

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des sciences alimentaires

Spécialité conservation des aliments et emballages



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Extraction des caroténoïdes et leur introduction
dans les biscuits comme colorant naturel**

Présentée par : SAKHRIOU Sonia & BIROUCHI Radia

Soutenu devant le jury :

Président : Mme TAFININE Zina

M.C.A.(Univ de Bejaia)

Encadrant: Mme BRAHMI Nabila

M.C.A. (Univ de Bejaia)

Co-encadrant : Melle BOUIZAR Roukia

Doc (Univ de Bejaia)

Examineur : Mme BENMERAD Chadia

M.C.A. (Univ de Bejaia)

Année universitaire : 2022/2023

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Dieu, le tout puissant de nous avoir accordé santé, courage, patience et foie pour accomplir ce modeste travail.

La réalisation de ce mémoire à été possible grâce à la participation de plusieurs personnes à qui nous voudrions adresser toute notre reconnaissance.

Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre gratitude à notre promotrice, Mme BRAHMI Nabila pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils et ses encouragements.

On remercie également notre Co-promotrice Melle BOUIZAR Roukia pour le temps qu'elle nous a consacré, pour sa patience, sa simplicité et son soutien.

Nous remercions sont destinés à Mme KHERFELLAH Soraya la responsable de laboratoire de contrôle de qualité et de conformité SNC PREVOLAB et à l'ensemble du personnel de nous avoir accueilli au laboratoire. Et nous permis de réaliser une partie de notre étude expérimentale. Un grand merci pour votre sympathie et votre accueil.

Nous tenons d'autre part à remercier les membres de jury ; la présidente Mme TAFININE Zina et l'examinatrice Mme BENMERAD Chadia pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leur propositions.

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

Ces remerciements ne seraient pas complets sans remercier tous les membres de la famille pour leur soutien et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

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

*A **ma chère mère** et **A mon cher père** Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, la où je suis arrivée aujourd'hui c'est grâce e vous mes chers parents que dieu vous accorde la santé et la longue vie.*

*A **mon frère** et à **ma sœur**, pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.*

*A mes amis adorés **Iman, Lydia, Ramzi, Missipssa** et a ma binôme **Radia** pour les beaux moments qu'on a passé ensemble. et a toute la promo **M2 CAE**.*

*À ma promotrice Mme **BRAHMI Nabila**, a ma Co-promotrice Melle **BOUIZAR Roukia**.*

Sonia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude à :

A ma très chère mère

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. En ce jour mémorable, pour toi ainsi que pour moi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et mon profonde estime. Puisse le puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mon très cher père

Pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour, pour son amour, son encouragement. Que ce travail soit pour toi un humble témoignage de ma profonde affection et tendresse. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tous aléas de la vie.

*A Mes très chère frères et sœurs : **Lynda, Hasina, Lila, Mariam, Daoudi, Toufik, Jugurtha, farés**, Pour leurs soutien et leurs encouragements tout au long de mes études.*

Mes grands-parents et toute ma famille avec tous mes sentiments de respect, de gratitude.

*A mes très chère amies **Lydia et Imane, Ramzi et Missipssa**, ma binôme **Sonia** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet. À toute la promo **Master 2 CAE***

*A ma promotrice Mme **BRAHMI Nabila** et à ma Co-promotrice Melle **BOUIZAR Roukia***

Table des matières

I.INTRODUCTION.....	13
I.PARTIE THEORIQUE	
CHAPITRE I : LES AGRUMES	
1. Définition.....	3
2. Classification botanique des oranges.....	3
3. Description botanique et morphologique.....	4
4. Production mondiale et en Algérie de l'orange :.....	6
5. Composition chimique de l'orange.....	7
5.1. Composition du fruit d'orange.....	7
5.2. Composition de l'écorce d'orange.....	8
CHAPITRE II: GENERALITE SUR LES CAROTENOIDES.	
1. Généralités sur les caroténoïdes.....	9
2. Sources des caroténoïdes.....	9
2.1. B-carotène.....	9
2.1.1. Propriétés physico-chimiques.....	10
2.2. Lycopène.....	10
2.2.1. Propriétés physico-chimiques.....	10
2.3. Lutéine.....	10
2.3.1. Propriétés physico-chimiques.....	11
2.4. Zéaxanthine.....	11
2.5. B,8-apocarotenal.....	11
2.5.1. Propriété physico-chimique.....	11
2.6. Bixine.....	11
2.6.1. Propriété physico-chimique.....	12
3. Classification des caroténoïdes.....	12
3.1. Structure chimique des caroténoïdes.....	12
4. Propriétés physico-chimiques des caroténoïdes.....	13
4.1. Dégradation des caroténoïdes.....	13
CHAPITRE III : LES BISCUITS ET LES COLORANTS ALIMENTAIRES	
1. Généralités sur les biscuits.....	15

2. Classification des biscuits.....	15
3. Composition chimiques des biscuits.....	15
4. Principaux ingrédients de biscuit :	16
4.1. La farine.....	16
4.2. L'eau	16
4.3. La matière grasse	17
4.4. Le sucre	18
4.5. L'œuf.....	18
5. Technologie de fabrication des biscuits	18
5.1. Mixage.....	19
5.2. Pétrissage	19
5.3. Fermentation	19
5.4. Laminage et la mise en forme (moulage)	19
5.5. La cuisson	19
5.6. Refroidissement.....	20
5.7. Conditionnement et la conservation des biscuits	20
6. propriétés physicochimiques	20
7. Valeur nutritionnelle des biscuits.....	21
II/Colorants alimentaire.....	22
1. Définition	22
2. Types des colorants alimentaires	23
2.1. Colorants naturels.....	23
2.2. Colorants de synthèse	24
4. Effet des colorants sur la santé humaine	25
5. Caroténoïdes comme colorants alimentaires :	26
II. Partie pratique	
Matériels et méthodes	
1. Matériel végétal.....	27
1.1. Echantillonnage.....	27
2. Méthodes	27
2.1. Prétraitement des oranges.....	28
2.2. Caractérisation des écorces	28
□ Détermination de l'humidité	28

□ Détermination de l'extrait sec total.....	28
2.3. Extraction des caroténoïdes	29
2.3.1. Préparation de la poudre d'écorce d'orange.....	29
2.3.2. Extraction des caroténoïdes.....	29
2.4. Incorporation du colorant dans les biscuits	30
2.4.1. Matières premières de fabrication de biscuits	30
3. Analyses physicochimiques des biscuits	32
3.1. Humidité	32
3.2. Détermination du pH.....	33
3.4. Taux de Brix	34
3.5. Détermination des protéines	34
3.5.1. Extraction des protéines	34
3.5.2. Dosage des Protéines.....	35
3.6. Taux de la matière grasse.....	35
4. Dosage des antioxydants	37
4.1. Préparation de l'extrait phénolique	37
4.2. Dosage des poly phénols totaux	37
4.3. Dosage des flavonoïdes	38
4.4. Dosage des flavonols	39
4.5. Dosage des caroténoïdes	39
4.5. Dosage des tanins	40
5. Activité antioxydante.....	41
5.1. Activité anti- radicalaire (DPPH)	41
5.2. Evaluation de l'activité antioxydant par le test ABTS	43
5.3. Pouvoir réducteur	44
6. Etude statistique	45
Résultats et discussion	
1. Caractérisation des écorces.....	46
1.1 Détermination de l'humidité.....	46
2. Analyses phytochimiques des colorants.....	46
2.1. Teneur des polyphénols	46
2.2. Teneur des flavonoïdes	47
2.3. Dosage des flavonols	47

2.4. Teneur des caroténoïdes	48
2.5. Teneur des tanins	49
3. Activités antioxydante des colorants	49
3.1. Activité anti-radicalaire.....	49
3.2. Test ABTS.....	50
3.3. Pouvoir réducteur	51
4. Les analyses physico-chimiques des biscuits	52
5. Analyses phytochimiques des biscuits	55
5.1. Teneur des polyphénols	55
5.2. Teneur en flavonoïdes.....	56
5.3. Teneur en flavonols.....	57
5.4. Teneur des caroténoïdes	58
5.4. Teneur des tanins	58
6. Activité antioxydante.....	59
6.1. Activité anti-radicalaire DPPH.....	59
6.2. Activité ABTS.....	60
6.3. Pouvoir réducteur	61
Conclusion	62
Références bibliographiques	
ANNEXES	

Liste des figures

Figure 1: Orange douce (<i>C. sinensis</i>).	4
Figure 2: coupe transversale d'orange.	5
Figure 3: Les principales wilayas de production d'orange en Algérie.	7
Figure 4: Structure chimique générale des caroténoïdes.	13
Figure 5: Effet de type de la matière grasse sur les caractéristiques farinographies de la pâte de biscuit.	17
Figure 6: Structure chimique d'érythrosine (SIN 127).	24
Figure 07: Méthodologie de la partie pratique	27
Figure 8:a) Oranges, b) écorces d'orange.....	28
Figure 9: Mode opératoire de la préparation de la poudre du colorant naturel.	29
Figure 10: Protocole d'extraction des caroténoïdes.	30
Figure 11: Le mélange après décantation	30
Figure 12: Appareil de Soxhlet.....	30
Figure 13: Ingrédients utilisés dans la fabrication du biscuit	31
Figure 14: Diagramme de fabrication de biscuits avec colorant naturel	32
Figure 15: Détermination du pH.....	33
Figure 16: Extraction des protéines	35
Figure 17: Dosage des protéines par Biuret.....	35
Figure 18: Dosage de la matière grasse.	36
Figure 19: Préparation de l'extrait phénolique	37
Figure 20: Dosage des polyphénols totaux.....	38
Figure 21: Dosage des flavonoïdes.....	38
Figure 22: Dosage des flavonols	39
Figure 23: Dosage des caroténoïdes.	40
Figure 24: Dosage des tanins.....	41
Figure 25: Détermination d'activité anti-radicalaire (DPPH)	42
Figure 26: Détermination de l'activité antioxydant (ABTS).....	43
Figure 27: Détermination du pouvoir réducteur.	44
Figure 28: Teneurs en polyphénols des trois colorants.	46
Figure 29: Teneurs en flavonoïdes des trois colorants	47
Figure 30: Teneurs en flavonols des trois colorants.	48
Figure 31: Dosage des caroténoïdes du colorant naturel.....	48
Figure 32: Teneurs en tannins des trois colorants.	49
Figure 33: Teneur d'activité anti-radicalaire (DPPH) des trois colorants.....	50
Figure 34: Teneur du test ABTS des trois colorants.	51
Figure 35: Pouvoir réducteur des trois colorants.....	51
Figure 36: Dosage des polyphénols de différents biscuits.	56
Figure 37: Dosage de flavonoïdes des différents biscuits.	56

Figure 38: Dosage des flavonols des différents biscuits.....	57
Figure 39:Teneurs en caroténoïdes des biscuits.	58
Figure 40:Teneurs en tannins des différents biscuits.	59
Figure 41: Teneurs de l'activité anti-radicalaire DPPH des biscuits.	60
Figure 42:Teneurs de la capacité antioxydante ABTS des biscuits.	60
Figure 43: Pouvoir réducteur des différents biscuits.	61
Figure 44: Courbe d'étalonnage des polyphénols.	77
Figure 45: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.....	77
Figure 46: Courbe d'étalonnage des flavonols.....	77
Figure 47:Courbe d'étalonnage des caroténoïdes.	78
Figure 48: Courbe d'étalonnage des protéines.....	78

Liste des tableaux

Tableau I:Caractéristiques de citrus sinensis	5
Tableau II: Valeur nutritionnelle de quelques biscuits.....	21
Tableau III: Contribution des biscuits aux apports nutritionnels.	22
Tableau IV: Les facteurs qui influencent la stabilité des colorants alimentaires.	25
Tableau V: Analyses physico-chimiques des biscuits.....	53

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

ANOVA : analyse de la variance

Cm : centimètre

Cs : Citrus sinensis.

DPPH : 1,1- diphényl-2-picrylhydrazyl

EST : Extrait Sec Total

FAO : Food and agriculture organisation of the United nations

g : gramme

H% : humidité

mg /g : milligramme par gramme

mg : milligramme

ml : millilitre

NaOH : hydroxyde de sodium

nm : nanomètre

pH : potentiel d'hydrogène

SIN : système international de numérotation

SO₂ : dioxyde de soufre

TCA : Acide trichloroacétique

UV : ultra-violet

% : pourcentage

°C : degré Celsius

μl : microlitre

I.INTRODUCTION

Au cours du dernier siècle, les industries se sont montrées disposées à convertir les déchets d'agrumes en produits commerciaux à haute valeur ajoutée. Des agrumes sont utilisés pour la transformation du jus, ce qui génère évidemment une quantité importante de déchets, principalement des écorces. Cela reste un grave problème de pollution environnementale. La récupération de ces déchets est devenue une recherche d'un grand intérêt avec des impacts énormes que ce soit pour la production de flavonoïdes, de pectine ou d'huiles essentielles. Ces produits ont intéressé plusieurs domaines (agro-industrie, cosmétique, arôme, pharmaceutique ...) dans lesquels leurs utilisations sont diverses telles que les essences et les parfums aromathérapie et les arômes alimentaire (**Allaf, 2013**).

L'application des caroténoïdes comme pigments et additifs naturels a suscité un intérêt croissant de la part de l'industrie alimentaire. Parmi les colorants alimentaires de synthèse que l'on peut considérer comme toxiques pour l'homme et qui sont à éviter sont la tartrazine (E102) et l'amarante (E123). Ces additifs sont entre autres, suspectés de jouer un rôle dans le syndrome d'hyperactivité et pourraient contenir des substances cancérogènes. Ils ne sont dangereux que lorsqu'ils sont consommés à forte dose. Contrairement aux colorants de synthèse, ceux d'origine végétale comme les caroténoïdes, sont généralement bénéfiques pour la santé. En effet, beaucoup d'études ont prouvé leurs effets antioxydants, antimicrobiens et anti carcinogènes (**Ben Mansour et Latrach, 2009**).

La nouvelle orientation des consommateurs a incité l'industrie alimentaire à adopter les technologies de fabrication modernes pour enrichir les biscuits (**Ansari et Kumar, 2012**). Au fil des années, des nombreuses études ont été réalisées afin d'améliorer la valeur nutritionnelle des biscuits en intégrant des légumineuses et des graines oléagineuses (**Serrem, 2010; Hyun-Jung et al., 2014**). Aussi en incorporant des fruits et des légumes (**Mukhtar et al., 2016; Olaitan et al., 2017**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des écorces d'orange par l'extraction des caroténoïdes et essai d'incorporation dans les biscuits, les objectifs principaux sont :

- ✓ Extraction des caroténoïdes à partir des écorces d'oranges ;
- ✓ Incorporation de l'extrait des caroténoïdes en tant que colorants et antioxydants naturels dans les biscuits afin de l'enrichir et comparer l'échantillon aux caroténoïdes à celui supplémenté par deux colorants

synthétiques, le dioxyde de titane et le glycérol (E171 & 422), ainsi qu'au produit témoin ;

- ✓ Caractériser les biscuits fabriqués en déterminant les teneurs en caroténoïdes, l'activité antioxydante, les paramètres physicochimiques (pH, acidité) et colorimétriques.

Notre travail est divisé en deux grandes sections : La première est une synthèse bibliographique constituée de chapitres, le premier chapitre concernant les agrumes, et le deuxième parle des caroténoïdes et le troisième chapitre sur les biscuits et les colorants alimentaires. La deuxième partie comprend l'étude expérimentale qui est divisée en matériel et méthodes et une partie qui englobe les résultats et discussions et enfin une conclusion.

I.PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : LES AGRUMES

1. Définition

A l'époque de l'antiquité latine "acrumen" faisait référence à des arbres produisant des fruits acides. Ce mot a ensuite évolué pour devenir "agrumes" tel que nous le connaissons aujourd'hui (**Benedeste et al, 2002**). Les oranges font partie des agrumes en raison de leurs propriétés bénéfiques pour la santé. Telles que leurs teneurs élevées en vitamines, leur faible apport calorique et possèdent un potentiel antioxydant important. Ces avantages ont été confirmés par plusieurs études scientifiques (**Parle et Chaturvedi, 2012**).

2. Classification botanique des oranges

La classification des oranges douce (*Citrus sinensis*) est présentée comme suite : (**Manner et al., 2006 ; Nicolosi, 2007 ; Pena et al., 2007**).

Règne : Végétal

Ordre : *Géraniales*,

Sous-ordre : *Géraniineae*,

Classe : *Dicotyledoneae*,

Sous-classe : *Archichlamydeae*,

Division : *Embryophyta*,

Sous-division : *Angiospermes*

Famille : *Rutaceae*,

Sous famille : *Aurantiodeae*,

Tribu : *Citreae*,

Sous tribu : *Citrinae*,

Genre : *Citrus*

Espèce : *Citrus sinensis*

Selon cette classification, les agrumes appartiennent à la famille *retaceae*, tribu des *Citreae*, classe des *Dicotyledoneae*. Il existe plusieurs genres d'agrumes tels que *poncirus*, *fortunelle* et *citrus*. Parmi ces genres, *citrus* est le plus important, car il regroupe les

principales espèces cultivées. Les différentes espèces de *citrus* incluent les oranges douce (*Citrus sinensis*) ; les mandarines (*Citrus reticulata*); les clémentines (*Citrus clementina*); les citronniers (*Citrus limon*); et les pamplemousses (*Citrus paradisi*). (M'hiri, 2015).



Figure 1: Orange douce (*C. sinensis*).

3. Description botanique et morphologique

L'orange est un type d'agrumes qui peut être aussi appelé hespéridium. Celui-ci se distingue des autres fruits, tels que la tomate ou le raisin car il possède une peau épaisse et résistante qui protège la pulpe comestible à l'intérieur (Davies et Albrigo, 1994).

Citrus sinensis est une espèce d'orange originaire d'Asie. C'est un arbre à feuilles persistantes. Les arbres de cette espèce ont une hauteur peut atteindre 10 mètres, avec de grandes épines sur les branches. les feuilles peut varier de l'ellipse à l'oblongue. les feuilles dégagent une forte odeur caractéristique d'agrumes, en raison de la présence d'huile essentielle (Goldhamer et al., 2012).

Les fruits de *citrus sinensis* sont globulaire ou ovale atteint son état de maturation lorsque sa peau devient orange ou jaune (Han ., 2008 ; Goudeau et al., 2008).

Tableau I:Caractéristiques de citrus sinensis : (Bénédicté et Michel, 2011 ; Bachès, 2007)

Caractéristiques	
Aspect générale	Arbre au port harmonieux et de croissance rapide 7 à 8 mètres
Fleurs	Blanches et immaculées, très parfumées Formule florale : $5s + 5p + (5+5) e + (2-5) c$
Feuilles	Vert profond, légèrement ailées
Fruits	Forme et coloration variables
Pulpe	Juteuse diffère en couleur et en acidité selon les variétés
Ecorce	Lisse ou à peine rêche

D'un point de vue botanique, la structure d'une orange est caractérisée par les composants suivants :(Bachès, 2011)

- ✓ La couche extérieure de l'orange est appelée le flavédo "flaveur", également connue sous le nom de Zeste, Est la partie colorée de l'orange qui contient de nombreuses glandes sécrétrice d'essence 'huile essentielle', ce qui lui donne son odeur caractéristique.
- ✓ La couche intérieure de l'orange blanche et spongieuse est appelée l'albédo ou le mésocarpe. Cette partie est riche en pectine. l'endocarpe, est la partie comestible de l'orange située à l'intérieur de la pulpe. Ils set recouvert d'un émail fin et rempli de poils succulents qui renfermait l'intérieur des loges capillaires.

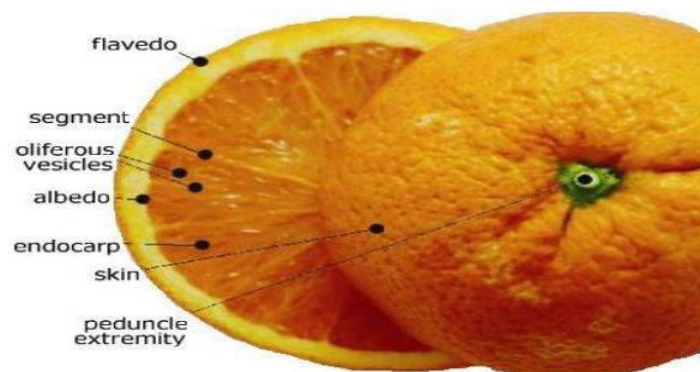


Figure 2: coupe transversale d'orange (Ouldyerou et al., 2016).

4. Production mondiale et en Algérie de l'orange :

➤ Dans le monde

Chaque année, environ 63.5 millions de tonnes d'oranges sont récoltées dans le monde. Le Brésil est le premier producteur, contribuant à 28% de ce volume, suivi par les États-Unis à 12.5% et le Mexique à 6.5%. **(Christian et al. 2002).**

Selon les données de la FAO (Food and agriculture organisation of the United nations) et de l'agriculture internationale, les agrumes représentent environ 20% de la production mondiale de fruits. Au cours de la période allant de 1996 à 2005, la production annuelle d'agrumes dans le monde a varié entre 81.5 millions de tonnes en 1996, 89 millions en 2004 et 85.7 millions de tonnes en 2005.

Toutes les variétés d'orange, représentaient environ 72% de la production totale des agrumes en 2005, la quantité d'orange produites au cours de cette année-là 61.8 millions de tonnes **(Al bitar et Al jabi, 2011).**

➤ En Algérie

A partir des années 80, la production d'agrumes a connu une forte croissance, notamment grâce à l'utilisation de techniques modernes de production et de transport, qui ont permis de réduire les coûts et d'améliorer la qualité.

Les oranges contiennent la majeure partie de la production d'agrumes (54%), suivies des clémentines et mandarines (26%), des citrons (13%) et des pamplemousses (7%). **(Labdaoui, 2019).**

En 2013, la superficie totale en agrumes était estimée à 55000 hectares. Le centre du pays compte en grande partie, représentant 56% de cette superficie, tandis que 30% se trouveraient à l'est et 14% à l'ouest. Parmi les principales Wilayas d'agrumes en Algérie sont : Blida, Alger, Mostaganem, Chlef, Tipaza... **(Houaoura, 2013).**

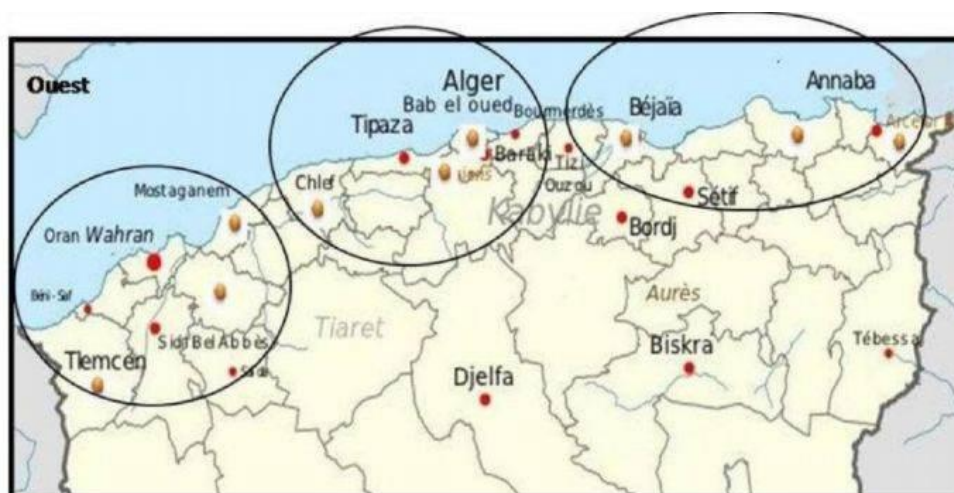


Figure 3: Les principales wilayas de production d'orange en Algérie.

