



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بو عريريج

Université Mohamed El -Bachir El Ibrahim BAA

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des sciences biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire

Intitulé

Analyse physicochimique et propriétés antioxydantes de jus de
fruits (orange, citrons et cocktail)

Présenté par : BADAOUI Wardaet BARCHI Yasma

Devant le jury :

Président :	Mr BOUBELOUTA. T	MCA	Univ Bordj Bou Arreridj
Examineur	Mm' MOHAMMEDI. S	MAA	Univ Bordj Bou Arreridj
Encadreur :	Mr TOUATI. N	MCA	Univ Bordj Bou Arreridj

Année universitaire : 2018 /2019

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Introduction 1

Partie bibliographique

I. Généralités sur les agrumes 2

II. Oranges 2

II.1. Définition de l'orange 2

II.2. Les différentes variétés d'oranges 3

II.3. Production 3

II.4. Composition chimique 4

II.5. Intérêts nutritionnel et thérapeutiques 5

III. Citron 6

III.1. Définition 6

III.2. Les variétés de citron 6

III.3. Production 7

III.4. Composition chimique 7

III.5. Utilisation et effets thérapeutiques 8

I. Le Stress oxydatif 9

I.1. Définition 9

I.2. Conséquences du stress oxydant 9

I.3. Maladies liées au stress oxydant 10

II. Antioxydants 11

II.1. Définition 11

II.2. Différents types d'antioxydants : 11

II.2.1. Selon l'origine 11

II.2.2. Selon le mode d'action 11

II.3. Antioxydants des fruits.....	12
II.3.1. Caroténoïdes	12
II.3.2. vitamine C.....	12
II.3.3. Composés phénoliques	13
<u>Partie expérimentale</u>	
I. Matériel et Méthodes	15
I.1. Echantillons	15
I.2. Détermination des paramètres physicochimique.....	15
I.2.1. Potentiel d'hydrogène	15
I.2.2. Degré de brix.....	15
I.2.3. Acidité titrable	15
I.3. Préparation des extraits éthanoliques	15
I.4. Dosage des antioxydants et l'évaluation de l'activité anti-radicalaire	15
I.4.1. Polyphénols totaux.....	15
I.4.2. Dosage des flavonoïdes :	16
I.4.3. Activité anti-radicalaire	16
I.5. Evaluation sensorielle.....	17
I.6. Analyse statistique.....	17
II. Résultats et discussion	18
II.1. Potentiel d'hydrogène	18
II.2. Degré de Brix	18
II.3. Acidité titrable.....	19
II.4. Antioxydants et activité anti-radicalaire	20
II.4.1. Polyphénols totaux	20
II.4.2. Flavonoïdes totaux.....	21
II.4.3. Activité anti-radicalaire	21
II.5. Analyse sensorielle.....	22
Conclusion.....	24
Références bibliographiques	33
Annexes	30

Remerciements

Avant tout, on remercie Dieu le tout puissant, de nous avoir donné le courage, la force, la persistance et de nous avoir permis de finaliser ce modeste travail dans de meilleures conditions.

*On tient à remercier notre promoteur **Dr. Touati N**, pour l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant ce travail, pour son aide et ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce mémoire de fin de cycle.*

*On adresse nos remerciements les plus sincères au **Dr Boubelotta. T** pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider ce jury.*

*On tient à remercier profondément **Mm Mohammedi**, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Par ailleurs, on tient à remercier tous nos enseignants qui ont contribué à notre formation.

Merci

Dédicaces

Avec l'aide de dieu le tout puissant qui m'a éclairé les chemins du savoir, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

*A ma chère mère Saben Zineb et A mon cher père Saleh
Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

*A ma chère sœur Hayat que je considère comme une deuxième mère et a son mari Mezhoud Bachir ainsi qu'à ma chère sœur Ablaet et son mari Bouchelal Adel. Aussi à ma petite sœur Semoura.
A mes frères : Nassredine, Toufik, Faouzi, Fatah et leurs Femmes : Lamia, Fatiha, Kahina et Mona, respectivement.*

Qui m'ont toujours soutenus, et encourager tout au long de mon parcours Que Dieu les garde.

A mes amies Yasma, Faten, Amina, Amira, Cheyma, Maliya, Manel, Fadila, Meriem, Ratiba, Chahra, Ahlem, en particulier tous ceux qui m'ont procuré aide et réconfort durant la réalisation de ce travail,

Enfin à tous ceux qui m'aiment et qui ont une place dans mon cœur.

Warda

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ma famille qui a partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail et qui,

La femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : Monadorable mère

Fatiha Belguendouz.

L'homme à qui je dois ma vie, ma réussite :m'a doté d'une éducation digne ; son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.Moncher père Ahmed BARCHI

Mon cher frère Ferhatqui n'a pas cessé de me conseiller, de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que dieu les protège et lui offre la chance et le bonheur.

Mon adorable petit frère Brahim qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

Mes grand-mères et pères, mes tante (sur tout Samira) et mes oncles que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

A mon cher binôme pour son entente, sa sympathie, sa compréhension et sa patience infinie.

A tous mes amis, surtout Saida. A et Tibouche.A ; Benkhanouf. K ; nawel. B ; Bensaad. D ; Manel; Adla; et atous mes collègues, qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.

A tous ceux qui qui m'ont soutenu et épaulé pour que je puisse atteindre mes objectifs.

Yasma

Liste des figures

Figure 1 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	9
Figure 2 : Oxydation d'acide ascorbique en acide dehydroascorbique .. Erreur ! Signet non défini.	
Figure 3 : Potentiel d'hydrogène des jus analysés	18
Figure 4 : Degré brix des jus analysés	19
Figure 5 : Acidité titrable des jus analysés.....	19
Figure 6 : Teneurs en polyphénols totaux des jus analysés.....	20
Figure 7 : Teneurs en flavonoïdes totaux des jus analysés	21
Figure 8 : L'activité anti-radicalaire des jus analysés	22
Figure 9 : Scores de l'analyse sensorielle des jus analysés	23

Liste des tableaux

Tableau I : Les caractéristiques d'orange	3
Tableau II : Principaux composés d'orange	5
Tableau III : Production orange	4
Tableau IV : Les caractéristiques de citron.....	6
Tableau V : Composition biochimique moyenne dans 100 g de citron	8
Tableau VI : Les grands producteurs de citron et lime da monde	7

Liste des abréviations

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AFNOR: Association Française de Normalisation.

AGPI : Acide gras poly-insaturé

AGPI : acides gras poly-insaturés

CODEX STAN: Codex Standard.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG: Equivalent d'Acide Gallique

ERO: espèces réactive d'oxygène

FAO : Organisation Des Nations Unies Pour L'alimentation Et L'agriculture

HO• : Radical hydroxyle

MPO :myeloperoxydase

MS : Matière Sèche

NaOH: Hydroxyde de sodium.

O₂••: Anion superoxyde

OMS: organisation mondiale de santé

ppds: La plus petite différence significative

RO• : Radical alkoxyde

ROO••: Radical peroxyde

Résumé :

Les citrus comme d'autres fruits et légumes sont une source importante de différents antioxydants ayant un effet bénéfique sur la santé. L'objectif de la présente étude est d'évaluer l'effet dumélange sur le potentiel antioxydant et la qualité sensorielle. Pour ce, là les paramètres physicochimiques (pH, degré brix et acidité titrable), les substances anti oxydantes (poly phénols et flavonoïde totaux) et l'activité anti-radicalaire sont utilisés comme indicateur afin de répondre à la problématique posée. Les résultats nous ont permis de conclure que l'ajout d'une quantité minimale de jus de citron au jus d'orange améliore la qualité du jus d'orange.

Mots clés : Jus d'orange, citron, cocktail, antioxydant, qualité sensorielle

Abstract

Citrus fruits and other fruits and vegetables are an important source of various antioxidants with a beneficial effect on health. The objective of this study is to evaluate the effect of the mixture on antioxidant potential and sensory quality. For this reason physicochemical parameters (pH, Brix degree and titrable acidity), antioxidant substances (total polyphenols and flavonoid) and anti-radical activity are used as an indicator to answer the problematic. The results concluded that adding a minimum amount of lemon juice to orange juice improves the quality of orange juice.

Keywords: Orange juice, lemon, cocktail, antioxidant, sensory quality

الملخص

تعد ثمار الحمضيات وغيرها من الفواكه والخضروات مصدرا هاما لمضادات الأكسدة المختلفة التي لها تأثير مفيد على الصحة. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير الخليط على الإمكانيات المضادة للأكسدة والجودة الحسية. لهذا الغرض، تم استخدام المعلمات الفيزيائية والكيميائية (درجة الحموضة ودرجة برکس وحموضة المعايرة) والمواد المضادة للأكسدة (مجموع متعدد الفينولات والفلافونويد) والنشاط المضاد للجذور كمؤشر للرد على المشكلة. وخلصت النتائج إلى أن إضافة الحد الأدنى من عصير الليمون إلى عصير البرتقال يحسن من جودة عصير البرتقال.

الكلمات المفتاحية: عصير البرتقال، الليمون، المزيج، مضادات الأكسدة، الجودة الحسية

Introduction

Introduction

Le stress oxydatif est impliqué dans un large spectre de maladies qui ont un impact énorme sur la santé des populations. Ces maladies à l'origine du stress oxydatif sont dues généralement suite à la production excessive des espèces réactive d'oxygène (ERO) où ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants

Pour cela un grand nombre de recherches sur différents fruits, y compris les agrumes, a démontré récemment que les polyphénols des agrumes disposent de plusieurs applications thérapeutiques, les études épidémiologiques prouvent que la consommation de l'orange et le citron peuvent protéger la santé contre différentes maladies grâce à leur richesse en diverses molécules antioxydantes dont l'acides ascorbique, les caroténoïdes et les polyphénols (Kim et al. 2002). Suite à cette richesse, l'extraction des composés phénoliques à partir des agrumes a considérablement attiré l'intérêt scientifique pour les utiliser comme des antioxydants naturels, conservateurs principalement dans les aliments mais aussi dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (Ramful et al. 2010).

