

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Bejaia

Faculté des Science de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Alimentaires

Option: Bioprocédé et Technologie Alimentaire



Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme de Master

en Sciences Alimentaires

Thème

**Effet d'association d'extrait de pulpe
d'orange et citron sur l'activité
Antioxydante**

Présenté par :

HAMA Fayza & ASLOUNE Hanane

Soutenu le : 21 juin 2017

Devant le jury compose de :

M^{me}. TAFININE. Z

MCB

Présidente

M^{elle}. ISSAADI. O

MAA

Promotrice

M^{me}. BRAHMI. N

MAA

Examinatrice

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier le bon Dieu **Allah** notre créateur le plus puissant de nous avoir donné les forces, la volonté et le courage, ainsi de nous avoir guidé vers le chemin de savoir afin d'accomplir ce travail modeste.

Nos profonds remerciements à notre promotrice M^{elle} ISSAADI O., pour ses encouragements, ces conseils, son aide tout au long de ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance, tout particulièrement :

M^{me} Brahmi N., de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

M^{me} TAFININE., qui nous a honorées en acceptant d'être président de jury.

Nos sincères remerciements s'adressent au responsable et à tout le personnel du
laboratoire de Biochimie Alimentaire
Laboratoire de recherche (3BS).

Nos associations nos reconnaissances à tout le personnel de l'institut National de Recherche
Agriculture INRAA.

Nos remerciements vont également à tous les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

À mon très cher papa

À ma très chère maman

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À mes très chers frères Faycel, Fakir et Fares

“Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. aucun signe ne pourront décrire votre implication dans mon épanouissement. je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde”.

À mes très chers grand parents surtout ma grand mère

Qui m'a accompagné par ses prières, sa douceur, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans les deux vies.

À mes chères copines Aljia, Asma, Amira, Ryma,

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

À ma chère binôme Hanane et son petit ange Anes

Je vous souhaite tous le bonheur et joie qui existe au monde

À tous les membres de ma famille, petits et grands

À tous mes amis et ma promotion BTA « 2017 »

Siham, Farida, Dihia, Lamine, Fares,.....

Dédicace

A mes très chers parents, sans eux je n'est pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études , et surtout leur disponibilité de garder mon petit enfants.

A mon très cher marie Abd ghani, en signe d'amour et de gratitude pour m'avoir supporté, soutenu et surtout compris en permanence, pour ces sacrifices, ces encouragements, sa fidélité et sa gentillesse. Sans lui, je ne saurais pu progresser et en arriver à l'achèvement de ce travail.

A mon très chère petit enfant, Anes qui ma porté bonheur.

A mes chers frères : Halim, Ahlem, Manel.

A mes meilleures amies Samira, Ourda et Sylia

A ma chère binome Fayza qui ma supporté tout en longe d'année et accepté d'être avec moi malgré ma faiblesse.

Hanane

Sommaire

Liste des abréviations	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les fruits étudiés

I.1. Structure.....	4
I.2. Composition chimique et valeur nutritive.....	5
I.3. Utilisation et effets thérapeutiques des fruit de genre <i>citrus</i>	6

II. Antioxydants

II.1. Composés phénolique.....	7
II.1.1. Définition.....	7
II.1.2. Classification.....	7
II.1.2.1. Acides phénoliques.....	7
II.1.2.2. Flavonoïdes.....	8
II.1.3. Tannins.....	9
II.2. Vitamine C.....	10
III. Stress oxydatif.....	11
III.1. Conséquences du stress oxydatif.....	11
III.2. Les maladies liées au stress oxydant.....	12
IV. Propriétés anti-oxydantes.....	12

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal.....	15
I.1. Description botanique.....	15
I.2. Classification.....	15
I.3. Collecte des échantillons.....	15
I.4. Détermination de la teneur en humidité.....	17
I.5. Prétraitement des échantillons.....	17

II. Dosage des antioxydants	17
II.1. Acide ascorbique.....	17
II.2.Composés phénoliques.....	18
II.2.1. Préparation des extraits.....	18
II.2.2. Dosage.....	19
II.2.2.1. Composés phénoliques tatau.....	19
II.2.2.2. Flavonoïdes.....	19
II.2.2.3. Flavonols.....	20
II.2.2.4.Tanins condensés.....	20
III. Activité antioxydante	21
III.1.Pouvoir réducteur.....	21
III.1.1.Méthode au ferricyanure de potassium.....	21
III.1.2.Méthode au molybdate d'ammonium.....	21
III.2. Pouvoir anti-radicalaire (DPPH).....	22
III.3. Effet Scavenger du radical ABTS.....	24
IV. Analyse statistique	25

Résultats et discussion

I. Taux d'humidité	26
II.Dosage des antioxydants	27
II.1.Acide ascorbique.....	27
II.2.Composés phénoliques.....	29
II.2.1. Polyphénols tatau.....	29
II.2.2.Flavonoïdes.....	32
II.2.3. Flavonols.....	34
II.2.4. Tannins condensés.....	35
III. Activité antioxydante	36
III.1.Pouvoir réducteur.....	36
III.1.1. Méthode au ferricyanure de potassium.....	36
III.2. Pouvoir anti-radicalaire au DPPH.....	39
III.3. Activités anti-radicalaire à l'ABTS.....	41
VI. Corrélation entre les antioxydants.....	42

VI. Analyses statistiques des résultats (ACP et CAH).....43

V. Conclusion.....45

Références bibliographiques.

Annexe.

Liste des abréviations

AAc : Acide Ascorbique

ABTS : 2, 2 azinobis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid.

ACP: Analyses principales des composants

ADHA: Acide DéHydroAscorbique

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AGPI : Acide gras poly-insaturé

ANOVA: Analyse de variance

CAH : Classification Ascendante hiérarchique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EAA: Equivalent d'Acide Ascorbique

EAG: Equivalent d'Acide Gallique

EAT: Equivalent d'Acide Tannique

ERO : Espèces Réactives d'Oxygènes

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

GS• : radical thyl

GSH: Glutathion réduit

GSSG: Glutathion-disulfure

HO• : Radical hydroxyle

LDL: Low Density Lipoprotein

MF : Matière Fraiche

MS : Matière Sèche

O₂•- : Anion superoxyde

PT : PolyPhénols Totaux

R•: Radicaux libres

RAL: Radical Ascorbyl Libre

RL_s : Radicaux Libres

RO• : Radical alkoxyde

ROO•: Radical peroxyde

Liste des Figures

Listes des figures

Figure.1 : Feuilles, fleurs et fruits d'oranger.....	3
Figure.2 : Feuilles, fleurs et fruits de citron.....	4
Figure.3 : Caractéristiques morphologiques d'un <i>citrus</i>	4
Figure.13 :. Classification systématique des agrumes.....	15
Figure.14 : Extraction des composés phénolique.....	18
Figure.15 : Détermination de pouvoir réducteur.....	21
Figure.16 : Réduction de pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium	22
Figure.17 : Structure chimique du radical libre DPPH°.....	22
Figure .18 : : Réaction du DPPH° avec un antioxydant.....	23
Figure. 19 : Les étapes de formation du radical ABTS.....	24
Figure.20 :Taux d'humidité et de matière sèche des échantillons analysés.....	26
Figure.21 : Teneur en acide ascorbique de la pulpe des échantillons analysés.....	27
Figure.22 : Teneur en poly phénols des pulpes fruits étudiés.....	29
Figure.23 : Teneur en flavonoïdes des pulpes des échantillons étudiés.....	32
Figure.24 : Teneur en flavonols des pulpes des fruits étudiés.....	34
Figure.25 : Teneur en tannins condensé da la pulpe des échantillons analysés.....	35
Figure.26 : Les teneurs en pouvoir réducteur de pulpe des fruits étudiés.....	37
Figure.27 : Pouvoir réducteur au molybdate de la pulpe des fruits étudiés.....	38
Figure.28 : L'activité anti-radicalaire (DPPH) de la pulpe des fruits étudiés.....	39
Figure.29 : L'activité anti-radicalaire (ABTS)des échantillons analysés.....	41
Figure.30 : Distribution des variable révélées à partir de l'ACP.....	43
Figure.31 : Dendrogramme de la classification hiérarchique des échantillons.....	44

Liste des Figures

Liste des tableaux

- Tableaux I** : Les principaux composés d'oranges.....
- Tableaux II** : Composition chimique des oranges.....
- Tableaux III** : Composition biochimique moyenne du citron
- Tableaux VI** : Caractéristique des variétés d'orange analysées.....
- Tableau V** : Matrice de corrélation entre les différents paramètres.....

Introduction

Introduction

Introduction

Des molécules pro-oxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produites quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres. Toute fois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (**Papazian et al., 2008 ;Christophe et al., 2011**). Ce dernier est à l'origine de plusieurs maladies, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète...etc (**Aruoma,2003**). Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre antioxydants/pro-oxydants par une consommation suffisante d'antioxydants (**Ghedira, 2005**).

Pour cela un grand nombre de recherches ont démontré que les polyphénols des agrumes disposent de plusieurs applications thérapeutiques, les études épidémiologiques prouvent que la consommation de l'orange et des produits à base d'orange peuvent protéger la santé contre différentes maladies à cause de sa richesse au diverses molécules antioxydantes dont l'acides ascorbique, les caroténoïdes et les polyphénols (**Kim et al.,2002**).

La production mondiale d'agrumes est estimée à plus de 115 millions de tonnes par an, 517 milles tonnes ont été produits en Algérie qui occupe la 18^{ème} place mondiale (**FAO, 2013**).

Grace à cette richesse, l'extraction des composés phénoliques à partir des agrumes a considérablement attiré l'intérêt scientifiques pour les utiliser comme des antioxydants naturels, conservateurs principalement dans les aliments mais aussi dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Ramful et al., 2010**).

Notre travail vise à démontrer la richesse de nos fruits en polyphénols Pour cela notre étude englobe deux aspects :

Introduction

Le premier aspect est basé principalement sur l'extraction des composés phénoliques de la pulpe des différentes variétés d'oranges (Double fine, Hamlin) et de citron (citron vert, et citron jaune) ainsi que leur mélange.

Le second aspect est consacré à l'évaluation de l'apport en substance à activité antioxydante (acide ascorbique, composés phénoliques, flavonoïdes,.....) et la détermination de potentiel antioxydant (activité anti-radicalaire à l'ABTS et au DPPH et les pouvoirs réducteurs : au phosphomolybdate d'ammonium et FRAP) des extraits de nos échantillons.

Synthese
bibliographique

I. Généralités sur les fruits étudiés

Les agrumes sont originaires du Sud-Est Asiatique (**Ollitrault et al., 1997**). Ce sont des arbres de la famille des Rutacées composés de 156 ou de 16 espèces, selon que les auteurs ont ou n'ont pas pris en compte les hybrides (**Swingle et Reece, 1967**). La diffusion des agrumes à travers le monde s'est faite très lentement. Le bigaradier, le citronnier et l'oranger ont été introduits dans le bassin méditerranéen vers la moitié du XII^e siècle, et le mandarinier au XIX^e siècle. L'introduction des agrumes en Afrique de l'Est a été faite par les commerçants arabes et hindous vers le XIV^e siècle (**Loussert, 1989 ; Spiegel-Roy et Goldschmidt, 1996**). L'expansion dans le sud de l'Europe au XV^e siècle est le fait des portugais, qui les ont exportées d'Asie. Au moment de la conquête, l'orange traverse l'atlantique avec le Bigarade, la lime et le cédrat. Ces derniers ont été cultivés dans les Antilles, au Mexique et en Amérique du sud (**Loussert, 1989**).

- **L'orange**

L'oranger est un petit arbre ou arbuste, pouvant atteindre 10 à 15 m de hauteur environ. L'arbre est à rameaux nombreux ; formant une cime touffue, avec un feuillage vert sombre, glabre, persistant et légèrement ailé. Les feuilles sont persistantes, cireuses, coriaces et alternes, la floraison blanche très parfumée. Le fruit est une baie, ronde ou allongée, souvent pourvue d'un mamelon proéminent du côté opposé au pédoncule fructifère (**Teuscheret et al., 2005**). Les fruits mettent 10 à 12 mois pour murir, ils sont de taille moyenne et de couleur caractéristique orange. L'intensité de la couleur et la forme du fruit sont caractéristiques pour chaque variété (**Loussert, 1989**).



Figure 1 : Feuilles, fleurs et fruits d'oranger

- **Le citron**

Le citronnier, un membre de la famille des Rutacées, est un petit arbre (arbuste) vert et aromatique dont la taille peut varier de 2 à 10 m de haut, porte 5-6 branches charpentières très fournies en rameaux, les racines superficielles forment un réseau dans les 80 premiers centimètres de sol. Les feuilles des citronniers sont des feuilles vertes, alternatives et persistantes, très adurantes en raison des multiples poches à essence qu'elles contiennent, qui sont visible à l'œil nu (Gollouin et Tonelli, 2013).



Figure 2 : Feuilles, fleurs et fruits de citron

I.1. Structure

Tous les fruits des *citrus* cultivés présentent la même structure anatomique présentée sur la **figure 3**. (Ramful et al., 2010).

D'un point de vue botanique les agrumes sont des fruits charnus de type baie avec un péricarpe structuré en trois parties bien différenciées : l'épicarpe (Flavédo), mésocarpe (Albédo) et l'endocarpe (pulpe).

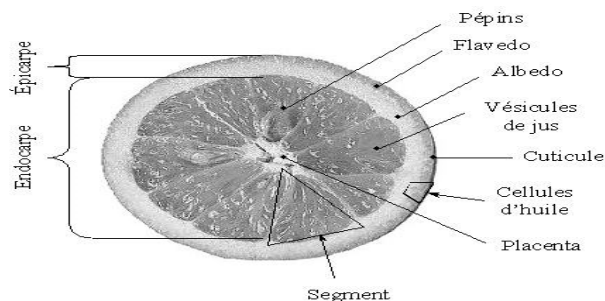


Figure 3: Caractéristiques morphologiques d'un *citrus* (Duan et al., 2014).

I.2.Composition chimique et valeur nutritive

a. Orange

Les principaux composés de l'orange sont résumés sur le **Tableau I (Bousbia, 2011)**.

Tableau I : 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
Vitamines	Vitamine C (40 à 80 mg pour 100g). 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-éléments	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 mésophile	Levures et lactobacilles indispensables à sa bonne digestion
Substances aromatiques	Ce sont des composés complexes caractéristiques de ce fruit (aldéhydes, esters...etc), des essences 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.

b. citron

Le citron est un fruit riche en vitamine C et d'un large éventail de vitamines de groupe B avec des quantités considérables de flavonoïdes. La teneur en glucides et en protéines est faible, il est riche en substances minérales (le potassium est le minéral le plus abondant).

(Valnet, 2001).

I.3. Utilisation et effets thérapeutiques des fruits de genre *Citrus*

De nombreuses études ont montré que les espèces du genre *Citrus* sont riches en principes actifs tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes, utilisés à des fins thérapeutiques ou dans les domaines cosmétiques ou alimentaires (Kahkonen et al., 1999 ; Shahaib et al., 2011).

- La saveur amère et aromatique de la pulpe d'orange amère ouvre l'appétit et facilite la digestion (Touscher et al. 2005).
- La pulpe d'orange fraîche est utilisée pour traiter les maladies de la peau : l'acné, soins de visage. (Valnet, 2001).
- Le citron a été utilisé contre l'insomnie, l'asthme et dissoudre des cristaux rénaux (Okwu and Emenik, 2006).
- Stimulation de l'appétit (zestes) (Santo et al., 2011; Karimi et al., 2012).
- Activité anti-microbienne, anti-inflammatoire, anti-oxydante, anticancéreuse (Del-rio et al., 2004)
- Abaissement de la pression artérielle, traiter l'obésité (Ramful et al., 2011).

II. Antioxydants

Les agrumes sont importants en raison de leurs propriétés nutritionnelles et anti-oxydantes. Les antioxydants 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 (**Hercberg et al., 2004**).

II.1. Composés phénoliques

II.1.1. Définition

Ce sont des produits de métabolisme secondaire des végétaux. Ils sont présents dans toutes les parties de la plante (tiges, feuilles, racines,... etc.). Un composé phénolique est un composé organique non azoté qui possède un noyau aromatique avec un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction chimique (esters, glycosides,...etc.) (**Bruneton, 1999**).

Les oranges sont une très bonne source de composés phénoliques (**Balasundram et al., 2006**). Ces derniers se trouvent en grande proportion dans l'écorce (plus de 15% que la pulpe) (**Gorinstein et al., 2001 ; Goulas et Manganaris, 2012**).

II.1.2. Classification

Les composés phénoliques ou les polyphénols appartiennent à une famille constituée d'environ de plus de 8000 composés, répartis en différentes classes, qui vont de molécules simples de type phénols à des molécules complexes de types tanins (**Dacosta, 2003**).

II.1.2.1 Acides phénoliques

Un acide phénolique est un composé organique qui possède au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques sont divisés en deux classes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (figure.4 en Annexe) (**Richter, 1993**).

II.1.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes du latin flavus sont un groupe d'antioxydants naturels comprenant des composés de couleur jaune, orange ou rouge. Ils constituent la classe la plus importante des composés phénoliques, plus de 5000 composés ont été décrits.

Les flavonoïdes dérivent du flavane qui contient 15 atomes de carbone rangés dans la configuration C₆-C₃-C₆ ; soit deux noyaux aromatiques A et B reliés entre eux par un hétérocycle oxygéné (C) (Figure 5) (Beecher, 2003).

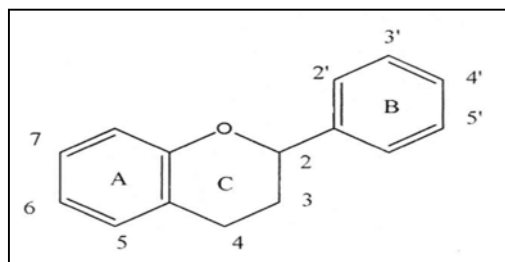


Figure 5: Structure de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005).

Les différents sous-groupes rencontrés sont les : flavones, flavanols (catéchines), isoflavones, flavonols, flavanones et les anthocyanes (Yang *et al.*, 2001).

Les agrumes sont riches en flavonoïdes (Di-Carlo *et al.*, 1999 ; Kawaii *et al.*, 2001 ; Belajova et Suhaj, 2004). Ils contiennent plus de 60 flavonoïdes répartis selon leur structure moléculaire en 4 classes : flavanones, flavonols, flavones et anthocyanes (Benavente-Garcia *et al.*, 1997).

- **Flavanones**

Les flavanones ou dihydro-2,3 flavones (principalement l'hésperidine et la narirutine) constituent la majeure fraction des flavonoïdes des oranges douces (Gil-Izquierdo *et al.*, 2001 ; Nijveldt *et al.*, 2001). L'hésperidine est le principal flavonoïde de l'orange douce. Il se trouve en grande quantité dans l'écorce du fruit (El-Nawawi, 1995) et en petite concentration dans le jus et les pépins (Garget *et al.*, 2001). Quant à l'orange amère, elle contient principalement de la naringine ; flavanones responsables de l'amertume des jus (Erlund *et al.*, 2001). Le plus souvent, les flavanones existent sous forme glycosylée en position 7 par un disaccharide, comme les néohesperidosides responsables du goût amer du pamplemousse et de l'orange amère (figure. 6 en Annexe) (Abushita *et al.*, 2000).

- **Flavones**

Dans certaines espèces d'agrumes, les flavonoïdes se retrouvent sous forme de flavonesglycosilés (rutine, isorhoifoline, diosmine, etc.) et polyméthoxylés (sinensétine, nobilétine, tangerétine, etc.) (**Jayaprakasha et Patil, 2007**).