L'Algérie détient une collection variétale d'une valeur inestimable, qui comprend 178 variétés d'agrumes constituant un patrimoine génétique précieux (**Kerboua, 2002**).

5. Composition chimique de l'orange

5.1. Composition du fruit d'orange

En moyenne, l'orange est composée de 85 à 90% d'eau, ce qui en fait l'un des fruits les plus aqueux. Les principaux éléments nutritifs se trouvent sous forme dissoute dans cette eau. L'orange est une excellente source d'acide ascorbique (vitamine C), mais aussi des vitamines du groupe B, notamment B12 et B9, et de provitamines A, principalement des carotènes, dont la quantité varie en fonction de l'intensité de la couleur de fruits (0.05 à 0.2mg/100g). (**Vierling, 2008**).

Le taux de sucre dans l'orange peut varier selon la variété, mais en générale il se situe entre 8.5 et 12% du fruit à maturité, dont 40% de saccharose. En plus du saccharose on trouve également du fructose et du glucose, qui sont des glucides facilement assimilables(ou des sucres rapides) et fournissent rapidement de l'énergie à l'organisme. L'orange fournit des quantités intéressantes de divers minéraux, notamment du calcium (40mg/100g), du potassium et du magnésium. Elle contient également plusieurs oligo-éléments (fer 0.3 mg, le cuivre, le zinc, le manganèse, l'iode...). (**Beton et al., 1993**).

Les acides organiques représentent en moyenne de 0.5 à 1.4%de l'orange, principalement sous forme d'acide citrique et d'une petite quantité d'acide malique, qui représentent à l'orange son goût acidulé caractéristique. La teneur en fibre est de 1.8%.

les agrumes contiennent également des substances aromatiques, des pigments végétaux (tels que les caroténoïdes) (**Vierling, 2008**).

5.2. Composition de l'écorce d'orange

L'écorce d'orange est principalement constituée de cellulose, d'hémicellulose, de substances pectiques, de pigments (flavonoïdes, anthocyanines et caroténoïdes) ainsi que d'huiles essentielles. Elle contient également d'autres composés tels que des glucides, des minéraux et une faible quantité de lipides et de protéines (**Lu et al., 2009**). L'amidon est présent dans l'albédo, aussi présent dans le flavédo quand il est vert (**Ladaniya, 2008**).

L'écorce d'orange riche en hydrates de carbone, contient des taux élevés en sucre solubles : glucose, saccharose et fructose (**Grohmann et al., 1995 ; Bieu et Mustata, 2011**). Riche aussi en composés phénoliques tels que les flavonoïdes (**Garg et al., 2001 ; Benavente-Garcia et Castillo, 2008**). La plupart des acides phénoliques, possèdent un caractère antioxydant (**Berset, 2006**).se sont des composés qui ont une fonction acide plus la fonction phénol (**Hennebelle et al., 2004**).

CHAPITRE II : GENERALITE SUR LES CAROTENOÏDES.

1. Généralités sur les caroténoïdes

Les caroténoïdes représentent une grande famille de pigments naturels très répandus dans la nature (**Britton et al., 2004**), sont des pigments liposolubles qui se trouvent dans une grande variété d'aliments, notamment les fruits, les légumes, les algues et les fruits de mer (**Rissanen et al., 2000**). En effet les aliments méditerranéens sont souvent riches en caroténoïdes qui sont responsables de leur couleur jaune, orange et rouge (**Giordano et al., 2012**).

Il existe plus de six cents types différents de caroténoïde sont présents dans la nature, et parmi ceux-ci 66 se trouvent dans les aliments (**Jacynthe et al., 2018**). Les caroténoïdes ont généralement une structure chimique composée de 40 atome de carbone organisés en huit unités isoprenique disposées en une chaîne hydrocarbonée acyclique ils peuvent également être présents sous forme d'esters d'acide gras, les caroténoïdes sont utilisés comme additifs dans l'industrie alimentaires et pharmaceutique en raison de leurs propriétés antioxydants et de leur potentiel en tant que précurseurs de la vitamine A (**Nicol et Maudet, 2000**).

Chez les plantes et les algues qui contiennent des caroténoïdes, ceux-ci se trouvent dans les chloroplastes et les chromoplastes. Ils ont deux rôles principaux : l'absorption de l'énergie lumineuse pour la photosynthèse et la protection de la chlorophylle contre les dommages causés par la lumière. Chez les animaux, les caroténoïdes ne peuvent pas être synthétisés, ils sont simplement absorbés par l'alimentation même quand ils confèrent la couleur à l'animal comme c'est le cas de certains crustacés, insectes, poissons et oiseaux (**Mueller et al., 2011 ; Stephenson et al., 2021**).

Parmi les caroténoïdes, le lycopène et le β -carotène, pigments de couleur rouge et orange, sont très abondants dans les plantes et les fruits. Ils sont également absorbés par le corps humain depuis l'alimentation et possèdent pour celui-ci des propriétés avantageuses (**Pierce et al., 2006 ; Amorim-Carilho et al., 2014**).

2. Sources des caroténoïdes

2.1. B-carotène

Le B-carotène représente environ 80% des caroténoïdes présents dans la spiruline, une algue comestible. On peut trouver entre 700 et 1700 mg de bêta-carotène par kilogramme de spiruline séché. Ce composé peut-être obtenu soit par synthèse chimique, soit par extraction à partir de souches naturelles. Cependant, l'extraction à partir de la spiruline est

souvent privilégiée car elle permet d'obtenir un produit naturel sans résidus chimique et avec une meilleure biodisponibilité. Le bêta-carotène est largement utilisé dans l'industrie alimentaires et des compléments alimentaires pour ses propriétés antioxydants et sa capacité à prévenir les carences en vitamine A (**Andriniaina, 2007**).

2.1.1. Propriétés physico-chimiques

Le B-carotène est une molécule qui se présente sous forme d'une poudre cristalline de couleur rouge. Elle ne se dissout ni dans l'eau, ni l'éthanol, mais est facilement soluble dans le chloroforme. Il est important de noter que la bêta -carotène est sensible à plusieurs facteurs, tels que l'air, la chaleur et la lumière. Dans le chloroforme, il présente une longueur d'onde d'absorption de 466 nm et 496 nm.

2.2. Lycopène

Le lycopène est un pigment rouge présent dans plusieurs fruits et légumes. Il est également connu pour être plus bio disponible dans les produits de tomate crus ou transformés (cuits). Les fruits murs riches en lycopène ont généralement une couleur rouge, tels que la tomate, la carotte, la citrouille, la pastèque, le pamplemousse rose, le melon d'eau (**Andriniaina, 2007**).

La majorité du lycopène dans la tomate se trouve dans la peau et les graines, qui sont les parties les plus colorées de la tomate. En revanche, la chair de la tomate contient moins de lycopène, mais reste tout de même une source intéressante de ce pigment (**Brigitte et al., 2011**).

2.2.1. Propriétés physico-chimiques

Le lycopène est un pigment caroténoïde qui se présente sous forme de cristaux en aiguilles longues de couleur rouge foncé, il est insoluble dans le méthanol et l'éthanol, mais soluble dans le chloroforme et le benzène. Principalement présent dans les tomates, où il existe sous deux formes isométriques : Trans et cis. La forme trans est la plus courante dans les tomates, mais les tissus des tomates contiennent également plus de 50% d'isomères cis, il se concentre principalement dans les tissus adipeux, la peau et le plasma. (**Andriniaina, 2007**).

2.3. Lutéine

La lutéine est extraite des fruits, des plantes comestibles, des herbes du souci et de la luzerne en utilisant une méthode d'extraction par solvant volatil. Elle fait partie des

caroténoïdes est composé principalement de lutéine et de ses esters d'acide gras, qui sont responsables de la couleur jaune orangée de certaines plantes. (Andriniaina, 2007). La lutéine est le caroténoïde prédominant dans la macula qui est la partie centrale de la rétine de l'œil.

2.3.1. Propriétés physico-chimiques

La lutéine présente une polarité plus élevée que les carotènes ce qui facilite leur incorporation dans les micelles mixtes intestinales lors de la digestion. De plus la lutéine est également plus stable à la chaleur, à la lumière et aux traitements de conservation tels que l'utilisation de SO₂, ce qui la rend plus adaptée à une utilisation dans les aliments et les compléments alimentaires.

2.4. Zéaxanthine

La zéaxanthine est un caroténoïde jaune présent dans différents aliments tels que les légumes verts foncés comme les épinards, le chou vert, les brocolis, ainsi que dans les fruits et légumes jaunes tels que les courges, les oranges et le maïs. Elle est également présente dans les jaunes d'œufs et les produits laitiers. Connue pour ses propriétés antioxydantes et protectrices pour la santé de la rétine (Andriniaina, 2007).

2.5. B,8-apocaroténal

Peut être synthétisé naturellement dans certaines plantes, notamment les agrumes et les herbes. (Andriniaina, 2007).

2.5.1. Propriété physico-chimique

La poudre fine cristalline violette de ce composé est insoluble dans l'eau, mais légèrement soluble dans l'éthanol et l'huile, il peut se mélanger avec du chloroforme, mais il est sensible à la lumière, à la chaleur, à l'air et à l'humidité. En particulier il est plus vulnérable à la lumière que le bêta-carotène.

2.6. Bixine

Le rocou est en effet un colorant naturel de couleur rouge orange à jaune, également connu sous le nom d'annatto. Il est obtenu à partir de l'enveloppe des graines du rocouyer, un arbre tropical originaire d'Amérique du sud, mais également cultivé dans d'autres régions tropicales du monde. Le rocou est utilisé comme colorant alimentaire, mais aussi pour ses propriétés médicinales et cosmétiques (Andriniaina, 2007).

2.6.1. Propriété physico-chimique

La bixine est soluble dans les solvants apolaires tels que le chloroforme et les huiles, et sa solubilité est activée par la polarité du solvant utilisé. Elle est également soluble dans des solvants polaires tels que la pyridine et l'acide acétique glacial, mais dans une moindre mesure.

3. Classification des caroténoïdes

Caroténoïdes sont classés selon la structure suivante :

- ✓ **Les caroténoïdes hydrocarbonés** : Connus sous le nom de carotènes ne contiennent pas d'oxygène par exemple : B-carotène et alpha-carotène, lycopène. (Eldahshan et Singab, 2013).
- ✓ **Les caroténoïdes oxygénés** : sont des dérivés des hydrocarbures caroténoïdes, mais contiennent également des atomes d'oxygène dans leur noyau cyclique terminal. Ces composés sont également appelés xanthophylles en raison de leur couleur jaune caractéristique. Parmi les caroténoïdes oxygénés, on peut citer la lutéine, la zéaxanthine et la cryptoxanthine. (Eldahshan et Singab, 2013).
- ✓ **Les apocaroténoïdes** : Caroténoïdes dont les structures contiennent un nombre de carbone inférieure à 40. Tels que la bixine et B, 8-apocaroténal. (Andriniaina, 2007).

3.1. Structure chimique des caroténoïdes

Les caroténoïdes constituent une classe de composés chimiques qui comprend à la fois les carotènes et les xanthophylles. Ils sont caractérisés par la présence d'une chaîne de huit unités isopréniques C_5H_8 qui forment la structure de base $C_{40}H_{56}$. Représentée dans la **figure (4)**, la structure de base acyclique des caroténoïdes peut subir plusieurs modifications pour donner naissance à une grande variété de composés différents. Ces modifications peuvent inclure l'hydrogénation, la déshydrogénation, la cyclisation, l'oxydation ou toute autre combinaison de ces réactions. (Morais et al., 2002).

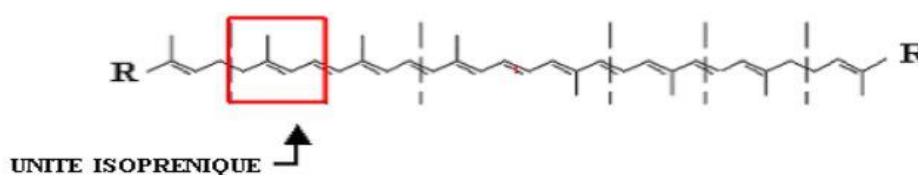


Figure 4: Structure chimique générale des caroténoïdes (Britton et al., 2008).

4. Propriétés physico-chimiques des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels présents dans de nombreux aliments, tels que les fruits et légumes colorés, et sont responsables de leurs couleurs vives. Ils sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants apolaires et les graisses alimentaires. Le spectre d'absorption des caroténoïdes présente trois maxima, dont les longueurs d'onde dépendent du nombre de liaisons doubles conjuguées dans la molécule. Absorbent les longueurs d'onde de la lumière visible dans la plage de 400 à 700 nm. Contrairement aux colorants artificiels, les colorants naturels tels que les caroténoïdes sont très sensibles à l'oxygène, la lumière et la chaleur (Andriniaina, 2007).

4.1. Dégradation des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont présents d'un grand nombre de doubles liaisons conjuguées dans leur structure explique leur couleur jaune ou orange, ainsi que leur grande sensibilité à l'oxydation (Andriniaina, 2007).

Exemple : la dégradation des caroténoïdes dans le jus d'orange lors du chauffage par micro-onde. En effet, La sensibilité des caroténoïdes à la température et à d'autres facteurs de stress peuvent influencer leur stabilité et leur teneur dans les aliments (Fратиanni et al., 2010).

Cette instabilité est liée à la longue chaîne carbonée insaturée dans leur structure. De plus, les caroténoïdes sont sensibles au pH et aux ions métalliques, qui peuvent accélérer leur dégradation et entraîner une perte de couleur (Frigaard, 2008).

Donc la déshydratation peut perturber le système cellulaire des fruits et légumes, ce qui peut accélérer la dégradation des caroténoïdes. Pour minimiser cette dégradation, il est recommandé d'utiliser des techniques de déshydratation à basse température. Les méthodes de déshydratation thermique, telles que le séchage au four et aux micro-ondes

peuvent entraîner une dégradation thermique et une isomérisation des caroténoïdes en raison de la chaleur. Cela peut entraîner une perte de la teneur en caroténoïdes (**Saini & Keum, 2018**).

**CHAPITRE III : LES BISCUITS
ET LES COLORANTS
ALIMENTAIRES**

1. Généralités sur les biscuits

Le mot biscuit désigne la pratique de cuire un aliment deux fois (**Broutain., 2001**). Le processus d'origine impliquait la cuisson des biscuits dans un four à haute température pour définir la structure, suivi de leur séchage dans un autre four à une température plus basse pour réduire la teneur en humidité (**Serrem, 2010; Zhou, 2014**).

Le terme biscuit désigne des produits de boulangerie cuits au four, qui contiennent principalement trois ingrédients : de la farine de blé tendre, du sucre et de la matière grasse, ainsi que d'autres ingrédients tels que du lait, du sel, des agents aromatisants et des agents d'aération (**mamat et hill, 2014 ;devi et khatkar, 2016**) pour une meilleure conservation, ce mélange était cuit deux fois (**manley, 2000**).

Les biscuits sont populaires en raison de leur coût abordable, de leur goût sucré, de leur valeur nutritionnelle et de leur longue durée de conservation (**Sudha et al., 2007; Vujic et al., 2014**).

2. Classification des biscuits

Les biscuits peuvent être classés suivant la consistance de leur pâte :

- Les pâtes dures ou semi dures (biscuit sec).
- Les pâtes molles (pâtisseries industrielles : génoise, madeleines et les macarons), ces biscuits se distinguent par leur teneur élevée en œufs et en matière grasses.
- Les pâtes à gaufrettes se distinguent par leur forte teneur en lait et en eau et leur faible teneur en matière grasses. (**Kiger et Kiger, 1967; Mohtedji-Lambalais, 1989; Manoharr et Rao, 2002**).

Plusieurs facteurs peuvent avoir une incidence sur la qualité des biscuits, comme la quantité et la qualité des ingrédients utilisés. La technique de préparation, les conditions de fabrication comme le pétrissage, repos et moulage de la pâte ainsi que la cuisson et le refroidissement des biscuits (**Maache-rezzoug et al., 1998 ; Manoharr et Rao, 2002**).

3. Composition chimiques des biscuits

La composition des biscuits devient plus en plus complexe, ce qui rend l'étude des matières premières intéressante, car chacune d'elles peut avoir une influence sur la qualité finale du produit (**Ait Ameer, 2006**). Les ingrédients de base sont la farine, matière grasse,

sucres et l'eau. et d'autres ingrédients mineurs sont souvent présents tels que les œufs, le lait, chocolat, fruits secs... **(Feillet, 2000)**.

Plusieurs auteurs ont tenté de décrire l'effet des ingrédients de la pâte et l'équilibre de sa formule sur la structure finale des biscuits **(Saadoudi, 2019)**.

4. Principaux ingrédients de biscuit :

4.1. La farine

La farine est l'ingrédient principal de la plupart des biscuits. Les caractéristiques physiques et chimiques des farines peuvent affecter leurs fonctionnalités dans la préparation des biscuits **(Mamatet et Hill, 2018)**.

L'utilisation de la farine dans la préparation de la pâte des biscuits est due à sa capacité à retenir le gaz. Permettant ainsi l'expansion de la pâte lors de la cuisson. Les constituants de la farine tels que les protéines, les lipides, les glucides... jouent un rôle dans la structuration et l'aération de la pâte **(Ndangui, 2015)**.

Pour obtenir la farine adaptée aux biscuits, la teneur en protéines doit être comprise entre 7.5 et 10%. Si la farine est trop riche en protéines, l'élasticité élevée de la pâte peut entraîner un rétrécissement de la pâte pendant le moulage et la cuisson dans le four, ce qui peut donner des biscuits petits et épais **(Menard et al., 1992 ; Colas, 1998 ; Feillet, 2000)**. Cependant, dans le cas des recettes de biscuits riches en matière grasse et en sucre (avec une teneur en sucre de 40% et une teneur en gras de 10 à 25%). Il est possible d'utiliser des farines plus riches en protéines, car le sucre et le gras vont agir pour adoucir la pâte et réduire son élasticité **(Menard et al., 1992)**.

4.2. L'eau

L'eau est un ingrédient essentiel dans la formation de la pâte des biscuits. Elle permet d'hydrater la farine et fournit la mobilité nécessaire aux constituants de la farine pour la réalisation des réactions chimiques **(Ndangui, 2015)**.

La présence de l'eau est essentielle dans le processus de pétrissage des biscuits, car elle intervient à trois niveaux :

- Elle permet la dissolution des composés solubles.
- Elle détermine en grande partie les propriétés rhéologiques de la pâte.
- Elle influe sur la rétention gazeuse de la pâte **(Lassoued-Oualdi, 2005)**.

4.3. La matière grasse

Les matières grasses utilisées en biscuiterie sont généralement des matières grasses d'origine végétale (Mohtedji-lambalais, 1989 ; Feillet, 2000).

Celles-ci permettent d'accomplir un certain nombre de fonctions, telles que : (Kiger et Kiger, 1967; Stauffer, 1998).

- ✓ La contribution structurale
- ✓ La plasticité
- ✓ L'incorporation et la stabilisation de l'air
- ✓ Le transfert de chaleur
- ✓ L'amélioration des qualités organoleptiques et nutritionnelles du produit final

Du point de vue de la qualité sensorielle, elle fait partie des ingrédients principaux qui ont une influence sur la texture du biscuit (Devi et Khatkar, 2016).

Les matières grasses ont un rôle crucial dans la qualité des biscuits. Elles peuvent apporter de la saveur, de la texture et des consistances au produit final. De plus, leur présence permet de prolonger la durée de conservation. Aussi ont-elles un pouvoir lubrifiant. Enfin, elles peuvent contribuer à la coloration des biscuits lors de la cuisson, ce qui est important d'un point de vue esthétique et de l'apparence générale du produit. (Ndangui, 2015; Devi et Khatkar, 2016).

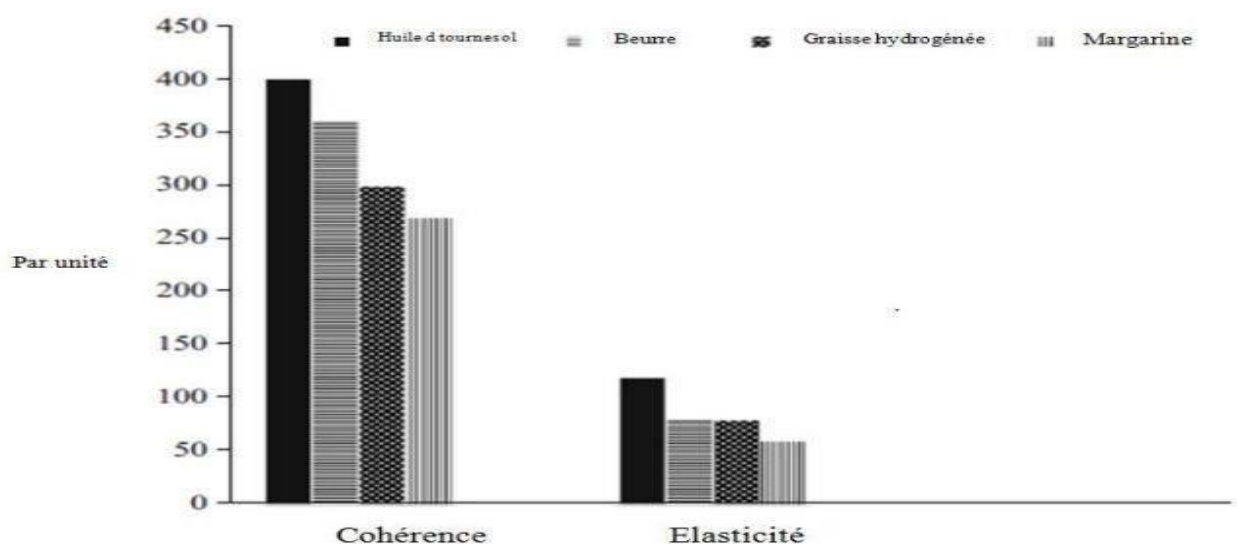


Figure 5: Effet de type de la matière grasse sur les caractéristiques farinographiques de la pâte de biscuit (Devi et Khatkar, 2016).

La margarine et le beurre peuvent donner des résultats comparables en termes de propagation de biscuit. Cependant, il convient que le biscuit préparés avec des huiles liquides ont tendance à avoir une plus grande propagation que ceux préparés avec de la margarine ou de beurre **(Devi et Khatkar, 2016)**.

4.4. Le sucre

Dans la composition d'un biscuit sec, le sucre constitue entre 15 à 25% de la formule, tandis que dans la pâtisserie industrielle, il représente plus de 25%. Le saccharose, sous forme cristallin, est le plus couramment utilisé **(Feillet, 2000)**.

Le sucre joue un rôle essentiel dans le processus de cuisson, outre son pouvoir sucrant, il apporte également de la texture, il agit comme conservateur **(Mamatet et Hill, 2018)**. Par ailleurs, le sucre également il à un rôle dans la formation de couleur, sa caramélisation à des températures supérieure à 149°C confère la couleur désirée à la surface extérieur des biscuits et permet d'obtenir différentes nuances de couleur **(Menard et al., 1992)**.