Les agrumes sont utilisés dans la fabrication de divers aliments telle que le jus dont le jus d'orange et le jus de citrons sont les jus prédominant fabriqué par l'industrie agroalimentaire dans le monde entier et ils sont consommés en quantités relativement élevées dans de nombreux pays, en raison de sa saveur, de son agréable goût et de son arôme distinctifs, ainsi que la présence d'importants bioactifs composés (Peterson et al. 2006)

Notre travail vise à étudier les composés phénoliques des fruits de ces deux espèces de citrus, et d'évaluer leur potentiel antioxydant attribuable aux substances antioxydantes.

Le présent mémoire est composé de deux parties : La première, étant une partie bibliographique, ont rapporté quelques généralités sur les agrumes (orange et citron) ainsi que le procédé de fabrication de leur jus. Dans la deuxième partie, expérimentale, elle renferme le matériel et méthodes utilisés ainsi que les résultats engendrés et leur discussion. L'ensemble est terminé par une conclusion et quelques perspectives.

Partie bibliographie

Chapitre I

Les agrumes

I. Généralités sur les agrumes

La culture des agrumes a été pratiquée il y a au moins 4000 ans dans les régions tropicales et subtropicales du continent asiatique et de l'archipel malaisien (Dugo et Di Giacomo, 2002 ; Batchelor and Sinclair, 1961). Le commerce, les guerres et l'émigration, associés au parfum et à la saveur attrayants du fruit ; ont entraîné la diffusion des agrumes au début du Moyen âge dans le Moyen-Orient et le Bassin méditerranéen, grâce au Arabes andalou ; dont le mot « orange » provenant de l'arabe « narandj » aussi bien que eux qui emploient le mot « Tchina », indiquant l'origine orientale du fruit. Et beaucoup plus tard vers l'Amérique et l'Australie grâce à (Christophe Colomb). Ces fruits sont universellement populaires en raison de leur saveur, de leur goût et de leurs arômes distinctifs, ainsi que de leurs nombreux avantages pour la santé (Choi Et al., 2007). Actuellement, on trouve des Citrus cultivés dans toutes les parties du monde jouissant d'un climat sans hivers rigoureux, entre les latitudes comprises 40 ° N et 40 ° S. La production des agrumes est la deuxième plus importante au monde avec une production algérienne équivalente de 14 millions de quintaux en 2018

Le terme agrumes, agrios ou citricos en espagnol, provient du latin *acrumen* (aigre), qui signifie dans l'antiquité la saveur âcre (acide) (Ladaniya, 2008 ; Khan et al, 2010 ; Davies and Albrigo, 1994). Les agrumes se répartissent en plusieurs genres dont *Poncirus*, *Fortunella* et *Citrus*. Dans ce dernier qu'appartiennent les principales espèces cultivées, à savoir : *Citrus reticulata* (Mandarinier), *Citrus clementina* (clémentinier), *Citrus grandis* (Pomplemoussier), *Citrus medica* (Cédratier), *Citrus aurantium* (bigaradier), *Citrus sinensis* (Oranger) et *Citrus limon* (Citronnier). Dans notre partie pratique, nous allons nous intéresser aux deux derniers genres

II. Oranges

II.1. Définition de l'orange

Orange se dit « larenja » au Portugal, « tchina » dans les pays de Maghreb, « portokal » en Grèce. Elle est un agrume qui peut être aussi appelé hesperidium ; L'hesperidium diffère de fruits comme la tomate ou le raisin car il possède une peau dure et solide qui protégé la partie comestible du fruit (Davies et Albrigo, 1994). L'orange (*Citrus sinensis*) est le fruit d'oranger, est une baie cortiquée, charnus, de forme sensiblement sphérique ou ovoïde, légèrement aplatie à la base de la tige et à l'opposé. Elle est fragile, quand elle est trop mure pourrit facilement, elles se conservent parfaitement de

01 à 05 mois à des températures comprises entre 2 à 5 c° et une humidité de 80 à 90%.les caractéristique de orange sont résumé dans le tableau ci-dessous.

Tableau I :Les caractéristiques d'orange

Parties de Fruit		Caractéristique
Écorce	Épicarpe	colore en orange
	Mésocarpe	partie interne colore blanchâtre
Pulpe		Juteuse diffère en couleur et en acidité selon les variétés représente 50 à 80% du fruit
Les pépins		représentent de 0 à 4%,

II.2. Les différentes variétés d'oranges

L'orange est l'espèce de citrus la plus importante ; On distingue 03 groupes de variétés :

- **L'oranges navel** : elles se caractérisent par une excroissance plus au moins prononcée appelée ombilic, « navel-ombilic en anglais », et par une absence de pépins, leur chair est peucroquante, juteuse et parfumée, on les pèle facilement et se sont d'excellenteorange à déguster.
- **Les oranges blondes** : leur chair est orange clair ou moyen, avec peu ou pas de pépinsparfumes et très juteuses, ce sont des oranges à jus, on trouve la Shimoti en provenance de Palestine.
- **Les oranges sanguines** : leur pulpe est rouge ou rouge violacée, couleur dueàl'abondance des pigments, elle est très juteuse et acidulée, parfois de saveur légèrement masquée, on letrouve dans la saison de « décembre à mai » pour la maltaise provenance de Tunisie, et « novembre àavril » pour le marro, taroco originaire de l'Italie.
- **la Washington sanguine** : en provenance d'Espagne,on le trouve dans la saison de « février à avril »(Loussert, 1989).

II.3. Production

L'orange fait partie des fruits les plus importants sur le plan commercial lorsqu'au début de siècle elle a été considérée comme fruit exotique. Selon les données de l'[USDA \(Département américains de l'agriculture\)](#), la production mondiale d'orange (*Citrus sinensis*) représente 54% de la production globale des agrumes pour l'année 2016/2017.

La région Méditerranéenne est le premier producteur dans le monde, suivi par le Brésil. L'Inde, les Etats-Unis, l'Espagne et le Mexique occupent respectivement, la 2^{ème}, 3^{ème}, 4^{ème}, 5^{ème} et 6^{ème} place (ONGARI, 2018).

La production Algérienne d'agrumes pour l'année 2016 est estimée de 13724000 tonnes, dont. Elle occupe la 2^{ème} place dans la région nord-africaine et la 4^{ème} dans la région méditerranéenne selon des études préliminaires pour l'année 2016 /2017 (FAO, 2017).

Tableau II: Production orange (FAO 2017)

Pays	production d'orange (tonne)
Mondial	66 974.1
Région Méditerranéenne	14 654.8
Brésil	14 350.0
Chine	7 000.0
Inde	6 850.2
USA	5 371.0
Espagne	3 641.4
Mexique	3 535.0
Algérie	1 025.5

II.4. Composition chimique

Les oranges sont des fruits juteux par excellence, elle est riche en eau (plus de 85%). Cette eau de constitution contient, sous forme dissoute, la plupart des éléments nutritifs (Berlinet, 2008). Elle contient 23 éléments nutritifs essentiels, y compris les glucides (40% de saccharose), de la vitamine C, vitamines PP, B1, B2, B3, B9, E, provitamine A. Riche en calcium, fer, phosphore, et également des protéines, de l'acide citrique, et les poly phénols (Sabri, 1980).

Tableau III : Principaux composés d'orange

Constituants	Teneurs
Acides Organiques	8.5 à 12 % dans le fruit à maturité, représenté par le saccharose (40%)
Autre Composés Energétiques	Lipides concentrés dans les pépins, peu de protéines
Vitamine	Vitamine c (40 à 80 mg pour 100 g) Vitamines hydrosolubles qui sont toutes des vitamines du groupe B (B1 et B9, en particulier) Vitamine A (0.05 à 0.2 mg pour 100g) Vitamine E (0.24 mg pour 100g)
Oligo-Eléments	Fer, cuivre, zinc, Manganèse, Nickel, Iode, Trace de Bore et Sélénium
Fibres	Une teneur de 2.4 % en moyenne, elles ont l'originalité d'être riche en pectine (environ 50%)
Flore Mésophiles	Levures et lactobacilles indispensable à sa bonne digestion
Substances Aromatique	Ce sont des composés complexes caractéristiques de ce fruit (aldéhydes, esters.....etc), des essences es odorantes
Glucides	8.5 à 12 % dans le fruit à maturité, représenté par le Saccharose (40%)
Pigments	Donnent à la pulpe sa couleur plus ou moins marquée jaune orangé pour les flavonoïdes et les caroténoïdes, Jaune pour les xanthophylles, rouge ou rouge violacé pour les anthocyanes.

II.5. Intérêts nutritionnel et thérapeutiques

La saveur amère et aromatiques de la pulpe d'oranges amères ouvre l'appétit et facilite la digestion. La pulpe d'orange fraîche est utilisée pour traiter les maladies de la peau (l'acné) et pour les soins du visage (Valnet, 2001). Par ailleurs ; elle aide à fixer le calcium sur les os, et évite l'apparition de maladies tel que le scorbut et le Barlow

III. Citron

III.1. Définition

Les citrons (*Citrus limonia*) font partie de la vaste famille des *Rutaceae* originaire du bassin méditerranéen, (Gollouin et Tonelli, 2013). Le fruit de citronnier est une baie cortiquée. Selon les espèces, la fleur se transforme en fruit mur, de forme ronde, allongée ou ovale (8 à 12 cm de long sur 5 à 6 cm de diamètre), présentant un téton à une extrémité et quelquefois à chaque extrémité (Espirad, 2002). Il reste longtemps sur l'arbre sans que le goût s'altère (Bachés, 2011). Les caractéristiques de citron sont résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau IV: Les caractéristiques de citron

Partie de Fruit		Caractéristique
Écorce	Épicarpe	Jaune très odorantes, remplis de l'huile essentielles réparties de façon très irrégulière (Ladaniya, 2008 ; Bachés, 2011).
	Mésocarpe	couleur blanchâtre d'épaisseur variable (Ladaniya, 2008).
Pulpe		Juteuse et très acide représente 50 à 80% du fruit (Ladaniya, 2008).
Pépins		quelques pépins

III.2. Les variétés de citron

Parmi les innombrables variétés de citron que vous pouvez trouver sur les marchés voici les plus courantes :

- **Primofiori** : d'Octobre à décembre, forme ovale, peau fine, pulpe très juteuse.
- **Internado** : de Septembre à octobre, fruit de grande taille, peau très fine, pulpe juteuse et acide, pas de pépins.
- **Verna** : durant toute l'année, fruit de couleur jaune intense, peau rugueuse et épaisse, pas de pépins, peu acide.
- **Eureka** : Cultivé durant quatre saisons, forme ovoïde, un zeste difficile à prélever, juteuse et très acide (Espirad, 2002).

