Res Technol* 237, 795–800.
- Furtado, G.L., Medeiros, A.A., 1980. Single-disk diffusion testing (Kirby-Bauer) of susceptibility of *Proteus mirabilis* to chloramphenicol: significance of the intermediate category. *Journal of clinical microbiology* 12, 550–553.
- Fushimi, T., Sato, Y., 2005. Effect of acetic acid feeding on the circadian changes in glycogen and metabolites of glucose and lipid in liver and skeletal muscle of rats. *British Journal of Nutrition* 94, 714–719.
- Fushimi, T., Suruga, K., Oshima, Y., Fukiharuru, M., Tsukamoto, Y., Goda, T., 2006. Dietary acetic acid reduces serum cholesterol and triacylglycerols in rats fed a cholesterol-rich diet. *British Journal of Nutrition* 95, 916–924.
- Gao, Y., Jo, Y., Chung, N., Gu, S.-Y., Jeong, Y.-J., Kwon, J.-H., 2017. Physicochemical qualities and flavor patterns of traditional Chinese vinegars manufactured by different fermentation methods and aging periods. *Preventive nutrition and food science* 22, 30.
- Garcia-Parrilla, M.C., Torija, M.J., Mas, A., Cerezo, A.B., Troncoso, A.M., 2017. Vinegars and other fermented condiments, in: *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. Elsevier, pp. 577–591.
- Ghanmi, M., Satrani, B., Aberchane, M., Ismaili, M.R., Aafi, A., El Abid, A., 2011. *Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc, les milles et une vertu*. Centre de Recherche Forestière. Rabat, Maroc.
- Gheflati, A., Bashiri, R., Ghadiri-Anari, A., Reza, J.Z., Kord, M.T., Nadjarzadeh, A., 2019. The effect of apple vinegar consumption on glycemic indices, blood

- pressure, oxidative stress, and homocysteine in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia: A randomized controlled clinical trial. *Clinical nutrition ESPEN* 33, 132–138.
- Giada, M., 2013. Food phenolic compounds: main classes, sources and their antioxidant power. *Oxidative stress and chronic degenerative diseases-A role for antioxidants* 2013, 87–112.
- Goldstein, J.L., Ho, Y.K., Basu, S.K., Brown, M.S., 1979. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76, 333–337.
- Golzarand, M., Ebrahimi-Mamaghani, M., Arefhosseini, S.R., Asgarzadeh, A.A., 2008. Effect of processed *Berberis vulgaris* in apple vinegar on blood pressure and inflammatory markers in type 2 diabetic patients. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders* 7, 3.
- Goulas, V., Kourdoulas, P., Makris, F., Theodorou, M., Fellman, J.K., Manganaris, G.A., 2014. Comparative polyphenolic antioxidant profile and quality of traditional apple cultivars as affected by cold storage. *International Journal of Food Science & Technology* 49, 2037–2044.
- Grundy, S.M., 2004. Obesity, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Disease. *J Clin Endocrinol Metab* 89, 2595–2600.
- Gu, X., Zhao, H.-L., Sui, Y., Guan, J., Chan, J.C., Tong, P.C., 2012. White rice vinegar improves pancreatic beta-cell function and fatty liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta diabetologica* 49, 185–191.
- Gurgul-Convey, E., Mehmeti, I., Plötz, T., Jörns, A., Lenzen, S., 2016. Sensitivity profile of the human EndoC- β H1 beta cell line to proinflammatory cytokines. *Diabetologia* 59, 2125–2133.
- Guyot, S., Marnet, N., Sanoner, P., Drilleau, J.F., 2001. Direct thiolysis on crude apple materials for HPLC characterization and quantification of polyphenols in cider apple tissues and juices. *Methods in Enzymology* 335, 57–70.
- Guyot, S., Symoneaux, R., Le Quéré, J.M., 2014. Les polyphénols de la pomme aux cidres: diversité variétale et procédés facteurs clé de la modulation des saveurs et des couleurs. *Innovations Agronomiques* 42, 105–123.
- Guyot, Sylvain, Symoneaux, R., Le Quéré, J.-M., Bauduin, R., 2014. Les Polyphénols de la Pomme aux Cidres: diversité variétale et procédés, facteurs clé de la modulation des saveurs et des couleurs. *Innovations Agronomiques* 42, 105–123.
- HAFIDI, M., MESSAOUDI, H., 2015. Contribution à l'étude des caractéristiques physico-chimiques et biochimiques du vinaigre traditionnel de dattes "Hmira, Tinaceur" de la cuvette d'Adrar (PhD Thesis). Université Ahmed Draia-ADRAR.
- Hagen, S.F., Borge, G.I.A., Bengtsson, G.B., Bilger, W., Berge, A., Haffner, K., Solhaug, K.A., 2007. Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation. *Postharvest Biology and Technology* 45, 1–10.
- Hajianfar, H., Mollaghasemi, N., Tavakoly, R., Campbell, M.S., Mohtashamrad, M., Arab, A., 2020. The Association Between Dietary Zinc Intake and Health Status, Including Mental Health and Sleep Quality, Among Iranian Female Students. *Biological Trace Element Research* 1–8.
- Halima, B.H., Sarra, K., Houda, B.J., Sonia, G., Abdallah, A., 2016. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and modulatory effects of apple cider

- vinegar on digestive enzymes in experimental diabetic rats. *Int. J. Pharmacol* 12, 505–513.
- Halima, B.H., Sonia, G., Sarra, K., Houda, B.J., Fethi, B.S., Abdallah, A., 2017. Apple Cider Vinegar Attenuates Oxidative Stress and Reduces the Risk of Obesity in High-Fat-Fed Male Wistar Rats. *Journal of Medicinal Food* 21, 70–80.
- Hancock, J.F., 2008. Temperate fruit crop breeding: germplasm to genomics. Springer Science & Business Media.
- Harant, H., Bodènes, L., Bouvet, M., Guitard, E.-H., 1963. Question CXXXIV,(posée par M. Gipoulou). Origine du «Vinaigre des Quatre Voleurs». *Revue d'Histoire de la Pharmacie* 51, 176–178.
- Hasani-Ranjbar, S., Jouyandeh, Z., Abdollahi, M., 2013. A systematic review of anti-obesity medicinal plants-an update. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* 12, 28.
- Hassanein, E.H.M., Abdel-Wahab, B.A., Ali, F.E.M., Abd El-Ghafar, O.A.M., Kozman, M.R., Sharkawi, S.M.Z., 2021. Trans-ferulic acid ameliorates cisplatin-induced testicular damage via suppression of TLR4, P38-MAPK, and ERK1/2 signaling pathways. *Environ Sci Pollut Res* 28, 41948–41964.
- He, F.J., Nowson, C.A., Lucas, M., MacGregor, G.A., 2007. Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: meta-analysis of cohort studies. *Journal of human hypertension* 21, 717–728.
- Hindi, D.N.K., 2013. In vitro Antibacterial Activity of Aquatic Garlic Extract, Apple Vinegar and Apple Vinegar - Garlic Extract combination. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics* 1, 42–51.
- HINDI, N.K.K., AL-MAHDI, Z.K.A., CHABUCK, Z.A.G., 2014. Antibacterial activity of the aquatic extract of fresh, dry powder ginger, apple vinegar extract of fresh ginger and crude oil of ginger (*Zingiber officinale*) against different types of bacteria in hilla city, Iraq. *Prostate* 3, 6.
- Hirsh, A.J., Yao, S.Y., Young, J.D., Cheeseman, C.I., 1997. Inhibition of glucose absorption in the rat jejunum: a novel action of alpha-D-glucosidase inhibitors. *Gastroenterology* 113, 205–211.
- Hirshfield, I.N., Terzulli, S., O'Byrne, C., 2003. Weak organic acids: a panoply of effects on bacteria. *Science progress* 86, 245–270.
- Hlebowicz, J., Darwiche, G., Björgell, O., Almér, L.-O., 2007. Effect of apple cider vinegar on delayed gastric emptying in patients with type 1 diabetes mellitus: a pilot study. *BMC gastroenterology* 7, 1–6.
- Ho, C.W., Lazim, A.M., Fazry, S., Zaki, U.K.H.H., Lim, S.J., 2017. Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review. *Food chemistry* 221, 1621–1630.
- Ho, K.K., Ferruzzi, M.G., Wightman, J.D., 2020. Potential health benefits of (poly) phenols derived from fruit and 100% fruit juice. *Nutrition reviews* 78, 145–174.
- Hogg, J.S., Lohmann, D.H., Russell, K.E., 1961. The kinetics of reaction of 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with phenols. *Canadian Journal of Chemistry* 39, 1588–1594.
- HOUGH, G., BRATCHELL, N., WAKELING, I., 1992. Consumer preference of Dulce de Leche among students in the United Kingdom. *Journal of sensory studies* 7, 119–132.
- <https://versatilevinegar.org/vinegar-lore/>, n.d. Vinegar Lore. Versatile Vinegar. URL <https://versatilevinegar.org/vinegar-lore/> (accessed 5.27.20).
- Hu, R., He, Y., Arowolo, M.A., Wu, S., He, J., 2019. Polyphenols as Potential Attenuators of Heat Stress in Poultry Production. *Antioxidants* 8, 67.

- Hudish, L.I., Reusch, J.E., Sussel, L., 2019. β Cell dysfunction during progression of metabolic syndrome to type 2 diabetes. *The Journal of clinical investigation* 129, 4001–4008.
- Hyun, T.K., Jang, K.-I., 2016. Apple as a source of dietary phytonutrients: an update on the potential health benefits of apple. *EXCLI journal* 15, 565.
- ibn Al-Hajjaj, M., al-Husain, A., 2007. *Sahih Muslim*. Dar al-Jail, Beirut, tt, Juz VI.
- IDF, 2019. *IDF Diabetes Atlas 9th edition 2019*.
- Jackson, J.E., 2003. *The biology of apples and pears*. Cambridge university press.
- Jackson, J.E., Palmer, J.W., Perring, M.A., Sharples, R.O., 1977. Effects of shade on the growth and cropping of apple trees. III. Effects on fruit growth, chemical composition and quality at harvest and after storage. *Journal of Horticultural Science* 52, 267–282.
- Jakobek, L., Ištuk, J., Buljeta, I., Voća, S., Žlabur, J.Š., Babojelić, M.S., 2020. Traditional, Indigenous Apple Varieties, a Fruit with Potential for Beneficial Effects: Their Quality Traits and Bioactive Polyphenol Contents. *Foods* 9, 52.
- Janssen, B.J., Thodey, K., Schaffer, R.J., Alba, R., Balakrishnan, L., Bishop, R., Bowen, J.H., Crowhurst, R.N., Gleave, A.P., Ledger, S., 2008. Global gene expression analysis of apple fruit development from the floral bud to ripe fruit. *BMC plant biology* 8, 1–29.
- Jemaa, H.B., Jemia, A.B., Khlifi, S., Ahmed, H.B., Slama, F.B., Benzarti, A., Elati, J., Aouidet, A., 2017. Antioxidant activity and α -amylase inhibitory potential of *Rosa canina* L. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 14, 1–8.
- Jensen, E.N., Buch-Andersen, T., Ravn-Haren, G., Dragsted, L.O., 2009. Mini-review: The effects of apples on plasma cholesterol levels and cardiovascular risk—a review of the evidence. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 84, 34–41.
- Jia, C.-F., Yu, W.-N., Zhang, B.-L., 2019. Manufacture and antibacterial characteristics of *Eucommia ulmoides* leaves vinegar. *Food Science and Biotechnology* 1–9.
- Jie Chee, Y., Seneviratna, A., Joo Lim, C., Chiong, C.X., Peh, D.S., Hawkins, R., Chew, D.E., Dalan, R., 2020. Red cell distribution width is associated with mortality and cardiovascular complications in diabetes mellitus in Singapore. *European journal of preventive cardiology* 27, 216–219.
- Jin, T., 2019. Mechanisms underlying the metabolic beneficial effect of curcumin intervention: Beyond anti-inflammation and anti-oxidative stress. *Obesity medicine* 13, 1–5.
- Johnston, C.S., 2009. Medicinal uses of vinegar, in: *Complementary and Alternative Therapies and the Aging Population*. Elsevier, pp. 433–443.
- Johnston, C.S., Buller, A.J., 2005. Vinegar and peanut products as complementary foods to reduce postprandial glycemia. *Journal of the American Dietetic Association* 105, 1939–1942.
- Johnston, C.S., Kim, C.M., Buller, A.J., 2004. Vinegar improves insulin sensitivity to a high-carbohydrate meal in subjects with insulin resistance or type 2 diabetes. *Diabetes care* 27, 281–282.
- Johnston, C.S., Quagliano, S., White, S., 2013. Vinegar ingestion at mealtime reduced fasting blood glucose concentrations in healthy adults at risk for type 2 diabetes. *Journal of Functional Foods* 5, 2007–2011.
- Johnston, C.S., Steplewska, I., Long, C.A., Harris, L.N., Ryals, R.H., 2010. Examination of the antiglycemic properties of vinegar in healthy adults. *Annals of Nutrition and Metabolism* 56, 74–79.