Ils possèdent d'autres propriétés importantes, comme l'activation des levures lors du processus de fermentation. En outre, les produits issus de la réaction de MAILLARD, qui est une réaction chimique entre le sucre et les acides aminée présents dans les aliments, ont des propriétés antioxydantes, c'est pourquoi certains de ces produits sont utilisés comme additifs dans l'industrie alimentaire **(Biguzzi, 2013)**.

4.5. L'œuf

Dans la préparation des biscuits, les œufs peuvent remplir plusieurs fonctions, notamment l'aération et la coagulation. En fonction du type de biscuit, l'œuf entier ou seulement l'albumine peut être utilisé. Par ailleurs, pour les biscuits à faible teneur en matières grasses, soit l'œuf entier, soit le jaune d'œuf est souvent utilisé **(Hui et al., 2006)**.

5. Technologie de fabrication des biscuits

La technologie des produits céréaliers comprend 8 étapes : mixage, pétrissage, fermentation, laminage, mise en forme, cuisson, refroidissement et conditionnement **(Yadav et al., 2012; Denis, 2011)**.

5.1. Mixage

C'est la première étape dans le processus de préparation des biscuits. Cette étape est essentielle pour mélanger efficacement les ingrédients tels que le sucre, la matière grasse, les œufs et autres afin de former une masse homogène et cohérente (**Maache-Rezzoug et al., 1998; Noah, 2017**). Il existe 3 types de mixage dans ce processus : le mixage à tambour horizontal, le mixage à broche vertical et le mixage continu (**Saadoudi, 2019**).

5.2. Pétrissage

Le pétrissage est une étape utilisée dans la fabrication des produits de boulangerie, il consiste à mélanger les ingrédients (principalement de l'eau et de la farine) de manière à obtenir une pâte viscoélastique (homogène et élastique) (**Saadoudi, 2019**).

Le pétrissage permet : (**Lassoued-Oualdi, 2005; Nhouchi et al., 2018**).

- de développer le réseau de gluten.
- une structure de protéines qui donne à la pâte sa consistance et sa résistance.
- une incorporation de l'air dans la pâte.

5.3. Fermentation

La fermentation est une étape importante dans la production de biscuit. Elle est généralement à 25 à 32°C pendant une période donnée. Selon le type de biscuit (**Mousavi Khaneghah et al., 2018**).

5.4. Laminage et la mise en forme (moulage)

La technique la plus utilisée pour donner à la pâte des biscuits sa forme de feuille est le laminage. Cette méthode implique la production d'une feuille de pâte épaisse, dont l'épaisseur est réduite en passant par divers lamineur rotatoire (**Manley, 2001**).

Après le laminage, l'étape suivante est le découpage. A l'échelle industrielle, des machines à découper et des moules rotatifs gravent et découpent la pâte à biscuits laminée. Il est préférable que chaque morceau de pâte ait le même poids et dimensions pour obtenir des biscuits uniformes (**Manley, 1998**).

5.5. La cuisson

La cuisson est pour but de transformer les aliments en produits appétissants et nutritifs (**Bimbenet et al., 2002**). Est une étape complexe qui à une série de transformation

physiques, chimiques et biochimiques (**Lassoued-Oualdi, 2005**). Le temps de cuisson selon le type de produit céréalier peut varier de 6 à 10 min/180° à 220°C (**Manley, 2000**).

5.6. Refroidissement

A la sortie de four, la plupart des biscuits sont habituellement refroidis avant l'emballage. Les biscuits riches en sucre ont besoin d'être refroidis après la cuisson car ils sont très doux et malléables à la sortie du four. En refroidissant, ils se durcissent et acquièrent leur texture croustillante caractéristique (**Manley, 1998**).

5.7. Conditionnement et la conservation des biscuits

Il est important de conserver les biscuits à l'abri de l'humidité, car leurs composants sont sensibles aux réactions d'oxydation et à la lumière. Par conséquent, il est essentiel d'utiliser un emballage approprié pour leur conservation (**Fredot, 2005**).

Par exemple, le biscuit sec peut se conserver de 5 à 6 mois. La conservation des aliments contenant des matières grasses sur une longue période, cela peut entraîner la formation des composés volatiles tels que l'hexanal et l'octanal. Ces molécules sont responsables de l'odeur de rance (**Benkadri, 2010**).

6. propriétés physicochimiques

➤ La texture

Est une propriété essentielle de la qualité finale des biscuits, car elle influe considérablement sur l'acceptabilité du produit final par le consommateur. Parmi les paramètres les plus importants pour évaluer la qualité des biscuits, on trouve la dureté, qui correspond à la force maximale nécessaire pour la première compression du biscuit (**Bourekoua, 2018**). Dans la plupart des cas, une texture de miette tendre et flexible est idéale pour les biscuits (**Lara et al., 2011**).

Les propriétés de texture des aliments peuvent être attribuées à l'aide de plusieurs paramètres : une évaluation initiale de la dureté, la friabilité, une perception de la mastication et l'adhésion, l'humidité, la teneur en matières grasses, ainsi que la taille et la géométrie des particules de l'aliment. Une perception de la vitesse de fracturabilité de l'aliment pendant la mastication est également importante, car elle affecte la libération de l'eau ...etc. (**Fellows, 2000**).

➤ **L'humidité**

La teneur en eau est un paramètre important à prendre en compte lors de la conservation des produits céréaliers tels que le biscuit. Puisque sa qualité est affectée par sa teneur en humidité ce qui implique des changements dans le produit et elle influe considérablement la perception du consommateur **(Bourekoua, 2018)**.

➤ **La couleur**

La couleur est un paramètre sensoriel important pour déterminer la qualité de tout aliment, la couleur peut influencer l'impression sensorielle subjective du consommateur. En particulier les biscuits où la couleur peut indiquer la qualité du produit et sa fraîcheur **(Lara et al., 2011)**.

➤ **Le goût et l'arôme**

Les attributs de goût des aliments peuvent être classés en 4 catégories : salé, sucré, amer et acide. Les composants volatils de l'arôme sont produits par différents processus tels que la chaleur, l'oxydation, l'activité enzymatique et non enzymatique sur les protéines, les matières grasses et les glucides. Ces composants volatils peuvent être perçus par le nez et la bouche, et sont essentiels pour la saveur et l'arôme des aliments **(Fellows, 2000)**.

7. Valeur nutritionnelle des biscuits

La grande diversité de la composition des biscuits leur confère un potentiel nutritionnel intéressant **(Fredot, 2005)**.

Tableau II: **Valeur nutritionnelle de quelques biscuits (Fredot, 2005).**

Nutriments (g/100g)	Biscuit barquette pulpe de fruit	Biscuit chocolaté	Biscuit petit beurre	Biscuit sec	Biscuit au fromage
Glucides	37	60.4	75	69.2	49.1
Protéines	5.2	6.9	8.2	9	11.8
Fibres	2	31	2.2	3.2	3.1
Lipides	7	24	10.9	12	28.1

En effet, les biscuits apportent aux enfants 3,9% des apports en glucides complexes et 2,5% pour les fibres. Les quantités de nutriments indiquées sont des valeurs moyennes, ces valeurs peuvent varier pour différents types de biscuit sec (**Saadoudi, 2019**).

Chez les adultes, ces valeurs sont réduites à la baisse du fait de la baisse de la consommation. Les biscuits contribuent aux apports en glucides de 1,7% et 0,9% des fibres. La contribution des biscuits aux apports en lipides et glucides est remarquable. Les apports en lipides sont de l'ordre de 4,7% chez les enfants et 2,1% chez les adultes. Les apports en glucides simples sont de 4,5% chez les enfants et 2,9% chez les adultes (**Ait Ameer, 2006**).

Tableau III: Contribution des biscuits aux apports nutritionnels (Ait Ameer, 2006).

Apport nutritionnel	Glucides simples (%)	Glucides Complexe (%)	Fibres (%)	Lipides (%)	Energie (%)
Enfants	4,5	3.9	2.5	4.7	3.6
Adultes	2.9	1.7	0.9	2.1	1.8

II/Colorants alimentaire

1. Définition

Les colorants alimentaires peuvent être d'origine naturelle, artificielle ou minérale, leur rôle est d'ajouter de la couleur aux aliments pour améliorer leur apparence ou pour compenser une perte de couleur due à la transformation alimentaire. Cependant, certains colorants alimentaires peuvent également améliorer la perception gustative des aliments en influençant la perception de la saveur et de l'arôme.

Il est important de noter que les colorants alimentaires sont considérés comme des additifs alimentaires et sont réglementés par les autorités de santé pour garantir leur sécurité et leur innocuité pour la consommation humaine. Il est recommandé de limiter l'ingestion de certains colorants alimentaires artificiels en raison de leur potentiel pour causer des effets indésirables sur la santé. Les consommateurs peuvent donc choisir d'éviter ou de limiter la consommation d'aliments contenant des colorants artificiels en lisant attentivement les étiquettes des aliments (**Lemoine & Tounian, 2018**).

L'utilisation des colorants alimentaires est réglementée par des lois et des réglementations strictes dans de nombreux pays, notamment en Europe et aux Etats-Unis. Ces réglementations définissent des limites de dosage pour les colorants alimentaires et produisent les colorants autorisés et les conditions d'utilisation. Les réglementations sont en place pour protéger la santé publique et éviter les risques pour la santé liée à l'usage excessif ou inapproprié de colorants alimentaires.(Amin et al., 2010).

Les colorants alimentaires synthétiques sont en effet une classe d'additifs largement utilisés dans l'industrie alimentaire pour améliorer l'apparence des produits alimentaires ils sont souvent utilisés pour ajouter de la couleur à des produits alimentaires tels que les boissons, les bonbons, les produits de boulangerie, les desserts et les plats préparés, afin d'améliorer leur attrait visuel pour les consommateurs (clydesdale, 1993).

La couleur est un aspect important dans le choix des aliments, car elle est souvent associée à la fraîcheur, la qualité et la saveur des aliments. Les fabrications d'aliments peuvent utiliser des colorants alimentaires pour améliorer l'attrait visuel de leur consommateur et augmenter leur attractivité pour les consommateurs. Cependant, il est important que les consommateurs sachent ce qu'ils achètent et soient conscients des risques potentiels liés à l'utilisation de colorants alimentaires synthétiques (Amin et al., 2010).

2. Types des colorants alimentaires

Les colorants alimentaires peuvent être classés en deux grandes catégories en fonction de leur origine :

2.1. Colorants naturels

Les colorants naturels sont issus de sources naturelles, telles que des plantes, des minéraux, des animaux ou des bactéries. Ils sont souvent considérés comme plus sains et plus respectueux de l'environnement que les colorants synthétiques, bien qu'ils puissent également présenter des risques pour la santé en fonction de leur composition et de leur concentration.(Beutler, 2011 ; Houdjedj, 2012).

Les colorants naturels peuvent être moins stables que les colorants synthétiques et avoir une moins grande intensité de coloration. Cependant, ils présentent l'avantage d'être souvent perçus comme plus surs et plus sains par les consommateurs (weghe, 2012).

Les colorants peuvent avoir des nuances de couleur plus subtiles que les colorants synthétiques, mais ils ont également des avantages, comme une meilleure stabilité à la lumière et une meilleure rétention de la couleur lors de la cuisson ou de la congélation naturels. Les colorants sont souvent solubles dans les lipides (gras) et sont extraits à partir de différentes sources naturelles, telles que des plantes naturelles **(Beutler, 2011 ;Houdjedj, 2012)**.

Exemples : les anthocyanines (végétal).Les anthocyanines sont des pigments naturels qui appartiennent à la famille des flavonoïdes. Ils sont responsables des couleurs rouges, violettes et bleues que l'on peut observer dans de nombreux fruits et légumes. Les anthocyanes sont également utilisés comme colorants alimentaires E163 pour donner une teinte rouge ou violette aux aliments **(solymosi et al., 2015)**.

2.2. Colorants de synthèse

Les colorants synthétiques sont généralement plus stables et ont une plus grande intensité de couleur que les colorants naturels, ce qui permet de les utiliser en plus petites quantités pour obtenir le même effet. Cependant, leur stabilité peut également poser des problèmes dans certaines conditions, par exemple en présence de chaleur ou d'acidité élevées. De plus, certains colorants synthétiques peuvent avoir des effets néfastes sur la santé, d'où la nécessité de réglementer leur utilisation **(weghe, 2012)**.

Exemples : Erythrosine (SIN 127) **(figure n°2)**, est un colorant de synthèse qui peut être utilisé comme alternative, notamment pour les aliments destinés aux personnes allergiques à l'iode. Cependant, il convient de noter que la rouge allure AC a également été associée à des effets indésirables tels que l'hyperactivité chez les enfants **(Multon, 2009)**.

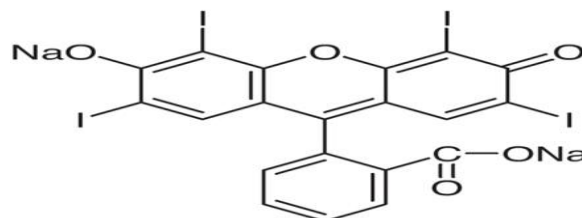


Figure 6: Structure chimique d'érythrosine (SIN 127). **(Gaffron, 2012)**.

3. Stabilité des colorants alimentaires

La stabilité des pigments naturels, tels que les caroténoïdes, dépend de nombreux facteurs, notamment la teneur en oxygène PH, la température...Les méthodes de transformation et de conservation des aliments peuvent également avoir un impact important sur la stabilité des pigments naturels. Par conséquent, il est important de prendre en compte ces facteurs pour conserver la qualité des pigments naturels dans les aliments (capon et al ., 1996).

Tableau IV: Les facteurs qui influencent la stabilité des colorants alimentaires (capon et al ., 1996).

Facteur	Effets	Solutions éventuelles
Décoloration	Lumière	Conservation a labri de la lumière
Pas de changements de couleur	Chaleur	Micro encapsulation
Dégradation Décoloration	oxydations	/
Dégradation Dépôts de calcium	Métaux	Antioxydant Micro encapsulation
Décoloration	So2	Limiter l'emploi de So2, le remplacer par d'autres antioxydants
Dépôts à PH bas Changements de couleur	PH	Micro encapsulation

4. Effet des colorants sur la santé humaine

Bien que l'utilisation de colorants alimentaires puisse potentiellement être toxique, cela est rarement évoqué car sur le moyen ou à long terme et peut avoir différents effets. (Merinas-Amo et al., 2019).

- 1- L'utilisation de certains colorants alimentaires peut provoquer des réactions allergiques ou d'intolérance chez certaines personnes, même à faibles doses. Ces réactions peuvent inclure des symptômes tels que des éruptions cutanées, des nausées, des vomissements, des maux de tête, des douleurs abdominales.

- 2- Les colorants alimentaires peuvent également avoir des effets sur le système immunitaire, en altérant la réponse immunitaire ou en renforçant la susceptibilité aux infections.
- 3- L'effet cancérigène des colorants alimentaires peut résulter de leur action au niveau des acides nucléiques présents dans les gènes.
- 4- Les colorants alimentaires peuvent également avoir un effet mutagène, entraînant notamment des mutations transmissibles héréditairement.

5. Caroténoïdes comme colorants alimentaires :

Les caroténoïdes sont largement utilisés par l'industrie alimentaire comme colorants alimentaires naturels, car ils sont dérivés de sources naturelles comme les légumes et les fruits. Ils sont également utilisés comme additifs alimentaires pour la coloration de produits aquacoles tels que le saumon et pour la coloration des œufs dans l'industrie de la volaille.

En dehors de l'industrie alimentaires, les caroténoïdes sont également utilisés dans les cosmétiques pour leurs propriétés antioxydants et dans la médecine/pharmaceutique comme ingrédients actifs pour leurs bienfaits sur la santé. Cependant, il est important de noter que l'utilisation des caroténoïdes doit être conforme aux réglementations en vigueur pour garantir leur sécurité pour la consommation humaine (**Lemoine et schoefs, 2010**).

II. Partie pratique

Matériels et méthodes

Ce présent travail l'extraction des caroténoïdes et leur incorporation dans les biscuits a été effectué au niveau de laboratoire SNC.PREVOLAB El Ksour Bejaia, ce travail a été fait durant la période qui s'étale du 19 mars au 1 juin 2023.

1. Matériel végétal

1.1. Echantillonnage

Le matériel végétal ayant fait l'objet de la présente étude est constitué de zestes ou d'écorces d'oranges, une variété d'orange commune méditerranéenne du fruit de l'oranger (*Citrus sinensis*) de la variété Thomson ayant une taille moyenne. Les fruits sont achetés le mois de Mars 2023 chez un vendeur de fruits et légumes de la wilaya de Béjaia (Chrïaa-Algérie).

2. Méthodes

La méthodologie de notre travail est résumée sur la **figure 07**.

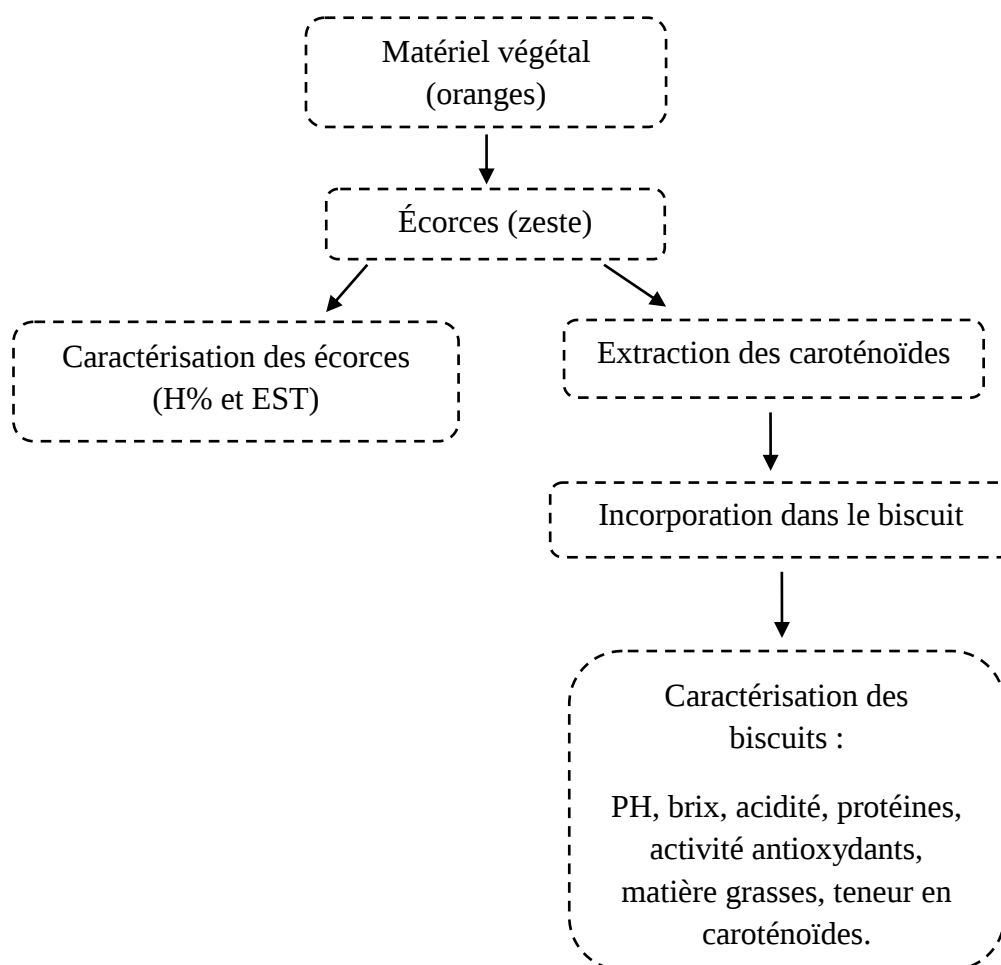


Figure 07: Méthodologie de la partie pratique

2.1. Prétraitement des oranges

Les oranges ont été sélectionnées selon leur taille et leur état de maturité. Elles ont été nettoyées, puis essuyées avec une serviette en coton. Ensuite, les oranges ont été épluchées et les écorces (Zeste (partie colorée)) ont été coupées en petits morceaux environ (1 cm) à l'aide d'un couteau en acier inoxydable. (Figure 08)

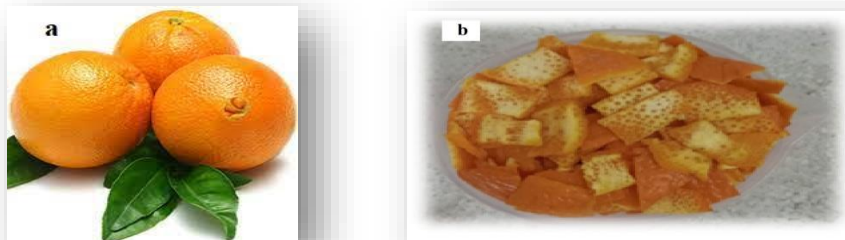


Figure 8: a) Oranges, b) écorces d'orange

2.2. Caractérisation des écorces

❖ Détermination de l'humidité

La teneur en eau est déterminée de notre échantillon où 2 g de matière végétale, coupée en tranche fine et déposée sur une boîte de pétri en verre, puis séchée à l'étuve, à une température de 103 ± 2 °C pendant 3 heures jusqu'à un poids constant (Boivin et al., 2015).

❖ Expression des résultats

$$\text{Humidité (\%)} = [(Pf - Ps) / Pf] * 100$$

Pf : poids frais de l'échantillon ;

Ps : poids sec de l'échantillon.

❖ Détermination de l'extrait sec total

Extrait sec est calculé comme suit : **EST (%) = 100 - H (%)**

EST (%) : Extrait Sec Total

H (%) : Humidité.

2.3. Extraction des caroténoïdes

2.3.1. Préparation de la poudre d'écorce d'orange

❖ Mode opératoire

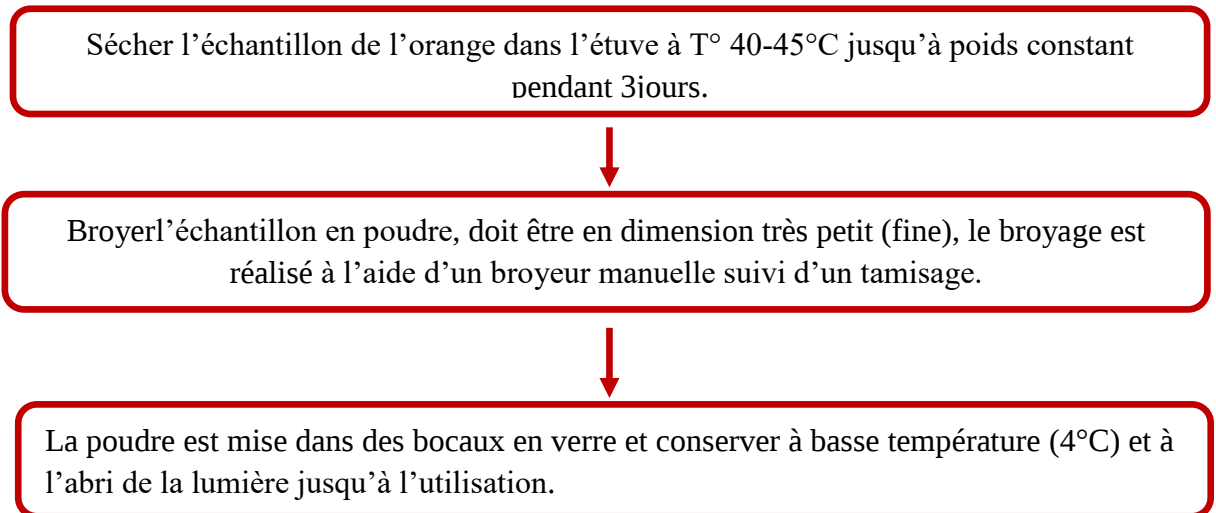


Figure 09: Mode opératoire de la préparation de la poudre du colorant naturel.