La diosmine est un constituant commun de plusieurs espèces d'agrumes (**Kanazeet al., 2003**).

- **Flavonols**

Les flavonols ou hydroxy-3-flavones sont des dérivés des flavones par l'addition d'un groupe hydroxyle en position 3 (**Richter, 1993**). La quercétine, le kaempférol, la myircétine, l'isorhamnétine et la fisétine sont les flavonols communs des agrumes (**Manthey et al., 2001**).

- **Anthocyanines**

Le terme anthocyane dérive des mots grecs Athos (fleur) et cyan (bleu). Ces composés sont responsables de la coloration rouge, bleue ou violette de nombreux fruits, légumes et fleurs (**Sarni-Manchado., 2006**).

II.1.3 Tannins

Les tannins peuvent exister dans divers oranges : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les graines, (**Khanbabae et Ree, 2001**). Chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétiques: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Figure 7 en Annexe) (**Bruneton, 1999**).

a-Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol, ces tanins sont divisés en deux types: les tanins galliques (esters d'oses et d'acide gallique) et les tanins ellagiques (esters d'oses et d'acide ellagique). (**Paris et Hurabielle., 1981**).

b-Tanins condensés

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine (**Khanbabaea et Ree., 2001**). Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre (**Paris et Hurabielle, 1981**).

II.2. Vitamine C

La vitamine C, ou acide ascorbique (figure. 8 en Annexe), est un micronutriment qui n'est pas synthétisé par l'organisme humain. Il doit être apporté par les aliments (fruits et légumes). Il a un rôle antioxydant multiple : il inhibe le brunissement enzymatique, protège contre l'oxydation, comme il est connu pour ses effets antiradicalaires et réducteurs des métaux de transition (**Willox et al., 2003**).

III. Stress oxydatif

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité, et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents. Dans ces circonstances normales, dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux libres, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant **(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 **(Diallo, 2005)**.

III.1. 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 protéiniques dans les membranes cytoplasmiques **(Shimizu H., 2004)**.

III.2. Les maladies liées au stress oxydant

La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses anti-oxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux. En faisant apparaître des molécules biologiques anormales et en sur-exprimant certains gènes, le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies : cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies plurifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (**Favier, 2003**).

IV. Propriétés anti-oxydantes

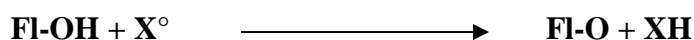
- **Acide phénoliques**

Les acides phénoliques agissent comme donneurs de protons ou d'électrons et chélatent les métaux de transition (**Blokhina et al., 2003**). La position et le degré d'hydroxylation, et la , méthylation du cycle aromatique sont des facteurs importants qui déterminent l'activité anti-oxydante des acides cinnamiques et de leurs dérivés (**Robardset et al., 1999**). L'activité antioxydante des acides cinnamiques suit l'ordre décroissant suivant : acide chlorogénique > acide caféique > acide férulique > acide coumarique (**Soobratteet et al., 2005**).

- **Flavonoïdes**

a. Piégeage direct des radicaux libres

La réduction de divers radicaux par les polyphénols a été beaucoup étudiée afin de déterminer les éléments majeurs de l'activité antioxydante. Grâce à leur faible potentiel redox, les polyphénols et plus particulièrement les flavonoïdes (FI-OH), sont thermodynamiquement capables de réduire rapidement les radicaux superoxydes, peroxydes (ROO°), alkoxydes (RO°) et hydroxyle par transfert d'hydrogène selon la formule suivante :



Où X° représente l'un des EOR mentionnés ci-dessus (**Meziti, 2009 ; Nkhili, 2009**).

Le radical carboxyle résultant (FI-O•) peut réagir avec un autre radical libre pour former une structure quinone stable.

b. Chélation des ions métalliques

Les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^{2+}) sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques. Ils peuvent être, soit des constituants des hémoprotéines, soit des cofacteurs des différentes enzymes du système de défense antioxydant (**Meziti, 2009**). Mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène. Divers polyphénols abondants dans les plantes et dans l'alimentation sont considérés comme de bons chélateurs des ions métalliques (**Nkhili, 2009**). Les flavonoïdes sont considérés comme de bons chélateurs de ces ions métalliques (figure. 9 en Annexe).

c. Inhibition enzymatique

L'inhibition de la production des EOR par les polyphénols et particulièrement les flavonoïdes peut procéder directement par formation de complexe inhibiteur-enzyme et/ou par piégeage directe des EOR (**Nkhili, 2009**).

Les polyphénols sont capables d'inhiber une large gamme d'enzymes génératrices de $\text{O}_2^{\cdot-}$ et d'autres EOR, comme la xanthine oxydase, la protéine kinase C, la cyclooxygénase, lipooxygénase, et la glutathion S-Transférase (figure. 10 en Annexe) (**Meziti, 2009**).

- **Tanins**

Les tanins ont de grandes capacités anti-oxydantes dues à leurs noyaux phénols. Selon **Bruneton (1999)**, les tanins hydrolysables sont des piègeurs de RL_s et de l'anion superoxyde. Ils inhibent l'auto-oxydation de l'acide ascorbique et de linoléate ainsi que, la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes. Ils sont de très bons donneurs de protons aux RL_s produits lors de la peroxydation d'où la formation des radicaux tanniques plus stables.

- **Vitamine C**

a. Neutralisation des radicaux libres

L'acide ascorbique agit comme un piègeur efficace des espèces oxydantes telles que les radicaux superoxydes, hydroxyles, peroxydes et l'oxygène singulet (**Bermond, 1990**).

Le radical libre (R^\bullet) est neutralisé par le transfert d'un électron provenant de l'AAc, il en résulte un produit détoxifié (R) et le radical libre ascorbyl (RLA). La réaction entre deux molécules de RLA conduit à l'obtention d'une molécule d'AA et une molécule d'ADHA qui peut être transformée en AA par l'ADHA réductase ou bien se transformé en un composé stable (l'acide dicétogulonique) (figure. 11 en Annexe) (**Rose et Bode, 1993**).

b. Régénération des tocophérols

La vitamine C est impliquée dans la régénération de la vitamine E dans les lipides membranaire, protégeant ainsi ces derniers contre la peroxydation lipidique (**Groussard et al., 2003**). Les tocophérols ont la capacité de neutraliser l'alkoxyde (RO^\bullet) et de mettre fin à la réaction en chaîne de transfert d'un radical peroxyde (ROO^\bullet). Le radical tocophéryl généré est plus stable que les radicaux peroxyde et alkoxyde (**Papas, 1998 ; Vamecqet al., 2004**). Par interaction avec un radical R^\bullet , le tocophérol se transforme en un radical tocophéryl. Ce dernier est régénéré en tocophérol sous l'action de l'AA qui, à son tour, prend une forme radicalaire (radical ascorbyl). Le glutathion réduit (GSH) permet de régénérer l'AA en se transformant en un radical thyl (GS^\bullet) qui, par réaction avec lui-même, donne du glutathion oxydé (GSSG) (figure. 12 en Annexe) (**Pincemilet al., 1998**).

Materiel et methodes

I. Matériel végétal

I.1. Description botanique

Les espèces des agrumes sont de 3 genres principaux du groupe citrinae dans la famille des Rutacées : *Citrus* (agrumes), *Forunella* et *Poncirus* (**Baches, 2002**). Les fruits utilisés dans notre étude comprennent deux genres de *citrus* : (*Citrus limen*, *Citrus sinensis*)

I.2. Classification

Une classification botanique de *Citrus* a été récapitulée (figure 13) Kimball (1999) et Guignard (2001).

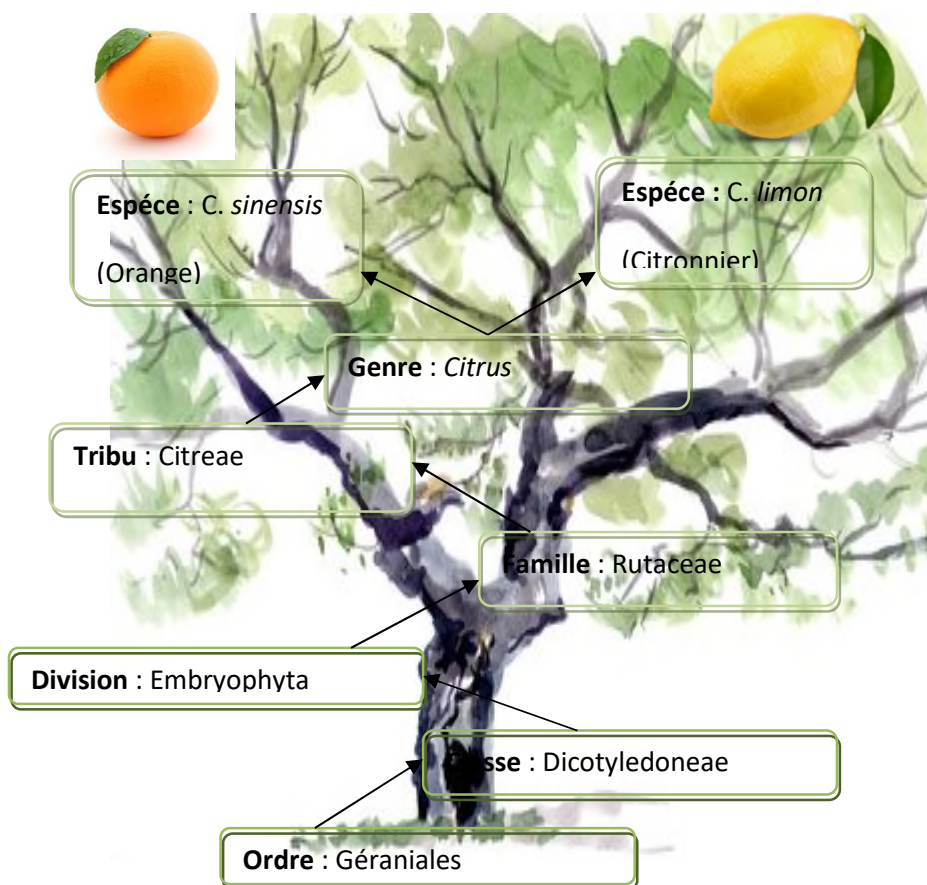






Figure 13 : Classification systématique des agrumes

I.3. Collecte des échantillons

Deux variétés d'oranges et de citron ont été récoltées pendant le mois de Février (2017) dans la région d'Oued Ghir (INRA) de la Wilaya de Bejaia (Algérie). La récolte a été faite d'une manière aléatoire en fonction de la période de maturation de chaque variété. Chaque échantillon, possédant un poids moyen de 500g, a été choisi sur la base de critères établis ; les

fruits sélectionnés sont mûrs et sains. Les caractéristiques de chaque variété sont récapitulées sur le tableau suivant (tableau IV).

Tableau IV : Caractéristiques des variétés d'agrumes analysées

Catégorie	variétés	caractéristique	Fruit frais
Orange Douce	Double Fine (DF)	<ul style="list-style-type: none"> • Peau mince luisante et lisse, très adhérente a la pulpe, de couleur orangée au début, rouge sanguin sur une face à maturité • Pulpe très ferme, juteuse et sans pépins. • les arbres ont un port sphérique à feuillage clairsemé. Les fruits oblongs <p>(Jacqemond et <i>al.</i>, 2009)</p>	
	Himlin (Him)	<ul style="list-style-type: none"> • Forme régulièrement oblongue • Peau mince luisante et lisse, très adhérente a la pulpe, de couleur orangée au début, rouge sanguin sur une face à maturité • Pulpe très ferme, juteuse et sans pépins. 	
Citron	Citron vert (CV)	<ul style="list-style-type: none"> • fruits plutôt allongés de pulpe verte très juteuse, sans pépin. La peau de ces fruit est fine, jaune en zone froide, restant verte en région chaude • Les variétés à petit fruit est plus acide que les variétés à grands fruits <p>(Jacqemond et <i>al.</i>, 2009 ; Baches, 2011)</p>	
	Citron Jaune (CJ)	<ul style="list-style-type: none"> • Les fruits mûr peuvent rester plusieurs mois sur les arbres sans pourrir ni perdre leurs qualités. • sont assez réguliers et peu allongés, avec une peau lisse. Ils sont juteux avec quelques pépins. <p>(Jacqemondet <i>al.</i>, 2009 ; Courboulex, 2010)</p>	

I.4. Détermination de la teneur en humidité

La teneur en humidité a été déterminée par dessiccation à l'étuve. Une prise d'essai d'échantillon (1g) est séchée dans une étuve à 105°C jusqu'à un poids constant. Les résultats sont exprimés en pourcentage (**Nobel, 1991**)

L'humidité est calculée selon la formule suivante :

$$TH\% = \left(\frac{P_f - P_s}{P_f - P_c} \right) * 100$$

Où:

TH (%) : Taux d'humidité en pourcentage.

P_c : la masse du creuset vide (g).

P_f : la masse du creuset avec l'échantillon avant le Séchage (g).

P_s : la masse du creuset avec l'échantillon séché (g).

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$MS \% = 100 - TH\%$$

I.5. Prétraitement des échantillons

Les fruits ont été bien lavés à l'eau du robinet puis épluchés à fin de récupérer le filtrat (pulpe), ensuite sont écrasés à main dans une boîte de pétri à l'aide d'une spatule.

II. Dosage des antioxydants

II.1. Acide ascorbique

➤ Principe

Le dosage est basé sur l'oxydation de l'acide ascorbique qui conduit à la réduction de 2,6-dichlorophénolindophenol (DCPIP) de couleur initiale bleu (forme oxydée) vers la couleur rose (forme réduite).

➤ Mode opératoire

La teneur en acide ascorbique est déterminée selon la méthode de **Mau et al. (2005)**.

L'acide ascorbique est extrait à partir de 0.5g de pulpe avec 15ml d'acide oxalique (1%).

L'extrait de pulpe est soumis à une agitation pendant 20 minutes et à une filtration.

500µl du filtrat ou d'extrait de pulpe sont mélangés avec 2,5ml de DCPIP.

L'absorbance est mesurée à 515 nm après 10 minutes d'incubation à l'obscurité ; la teneur en acide ascorbique est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage et les résultats sont exprimés en mg d'acide ascorbique par 100g de la pulpe (Annexe II).

II.2. Composés phénoliques

II.2.1. Préparation des extraits

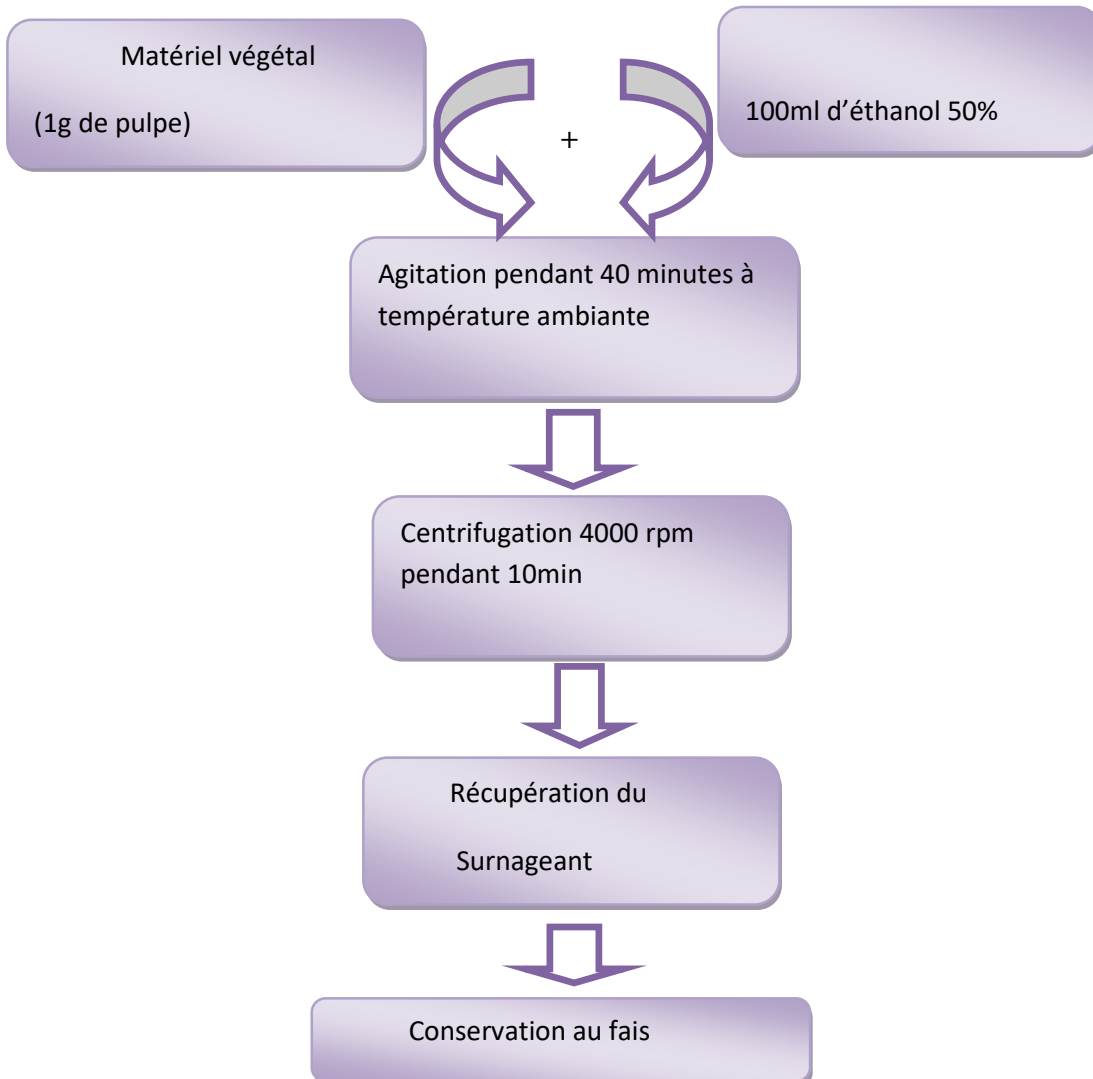


Figure 14 : Extraction des composés phénolique (Velioglu et al., 1998)

II.2.2 Dosage

II.2.2.1. Composés phénoliques totaux

➤ Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). La méthode de folin-ciocalteu est basée sur l'oxydation des cycles phénoliques, couplée à la réduction de l'acide Phosphomolybdique (**Castellucci, 2010**).

Le réactif de folin-ciocalteu voit ses propriétés colorimétriques modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules, il réagit avec la fonction OH des phénols, cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleu foncée, permettant de déterminer la concentration des polyphénols en se référant à une courbe d'étalonnage à partir des concentrations connues (**Khatabi et al., 2011**).

➤ Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques est estimée selon la méthode de **Maisuthisakul et al. (2007)**. Un volume de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté à 0,2 ml d'extrait. Après 3 minutes, 0,8 ml de la solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés. Après 30 min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 765nm. La concentration en composés phénoliques des extraits, exprimée en milligramme équivalent acide gallique par 100 g de matière sèche, est déterminée en se référant à la droite d'étalonnage (Annexe II).

II.2.2.2. Flavonoïdes

➤ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (AlCl₃). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium) (**Chang et al., 2002**). L'AlCl₃ forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols, ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

➤ Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes est déterminée selon la méthode décrite par **Ordonez et al.(2006)** ; 1ml d'extrait est mélangé avec 1ml de chlorure d'aluminium, l'absorbance est mesurée à 430 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent quercétine par 100g MS, et déterminée en se référant à la droite d'étalonnage (Annexe II).