- Johnston, C.S., White, A.M., Kent, S.M., 2008a. A preliminary evaluation of the safety and tolerance of medicinally ingested vinegar in individuals with type 2 diabetes. *Journal of medicinal food* 11, 179–183.
- Jorgensen, R.A., Gardiner, S.E., Folta, K.M., 2009. *Genetics and genomics of Rosaceae*. Springer New York.
- Jugd , H., Nguy, D., Moller, I., Cooney, J.M., Atkinson, R.G., 2008. Isolation and characterization of a novel glycosyltransferase that converts phloretin to phlorizin, a potent antioxidant in apple. *The FEBS journal* 275, 3804–3814.
- Juskova, M., Majekova, M., Demopoulos, V., Stefek, M., 2011. Substituted derivatives of indole acetic acid as aldose reductase inhibitors with antioxidant activity: structure-activity relationship. *General physiology and biophysics* 30, 342–349.
- KALABA, V., BALABAN,  .M., KALABA, D., 2019. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DOMESTIC APPLE CIDER VINEGAR. *AGROFOR* 4.
- Kelebek, H., Kadiro lu, P., Demircan, N.B., Selli, S., 2017. Screening of bioactive components in grape and apple vinegars: Antioxidant and antimicrobial potential. *Journal of the Institute of Brewing* 123, 407–416.
- Kilara, A., Van Buren, J.P., 1989. Clarification of apple juice, in: *Processed Apple Products*. Springer, pp. 83–96.
- Kim, S.-H., Jo, S.-H., Kwon, Y.-I., Hwang, J.-K., 2011. Effects of onion (*Allium cepa* L.) extract administration on intestinal α -glucosidases activities and spikes in postprandial blood glucose levels in SD rats model. *International journal of molecular sciences* 12, 3757–3769.
- Kondo, S., Tayama, K., Tsukamoto, Y., Ikeda, K., Yamori, Y., 2001. Antihypertensive effects of acetic acid and vinegar on spontaneously hypertensive rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 65, 2690–2694.
- Kong, K.W., Mat-Junit, S., Aminudin, N., Ismail, A., Abdul-Aziz, A., 2012. Antioxidant activities and polyphenolics from the shoots of *Barringtonia racemosa* (L.) Spreng in a polar to apolar medium system. *Food Chemistry* 134, 324–332.
- Korban, S.S., Skirvin, R.M., 1984. Nomenclature of the cultivated apple. *HortScience* 19, 177–180.
- Kovacic, P., Somanathan, R., 2008. Unifying mechanism for eye toxicity: electron transfer, reactive oxygen species, antioxidant benefits, cell signaling and cell membranes. *Cell Membranes and Free Radical Research* 1, 56–69.
- Laaroussi, H., Bakour, M., Ousaaaid, D., Aboulghazi, A., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., Teixeira, J.A., Lyoussi, B., 2020a. Effect of antioxidant-rich propolis and bee pollen extracts against D-glucose induced type 2 diabetes in rats. *Food Research International* 138, 109802.
- Laaroussi, H., Bakour, M., Ousaaaid, D., Aboulghazi, A., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., Teixeira, J.A., Lyoussi, B., 2020b. Effect of antioxidant-rich propolis and bee pollen extracts against D-glucose induced type 2 diabetes in rats. *Food Research International* 138, 109802.
- Laaroussi, H., Bouddine, T., Bakour, M., Ousaaaid, D., Lyoussi, B., 2020c. Physicochemical Properties, Mineral Content, Antioxidant Activities, and Microbiological Quality of *Bupleurum spinosum* Gouan Honey from the Middle Atlas in Morocco. *Journal of Food Quality* 2020.
- Laaroussi, H., Bouddine, T., Bakour, M., Ousaaaid, D., Lyoussi, B., 2020d. Physicochemical properties, mineral content, antioxidant activities, and microbiological quality of *Bupleurum spinosum* Gouan honey from the middle atlas in Morocco. *Journal of Food Quality* 2020.

- Lata, B., 2007. Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. *Journal of agricultural and food chemistry* 55, 663–671.
- Lata, B., Trampczynska, A., Paczesna, J., 2009. Cultivar variation in apple peel and whole fruit phenolic composition. *Scientia Horticulturae* 121, 176–181.
- Leahu, A., Damian, C., Oroian, M., Ropciuc, S., 2013. Physico-chemical parameters of fruit juices-evolution during storage. *Lucrari Stiintifice-Seria Zootehnie* 59, 213–217.
- Li, H., Cao, W., Wei, L.-F., Xia, J.-Q., Gu, Y., Gu, L.-M., Pan, C.-Y., Liu, Y.-Q., Tian, Y.-Z., Lu, M., 2021. Arbutin alleviates diabetic symptoms by attenuating oxidative stress in a mouse model of type 1 diabetes. *International Journal of Diabetes in Developing Countries* 1–7.
- Liljeberg, H., Björck, I., 1998. Delayed gastric emptying rate may explain improved glycaemia in healthy subjects to a starchy meal with added vinegar. *European journal of clinical nutrition* 52, 368–371.
- Lin, H.V., Frassetto, A., Kowalik Jr, E.J., Nawrocki, A.R., Lu, M.M., Kosinski, J.R., Hubert, J.A., Szeto, D., Yao, X., Forrest, G., Marsh, D.J., 2012. Butyrate and Propionate Protect against Diet-Induced Obesity and Regulate Gut Hormones via Free Fatty Acid Receptor 3-Independent Mechanisms. *PLoS One* 7.
- Liu, Q., Tang, G.-Y., Zhao, C.-N., Gan, R.-Y., Li, H.-B., 2019a. Antioxidant activities, phenolic profiles, and organic acid contents of fruit vinegars. *Antioxidants* 8, 78.
- Llanos, P., Contreras-Ferrat, A., Barrientos, G., Valencia, M., Mears, D., Hidalgo, C., 2015. Glucose-dependent insulin secretion in pancreatic β -cell islets from male rats requires Ca^{2+} release via ROS-stimulated ryanodine receptors. *PLoS One* 10, e0129238.
- Luby, J.J., 2003. Taxonomic classification and brief history. *Apples: botany, production and uses* 1–14.
- Lysiak, G.P., Michalska-Ciechanowska, A., Wojdyło, A., 2020. Postharvest changes in phenolic compounds and antioxidant capacity of apples cv. Jonagold growing in different locations in Europe. *Food Chemistry* 310, 125912.
- MacDonald, P.E., El-Kholy, W., Riedel, M.J., Salapatek, A.M.F., Light, P.E., Wheeler, M.B., 2002. The multiple actions of GLP-1 on the process of glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetes* 51, S434–S442.
- Macheix, J.-J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*.
- MAPM, 2014. Note de veille “Pomme” | Département de l’agriculture - Ministère de l’Agriculture, de la Pêche Maritime, du Développement Rural et des Eaux et Forêts
- Marie, H., 2011. Influence des fermentations alcoolique et malolactique sur la composition chimique des cidres à distiller en cours d’élaboration. (PhD Thesis).
- Marinou, K., Tousoulis, D., Antonopoulos, A.S., Stefanadi, E., Stefanadis, C., 2010. Obesity and cardiovascular disease: from pathophysiology to risk stratification. *International journal of cardiology* 138, 3–8.
- Marunaka, Y., 2018. The proposal of molecular mechanisms of weak organic acids intake-induced improvement of insulin resistance in diabetes mellitus via elevation of interstitial fluid pH. *International journal of molecular sciences* 19, 3244.

- Master, R.N., Draghi, D.C., Jones, M.E., Thornsberry, C., Sahm, D.F., Karlowsky, J.A., 2004. Tracking the implementation of NCCLS M100-S12 expanded-spectrum cephalosporin MIC breakpoints for nonmeningeal isolates of *Streptococcus pneumoniae* by clinical laboratories in the United States during 2002 and 2003. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 3, 1–4.
- Mateos-Aparicio, I., De la Peña Armada, R., Pérez-Cózar, M.L., Rupérez, P., Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suárez, M.J., 2020a. Apple by-product dietary fibre exhibits potential prebiotic and hypolipidemic effects in high-fat fed Wistar rats. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 23, 100219.
- Mateos-Aparicio, I., de la Peña, R.J., Pérez-Cózar, M.L., Rupérez, P., Redondo-Cuenca, A., Villanueva-Suárez, M.J., 2020b. Apple by-product dietary fibre exhibits potential prebiotic and hypolipidemic effects in high-fat fed Wistar rats. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 100219.
- Mayer, C.A., 1951. Pierre Tolet and the Paradoxe de la faculté du vinaigre. *Bibliothèque d'Humanisme et Renaissance* 13, 83–88.
- Mazza, S., Murooka, Y., 2009. Vinegars through the ages, in: *Vinegars of the World*. Springer, pp. 17–39.
- McCarty, M.F., 2005. A chlorogenic acid-induced increase in GLP-1 production may mediate the impact of heavy coffee consumption on diabetes risk. *Medical hypotheses* 64, 848–853.
- Medina, E., Romero, C., Brenes, M., de CASTRO, A., 2007. Antimicrobial activity of olive oil, vinegar, and various beverages against foodborne pathogens. *Journal of food protection* 70, 1194–1199.
- Mehinagic, E., Bourles, E., Jourjon, F., 2011. Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Revue Suisse de Viticulture Arboriculture et Horticulture* 43, 364.
- Mehinagic, E., Bourles, E., Jourjon, F., 2010. Aptitude des variétés de pommes à la transformation industrielle. *Revue suisse de viticulture, arboriculture et horticulture* 42, 138–145.
- Meng, S., Cao, J., Feng, Q., Peng, J., Hu, Y., 2013. Roles of Chlorogenic Acid on Regulating Glucose and Lipids Metabolism: A Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Mitrou, P., Petsiou, E., Papakonstantinou, E., Maratou, E., Lambadiari, V., Dimitriadis, P., Spanoudi, F., Raptis, S.A., Dimitriadis, G., 2015a. Vinegar consumption increases insulin-stimulated glucose uptake by the forearm muscle in humans with type 2 diabetes. *Journal of diabetes research* 2015.
- Moerman, D.E., 1998. *Native american ethnobotany*. Timber press Portland, OR.
- Moreira, P.I., 2013. High-sugar diets, type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 16, 440–445.
- Mota, A.C.L.G., de Castro, R.D., de Araújo Oliveira, J., de Oliveira Lima, E., 2015. Antifungal activity of apple cider vinegar on *Candida* species involved in denture stomatitis. *Journal of Prosthodontics* 24, 296–302.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853.
- Na, H.S., Choi, G.C., Yang, S.I., Lee, J.H., Cho, J.Y., Ma, S.J., Kim, J.Y., 2013. Comparison of characteristics in commercial fermented vinegars made with different ingredients. *Korean Journal of Food Preservation* 20, 482–487.
- Nakamura, K., Ogasawara, Y., Endou, K., Fujimori, S., Koyama, M., Akano, H., 2010a. Phenolic compounds responsible for the superoxide dismutase-like activity in