2.3.2. Extraction des caroténoïdes

Les Caroténoïdes ont été extraits selon la méthode de **Rodriguez-Amaya (1999)** modifié par **Akin et al. (2008)** qui consiste à établir un contact direct entre le zeste et le solvant organique pendant un temps précis.

❖ Mode opératoire

La **figure 10** représente le protocole de l'extraction des caroténoïdes selon **Rodriguez-Amaya (1999)** modifié par **Akin et al. (2008)**.

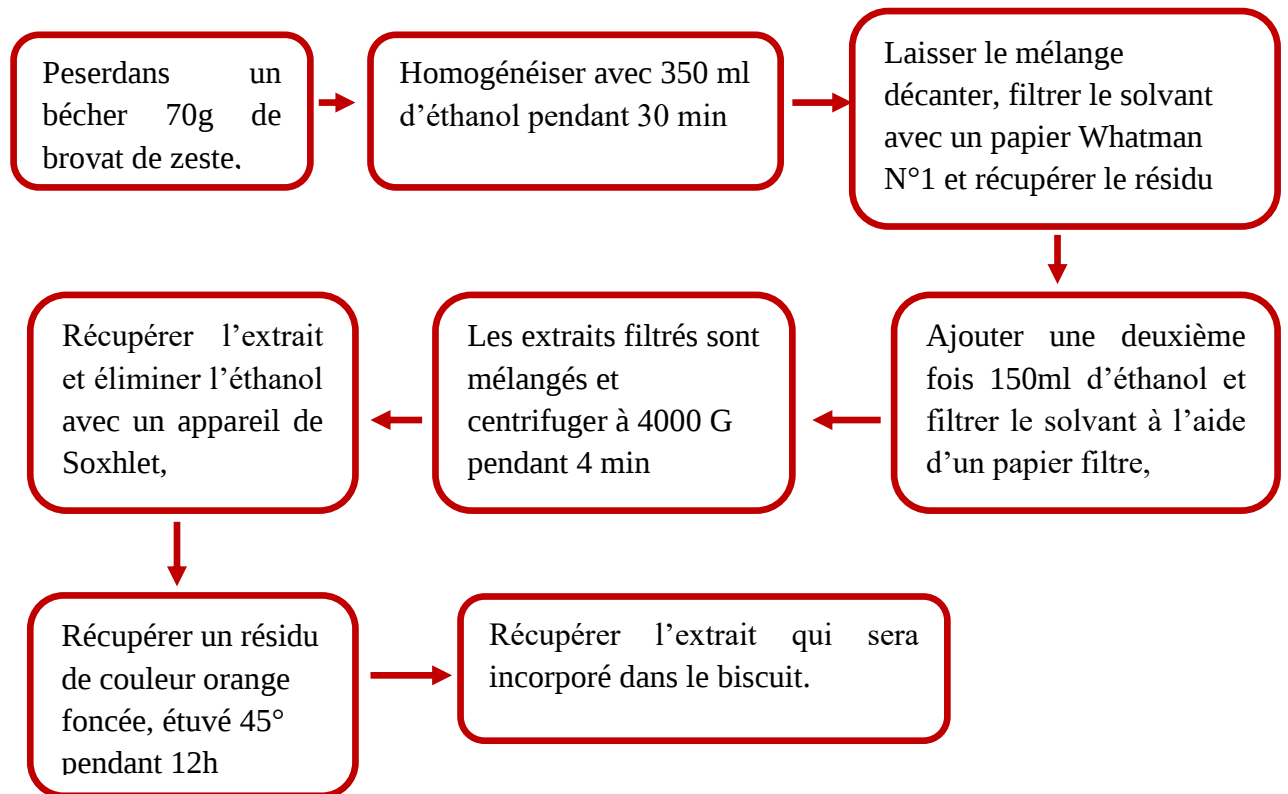


Figure 10: Protocole d'extraction des caroténoïdes.



Figure 11: Le mélange après décantation



Figure 12: Appareil de Soxhlet

2.4. Incorporation du colorant dans les biscuits

2.4.1. Matières premières de fabrication de biscuits

Les ingrédients utilisés dans ce travail pour la fabrication de biscuits (sans colorant, avec colorant synthétique liquide et en poudre, avec notre extrait) sont les suivants : la farine (blé tendre), les œufs, le sucre glace, la margarine, l'eau, colorant synthétique liquide et poudre et le colorant naturel. **(Figure 13)**

- **Colorant naturel** : les caroténoïdes utilisés dans la présente étude ont été extraits par la méthode précédente.
- **Farine du blé tendre** : Il s'agit de la matière première classiquement utilisée pour la fabrication des biscuits, en raison de sa teneur en gluten qui confère à la pâte ses propriétés technologiques et rhéologiques spécifiques. La farine de blé tendre utilisée dans notre étude est de qualité supérieure, achetée et conditionnée dans des sachets de 1 kg, de la marque | Mama T45 |.
- **Œufs** : Ils ont été achetés du commerce et conservés au réfrigérateur.
- **Sucre** : Le sucre employé est acheté du marché. C'est un sucre glace sous forme poudre vendu sous le nom de | El Mordjene |.
- **Colorants** : Les colorants employés sont achetés du superette 'O marché'. (SIN 171) pour le colorant poudre et le colorant liquide (composé de SIN 422 ; 85, 71 colorant naturel ; eau ; colorant du curcumine et colorant alimentaire liquide SIN422). Ce sont des colorants oranges vendus sous le nom de | Colorant poudre ; Férial successivement |.
- **Margarine** : La margarine utilisée est une margarine végétale de la marque | Fleurial |, | Cevital |, conditionnée en boîte PP (Polypropylène 05) alimentaire 500g.



Figure 13: Ingrédients utilisés dans la fabrication du biscuit

2.4.2. Diagramme de fabrication des biscuits

Les biscuits ont été préparés suivant une recette de référence avec modification (Caleja C et al., 2016). (Figure 14) les quantités utilisées dans cette fabrication sont montrés dans le tableau I (Annexe 02).

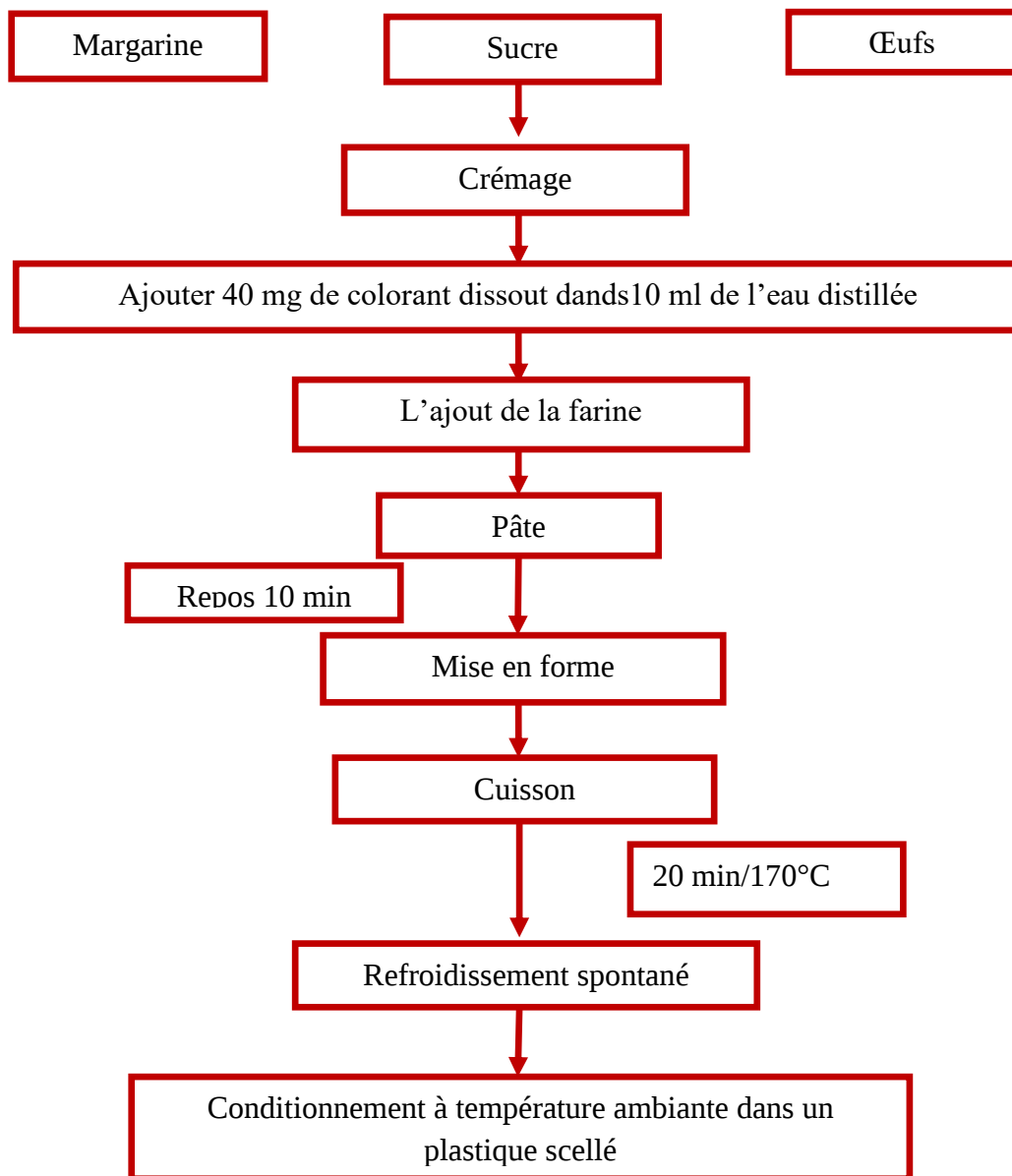


Figure 14: Diagramme de fabrication de biscuits avec colorant naturel

3. Analyses physicochimiques des biscuits

3.1. Humidité

La teneur en eau de biscuits a été déterminée par le procédé de séchage à l'étuve à 105°C. Selon **AFNOR NF V03-707**, dans une capsule sèche et tarée, peser (2g) de chaque biscuit (sans colorant, avec colorant synthétique, et colorant des caroténoïdes naturel) et introduire dans une étuve réglée 105° suivi d'une mesure de poids après chaque 2 heures jusqu'à la stabilité de poids.

❖ Expression des résultats

$$H\% = \frac{(m1 - m2)}{m1} * 100$$

Tels que :

H% : Teneur en eau (humidité) exprimé en %.

m1 : Masse de la capsule additionnée à celle de la prise d'essai en (g).

m2 : Masse totale après étuvage en (g).

3.2. Détermination du pH

Le principe consiste à la mesure de la différence de potentiel entre une électrode de mesure et une électrode de référence réunies en un système d'électrode combinée (Feiuet, 1998).

❖ Mode opératoire

La méthodologie de cette analyse est illustrée dans la **figure 15**.

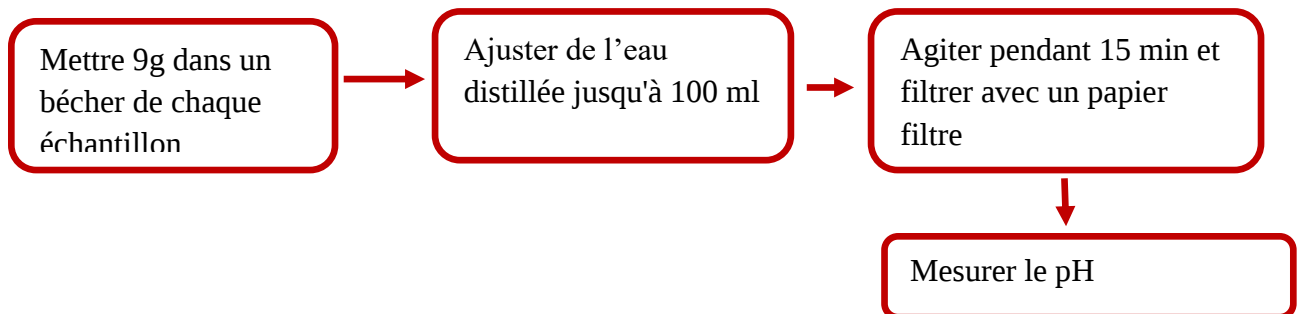


Figure 15: Détermination du pH.

3.3. Acidité

L'analyse de l'acidité mesure les ions H^+ disponibles dans le milieu : qu'ils soient dissociés, c'est-à-dire ionisés, ou non. Ainsi on déplace les équilibres chimiques pour neutraliser les ions H^+ des acides faibles. Le titrage de l'acidité se fait par la soude NaOH en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré.

Sur une balance analytique, peser 9 g de chaque échantillon (biscuit sans colorant, biscuit avec colorant artificiel et biscuit au caroténoïdes), la mettre dans un bécher et compléter le volume avec l'eau distillée jusqu'à 100 ml suivi d'une agitation pendant 15 minutes et filtration.

Mettre 20 ml du filtrat dans un bécher et ajouter quelques gouttes de phénol phtaléine puis titrer avec la soude (0.1 N), lire le volume de NaOH jusqu'à l'obtention un virage de couleur vers la couleur rose (AFNOR : V 05- 101).

❖ Expression des résultats

$$Acidité = \frac{(Nb \times Vb \times M)}{Va \times P}$$

Avec :

Nb : 0,1 (Normalité de NaOH).

Vb : volume de NaOH (ml) (chute de burette).

M : masse moléculaire de l'acide citrique (192g).

Va : volume d'échantillon dilué (ml).

P : 3 (nombre de protons portés par l'acide citrique).

3.4. Taux de Brix

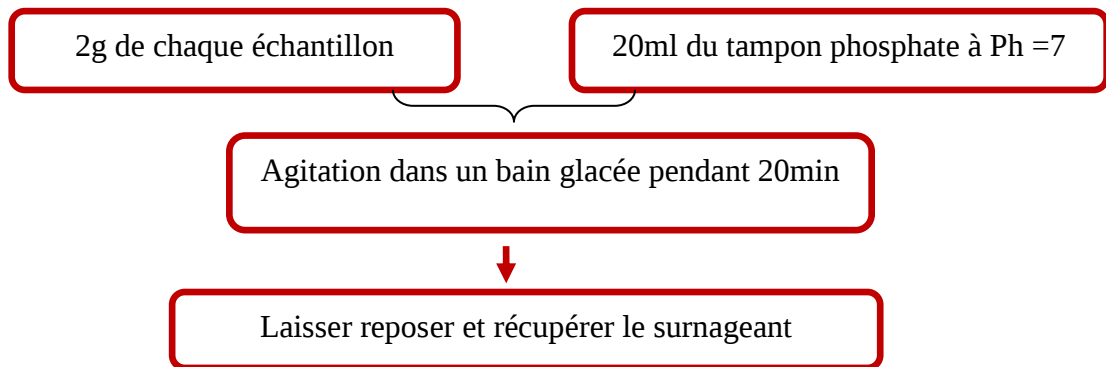
Le degré brix est la mesure de la matière sèche soluble qui celle-ci s'exprime en pourcentage. La mesure de degré de brix d'effectue à l'aide d'un réfractomètre, dont ce dernier détermine l'indice de réfraction de la lumière d'une matrice solide ou liquide. Le taux de Brix des échantillons est déterminé par un refractomètre, environ une goutte de la même solution filtrée de l'analyse d'acidité à été placé sur la plaque de l'instrument, puis la valeur de Brix est affichée sur l'appareil, cette opération est répétée trois fois, en n'oubliant pas de nettoyer le réfractomètre avec de l'eau distillée après chaque lecture (NF. V05- 109-1970 cité par Boumaza et Makhloufi ., 2018).

3.5. Détermination des protéines

3.5.1. Extraction des protéines

La méthode de cette partie d'extraction est illustrée est lustrée dans la **figure 16**.

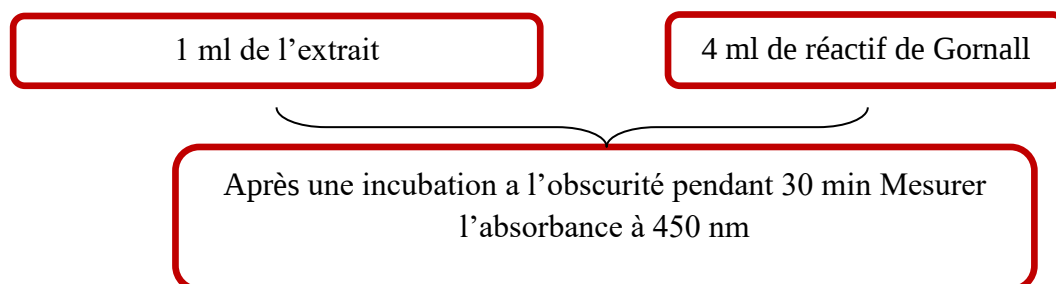
❖ Mode opératoire

**Figure 16:** Extraction des protéines**3.5.2. Dosage des Protéines**

La méthode de biuret est une méthode colorimétrique. Les liaisons peptidiques des protéines réagissent avec Cu^{2+} en solution alcaline pour former un complexe coloré dont l'absorbance mesurer à 540 nm. Cette méthode est réalisée grâce aux réactifs de Gornall qui contient du sulfate de cuivre, du tartrate de sodium ou potassium, de l'hydroxyde de sodium, de l'iode de potassium, qui complexe les ions cuivriques et maintient leur stabilité en solution alcaline. (Gornall et al., 1949).

❖ Mode opératoire

Le mode opératoire de cette méthode est montré la figure16.

**Figure 17:** Dosage des protéines par Biuret

La gamme d'étalonnage et la courbe d'étalonnage sont illustrées dans (Annexe 01).

3.6. Taux de la matière grasse

Les lipides peuvent se dessoude dans le pétrole, l'hexane, l'acétone et l'éthanol. Que ce soit à haute température ou à basse température.

Pour déterminer la teneur en matière grasse, la méthode d'extraction par Soxhlet est utilisée, dans laquelle l'hexane est utilisé comme solvant. Le solvant est évaporé, l'échantillon séché et pesé (AFNOR, 1991).

❖ **Mode opératoire**

La figure 18 représente le protocole du dosage de la matière grasse.

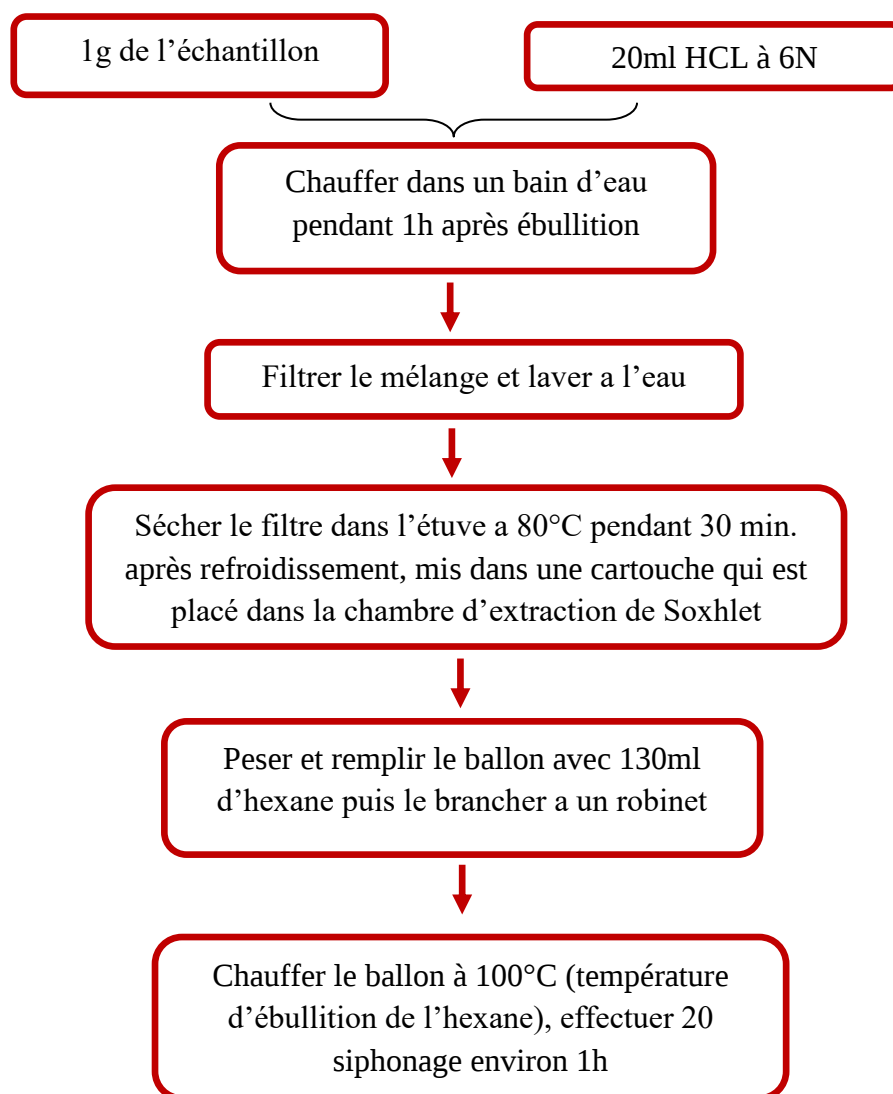


Figure 18: Dosage de la matière grasse.

❖ **Expression des résultats :**

$$MG\% = (P1 - P2) * 100 / ME$$

Avec :

P1 : poids du ballon après évaporation

P2 : poids du ballon vide

ME : poids de la prise d'essai

MG : taux de la matière grasse.

4. Dosage des antioxydants

4.1. Préparation de l'extrait phénolique

❖ Mode opératoire

La préparation de l'extrait de cette étude est mentionnée dans la **figure 19**.

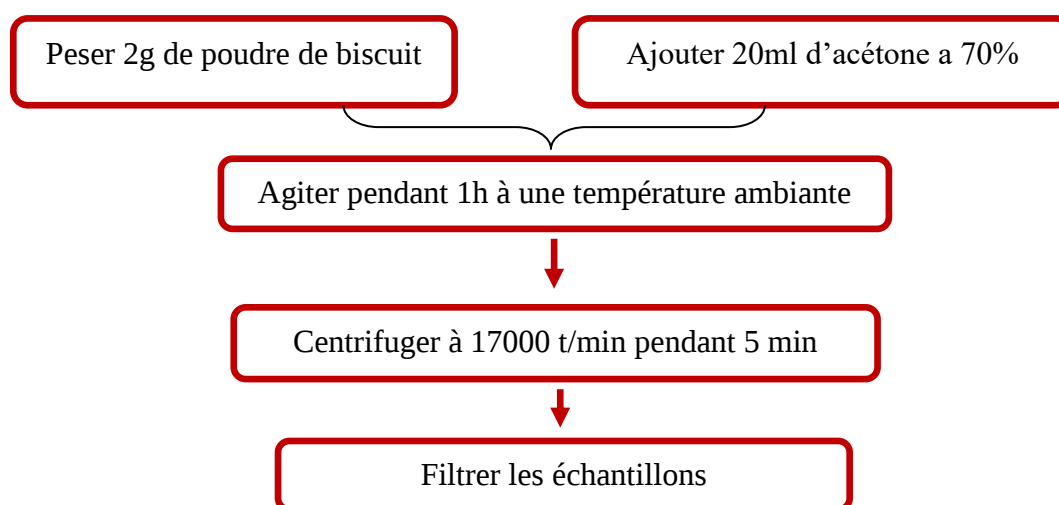


Figure 19: Préparation de l'extrait phénolique

4.2. Dosage des poly phénols totaux

Lorsque les phénols sont oxydés, le réactif de folin-ciocalteu, qui est un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, est réduit pour former un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximale d'environ 750nm à 765nm.(Bonnaillie et al., 2012).