II.2.2.3. Flavonols

➤ Principe

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (**kosalec et al., 2004**) est utilisée pour quantifier les flavonols dans les différents extraits de *Citrus* (*C. sinensis* ; *C. limon*).

➤ Mode opératoire

la teneur en flavonols des extraits a été déterminée par la méthodes décrite par (**Adedapo et al., 2008**). 0,3 ml d'extrait, plus 0,3ml de chlorure d'aluminium (2%) et 0,45ml d'acétate de sodium (50g/l) sont mélangés, après 40min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 440nm, une courbe d'étalonnage est préparée avec la quercétine, les résultats sont exprimés en mg/100g MS (Annexe II).

II.2.2.4. Tanins condensés

➤ Principe

Le dosage des tanins condensés est basé sur la condensation des composés polyphénoliques (flavanes-3-ols) avec la vanilline en milieu acide (**Price et al., 1978**).

➤ Mode opératoire

La méthode d'estimation de la teneur en tanins condensés est décrite par **Mélo et al. (2006)**Le réactif de la vanilline a été préparé par solubilisation de 4g de la vanilline dans 100ml de méthanol. 0,5ml de ce réactif sont mélangés avec 350ul d'extrait. Après agitation on ajoute 0,250 ml HCl concentré, le tout est agité après, et incubé à une température ambiante pendent 30min, l'absorbance est mesurée à 500nm. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par 100 g de matière sèche à partir de la droite d'étalonnage (Annexe II).

III. Activité antioxydante

III.1. Pouvoir réducteur

III.1.1. Méthode au ferricyanure de potassium

➤ **Principe**

Le pouvoir réducteur est basé sur la réduction de Fer ferrique (Fe^{+3}) du ferricyanure de potassium en fer ferreux (Fe^{+2}), celui-ci se traduit par un changement de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers une couleur bleue verdâtre, dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de chaque composé phénolique (Ribéro *et al.*, 2008).

➤ **Mode opératoire**

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide galique par 100 g de matière sèche à partir d'une droite d'étalonnage (annexe II).

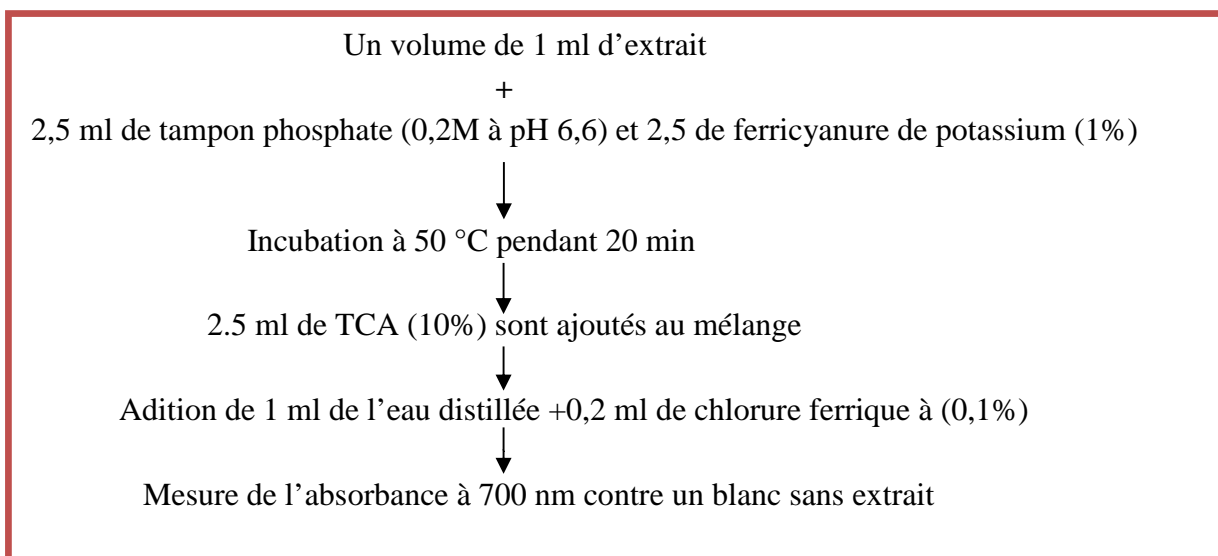


Figure 15 : Détermination de pouvoir réducteur (Gulçin *et al.*, 2002).

III.1.2. Méthode au molybdate d'ammonium

➤ **Principe**

Ce test est employé pour déterminer la capacité antioxydante totale, qui est basée sur la réduction de l'ion Mo^{+6} en ion Mo^{+5} par les antioxydants contenus dans l'extrait. Par conséquent, il y a formation d'un complexe phosphate- Mo^{+5} de couleur verdâtre, en milieu

acide, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en antioxydants (Prieto *et al.*, 1999; Sathish-Kumaret *et al.*, 2007).

➤ **Mode opératoire**

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide ascorbique par 100 g de matière sèche à partir d'une droite d'étalonnage (annexe II).

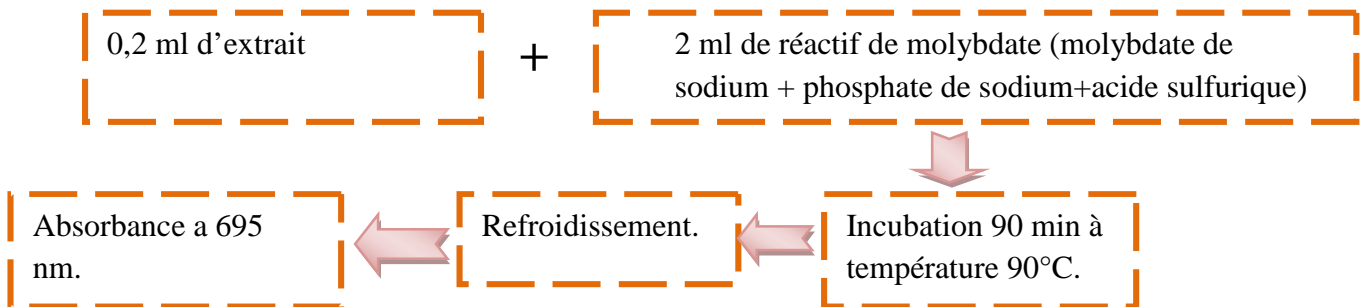


Figure 16 : Réduction de pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium (Mazardi *et al.*, 2008).

III.2. Pouvoir anti-radicalaire (DPPH°)

Le DPPH est un radical libre stable utilisé expérimentalement pour remplacer les radicaux libres produits par les cellules en réponse à des stress internes ou externes (Akroum, 2011). Le composé chimique DPPH est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydants des composés phénoliques (figure 17). Il possède un électron non apparié sur l'atome du pont formé par les deux azotes (Popovici *et al.*, 2009).

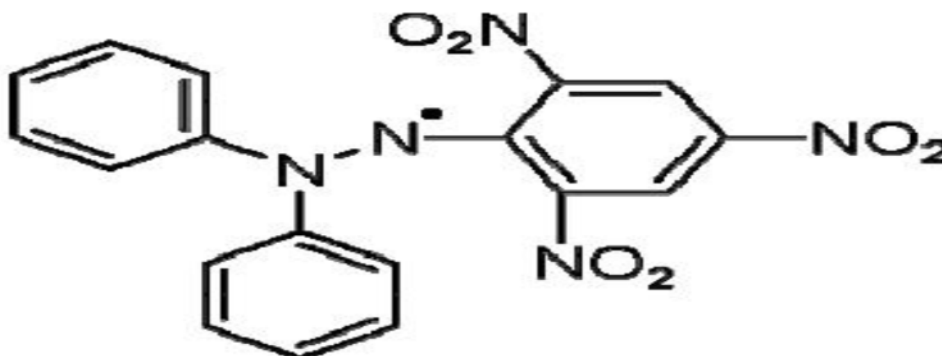


Figure 17 : Structure chimique du radical libre DPPH° (Popovici *et al.*, 2009).

III.3. Effet «scavenger» du radical ABTS

➤ Principe

C'est l'une des méthodes les plus utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante (Milardovic et al., 2007). Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu-verte en le transformant en ABTS incolore (figure. 19), par piégeage d'un proton par l'antioxydant (Damintoti et al., 2005; Osman et al., 2006). L'un des radicaux les plus couramment utilisés pour l'évaluation de l'efficacité antioxydante des composés et des mélanges complexes des cations, est le radical dérivé de 2,2-azinobis-3-éthyl-benzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) (Osman et al., 2006)

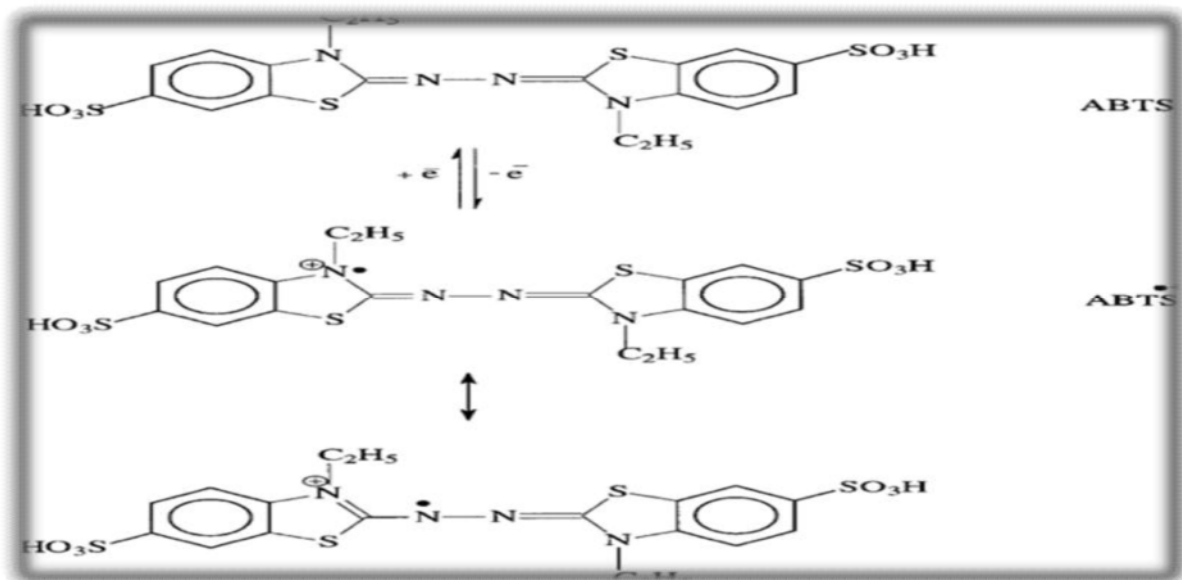
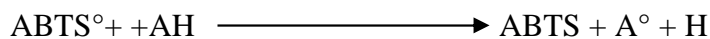


Figure 19 : Les étapes de formation du radical ABTS (Stjepan et al., 2007).

La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre. La réaction entre les antioxydants et ABTS^{•+} est estimée selon la réaction suivante



Le pourcentage d'inhibition est calculé selon l'équation suivante (Re et al., 1999).

$$\text{Activité antiradicalaire (\%)} = (\text{A}_0 - \text{A}_1) / \text{A}_0 \times 100$$

A_0 : Absorbance du control.

A_1 : Absorbance de l'échantillon.

➤ Mode opératoire

La solution du radical ABTS^o est obtenue par le mélange de réactif ABTS à 7mM avec (2.45 mM) de persulfate de potassium. Après 16 heures d'incubation la solution ABTS^{*+} a été diluée avec l'éthanol, afin d'obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,02$ à 734nm **Froehliche et al., (2009)**. . Un volume de 500 μ l d'extrait est additionné à 500 μ l de la solution d'ABTS^{*+}. L'absorbance est mesuré à 734 nm après 2,5min d'incubation à l'obscurité.

III. Analyse statistique

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007, afin de déterminer les moyennes, les écarts types et les coefficients de corrélations. D'autres part, une analyse de la variance (ANOVA) au seuil $p < 0.05$ est appliquée à l'aide du logiciel JMP 7.

Une analyse statistique des résultats a été utilisée avec ACP et CAH.

Discussion des resultats

I. Taux d'humidité

Les taux d'humidité (H%) et de matière sèche (MS%) sont calculés et rapportés sur les histogrammes ci-dessous (figure. 20)

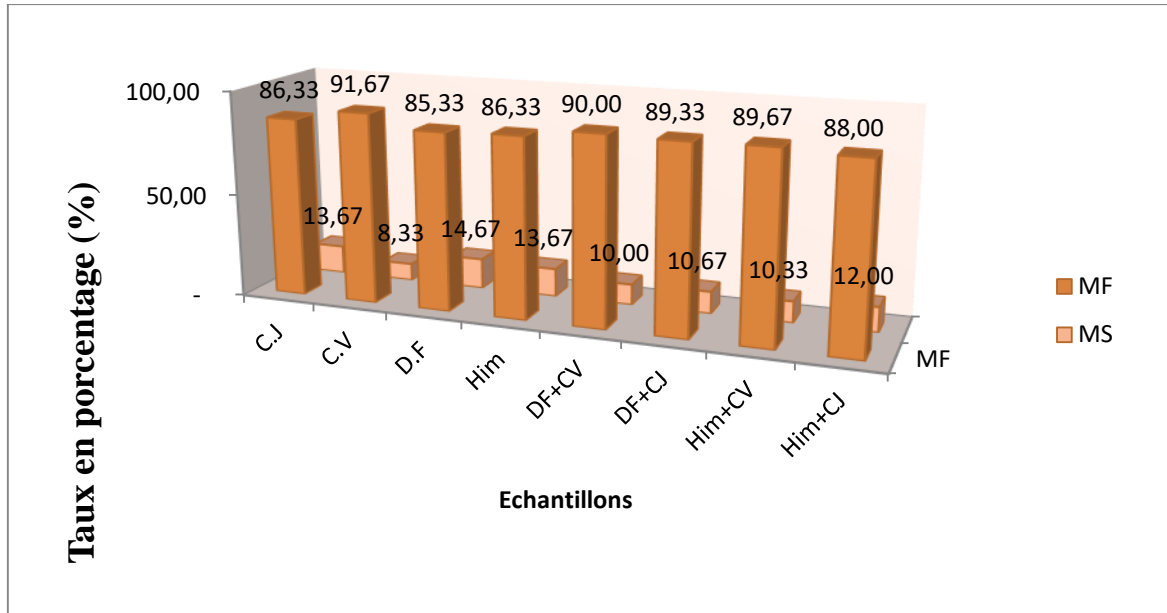


Figure 20 : Taux d'humidité et de matière sèche des échantillons analysés

Au regard des résultats obtenus, il ressort que les différents échantillons analysés est constitué de presque la totalité de son poids d'eau qui varie de 85,33 à 91.67% (DF, CV) respectivement. Par conséquent un pourcentage de matière sèche inférieure de 5 à 11 fois que sa teneur en eau avec des teneurs varient de 8.33 à 14.67%. Des mêmes constatations ont été enregistrés concernant les mélanges avec des valeurs varient de 8.33% à 14.67 % (CV, DF) respectivement.

Ces résultats pouvant être comparés avec des données de différents travaux réalisés dans le même contexte, D'après **Pak et al. (2004)**, qui ont travaillé sur les différentes variétés d'agrumes cultivées au nord de Bangladesh, les teneurs varient de 84.2 à 90.7%, qui sont similaires à nos résultats.

Les variations en teneur en eau de différentes variétés d'oranges peuvent être dues aux différences physiologiques et génétiques (**Del Caro et al., 2004**).

Cependant, les caractéristiques physicochimiques peuvent être changées d'une manière significative, qui dépendent d'un certains nombres de facteurs, ainsi de la diversité entre les variétés (d'orange et de citron) et les facteurs environnementaux (climat, fertilité du sol et degré de maturité).

II. Dosage des antioxydants

II.1. Acide Ascorbique

Les résultats concernant la teneur en vitamine C des fruits étudiés sont représentés sur la (figure. 21)

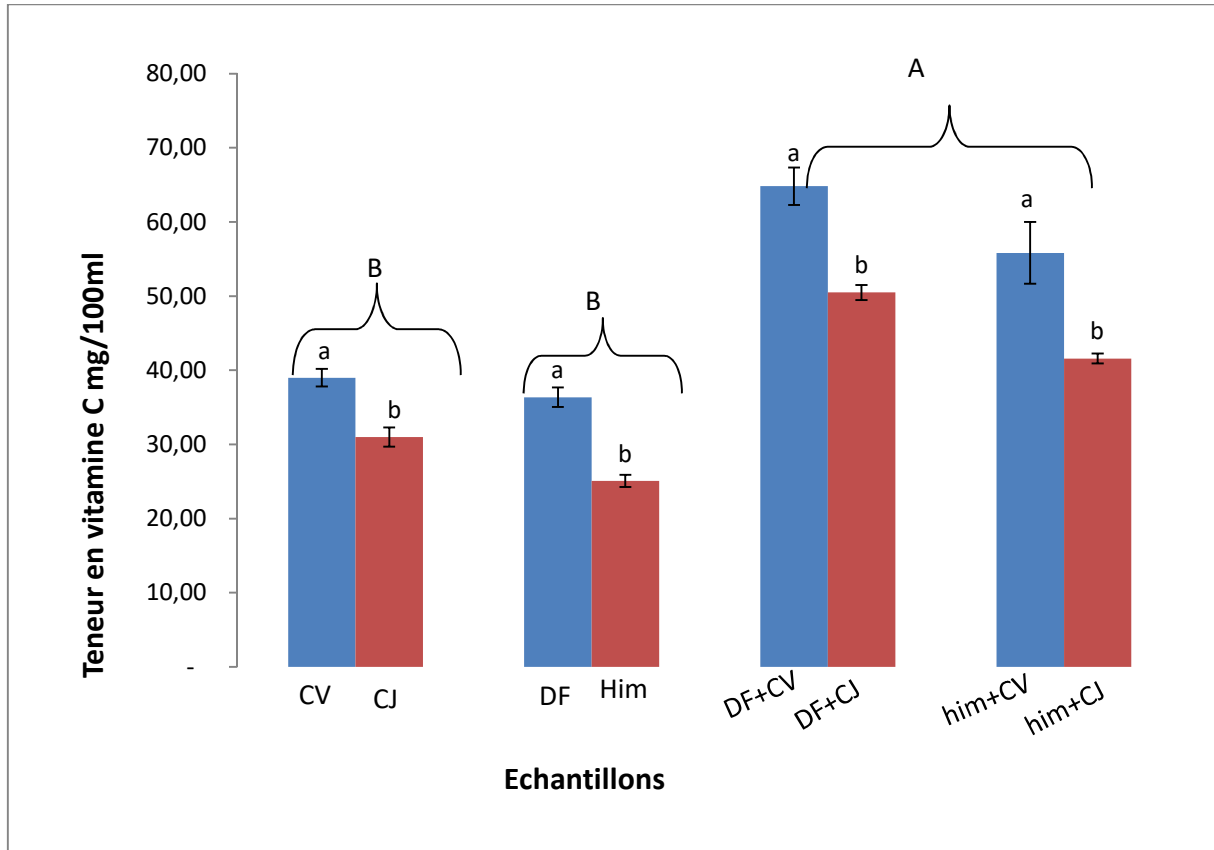


Figure 21: Teneur en acide ascorbique de la pulpe des échantillons analysés

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($a > b > c$)

A, B : effet de type d'échantillons

a, b : effet de variétés

les teneurs en acide ascorbique obtenus ne présentent pas de différences significatives ($p < 0,05$) selon le type d'échantillon (le citron et l'orange) avec des teneurs de 36.07 ; 30.72 mg/100ml (respectivement), à l'exception de mélanges qui contiennent 53.18 mg/100ml.