- high-Brix apple vinegar. *Journal of agricultural and food chemistry* 58, 10124–10132.
- Naziroğlu, M., 2012. Apple cider vinegar supplementation modulates lipid peroxidation and glutathione peroxidase values in lens of ovariectomized mice. <https://doi.org/10.3923/ijp.2016.505.513>
- Naziroğlu, M., 2012. Molecular role of catalase on oxidative stress-induced Ca²⁺ signaling and TRP cation channel activation in nervous system. *Journal of Receptors and Signal Transduction* 32, 134–141.
- Naziroğlu, M., Güler, M., Özgül, C., Saydam, G., Küçükayaz, M., Sözbir, E., 2014a. Apple cider vinegar modulates serum lipid profile, erythrocyte, kidney, and liver membrane oxidative stress in ovariectomized mice fed high cholesterol. *The Journal of membrane biology* 247, 667–673.
- Nie, Z., Zheng, Y., Xie, S., Zhang, X., Song, J., Xia, M., Wang, M., 2017. Unraveling the correlation between microbiota succession and metabolite changes in traditional Shanxi aged vinegar. *Scientific reports* 7, 1–12.
- Noh, Y.-H., Lee, D.-B., Lee, Y.-W., Pyo, Y.-H., 2020. In Vitro Inhibitory Effects of Organic Acids Identified in Commercial Vinegars on α -Amylase and α -Glucosidase. *Preventive Nutrition and Food Science* 25, 319.
- Ogawa, N., Satsu, H., Watanabe, H., Fukaya, M., Tsukamoto, Y., Miyamoto, Y., Shimizu, M., 2000. Acetic Acid Suppresses the Increase in Disaccharidase Activity That Occurs during Culture of Caco-2 Cells. *J Nutr* 130, 507–513. <https://doi.org/10.1093/jn/130.3.507>
- O’Keefe, J.H., Gheewala, N.M., O’Keefe, J.O., 2008. Dietary strategies for improving post-prandial glucose, lipids, inflammation, and cardiovascular health. *Journal of the American College of Cardiology* 51, 249–255.
- Okoko, T., Ere, D., 2012. Reduction of hydrogen peroxide–induced erythrocyte damage by *Carica papaya* leaf extract. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 2, 449–453.
- Omar, N.A.A., Allithy, A., Faleh, F.M., Mariah, R.A., Ayat, M.M.A., Shafik, S.R., Elshweikh, S.A., Baghdadi, H., El Sayed, S.M., 2015. Apple cider vinegar (a prophetic medicine remedy) protects against nicotine hepatotoxicity: A histopathological and biochemical report. *AJCP* 3, 122–7.
- Oomah, B.D., Mazza, G., 2000. Functional foods. *The Wiley encyclopedia of science and technology* 2, 1176–1182.
- Oszmiański, J., Lachowicz, S., Gamsjäger, H., 2020. Phytochemical analysis by liquid chromatography of ten old apple varieties grown in Austria and their antioxidative activity. *European Food Research and Technology* 246, 437–448.
- Oszmiański, J., Wojdyło, A., 2007. Effects of various clarification treatments on phenolic compounds and color of apple juice. *European Food Research and Technology* 224, 755–762.
- Oukabli, A., Mahhou, A., Benbella, M., Sekkat, A., SERGHINI, najib, Achbani, E. hassan, 2011. *Le pommier au Maroc*, INRA. ed.
- Ousaaid, D., Imtara, H., Laaroussi, H., Lyoussi, B., Elarabi, I., 2021. An Investigation of Moroccan Vinegars: Their Physicochemical Properties and Antioxidant and Antibacterial Activities. *Journal of Food Quality*, 2021.
- Ousaaid, D., Laaroussi, H., Badiia, L., Elarabi, I., 2020a. Physicochemical properties and antioxidant activity of two varieties of apple cultivated in different areas in Morocco. *Mediterranean Journal of Chemistry* 10, 371–377.

- Ousaaïd, D., Laaroussi, H., Bakour, M., ElGhouzi, A., Aboulghazi, A., Lyoussi, B., ElArabi, I., 2020b. Beneficial Effects of Apple Vinegar on Hyperglycemia and Hyperlipidemia in Hypercaloric-Fed Rats. *Journal of Diabetes Research*. 2020.
- Ousaaïd, D., Mansouri, I., Laaroussi, H., Lyoussi, B., Aarabi, I.E., 2020e. Physicochemical properties and antioxidant activity of two varieties of apple cultivated in different areas in Morocco. *Mediterranean Journal of Chemistry* 10, 371–377. <https://doi.org/10.13171/mjc10402004271380do>
- Ousaaïd, D., Mansouri, I., Rochdi, M., Lyoussi, B., El Arabi, I., 2017. Etude des paramètres physico-chimiques et de l'activité antioxydante de trois vinaigres de cidre traditionnels issus de trois variétés de pomme de la région de Midelt au Maroc. *ElWahat pour les Recherches et les Etudes* 10, 37–50.
- Öztürk, A., Özdemir, Y., Göksel, Z., 2009. Apple vinegar and its therapeutic effects. *TABAD, Tarım Bilimleri Aras< tail> turma Dergisi* 2, 155–158.
- Ozturk, I., Caliskan, O., Tornuk, F., Ozcan, N., Yalcin, H., Baslar, M., Sagdic, O., 2015a. Antioxidant, antimicrobial, mineral, volatile, physicochemical and microbiological characteristics of traditional home-made Turkish vinegars. *LWT - Food Science and Technology* 63, 144–151.
- Paneque, P., Morales, M.L., Burgos, P., Ponce, L., Callejón, R.M., 2017. Elemental characterisation of Andalusian wine vinegars with protected designation of origin by ICP-OES and chemometric approach. *Food Control* 75, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.006>
- Pasteur, L., 1868. Études sur le vinaigre, sa fabrication, ses maladies, moyens de les prévenir: nouvelles observations sur la conservation des vins par la chaleur. Gauthier-Villars.
- Patrignani, F., D'Alessandro, M., Vannini, L., Lanciotti, R., 2020. Use of functional microbial starters and probiotics to improve functional compound availability in fermented dairy products and beverages, in: *Sustainability of the Food System*. Elsevier, pp. 167–180.
- Pereira-Lorenzo, S., Ramos-Cabrer, A.M., Fischer, M., 2009. Breeding apple (*Malus x domestica* Borkh), in: *Breeding Plantation Tree Crops: Temperate Species*. Springer, pp. 33–81.
- Petkova, N., Bileva, T., Valcheva, E., Dobrevska, G., Grozeva, N., Todorova, M., Popov, V., 2019. Bioactive compounds and antioxidant activity in apple fruits cultivar Florina. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 25, 13–18.
- Petsiou, E.I., Mitrou, P.I., Raptis, S.A., Dimitriadis, G.D., 2014. Effect and mechanisms of action of vinegar on glucose metabolism, lipid profile, and body weight. *Nutrition reviews* 72, 651–661.
- Phipps, J.B., Robertson, K.R., Smith, P.G., Rohrer, J.R., 1990. A checklist of the subfamily Maloideae (Rosaceae). *Canadian journal of botany* 68, 2209–2269.
- Piagentini, A.M., Pirovani, M.E., 2017. Total phenolics content, antioxidant capacity, physicochemical attributes, and browning susceptibility of different apple cultivars for minimal processing. *International Journal of Fruit Science* 17, 102–116.
- Popkin, B.M., Adair, L.S., Ng, S.W., 2012. Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries. *Nutrition reviews* 70, 3–21.
- Rachmansyah, M.S., Junaidi, E., Effendi, E., 2020. Reduction of Blood Glucose Levels by Apple Vinegar in Mice Induced by Dexamethasone. *JOURNAL AMS* 6, 143–148.
- Rains, J.L., Jain, S.K., 2011. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine* 50, 567–575.

- Ren, M., Wang, X., Tian, C., Li, X., Zhang, B., Song, X., Zhang, J., 2017. Characterization of organic acids and phenolic compounds of cereal vinegars and fruit vinegars in China. *Journal of Food Processing and Preservation* 41, e12937.
- Renard, C., Caris-Veyrat, C., Dufour, C., Le Bourvellec, C., 2014. Le devenir des polyphénols et caroténoïdes dans les fruits et légumes traités thermiquement. *Innovations Agronomiques* 42, 125–137.
- Renard, C.M., Dupont, N., Guillermin, P., 2007. Concentrations and characteristics of procyanidins and other phenolics in apples during fruit growth. *Phytochemistry* 68, 1128–1138.
- Riboli, E., Norat, T., 2003. Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *The American journal of clinical nutrition* 78, 559S–569S.
- Ríos-Covián, D., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Gueimonde, M., de los Reyes-Gavilán, C.G., Salazar, N., 2016. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Frontiers in microbiology* 7, 185.
- Rippe, J.M., Angelopoulos, T.J., 2016. Relationship between Added Sugars Consumption and Chronic Disease Risk Factors: Current Understanding. *Nutrients* 8.
- Rodacka, A., Serafin, E., Puchala, M., 2010. Efficiency of superoxide anions in the inactivation of selected dehydrogenases. *Radiation Physics and Chemistry* 79, 960–965.
- Rupasinghe, H.V., Thilakarathna, S., Nair, S., 2013. Polyphenols of apples and their potential health benefits, Polyphenols: chemistry, dietary sources and health benefits. Nova Science Publishers Inc.: New York, NY, USA.
- Ryu, J.-H., Deng, Y., Beuchat, L.R., 1999. Behavior of Acid-Adapted and Unadapted *Escherichia coli* O157:H7 When Exposed to Reduced pH Achieved with Various Organic Acids. *Journal of Food Protection* 62, 451–455.
- Saeedi, M., Khezri, K., Seyed Zakaryaei, A., Mohammadamini, H., 2021. A comprehensive review of the therapeutic potential of α -arbutin. *Phytotherapy Research*.
- Safari, O., Sarkheil, M., 2018. Dietary administration of eryngii mushroom (*Pleurotus eryngii*) powder on haemato-immunological responses, bactericidal activity of skin mucus and growth performance of koi carp fingerlings (*Cyprinus carpio koi*). *Fish & shellfish immunology* 80, 505–513.
- Sakai, K., Matsumoto, K., Nishikawa, T., Suefuji, M., Nakamaru, K., Hirashima, Y., Kawashima, J., Shirotani, T., Ichinose, K., Brownlee, M., 2003. Mitochondrial reactive oxygen species reduce insulin secretion by pancreatic β -cells. *Biochemical and biophysical research communications* 300, 216–222.
- Sakakibara, S., Yamauchi, T., Oshima, Y., Tsukamoto, Y., Kadowaki, T., 2006. Acetic acid activates hepatic AMPK and reduces hyperglycemia in diabetic KK-A (y) mice. *Biochemical and biophysical research communications* 344, 597–604.
- Salahuddin, M.A.H., Ismail, A., Kassim, N.K., Hamid, M., Ali, M.S.M., 2020. Phenolic profiling and evaluation of in vitro antioxidant, α -glucosidase and α -amylase inhibitory activities of *Lepisanthes fruticosa* (Roxb) Leenh fruit extracts. *Food chemistry* 331, 127240.
- Salau, V.F., Erukainure, O.L., Koorbanally, N.A., Islam, Md.S., 2021. Ferulic acid promotes muscle glucose uptake and modulate dysregulated redox balance and metabolic pathways in ferric-induced pancreatic oxidative injury. *Journal of Food Biochemistry* n/a, e13641. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13641>