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par (Singleton et al., 1965 cité par Chaalal, 2013).

❖ Mode opératoire

La **figure 20** indique les étapes du dosage des polyphénols totaux.

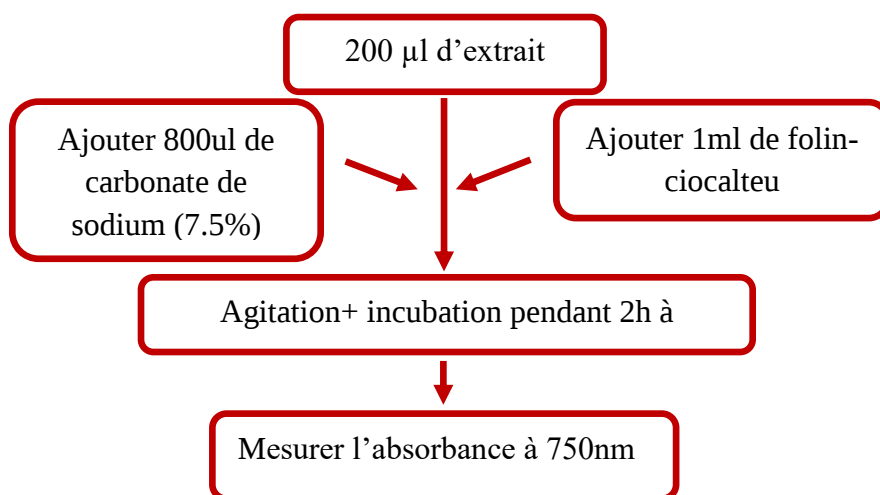


Figure 20: Dosage des polyphénols totaux

Les concentrations des poly phénols sont déduites à partir des gammes d'étalonnages exprimées en mg/ml (Annexe 01).

4.3. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle(OH) libre en position 5, qui peut former un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium(AlCl_3) grâce à la chélation des métaux (fer et aluminium). Des complexes donnent une teinte jaunâtre. Cette réaction est due au fait que le métal (Al) perd deux électrons pour se lier à deux atomes d'oxygène provenant de la molécule phénolique, qui agit en tant que donneur d'électrons (Tsao et Li, 2013).

❖ Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes se fait selon cette méthode (**Figure 21**)

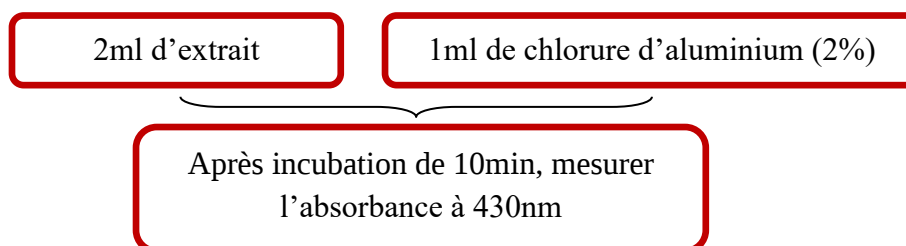


Figure 21: Dosage des flavonoïdes.

La teneur en flavonoïdes est estimée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la Quercétine. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par 100g de poudre du biscuit (mgEQ/100g).

4.4. Dosage des flavonols

La méthode de trichlorure d'aluminium AlCl_3 est utilisée pour quantifier les flavonols dans les extraits des différents échantillons.

❖ Mode opératoire

La méthode du dosage des flavonols, est illustrée dans la **figure 22**.

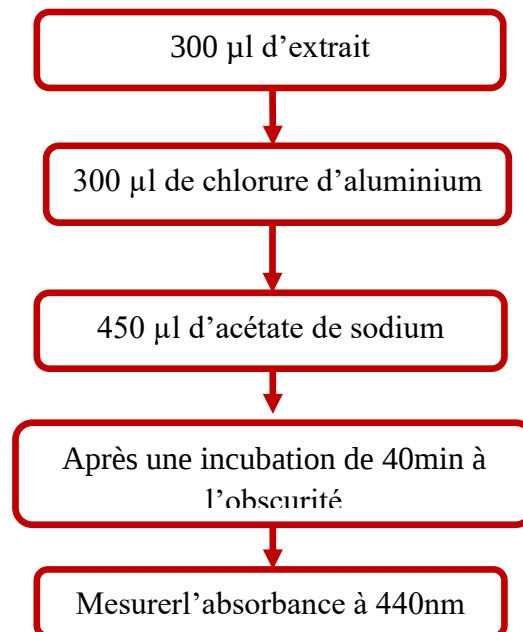


Figure 22: Dosage des flavonols

Une courbe d'étalonnage est préparée avec la quercétine, les résultats sont exprimés en mg/g MS (**Annexe 01**).

4.5. Dosage des caroténoïdes

La méthode utilisée pour la détermination quantitative des caroténoïdes est spectrophotométrique (**Gross, 1991**). Les Propriétés d'absorption des caroténoïdes fournissent un critère pour l'identification et la caractérisation des caroténoïdes.

La teneur des caroténoïdes est estimée en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec le β -carotène. Les résultats sont exprimés en mg équivalent β carotène par 100 g de matière sèche (mg E β -carotène/100g MS).

❖ Mode opératoire

Le dosage des caroténoïdes se fait selon ce protocole (**Figure 23**).

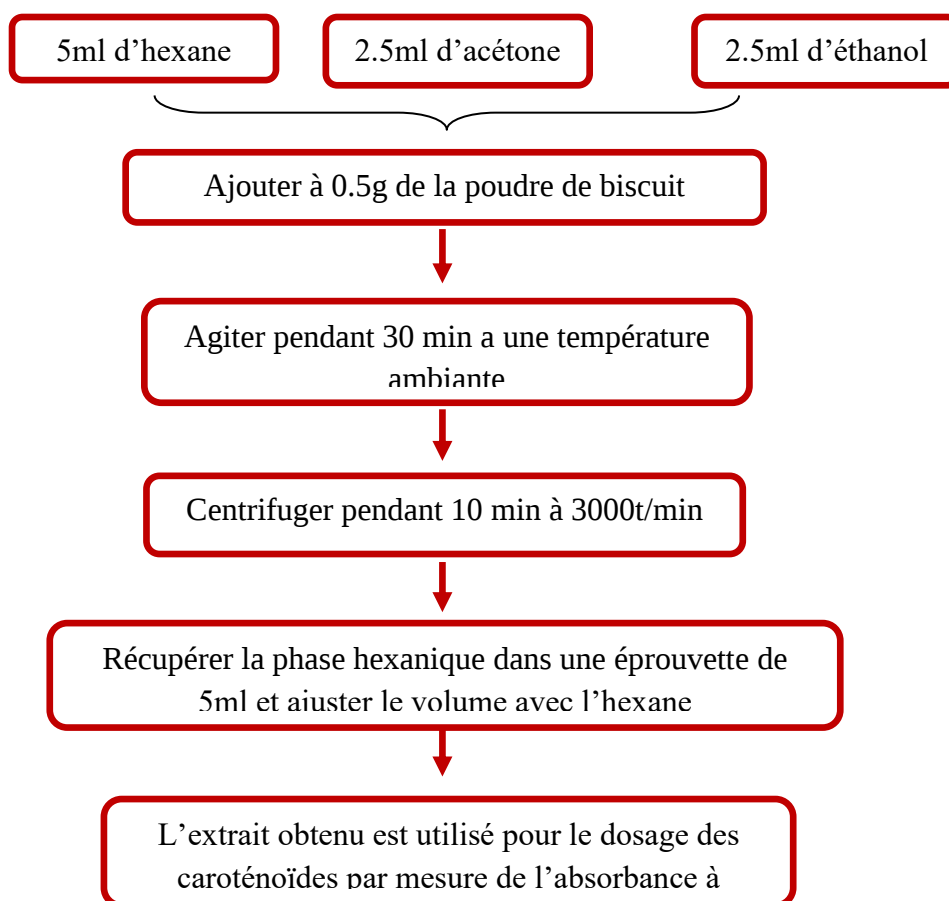


Figure 23: Dosage des caroténoïdes.

4.5. Dosage des tanins

Cette méthode consiste à extraire les tanins de l'échantillon végétale à l'aide d'un solvant approprié. Ensuite, une partie de l'extrait est chauffée en présence d'un acide fort, ce qui entraîne la transformation des tanins en anthocyanes. Les anthocyanes ainsi formés donnent une coloration spécifique à la solution.

❖ Mode opératoire

La figure 24 représente le protocole du dosage des tannins.

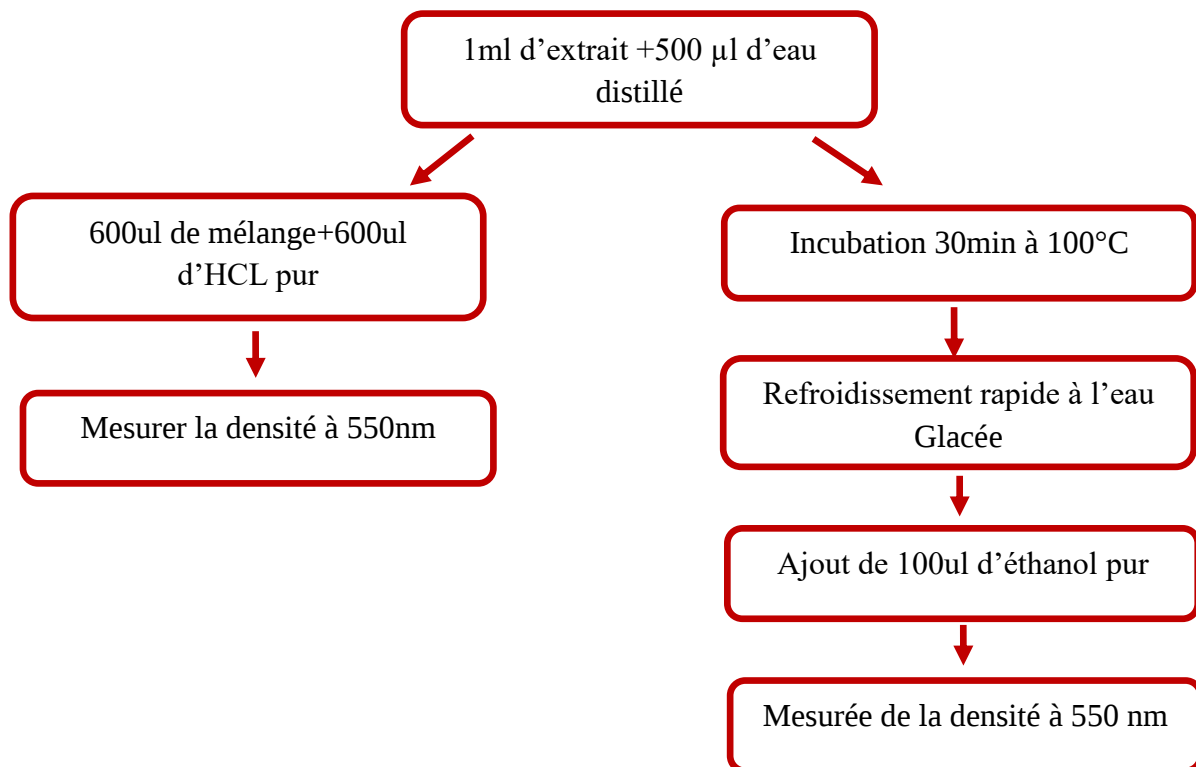


Figure 24: Dosage des tanins.

❖ Expression des résultats

$$Tannins = \frac{(\Delta D01 + \Delta D02) * 19,33 * v * dillution}{masse matériel végétal (g)}$$

Où :

$\Delta D01$: densité optique 1.

$\Delta D02$: densité optique 2.

V : volume d'extraction.

5. Activité antioxydante

5.1. Activité anti- radicalaire (DPPH)

Le DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical stable largement utilisé comme sonde pour évaluer le pouvoir antioxydant des substances. Il possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, ce qui lui confère une couleur violette intense et un pic d'absorption maximal à 517 nm. Lorsqu'un échantillon contenant un antioxydant est ajouté à une solution de DPPH, l'électron célibataire du DPPH est apparié par transfert d'électron de l'antioxydant.

Cela provoque une décoloration de la solution, passant du violet (forme radicalaire DPPH) au jaune (forme réduite DPPH-H). Cette décoloration est directement proportionnelle à la quantité d'antioxydant présent dans l'échantillon (**Ramadan, 2010**).

La mesure de la diminution de la coloration de la solution est effectuée à l'aide d'un spectromètre UV à une longueur d'onde de 517 nm. Plus la solution perd de sa coloration violette, plus la quantité d'antioxydant présent dans l'échantillon est élevée. Cette méthode, connue sous le nom de test DPPH, est largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydant des composés et des extraits naturels.

❖ Mode opératoire

Le protocole suivi pour la détermination de l'activité anti-radicalaire est mentionné dans la **figure 25**.

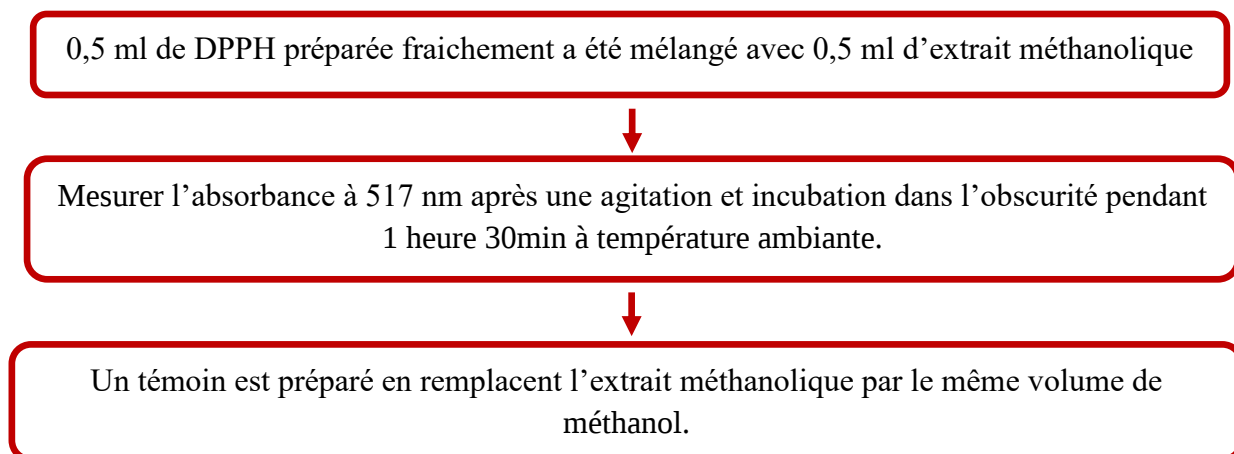


Figure 25: Détermination d'activité anti-radicalaire (DPPH)

❖ Expression des résultats :

Le pourcentage d'inhibition des radicaux dus à la propriété antioxydant des extraits a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\%d'inhibition = \left(\frac{Ac - Ae}{Ac} \right) * 10$$

Où :

Ac : absorbance de contrôle

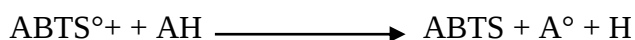
Ae : absorbance de l'échantillon. Sont les absorbances du control et de l'extrait après incubation.

5.2. Evaluation de l'activité antioxydant par le test ABTS

Le test ABTS est l'une des méthodes les plus couramment utilisées pour évaluer l'activité antioxydante d'une substance (Milardovic et al., 2007). Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à neutraliser le radical cationique ABTS, qui a une couleur bleu-vert, en le convertissant en une forme incolore par capture d'un proton par l'antioxydant (Damintoti et al., 2005 ; Osman et al., 2006).

Le test 2,2-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique (ABTS) est couramment utilisé pour évaluer l'efficacité antioxydante de différents composés et mélanges complexes de cation, et il offre une méthode rapide et fiable pour quantifier l'activité antioxydante (Osman et al., 2006).

La réaction entre les antioxydants et ABTS^{•+} est estimée selon la réaction suivante :



❖ Mode opératoire

Pour déterminer l'activité antioxydante ABTS nous avons appliqué ce protocole (Figure 26).

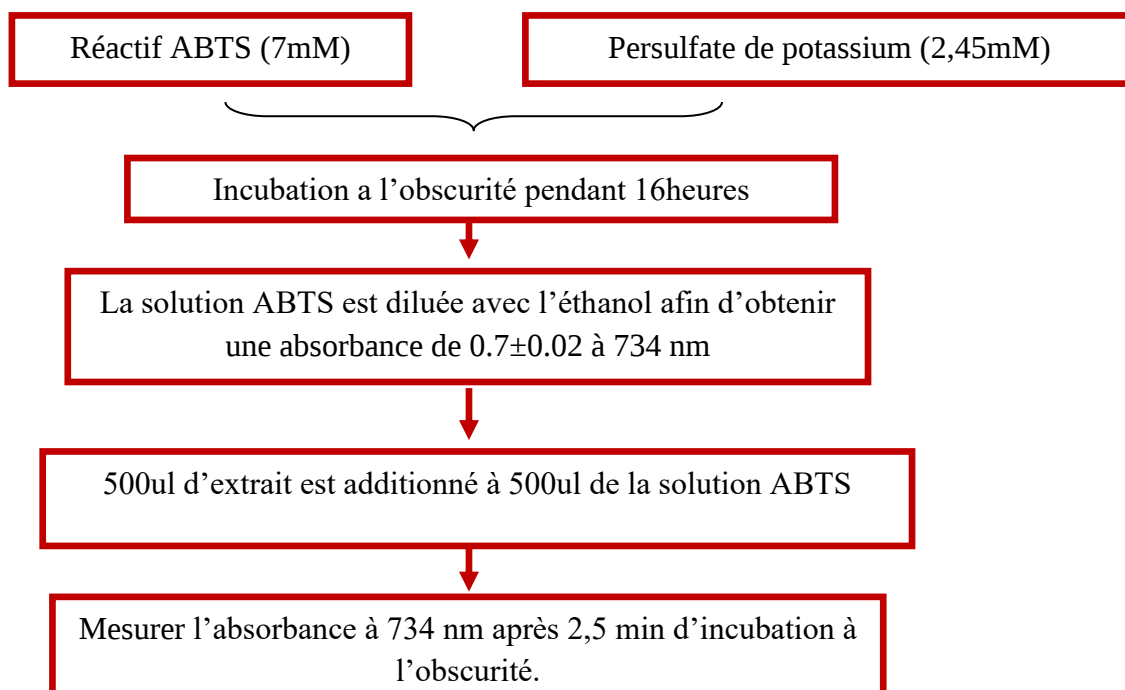


Figure 26: Détermination de l'activité antioxydante (ABTS).

❖ Expression des résultats

$$\text{Activité antiradicalaire}(\%) = \left(\frac{A0 - A1}{A0} \right) * 100$$

Où :

A0 : absorbance de control.

A1 : absorbance de l'échantillon.

5.3. Pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur est largement utilisé comme méthode rapide et simple pour évaluer l'activité antioxydant des extraits naturels, des aliments et des boissons. Cependant, il convient de noter que ce test mesure le pouvoir réducteur global de l'extrait et ne permet pas d'identifier spécifiquement les antioxydants individuels présents.

❖ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur est illustré dans la (figure 27).

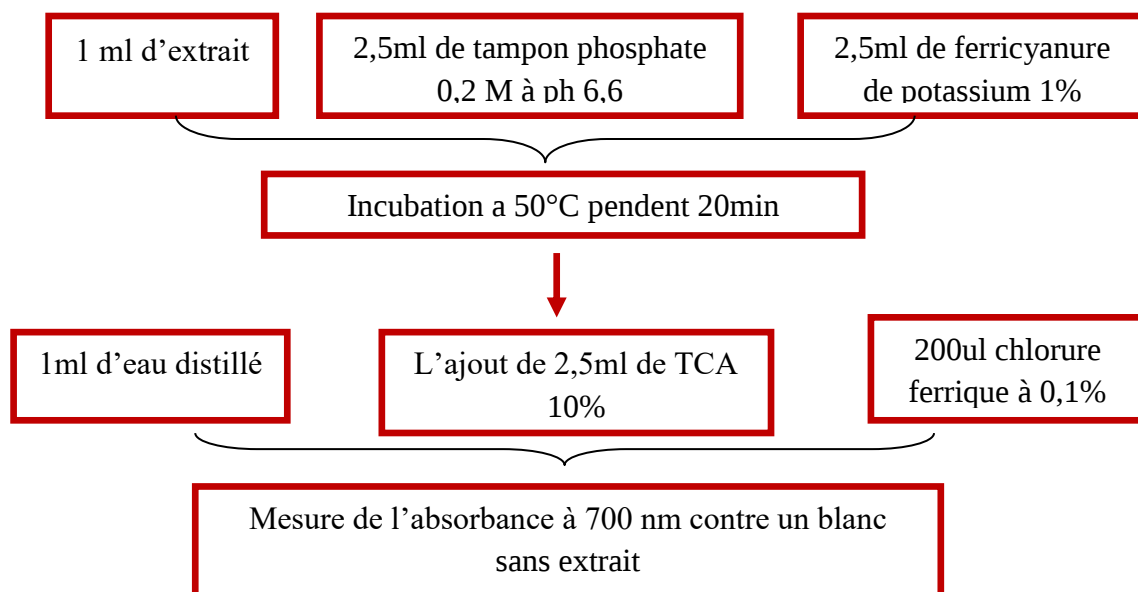


Figure 27: Détermination du pouvoir réducteur.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par 1g de matière sèche à partir d'une droite d'étalonnage (Annexe 01).

6. Etude statistique

Pour comparer les différents résultats dans la présente étude, une analyse descriptive a été réalisée, à l'aide du logiciel Microsoft office Excel 2003, les moyennes étant exprimées sous la forme de moyenne $\pm$ écart type, suivi par une analyse de la variance (ANOVA) avec le test LSD. Les données ont été organisées en utilisant le logiciel STATISTICA version 5.5.

Les résultats qui portent des lettres alphabétiques différentes, présentent des différences, contrairement à ceux qui portent des lettres identiques. Toutes les données représentent la moyenne de trois essais.

Résultats et discussion

L'objectif de notre travail est l'extraction des caroténoïdes à partir des écorces d'agrumes (*Citrus sinensis*' Thomson Navel') leur incorporation dans des biscuits, avec une comparaison entre notre colorant naturel et deux colorants synthétiques.