III.3. Production

Selon FAO (l'organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture des Nations Unies), en 2017, l'Inde, la Chine, le Mexique, le bassin Méditerranéen étaient les plus grands producteurs au monde des citrons et des limes. L'Algérie disposait d'une superficie plus de 4 365 Ha pour la culture de citron, ([Ministre de l'agriculture et de développement rural, 2012](#)), Le tableau ci-dessous montre les statistiques (en tonne) des sept premiers pays producteurs de citron et lime au monde.

Tableau V : Les grands producteurs de citron et lime da monde

Pays	Production de citron 2016 (tonne)
Mondial	15 981,8
Région Méditerranéenne	3 034,1
Inde	2 613,8
Chine	2 405,9
Mexique	2 270,0
Brésil	1 214,5
Espagne	950,0
USA	847,0
Algérie	93,2

III.4. Composition chimique

Comme les autres agrumes, les feuilles et les fruits très juteux de citron sont des sources de composés naturels, tels que 90% d'eau, fortement acide (pH inférieur à 3), dont l'acidité est due essentiellement à l'acide citrique accompagné de faibles quantités d'acides malique, caféique et férulique. Le citron est un fruit remarquable par sa haute teneur en vitamine C et d'un large éventail de vitamines du groupe B avec des quantités considérables de flavonoïdes (naringosides, hesperidosides) et des polyphénols. Les citrons frais sont faibles en calories et en sucre, mais les fibres (cellulose, hémicelluloses et pectines) représentent 2,1% du poids total. La teneur en protéines ne dépasse pas 1g/100g. Diverses substances minérales ont été identifiées dans le citron, il est riche en calcium, magnésium et potassium qui est le minéral le plus abondant.

Tableau VI : Composition biochimique moyenne dans 100 g de citron (Ciquel, 2013)

Constituant	Teneur moyenne	Constituant	Teneur moyenne
Eau (g)	89.2	Bêta-Carotène (µg)	3
Protéines (g)	0.8	Vitamine E (mg)	0.8
Glucides (g)	2.45	Vitamine c (mg)	53
Lipides(g)	0.3	Vitamine B1 (mg)	0.05
Sucres(g)	2.2	Vitamine B2 (mg)	0.02
Fibres(g)	2	Vitamine B3 (mg)	0.2
Sodium(mg)	<3	Vitamine B5 (mg)	0.19
Magnésium(mg)	8.93	Vitamine B6 (mg)	0.08
Potassium(mg)	149	Vitamine B9 (µg)	11
Calcium(mg)	18	Phosphore (mg)	15.5

III.5. Utilisation et effets thérapeutiques

Diverses études expérimentales ont montré l'existence d'une relation importante entre les flavonoïdes de citron et la diminution de l'oxydation (Gonzalez-Molina *et al.* 2010). Les feuilles de citron sont utilisées conjointement avec d'autres plantes comme le thé et la menthe afin de stimuler la circulation, apporter tonus et vitalité, lutter contre l'anémie et traiter les troubles d'estomac (Whistler, 1997), de l'insomnie et de l'asthme (Okwu and Emenik, 2006). Les écorces et les graines sont employées pour renforcer les défenses immunitaires indispensables, et traiter les maladies dégénératives telles que l'hypertension (Oboh, 2012), le cholestérol, le diabète, l'obésité et quelques cancers. Aussi, il prévient contre le rhumatisme et la thrombose (Manish *et al.* 2013; Ercan *Et al.*, 2011; Tripoli *Et al.* 2007; Ramful *Et al.*, 2011; Del-Rio *Et al.*, 2004; Manthey *et al.*, 2001). Les huiles essentielles de citron est employée depuis l'antiquité par les industries de la parfumerie (Janati *et al.*, 2012).

Chapitre II
Stress oxydatif et
antioxydants

I. Le Stress oxydatif

I.1. Définition

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la quantité excessive de radicaux libres et des antioxydants. Les radicaux libres sont des molécules contenant du dioxygène et sont l'origine du processus naturel de l'oxydation des cellules. En trop grande quantité dans le corps, elles peuvent être nocives pour l'organisme et s'attaquer aux tissus gras, aux protéines, à l'ADN et tous les composants de l'organisme. Lors d'un déséquilibre antioxydants/radicaux libres, le système immunitaire du corps est affaibli et donc les mécanismes de défense du corps sont lésés (Favier, 2003).

Chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant selon ses habitudes alimentaires, son mode de vie, ses caractéristiques génétiques ou l'environnement dans lequel il vit. **La figure 1** montre Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (favier2003)

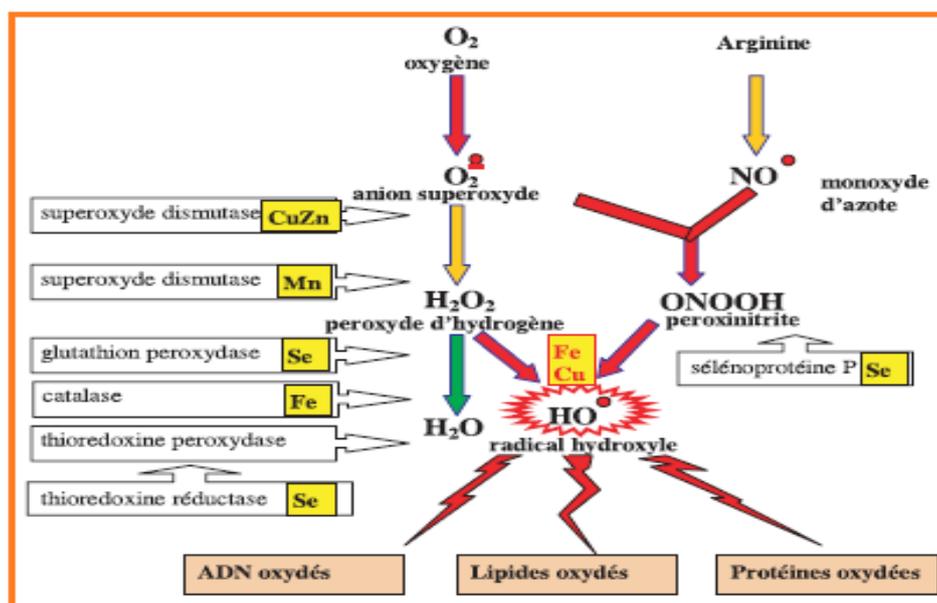


Figure 1 : Mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (Favier2003)

I.2. Conséquences du stress oxydant

Les radicaux libres sont responsables des dommages sur toutes les molécules biologiques comme les lipides, les protéines, les acides nucléiques, ou les hydrates de carbone (Favier, 2003) :

- Au niveau de l'ADN, les radicaux libres peuvent induire des effets oxydatifs et mutagène ou un arrêt des réplifications. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (Shimizu., 2004).
- Les lipides sont une cible privilégiée des radicaux libres. Ceux-ci provoquent en effet l'oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI) des phospholipides membranaires (Principaux constituants des membranes des cellules), mais aussi des organites cellulaires et des noyaux. Ce phénomène est appelé peroxydation lipidique ou lipopéroxydation aboutissant à la formation de LDL oxydées qui sont captées par des macrophages, formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires, l'attaque des phospholipides membranaires modifiant la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux (Favier, 2003).
- Les radicaux libres peuvent aussi agir sur les macromolécules en provoquant des inactivations enzymatiques, des fragmentations de ces molécules (collagène, protéoglycannes, acide hyaluronique) et la formation de dimères ou d'agrégats rotéiniques dans les membranes cytoplasmiques (Shimizu H., 2004).

I.3. Maladies liées au stress oxydant

Le stress oxydatif est potentiellement impliqué dans le développement de plus d'une centaine de pathologies. Parmi ces maladies il y a les maladies chroniques, en particulier les maladies inflammatoires chroniques intestinales, certaines atteintes pulmonaires chroniques comme l'asthme (Reimund 2002), certaines maladies neurologiques à composante inflammatoire comme la maladie d'Alzheimer (Markesbery 1997), la maladie de Parkinson (Jenner 2003). Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies multifactorielles tel que : le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003). Un état de stress oxydatif peut aussi être un facteur déclenchant ou participant au déclenchement de cancers, de problèmes hépatiques (hépatite C, hémochromatose, pancréatite), de reins (glomérulonéphrite), d'articulations, de l'appareil gastro - intestinal (Laight, Carrier et al. 2000), au niveau des vaisseaux sanguins et du cœur), ou encore oculaire. La plupart des maladies induites par le SO apparaissent avec l'âge car le vieillissement est associé à une diminution de la défense antioxydante et augmenterait la production mitochondriale de radicaux libres.

II. Antioxydants

II.1. Définition

Les antioxydants sont des substances qui sont présentes à de faibles concentrations par rapport à un substrat oxydable, capables d'inhiber ou de prévenir son oxydation en limitant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif (Leong *et al.*, 2002).

II.2. Différents types d'antioxydants : Les antioxydants sont classés selon différents leur origine (naturel ou synthétique) et le mode d'action.

II.2.1. Selon l'origine

II.2.1.1. Antioxydants naturels

Ils incluent des espèces chimiques différentes (composés phénoliques, vitamines, etc.) qui sont d'origine végétale pour la plupart (Berger, 2005).

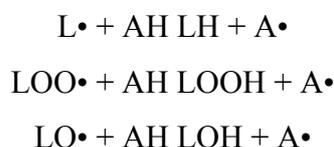
II.2.1.2. Antioxydants synthétiques

Les plus utilisés dans l'industrie agroalimentaire sont : butylatehydroxyanisole (BHA), butylate hydrox toluène (BHT), propylée gallate et le ter butyle hydroquinone. Mais leur emploi est astreint à des règlements rigoureux à cause des soupçons qui planent sur leur toxicité (troubles hépatiques et cancers) (Gulçinet *et al.*, 2004).