- Sam, M.F.R., Hamid, A., Ghazali, A.R., Louis, S.R., Budin, S.B., 2019. Protective Effects of Zingiber zerumbet Ethyl Acetate Extract on Hydrogen Peroxide-Induced Damage of Red Blood Cells. *Sains Malaysiana* 48, 781–790.
- Sanarico, D., Motta, S., Bertolini, L., Antonelli, A., 2003. HPLC Determination of Organic Acids in Traditional Balsamic Vinegar of Reggio Emilia. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 26, 2177–2187. <https://doi.org/10.1081/JLC-120022402>
- Schetz, M., Dasta, J., Goldstein, S., Golper, T., 2005. Drug-induced acute kidney injury. *Current opinion in critical care* 11, 555–565.
- Schuetz, P., Stanga, Z., 2020. Nutritional Management and Outcomes in Malnourished Medical Inpatients in 2020: The Evidence Is Growing! Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
- Sellika, I.E., Faysse, N., 2015. Perspectives de production et de commercialisation de la pomme au Maroc à l’horizon 2025. *Alternatives Rurales*.
- Sengun, I.Y., Kilic, G., Ozturk, B., 2019. Screening physicochemical, microbiological and bioactive properties of fruit vinegars produced from various raw materials. *Food science and biotechnology* 1–8.
- Setorki, M., Asgary, S., Eidi, A., rohani, A., KHazaei, M., 2010. Acute effects of vinegar intake on some biochemical risk factors of atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits. *Lipids in Health and Disease* 9, 10.
- Seydim, A.C., Guzel-Seydim, Z.B., Doguc, D.K., Savas, M.C., Budak, H.N., 2016. Effects of Grape Wine and Apple Cider Vinegar on Oxidative and Antioxidative Status in High Cholesterol-Fed Rats. *Functional Foods in Health and Disease* 6, 569-577–577.
- Shahid, S.M., Mahboob, T., 2003. Diabetes and Hypertension: Role of Electrolytes and Na-K-ATPase. *Sciences* 6, 1971–1975.
- Shahidi, F., Miraliakbari, H., 2004. Omega-3 (n-3) fatty acids in health and disease: part 1—cardiovascular disease and cancer. *Journal of medicinal food* 7, 387–401.
- Sharma, P., Reddy, P.K., Kumar, B., 2020. Trace Element Zinc, a Nature’s Gift to Fight Unprecedented Global Pandemic COVID-19. *Biological Trace Element Research* 1–9.
- Shi, B., Jin, M., Jiao, L., Betancor, M.B., Tocher, D.R., Zhou, Q., 2020. Effects of dietary zinc level on growth performance, lipolysis and expression of genes involved in the calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase- β /AMP-activated protein kinase pathway in juvenile Pacific white shrimp. *British Journal of Nutrition* 124, 773–784.
- Shimoda, H., Seki, E., Aitani, M., 2006. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. *BMC complementary and alternative medicine* 6, 1–9.
- Shishehbor, F., Mansoori, A., Sarkaki, A.R., Jalali, M.T., Latifi, S.M., 2008. Apple cider vinegar attenuates lipid profile in normal and diabetic rats. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS* 11, 2634–2638.
- Shulaev, V., Korban, S.S., Sosinski, B., Abbott, A.G., Aldwinckle, H.S., Folta, K.M., Iezzoni, A., Main, D., Arus, P., Dandekar, A.M., 2008. Multiple models for Rosaceae genomics. *Plant physiology* 147, 985–1003.
- SIAM, S., 2019. Agriculture : La production de pommes au Maroc s’élève à 697 000 tonnes – SIAM 15ème Édition 2020 | Salon International de l’Agriculture au Maroc.

- Siddeeg, A., Zeng, X.-A., Rahaman, A., Manzoor, M.F., Ahmed, Z., Ammar, A.-F., 2019. Quality characteristics of the processed dates vinegar under influence of ultrasound and pulsed electric field treatments. *Journal of food science and technology* 56, 4380–4389.
- Sies, H., 2015. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox biology* 4, 180–183.
- Sies, H., 1994. Strategies of antioxidant defense, in: Christen, P., Hofmann, E. (Eds.), *EJB Reviews 1993*, EJB Reviews. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 101–107.
- Silvester, A.J., Aseer, K.R., Yun, J.W., 2019. Dietary polyphenols and their roles in fat browning. *The Journal of nutritional biochemistry* 64, 1–12.
- Singh, K.G., Ramya, G.S., Purohit, D., 2020. IN-VITRO AND EX-VIVO STUDIES ON SYNERGISTIC EFFECTS OF LIMONIA ACIDISSIMA AND APPLE CIDER VINEGAR ON ANTI-UROLITHIATIC ACTIVITY. *IJPSR* 11.
- Singla, P., Bardoloi, A., Parkash, A.A., 2010. Metabolic effects of obesity: A review. *World J Diabetes* 1, 76–88.
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A.R., Simonič, M., Knez, Ž., 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food chemistry* 89, 191–198.
- Solieri, L., Giudici, P., 2009. Vinegars of the World, in: *Vinegars of the World*. Springer, pp. 1–16.
- Soltan, S.S., Shehata, M., 2012. Antidiabetic and hypocholesterolemic effect of different types of vinegar in rats. *Life Science Journal* 9, 2141–2151.
- Sonnenfeld, A., Flandrin, J.-L., Montanari, M., 1999. *Food: a culinary history*. Columbia University Press.
- Steinmetz, K.A., Potter, J.D., 1996. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the american dietetic association* 96, 1027–1039.
- Tagliacruzchi, D., Verzelloni, E., 2014. Relationship between the chemical composition and the biological activities of food melanoidins. *Food Science and Biotechnology* 23, 561–568.
- Tagliacruzchi, D., Verzelloni, E., Conte, A., 2010. Contribution of melanoidins to the antioxidant activity of traditional balsamic vinegar during aging. *Journal of food biochemistry* 34, 1061–1078.
- Tan, Y., Chang, S.K., Zhang, Y., 2017. Comparison of α -amylase, α -glucosidase and lipase inhibitory activity of the phenolic substances in two black legumes of different genera. *Food chemistry* 214, 259–268.
- Taneva, I., Petkova, N., Dimov, I., Ivanov, I., Denev, P., 2016. Characterization of rose hip (*Rosa canina* L.) fruits extracts and evaluation of their in vitro antioxidant activity. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 5, 35.
- Tesfaye, W., Morales, M.L., Garcia-Parrilla, M.C., Troncoso, A.M., 2002. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. *Trends in food science & technology* 13, 12–21.
- Thinathayalan, D., Yuan, B.T.K., Kaur, J., Albert, Y., Yan, N.J., 2019. The Effects of Apple Cider Vinegar on Weight, Blood Pressure, Blood Glucose Level and Heart Rate of 60 MMC Medical Students Randomized Controlled Trial. *Medicine Journal* 6, 88.
- Thorens, B., Waeber, G., 1993. Glucagon-like peptide-I and the control of insulin secretion in the normal state and in NIDDM. *Diabetes* 42, 1219–1225.
- Tian, Y., Sun, L., Yang, Y., Gou, X., Niu, P., Guo, Y., 2018a. Changes in the physicochemical properties, aromas and polyphenols of not from concentrate (NFC) apple juice during production. *CyTA-Journal of Food* 16, 755–764.

- Tian, Y., Sun, L., Yang, Y., Gou, X., Niu, P., Guo, Y., 2018b. Changes in the physicochemical properties, aromas and polyphenols of not from concentrate (NFC) apple juice during production. *CyTA-Journal of Food* 16, 755–764.
- Toualbi, L.A., Adnane, M., Abderrezak, K., Ballout, W., Arab, M., Toualbi, C., Chader, H., Tahae, R., Seba, A., 2020. Oxidative stress accelerates the carotid atherosclerosis process in patients with chronic kidney disease. *Arch Med Sci Atheroscler Dis* 5, e245–e254.
- Tripathi, S., Kumari, U., Mazumder, P.M., 2020. Ameliorative effects of apple cider vinegar on neurological complications via regulation of oxidative stress markers. *Journal of Food Biochemistry* 44, e13504.
- Tripathi, S., Mazumder, P.M., 2020. Apple cider vinegar (ACV) and their pharmacological approach towards Alzheimer's disease (AD): A review. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* 54, s67–s74.
- Tsao, R., 2010. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* 2, 1231–1246.
- Tumbas, V.T., Čanadanović-Brunet, J.M., Četojević-Simin, D.D., Četković, G.S., Dilas, S.M., Gille, L., 2012. Effect of rosehip (*Rosa canina* L.) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 92, 1273–1281.
- Unusan, N., 2020. Proanthocyanidins in grape seeds: An updated review of their health benefits and potential uses in the food industry. *Journal of Functional Foods* 67, 103861.
- Upadhyay, S., Vaish, S., Dhiman, M., 2019. Hydrogen peroxide-induced oxidative stress and its impact on innate immune responses in lung carcinoma A549 cells. *Molecular and cellular biochemistry* 450, 135–147.
- van der Sluis, A.A., Dekker, M., Skrede, G., Jongen, W.M., 2002. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 1. Effect of existing production methods. *Journal of agricultural and food chemistry* 50, 7211–7219.
- van Dijk, J.-W., Tummers, K., Hamer, H.M., van Loon, L.J., 2012. Vinegar co-ingestion does not improve oral glucose tolerance in patients with type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and its Complications* 26, 460–461.
- Vanessa Fiorentino, T., Priolella, A., Zuo, P., Folli, F., 2013. Hyperglycemia-induced oxidative stress and its role in diabetes mellitus related cardiovascular diseases. *Current pharmaceutical design* 19, 5695–5703.
- Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D., Mattivi, F., 2004. Quantitation of Polyphenols in Different Apple Varieties. *J. Agric. Food Chem.* 52, 6532–6538.
- Wandjou, N., Guileine, J., Mevi, S., Sagratini, G., Vittori, S., Dall'Acqua, S., Caprioli, G., Lupidi, G., Mombelli, G., Arpini, S., 2020. Antioxidant and Enzyme Inhibitory Properties of the Polyphenolic-Rich Extract from an Ancient Apple Variety of Central Italy (*Mela Rosa dei Monti Sibillini*). *Plants* 9, 9.
- Wang, H., Liu, J., Liu, Z., 2019. Effect of enzymatic digestion, chemical and boiled water extraction techniques on apparent antioxidant bioactivities of apple peel. *Journal of Food Measurement and Characterization* 13, 959–966.
- Wang, H.-Y., Qian, H., Yao, W.-R., 2011. Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food chemistry* 128, 573–584.
- Wang, X., Roper, M.G., 2014. Measurement of DCF fluorescence as a measure of reactive oxygen species in murine islets of Langerhans. *Analytical Methods* 6, 3019–3024.
- Weekers, L., Krzesinski, J.-M., 2005. La néphropathie diabétique. *Revue medicale de Liege* 60, 479–486.