Les teneurs en AAc de la pulpe des variétés étudiées sont légèrement inférieures de celle rapportées par Gorinstein et al. (2001) pour la pulpe des variétés d'orange et de citron ainsi que la pamplemousse dont les valeurs varient de 47.7mg/100g ; 47.9mg/100g et de 35.1mg/100g respectivement

Les résultats, montrent que les teneurs de pulpe en acide ascorbique présentent des différences hautement significatives ($p < 0,05$). Tous Les mélanges marques une augmentation des teneur en vitamine C de 3.67 à 8.81%) par apport au teneur initial pour l'orange et citron.

Teneur en vitamine C des échantillons analysés sont significativement différentes ($P < 0,05$) au sein du même fruit, elle varie de 38.99 mg/100ml pour le citron, 36.36 (orange), 64.83(DF+CV), et 55.83mg/100ml Him-CV.

Alós et al., (2014), ont démontré que la pulpe des agrumes contient des teneur en vitamine C qui varient de (20 à 70 mg/100 g MF, ces résultats sont en concordance avec nos études.

Proteggente et al. (2002) ont obtenus des teneurs pour l'orange et pomplmousse de 46 à 52mg/100 g MF. Dans la même études, ils ont présentés des valeurs qui varient de 61(fraise) ; 26(fromboise) ; 45(Brocoli) ; 6 pour la (pomme, peche) et 10 mg/100 g MF pour la banane.

Moreno et al. (2005), ont obtenus des teneurs en acide ascorbique pour le jus d'orange varient de 39.67 à 44.67 mg/100ml

Selon **Rapisarda et al., (1999)**, les teneurs en acide ascorbique pour le jus d'orange varient de 417 à 781 $\mu\text{g/ml}$. **Kelebek et al., (2008)**, ont rapporté des teneurs en de jus d'orange 506.5 à 534.2 mg/l.

Lagha et al., (2013) ont notés des teneurs pour l'écorce de la double fine de 4mg EAA/g MF.

Guimarães et al. (2010) Ont cité des teneurs pour les différentes jus d'agrumes pamplemousse 97.31 ; citron jaune 417.44 ; citron vert 190.52 ; orange 523.89 $\mu\text{g/g}$).

La variabilité des teneurs en AA des fruits est influencée par les variations saisonnières ou annuelles, d'ensoleillement et de l'humidité, la variété du fruit, la position des fruits sur l'arbre et le degré de maturité. D'autres facteurs peuvent également être impliqués, notamment la sensibilité de l'acide ascorbique à l'oxydation par l'air et au milieu aqueux (Silva, 2005). Des études réalisées sur des fruits exotiques ont montré que la concentration en vitamine C est maximale lors de la phase de pré-maturation et diminue tout au long de la maturation (**Vinci et al., 1995 ; Iordanescu et al., 2012**).

II.2. Composés phénoliques

II.2.1. Polyphénols totaux

Les composés phénoliques sont largement distribués dans les agrumes. Ils contribuent aux qualités nutritionnelles et sensorielles des fruits et légumes ; ils sont responsables de leurs couleur, flaveur et goût

Les résultats de la teneur en composés phénoliques des fruits étudiés sont représentés sur (figure. 22)

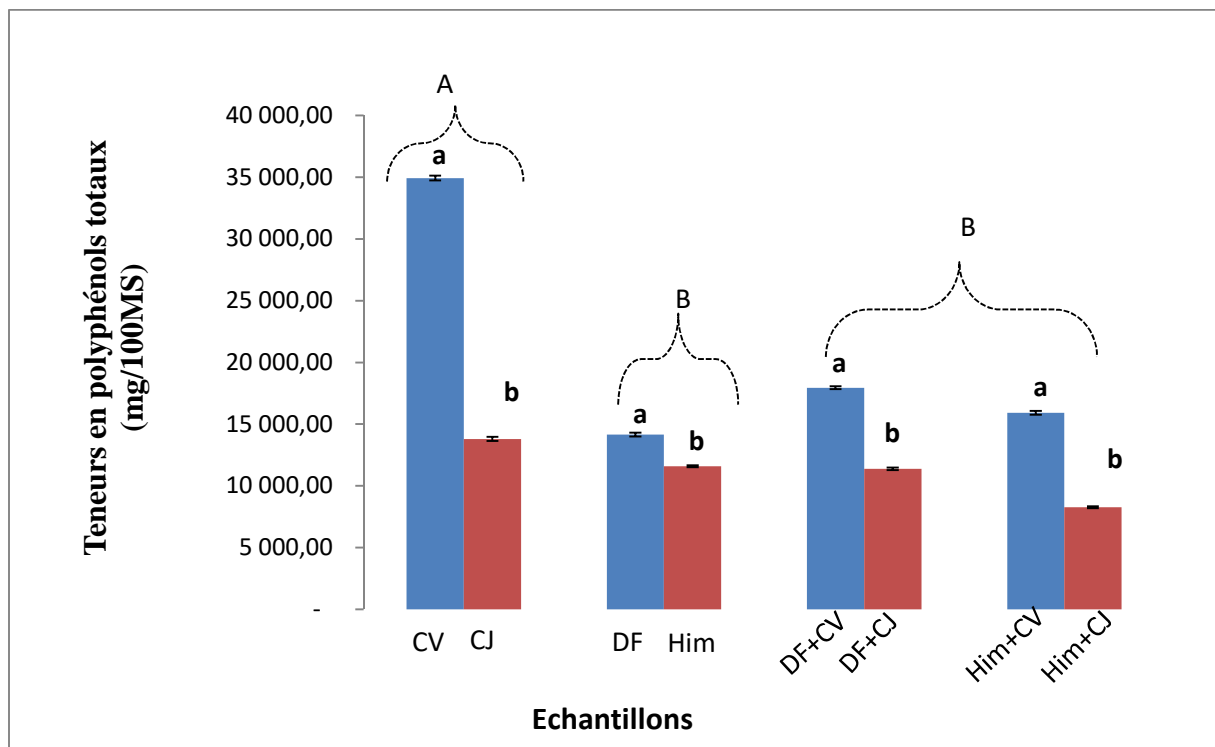


Figure 22 : Teneur en polyphénols des pulpes des fruits étudiés

Les teneurs en composés phénoliques totaux de pulpe des variétés d'orange et de citron ainsi que les mélange analysés présentent une différence significatives ($p < 0,05$) ; pour le citron a une valeur de 23776.75 mg/100g MS, excepté le mélange et l'orange qui ne présentent aucunes différences significatives à des valeurs (13378.85 ; 12874.71 mg/100g MS) respectivement.

Les teneurs en polyphénols totaux des variétés étudiés sont plus importantes que celles rapportées par **Gorinstein et al. (2001)**, dont les valeurs sont de 164(limon) ; 154 (orange) ; 135 mg/100g (pamplemousse) et ceux de **Tounsi et al. (2010)** pour le jus des différentes agrumes (784.67 orange amer ; citron 333 ; sanguine 255 ; et celle de mandarine 106.22 mg/l)

Des résultats similaires ont été obtenus par **Kamran et al. (2009)** (13220 à 22320 mg EAG/100g MS), et **Ghasemi et al. (2009)** pour les écorces des oranges douces (Washington, Sanguinelli et Valencia) a des valeurs qui varient de 13290 à 16000 mg EAG/100g MS et pour les fruits amère (Bigarade et Khosheii) des teneurs sont de 16470 à 22320 mg EAG/100g MS

La comparaison des deux différentes variétés d'orange par rapport aux mélanges montrent une différence hautement significative ($p < 0.05$). Les teneurs en polyphénols totaux sont élevées de 1.26% pour La DF-CV et de 1.37% Him-CV par rapport à la DF et Him respectivement.

Alors que les deux mélanges avec le citron jaune ne présentent aucune différence significative pour la Himline et citron jaune.

D'après nos études on constate qu'un mélange des deux variétés riche en PT nous donne une valeur élevée.

L'étude statistique montre une différence significative ($p < 0.05$) entre les différentes variétés d'après les résultats de la (figure. 29), le taux le plus élevé en polyphénols totaux au sein de même variétés est observé avec le citron vert 33748.68 mg/100gMS, DF 14189.55mg/100gMS tandis que le mélange révèle que les composés phénoliques sont plus élevés dans la DF-CV et Him-CV à des valeurs de 17951.43 à 15907.62 mg/gMS respectivement.

Nos données obtenues pour la pulpe des différentes variétés sont largement supérieures à celle de **Tsai et al., 2007** pour les jus de pamplemousse (rouge) et (blanc) est de $8,26 \pm 1,2$ et $5,62 \pm 0,5$ mg EAG/ml respectivement.

D'après l'étude de **Lagha et al. (2013)** la concentration des écorces et les feuilles de la double fine en polyphénols totaux est de 1228 à 1336 mg EAG /100g MS

Xu et al. (2008), ont montré des teneurs dans le jus de la variété Himline et citron qui sont de 1499.71 ± 16.53 et 751.82 ± 13.34 mg/l

Une autre étude réalisée par **Ghasemi et ses collaborateurs (2009)** sur l'écorce de 13 variétés de citrus, ont exhibé des valeurs qui varient de 104.2 ; 161.7 et 172.1 mg EGA/g MS d'écorce selon les variétés de *Citrus reticulata*, ces derniers sont supérieurs à nos valeurs

orange 14189.55mg/100g MS, similaire a ceux des mélange qui varient de 15907.62 à 17951.43 mg / 100g MS et inférieurs à ceux de citron (33748.68 mg/100g MS)

Guimarães et al. (2010). ont rapportés des teneurs en polyphenols pour le jus des différentes variétés d'agrumes pamplmousse 946 ; citron jaune 11.17 ; citron vert 9.01 ; orange 12.41 mgGAE/g).

Comparé a d'autre produits, les teneurs en composés phénoliques de pulpe des fruits étudiés sont plus importante que celle rapporté par **Shyamala et Jamuna. (2010)** pour les carottes et la betterave avec des valeurs de 250. 220 mg/100g respectivement. **Barbera et al. (1995)** ont rapporté des valeurs pour les épluchures de la figue de barbarie (*Oponotia ficus-indica*) 400mg/100g MS.

Les différences observées entre les résultats des différents travaux et ceux obtenus dans la présente étude peuvent être liées selon **krzak. (2002)** aux conditions de culture, la saison, la méthode d'extraction, le degré de maturation des fruits et les conditions de l'environnement, ces étude concorde avec celle de **Balasundramet al. (2005)** ; **Li et al. (2006)**. Cette différence des teneurs est peut être aussi expliquée par le fait que la méthode de Folin surestime la teneur en phénols totaux à cause des interférences de ce réactif avec d'autres composés réducteurs qui peuvent exister dans la solution (Singleton *et al.*, 1999) comme les sucres réducteurs (fructose, glucose...) et les acides organiques (vitamine C, acide citrique acide malonique...).

Le réactif Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique pour les composés phénoliques parce qu'il mesure la capacité de réduction de l'échantillon grâce à la capacité anti-oxydante à base de transfert électronique et, Ainsi, il peut être réduit par de nombreux composés non phénoliques Tels que la vitamine C, les sucres et les acides organiques (**Huang et al., 2005, Li et al., 2006**)

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 surestimation des polyphénols (**Ghafar et al., 2010**).

Pour éviter toute interférence des composés phénoliques avec d'autres substances (cires, chlorophylles, terpènes et composés non phénoliques) il est préférables de procéder à un traitement préalable des échantillons avec un solvant non polaire (hexane, benzène,

chloroforme ou éther) puis extraire les composés phénoliques avec un solvant polaire (acétone, méthanol, éthanol, eau,...ou un mélange de ces solvants) (Ribereau-Gayon,1968).

II.2.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une grande classe des composants polyphénoliques présent chez les végétaux ayant des effet bénéfiques sur la santé (Erdman et al., 2007). (figure. 23) représente les différentes teneurs en flavonoïdes des fruits étudiés.

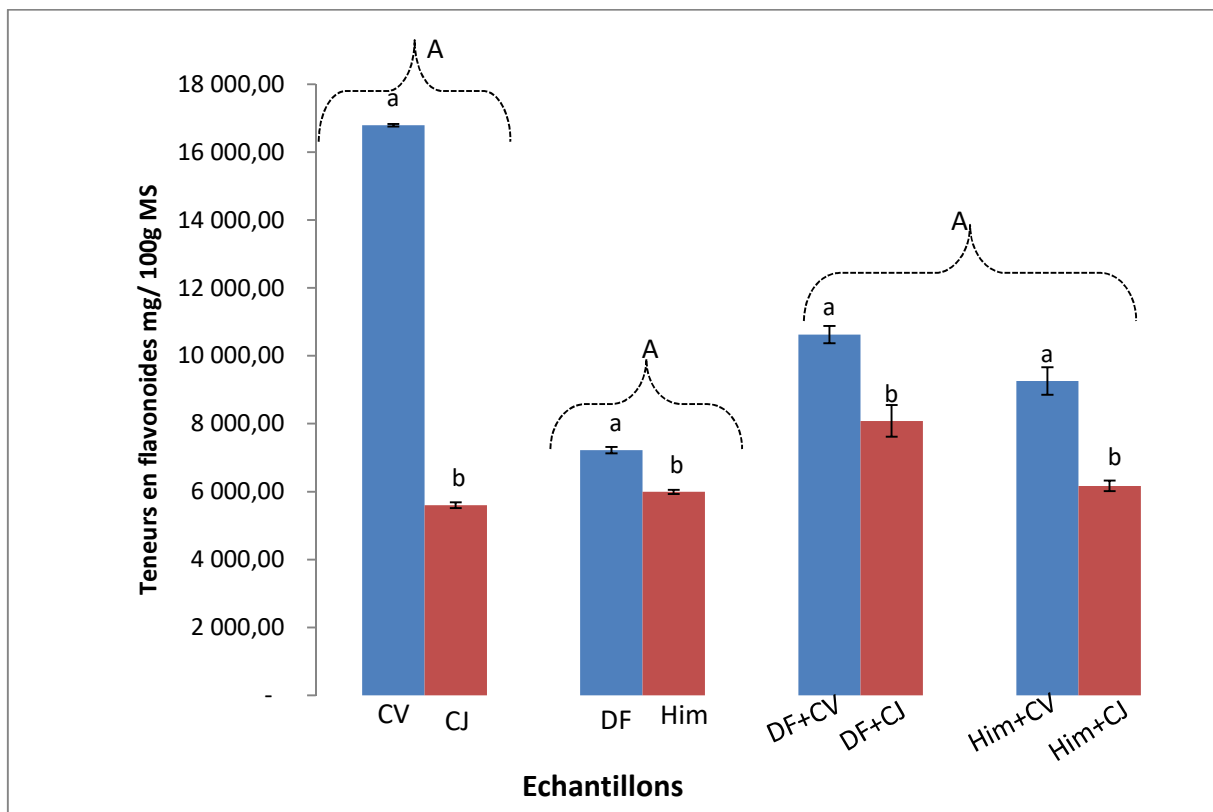


Figure 23 : Teneur en flavonoïdes des pulpes des échantillons étudiés

Les teneurs en flavonoïdes de pulpe ne présentent pas des différences significatives ($p < 0.05$). Les résultats enregistrés pour la les teneurs en flavonoïdes de pulpe des deux variétés d'oranges, citron ainsi que les mélanges analysées, sont représentés dans (figure. 23), montrent la valeur la plus élevée est observée dans le citron 11197.48 mg/100g MS, suivis de mélange et citron 8534.4 ; 6607.03 mg/100g MS respectivement.

Les teneurs de la présente étude sont largement inférieur a celle rapporté par **Oboh et Ademosun. (2012)** pour les écorces d'orange et pamplemousse 130 à 93 mg/100g.

Tounsi et al. (2010). Ont noté que les flavonoïdes dans les jus dans la mandarine et le citron constituaient les groupes le plus élevé 85,33 ; 82.01 mg EC L⁻¹ et pour l'orange amère 67,8 mg EC L⁻¹, et l'orange sanguine 34,68 mg EC L⁻¹.

L'étude statistique présente une différences hautement significatives ($p < 0.05$) concernant les mélange avec les différentes, le taux des flavonoïdes dans la DF-CV ; et DF-CJ sont augmenté de 1.47%; et 1.11% par apport a la DF , et de 1.54 % pour la Him-CV comparé à la Himline respectivement.

Les teneurs en flavonoides des variétés étudiés au sein de même fruits sont estimés avec une valeur de 16795.70 mg/100gMS (citron vert), 10627.24 mg/100g MS, (DF-CV), 9261.19 mg/100g MS (Him-CV), et 7221.41 mg/100g MS (DF).

Selon **Tsai et al., 2007** La teneur en flavonoïdes de jus de pamplemousse (rouge) et (blanc) est de $1,240 \pm 0,2$ et $1,29 \pm 0,2$ $\mu\text{g EQ/ml MF}$, respectivement.

Les teneurs de la présente étude sont supérieuresa celle rapportés par **Toor et Savage. (2005)**, qui ont obtenus des valeurs de 9.8 mg EQ/100g de la pulpe de la tomate alors que dans notre étude les valeurs sont élevés varient de 7221.41 à 16795.70 mg/100g MS. **Kubola et Siriamornpun. (2011)** ont rapporté une teneur qui varie entre 29.20 et 44.47 mg/g de pulpes de fruits Thailandais.

Del Caro et al. (2004), ont rapporté des teneurs largement inférieurs pour le jus des différents oranges.

D'après l'étude de **Lagha et al. (2013)** la concentration des écorces de DF en flavonoïdes est de $71 \pm 0,01$ mg EQ/100g MS, alors que celle des feuilles, est de $63 \pm 0,07$ mg EQ/100g MS, ce qui est légèrement inférieur aux concentrations en flavonoïdes de pulpes des fruits analysés au cours de cette étude.

Guimarães et al. (2010) Ont indiqué des teneurs pour le jus d'agrumes des différentes variétés 0.32 pamplemousse; 0.22 citron jaune ; 0.43 citron vert; 0.62 orange mg CE/g).

karoui etMarzouk. (2013) ont rapporté des teneurs de 136.91 ± 0.17 mg/l pour le jus de la bigarade.

Selon **Melo et al. (2006)** **Xu et al. (2008)**, la diversité des teneurs en flavonoïdes peut être due aux conditions environnementales (la lumière, climat, saison, et le soleil), le degré de maturation ainsi que la méthode analytique.

II.2.3. Flavonols

Elles sont essentiellement représentées par la quercétine. Les flavonols qui s'accumulent dans les tissus végétaux sont presque toujours sous la forme conjugués glycosylés (**Fraga., 2009**).