II.2.2. Selon le mode d'action

II.2.2.1. Antioxydants primaires

Ils englobent les composés qui interfèrent avec l'auto-oxydation lipidique en convertissant les produits d'oxydation lipidiques (L•, LOO•, LO•) en produits plus stables grâce à leur propriété de donneurs de protons actifs. Le radical (A•) dérive de l'antioxydant se convertit en produit stable :



II.2.2.2. Les antioxydants secondaires

Ce sont des composés qui retardent l'auto-oxydation lipidique selon différents modes d'action soient par absorption des radiations ultraviolettes, inactivation de l'oxygène singulet, chélation des métaux et décomposition des hydro peroxydent.

II.3. Antioxydants des fruits

Puisque les antioxydants ont montré des effets protecteurs dans différentes maladies telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et le vieillissement, dont les plus connus sont les caroténoïdes (surtout le β -carotène), l'acide ascorbique, les tocophérols (vitamine E) et les polyphénols. Ces derniers incluent les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques. Ils sont classés selon leur origine (naturelle ou synthétique), leur nature (hydrosoluble ou liposoluble) et leur mode d'action (primaires ou secondaires). D'autres études ont été entreprises au sujet de leur rapport avec l'alimentation. Telle que les agrumes

II.3.1. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels synthétisés par les plantes et les microorganismes. Dans l'alimentation humaine, les fruits et les légumes sont la source majoritaire de ces composés et sont présents comme des micro-composés responsables de leur couleur jaune, orange ou rouge (Mercadente et al 1998). Ces composés sont des précurseurs de la vitamine A, donnant aux aliments une saveur agréable. De nature lipidique, solubles dans les solvants organiques (acétone, alcool), sensibles à la lumière, au chauffage, aux acides et dans quelques cas aux bases, et protègent contre les UV (Britton, 1983). Le squelette de base des caroténoïdes comprend 40 atomes de carbone formé de 8 unités d'isoprène. Les différents caroténoïdes sont dérivés par des modifications de la structure de base par cyclisation des groupes terminaux et par l'introduction des fonctions oxygénées qui leur confèrent leur couleur caractéristique et leurs propriétés antioxydantes (Britton, 1983).

II.3.2. vitamine C

La vitamine C connue aussi sous le nom d'acide ascorbique est un élément nécessaire à la vie humaine. Elle est utilisée comme additif dans plusieurs aliments pour ses propriétés anti oxydantes (Burdurluet al., 2006). L'acide ascorbique est un composé ayant une structure apparente à celle des glucides à six atomes de carbone, possédant une fonction 2,3 ène-diol à laquelle il doit sa propriété réductrice. Il existe deux formes, lévogyre (L) et dextrogyre (D) mais seule la forme L ou acide L-ascorbique est active. La vitamine C est un composé hydrosoluble et instable. Sa dégradation dépend de plusieurs facteurs comme l'oxygène, la température et la durée de stockage (Burdurluet al., 2006). **La figure 2** : montre : Oxydation d'acide ascorbique en acide déhydroascorbique.

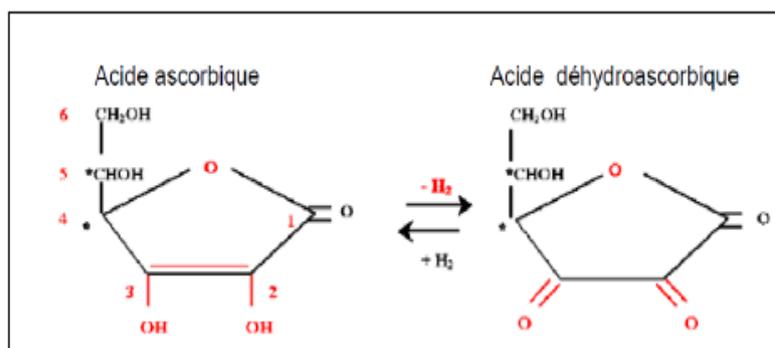


Figure 2: Oxydation d'acide ascorbique en acide déhydroascorbique (Steinberg et Rucker, 2013).

II.3.3. Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux, non essentiels à la survie de la plante. Au niveau végétal, les composés phénoliques sont un moyen de défense contre le rayonnement U.V, les agressions par les pathogènes et ils contribuent à la pigmentation des plantes (Manach *et al.*, 2004; Ignat *et al.*, 2011). Les composés phénoliques sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique avec un ou plusieurs groupements hydroxyles. Leur classification est basée sur la distinction entre composés non flavonoïdes (acides phénols et stilbènes) et flavonoïdes (anthocyanes, flavanols et flavonols)

II.3.3.1. Les composés non flavonoïdes

Les composés non flavonoïdes se classent en acides phénols, benzoïques et cinnamiques, et en d'autres dérivés comme les stilbènes dont le plus connu est le resvératrol.

➤ Les acides phénols

Les acides phénols sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyl phénolique, dérivés des acides benzoïques (C6-C1) ou des acides cinnamiques (C6-C3). Ils sont impliqués dans les phénomènes d'oxydation enzymatique, responsables du brunissement de jus de fruit (Singleton, 1987).

✓ Les acides benzoïques

Les acides benzoïques sont caractérisés par un squelette à 7 carbones de structure C6-C1 (figure 2). Ils sont principalement représentés par l'acide gallique, les esters galliques et les esters de glucosides (Lu *et al.*, 1999). Les acides benzoïques sont impliqués dans les phénomènes d'oxydation responsables du brunissement du jus de fruit. Ils sont aussi antioxydants des fruits d'orange, citron.

✓ **Les acides hydroxycinnamiques :**

Les acides hydroxycinnamiques ont une structure de type C₆-C₃ et se trouvent sous forme d'ester de l'acide tartrique, dans les vacuoles des cellules de la pellicule et de la pulpe (Flanzy, 1998).

➤ **Les stilbènes**

Les stilbènes sont des composés polyphénoliques contenant deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison (C₆-C₂-C₆). Le trans-resvératrol possède des propriétés antifongiques. Par ailleurs, de nombreuses études ont été menées sur les propriétés antioxydantes des stilbènes et leur capacité à lutter contre les maladies cardiovasculaires et le cancer (Janget *al.*, 1997 ; Garvinet *al.*, 2006)

II.3.3.2. Les composés flavonoïdes

Les flavonoïdes sont caractérisés par un squelette de base à 15 atomes de carbone de type C₆ C₃-C₆ correspondant à la 2-phényl-benzopyrone. Leur classification est basée sur le degré d'oxydation du noyau pyrane central C (figure 5). Cette famille est composée, entre autres, des anthocyanes, des flavanols et des flavonols (Roland, 2010). En fonction de type de l'hétérocycle, il existe les classes suivantes : flavanones, flavones, isoflavone, flavonones, antocyanidines et les flavonoles.

Partie expérimentale

I. Matériel et Méthodes

I.1. Echantillons

Les oranges et citrons, mûrs et sains, utilisés pour la préparation de jus sont achetés au niveau du marché. Après avoir lavé ces agrumes, ces derniers sont pressés manuellement. Le jus obtenu après filtration est scindé en trois : jus d'orange jus de citrons et la dernière quantité utilisée pour la préparation de mélange (proportion est 90% jus d'orange et 10% jus de citron).

I.2. Détermination des paramètres physicochimique

I.2.1. Potentiel d'hydrogène

Le pH des échantillons de jus frais a été mesuré en utilisant un pH-mètre digital (inLab pH 730) préalablement calibré avec des solutions tampons d'eau distillée à pH 7,0. La détermination du pH a été réalisée à une température de $+20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ en maintenant l'électrode immergée dans le jus agité avec un agitateur magnétique.

I.2.2. Degré de brix

Le pourcentage des matières solides solubles est déterminé à l'aide d'un réfractomètre et à une température de $+20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

I.2.3. Acidité titrable

L'acidité totale est déterminée par titrage d'un volume de 5 ml de jus contenant quelques gouttes d'indicateur coloré (phénolphaléine) avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose. Le résultat est exprimé en g équivalent d'acide citrique par 100 ml de jus (Afnor, 1974). L'acidité ou bien la quantité d'acide dans l'échantillon est obtenue en multipliant le volume de la chute de la burette par un coefficient de 0,64 et en divisant sur la prise d'essai.

I.3. Préparation des extraits éthanoliques

Deux volumes de 0,5 ml de jus et 20 ml d'éthanol 40% sont mixés pendant 30 min, puis filtrés. Le filtrat récupéré est utilisé pour l'estimation de la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux, ainsi que l'évaluation de l'activité anti-radicalaire.

I.4. Dosage des antioxydants et l'évaluation de l'activité anti-radicalaire

I.4.1. Polyphénols totaux

- **Principe**

Le dosage des polyphénols totaux repose sur la méthode utilisant le Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un réactif composé d'acide phospho-tungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide

phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui se réduisent, dans un milieu basique, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) par les composés phénoliques. L'intensité de la coloration bleu produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait.

▪ Protocole

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon la méthode décrite par (Singleton et ross1965). Un volume de 200 μ l d'échantillon est mélangé avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) et 800 μ l de solution de carbonate de sodium (7,5%). L'absorbance est mesurée à 765 nm. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG) par 100 ml de jus en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique (0,02 à 0,1 mg/ml) (Annexes, Figure 1).

I.4.2. Dosage des flavonoïdes :

▪ Principe

Les flavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres en formant des radicaux flavoxyles moins réactifs, cette capacité peut être expliquée par leur propriété de donation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle OH libre en position 5 susceptible de donner, en présence de chlorure d'aluminium, un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^{3+} . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait (Ribereau-gayon, 1968).