- Welsch, C.A., Lachance, P.A., Wasserman, B.P., 1989. Dietary phenolic compounds: inhibition of Na⁺-dependent D-glucose uptake in rat intestinal brush border membrane vesicles. *The Journal of nutrition* 119, 1698–1704.
- Wenzig, E.M., Widowitz, U., Kunert, O., Chrubasik, S., Bucar, F., Knauder, E., Bauer, R., 2008. Phytochemical composition and in vitro pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina* L.) preparations. *Phytomedicine* 15, 826–835.
- Wojdylo, A., Oszmiański, J., Laskowski, P., 2008. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 6520–6530.
- Wongmekiat, O., Peerapanyasut, W., Kobroob, A., 2018. Catechin supplementation prevents kidney damage in rats repeatedly exposed to cadmium through mitochondrial protection. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 391, 385–394.
- Wu, J., Zhao, H., Du, M., Song, L., Xu, X., 2019. Dispersive liquid–liquid microextraction for rapid and inexpensive determination of tetramethylpyrazine in vinegar. *Food chemistry* 286, 141–145.
- Xia, T., Zhang, B., Duan, W., Li, Y., Zhang, J., Song, J., Zheng, Y., Wang, M., 2019. Hepatoprotective efficacy of Shanxi aged vinegar extract against oxidative damage in vitro and in vivo. *Journal of Functional Foods* 60, 103448.
- Xia, T., Zhang, B., Duan, W., Zhang, J., Wang, M., 2020. Nutrients and bioactive components from vinegar: A fermented and functional food. *Journal of Functional Foods* 64, 103681.
- Xu, W., Xu, Q., Chen, J., Lu, Z., Xia, R., Li, G., Xu, Z., Ma, Y., 2011. Ligustrazine formation in Zhenjiang aromatic vinegar: changes during fermentation and storing process. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91, 1612–1617.
- Xu, Y., Fan, M., Ran, J., Zhang, T., Sun, H., Dong, M., Zhang, Z., Zheng, H., 2016. Variation in phenolic compounds and antioxidant activity in apple seeds of seven cultivars. *Saudi Journal of Biological Sciences* 23, 379–388.
- Yagnik, D., Serafin, V., Shah, A.J., 2018. Antimicrobial activity of apple cider vinegar against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*; downregulating cytokine and microbial protein expression. *Scientific reports* 8, 1–12.
- Yagnik, D., Ward, M., Shah, A.J., 2021. Antibacterial apple cider vinegar eradicates methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and resistant *Escherichia coli*. *Scientific Reports* 11, 1–7.
- Yamashita, H., Maruta, H., Jozuka, M., Kimura, R., Iwabuchi, H., Yamato, M., Saito, T., Fujisawa, K., Takahashi, Y., Kimoto, M., 2009. Effects of acetate on lipid metabolism in muscles and adipose tissues of type 2 diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 73, 570–576.
- Yang, C., Li, L., Ma, Z., Zhong, Y., Pang, W., Xiong, M., Fang, S., Li, Y., 2018. Hepatoprotective effect of methyl ferulic acid against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine* 15, 2228–2238.
- Zager, R.A., 1997. Pathogenetic mechanisms in nephrotoxic acute renal failure, in: *Seminars in Nephrology*. pp. 3–14.
- Zengin, G., Arkan, T., Aktumsek, A., Guler, G.O., Cakmak, Y.S., 2013a. A study on antioxidant capacities and fatty acid compositions of two *Daphne* species from Turkey: New sources of antioxidants and essential fatty acids. *Journal of Food Biochemistry* 37, 646–653.

- Zengin, G., Arkan, T., Aktumsek, A., Guler, G.O., Cakmak, Y.S., 2013b. A Study on Antioxidant Capacities and Fatty Acid Compositions of Two Daphne Species from Turkey: New Sources of Antioxidants and Essential Fatty Acids. *Journal of Food Biochemistry* 37, 646–653.
- Zhang, J., Tian, Z.G., Wang, J.H., Wang, A.R., 2011. Advances in antimicrobial molecular mechanism of organic acids. *Acta veterinaria et zootechnica sinica-Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences* 42, 323–328.
- Zhang, S., Hu, C., Guo, Y., Wang, X., Meng, Y., 2021. Polyphenols in fermented apple juice: Beneficial effects on human health. *Journal of Functional Foods* 76, 104294.
- Zhao, C., Xia, T., Du, P., Duan, W., Zhang, B., Zhang, J., Zhu, S., Zheng, Y., Wang, M., Yu, Y., 2018. Chemical composition and antioxidant characteristic of traditional and industrial Zhenjiang aromatic vinegars during the aging process. *Molecules* 23, 2949.
- Zhao, G., Etherton, T.D., Martin, K.R., West, S.G., Gillies, P.J., Kris-Etherton, P.M., 2004. Dietary alpha-linolenic acid reduces inflammatory and lipid cardiovascular risk factors in hypercholesterolemic men and women. *J. Nutr.* 134, 2991–2997.
- Zhao, Y., Liu, Y., Chen, K., 2016. Mechanisms and clinical application of tetramethylpyrazine (an interesting natural compound isolated from *Ligusticum wallichii*): Current status and perspective. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2016.
- Zhue, X.J., Laszik, Z., Nadasty, T., D'Agati, V.D., Silva, F.G., 2009. *Diagnostic renal pathology*. New York: Cambridge University Press.
- Zou, B., Xiao, G., Xu, Y., Wu, J., Yu, Y., Fu, M., 2018. Persimmon vinegar polyphenols protect against hydrogen peroxide-induced cellular oxidative stress via Nrf2 signalling pathway. *Food Chemistry* 255, 23–30.

Annexe 1

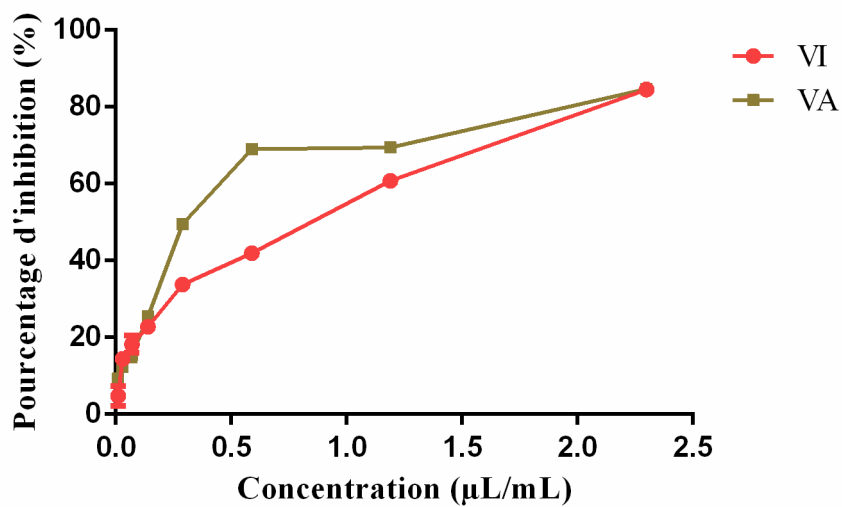


Figure 53 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par le VCP artisanal et le VCP industriel.

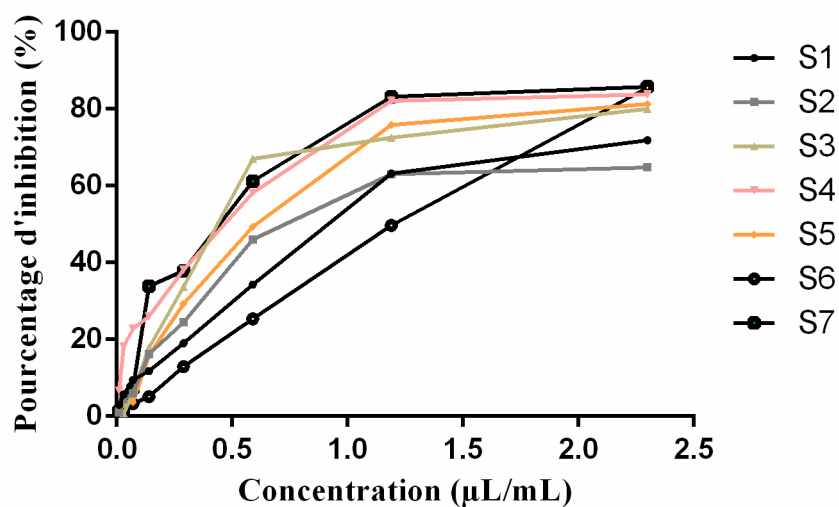


Figure 54 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de différents échantillons du VCP

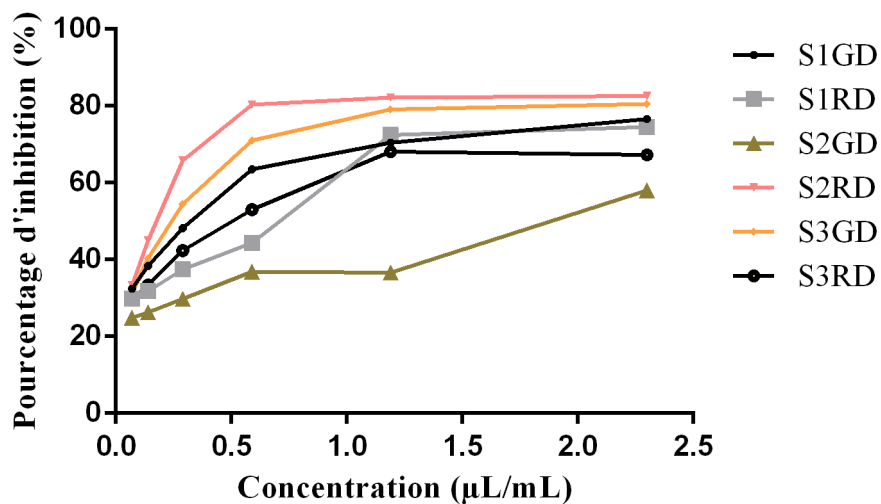


Figure 55 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de différents jus.

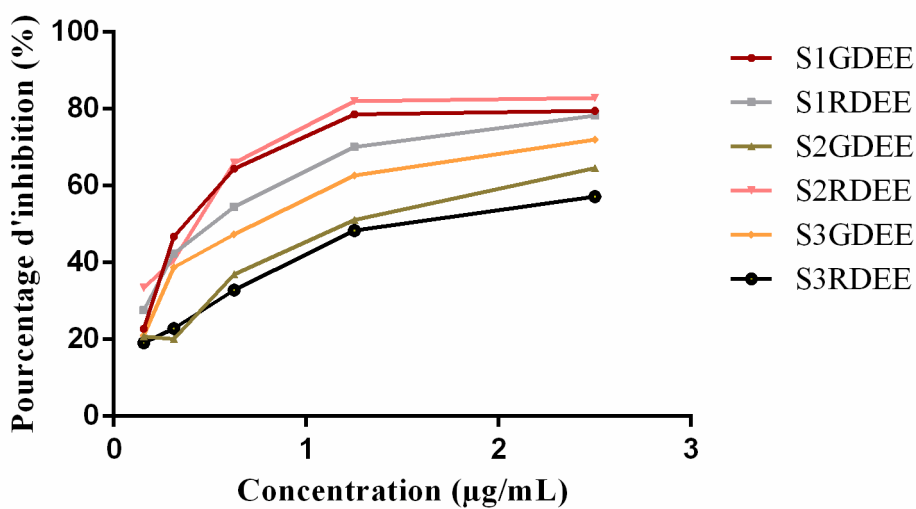


Figure 56 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par différents extraits éthanoliques des deux variétés de pomme.

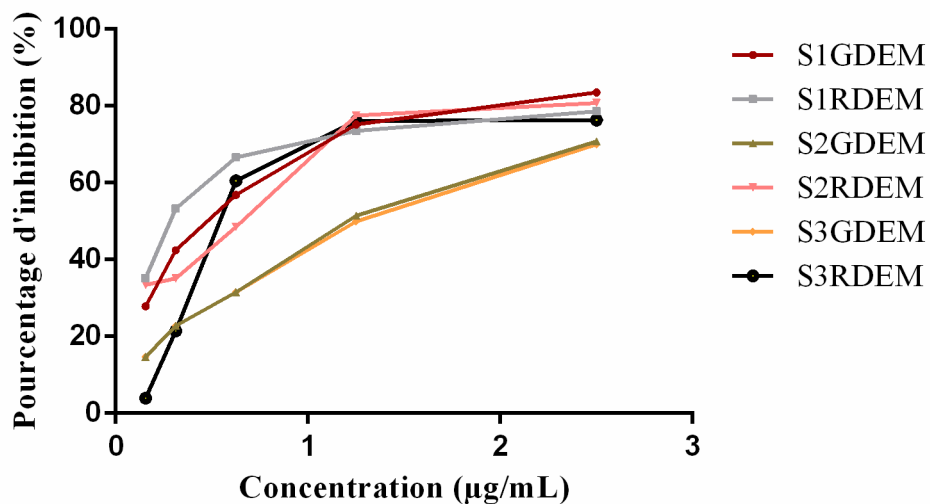


Figure 57 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH par différents extraits méthanoliques des deux variétés de pomme.