(figure. 24) représente les différentes teneurs en flavonols des fruits étudiés

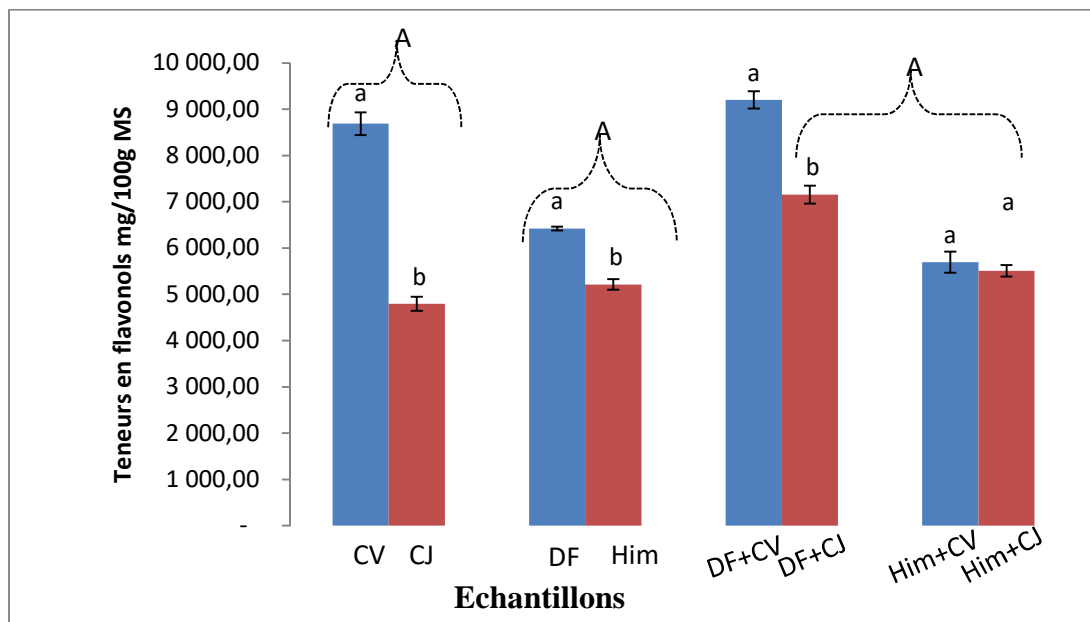


Figure 24: Teneur en flavonols des pulpes des fruits étudiés

Les teneurs en flavonols des échantillons analysés ne présente pas de différences significatives ($p < 0,05$) ; selon le type d'échantillon (ciron, d'oranges ainsi leur mélange) les teneurs varient de (6741.12 ; 5815.99 et 6890.54 respectivement).

Le mélange (DF-CV) est augmenté de 1,43% par rapport à DF uniquement. De même pour le mélange (DF- CJ) avec un taux de 1,11%.

Pour la Hamelin ce mélange est augmenté de 1,09 % avec le citron vert et de 1,05 % par rapport au le citron jaune.

Les teneurs obtenues dans notre travail sont largement élevées par rapport à celles de **Justesen et al. (1998)**, qui ont obtenu 2(pomme) 3.7(raisins) et 1.4 mg /100g (la tomate).

La teneur la plus élevée dans le cas de deux variétés de citron est obtenue avec le citron vert (8 687,46 mg/100g), alors que la teneur la plus faible est celle de citron jaune (4794,79 mg/100g).

Pour l'orange, la teneur la plus élevée est celle de la double fine (6420.89), alors que la plus faible est celle de Himlin (5 211,10 mg/ 100g).

La teneur en flavonols dans le mélange (DF-CV) est de 9201,49 mg/100g, qui est plus élevé que elle de DF-CJ (7154,94 mg/100g).

Il ressort de résultats des mélanges au sein de même fruits les, que les flavonols sont réponsus dans DF-CV a une teneur de 9201,49 mg/100g, et pour DF-CJ à une teneur de 7154.94 mg/100g.

Selon **lagha et al.**(2013), les teneur en flavonols de l'écorce et les feuilles de la double fine(0.71 ; 0.63mg eq/ g MS) sont largement inférieurs à celles de la présente étude

II.2.4. Tannins condensés

Les tannins sont des composés qui ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités (**Harborne, 1997**).

Les résultats de dosage des tannins sont présentés sur la (figure. 25)

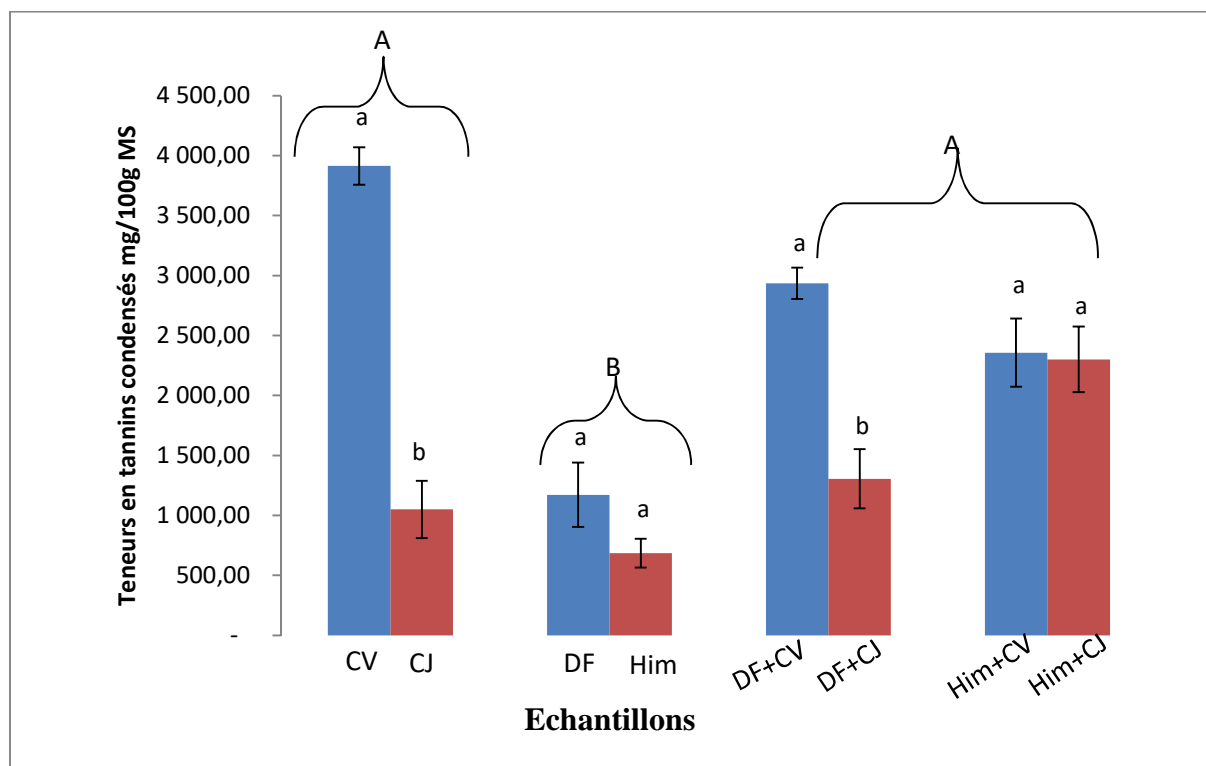


Figure 25 : Teneur en tannins condensé de la pulpe des échantillons analysés

Les tannins condensés pour les différents échantillons analysés présentent de différences significatives ($p < 0,05$) selon le type d'échantillon analysé, à l'exception des extraits de citron et de mélange qui ne présentent pas de différences significatives. Les teneurs les plus élevées sont obtenus avec les extraits de citron et d'orange (2481.98 et 2224.5 mg/100g MS respectivement), tandis que la plus faible a été obtenus avec celui d'orange (927.66 mg/100gMS).

Les teneurs en tannins condensés des mélanges (DF-CV) et (DF-CJ) sont augmentés de 2.50%, et de 1.11% respectivement par rapport à la DF. Et des taux d'augmentation en ces substances pour les deux mélanges : Him-CV et Him-CJ par rapport à la Himline sont de 3.44% et 3.36 % respectivement.

Selon les résultats obtenus, les teneurs les plus élevées en tannins condensés des variétés étudiés sont observées avec le citron vert (3913,90mg/100g), et Double Fine (1171.20 mg/100g).

Concernant les mélanges : le taux en tannins condensés de DF-CV est plus élevé que celui de DF-CJ, avec des teneurs respectives de 2935,41 et 1304,63 mg/100g.

Oluremi et al. (2007) ont rapporté que l'écorce d'orange renferme 46,3 mg EAT/100 g MS de tannis.

Les résultats obtenus par **Lagha et al. (2013)** concernant les tanins hydrosolubles, condensés et totaux pour l'écorce de différentes variétés sont de 4.48 à 16.28mg /g MS, 3.87 à 6.43mg /g MS et 4.96 à 6.78 mg /g MS, respectivement).

III. Activité Antioxydants

III.1. Pouvoir Réducteur

II.1.1. Méthodes au ferricyanure de potassium

Le pouvoir réducteur mesure la capacité d'un antioxydant à donner un électron (**Lim et Tee, 2007**), ces antioxydant sont des piègeurs de RL_s et agissent sur certains précurseurs peroxydes et empêchent ainsi la réaction en chaîne de la peroxydation (**Chang et al., 2007**).

Les résultats du pouvoir réducteur de la pulpe, des variétés analysées, exprimés en milligramme équivalents en acide gallique, sont représentés sur la (figure. 26)

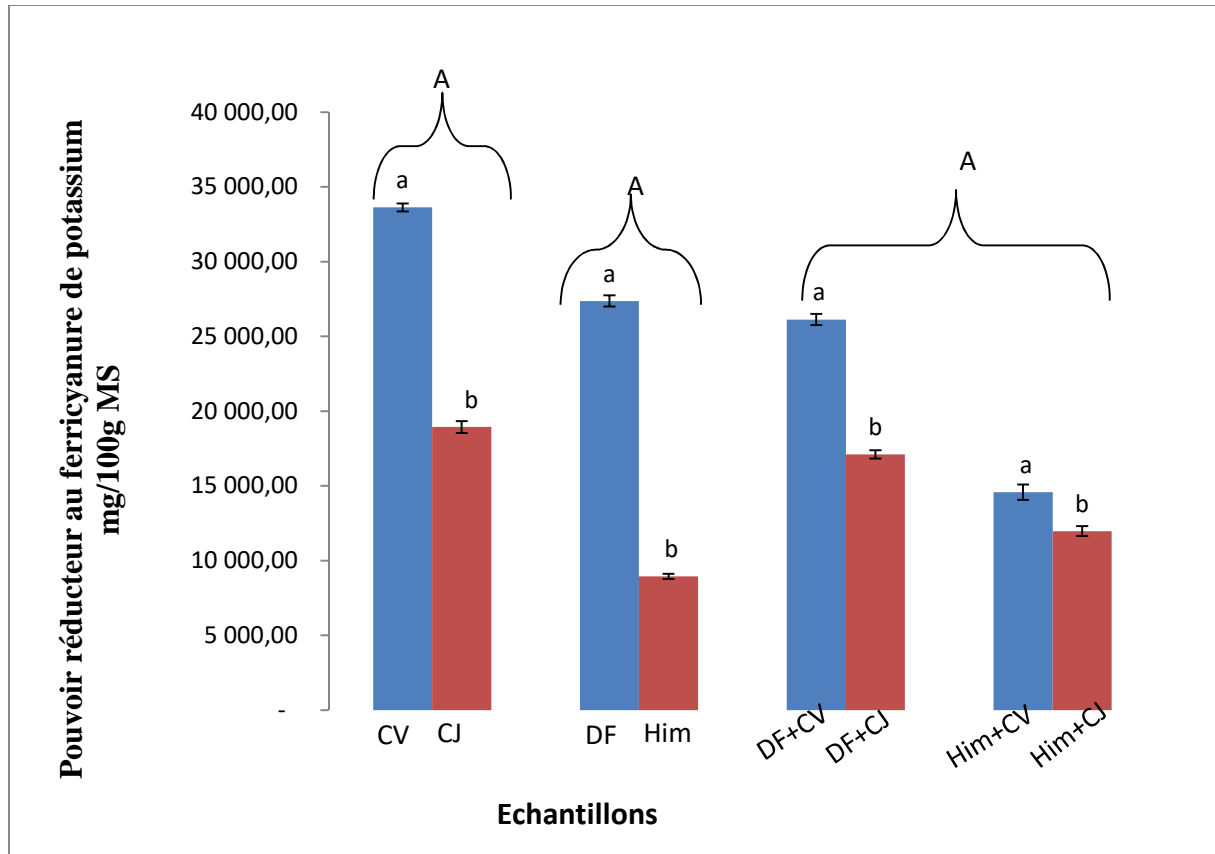


Figure 26 : Les teneurs en pouvoir réducteur de pulpe des fruits étudiés

Le pouvoir réducteur de la pulpe des différentes variétés ne présentent aucune différences significatives ($p < 0.05$) concernant le type d'échantillon (mélange, citron et orange).

les résultats montre globalement que le citron présente un pouvoir réducteur le plus élevé (26285.55 mg d'acide /100g) suivie de l'orange et de mélange (18037.08, et 17446.94 mg équivalent acide gallique/100g respectivement).

Proteggente et al. (2002). Dans leur étude sur quelques variétés de fruits et légumes ont rapporté des teneurs de pouvoir réducteur de 1181(l'orange), 829 mmol/100 g MF (pamplemousse), dans le même contexte il a obtenu 3352(fraise) et 164mmol/100 g MF (banane).

Le pouvoir réducteur des mélanges (Him-CV) et (Him-CJ) sont augmentés de 1.63%, et de 1.33% respectivement par rapport à la Himlin.

Il ressort de ces résultats également que la capacité réductrice au sein de mémé fruits sont indiqués pour le citron vert (33632.54 mg/100g), et Double Fine (27133.99 mg/100g), a propos les mélanges la capacité réductrice est marqué pour DF-CV (26132.05mg/100g), et Him-CV (14574.01mg/100g)

Guo et al. (2003) ont indiqué un potentiel antioxydant pour la pulpe d'orange et le citron qui varient de (1.89 ; 1.43mmol/100g) respectivement. La même étude à donner des valeurs de pouvoir réducteur pour l'aubépine, dates, mûre (13.42 ; 6.98 et 4.11mmol/100g respectivement).

selon **Xu et al., (2008)**, ont rapporté que le pouvoir réducteur dans le jus de variétés Himlin est de 899.31 ± 12.61 mg /l et citron 307.43 ± 14.37 mg/l.

karoui et Marzouk. (2013) Ont indiqué un pouvoir réducteur de 1.88 ± 0.05 mg/L pour l'écorce de la bigarade

Guimarães et al. (2010) Ont apporté des teneurs pour le jus des différentes agrumes pamplemousse 4.96 ; citron jaune 3.95 ; citron vert 6.07 ; orange 3.19 mg/ml.

Selon **Huang et al. (2007)**, l'activité anti oxydantes peut être liée aux processus de maturation et au métabolisme des polyphénols. Cette différence peut être expliquée par la variation de la nature du standard de quantification utilisé.

III.1.2. Méthode au molybdate d'ammonium

Le pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium obtenu à partir des extraits analysés est représenté dans la (figure. 27)

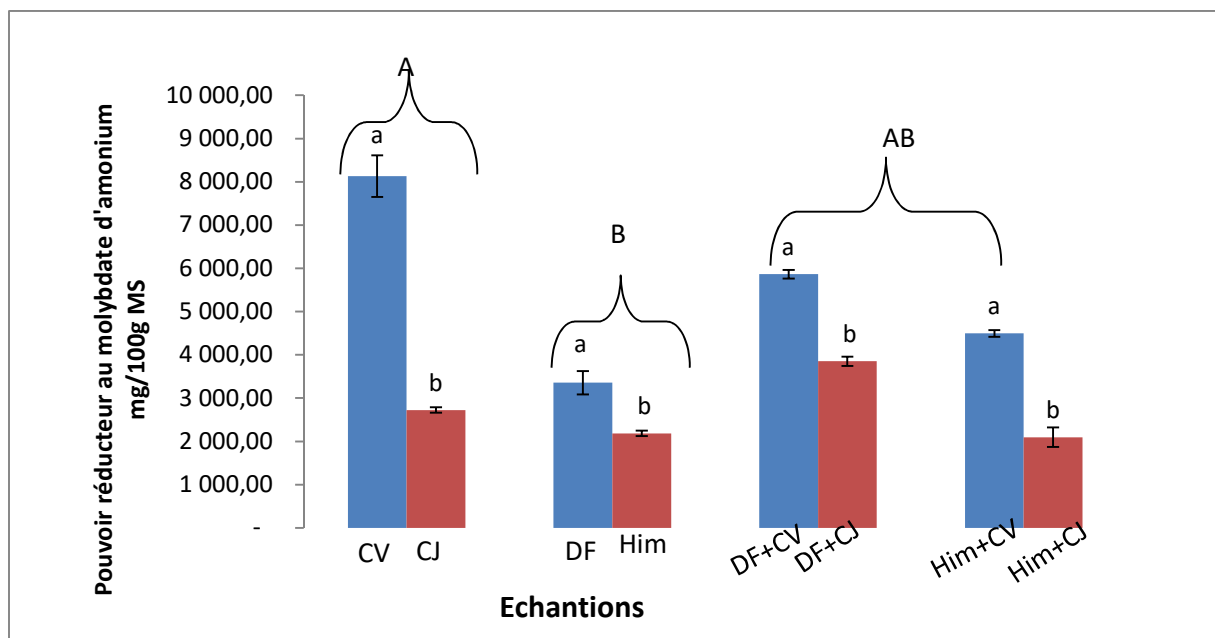


Figure 27 : Pouvoir réducteur au molybdate de la pulpe des fruits étudiés

Les pouvoirs réducteurs de la pulpe des différents échantillons analysés présentent des différences significatives selon le type d'échantillon ($p < 0.05$).

Les extraits de citron et de mélange présentent des pouvoir réducteurs plus élevés sans différences significatives (5426.61 ; 4076.60mg/100g MS). Alors que le plus faible est obtenu avec l'orange (2770.37 mg/100g MS)

Le pouvoir réducteur des mélanges (DF-CV) et (DF-CJ) sont augmentés de 1,74%, et de 1,14% par rapport a la Double Fine. et une augmentation de 2.05% (Him-CV) par rapport a la himlin

D'après les résultats obtenus au sein de même fruits la capacité réductrice des variétés étudiés sont indiqués pour le citron vert (8 128,41 mg/100g), et Doule fine (3 356,19 mg/100g), concernant les mélanges la capacité réductrice est marqué pour DF-CV (5864,10 mg/100g), et Him-CV (4494,38 mg/100g).