1. Caractérisation des écorces

1.1 Détermination de l'humidité

L'humidité initiale des écorces d'agrumes est obtenue par le calcul de la moyenne des trois répétitions à partir du même lot, et dans le même temps et les mêmes conditions de travail. Les moyennes des teneurs en eau initiale est $24,37 \pm 0,40\%$ et le taux de la matière sèche est de $4,10 \pm 0,40$.

2. Analyses phytochimiques des colorants

2.1. Teneur des polyphénols

Les résultats de la teneur en polyphénols des différents colorants (naturel, synthétique en poudre, synthétique liquide) exprimées en mg /100g sont présentés sur la **figure 28** :

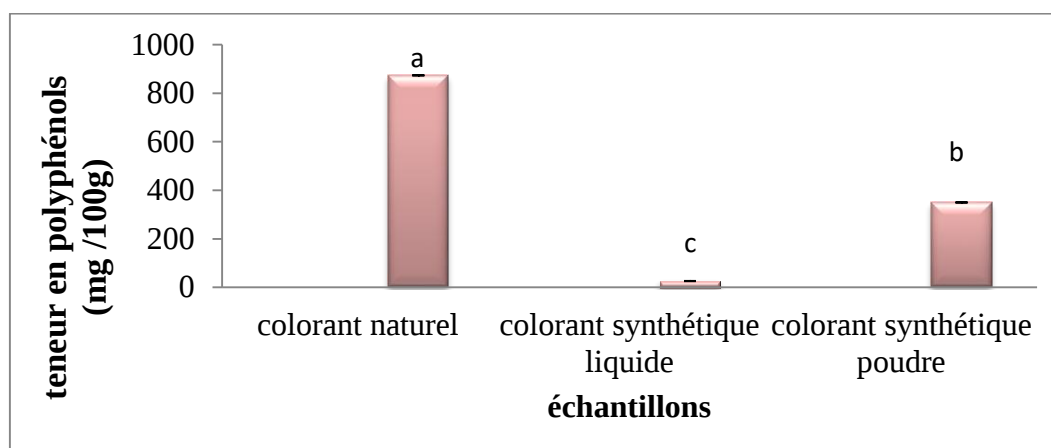


Figure 28: Teneurs en polyphénols des trois colorants.

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en polyphénols des différents colorants étudiés. Les résultats illustrés sur la **figure 28** montrent que le taux des polyphénols du colorant naturel est de $873,12 \pm 0,03$ mg/100g, ce qui est très élevé par rapport au colorant synthétique. Les taux de polyphénols pour le colorant en poudre sont de $349,91 \pm 0,04$ mg/100g, et pour le colorant liquide, ils sont de $25,93 \pm 0,07$ mg/100g.

La variation des niveaux de polyphénols totaux est attribuable à la complexité de l'extraction des polyphénols. Ces composés sont sujets à la dégradation, à l'oxydation ou à

l'hydrolyse. De plus, d'autres facteurs peuvent influencer la quantification de ces polyphénols, tels que la variété, le mode de conservation des extraits, les conditions environnementales, le degré de maturité des fruits et les facteurs génétiques (Lagha-benamrouche et Madani, 2013).

2.2. Teneur des flavonoïdes

Les résultats des teneurs en flavonoïdes des différents colorants (naturel, synthétique en poudre, synthétique en liquide) sont exprimés en mg /100g sont présentés sur la **figure29**:

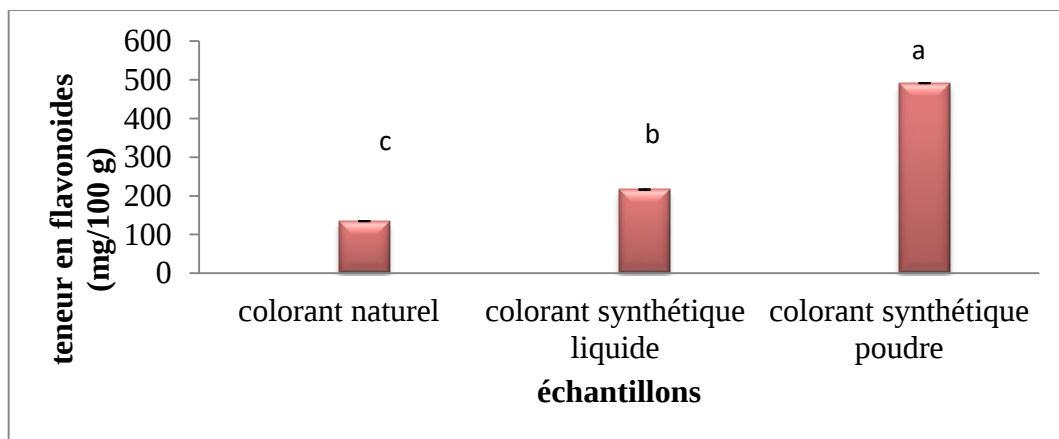


Figure 29:Teneurs en flavonoïdes des trois colorants

D'après la **figure 29** on enregistre une teneur en flavonoïdes importante de $491,31 \pm 0,07$ mg/100g pour le colorant synthétique poudre. Et de $215,86 \pm 0,01$ mg/100g pour le colorant synthétique liquide et une teneur de $134,59 \pm 0,48$ mg/100g pour le colorant naturel.

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en flavonoïdes des trois colorants étudiés.

2.3. Dosage des flavonols

Les résultats des teneurs en flavonols des trois colorants (naturel, synthétique en poudre, synthétique liquide) exprimées en mg/100g sont présentés sur la **figure 30** :

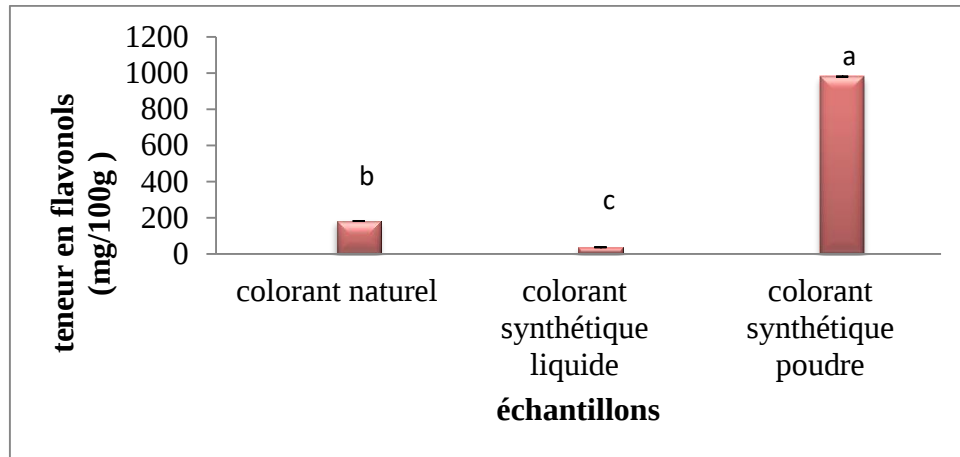


Figure 30: Teneur en flavonols des trois colorants.

L'analyse statistique a révélé une différence significative entre les différents colorants. On enregistre une teneur en flavonols importante de $981,90 \pm 0,02 \text{ mg/100g}$ pour le colorants synthétique poudre et une tenure de $182,01 \pm 0,07 \text{ mg/100g}$ pour le colorant naturel et enfin le colorant synthétique liquide avec une teneur faible qui est de $36,62 \pm 0,06 \text{ mg/100g}$.

2.4. Teneur des caroténoïdes

Les résultats de dosage des caroténoïdes de colorants naturel exprimés en mg/ml est présenté sur la **figure31**.

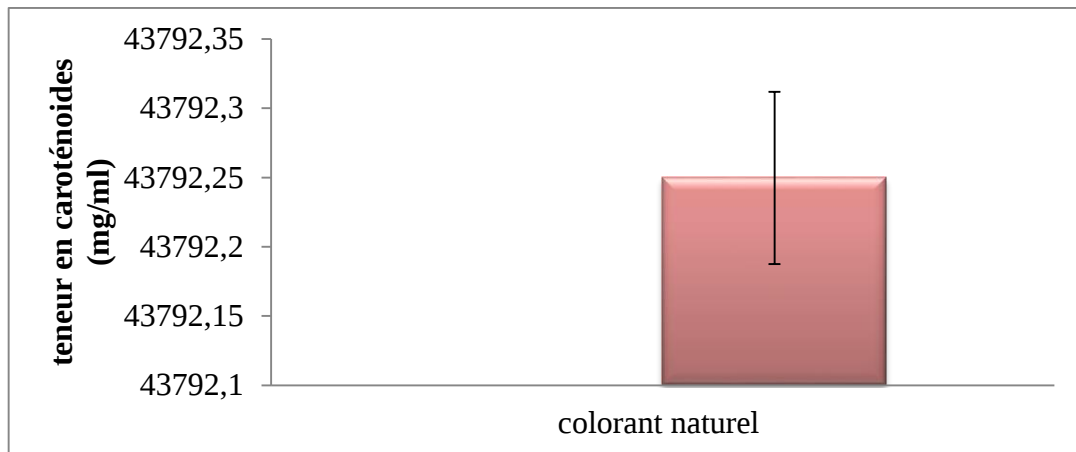


Figure 31: Dosage des caroténoïdes du colorant naturel.

Les résultats présentent que notre colorant est riche en caroténoïdes qui sont de $43792,25 \pm 0,06 \text{ mg/ml}$.

2.5. Teneur des tanins

Les teneurs en tanins obtenues des trois colorants (naturel, synthétique en poudre, synthétique liquide) exprimées en mg/g sont présentés sur la **figure 32**.

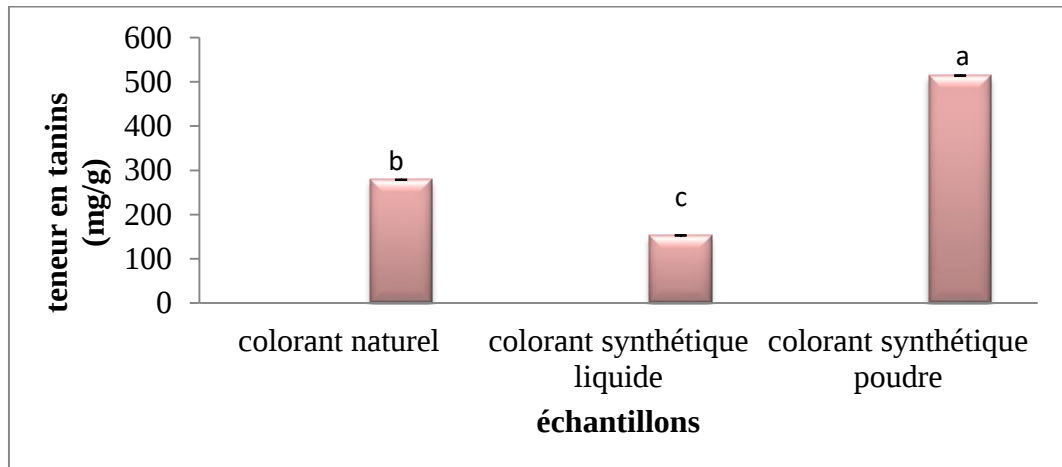


Figure 32: Teneurs en tannins des trois colorants.

Les résultats illustrés sur la **figure 32** présentent que le taux des tanins du colorant synthétique en poudre est de $514,23 \pm 0,07 \text{ mg/g}$ qui est élevé par rapport aux autres colorants qui sont de $278,71 \pm 0,06 \text{ mg/g}$ pour le colorant naturel et de $152,57 \pm 0,05 \text{ mg/g}$ pour le colorant synthétique liquide.

L'analyse statistique révèle une différence significative ($p < 0,05$) dans les niveaux de tanins entre les différents colorants étudiés. Les résultats ont exposé que la concentration en tanin de notre colorant est très élevé à celui (**Zergouni et Tarfaya, 2022**) dans l'écorce de la Thomson avec un taux de $(51.3262 \pm 0,2 \text{ mg/g})$.

3. Activités antioxydante des colorants

3.1. Activité anti-radicalaire

Les résultats du DPPH des différents colorants (naturel, synthétique en poudre, synthétique liquide) exprimés en pourcentage % sont illustrés sur la **figure 33**:

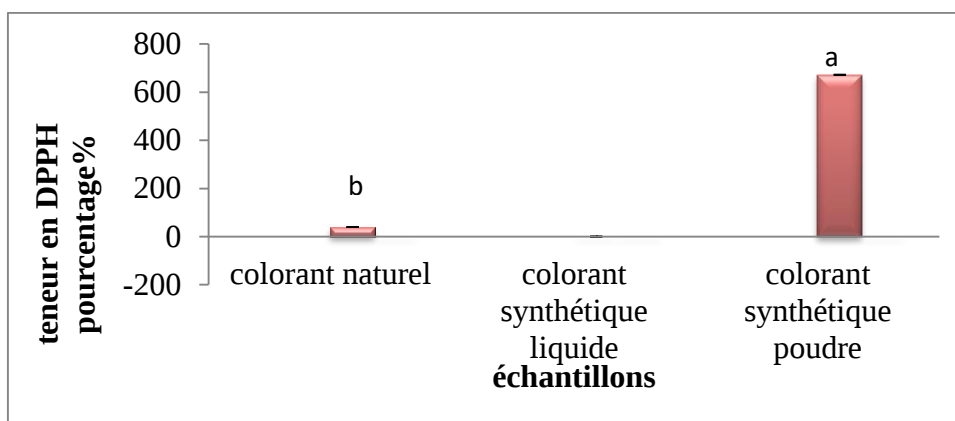


Figure 33: Teneur d'activité anti-radicalaire (DPPH) des trois colorants.

Les résultats obtenus exposent que le colorant synthétique poudre à donner une valeur supérieure qui est de $672,19 \pm 0,07$ %, notre colorant a donné une valeur moins que celle de colorant synthétique en poudre qui est de $40,15 \pm 0,02$ % par contre le colorant synthétique liquide est d'une valeur de zéro. que signifie qu'il existe pas une activité anti-radicalaire chez le colorant synthétique liquide.

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les différents colorants étudiés.

3.2. Test ABTS

Les résultats de test ABTS des différents colorants (naturel, synthétique en poudre, synthétique liquide) exprimés en pourcentage % sont présentés sur la **figure 34**.

Les résultats illustrés sur la **figure 34** montrent que l'activité anti-radicalaire par le teste ABTS du colorant synthétique liquide $102,48 \pm 0,05\%$ est légèrement plus élevé par rapport à le colorant synthétique poudre qui est de $101,66 \pm 0,02\%$ par contre on enregistre une activité anti-radicalaire plus moins dans notre colorant naturel qui est de $92,26 \pm 0,02\%$.

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les différents colorants étudiés.

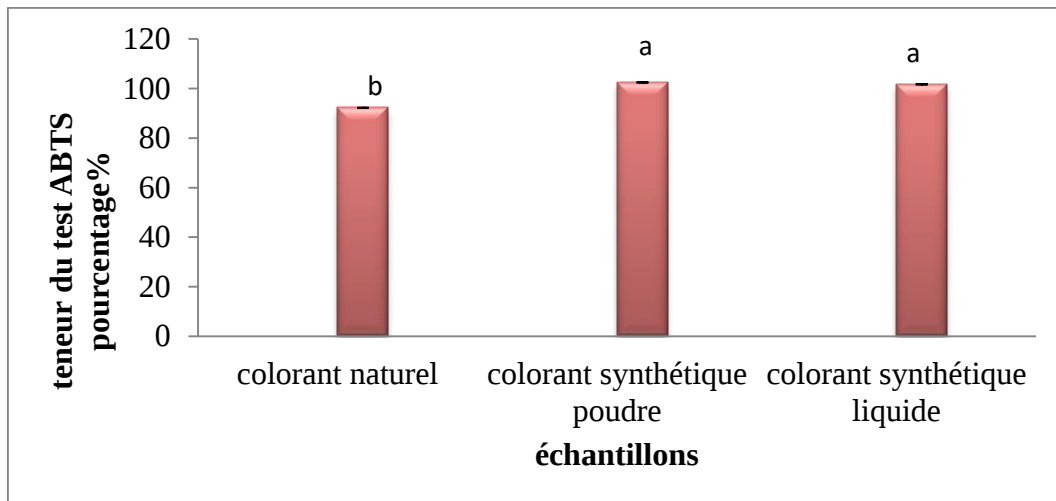


Figure 34: Teneur du test ABTS des trois colorants.

3.3. Pouvoir réducteur

Les résultats du pouvoir réducteur des différents colorants (naturel, synthétique en poudre, synthétique en liquide) exprimés en mg/100g sont illustrés sur la **figure 35** :

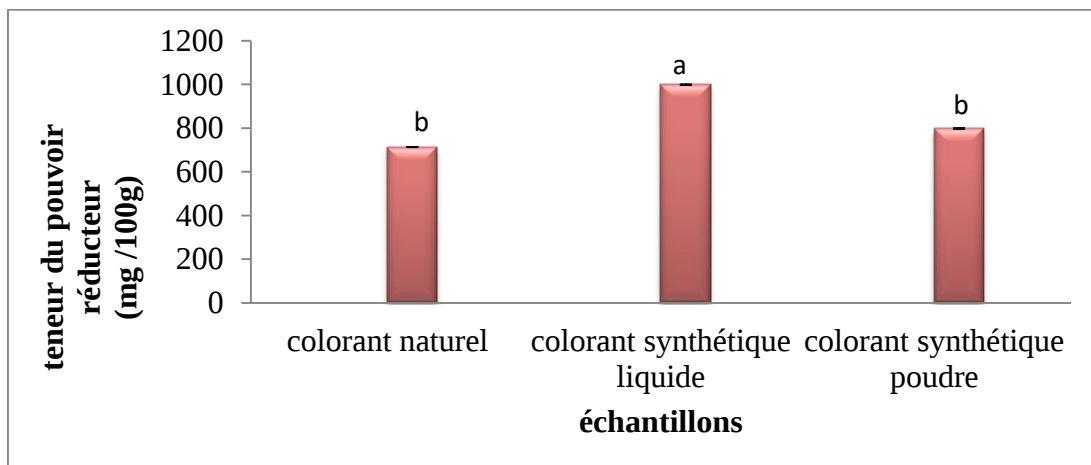


Figure 35: teneur du Pouvoir réducteur des trois colorants.

Les résultats illustrés sur la **figure 35** présentent que le colorant synthétique liquide est d'un pouvoir réducteur supérieur qui est de $999,40 \pm 0,045$ mg/100g, et un pouvoir réducteur du colorant synthétique poudre $798,94 \pm 0,07$ mg/100g légèrement supérieur à celui du colorant naturel qui est de $713,99 \pm 0,06$ mg/100g.

L'étude statistique montre qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre les différents colorants étudiés.

Cette différence peut être due à l'espèce analysée, la variété, la saison de l'échantillonnage, le degré de la maturation du fruit, le sol, le climat et les méthodes analytiques.

4. Les analyses physico-chimiques des biscuits

Les résultats des analyses physico-chimiques des biscuits sont présentés dans le tableau suivant (**Tableau V**).

Tableau V: Analyses physico-chimiques des biscuits

Echantillons	Teneur en humidité (%)	Matière sèche (%)	pH	Acidité (g/l)	Brix (%)	Protéines (mg/100g)	Matière grasse (%)
Biscuit sans colorant	4,155a±0,007	95,845b±0,007	6,59b±0,03	0,00783a±0,007	1,75a	421,6613a±0,028	25,045b±0,007
Biscuit avec colorant naturel 40mg	4,32a±0,056	95,68b±0,056	6,635b±0,06	0,00727b±0,006	1,75a	230,4646b±0,102	23,475c±0,007
Biscuit avec colorant naturel 120mg	3,67a±0,014	96,33a±0,014	6,675b±0,03	0,00783a±0,007	1,75a	485,6145a±0,062	24,72b±0,056
Biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg	1,95b±0,014	98,05a±0,014	6,605b±0,01	0,00783a±0,007	1,75a	125,3352d±0,14	26,675a±0,007
Biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg	1,435b±0,015	98,565a±0,15	7,065a±0,01	0,00505c±0,004	1a	162,4881c±0,05	25,015b±0,007

D'après le résultats du tableau V qui montre que la teneur en humidité du biscuit préparé avec le colorant naturel 40mg est supérieur par rapport aux autres biscuits qui représente $4,32 \pm 0,065\%$, les teneurs en humidités ont de $4,155 \pm 0,007\%$ pour le biscuit sans colorant puis celui de biscuit avec colorant naturel 120mg qui est de $3,67 \pm 0,014\%$, ensuite le biscuit avec le colorant synthétique poudre qui est de $1,95 \pm 0,014\%$ et en dernier le biscuit avec le colorant synthétique liquide qui est de $1,435 \pm 0,015\%$.

Donc à mesure que le temps s'allonge, la teneur en humidité diminue et la quantité de matière sèche augmente.

Les résultats on montre que le biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg représentait le rapport de propagation le plus élevée avec $98,56 \pm 0,15\%$ en comparaison aux autres biscuits ; $98,05 \pm 0,014\%$ pour le biscuit avec le colorant synthétique poudre 40mg ; $96,33 \pm 0,014\%$ pour le biscuit avec colorant naturel 120mg ; $95,84 \pm 0,007\%$ pour le biscuit sans colorant et en dernier $95,68 \pm 0,056\%$ pour le biscuit naturel 40mg. L'analyse statistique a montré une différence significative entre les différents biscuits.

Ceci peut être expliqué par l'effet de la cuisson qui à augmenter la matière sèche chez les biscuits avec les colorants synthétiques. Contrairement aux biscuits avec les colorants naturels et aux biscuits sans colorant qui ont une matière sèche inférieure à celle des colorants synthétiques. Cela est causé par les conditions de cuisson et la nature des colorants.

Pour le pH des biscuits l'analyse statistique à relève une différence significative entre les différents biscuits. On a enregistré un pH de $7,06 \pm 0,01$ pour le biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg, suivi d'un pH de $6,67 \pm 0,03$ pour le biscuit avec colorant naturel 120mg ensuite un pH de $6,63 \pm 0,06$ pour le biscuit avec colorant naturel 40mg, et un pH de $6,60 \pm 0,01$ pour le biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg et en dernier une valeur de $6,59 \pm 0,03$ pour le biscuit sans colorant.

Les résultats ont montré qu'il ya une différence significative entre les différents biscuits. Les biscuits avec colorant naturel 120mg, avec colorant synthétique poudre 40mg et sans colorant ont marqué une acidité supérieure de $8 \cdot 10^{-3} \pm 0,007$ g/l, suivi par le biscuit avec colorant naturel 40mg qui est de $7 \cdot 10^{-3} \pm 0,006$ g/l, en dernier est de $5 \cdot 10^{-3} \pm 0,004$ g/l pour le biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

Le degré de Brix est l'un des critères de base utilisés par les industriels, il indique le pourcentage de solides solubles dans l'eau d'un aliment (**Türkmen et Eksi, 2011**). Les résultats ont montré que les biscuits ont le même taux de brix qui est de 1,75% sauf le biscuit avec colorant synthétique liquide qui a un taux de brix de 1%.

Pour les protéines, l'analyse statistique a révélé une différence significative entre les différents biscuits. Présente une diminution de la teneur en protéine. Le biscuit avec colorant naturel 120mg a marqué un taux de protéines supérieur qui est de $485,61 \pm 0,062 \text{ mg/100g}$ par rapport aux autres biscuits.