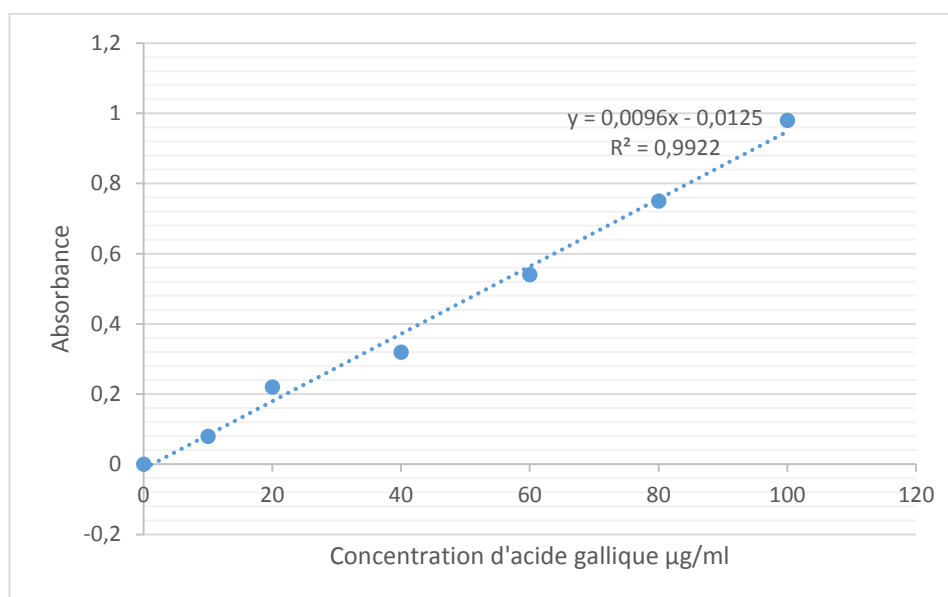


Figure 58 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

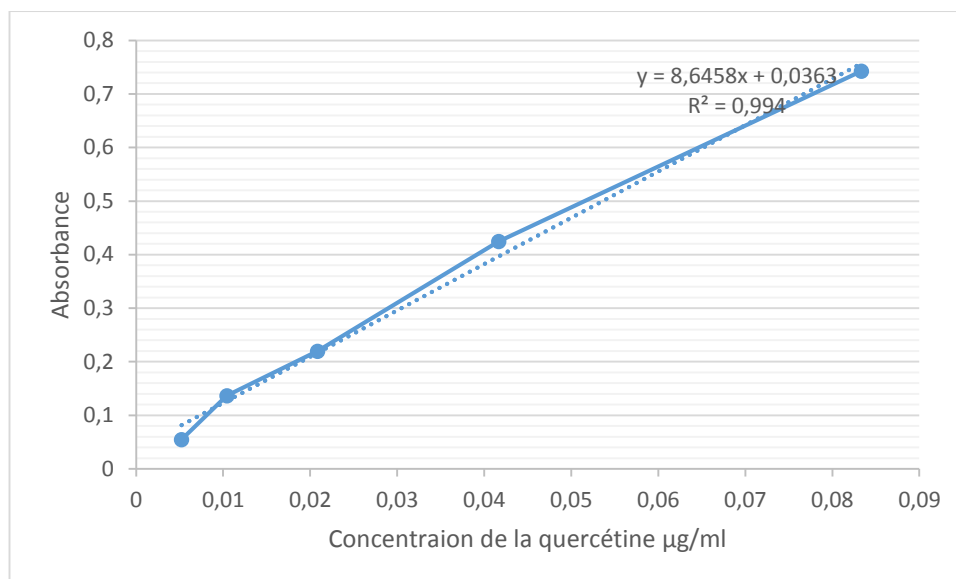


Figure 59 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

Tableau 42 : Les microorganismes intervenant dans le processus de la production du VCP

Fermentation alcoolique	Fermentation acétique	Références
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> AXAZ-1 (Levure)	<i>Komagataeibacter europaeus</i> <i>Acetobacter aceti</i> (bactéries)	Plioni, I., Bekatorou, A., Terpou, A., Mallouchos, A., Plessas, S., Koutinas, A. A., & Katechaki, E. (2021). Vinegar Production from Corinthian Currants Finishing Side-Stream: Development and Comparison of Methods Based on Immobilized Acetic Acid Bacteria. <i>Foods</i> , 10(12), 3133.
<i>Lactobacillus</i> et <i>Oenococcus</i> (Bactéries)	<i>Lactococcus</i> et <i>Acetobacter</i>	Song, J., Zhang, J. H., Kang, S. J., Zhang, H. Y., Yuan, J., Zeng, C. Z., ... & Huang, Y. L. (2019). Analysis of microbial diversity in apple vinegar fermentation process through 16s rDNA sequencing. <i>Food science & nutrition</i> , 7(4), 1230-1238.
<i>Candida ethanolica</i> , <i>Pichia membranifaciens</i> , <i>Saccharomycodes ludwigii</i> , <i>Saccharomycodes ludwigii</i>	<i>Acetobacter pasteurianus</i> , <i>Acetobacter ghanensis</i> , <i>Komagataeibacter oboediens</i> , <i>Komagataeibacter saccharivorans</i>	Štornik, A., Skok, B., & Trček, J. (2016). Comparison of cultivable acetic acid bacterial microbiota in organic and conventional apple cider vinegar. <i>Food technology and Biotechnology</i> , 54(1), 113.

Annexe 2

FSDM- LPPSE

Doctorant: Driss OUSAID

profil de l'informateur

1. sexe

1. masculin 2. féminin

2. tranche d'âge;

1. <20 2. 20-30 3. >30

3. niveau d'étude;

1. analphabet 2. primaire 3. secondaire
 4. universitaire

information sur le vinaigre

4. nom de vinaigre.

5. mode de préparation,

1. artisanal 2. industriel

les utilisations du vinaigre

6. usage du vinaigre

1. thérapeutique 2. cosmétique 3. culinaire
 4. autre

Vous pouvez cocher plusieurs cases.

7. Si 'autre', précisez :

8. Si 'si non citez la recette', précisez :

9. durée d'utilisation

1. un jour 2. une semaine 3. un mois
 4. jusqu'à la guérison

10. dose en cuillère

11. les maladies traitées

1. système neuro-psychique
 2. système digestif
 3. système cutané
 4. système respiratoire
 5. système génito-urinaire
 6. système bucco-dentaire
 7. système musculo-articulaire
 8. système cardiaque
 9. système endocrinien
 10. système ORL
 11. si autres

Vous pouvez cocher plusieurs cases.

12. Si 'si autres précisez', précisez :

13. vous êtes pour

1. la médecine moderne 2. la médecine traditionnelle
 3. les deux

Vous pouvez cocher plusieurs cases.

14. selon vous quelles sont les raisons du choix de la médecine traditionnelle

1. efficacité 2. moindre coût
 3. disponibilité des plantes 4. médicaments inefficaces

Vous pouvez cocher plusieurs cases.

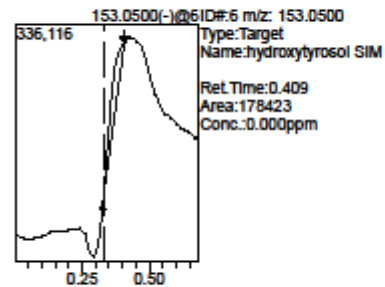
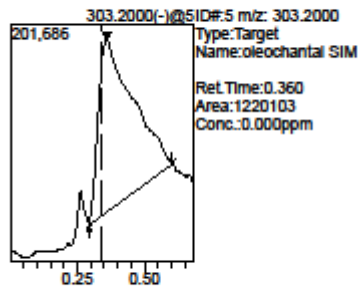
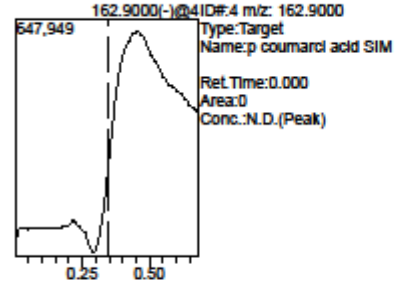
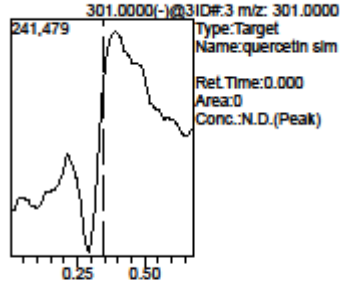
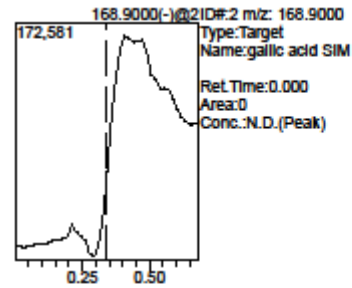
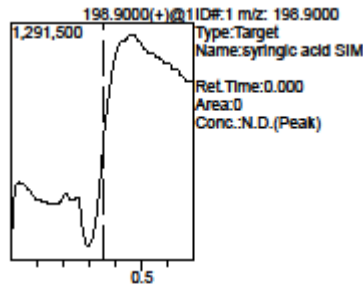
15. état de satisfaction

1. guérison 2. amélioration
 3. effets secondaires 4. intoxication

Annexe 3

= Shimadzu LabSolutions Quant. Browser Data Report =

Acquired by : System Administrator
Data Acquired : 05/10/2021 18:03:45
Sample Type : Unknown
Sample Name : D1
Sample ID :
Sample Amount : 1
Dilution Factor : 1
Vial# : 9
Injection Volume : 5 uL
Data Filename : D1_010.lcd
Method Filename : polifenol screening SIM.lcm
Processed by : System Administrator
Modified Date : 05/10/2021 18:04:29



Annexe 4

Physicochemical properties and antioxidant activity of two varieties of apple cultivated in different areas in Morocco

Driss Ousaaid ^{1,*}, Ismail Mansouri ², Hassan Laaroussi ¹, Badiia Lyoussi ¹, and Ilham El Arabi ¹

¹ Laboratory of Physiology, Pharmacology and Environmental Health, Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, P.O.Box 1796 Atlas, Sidi Mohamad Ben Abdellah University, Fez 30000, Morocco

² Laboratory of Functional Ecology and Environment, Faculty of Sciences and Technology P.O.Box 2202 Emmouzer road, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco

Abstract: This study aimed to assess the effect of climate on the organoleptic qualities and phytochemical properties of two varieties of apple (*Golden delicious* (GD) and *Red delicious* (RD)) collected from different regions in Morocco. These two varieties of apple were examined for their bioactive compounds composition and antioxidant activity (in juices and different extracts). For physicochemical parameters, the highest acidity was observed in *Golden delicious* collected from station 1, which was the juiciest sample. Bioactive substances content was dependent on variety and station, while the highest polyphenol content was observed in *Golden delicious* collected from station 2 (135.41±6.66 mg GAE/100 mL of juice) and most top flavonoid content was observed in *Red delicious* collected from station 1 (7.43±0.13 mg QE/100 mL of juice). Furthermore, *Red delicious* collected from station 2 was the most effective in chelating the radical DPPH (IC50% = 0.92±0.01 µL of juice), and *Red delicious* collected from station 1 has the highest total antioxidant activity (2.47±0.02 mg AAE/100 mL of juice). The present work showed that the significant diversity in the different studied parameters of the apple cultivars was closely linked with the characteristics of the station, such as geography and climate.