III.2. Pouvoir antiradicalaire (DPPH)

Le modèle de piégeage du radical stable DPPH est largement utilisé comme méthode d'évaluation de l'activité antioxydante dans un délai relativement court par rapport à d'autres méthodes. Les résultats illustrés sur la (figure. 28)

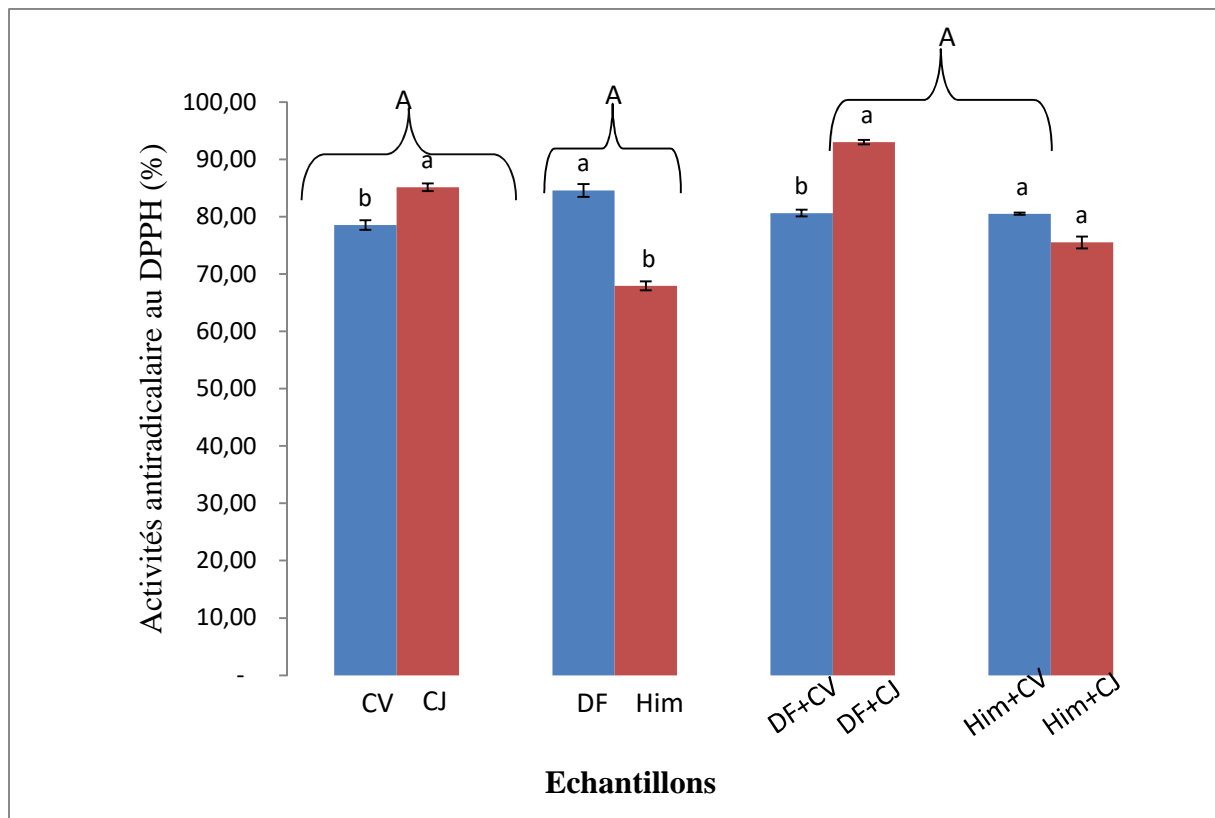


Figure 28 : L'activité antiradicalaire (DPPH) de la pulpe des fruits étudiés

les résultats de la présente étude ne montrent aucune différence significative ($p < 0.05$) selon le type d'échantillon (le mélange, le citron, et l'orange) la capacité antiradicalaire varie de 82.38, 81.83, 76.24 % respectivement.

Des études réalisées par **Tounsi et al. (2010)**, sur l'orange amer et sanguine, ont montré que la capacité antiradicalaire est de 96.1%, 90.21% respectivement.

Xu et al. (2008) rapportent que le jus de citron possède des activités antioxydantes de 60.24 ; 24.50 respectivement.

L'activité antiradicalaire des pulpes des différents mélanges avec les variétés initiales présentent des différences significatives ($p < 0.05$) pour la DF-CJ, ainsi que Him-CV avec une légère augmentation de 1.09 à 1.18 % respectivement.

D'après les résultats obtenus au sein de mêmes fruits l'activité antiradicalaire des variétés étudiées sont indiquées pour le citron jaune (85.14%), et Doule fine (84.85%), concernant les mélanges l'activité antiradicalaire est marquée pour DF-CJ (93.01%), et Him-CV (80.52%).

karoui et Marzouk. (2013) ont rapporté des teneurs de 97.05% pour le jus de la bigarade. **Selon Gianar et al. (2014)**, l'activité antiradicalaire de la pulpe et la peau de pomme (Italie) varie entre 54,4% à 98% respectivement.

Siddhurajuet al. (2002), ont indiqué que l'activité antiradicalaire de la pulpe de caroubier (*Cassia fistula* L) est de 15.7%.

Guimarães et al. (2010) ont apporté des teneurs pour le jus des agrumes de 8.38 (pamplemousse) 6.41 (citron jaune), 12.47 (citron vert), et 5.30mg/ml (orange).

Moreno et al. (2005), l'activité antiradicalaire de jus d'orange soumis à varie de 163.91 à 206.90 ml/g

Des études réalisées par **Giomaro et al. (2014)** ont rapporté que la pulpe des pommes possède une activité radicalaire de 54.4%.

Rapisarda et al. (1999) ont apporté des valeurs pour le jus d'orange qui varient de 24.28 à 80.01 μ L).

L'activité antiradicalaire peut être affectée par de nombreux facteurs tels que, la polarité des solvants et la procédure d'extraction, la variation des espèces utilisées (**Ismail et al., 2004**).

III.3. Activités antiradicalaire a l'ABTS

Selon **Re et al., (1999)**, la méthode de piégeage du radical ABTS est une excellente méthode pour déterminer l'activité antioxydante pour une large diversité des substances, l'activité antiradicalaire à l'ABTS des extraits analysés est représenté sur la (figure. 29).

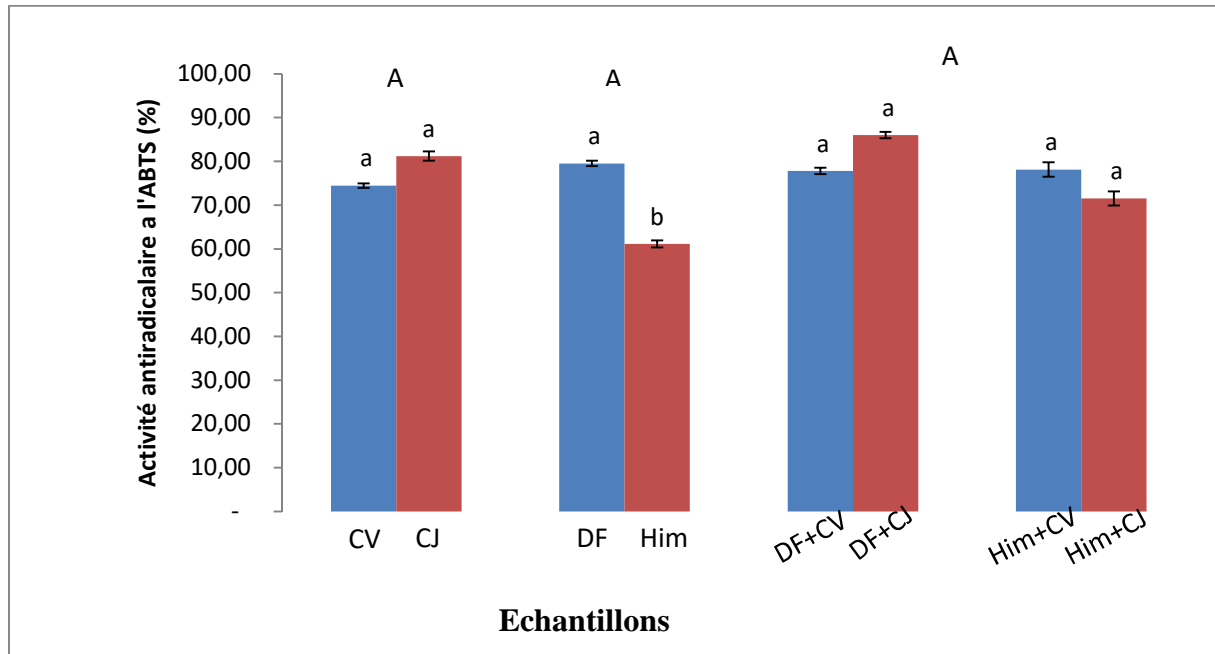


Figure 29 : Activités antiradicalaire à l'ABTS des échantillons analysés

Les résultats de la présente études ne montre aucune différence significative selon le type d'échantillon (mélange, citron et orange) avec des activités antiradicalaires de 78.36 ; 77.83 ; 70.33 % respectivement.

Selon **Barreca et al. (2001)**, le jus d'orange a montré la capacité de réprimer jusqu'à 75% du radical libre, Avec une inhibition de 21,3.

Ya une légère augmentation pour le mélange (Him-CV) et de 0,78% et 0,85 % pour Him-CJ par rapport à la himlin

L'étude statistique des variétés ne présente aucune différence significative ($p < 0.05$). Entre les variétés de citron (citron vert, citron jaune), ainsi les mélanges. Tandis que une différence significative ($p < 0.05$) est enregistrés pour la Double Fine et Himline avec des teneurs qui varient de 79.53 à 61.13% respectivement.

Ramful et ses collaborateurs (2011) qui ont travaillé sur le fruit du *Citrus*, ont obtenus des activités antiradicalaires qui varient de 2.92 à 5.63 μmol équivalent Trolox/g matières sèche. Ces différences peuvent être expliquées par la présence des molécules anti-oxydantes différentes au niveau des feuilles et des fruits et à des taux différents (**Ramful et al., 2011**).

IV. Corrélation entre les antioxydants

Les différentes corrélations sont présentées dans le tableau V

Tableau V : Matrice de corrélation entre les différents paramètres (antioxydants et activité antioxydante) de pulpes des fruits étudiés.

Variables	PT	Flavonoïdes	flavonols	tannins	PR	DPPH	Molybdate	ABTS	Acide ascorb
PT	1	0,947	0,655	0,761	0,795	0,650	0,927	0,666	0,089
Flavonoïdes	0,947	1	0,792	0,872	0,751	0,804	0,977	0,813	0,325
flavonols	0,655	0,792	1	0,719	0,750	0,741	0,848	0,754	0,597
tannins	0,761	0,872	0,719	1	0,598	0,741	0,848	0,769	0,510
PR	0,795	0,751	0,750	0,598	1	0,547	0,802	0,599	0,208
DPPH	0,650	0,804	0,741	0,741	0,547	1	0,834	0,993	0,629
Molybdate	0,927	0,977	0,848	0,848	0,802	0,834	1	0,854	0,441
ABTS	0,666	0,813	0,754	0,769	0,599	0,993	0,854	1	0,666
Acide ascorb	0,089	0,325	0,597	0,510	0,208	0,629	0,441	0,666	1

D'après l'étude statistique la corrélation de :

- ❖ [0 à 0.3] : présente une faible corrélation.
 - ✓ Polyphénols totaux et acide ascorbique ($r=0.089$)
 - ✓ Flavonoïdes et acide ascorbique ($r=0.325$)
 - ✓ Pouvoir réducteur et acide ascorbique ($r=0.208$)

- ❖ [0.3 à 0.6] : présente une corrélation moyenne.
 - ✓ Molybdate et acide ascorbique ($r=0.441$)

- ❖ [0.5 à 1] : présente une bonne corrélation.
 - ✓ Polyphénols totaux et flavonoïdes ($r=0.947$)
 - ✓ Polyphénols totaux et pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium ($r=0.795$)
 - ✓ Polyphénols totaux et pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium ($r=0.927$)
 - ✓ Flavonoïdes et flavonols ($r=0.792$)
 - ✓ Flavonoïdes et tannins condensés ($r=0.872$)
 - ✓ Flavonoïdes et activité antiradicalaire (DPPH) ($r=0.804$)
 - ✓ Flavonoïdes et pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium ($r=0.977$)
 - ✓ Flavonols et pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium ($r=0.848$)

V. Analyse statistiques des résultats

❖ Résultats d'Analyses principales des composants (ACP) et classification ascendante hiérarchique (CAH).

Une fois que les informations de tous les paramètres d'analyse dont les fruits ont été collectées, une étude statistique a été effectuée pour voir la distribution qui a suivi les données. L'analyse des composantes principales (ACP) a été considérée comme une option en raison de son utilité dans l'établissement de relations entre variables. Ainsi, la (figure. 30) montre le biplot de deux premiers composants principaux qui expliquent 88,51% de la variance totale dans les données recueillies à partir des fruits étudiés.

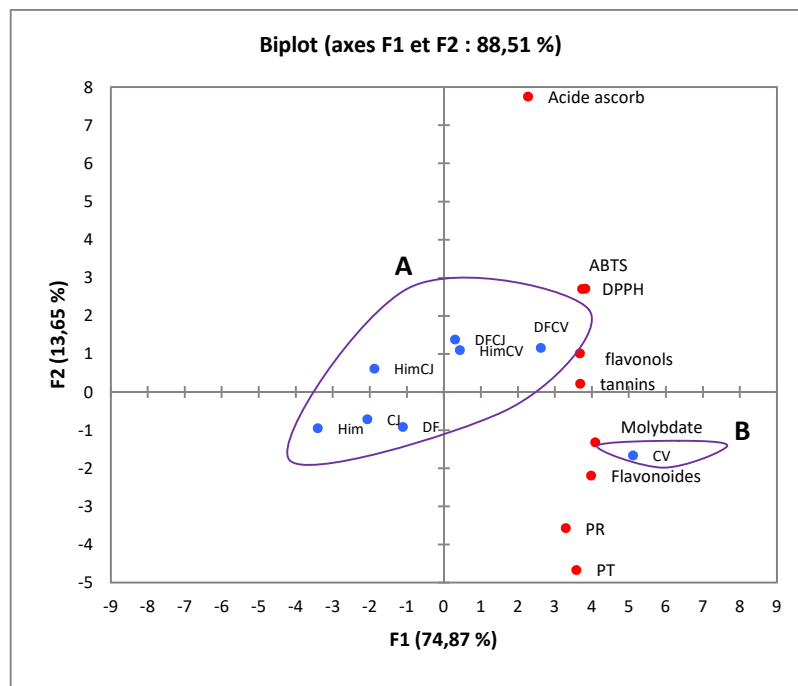


Figure 30 : Distribution des variables révélées à partir de l'ACP de huit échantillons étudiés

L'analyse statistique des données a été effectuée sur une matrice constituée de neuf variables et huit échantillons, soit 9 variables et 8 individus. Le logiciel statistique XLSTAT 2016 a été utilisé pour le traitement des données.

La Figure 37 : montre la projection de huit échantillons constitués d'extraits de pulpe des fruits étudiés (CV, CJ, DF, Him, DF-CV, DF-CJ, Him-CV, Him-CJ). Elle montre une bonne

répartition des cultivars traduisant ainsi une diversité existante au sein des échantillons étudiés.

L'analyse en composantes principales permet de déterminer deux groupes :

Groupe A : comprends sept échantillons : DF, CJ, Him-CJ, Him, DF-CJ, Him-CV, DF-CV. dont il englobe trois sous classe : (DF, DF-CV) ; (Him, Him-CJ) ; et (Him-CV, CJ, DF-CJ)

Groupe B : comprend la variété : CV

Pour mieux apprécier la diversité entre les huit échantillons de différents fruits selon la teneurs en Polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols, tannins condensés , activité antioxydante <<DPPH et ABTS>> et pouvoir réducteur <<ferricyanure de potassium, molybdate d'ammonium), nous avons procédé à une classifications ascendante hiérarchique (CAH) sur la base de chacune de ces neuf variables et les résultats sont présentés sur le dendrogramme suivant (figure. 31)

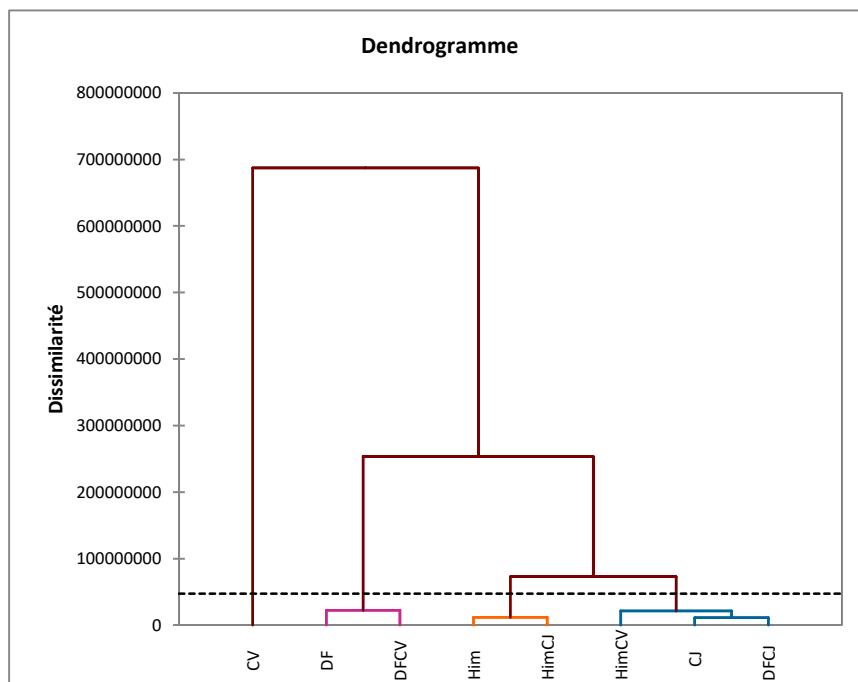


Figure 31 : Dendrogramme de la classification hiérarchique des échantillons étudiés

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Les *Citrus* « agrumes » sont une source fiable des principes actifs connus pour son pouvoir antioxydant, et leurs propriétés thérapeutiques. Ces propriétés sont recherchées dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressées sur l'extraction des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydant (activité antiradicalaire à l'ABTS et au DPPH, ainsi que les pouvoirs réducteurs au molybdate d'ammonium et ferrocyanure de potassium) et au dosage des antioxydants (acide ascorbique), contenus dans la pulpe d'orange et citron ainsi leur mélange. Ces couples d'activités biologiques ont été choisies pour leurs rôles primordiaux dans la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires et ses complications graves qui menacent la santé publique, et constituent la première cause de décès à travers le monde.

La description pomologique des fruits d'agrumes montre des différences entre les variétés étudiées de point de vue morphologique, pondéral, ainsi qu'en taux d'humidité et matière fraîche, ces différences sont la conséquence du patrimoine génétique et par le site géographique. Généralement, les variétés d'orange et citron possèdent un taux d'humidité élevés à 86.33 (himline), et 91.67% (CV)

Les résultats du dosage des antioxydants indiquent que la teneur en acide ascorbique varie de 25.09 (Him), à 64.83 (DF-CV) mg/100ml respectivement

La détermination quantitative des extraits phénoliques de pulpe d'agrumes a révélée un contenu riche en polyphénols, flavonoïdes, flavonols, et tannins, des teneurs sont de l'ordre de 8 271.74(Him-CJ) à 33 748.68 (CV) mg/100g, 5599.27(CJ) à 16 795.70(CV) mg/100g, 4794,79(CJ) à 9 201,49 mg/100g(DF-CV), et de 684,13(Him) à 3913,90 (CV)mg/100g respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits étudiés a été évaluée en utilisant quatre méthode : piégeage du radical libre DPPH avec un pourcentage de réduction de 67.92 (Him) à 93.01%(DF-CJ), l'activité anti-radicalaire à l'ABTS varient de 61.13(Him) à 86 %(DF-CJ), tandis que le pouvoir réducteur (ferricyanure de potassium et molybdate d'amonium) avec une capacité réductrice de 8 940,17(Him) à 33 632,54(CV) mg/100g et de 2 095,59 (Him-CJ) à 8

Conclusion

128,41(CV) mg/100g. Ces résultats indiquent que la pulpe d'agrumes apparait comme un réservoir d'antioxydant susceptible d'être utilisés dans la lutte contre les radicaux libres.

Les résultats de cette étude nous permettent de conclure que la pulpe des agrumes étudiés et leur mélange constituent une excellente source de différents antioxydants,

En perspectives, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur la pulpe de *Citrus*, et de faire l'association d'extrait de pulpe d'orange et de citron.

il serait donc intéressant de pousser et approfondir ce travail par :

- L'étude d'autres espèces d'agrumes.
- Utilisation des autres solvants d'extraction autre que l'éthanol
- L'évaluation des activités antibactériennes de la pulpe
- Caractérisation des composés phénoliques en utilisant des méthodes plus précises comme HPLC, LC-RMN pour identifier les composés bioactifs.

Refference bibliographique

Références bibliographiques

A

Abushita, A.A., Daood, H.G., Biacs, P.A., 2000. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *Journal of Agricultural and food Chemistry* 48, 2075-2081.

Adedapo Adeolu A , Jimoh Florence O , Afolayan Anthony J , Masika Patrick J.(2008).Antioxidant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*.*Complementary and alternative medicine*, (8):54.