▪ Le protocole :

La teneur en flavonoïde des extraits a été déterminée selon la méthode de (Ibrahim hegazy., 2012). Un volume de 1 ml d'extrait a été additionné à 1 ml de chlorure d'aluminium à 2% (préparé dans le méthanol). Le mélange a été placé à l'obscurité pendant 20 min, puis l'absorbance a été mesurée à 415 nm. Les résultats ont été exprimés en μ g équivalent de Quercitrine par 1 ml de d'extrait. Ces concentrations sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec de la Quercetine préparée dans le méthanol (200 mg /ml) à différentes concentrations (1-25 mg/ml) dans les mêmes conditions que l'échantillon (Annexes, Figure 2).

I.4.3. Activité anti-radicalaire

▪ Principe

La réduction du radical libre DPPH $^\circ$ (2,2'-diphenyle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de

radicaux libres, le DPPH. (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazine de couleur jaune.

▪ Protocole

L'activité anti-DPPH est évaluée selon la méthode décrite par (Brand-williamset al. 1995). Un volume de 200 µl d'échantillon est ajouté à 1 ml de solution méthanolique de DPPH (60 µl) fraîchement préparée. L'absorbance est mesurée à 517 nm après 30 min d'incubation à température ambiante et à l'obscurité. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique (EAA) par 100 ml de jus en se référant à une courbe d'étalonnage (Annexes, Figure 3).

I.5. Evaluation sensorielle

L'analyse sensorielle est réalisée par un panel non entraîné (moyenne d'âge 24 à 60 ans) composé de 19 sujets. Les échantillons sont mis à température de 4°C 3h avant le test, codé en échantillon A, B et C. La couleur, l'arôme, le goût : acide et sucre et amère, ainsi que l'acceptabilité globale sont évalués sur la base d'une échelle hédonique de cinq points. Après avoir goûté mais sans avalé l'échantillon A, les jurys sont tenus de rincer leur bouche avec de l'eau afin de se préparer pour déguster l'échantillon B. puis l'échantillon C

I.6. Analyse statistique

Les résultats (n = 3) sont soumis à une analyse de la variance (ANOVA). Les valeurs moyennes sont comparées à l'aide du test ppds de Fisher ($p < 0,05$). Toutes les analyses statistiques sont réalisées avec le logiciel Infostat®

II. Résultats et discussion

II.1. Potentiel d'hydrogène

Les agrumes sont classés comme des fruits acides, car leur matière soluble est essentiellement constituée de sucres et d'acides organiques dont les acides citriques, maliques, oxaliques, tartriques, galacturoniques, quiniques, etc (Karadeniz, 2004).

Les valeurs respectives du potentiel d'hydrogène de jus : d'orange, cocktail et citrons sont 3,43 et 3,30 et 2,49 (Figure 3). (Riu-aumatel et al. 2004) ont rapporté des valeurs de pH comprises entre 3,56 et 3,91% pour les nectars de poire. (Suliman et al. 2009) et (Rizzon et miele 2012) ont enregistré respectivement des valeurs de 4,1 pour le nectar d'orange et 2,92 pour le nectar de raisin.

L'analyse statistique révèle qu'il existe une différence significative entre le jus d'orange, citrons et cocktail à $p < 0,05$.

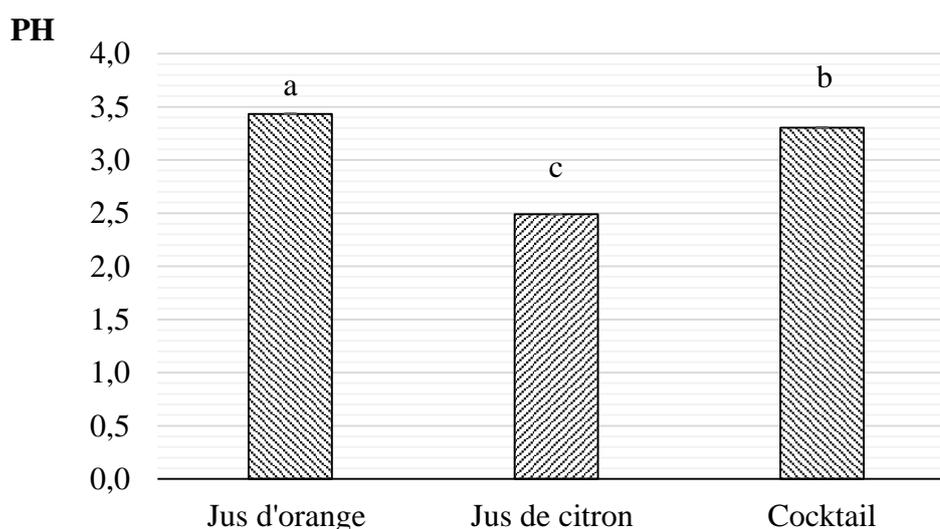


Figure 3: Potentiel d'hydrogène des jus analysés

II.2. Degré de Brix

Les valeurs respectives du degré brix des jus d'orange, cocktail et citrons sont 9,90%; 8,80% et 7,73% (Figure 4). Ces résultats sont en concordance avec ceux rapportés par (Stella et al. 2011) pour les nectars d'orange (11,5-13,5%).

L'analyse statistique révèle qu'il existe une différence significative entre le jus d'orange, citrons et cocktail à $p < 0,05$.

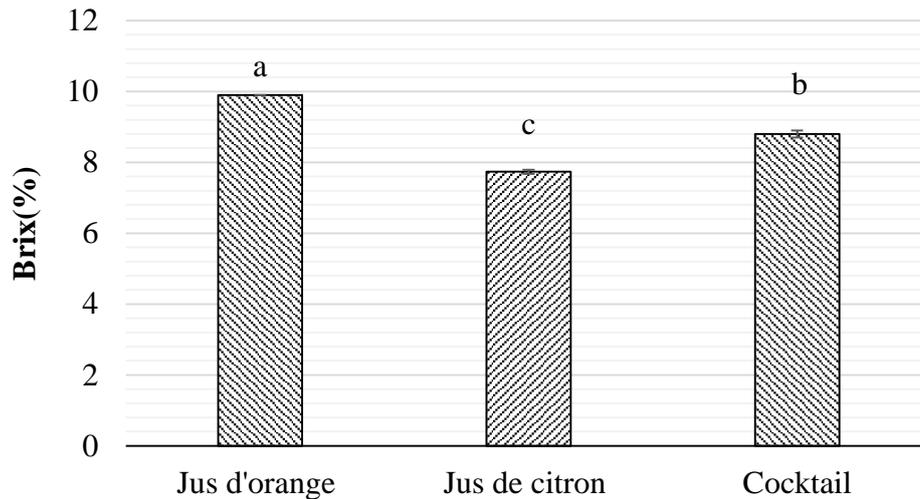


Figure 4 : Degré brix des jus analysés

II.3. Acidité titrable

L'acidité est l'un des nombreux paramètres physico-chimiques qui affectent la qualité des aliments. Elle est exprimée conventionnellement en grammes d'acide citrique par litre de jus (Figure 5).

Les valeurs respectives de l'acidité titrable des jus de : citrons, cocktail et orange sont : $5,03 \pm 0,148$; $1,26 \pm 0,011$ et $0,82 \pm 0,015$ g équivalent d'acide citrique par litre. [Aslanova et al. \(2010\)](#) ont enregistré respectivement pour les confitures de fraise, de cerise et d'abricot les valeurs de 0,218 ; 0,504 et 0,441 g/100 g

L'analyse statistique révèle qu'il existe une différence significative entre le jus d'orange, citrons et cocktail à $p < 0,05$.

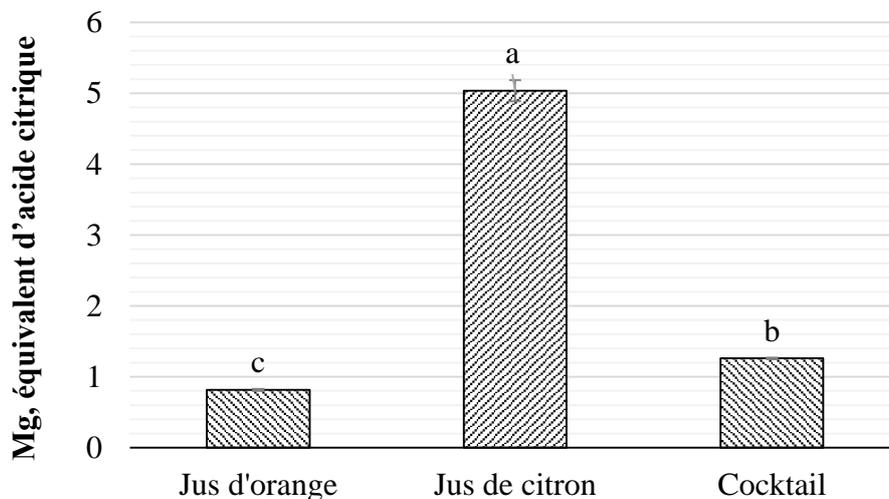


Figure 5: Acidité titrable des jus analysés

II.4. Antioxydants et activité anti-radicalaire

II.4.1. Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est estimée par la méthode utilisant le réactif de FolinCiocalteu. Cette méthode est très sensible mais peu spécifique car beaucoup de composés réducteurs non phénoliques peuvent interférer tels que les caroténoïdes et quelques sucres et acides aminés. Cependant, elle reste la méthode la plus utilisée pour déterminer la concentration en polyphénols totaux.

La teneur en polyphénols totaux des jus cocktail, orange et citron sont les suivantes $110,862 \pm 0,666$; $71,472 \pm 0,961$ et $102,092 \pm 0,666$ mg EAG/100ml (**Figure 6**). Les teneurs en polyphénols totaux des échantillons étudiés sont supérieures que celles rapportées par (Tounsiet al. 2010) pour le jus d'agrumes (78,46 orange amer ; citron 33,3 ; sanguine 25,5 ; et mandarine 10,62 mg/100ml), (Gardner et al. 2000) et (Velazquez-estrada et al. 2013) pour le jus d'orange (75,5 et 77,10 mg/100 mL de jus, respectivement). Les différences observées entre nos résultats et ceux de la littérature peuvent être expliqués selon (Liet al. (2006)) à la méthode d'extraction, le degré de maturation des fruits et les conditions de l'environnement, en plus de réactif adopté pour le dosage. Par ailleurs, Les composés phénoliques subissent une réaction redox complexe avec le réactif de Folin-Ciocalteu, Cependant, il devrait être noté également que quelques groupes chimiques comme les acides ascorbiques, acides organiques, sucres, les amines aromatiques peuvent réagir aussi avec ce réactif causant ainsi une sur estimation des polyphénols (Ghafaret al., 2010).