Keywords: Golden delicious; red delicious; apple juice; antioxidant activity; polyphenols; flavonoids.

1. Introduction

The importance of fruits and their byproducts for human health cannot be overstated. Fruits are considered an essential part of the daily diet and are on high demand because they ensure a balanced diet ¹. Fruits are an inexhaustible source of bioactive constituents ^{2,3}. Apple serves as a source of different dietary phytonutrients, which possess many pharmacological properties such as antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, antidiabetic ³⁻⁵.

The daily consumption of apples can play a role in decreasing the risk of different chronic diseases such as cardiovascular disease, cancer and diabetes ⁷⁻⁹.

Apples are one of the best sources of bioactive compounds ¹⁰. Several studies correlated the bioactive compounds with health-protective activities ^{2,4-6,11}. In the last decades, bioactive compounds earned remarkable attention for their biological activities ¹².

Apples are comprised of several biologically active substances, such as carbohydrates, fiber, vitamins, organic fruit acids, hydroxycinnamic acids, flavonols and anthocyanins ¹³.

However, geographical conditions influence the content of some of these bioactive substances content in fruits. In Morocco, the apple crops constitute an important source of income for the Moroccan populations in mountainous areas. Geographical localization of Morocco offers a complete range of Mediterranean bio-climates favoring the development and fruiting of different apple varieties ¹⁴. The apple tree currently occupies an area of about 63000 hectares and ranks as the second among the cultivated rosacea, after the almond tree, according to statistical forecasts reported by Sellika ¹⁵. Products based on apple are numerous and diversified, and they include juice and vinegar. The transformation of apples, unfortunately, remains weak or even absent in Morocco ¹⁶.

This research aimed to assess the proximate physicochemical properties, the antioxidant activity of two varieties of apple cultivated in different areas in Morocco as well as the possible impact of pedoclimatic conditions on bioactive components composition of fruits.

*Corresponding author: Driss Ousaaid
Email address: ousaadriiss@gmail.com
DOI: <http://dx.doi.org/10.13171/mjc10402004271380do>

Received March 9, 2020
Accepted April 6, 2020
Published April 27, 2020



Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Flesh Fruits *Rosa canina* Extracts Collected from Ait Ayach Midelt

Driss Ousaaid¹, Ismail Mansour², Hassan Laaroussi¹,
Asmae ElGhouzi¹, Badiaa Lyoussi¹, Ilham ElArabi¹

10.18805/IJAR.A-494

ABSTRACT

Rosa canina L. is a rich fruit on bioactive substances which provides them with high antioxidant potential, like phenolic acids, flavonoids, condensed tannins. The aim of this study was to estimate and characterize the phenolic content, flavonoids content, condensed tannins content obtained from rose hips fruits in five extracts (water, 50% v/v ethanol, 70% v/v ethanol, 80% v/v methanol, apple vinegar) to examine their antioxidant activity by two reliable methods: Total antioxidant activity and DPPH. Surprisingly, in our results, the highest polyphenol, flavonoids content and condensed tannins was observed in vinegar extract 55.51±1, 16 mg GAE/g dw, 22.15±0.45 mg QE/g dw, 12.37±0.16 mg AAE/g dw respectively. Furthermore, the vinegar extract was the most effective to chelating the radical DPPH (IC50% = 0.336±0.005µg), and have the highest total antioxidant activity (7.88±0.19mg AAE/g dw). The current research showed that the vinegar was more effective than the methanol, ethanol, water for polyphenols, flavonoids, tannins extraction.

Key words: Antioxidant activity, Condensed tannins, Flavonoids, Polyphenols, *Rosa canina*.

INTRODUCTION

Rosa canina distributed natively in Europe, Asia, the Middle East and North America and fit to numerous soil and climates (Nilson, 1997).

Known in Morocco in Midelt area under the vulgar Berber name "Tabgha", this plant has several therapeutic virtues, its leaves are used in traditional medicine by the population of this region to treat erectile dysfunction, stomachic (by decoction), and against headaches, fall arrest (powder) (Benlamdini et al. 2014). Common preparations of rosehips include wine, juice, tea, jam, jelly and sometimes blended with salmon dry eggs (Moerman, 2002). The fruits of this plant are a precious source for the food industry and pharmaceuticals. In the course of last decade, rosehips earned interest more because they contain compounds which are known to have several anti-oxidant properties, anti-mutagenic, and anti-carcinogenic (Tumbas et al. 2012). The rosehips have been used for the prevention and treatment of colds, flu and diabetes in many European countries (Chrubasik et al. 2008), in Bulgaria rosehips are generally used as an infusion (Taneva et al. 2016). The juice and the aqueous extract of the fruits of the eglantine have an exceptional antioxidant activity (Demir et al. 2001). The powder of the fruits of the rose hip can support the longevity of the skin and of cells by mechanisms implicating polyunsaturated fatty acids, support of collagen, anti-oxidant properties and anti-inflammatory (Phetcharat et al. 2015).

The fruits of the eglantine are well known for their high polyphenol content (Campos-Vega et al. 2013), these compounds constitute an important class of known natural antioxidants that exhibit various important physiological and biological properties in vivo and in vitro (Campos-Vega et al. 2010; Shahanas et al. 2019; Sonia et al. 2016). The antioxidant activity of *Rosa Canina* fruit extract has been

¹Laboratory of Physiology, Pharmacology and Environmental Health, Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, PO.Box 1796 Atlas, Sidi Mouhmad Ben Abdellah University, Fez 30000, Morocco.

²Laboratory of Functional Ecology and Environment. Faculty of Sciences and Technology PO.BOX 2202 Emmouzer road, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco.

Corresponding Author: Driss Ousaaid, Laboratory of Physiology, Pharmacology and Environmental Health, Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, PO.Box 1796 Atlas, Sidi Mouhmad Ben Abdellah University, Fez 30000, Morocco. Email: drissousaa@gmail.com

How to cite this article: Ousaaid, D., Mansour, I., Laaroussi, H., ElGhouzi, A., Lyoussi, B., ElArabi, I., Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Flesh Fruits *Rosa canina* Extracts Collected from Ait Ayach Midelt, Indian Journal of Agricultural Research, ():

Submitted: 10-10-2019 Accepted: 18-12-2019 Published:

documented in several studies (Roman et al. 2013; Ersoy et al. 2015; Taneva et al. 2016; Murathan et al. 2016).

Of more the composition of the fruits of *Rosa Canina* is affected by soil and geographical factors, where from comes the objective of the present study, which aims at characterizing the wild fruit of *Rosa Canina* which develops naturally in the region of Midelt by determining the contents of polyphenols, flavonoids, condensed tannins, antioxidant activity, using different organic solvents and apple vinegar like bio solvent.

MATERIALS AND METHODS

Extracts preparation

The biological material of this study consists of *Rosa Canina* fruit bearing interest on the peel, these fruits are harvested in November 2016 in Ait Ayach (Zhira). Rural commune

Research Article

An Investigation of Moroccan Vinegars: Their Physicochemical Properties and Antioxidant and Antibacterial Activities

Driss Ousaaid¹, Hamada Imtara^{1,2}, Hassan Laaroussi¹, Badiaa Lyoussi¹, and Ilham Elarabi¹

¹Laboratory of Natural Substances, Pharmacology, Environment, Modeling, Health and Quality of Life (SNAMOPEQ), Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, University Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fez, Morocco

²Faculty of Arts and Sciences, Arab American University Palestine, P.O. Box 240, Jenin, State of Palestine

Correspondence should be addressed to Driss Ousaaid; driss.ousaaid@usmba.ac.ma

Received 9 December 2020; Revised 20 January 2021; Accepted 31 January 2021; Published 10 February 2021

Academic Editor: Antimo Di Maro

Copyright © 2021 Driss Ousaaid et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Vinegar is a natural product rich in bioactive compounds such as phenols, flavonoids, and organic acids. Several factors affect the quality of vinegars such as apple origin, environmental conditions, production methods, processing, and storage conditions. We investigated the quality of apple vinegars as well as their physicochemical properties and the antioxidant and antibacterial activities of vinegars collected from different areas in Morocco. For physicochemical properties, the outcomes showed the following values: pH (3.18–3.83), electrical conductivity (2.11–2.90), acidity (0.24–5.6), Brix (3.25–6), and density (1.0123–1.0233). The polyphenols content of samples was 68.91 mg AG/100 mL in sample S6 as the minimum value and 147.54 mg AG/100 mL in sample S2 as the maximum value. The best ability to scavenge the DPPH radical was observed in sample S3 ($IC_{50} = 0.45 \pm 0.013 \mu\text{L/mL}$). Sample S2 showed moderate antibacterial effect against microorganisms tested with MICs ranging from 0.78 $\mu\text{L/mL}$ to 1.125 $\mu\text{L/mL}$ and with a diameter of inhibition ranging from 15.65 mm to 27.65 mm. In addition, a strong correlation was observed between the antibacterial activity of vinegars and physicochemical parameters (pH and total acidity). These outcomes have shown that our vinegar samples are an excellent source of bioactive compounds with potent antioxidant and antibacterial potentials.

1. Introduction

Apple vinegar is an important source of therapeutic molecules. It is known for its antibacterial and antioxidant activities as it contains significant amounts of bioactive-derivate compounds which play a major role in the treatment of bacterial infections [1–3].

Vinegar has a long history in Moroccan folk medicine; it has been used as a food condiment, as a preservative agent to maintain food color and quality, it is also used as an ingredient to remove odors, and, sometimes, as a healthy drink [4, 5]. In addition, vinegar has various biological properties such as antidiabetic and antioxidant antimicrobial effects [6–8]. It possesses an antibacterial property due to its content of organic acids, mainly acetic acid [9]. Many organic acids are found naturally in apple

vinegar in moderate concentrations which have no side effects on the health of consumers [9–11], such as acetic, lactic, ascorbic, citric, malic, propionic, succinic, and tartaric acids. Moreover, several studies have shown that organic acids destroy the outer membrane of bacterial cells, inhibit macromolecular synthesis, consume energy, and increase intracellular osmotic pressure of bacteria [12].

To our knowledge, no previous study aimed at a detailed characterization of Moroccan vinegars. Therefore, the main objective of this work was to investigate the physicochemical properties, the phytochemical content of apple vinegars purchased from different regions in Morocco, and their antioxidant and antibacterial activities for better evaluation of the quality of our vinegars.

Research Article

Beneficial Effects of Apple Vinegar on Hyperglycemia and Hyperlipidemia in Hypercaloric-Fed Rats

Driss Ousaaid , Hassan Laaroussi , Meryem Bakour , Asmae ElGhouizi ,
Abderrazak Aboulghazi, Badiia Lyoussi , and Ilham ElArabi 

Laboratory of Natural Substances, Pharmacology, Environment, Modeling, Health and Quality of Life (SNA MOPEQ), Faculty of Sciences Dhar ElMahraz, University Sidi Mohamed Ben Abdallah, Fes, Morocco

Correspondence should be addressed to Driss Ousaaid; driss.ousaaid@usmba.ac.ma

Received 5 February 2020; Revised 17 June 2020; Accepted 2 July 2020; Published 13 July 2020

Academic Editor: Virginia Boccardi

Copyright © 2020 Driss Ousaaid et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The main objective of this study is to determine the effects of apple vinegar on the metabolic changes caused by hypercaloric diet in Wistar rats. Apple vinegar was first analyzed to find out the total acidity, the polyphenolic and flavonoid contents, the total antioxidant capacity, and the free radical scavenging activity. *In vivo* study on adult male and female Wistar rats was conducted by administering a drink containing either 10% D-glucose or water (control) for five weeks. Apple vinegar is administered daily by gavage (2 mL/kg) to rats fed D-glucose for 5 weeks. The results showed that the polyphenolic content in apple vinegar was 148.02 ± 10.16 mg GAE/100 mL, flavonoid content was 22.93 ± 0.73 QE/100 mL, and total antioxidant capacity was 13.4 ± 0.47 mg AAE/100 mL. Free radical IC_{50} apple vinegar scavenging activity (DPPH) was 0.74 ± 0.154 μ L/mL. The total acidity was (3.24 ± 0.02) mg AAE/100 mL. The treatment during five weeks with D-glucose leads to increased plasma glucose, lipid profile, hepatic enzyme levels, urea, and creatinine. Simultaneous treatment with apple vinegar improves the parameters studied. These results clearly show that the daily consumption of vinegar can reduce the rise in blood sugar and lipid profile induced by hypercaloric diet in rats. Therefore, the use of apple vinegar would have a very beneficial effect in the prevention of metabolic disorders caused by high-caloric food.