Aruoma, O.I. (2003). Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in food plants. *Mut. Res*,9(20):523-524.

B

Balasundram N., Sundram K., Samman S. 2005. Phenolic compound sinplants and agri industrial by products: Antioxidant activity, occurrence , and potential uses, *journal of Food Chemistry*. PP. 1.

Balasundram, N., Sundrum, K., Sammer, S., 2006. Phenolics compound in plants and agro-industrial by-product: Antioxydant activity, occurrence and potential uses. *Food Chemistry* 99, 191–203

Barbera, G., Inglese, P., Pimpenta-Barrios, E., 1995. Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear. *FAO Plant Production and Protection Division*. Pp: 120-136.

Barboni T. (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie ;Thèse doctorat ; Spécialité : Chimie théorique, physique et analytique ; Università de Corsica – Pasquale Paoli ; pp 287.

Beecher, G.R., 2003. Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake. *American Society for Nutritional Sciences* 133 (10), 3248-3254.

Belajova, E., Suhaj, M., 2004. Determination of phenolic constituents in citrus juices: Method of high performance liquid chromatography. *Food Chemistry* 86, 339-343.

Benavente-García, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuno, A., Del-Rio, J.A., 1997. Uses and proprieties of Citrus flavonoides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 4505-4515.

Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K.V., 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a review. *Annals of Botany* 91, 179-194.

Bermond, P., 1990. Biological effects of food antioxidants. In: Hudson, B.J.F. (Ed.). *Food antioxidants*. Ed. Elsevier Science publishing Co. inc:NY. Pp: 193-251.

Bocco, A., Cuvelier, M.E. Richard, H., Berset, C. (1998). Antioxydant Activity and Phenol composition of Citrus Pell and Seed Extracts. *J. Agric. Food Chem*, 46(6): 2123-23.

Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier Technique et documentation, Paris. Pp : 227-401.

C

Chang, H.C., Huang G.J., Agrawal, D.C., Kuo, C.L., Wu, C.R., Tsay, H.S., 2007. Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as “Gusuibu”. *Botanical Studies* 48, 397-406.

Christophe, P. & Christophe S. (2011). *Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l’humain. Edition Springer*, p 84.

G

Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, M.A., 2009. Antioxydant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (3), 277-281.

Gorinstein S.,1, Martin-Belloso, O., Park, Y.S., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., LiAbam, I., Trakhtenberg, S., 2001. Comparison of some biochemical characteristics of different citrus Fruits. *Food Chemistry* 74(3), 309–315.

Gülçin I., Oktay M., Kireççi E., Küfrevioğlu Ö.I. (2002). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise(*Pimpinellaanisum L*) seed extracts. *Food chemistry*, **83**:371-382.

Gulcin I., Oktay M., Kufrevioglu O. I., Aslan A. (2002). Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology* 79: 325–329.

D

Dacosta, E., 2003. Les phytonutriments bioactifs. Ed. Yves Dacosta, Paris. Pp : 317-322.

Del Caro A., Piga A., Vacca V. et Agabbio M. 2004. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*.84 : 99-105

Dipak kumar paul and Ranajit Kumar Shaha. (2004). Nutrient, Vitamins and Manirals content in common citrus Fruits in the northern region of Bangladeash. *Pakistan Journal of Biological sciences*. 238-242.

Di-Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A.A., Capasso, F., 1999. Flavonoids: Old and New Aspects of a class of Natural therapeutic drugs. *Life Sciences* 65 (4), 337-353.

Duan L., Guo L., Liu E . H. & Li P. (2014). Characterization and classification of seven citrus herbs by liquid chromatography-quadrupole time-of- flight mass spectrometry and genetic algorithm optimized support vector machines. *J .chromatogr A*. 1339:27-118.

Duan L., Guo L., Liuu K-, Li E.H. & Li P.(2014). Characterization and classification of seven citrus herbs by liquid chromatography- quadrupole time-of- flight mass spectrometry and genetic algorithm optimized support vector machines . *J chromatogr A* . 1339 : 27-118.

E

El-Nawawi, S.A., 1995. Extraction of citrus glucosides. *Carbohydrate Polymers* 27(1), 1-84

Erdman J- w., Balentine D., Arab L., Beecher G., Dwyer J T., Folts J., Harnly J., Hollman P., Keen CL., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G. et Burrowes J.(2007). *Flavonoids and Heart Health : Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC1-4. American Society for Nutrition*. 137: 718S-737.

Erlund, I., Meririnne, E., Alfthan, G., Aro, A., 2001. Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. *The Journal of Nutrition* 131, 235–241.

F

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.

Fraga, C. G. (2009). Plant phenolics and human health : Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. *John Wiley & Sons Edition*, pp 5-13.

Froehlicher T., Hennebelle T., Martin-Nizard F., Cleenewerck P., Hilbert J.L., Trotin F., Grec S. (2009). Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts. *Food Chemistry* 115: 897–903.

G

Garg, A., Garg, S., Zoneveld, L.J.D., Singla, A.K., 2001. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapie Research* 15(8), 69-655.

Ghedira, K., 2005. Les flavonoides: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois et thérapeutique. *Phytothérapie* 17(4), 162-169.

Gil-Izquierdo, A., Gil, M.I., Ferreres, F., Tomàs-Barberà, F.A., 2001. In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 1035-1041.

Giomaro, G. Karioti, A. Bilia, A. R. Bucchini, A. Giamperi, L. Ricci, D. and Fraternali, D. (2014). Polyphenols profile and antioxidant activity of skin and pulp of a rare apple from Marche region (Italy). *Chemistry Central Journal*.

Gollouin F., Tone lliN. 2013. Des fruit e t des graines comestib le du monde entier. Edition Brigitte Peyrot Poos, Paris Lavoisier SAS.PP. 186-195.

Goulas, V., Manganaris, G.A., 2012. Exploring the phytochemical content and antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry* 131, 39-47.

Guo. C. Yang. J. Wei. J. Li. Y. Xu. J. Jiang. Y. (2003). Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutrition Research* 23: 1719–1726

H

Harborne J. B. Recent advances in chemical ecology. *Nat Prod Rep* 1997; 14: 83-98.

Harris G.G., Brannan R.G. (2009). A preliminary evaluation of antioxidant compounds, reducing potential, and radical scavenging of pawpaw (*Asimina tribloba*) fruit pulp from different stages of ripeness. *LWT - Food Science and Technology*, 42: 275–279.

Hendrix, C. M et Redd, J. B. 1995. Chemistry and Technology of *Citrus* Juices and Fruit Beverages. *Blackie Academic & Professional*, 12 : 53-87.

Heim, E.K., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 13, 572-584.

Heinonen M.(1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds; *J. Agric. Food Chem.*, **47**: 3954–3962.

Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Bertrais, S., Mennen, L., Malvy, D., Roussel, A.M., Favier, A., Briançon, S., 2004. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Archives of Internal Medicine* 164(21), 2335-2342.

Huang D, Boxin O, Prior RL (2005) The chemistry behind antioxidant capacity assay. *J Agricult Food Chem.* 53:1841–1856.

Huang. R. Xia. R. Hu. L. Lu. Y. Wang. M. (2007). Antioxidant activity and oxygen scavenging system in orange pulp during fruit ripening and maturation. *Scientia Horticulturae* 113: 166–172.

I

Iordanescu, O., Alexa, E., Roxana, M., Mariana-Atena, P., 2012. Bioactive compounds and antioxidant properties at different maturity stages of apple cultivars from Romania. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 10 (1), 147-151.

Ismail A., Marjan Z .M., Foong C.W . 2004. Totalantioxidant activity and phenolics content in in selected vegetables. *Journal of Food Chemistry*, 87: 581-586.

K

Kamran, G., Youcef, G., Ebrahimzadeh, M.A., 2009. Antioxydant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (3), 277-281

Kamran Khan, M..2010. Polyphénols d'Agumes (flavanones) : extraction de glycosides de la peau d'orange, synthèse de métabolites chez l'homme (glucuronides) et étude physico-chimique de leur interaction avec la sérum albumine. These de doctorat.Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, France. Pp : 16.

karimi E., Oskoueian E., Hawa Z.J.(2012). Phenolic compounds choraetrization and biological activities of citrus aurantium bloom molecules; **14:** 1203-1218.

Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K., Nonomura-Nakano, M., Nesumi, H., Yoshida, T., Sugiura, M., Yango, M., 2001. Quantitative Study of Fruit Flavonoids in Citrus Hybides of testing antioxidative activity of Oregano essential oil. *Food Chemistry* 85, 633-640.

Karoui. I. J. and Marzouk. B. (2013). Characterization of Bioactive Compounds in Tunisian Bitter Orange (*Citrus aurantium* L.) Peel and Juice and Determination of Their Antioxidant Activities

Kelebek. H. Canbas. A. Selli. S. (2008). Determiration of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) grown in Turkey. *Food Chemistry* 107 :1710–1716.

Kuboma J, Siriamornpun J. (2011). Photochemical and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*. 127 : 1138-1145.

Krzak L. (2002). Les vertus de la pomme : mythe ou réalité *Dieta*. 29 : 27-28.

L

Li B.B., Smith B., Hossain M.d.M. 2006. Extraction of phenolics from citrus peels: Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48: 182–188.

Li-ying N., Ji-hong W., Xiao-jun L., Fang C., Zheng-fu W., Guang-hua Z. et Xiaosong H. 2008. Physicochemical Characteristics of Orange Juice Samples From Seven cultivars. *Agricultural Sciences in China*. 7(1): 41-47.

M

Maisuthisakul P., Suttajit M., Pongsawatmanit R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry* 100 : 1409-1418.

Mélo E. A., Lima V. L. A. G., Maciel M. I. S. (2006). Polyphenol, Ascorbic Acid and Total Carotenoid Contents in Common Fruits and Vegetables Teores de Polifenóis, Ácido Ascórbico e Carotenóides Totais em Frutas e Hortaliças Usualmente Consumidas. *Braz. J. Food Technol.* 9, 2, p. 89-94.

Melo E., Lima V.L.A.G. et Maciel M.I.S. (2006). Polyphenol, ascorbic acid and total carotenoids contents in common. Fruit and vegetables. *Brazilian Journal of Food Technology*. 9(2) : 89-94.

Mezadri T., Villano D., Fernández-Pachon M.S., García-Parrilla M.C., Troncoso A.M. (2008). Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. *Journal of Food Composition and Analysis* 21 : 282– 290

Moufida Saidani Tounsi,a* Wissem Aidi Wannes,a Ines Ouerghemmi,a Sabrine Jegham,a Yosra Ben Njima,a Ghaith Hamdaoui,a Hassene Zemnib and Brahim Marzouka. (2010). Juice components and antioxidant capacity of four Tunisian Citrus varieties: Society of Chemical Industry. 91: 142–151

Lagha-Benamrouche S., Madani K. 2012. Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Preliminary results: *Journal of Biotechnologies*, 723-730.

Leroy J.F. 1968. Les agrumes. In : Les fruits tropicaux et subtropicaux . Ed. Presses Universitaires de France : 61-77.

Lim, T.T., Tee, J.J., 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits : A comparative study. *Food Chemistry* 103, 1003-1008.

Li-ying, N., Ji-hong, W., Xian-jun, L., Fang, C., Zheng-Fu, W., Guang-Hua, Xiaosang H., 2008. Physicochemical characteristics of orange juice sample from seven cultivars. *Agriculture science in China* 7 , 41-4

M

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Journal of Clinical Nutrition*. 79 (5), 727-747.

Manthey, J.A., Grohmann, K., 2001. Phenols in Citrus peel byproducts: concentration of hydroxycinnamates and polymethoxylated flavones in citrus peel molasses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (7), 3268-73.

Michael M. et Lucy B. 1998. low desert citrus varieties. The university of Arizona. Publication A-Z, 1001 : 1-6.

Moreno. C. S. Plaza. L. Martiánez. P. E. Ancos. B. D. Beloso. O. M. and Cano. M. P.(2005). Impact of High Pressure and Pulsed Electric Fields on Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Orange Juice in Comparison with Traditional Thermal Processing. *Foods Science and Technology*. 53, 4403–4409.

N

Nijveldt, R.J., Nood, E., Hoorn, D.E., Boelens, P.G., Norren, K., Leeuwen, P.A., 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition* 74, 418-425.

O

Ortiz M. J ., Dugo G. et Di Giacomo A. 2002. Botany : taxonomy, morphology and physiology of fruits, leaves and flowers. In: *Citrus: The Genus Citrus* . Ed. Taylor & Francis, 16-35.

Ordonez A.A.L, Gomez J.D, Vattuone M.A, Isla M.I.(2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistr* , (97) :452-458.

Okwn D.E., Em e nike , I.N. 2006. Evaluation of phytonutrients and vitamins contents of Citrus fruits. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Science* 1: 1-6.

Ollitrault, P., Dambier, D., Froelicher, Y., Luro, F., Cottin, R., 2000. La diversité des agrumes : structuration et exploitation par hybridation somatique. *Compte rendu d'Académie d'Agriculture de France* 86 (8), 197-221.

Ortuno, A.A., bAIDER, P., Gomez, M.c., Arcas, I., Del-Rio, J.A (2006). Citrus paradis and citrus sinnsis flavonoides : their influence in the defense mechanism against *pennicillium digitatum*. *Food Chem*, 98(2): 58-351.

Oboh.G. et Ademosun.A.O. (2012). Characterization of the antioxidant properties of phenolic extracts from some citrus peels. *Association of Food Scientists & Technologists (India)*. 49(6):729–736.

P

Papas, A.M., 1998. Vitamin E: Tocopherols and Tocotrienols. In: A.M. Papas (ed.). «Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health». Ed. CRC Press. Pp: 189-210.

Papazian, L. & Roch, A. (2008). Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, *Edition Springer*, p 153.

Paris, M., Hurabeille, M.,1981. Abrégé de matière médicale. In : « Pharmacognosie ». Ed. Masson, Paris. Pp: 210–215.

Popovici, C., Saykova, I., Tylkowski, B., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel* 4, 25-39.

Pincemail, J., Defraim, J.O., Limet, R., Meurisse, M., 1998. Antioxydants et prévention des maladies cardiovasculaires. 1^{er} partie: la vitamine C. *Medi-Sphere* 99, 1-3.

Polese, J.M., 2008. La culture des agrumes. Ed. Artemis, Paris: 12-13.

Proteggente. A. R. Pannala. A. S. Paganga. G. Van. B. L. Wagner. E. Wiseman. S. Van D. P. F. Dacombe. C. and Evans. C. A. R. (2002). The Antioxidant Activity of Regularly Consumed Fruit and Vegetables Reflects their Phenolic and Vitamin C Composition. *Free Radicals Research*. 36 (2), pp. 217–233.

R

Ramful, D., Bahorunb, T., Bourdonc, E., Tarnusc, E., Aruoma, O.I., 2010. Bioactive phenolics 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. I., Bourdon E., Bahorun T. (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps; *Food Research International*; **44**: 2088-2099.

Rapisarda. P. Tomaino. A. Cascio. R. L. Bonina. F. Pasquale. A. D. Saija. A. (1999). Antioxidant Effectiveness As Influenced by Phenolic Content of Fresh Orange Juices. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4718–4723.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26: 1231-1237

Ribereau-Gayon, A., 1968. Propriétés chimiques des phénols. Applications aux produits naturels. In : <<les composés phénoliques des végétaux>>. Ed. Dunod. Pp : 1-27

Richter, G., 1993. Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Ed. presses polytechniques et universitaires, Romandes. Pp : 318-338.

Robards, K., Prenzler, D.P., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruit. *Food Chemistry* 66, 401-436.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.*, 26: 1231-1237

S

Santos R. M., Fortes G. A. C., Ferri P. H., Santos S. C. (2011). Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of *Eugenia uniflora*; *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn.*; **21(4):** 581-586

Shohaib.T, Shafique M., Dhanya.N, Madhu.C.Divakar. (2011). Importance of flavonoides in therapeutics; *Hygeia Journal for Drugs and Medicines (.J.D.M)*; **3 (1):** 1-18.

Swingle, W. T., Reece, P. C., 1967. The botany of citrus and its wild relatives. In: Reuther, W., Batchelor, L. D., Webber, H. J., (Eds.). The Citrus Industry (Vol. 1). University of California Berkeley. Pp: 130-190.

Seyer M. E. 2005. Les fibres alimentaires et le pain de blé entier. Mémoire pour l'obtention de grade maîtrise en sciences, Université Laval. Québec, 116.

Somogyi P. L., Barrett M. D. et Huil H. Y. 1996. Oranges and tangerines. In : « Processeng Fruits : Science and Technology » . Ed. CRC Press, 265-304.

Spiegel- Roy P. et Goldschmidt E.E. 1996 . Horticultural classification of cultivated citrus. In:

Biology of citrus . Ed. Cambridge university press, 19-44.

Sousser A. 1997. The Great citrus Book : A Guide With Recipes. Ed .Ten Speed Press: 1-160.

Spiegel-Roy, P., Goldschmidt, E.E., 1996. Horticultural classification of cultivated citrus. In: «Biology of citrus». 1^{ère} Ed. Cambridge University press. Pp: 19-44.

Shimizu, H.(2004).Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population :the Hisayama study, *Stroke*,**35** (9) : 2072-2077.

Souci, S. W., Fachmann, W., Kraut, H., 1994. Fruit. In: «Food Composition». 5^{ème} Ed. CRC Press, London. Pess, 801-980.

Soobaratte, M.A., Neergheen, V.S., Luximon-Rammaa, A., Aruomab, O.I., Bahorun, T., 2005. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and action (Mutation Research). *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 592, 200-213.

Siddhurajua. P. Mohanb. P.S. Beckera. K. (2002). Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp. *Food Chemistry* 79: 61–67

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299, 152-178

Silva, F.O., 2005.Total ascorbic acid determination in fresh squeezed orange juice by gas chromatography. *Food Control* 16, 55-58

Shyamala BN & Jamuna P (2010) : Nutritional Content and Antioxidant Properties of Pulp Waste from *Daucus carota* and *Beta vulgaris*. *Department of Studies in Food Science and Nutrition, University of Mysore Manasagangothri*, 16(3) : 397-408

T

Teuscher, E., Anton, R., Lobstein, A., 2005. Plantes aromatiques. Ed. Tec et Doc-Lavoisier, Paris. Pp: 60: 79.

Tsai H.L., San K.C., Ch ag S.J. 2007. Antioxi dant conte nt and fre e radical scave n ging Ability of fre crh Re d pum m e lo (citrusgrandis(L) Osb e ck) juice and fre e ze -drie d p roducts, 55(8): 2867-2872.

Toor R.K. et Savage G.P. (2005). Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research Internationnal* 38:487-494.

Tounsi, M.S W. A. Wannas. I. Ouerghemmi et al. (2011). "Juice components and antioxidant capacity of four Tunisian Citrus varieties," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 91, no. 1, pp. 142–151, 2011.

V

Valnet J. (2001). La santé par les fruits, légumes et les céréales. Ed Vigot. Pp : 207-281

Vamecq, J., Vallée, L., Stome, L., Gelé, P., Bordet, R., 2004. Les acteurs immédiats du stress oxydatif. *La Lettre du Pharmacologue* 18,16-23.

Vinci, G., Botrè, F., Mele, G., Ruggieri, G., 1995. Ascorbic acid in exotic fruits: A liquid chromatographic investigation. *Food Chemistry* 53 (2), 211-214.

W

Wilcox J-K., Catignani G-L. et Lazurus S. (2003). Oranges and cardiovascular health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43: 13-18.