Le biscuit sans colorant a enregistré un taux de $421,66 \pm 0,028 \text{ mg/100g}$ suivi par le biscuit avec colorant naturel 40mg qui est de $230,46 \pm 0,102 \text{ mg/100g}$ ensuite le biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg qui est de $162,48 \pm 0,05 \text{ mg/100g}$ et en dernier le biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg qui est de $125,33 \pm 0,14 \text{ mg/100g}$.

La teneur en matière grasse montre une différence significative qui passe de $23,45 \pm 0,007\%$ pour le biscuit avec colorant naturel 40mg, et $24,72 \pm 0,056\%$ pour le biscuit avec colorant naturel 120mg, de $25,01 \pm 0,007\%$ pour le biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg ; pour le biscuit sans colorant enregistre une teneur de $25,04 \pm 0,007\%$, enfin pour biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg est de $26,67 \pm 0,007\%$. Ceci est dû à l'ajout de la matière grasse végétale au cours de sa préparation.

Incorporer de la matière grasse dans la recette de biscuit améliore leur goût en apportant une meilleure qualité gustative. Cette forte teneur en matière grasse confère aux biscuits un fort potentiel calorique et contribue à l'amélioration de la composition nutritionnelle des biscuits (**Saadoudi, 2019**).

5. Analyses phytochimiques des biscuits

5.1. Teneur des polyphénols

La **figure 36** représente le dosage des polyphénols des différents biscuits exprimés en mg/100g.

Les résultats montrent une différence significative entre les différents biscuits. La teneur en poly phénols du biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg est supérieure aux autres biscuits qui est de $45,74 \pm 0,07 \text{ mg/100g}$.

Les autres biscuits sont marqué des teneurs en poly phénols de $32,52 \pm 0,04$ mg/100g pour le biscuit sans colorant, et de $28,89 \pm 0,05$ mg/100g pour le biscuit avec colorant naturel 120 mg, ensuite de $18,67 \pm 0,01$ mg/100g pour le biscuit avec colorant synthétique poudre et en dernier est de $15,28 \pm 0,04$ mg/100g pour le biscuit avec colorant naturel 40mg.

Celui peut être expliqué par l'effet de la température de cuisson du biscuit qui à influencé (dégradé) sur les poly phénols.

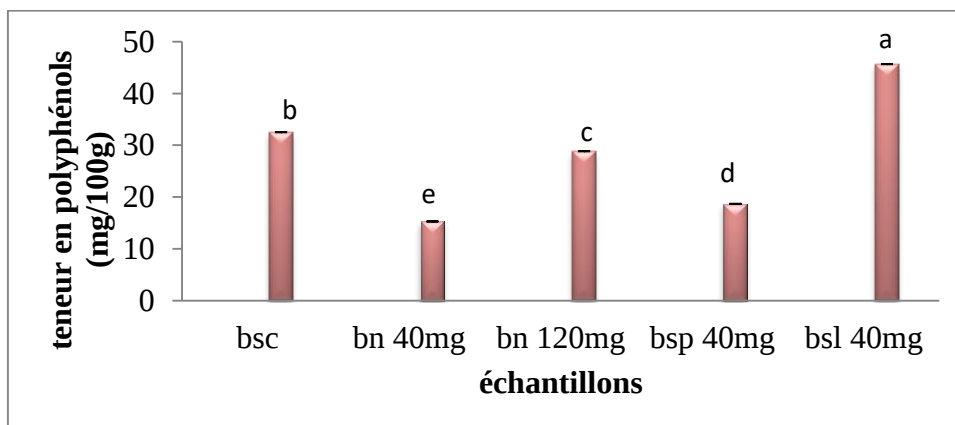


Figure 36: Dosage des polyphénols de différents biscuits.

Bsc : biscuits sans colorant ; **bn 40mg** : biscuit avec colorant naturel 40mg ; **bn120mg** : biscuit avec colorant naturel 120mg ; **bsp 40mg** : biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg ; **bsl40mg** : biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

5.2. Teneur en flavonoïdes

Les résultats des teneurs en flavonoïdes des différents biscuits exprimés en mg/100g sont présentés sur la **figure 37** :

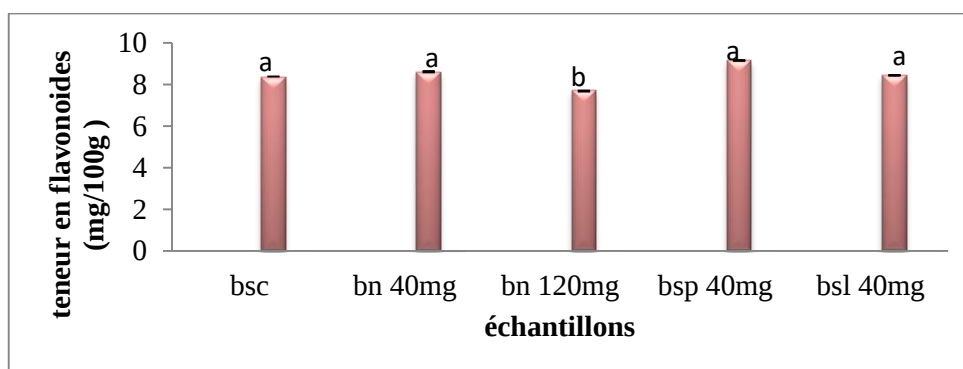


Figure 37: Dosage de flavonoïdes des différents biscuits.

Bsc : biscuits sans colorant ; **bn 40mg** : biscuit avec colorant naturel 40mg ; **bn120mg** : biscuit avec colorant naturel 120mg ; **bsp 40mg** : biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg ; **bsl40mg** : biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

L'analyse statistique à révèle une différence significative entre les différents biscuits. Le biscuit avec colorant synthétique poudre à enregistré une teneur en flavonoïde plus élevé par rapport aux autres biscuits avec une valeur de $9,16 \pm 0,17 \text{ mg/100g}$.

Une étude comparative avec les deux biscuits enrichis avec le colorant naturel nous montre que la teneur en flavonoïdes de biscuit enrichis avec le colorant naturel 40 mg est supérieur à celle de biscuit sans colorant qui est de $8,36 \pm 0,02 \text{ mg/100g}$ une valeur de $8,61 \pm 0,04 \text{ mg/100g}$ est enregistrée pour le biscuit avec colorant naturel 40mg, et de $7,70 \pm 0,25 \text{ mg/100g}$ pour le biscuit avec colorant naturel 120 mg, alors que la teneur en flavonoïdes du colorant naturel est de $134,59 \pm 0,48 \text{ mg/100g}$.

Une valeur de $8,44 \pm 0,44 \text{ mg/100g}$ pour le biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg. Alors que la teneur en flavonoïdes de ce dernier est de $215,86 \pm 0,01 \text{ mg/100g}$.

Ceci peut être expliqué par l'effet de la température de cuisson du biscuit qui à influencé sur les flavonoïdes.

5.3. Teneur en flavonols

Les résultats des teneurs en flavonols des différents biscuits exprimés en mg/100g sont présentés sur la **figure 38** :

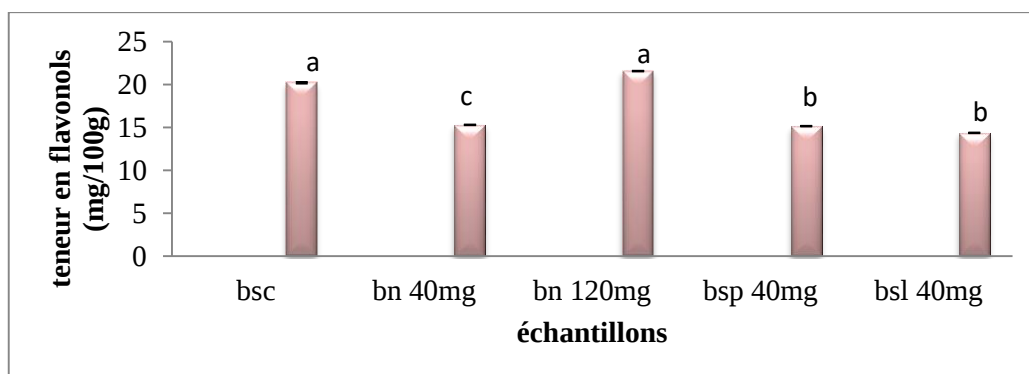


Figure 38: Dosage des flavonols des différents biscuits.

Bsc : biscuits sans colorant ; **bn 40mg** : biscuit avec colorant naturel 40mg ; **bn120mg** : biscuit avec colorant naturel 120mg ; **bsp 40mg** : biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg ; **bsl40mg** : biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

L'analyse statistique à montre une différence significative entre les différents biscuits. On enregistre une faible teneur en flavonols pour le biscuit avec colorant synthétique liquide 40 mg. Avec une valeur de $14,35 \pm 0,13 \text{ mg/100g}$, pour les autres biscuits on enregistre une valeur de $15,13 \pm 0,14 \text{ mg/100g}$, pour le biscuit avec colorant synthétique

poudre, suivi par le biscuit avec colorant naturel 40mg qui est de $15,29 \pm 0,04 \text{ mg/100g}$, ensuit le biscuit sans colorant qui est de $20,19 \pm 0,10 \text{ mg/100g}$ et en dernier une teneur supérieure en flavonols est de $21,56 \pm 0,43 \text{ mg/100g}$ pour le biscuit avec colorant naturel 120mg.

Cela peut être expliqué par l'effet de la température de cuisson du biscuit qui à dégrade et influence sur les flavonols.

5.4. Teneur des caroténoïdes

Les résultats des teneurs en caroténoïdes des différents biscuits exprimés en mg/ml sont présentés sur la **figure 39**.

L'analyse statistique à révèle une différence significative entre des différents biscuits. On a enregistré une teneur en caroténoïdes supérieur pour le biscuit avec colorant synthétique liquide de 40mg qui est de $2960,30 \pm 0,09 \text{ mg/ml}$, suivi de biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg qui est de $1548,04 \pm 0,07 \text{ mg/ml}$, ensuite de $1471,89 \pm 0,07 \text{ mg/ml}$ pour le biscuit avec colorant naturel 120mg et de $1452,98 \pm 0,05 \text{ mg/ml}$ pour le biscuit sans colorant et en dernier $1344,76 \pm 0,15 \text{ mg/ml}$ pour le biscuit avec colorant naturel 40mg.

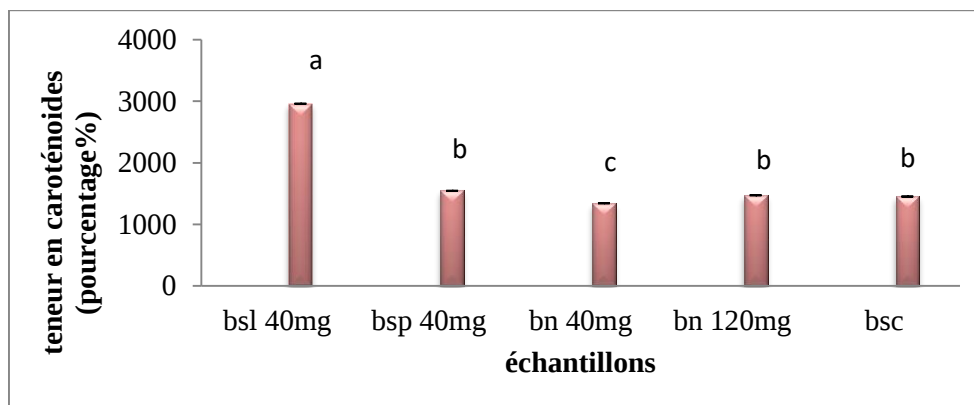


Figure 39: Teneurs en caroténoïdes des biscuits.

Bsc : biscuits sans colorant ; **bn 40mg** : biscuit avec colorant naturel 40mg ; **bn120mg** : biscuit avec colorant naturel 120mg ; **bsp 40mg** : biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg ; **bsl40mg** : biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

5.5. Teneur des tanins

Les résultats du dosage des tannins de différents biscuits sont illustrés sur la **figure 40**, les teneurs sont exprimés en mg/g.

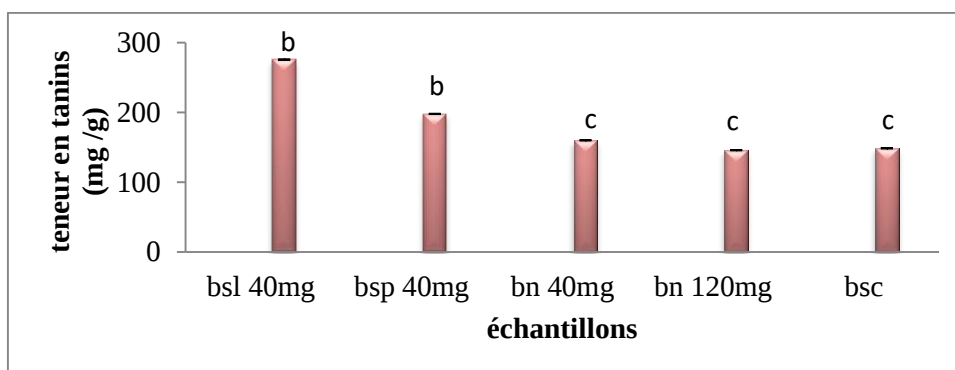


Figure 40: Teneurs en tanins des différents biscuits.

Bsc : biscuits sans colorant ; **bn 40mg** : biscuit avec colorant naturel 40mg ; **bn120mg** : biscuit avec colorant naturel 120mg ; **bsp 40mg** : biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg ; **bsl40mg** : biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

L'analyse statistique a révélé une augmentation significative qui passe de $145,77 \pm 0,06$ mg/g pour le biscuit avec colorant naturel 120 mg, suivi de $148,58 \pm 0,07$ mg/g pour le biscuit sans colorant, ensuite de $160,14 \pm 0,06$ mg/g pour le biscuit avec colorant naturel 40mg et de $197,94 \pm 0,07$ mg/g pour le biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg et en dernier de $275,74 \pm 0,05$ mg/g pour le biscuit avec colorant synthétique liquide.

Ceci expliqué par l'effet de la température et le temps de cuisson des biscuits qui a dégradé les tanins.

6. Activité antioxydante

6.1.1. Activité anti-radicalaire DPPH

Les résultats du pouvoir anti-radicalaire contre radical DPPH des différents biscuits exprimés en pourcentage % sont présentés sur la **figure 41**.

Les résultats comme suite : On a enregistré une valeur supérieure pour le biscuit avec colorant naturel 120mg qui est de $94,26 \pm 0,01\%$ par rapport aux autres biscuits. Pour le biscuit sans colorant, le biscuit avec colorant naturel 40mg est le biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg sont enregistré une même valeur qui est de $92,59 \pm 0,04\%$, et enfin de $90,13 \pm 0,05\%$ pour le biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

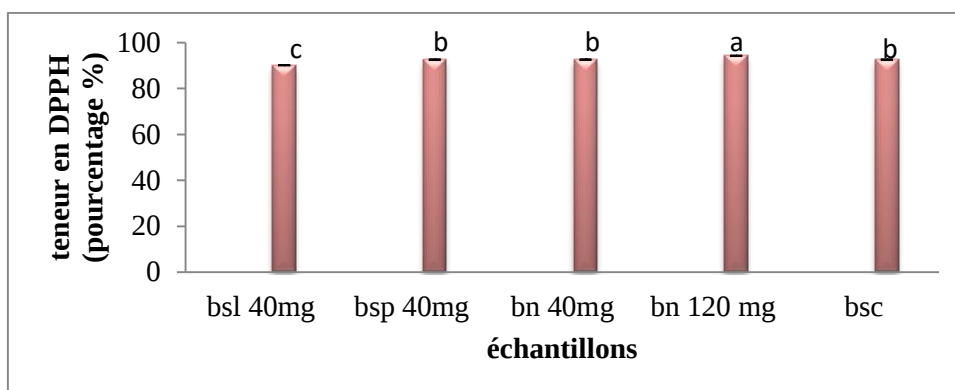


Figure 41: Teneurs de l'activité anti-radicalaire DPPH des biscuits.

Bsc : biscuits sans colorant ; **bn 40mg** : biscuit avec colorant naturel 40mg ; **bn120mg** : biscuit avec colorant naturel 120mg ; **bsp 40mg** : biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg ; **bsl40mg** : biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

6.2. Activité ABTS

Les résultats du test ABTS des différents biscuits sont illustrés sur la **figure 42**.

L'analyse statistique montre une différence significative entre les différents biscuits.

D'après les résultats obtenus dans la figure, on enregistre un pourcentage de l'activité anti-radicalaire par le teste ABTS élevé dans le biscuit sans colorant qui est de $102,51 \pm 0,01\%$ suivi de $102,12 \pm 0,05\%$ pour le biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg et aussi pour le biscuit avec colorant naturel 40mg. Ensuite $101,03 \pm 0,07\%$ pour le biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg et en dernier $97,26 \pm 0,04\%$ pour le biscuit avec colorant naturel 120mg.

Donc plus la quantité de colorant diminue de 40mg à 120 mg le pourcentage de l'activité anti-radicalaire par le teste ABTS diminue, cela due a la structure chimique des caroténoïdes.

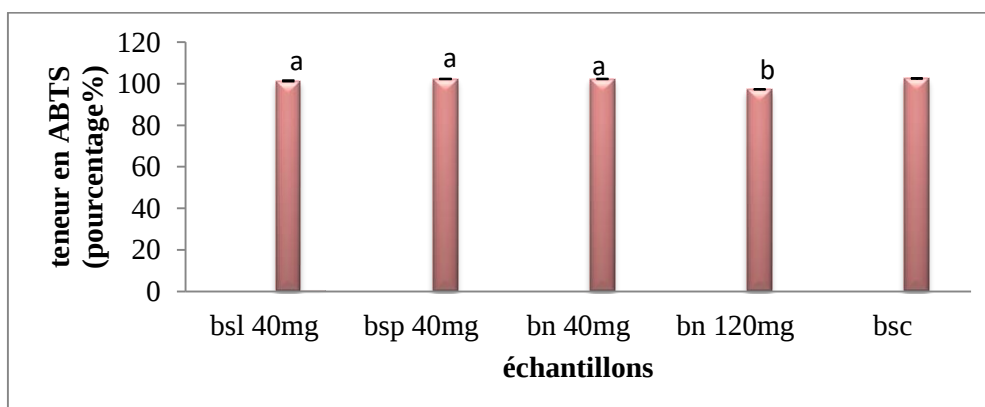


Figure 42: Teneurs de la capacité antioxydante ABTS des biscuits.

Bsc : biscuits sans colorant ; **bn 40mg** : biscuit avec colorant naturel 40mg ; **bn120mg** : biscuit avec colorant naturel 120mg ; **bsp 40mg** : biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg ; **bsl40mg** : biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

6.3. Pouvoir réducteur

Les résultats du pouvoir réducteur des différents biscuits exprimés en mg/100g sont présentés sur la **figure 43** :

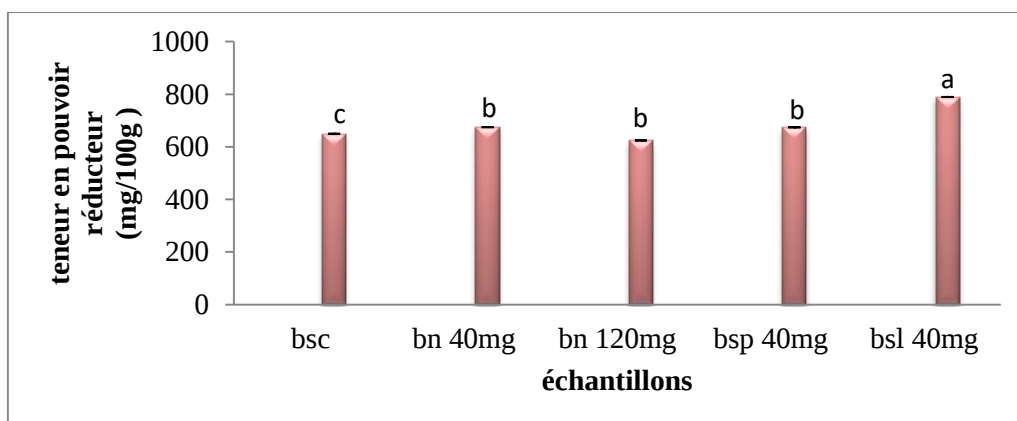


Figure 43: Pouvoir réducteur des différents biscuits.

Bsc : biscuits sans colorant ; **bn 40mg** : biscuit avec colorant naturel 40mg ; **bn120mg** : biscuit avec colorant naturel 120mg ; **bsp 40mg** : biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg ; **bsl40mg** : biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg.

Le biscuit avec colorant synthétique liquide 40mg présente un pouvoir réducteur supérieur par rapport aux autres biscuits qui est de $789,44 \pm 0,14$ mg/100g.

Pour les autres biscuits on a enregistré $674,70 \pm 0,19$ mg/100g pour le biscuit avec colorant naturel 40mg, suivi de $674,43 \pm 0,25$ mg/100g pour le biscuit avec colorant synthétique poudre 40mg, ensuite de $649,67 \pm 0,12$ mg/100g pour le biscuit sans colorant et en dernier $624,61 \pm 0,51$ mg/100g pour le biscuit avec colorant naturel 120mg.

Donc plus la quantité de colorant naturel augmente de 40mg à 120mg, la tenue du pouvoir réducteur diminue, cela peut être due à la structure chimique des caroténoïdes.

Conclusion

Les utilisations de l'écorce d'orange après transformation industrielle, permettent de réduire les dangers écologiques et économiques causé sur l'environnement.

Le présent travail a pour objectif, l'étude quantitative des caroténoïdes des écorces d'orange de *citrus sinensis* de variété Thomson Navel, ainsi que l'évolution de l'activité antioxydante et l'incorporer comme colorant alimentaire et antioxydant naturel dans une recette de biscuit de type sablé et comparer avec deux autres colorants synthétique (en poudre et liquide), et l'évolution de quelques paramètres physico-chimiques, analyses phytochimiques et les activités antioxydants.

Nous avons commencé par l'extraction des caroténoïdes à partir des écorces de notre variété (Thomson Navel). Ensuite nous avons incorporé notre extrait dans des formules de biscuit type sablé, enfin nous avons fait quelques caractérisations physico-chimiques, phytochimiques et les activités antioxydants de nos produits.

Le colorant naturel utilisé de notre étude est un colorant issu des écorces d'orange qui possède une teneur en polyphénols de $873,12 \pm 0,03$ mg /100g, une teneur en flavonoïdes de $134,95 \pm 0,84$ mg/100g, une teneur en flavonols de $182,01 \pm 0,07$ mg/100g, une teneur en caroténoïdes de $43792,25 \pm 0,06$ mg/ml et une activité anti-radicalaire de $40,15 \pm 0,02$ %.

Le biscuit avec colorant naturel a présenté des valeurs de teneur en polyphénols, flavonoïdes, flavonols, caroténoïdes, DPPH et pouvoir réducteur respectivement : $15,28 \pm 0,04$ mg/100g ; $8,61 \pm 0,04$ mg/100g ; $15,29 \pm 0,04$ mg /100g ; $1344,76 \pm 0,15$ mg/ml ; $92,59 \pm 0,04$ % ; $674,70 \pm 0,19$ mg/100g.