L'analyse statistique des teneurs en composés phénoliques totaux des trois jus frais ne présente pas de différences significatives à $p < 0,05$.

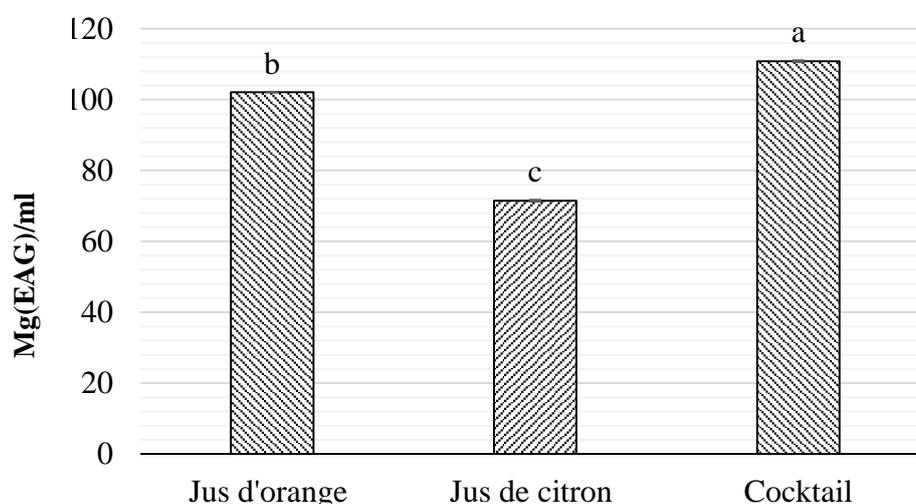


Figure 6: Teneurs en polyphénols totaux des jus analysés

II.4.2. Flavonoïdes totaux

Une couleur jaunâtre est formée dans tous les extraits de citron, orange et cocktail après l'addition de la solution de chlorure d'Aluminium (AlCl₃), cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans les extraits analysés.

Les résultats du dosage en flavonoïdes exprimés en mg EQ/ml d'extrait de jus orange, citron et cocktail sont les suivantes 3,575±0.081 ; 3,548±0.248 et 2,627±0.261 (Figure 7).

On les Comparé aux autres extraits, l'écorce de citron a plus de quantité de flavonoïde de 23,3 mg/ml, suivi de l'écorce d'orange de 14,69 mg/ml, suivi de pulpe de citron de 13,35 mg/ml et celle de pulpe d'orange de 10,47 mg/ml. on peut constater une répartition inégale des flavonoïdes dans les différentes parties de la plante Cette variabilité a également été signalée par d'autres auteurs (Ramfulet *al.*, 2010 ; Ghasemiet *al.*, 2009). Ceci peut être expliqué par l'influence de certains facteurs extrinsèques tels que la méthode d'extraction et la nature du solvant utilisé.

L'analyse statistique des teneurs en composés flavonoïdes totaux des trois jus frais présentent une différence significatives à $p < 0,05$. dont on peut constater une répartition presque égale des flavonoïdes dans le jus orange et citron mais le cocktail présente une valeur inférieur aux autres

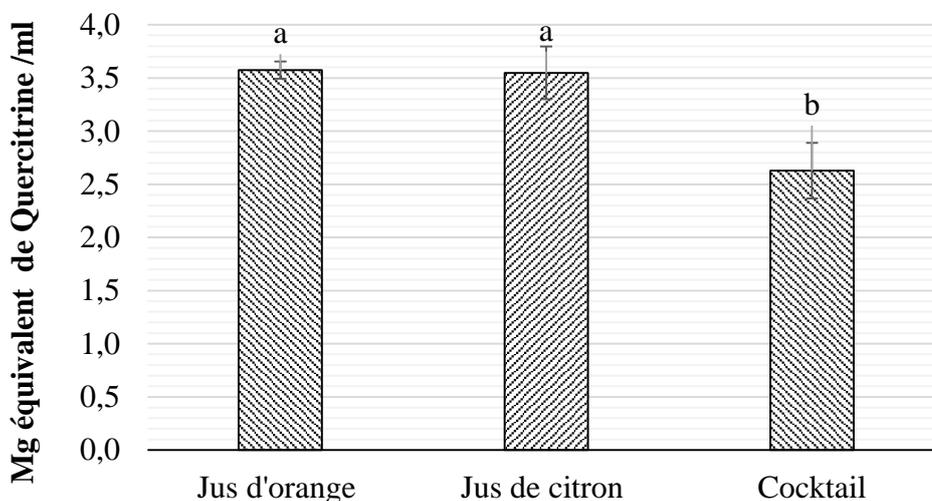


Figure 7: Teneurs en flavonoïdes totaux des jus analysés

II.4.3. Activité anti-radicalaire

La mesure de l'activité anti-radicalaire par le radical DPPH est une méthode couramment employée pour évaluer l'activité antioxydante; elle est basée sur la réduction du radical DPPH par un transfert d'hydrogène, qui se traduit par une décoloration de la

solution de DPPH du violet au jaune (Wong *et al.*, 2005). La **figure 8** représente l'activité anti-radicalaire des jus analysés.

Le jus d'orange frais présente l'activité anti-DPPH la plus élevée avec une valeur de $1025,094 \pm 0,081$ mg EAA/100 ml, suivi de jus cocktail ($1002,457 \pm 0,261$ mg EAA/100ml) puis le jus de citron $781,114 \pm 0,248$ mg EAA/100 ml. (Costa *et al.* 2012), ont enregistré une activité anti-radicalaire de 98,1 mg équivalent trolox pour 100 ml de cocktail de jus de commerce (orange-citron-carotte-mangue). Dans une autre étude, (Floegelet *al.* (2011) ont enregistré des activités anti-radicalaires de 72,4 ; 47,4 ; 41,8 et 18,9 mg EAA/100 ml des jus de mangue, d'orange, de citron et de pomme, respectivement. L'activité antioxydante peut être affectée par de nombreux facteurs tels que, la polarité des solvants et la procédure d'extraction, la variation des espèces utilisées

L'analyse statistique a révélé une différence significative ($p < 0,05$) entre l'activité des jus analysés.

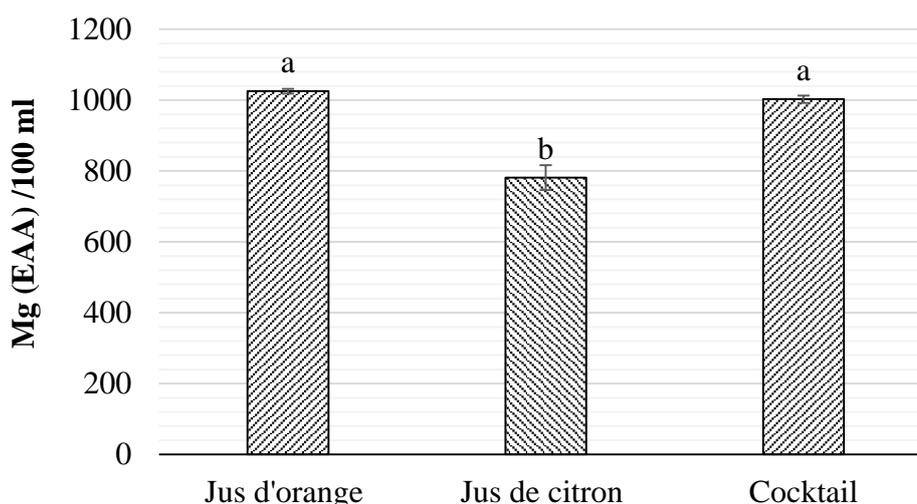


Figure 8: L'activité anti-radicalaire des jus analysés

II.5. Analyse sensorielle

La **figure 9** représente les scores du profil sensoriel des jus d'orange, citron et de leur cocktail évalué en termes de couleur, arôme, acidité, sucrosité et acceptabilité globale par un panel non entraîné de 19 sujets. Chaque paramètre évalué est par un score allant de 1 à 9 (1 : extrêmement désagréable, 9: extrêmement agréable).

L'analyse statistiques des scores a révélé que pour le paramètre couleur, il n'existe aucune différence significative entre les trois jus ($p < 0,05$). Concernant les

paramètres sucrosité, acidité, odeur et appréciation globale, leur analyse statistique a révélé que pour ces paramètres il existe une différence significative entre le jus de citrons et les deux autres jus (orange, cocktail) ; cependant, il n'existe pas de différence significative entre le jus d'orange et le cocktail.

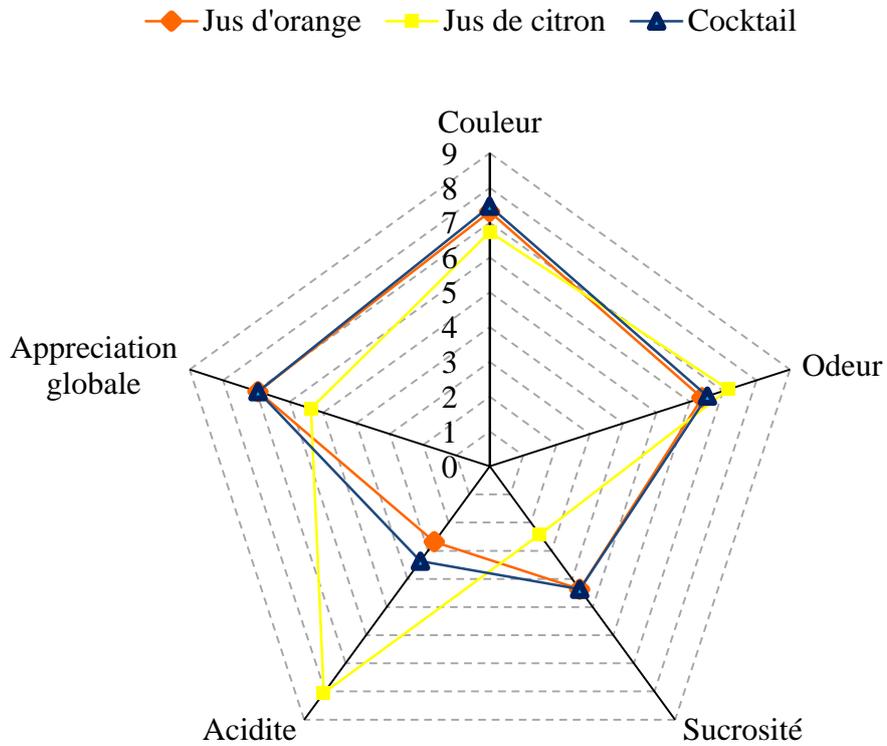


Figure 9 :Scores de l'analyse sensorielle des jus analysés

Conclusion

La présente étude s'intéresse à étudier l'effet de mélange sur le potentiel antioxydant attribuable aux substances bioactive et sur l'évaluation sensorielle de jus d'orange, citron ainsi que leur mélange.