X

Xu G, Liu D, Chen J, Ye X, Ma Y and Shi J. (2008). Juice components and antioxidant capacity of Citrus varieties cultivated in China. *Food Chem* 106:545–551

Y

Yang, C.S., Landan, S.M., Huang, M.T., Newmark, H.L., 2001. Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Revue of Nutrition* 21, 381-406.

Annexes

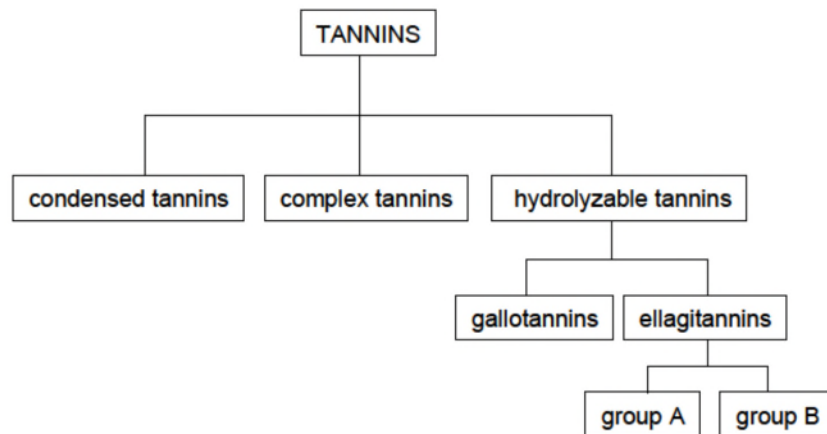


Figure 7: Classification des tanins (Wilfred et Ralph., 2006).

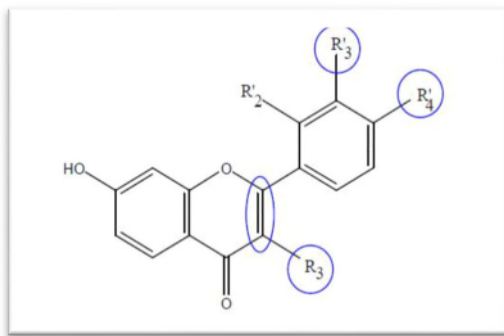


Figure 9: Flavonoïdes et leurs sites proposés pour l'activité antioxydant comme la chélation des ions métalliques (Chabil, 2006)

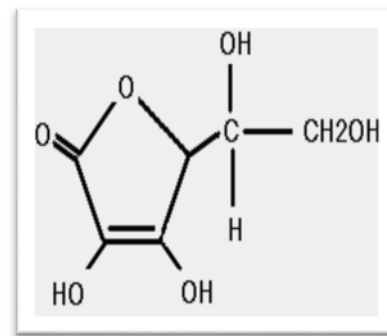


Figure.8: Structure de la vitamine C (Pincemail et al., 1998).

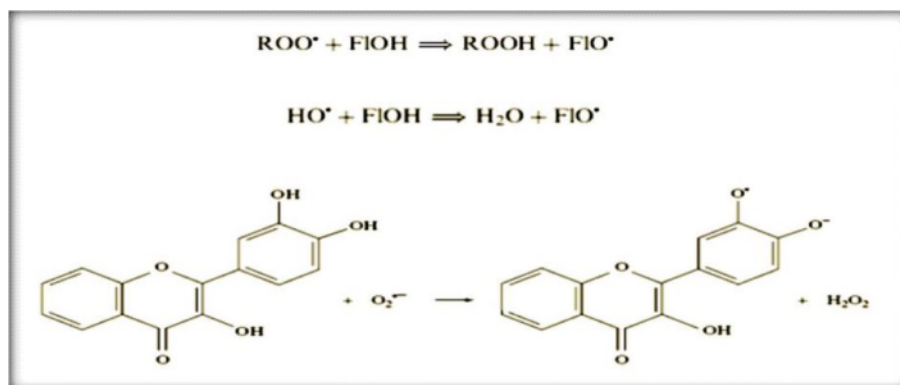


Figure.10 :Réaction des flavnoïdes avec EOR (Meziti,2009).

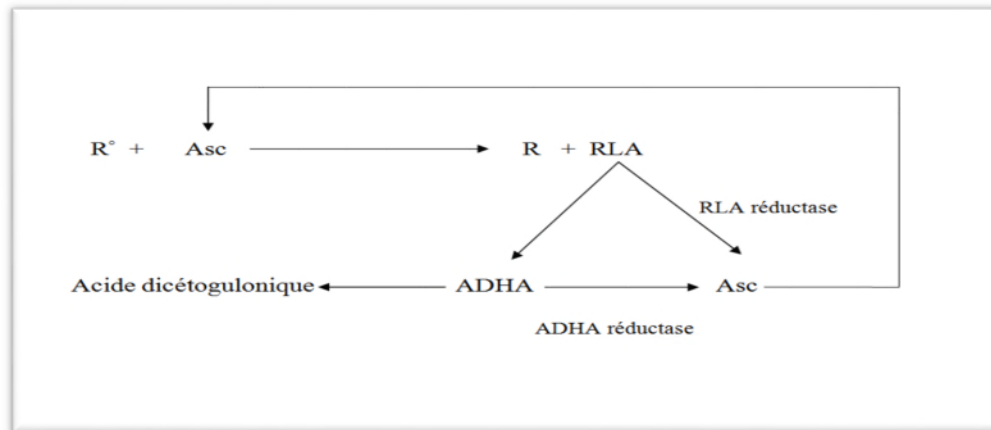


Figure 11: Action de l'acide ascorbique sur un RL et les voies de sa régénération (Rose et Bode, 1993).

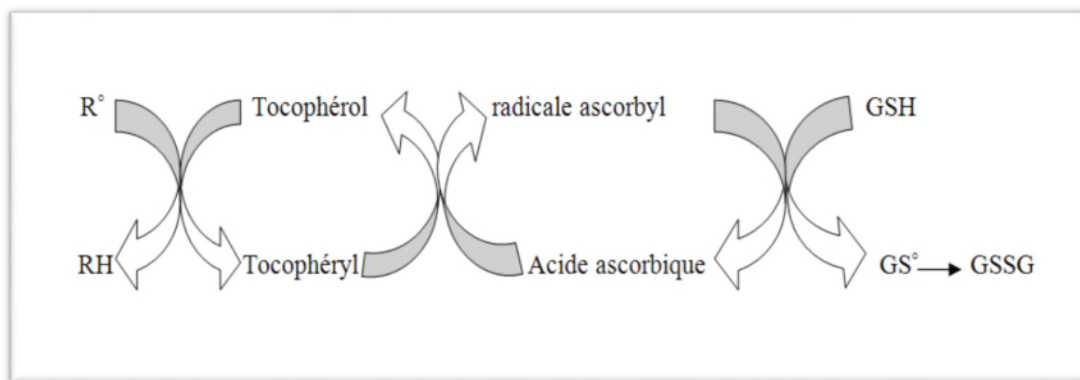


Figure 12 : Régénération des tocophérols via l'action de l'AA (Pincemail et al., 1998).

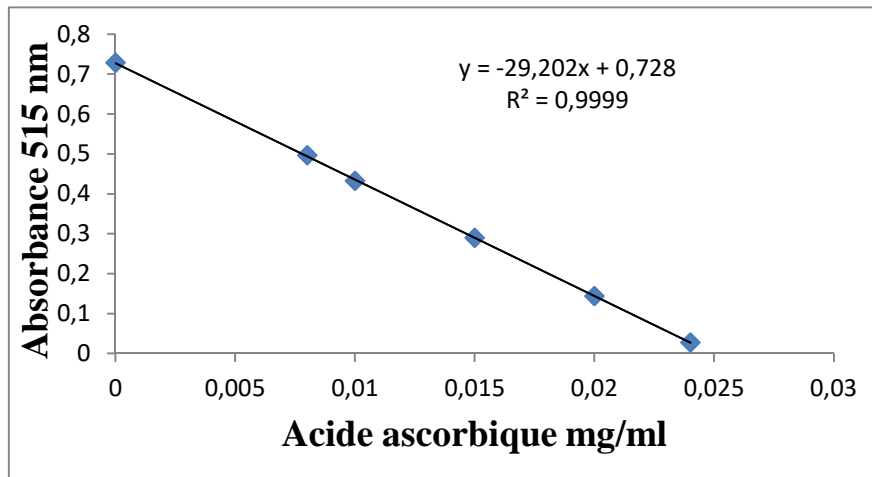
Tableau I : Composition chimique des oranges (Souci et al., 1994).

Composants(g)	Moyennes*
Eau	85.70
Protéines	1.00
Lipides	0.20
Glucides	8.25
Fibres	1.60
Acides organiques	1.13
Minéraux	0.48

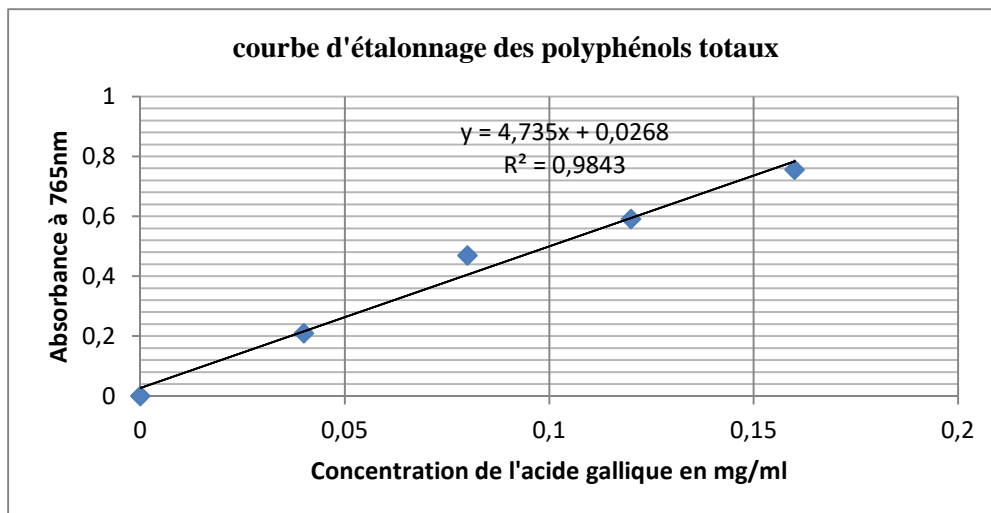
Tableau II : Composition biochimique moyenne du citron (Gollouin et Tonelli, 2013).

Composants(g)	Moyennes*
Eau(g)	90,20
Glucides (g)	3,16
Protéines(g)	0,70
Lipides (g)	0,60
Acides organiques (g)	4,88
Fibres alimentaires (g)	0,50
Les vitamines(mg)	51,26
Les minéraux(mg)	211,95
Apports énergétiques (K Calories)	36,48

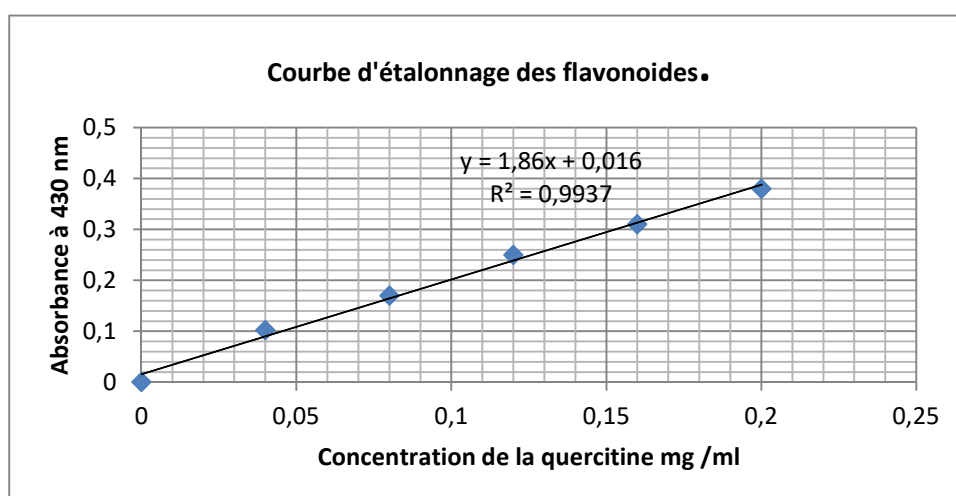
(*) : Valeur moyenne par 100g de matière comestible.



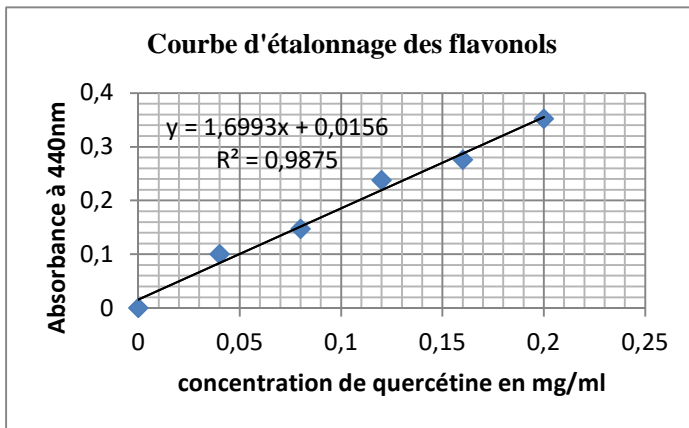
Courbe d'étalonnage de dosage de l'acide ascorbique.



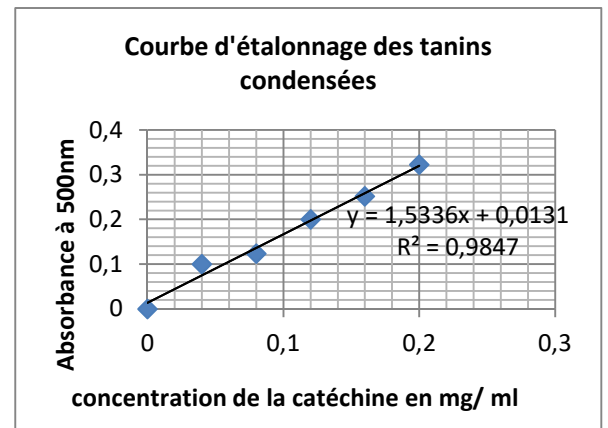
Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux



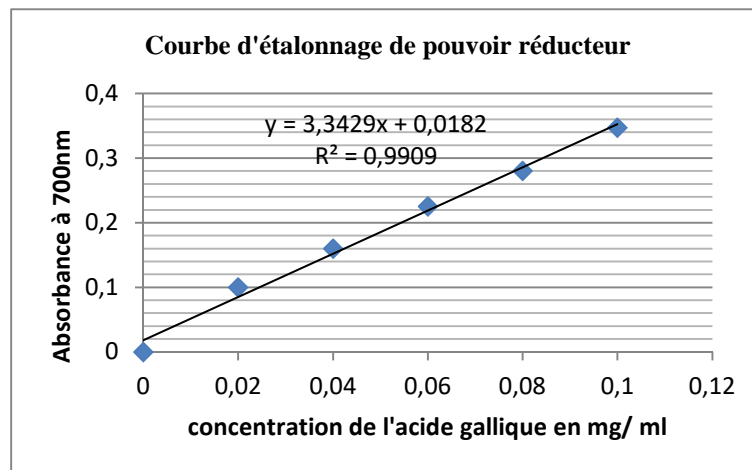
Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes



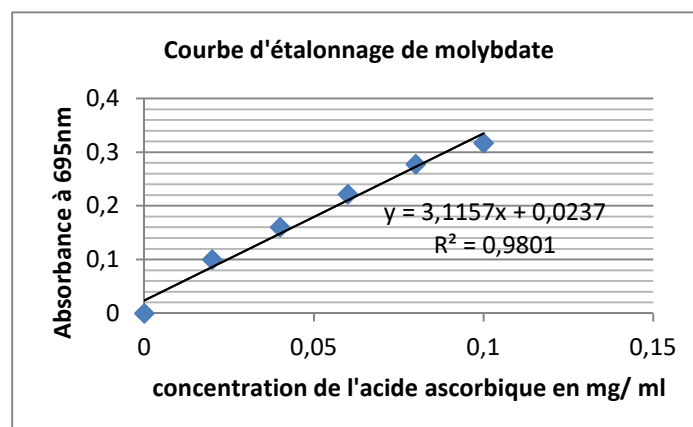
Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonols



Courbe d'étalonnage pour le dosage tannins condensés



Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur.



Courbe d'étalonnage de pouvoir réducteur au molybdate d'ammonium

Annexe III

Matériels et produits chimiques

1- Matériels du laboratoire

- La verrerie : tube à essai, bécher, erlenmeyer, flacon.
 - L'appareillage
- Balance de précision (RADWAG R (PS 600/C/2 et AS 220/C/2)).
- Broyeu
- Etuve ventilé
- Plaque magnétique.
- Spectrophotomètre
- Autre : spatule, micropipettes (100 et 1000 μ l), papier d'aluminium, papier absorbant, papier filtre, boîte de pétri, tube à essais, anse en platine, écouvillon, ben benzène, para-film

2- Les produits chimiques et les solvants

- Réactif de folin-ciocalteu (FCR).
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3).
- Trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et Acétate de sodium.
- Eau distillée, Ethanol et Méthanol
- Le DPPH
- L'ABTS et persulfate de potassium.
- Eau distillé.

Résumé : Les citrus comme d'autres fruits et légumes sont une source importante de composés bioactifs (composés phénoliques, flavonoïdes, acide ascorbique,...etc.). Ces composés ont des effets bénéfiques sur la santé humaine, car ils possèdent de nombreuses activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne,...etc ; ce qui protège et inhibe les effets néfastes des radicaux libres sur l'organisme humain. Des extraits éthanoliques de la pulpe de *citrus sinensis* et de *citrus limon* ont été testés pour leurs activités anti-oxydantes. Les polyphénols (polyphénols totaux et flavonoïdes) extraits par le solvant d'extraction éthanol, présentent des différences selon la variété et le type de fruits. Il a été révélé des capacités anti-oxydantes chez tous les extraits, la pulpe de citron vert présente des activités anti-radicalaires au DPPH et à l'ABTS les plus élevées : DPPH 942,32 ; ABTS 893,60 mg/100g, pour la vitamine C la meilleure est enregistrée avec le mélange (DF-CV) 64,83 mg/100g. Les résultats obtenus montrent que la pulpe de citron vert présente les teneurs en PT, flavonoïdes et en flavonols les plus élevées. De même pour les pouvoirs réducteurs : au phosphomolybdate d'ammonium et FRAP).

Mots –Clés : *Citrus*, polyphénols, activité antioxydants, DPPH, ABTS.

Abstract: Citrus and other fruits and vegetables are an important source of bioactive compounds (phenolic compounds, flavonoids, ascorbic acid, etc.) . These compounds have beneficial effects on human health because they possess numerous biological activities such as Antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, ...; Which protects is inhibiting the adverse effects of free radicals on the human body. Ethanol extracts of citrus sinensis and citrus silt pulps were tested for their antioxidant activity. The polyphenols (total polyphenols and flavonoids) extracted by the extraction solvent (ethanol) show variations according to the varieties of fruit and effect of enchantions. The evaluation of antioxidant potency in vitro revealed antioxidant capacities in all extracts, the lime pulp had the highest DPPH and ABTS contents: DPPH = (942,32); ABTS = (893.60 mg / 100g), For vitamin C the best and marked by mixing (DF-CV) = 64.83 mg / 100g. Quantification results show that the lime pulp has the highest PT, flavonoids and flavonols. Similarly for reducing powers: ammonium phosphomolybdate and FRAP).

Key words: *Citrus*, polyphenols, antioxidant activity, DPPH, ABTS