1. Introduction

Traditionally, the role of diet has been to provide the energy and essential nutrients to support different physiological functions of the body. However, over the years, the role of diet has changed; food is increasingly called upon to provide physiological benefits in terms of management and disease prevention [1]. The changes in lifestyle food (fast food, increased caloric consumption, stored food, and physical inactivity), among others, are key elements facilitating the installation of the metabolic disorders and the onset of many pathologies. Our current feeding is therefore represented by significant carbohydrate contributions. The increase in sugar consumption is related to the accentuation in the prevalence of obesity and insulin resistance predisposing to type 2 diabetes [2].

The hypercaloric diet (HCD) is the principal factor which causes the development of metabolic risk factor of cardiovascular diseases, hypercholesterolemia, hypertension, hyperglycemia, type 2 diabetes, and some cancer types [3–5]. Investigations have shown that chronic glucose feeding induces hypertension, insulin resistance, hyperglycemia, and higher vascular oxidative stress [6–9].

Hyperglycemia is often associated with serious complications such as lipid profile alteration, insulin resistance, liver toxicity, renal dysfunction, retinopathy, and cardiovascular diseases [10, 11]. Effective methods to reduce the onset of diabetes include the control of postprandial hyperglycemia, hyperlipidemia, and the inhibition of lipid and carbohydrate hydrolyzing enzymes [12]. This hyperglycemia represents a key factor for the development of oxidative stress and reactive oxygen species (ROS) [13].



Etude des paramètres physico-chimiques et de l'activité antioxydante de trois vinaigres de cidre traditionnels issus de trois variétés de pomme de la région de Midelt au Maroc

Driss Ousaid¹, Ismail Mansouri², Mouad Rochdi², Badiaa Lyoussi¹ et Ilham El Arabi¹

1- Laboratoire de Pharmacologie Physiologie et Santé Environnementale. Faculté des sciences Dhar El Mahraz, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc.

2- Laboratoire d'écologie fonctionnelle et Environnement. Faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc.

Résumé-





Le vinaigre était connu par la plupart des anciennes civilisations. Il est utilisé comme condiment, comme agent de conservation ou, dilué dans l'eau, comme boisson. Ce bioproduit est obtenu exclusivement par procédé biotechnologique d'une double fermentation (alcoolique et acétique) de liquides ou d'autres substances agricoles. Dans notre étude on s'intéresse à trois vinaigres de cidre produits à partir de trois variétés de pomme : VCP1 (*RédDélucious*) VCP2 (mélanges de trois variétés *RédDélucious*+ *Golden Délucious*+*starkrimson*) et VCP3 (*Golden Délucious*). Les résultats d'analyses de quelques paramètres physico-chimiques et biochimiques montrent que les vinaigres étudiés se caractérisent par un pH acide, des teneurs importantes en matières sèches, une conductivité électrique élevée et une forte concentration en sel minéraux avec une prédominance de K⁺ dont le taux maximal (41,86 mg/l) se trouve dans la variété de vinaigre VCP2. La présente étude révèle également une teneur en acidité totale de 4,35±0,69% pour la variété VCP1. La teneur la plus élevée en polyphénols de l'ordre de 2,02±0,05 mg EAG/L est déterminée chez la variété VCP1 et celle de l'activité antioxydante est de l'ordre de 19,48±2,01 mg EAA/ml chez la même variété de vinaigre VCP1.

Mots clés : Vinaigre de cidre de pomme, polyphénols totaux, activité antioxydante totale, paramètres physicochimiques, Midelt.

Study of physico-chemical parameters and antioxidant activity of three traditional apple cidre vinegars from three apple varieties of the Midelt area in Morocco

Review

Fruits Vinegar: Quality Characteristics, Phytochemistry, and Functionality

Driss Ousaïd ¹, Hamza Mechache ^{2,*}, Hassan Laaroussi ¹, Christophe Hano ³, Meryem Bakour ¹, Asmae El Ghouti ¹, Raffaele Conte ⁴, Badiaa Iyousaf ¹ and Ilham El Arabi ¹

- ¹ Laboratory of Natural Substances, Pharmacology, Environment, Modeling, Health, and Quality of Life, Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, University Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fer. B.P. 1796, Morocco; driss.ousaid@univ-bordj.ac.ma (D.O.); hassan.laaroussi@univ-bordj.ac.ma (H.L.); meryem.bakour@univ-bordj.ac.ma (M.B.); asmae.elghouti@univ-bordj.ac.ma (A.E.G.); iyousaf@gmail.com (B.I.); ilham.elarabi@gmail.com (I.E.A.)
- ² Laboratory of Inorganic Chemistry, Department of Chemistry, University of Helsinki, P.O. Box 55, FI-00014 Helsinki, Finland
- ³ Laboratoire de Biologie des Agresseurs et des Grandes Cultures, INRAE USC1328, University of Orleans, CHDIX 2, 45067 Orleans, France; christophe.hano@univ-orleans.fr
- ⁴ Research Institute on Terrestrial Ecosystems (IRET)—CNR, Via Pietro Castellino 131, 80131 Naples, Italy; Raffaele.conte@iscalt.it
- * Correspondence: hamza.mechache@helsinki.fi



Citation: Ousaïd, D.; Mechache, H.; Laaroussi, H.; Hano, C.; Bakour, M.; El Ghouti, A.; Conte, R.; Iyousaf, B.; El Arabi, I. Fruits Vinegar: Quality Characteristics, Phytochemistry and Functionality. *Molecules* **2022**, *27*, 222. <https://doi.org/10.3390/molecules27010222>

Academic Editor: Natalia Miao

Received: 24 November 2021

Accepted: 26 December 2021

Published: 30 December 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The popularity of fruits vinegar (FvV) has been increased recently as a healthy drink wealthy in bioactive compounds that provide several beneficial properties. This review was designed in the frame of valorization of fruits vinegar as a by-product with high value added by providing overall information on its biochemical constituents and beneficial potencies. It contains a cocktail of bioactive ingredients including polyphenolic acids, organic acids, tetramethylpyrazine, and melanoidins. Acetic acid is the most abundant organic acid and chlorogenic acid is the major phenol in apple vinegar. The administration of fruits vinegar could prevent diabetes, hypercholesterolemia, oxidative stress, cancer, and boost immunity as well as provide a remarkable antioxidant ability. The production techniques influence the quality of vinegar, and consequently, its health benefits.

Keywords: fruits vinegar; bioactive compounds; quality characteristics; biological properties; vinegar production

1. Introduction

Fruits vinegar (FvV) is a popular natural product with multiple use purposes. It is remarkably appreciated and included in many people's daily diet [1–3]. Fruits fermentation produces a bio liquid that contains several functional molecules [4,5] such as organic acids [5,6], polyphenols [7,8], melanoidins [9,10], and tetramethylpyrazine [11,12]. The production technique used has an impact on the quality of vinegar, while the vinegar-making process plays an important role in the removal and/or formation of new components. The traditional technique promotes the development of aroma and flavor due to the slow process of production [4,13,14].

Polyphenols and organic acids, mainly acetic acid, plays an important role in the beneficial properties provided by fruits vinegar [15]. Previously, it is shown that the administration of apple vinegar curbs the installation of hyperglycemia and hyperlipidemia induced by hypercaloric fed enriched in D-glucose in male and female rats [16]. Clinical studies demonstrated that apple vinegar regulates gene expression via the Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) pathway [17–19], and control blood glucose and lipids levels [19]. Interestingly, it contains a wide range of functional substances that exert their effects in synergy [3,20,21]. This review aimed to formalize the chemical composition of FvV and its therapeutics application scientifically proved.

Research Article

Antifungal and Antibacterial Activities of Apple Vinegar of Different Cultivars

Driss Ousaaid¹, Hassan Laaroussi¹, Meryem Bakour¹, Hayat Ennaji²,
Badiaa Lyoussi¹, and Ilham El Arabi¹

¹Laboratory of Natural Substances Pharmacology Environment Modeling Health and Quality of Life,
Faculty of Sciences Dhar El Mahraz, Sidi Mohamed Ben Abdellah University, Fez, Morocco

²Division of Microbiology and Hygiene Products and Environment, Pasteur Institute, Casablanca, Morocco

Correspondence should be addressed to Driss Ousaaid; driss.ousaaid@usmba.ac.ma

Received 4 June 2021; Revised 27 July 2021; Accepted 3 August 2021; Published 9 August 2021

Academic Editor: Giuseppe Comi

Copyright © 2021 Driss Ousaaid et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

This study was designed to assess the antimicrobial potencies of apple vinegar against pathogenic microbes. The acidity and total phenolic content were carried out by titration with NaOH 0.1 N and the Folin-Ciocalteu method, respectively, while the spread plate method, agar well diffusion, and MIC assays were used to determine the antimicrobial activities of different vinegar samples. Acidity and phenolic content were dependent on the variety, where the highest values were observed in S2 with $4.02 \pm 0.04\%$ and 1.98 ± 0.05 mg GAE/mL for acidity and total phenolic content, respectively. The spread plate method revealed that samples S1 and S2 obtained from the *Red delicious* variety and *Golden delicious* variety, respectively, inhibit the growth of all tested strains, while S3 obtained from different varieties and S4 obtained from the *Gala royal* variety inhibit only two microbes (*Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*). Sample S1 presented moderate antimicrobial effect against all examined strains with a diameter of inhibition ranging from 11 ± 0.7 to 19 ± 0.5 mm and with MIC values ranging between 1/2 and 1/100. The findings of the current study confirm the usefulness of apple vinegar as a natural sanitizer that inhibits the growth of pathogenic microbes.

1. Introduction

The development of different methods used to produce food products is closely related to the reduction of infections caused by microorganisms. Moreover, food-borne epidemics continue to be a major public health problem. The profuse use of chemical antibacterial agents is harmful to human health and enhances the incidences of drug-resistant pathogens [1]. Natural products are healthy and safe products that offer antimicrobial effects and antioxidant properties simultaneously [2, 3].

Apple vinegar provides several pharmacological effects, for instance, antidiabetic effect [4–6], anti-Alzheimer effect [7], and antioxidant properties [2]. In addition, the administration of apple vinegar controls body weight gain and enhances glucose tolerance [8]. In experimental trials, the ability of apple vinegar as a natural product has been proved against human pathogens [9]. Thereafter, the sanitizing properties of vinegar have been reviewed in several studies.

They reported that apple vinegar has an inhibitory effect against different bacterial strains such as *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, and *Acinetobacter* [10, 11]. The remedial properties of apple vinegar are ascribed to its organic acids and its bioactive substances. It has been shown that organic acids pass into bacterial membranes which increases the synthesis of antimicrobial peptides, increases intern osmotic pressure, stimulates the consumption of energy, and sabotages macromolecular synthesis [12]. In addition to organic acids, apple vinegar contains other bioactive compounds that proved their antimicrobial potencies such as phenolic acids and flavonoids [3, 13–17].

In this vision, the present study was designed to determine the acidity and the phenolic content of different