Le mélange a un effet logique sur les paramètres physicochimiques testés dont il prend des valeurs intermédiaires. Par ailleurs, les valeurs de ces paramètres sont en concordances avec les normes rapportées dans la législation.

Les jus analysés ont enregistré des teneurs en polyphénols et flavonoïde totaux supérieure aux celles rapportées dans la littérature. Concernant l'activité anti-radicalaire, la valeur la plus élevée pour ce test est enregistré par le cocktail (1002,456mg EAA/100ml).

L'analyse sensorielle réalisée afin d'évaluer les propriétés organoleptiques des trois jus (orange, citron et cocktail) a permis de noter l'inexistence de différence significative entre le jus orange et cocktail pour tous les paramètres (couleur, odeur et appréciation globale sérosité et acidité), à l'exception de jus de citron qui diffère des deux autres jus. A la lumière de cette étude, il en ressort que le mélange a une influence sur les composés phénoliques, à l'instar des paramètres physicochimique et l'analyse sensorielle.

Comme perspectives à la présente étude, il serait nécessaire de l'étayer par :

- ✓L'analyse microbiologique des jus frais,
- ✓Etude de la synergie de cocktail entre le citron et orange en utilisant d'autres proportions,
- ✓Etude de la synergie de cocktail entre le citron, orange et d'autres fruits
- ✓Le suivi au cours de la conservation en ce qui concerne les paramètres physicochimique et le potentiel antioxydant
- ✓Etudier des moyens de pasteurisation autre que le traitement thermique, tel que la pasteurisation par ultrason, par champs électrique, etc.

Références bibliographiques

- Aslanova,D., Bakkalbasi,E., Artik, N. (2010). effect of storage on 5-hydroxymethylfurfural (hmf) formation and color change in jams. *international journal of food properties*, 13, 904–912.
- Batchelor, L.D., Sinclair, W.B.,1961. world production and important commercial varieties. in: w.b. (ed.), *the orange*, sinclair. university of california press, berkeley, ca.
- Berger, M.M. (2005). canoxydatif damage betreatednutritionally ? *clinical nutrition*, 24: 172-183.
- Berlett, B.S., Stadtman, E.R. (1997). ProteinOxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *The journal of biologicalchemistry*, 272 (33): 20313-20316.
- Berlinet C., May 2008 etude de l'influence de l'emballage et de la matrice sur la qualité du jus d'orange sciences du vivant ensia (agroparistech) français .
- Brand-williams, W., Cuvelier, M.e., Berset, C. (1995). use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *food science and technology*, 28, 25–30.
- Britton G. 1983. carotenoids, flavonoids. in «the biochemistry of natural pigments ». ed.cambridguniverstypress .p.123-126.
- BurdurluH.S., Koco N., Karadeniz F. 2006. degradation of vitamin c in citrus juice concentrates during storage
- Choi,S.; Hee-chul,K.; Soo-youn,K.; Joon-ho,H.; Ji-Gweon,P.; Shin-hae,K.; Sanghun,H; Su-hyun, et Se-jae, K. (2007). correlation between flavonoid content and the no production inhibitory activity of peel extracts from various citrus fruits. *boil. pharm. bull.* 30(4): 772-778.
- Croteau R., Kutchan T.M & Lewis N.G. 2000. *Naturel Products (SeondryMetabolites).American Society Of Plante Physiologists*, 24: 1250-1318.
- Davier, K.J.A. (2000).Oxidative stress, antioxidantdefenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, 50: 279–289.
- Davier, K.J.A. (2000). Oxidative stress, antioxidantdefenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, 50: 279–289.
- Davies and Albrigo, 1994 (a) Davies, F.s. ; Albrigo, 1994.citrus. cab international, oxon, uk.

- Davies et Albrigo, 1994 (b) Dvies F.S. ; Albrigo L.G. (1994). fruit quality, and postharvest technology. in citrus. Atherton J., Rees, A., eds. crop production science in horticulture. cab international.
- Del Rio, J.A; Fuster, M. d.; Gomez, P.; Porras, I.; Garcia-lidon, A., et Ortuno, A. (2004). *citrus limon*: a source of flavonoid of pharmaceutical interest. *foodchem*, 84:457-461.
- Dugo, G.; Di giacomo, A. (eds.), 2002. citrus: the genus citrus. taylor and francis, london, uk.
- Ercan, B. et Ilhami, G.U. (2011). polyphénol contents and *in vitro* antioxydant activities of lyophilised aqueous extract of kiwi fruit (*actinidia deliciosa*). *food research international*, 44: 1482-1489.
- Espirade, E., 2002 introduction à la transformation industrielle des fruits et de la technique
- FAO, 2016 : Fao stat 2016. citrus fruit fresh and processed statistical bulletin 2016. (www.fao.org/faostat).
- FAO, 2017: food and agriculture organization of the united nations rome, 2017 <http://www.fao.org/3/a-i8092e.pdf>
- Favier, A. (2003). le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *l'actualité chimique*, p108-115.
- Flanzy C. 1998. enologie. fondements scientifiques et technologiques. paris:lavoisier.
- Floegel, A.; Kim, D.O.; Chung, S.J.; Koo, S.I.; Chun, O.K. (2011). comparison of abts/dpph assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich us foods. *journal of food composition and analysis*, 24, 1043–1048
- Fuji, J., Iuchi, Y., Matsuki, S., Ishi, T. (2003). Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissue. *Asian Journal of Andrology*, 1-12.
- Gardes-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? *Mécanisme biochimique*, 91-96.

- Gardes-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh Z., Jore, D. (2003). Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *Mécanismebiochimique*, 91-96.
- Gardner, P.T. ; White, T.A.C. ; Mc Phail, D. b, et Duthie, G.G. (2000). the relative contributions of vitamin c, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *food chemistry*, 68, 471–474.
- Girotti, A.W. (1998). Lipidhydroperoxidegeneration, turnover, and effector action in biologicalsystems. *Journal of LipidResearchy*, 39: 1523-1542.
- Gonzalez-molina, E; Dominguez-perles, R.; Moreno, D.a. et Garcia-viguera. (2010). natural bioactive compounds of *citrus limon* for food and health. *journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 51: 327-345.
- Gordon, M.H. (1990). *The mechanism of antioxidant in vitro*. In: “Food antioxidants”:Ed.HUDSON B.J.F. pp: 1-18.
- Grun, I., Barbeau, W.E., Crowther, J.B. (1996). Change in headspace and peroxide value of undeodorized menhaden oil over 20 weeks of storage. *Journal of agricultural and foodchemistry*,
- Gulçin, I; Huyut, Z.b.; Elmastas, M.; Hassan, Y. et Aboul-Eein, d. (2010). radical scavenging and antioxydant activity of tannicacid. *arabian journal of chemistry*. 3: 43-53.
- Gutteridge, J.M.C. (1995). LipidPeroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *CLIN CHEM*, 41/12: 1819-1 828.
- Halliwel, B., Clement, M.V., Long, H.L. (2000). Hydrogenperoxide in the human body. *Federation of EuropeanBiochemicalSocieties*, 486: 10-13.
- Janatis.S.f.; Be h eshtih.R.; Feizy .J, Fahimn.k. 2012.ch e m ical com position of le m on (citrusle m on) and p e elitsconside re d as animalfood. *journalof food gida*, 5: 267-271.
- Jang, M., l. cai, et al. (1997). "cancerchemopreventiveactivityof resveratrol, a natural product derivedfromgrapes." *science* 275(5297): 218-220.
- Jenner, P. (2003)."oxidative stress in parkinson's disease." *aimaisof neurology*53 suppl 3: s26-36; discussion s36-28.
- Karadeniz F 2004.main organic acid distribution of authentic citrus juices in turkey. *turkish journal of agriculture and forestry*, 28: 267-271.

- Kim H. j.; changw.k.; Kim m. k.; Lee S. s., and ChoiB.y. 2002. dietary factors and gastric cancer in korea: a case-control study. *international journal of cancer*, 97: 531-535.
- LadaniyaS.m. 2008. citrusfruit biology, technology, and evaluation.ed: elsevier : 13-26
- Laight, D. w.,m. 1; Carrier, et al. (2000)."antioxidants, diabetes and endothelial dysfunction." *cardiovascular research* 47(3): 457-464.
- Leong L.p., and Shui G.2002. an investigation of antioxidant capacity of fruit singapore markets. *food chemistry*, 76 : 69-75.
- Li B.b.; Smith B., Hossain Md. m. 2006.extraction of phenolics from citrus peels: *solvent extraction method separation and purification technology*, 48: 182– 188
- Loussert, R. (1989). *les agrumes*.2.paris : production editionlavoisier. 157 p.
- Lu, Y. r.,and Foo, L. y. 1999. the polyphenol constituents of grape pomace. *food chemistry*, 65: 1-8.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., and Jimenez L. 2004.polyphenols.food sources and bioavailability. *am. j. clin*, 79 : 47-727
- Manish K., MaheshA.r., M som ash e kh Ar. 2013. evaluation of antibacterial activity of methanolic extract of *citrus sinensis*: 18-22.
- Manthey, J.a., Guthrie, N., et Grohmann, K. (2001). biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *current medicinal chemistry*, 8, 135-153.
- Marfak, A. *Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de pesticides*. Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie, Université de LIMOGES-Ecole Doctorale Science Biologie Santé, Décembre 2003, p. 220.
- Markesbery, W. r. (1997)."oxidative stress hypothesis in alzheimer's disease." *free radical biology and medicine* 23(1): 134-147.
- Mercadante, A. z., Steak, A. et Pfander, H. (1998). carotenoids from guava (*psidium guajava* l.): isolation and structure elucidation. *journal of agricultural and food chemistry*, 47, 1, 145-151.)

Ministre de l'agriculture et de développement rural, 2012

Oboh .A.,ade M osun O. 2012. characterization of th e antioxidant properties of phenolice x tractsfromsom e citrus p ls: 729–736.

OkwnD.e., Emenike ,I.n. 2006. evaluation of p h ytonutrientsandvitaminscontentsof citrus fruits. internationaljournalof mole cular me de cine and advance science 1: 1-6.

Onagri 2018/ note de veille agrumicole un regard sur le marché mondial et tunisien desagrumes.

Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005). Standardizedmethods for the determination of antioxidantcapacity and phenolics in foods and dietary. *J. Agric. Food Chem*, 53: 4290-4302.

Ramful, D.; Bahorun, T.; Bourdon, E.; Tarnus, E.; Aruoma, O.i. (2010).bioactivephenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application. *toxicology*, 278: 75-87.

Ramful, D.; Tarnus, E.; Aruoma, O.; Bourdon, E etBahorun, T. (2011). polyohéno l composition, vitamin c content and antioxydant capacity of mauritian citrus fruit pulp. *foodresearch international*, 44: 2088-2099.

Reimund, J.-m. (2002). "stress oxydant au cours des syndromes inflammatoireschroniquesoxidative stress in chronicinflammatorysyndromes." *nutrition clinique etmétabolisme* 16(4): 275-284.

Ribéreau-gayon P (1968). Les composés phénoliques des végétaux. ed. dunod,paris : 242.

Riu-aumatell, M.; Castellari, M.; Lopez-tamames, E., Galassi, S.; and Buxaderas, S.(2004).characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars byhs/spme and gc/ms. *food chemistry*, 87, 627–637.

Rizzon, L. a.; Miele, A. (2012). analyticalcharacteristics and discrimination of brazilian commercial grape juice, nectar, and beverage. *ciênciatecnologia de alimentos*, 32, 93–97.

Roncone, R., Barbieri, M., Monzani, E., Casella, L. (2006). Reactivenitrogenspeciesgenerated by heme proteins: Mechanism of formation and targets. *Coordination ChemistryReviews*, (sous press).

- Sanchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Tech Int*, 8(3): 121–137.
- Singleton V. I. 1987. Oxygen with phenols and related reactions in musts, wines, and model systems: observations and practical implications. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38 : 69-76 .
- Steinberg, Rucker Rb (2013) vitamin c. encyclopedia of biological chemistry 2nd edition (eds: Lennarz W., Lane M.D.) ; pp. 530-534; Elsevier .
- Stella, S. P., Ferrarezi, A. C., Dos Santos, K. O., & Monteiro, M. (2011). Antioxidant activity of commercial ready-to-drink orange juice and nectar. *Journal of Food Science*, 76, 392–397.
- Suliman, A. M. E.; Abdalla, R. A. and El-Hardallou, S. B. (2009). The impact of refrigerated storage on the chemical, physicochemical and sensory characteristics of some fruit nectars. *Gezira Journal of Engineering and Applied Sciences*, 4, 35–46.
- Szabo, C. (2003). Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicology Letters*, 140-141, 105-112.
- Tripoli, E.; Guardia, M.; Gimmanco, S.; Dimajo, D. et Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoids : molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food Chemistry*, 104: 466-479.
- USDA (Département américains de l'agriculture) <https://www.usda.gov/>
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266: 37-56.
- Valnet J. (2001). La santé par les fruits, légumes et les céréales. Ed Vigot. pp: 207-281.
- Whistle R W .A. (1997). Samoan Herbal Medicine . Isle Botanical. Honolulu
- Wong, S. P.; Leong, L. P., and Koh, J. H. W. (2005). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry*, 99, 775–783..

Annexes

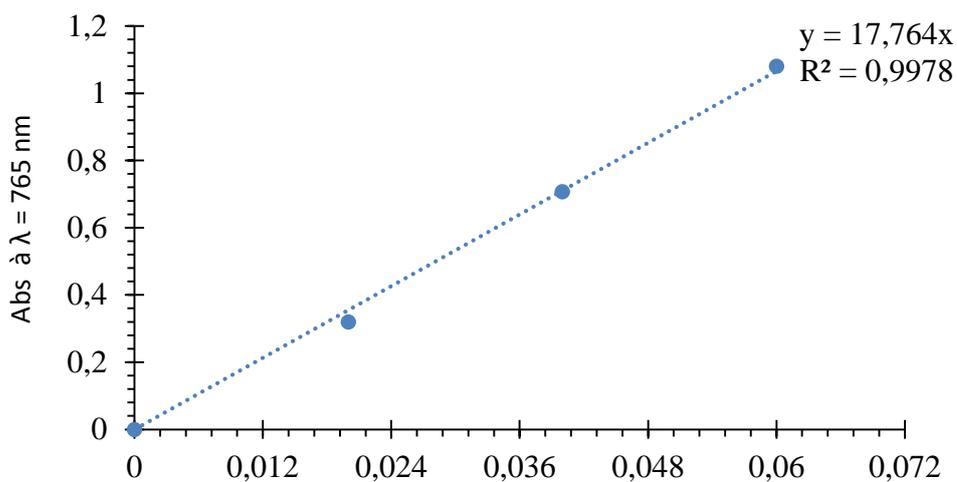


Figure 1 : Courbes d'étalonnage des polyphénols(mg/ml)

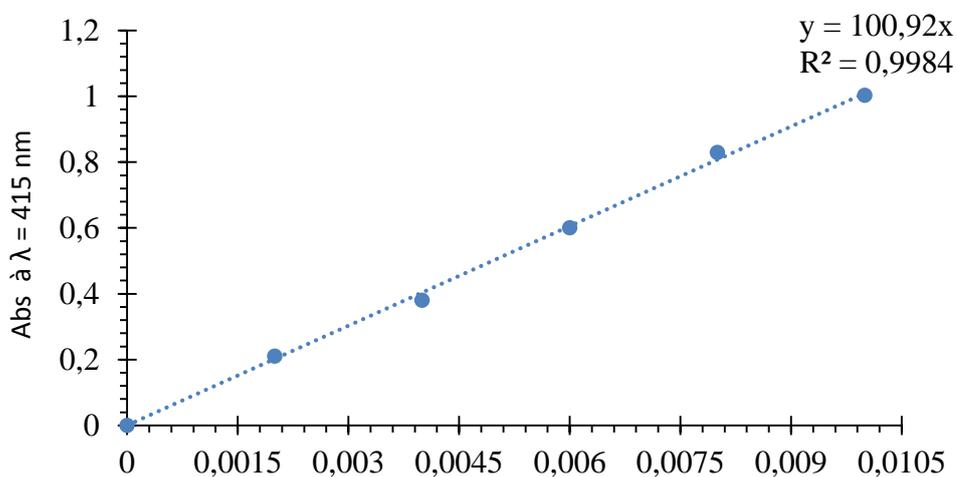


Figure 2 : Courbes d'étalonnage des flavonoïdes(mg/ml)

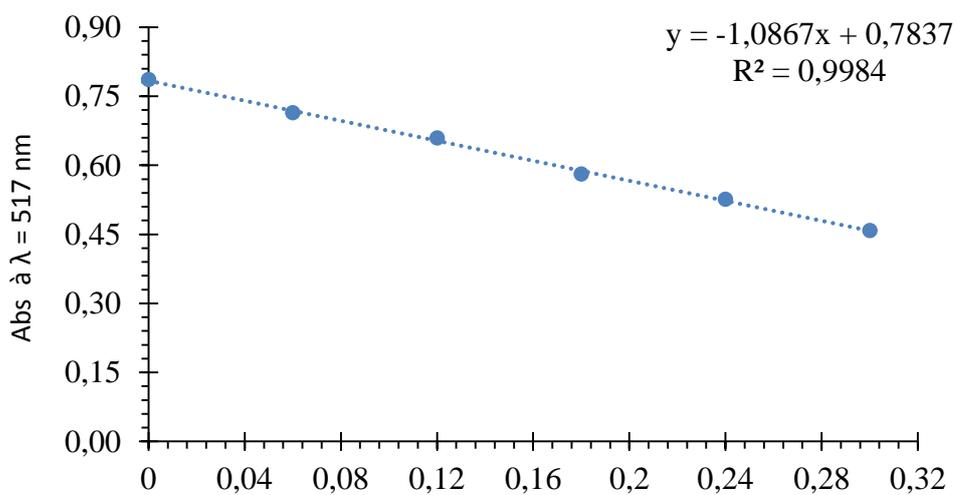


Figure 3 : Courbes d'étalonnage de l'activité anti-radicalaire (mg/ml)

Formulaire de l'évaluation sensorielle : Teste hédonique à 9 points

Echantillon	Caractéristique	Note
A	Couleur	
	Odeur	
	Sucrosité	
	Acidité	
	Appréciation Globale*	
B	Couleur	
	Odeur	
	Sucrosité	
	Acidité	
	Appréciation Globale*	
C (Couleur	
	Odeur	
	Sucrosité	
	acidité	
	Appréciation Globale*	

1. Extrêmement désagréable
2. Très désagréable
3. Désagréable
4. Plutôt désagréable
5. Ni agréable, ni désagréable
6. Plutôt agréable
7. Agréable
8. Très agréable
9. Extrêmement agréable

(*) Score inférieur à 5 dans appréciation globale, cela veut dire que le consommateur ne va pas acheter le produit