Les résultats de l'analyse statistique à montré qu'il ya une différence significative ($p < 0,05$) entre les différents biscuits (biscuit sans colorant, biscuits avec colorant naturel, biscuit avec colorant synthétique poudre et le biscuit avec colorant synthétique liquide), et les différents colorants (colorant naturel, synthétique poudre et synthétique liquide).

Dans le but de compléter cette étude, il serait intéressant :

- De faire l'extraction avec des solvants moins toxique.
- D'effectuer les analyses microbiologiques sur les biscuits préparées.
- D'optimiser les conditions de préparation des biscuits enrichis en caroténoïdes.
- Etudier la durée de conservation du colorant naturel et aussi la durée de conservation du biscuit enrichis avec ce colorant.

Références bibliographiques

Afnor. (1991). Contrôle de la qualité des produits alimentaires : céréales et produits céréaliers, AFNOR/DGCCR, 3^{ème} ed, paris, 360 p.

Afnor. (2007). Statistiques – Vocabulaire et symboles – Partie 1 : Probabilité et termes statistiques généraux. Revue Modulad.37 :102.

Ait Ameer, L. 2006. Evolution de la qualité nutritionnelle des protéines de biscuits modèles au cours de la cuisson au travers d'indicateurs de la réaction de Maillard: Intérêt de la fluorescence frontale. Thèse de doctorat en chimie analytique. Université de Paris,p 207.

Akin, E. B., Karabulut, I., & Topcu, A. (2008). Some compositional properties of main Malatya apricot (*Prunus armeniaca* L.) varieties. *Food chemistry*, 107(2), 939-948.

Al bitar, D et al jabi, F. 2011. Citrus. Edition Al-Quds open university-palestine.

Al-Anbari, A. K. H., & Hasan, M. A. 2015. Antioxidant activity in some citrus leaves and seeds ethanolic extracts. AABES London UK, 93-97.

Allaf T., Tomaoa V., Besombesc C.et ChemataF.2013. Thermal and mechanical intensification of essential oil extraction from orange peel via instant autovaporization, journal homepage Chemical Engineering and Processing, 2-7.

Amin, A., Abdel hameid, H., Abdelsttar, H. 2010. Effect of food azodyestartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food and chemical Toxicology*, vol.48, p.2994-2999.

Amorim-Carrilho, K. T., Cepeda, A., Fente, C., Regal, P. (2014). Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends in Analytical Chemistry*, 56,49-73.

Andriniaina, H. M. 2007. Étude de l'extraction et de la production des caroténoïdes à partir de quelques fruits et produits agricoles locaux. Université d'antananarivo école supérieure polytechnique, département : génie chimique, 73.

Ansari, M.M. et Kumar, S.2012. Fortification of Food and Beverages with Phytonutrients. *Food and Public Health*, 2(6): 241-253. DOI: 10.5923/j.fph.20120206.09.

Bachès, B. 2007. Cité par Ghazzaz. R et Toumi. H –étude de comportement de variété Washington navel, 22 p 'Thèse' 2007-2008.

- Baches, B.** 2011. Agrumes : comment les choisir et les cultiver facilement. Ulmer, Paris.
- Benavente-Garcia, O., & Castillo, J.** 2008. Update on use and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. Journal of agricultural and foodchemistry, 56(15), 6185-6205.
- Benedeste, A et Baches, M.** 2002. Les agrumes. Urgen Ulmer, Paris.
- Bénédicte et Michel, B.** 2011. Agrumes comment les choisir ET cultiver facilement. Les éditions eugen ulmer, 8 rue Blanche, Paris, N° d'édition: 440-01.p.127.
- Benkadri, S.** 2010. Contribution à la diversification de l'alimentation pour enfants cœliaques : fabrication de farines-biscuits sans gluten. Mémoire de Magistère en Science alimentaire, Institut de la nutrition de l'alimentation et des technologies agroalimentaires, Université MENTOURI, Constantine, 125.
- Ben-Mansour, H., Latrach-Tlemcani, L.**2009. Les colorants naturels sont-ils de bons additifs alimentaires ? Phytothérapie 7, 202–210.
- Berset.** 2006. Antioxydant phénoliques- Structure, propriétés et sources végétales. In : Polyphénols en agroalimentaire. 264-290.
- Beton, C., Brochard, G.** 1993. Paris : l'université de l'orange. P.19-45.
- Beutler, C.** 2011.les colorants artificiels dans les denrées alimentaires destinées aux enfants p6, 9,11 et 12.
- Bicu, I., & Mustata, F.** 2011. Cellulose extraction from orange peel using sulfite digestion reagents. Bioresource technology, 102(21), 10013-10019.
- Biguzzi, C.** 2013. L'amélioration de la qualité nutritionnelle est-elle compatible avec le maintien de la qualité sensorielle : l'exemple des biscuits. Thèse de doctorat en Sciences de l'Alimentation. Universite De Bourgogn, 238 p.
- Bimbnet, J., Duquesnoy, A., Trystrans, G.** 2002.Séchage, cuisson extrusion : In RIA, Ed. Dunda. Genie des proceeds alimentaire. Paris, 554.
- Boumaza D. et Makhloufi L. (2018).** Essais d'incorporation de la farine de caroube (Ceratonia siliqua L) dans les coukies en substitution partielle de la farine de blé.

Bourekoua, H. 2018. Panification traditionnelle sans gluten type « khobz eddar » : formulation avec améliorants naturels. Thèse de doctorat en Sciences. Université Frères Mentouri Constantine 1, Algérie, 137 p.

Brigitte, N., Michel, L., et Nadia, B. 2011. Tomate qualité et préférence. Paris. 271P.

Britton G., Liaaen-Jensen S. et Pfander H. 2008. Carotenoids, vol. 4: natural functions. Springer Science & Business Media.

Britton, G., Liaaen-Jensen, S.P., fander, H. 2004. Carotenoids Hand BOOK. Birkhauser. Basel.

Broutain, C. 2001. Fabriqué des biscuits à base de farine composée. PME Agroalimentaires, Biscuiteries. 20.

Caleja C., Barros L., Antonio A. L., Oliveira M.B.P.P. et Ferreira I.C.F.R., (2016). A comparative study between natural and synthetic antioxidants : evaluation of their performance after incorporation into biscuits. Food chemistry) 342-346.

Capon, M., Courilleau, V., et Vatte, C. 1996, « chimie des couleurs et des odeurs », Edition FOF, Berlin Springer, ISBN 2-9502444-2-4, pp :14-16.

Chaalal M. (2013). Etude de quelques propriétés antioxydantes et biologiques de graines de la figue de barbarie (*Opuntia ficus india* (L) Mill). Thèse de doctorat en science alimentaires, Algérie. P :45-97.

Chaalal M. (2013). Etude de quelques propriétés antioxydantes et biologiques de graines de la figue de barbarie (*Opuntia ficus india* (L) Mill). Thèse de doctorat en science alimentaires, Algérie. P :45-97.

Christian, H., Nelly, O., Jean-Claude, L. 2002. Mémento fruits et légumes. 6 Ed. Centre technique interprofessionnel des fruits et légumes, Ctifl. Paris. P139. ISBN 2-87991-1811.

Clydesdale, FM. 1995. Color as a factor in food choice, crit. Rev. food Sci. nutr, 1993, p.83-101. Codex Alimentarius. General Standard for food additives. Codex Stan 192.

Colas, A. 1998. Définition de la qualité des farines pour les différentes utilisations.

Conboy Stephenson, R., Ross, R. P., & Stanton, C. (2021). Carotenoids in milk and the potential for dairy based functional foods. *Foods*, 10(6), 1263.

- Damintoti, K., Mamoudou, H. D., Jacques, S., Saydou, Y., Souleymane, S., & Alfred, S. T. (2005).** Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. *Mémoire de l'université de Burkina Faso*.
- Daramola, B. 2013.** Assessment of some aspects of phytonutrients of cashew apple juice of domestic origin in Nigeria. *African Journal of Food Science*, 7, 107–112.
- Davies, F. S., & Albrigo, L. G. 1994.** Citrus. Cab International.
- Denis, A. 2011.** Les biscuits et gâteaux : toute une diversité. Cahiers de nutrition et de Desf. extract on isolated rat duodenum. *Journal of Ethnopharmacology*, 126: 565571.
- Devi, A. et Khatkar, B.S. 2016.** Physicochemical, rheological and functional properties of fats and oils in relation to cookie quality: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 53(10): 3633-3641.
- Eldahshan, O.A. Singab, A.B. 2013.** Carotenoids. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 2(1), 225-232.
- Esteve, M.J., Barba, F.J., Palop, S., Frígola, A. 2009.** The effects of non-thermal processing on carotenoids in orange juice. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, S304–S306.
- FAO: Food and Agriculture Organization. Statistical Databasesm. (2020).**
- Feillet, P. 2000.** Les grains de blé, composition et utilisation. INRA. Paris. 308p.
- Feiuet P . (1998).** Aliments et industrie alimentaires : les propriétés de la recherche publique Ed. INRA, Paris. P 280.
- Fellows, P. 2000.** Food Processing Technology Principles and Practice. 2 nd Edition. Wood head Publishing, Cambridge England. 575.
- Fратиanni, A., Cinquanta, L., & Panfili, G. 2010.** Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 43(6), 867-871. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.011>
- Fredot, E. 2005.** Connaissance des aliments : Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Edition Lavoisier, Paris, 424 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Frigaard, N-U. Carotenoid biosynthesis, function, and evolution. University of Copenhagen – Department of Biology. (ref. du 21/04/2008), disponible sur: <http://www.bio.ku.dk/nuf/index.htm>.

Gaffron, F. (2012, 05 31). Consulté le 04 02, 2021, sur energy-drink-magazin: <https://energy-drink-magazin.de/2012/05/tartrazin-e102-6886>.

Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. J. D., & Singla, A. K. 2001. Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research*, 15(8), 655-669.

Giordano, P., Scichitano, P., Locorotondo, M., Mandurino, C., Ricci, G., Carbonara, S., Gesualdo, M., Zito, A., Dachille, D., Caputo, P., Riccardi, R., Frasso, G., Lassandro, G., Dimauro, A. 2012. Matteo ciccone, m. Carotenoids and cardiovascular. *Current pharmaceutical design*, 18, 5577-5589.

Goldhamer, D.A., Intrigliolo, D.S., Castel, J.R., Fereres, E. 2012 : Citrus. In *Crop Yield response to Water: FAO Irrigation and Drainage Paper 66*, 1st ed.; Pasquale Steduto, P., Theodore, C., Hsiao, T.C., Elias Fereres, E., Dirk Raes, D., Eds.; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2012; Volume 49, pp. 300–315.

Gornall, A. G., Bardawill, C. J., & David, M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. biol. Chem*, 177(2), 751-766.

Goudeau, D., Uratsu, S. L., Inoue, K., Goes daSilva, F., Leslie, A., Cook, D., Reagan, R. L., & Dandekar, A. M. 2008). Tuning the orchestra: Selective gene regulation and orange fruit quality. *Plant Science*, 174(3), 310-320.

Grohmann, K., Cameron, R. G., & Buslig, B. S. 1995. Fractionation and pretreatment of orange peel by dilute acid hydrolysis. *Bioresource Technology*, 54(2), 129-141.

Gross J. (1991). *Pigments in vegetables : Chlorophylls and Carotenoids*. Springer Science +Business Media, LLC, New York. 351p.

Han, S.T. 2008 : *Medicinal plants in the South Pacific*, 1st ed. World Health Organization (WHO) Regional Publications, Western Pacific Series: Manila, Philippines; pp. 49–50.

Hennebelle, T., Sahpaz, S., & Bailleul, F. 2004. Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.

Hondjedj, N., Née, M. 2012. Evaluation du risque toxicologique du colorants alimentaire tartrazine, à court terme chez la souris suisse. Thèse de doctorat. Université d'Oran. Algérie, 41- 42 p.

Houaoura. (2013) -Production des agrumes : Comment augmenté le rendement ?

Hui, Y.H., Corke, H., De Leyn, I., Nip, W.K. et Cross, N. 2006. Bakery Products Science and Technology. 1ère édition. Blackwell Publishing Professional, 2121 State Avenue, Ames, Iowa 50014, USA, 575 p.

Hyun-Jung, C., Ahra, C. et Seung-Taik, L., 2014. Utilization of germinated and heat-moisture treated brown rice in sugar-snap cookies, LWT - Food Science and Technology, 57: 260-266.

Jacynthel Lafrenière, Dt.p. Charles Couillard, Ph.D. Benoit Lamarche, Ph. D. Simone Lemieux, Dt.P. 2018. Les caroténoïdes sériques comme biomarqueurs : une stratégie pour améliorer la validité de l'évaluation alimentaire, Canadian Journal of Dietetic Practice and Research, 79, 23-27, DOI: 10.3148/cjdpr-2017-030.

Kerboua M. 2002. Agrimiculture en Algérie. proceeding of the Mediteranean recherche network on certification of Citrus. P21_26, P21-22.

Kiger, J.L. et Kiger, J.G. 1967. Techniques modernes de la biscuiterie, pâtisserie boulangerie industrielles et artisanales et des produits de régime. Dunod. Tome 1. Paris. 696 p.

Labdaoui, M.Z.E. 2019. Aménagement de la protection phytosanitaire contre les pucerons des agrumes dans le Nord-Ouest algérien en faveur d'une lutte biologique durable. Thèse de doctorat, en productions agricoles et développement agricole durable. Université Abdelhamid ibn badis de Mostaganem. P6.

Ladaniya, S.M. 2008. Citrus fruit biology, technology, and evaluation. Ed: Elsevier, 1-178.

Lagha-Benamrouche, S., & Madani, K. 2013. Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (Citrus sinensis L. and Citrus aurantium L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. Industrial Crops and Products, 50, 723-730.

- Lara, E., Cortes, P., Briones, V., Perez, M.** 2011. Structural and physical modification of corn biscuits during baking process. *LWT- Food Science and Technology*. (44), 622-630.
- Lassoued-Oualdi, N.** 2005. Structure alvéolaire des produits céréaliers de cuisson en lien avec les propriétés rhéologiques et thermiques de la pâte : Effet de la composition. Thèse de doctorat en Sciences Alimentaires. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires « ENSIA ». AgroParisTech, 163 p.
- Lemoine, A & Tounian, P.** 2018. Allergie aux colorants alimentaires : Une pathologie à évoquer avec parcimonie. *Revue française d'allergologie*, 58, 506-512.
- Lemoine, Y., et Schoefs, B.** 2010. « Review- Secondary ketocarotenoid as taxanthin biosynthesis in algac : a multifunctional response to stress ». *Photosynthesis Research*. <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9583-3>. Published online 13 august 2010.
- Lu, D., Cao, Q., Li, X., Cao, X., Luo, F., & Shao, W.** 2009. Kinetics and equilibrium of Cu (II) adsorption onto chemically modified orange peel cellulose biosorbents. *Hydro metallurgy*, 95(1), 145-152.
- Maache-rezzoug, Z., Bouvier, J. M., Allef, K., Patras, C.** 1998. Effect of Principal Ingredients on Rheological Behavior of Biscuit Dough and on Quality of Biscuits. *Journal of Food Engineering*, 23-42.
- Mamat, H. et Hill, S.E.** 2014. Effect of fat types on the structural and textural properties of dough and semi-sweet biscuit. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9): 1998-2005.
- Mamat, H. et Hill, S.E.** 2018. Mini Review : Structural and functional properties of major ingredients of biscuit. *International Food Research Journal*, 25(2): 462-471.
- Manley, D.** 1998. Biscuit, Cookie, and Cracker Manufacturing - Manual 4 : Baking and cooling of biscuits. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, 61 p.
- Manley, D.** 2000. Setting the scene: History and position of biscuits. In: *Technology of biscuits, crackers and cookies*. 3ème édition. Woodhead Publishing Limited, p 1- 8. 528 p.
- Manley, D.** 2001. Biscuit, cracker and cookie recipes for the food industry. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, 200 p.

Manner, H. I., Buker, R. S., Smith, V. E., Ward, D., & Elevitch, C. R. 2006. Citrus (citrus) and Fortunella (kumquat). Species profile for pacific island agroforestry, 2, 1-35.

Manoharr, S.R. et Rao, H.P. 2002. Interrelationship between rheological characteristics of dough and quality of biscuits; use of elastic recovery of dough to predict biscuit quality. Food Research International, 35: 807-813.

Marx, M., Schieber, A., & Carle, R. 2000. Quantitative determination of caroten estereoisomers in carrotjuices and vitamin supplemented (ATBC) drinks. Food Chemistry, 70, 403–408.

Mehl, F., Marti, G., Boccard, J., Debrus, B., Merle, P., Delort, E., Baroux, L., Raymo, V., Velazco, M. I., & Sommer, H. 2014. Differentiation of lemon essential oil based on volatile and non-volatile fractions with various analytical techniques: a metabolomic approach. Food chemistry, 143, 325-335.

Menard, G., Poirier, D., Boudreau, A. 1992. Les biscuiteries industrielles Le blé : éléments Fondamentaux et transformation. Les presses de l'université Laval. Sainte-Foy. Canada : 287-348- 439.

Merinas-Amo, R., Martínez-Jurado, M., Jurado-Güeto, S., Alonso-Moraga, Á., &

Merinas-Amo, T. 2019. Biological Effects of Food Coloring in In Vivo and In Vitro

M'Hiri, N. 2015. Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange «Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Milind, P., & Dev, C. 2012. Orange: range of benefits. International research journal of pharmacy, 3(7), 59-63. Model Systems. Foods, 8(5), 176. <https://doi.org/10.3390/foods8050176>.

Model Systems. Foods, 8(5), 176. <https://doi.org/10.3390/foods8050176>.

Mohtadji-Lamballais, C. 1989. Les aliments. Edition Malouine, Paris, 203 p.

Morais, H., Abram, A., Ferreira, F. 2002. Carotenoids Biosynthesis – a review. Revista Lusófona, v. 7, p. 22-42.

- Mousavi, K.A., Yadolah, F. et Anderson, S.S.A.** 2018. Impact of unit operations during processing of cereal-based products on the levels of deoxynivalenol, total aflatoxin, ochratoxin A, and zearalenone: A systematic review and meta-analysis. *Food Chemistry*, 268: 611-624.
- Mueller, L. et Boehm, V. (2011).** Antioxidant Activity of β -Carotene Compounds in Different in Vitro Assays. *Molecules*, 16, 1055-1069.
- Mueller, L. et Boehm, V. (2011).** Antioxidant Activity of β -Carotene Compounds in Different in Vitro Assays. *Molecules*, 16, 1055-1069.
- Mukhtar, A., Wani, A.T., Wani, S.M., Masoodi, F.A. et Gani, A.** 2016. Incorporation of carrot pomace powder in wheat flour: effect on flour, dough and cookie characteristics. *Journal of Food Sciences and Technology*, 53(10): 3715-3724.
- Multon, J.L.** 2009. Additifs et auxiliaires de Fabrication dans les industries agroalimentaires, 4ème Edition Lavoisier.
- Ndangui, C.B.** 2015. Production et caractérisation de farine de patate douce (*Ipomoea batatas* Lam) : optimisation de la technologie de panification. Thèse de doctorat en Co-tutelle en Procédés et Biotechnologies Alimentaires. Université de Lorraine et Université Marien Ngouabi. 134 p.
- Nhouchi, Z., Botosoa, E.P. et Karoui, R.** 2018. Critical assessment of formulation, processing and storage conditions on the quality of alveolar baked products determined by different analytical techniques: A review. *Trends in Food Science et Technology*, 81: 159-171.
- Nicol, M., Maudet, M.** 2000. carotenoides et vitamine A, *Actualités. OCL*, V.7, P.266-270.
- Nicolosi, E.** (2007). Origin and taxonomy. *Citrus genetics, breeding and biotechnology*. ED. UK. London. 19-43.
- Noah Abimbola, A.** 2017. Production, microbial and sensory qualities of biscuits produced from wheat-coconut-almond flour blend. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2(6):135-138.

Olaitan, N.I., Eke, M.O. et Agudu, S.S.2017. Effect of Watermelon (*Citrullus lantus*) Rind Flour Supplementation on the quality of wheat based cookies. *The International Journal of Engineering and Science*, 6(12): 38-44.

Osman, A. M., Wong, K. K. Y., & Fernyhough, A. (2006). ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: Isolation and structural elucidation of covalent adducts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346(1), 321-329.

Ouldayerou K., Ibri K., Bouhadi D., Hariri A., Meddah B. et Tirtouil A. 2016. Effect of orange *Citrus sinensis* peel from Algeria in food. *Banat's Journal of Biotechnology*. 3(14): 97-100.

Ousmer, L., &Tahri, S.2017. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénoliques de *Citrus sinensis* et *Citrus aurantium* Université Mouloud Mammeri].

Parle, M., & Chaturvedi, D. 2012. Orange: Range of benefits. *International research journal of pharmacy*, 3(7), 59-63.

Pena, L., Cervera, M., Fagoga, C., Romero, J., Juarez, J., Pina, J.A. et Navarrol, L. 2007. *Citrus*. *Biotechnology in Agriculture and Forestry* : 35.

Pierce, J. P., Natarajan, L., Sun, S., Al-Delaimy, W., Flatt, S. W., Kealey, S., ... & Women's Healthy Eating and Living Study Group. (2006). Increases in plasma carotenoid concentrations in response to a major dietary change in the women's healthy eating and living study. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 15(10), 1886-1892.

Pierce, J. P., Natarajan, L., Sun, S., Al-Delaimy, W., Flatt, S. W., Kealey, S., ... & Women's Healthy Eating and Living Study Group. (2006). Increases in plasma carotenoid concentrations in response to a major dietary change in the women's healthy eating and living study. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 15(10), 1886-1892.

Ramadan M.F . (2010). Rapid antiradical method for screening deep fried oils. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*. 5(1). P :47-50.

Rissanen, T., Voutilainen, S., Nyyssonen, K., Salonen, R. Salonen, J T. 2000. Low plasma lycopene concentration IS Associated with Increased Intima- Media Thickness of the carotid Artery wall. *Arterioscler thrombvasc Biol*; 20 :2677-81.

Rodriguez-Amaya, D. B. (1999). Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 49(3 Suppl 1), 38S-47S.

Saadoudi, M. 2019. Caractérisation biochimique, conservation et essais d'élaboration des produits alimentaires à base du fruit de *Zizyphus lotus* L. Thèse de doctorat en sciences. Université Hadj Lakhdar Batna 01 (UHB1), Algérie, 140 p.

Saini, R. K., & Keum, Y. 2018. Carotenoid extraction methods : A review of recent developments. *Food Chemistry*, 240,90-103. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.099>

Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M. M., & Toth-Markus, M. (2005). Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38(8-9), 1023-1029.

Sass-Kiss, A., Kiss, J., Milotay, P., Kerek, M. M., & Toth-Markus, M. (2005). Differences in anthocyanin and carotenoid content of fruits and vegetables. *Food Research International*, 38(8-9), 1023-1029.

Serrem, C.A. 2010. Development of soy fortified sorghum and bread wheat biscuits as a supplementary food to combat protein energy malnutrition in young children. Thèse de doctorat en Sciences des Aliments. Université de Pretoria, Afrique de Sude, 193 p.

Singleton V.L . et Rossi J.(1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology Vitic*, 16, 144-158.

Solymosi, K., Latruffe, N., Morant manceau, A., et Schoefs, B. 2015. Food colour additives of natural origin.

Stauffer, C. E. 1998. Fats and oils in bakery products. *Cereal Foods World*. 120-126.

Stephenson RC., Ross RP., Santon C. (2021). Carotenoids in milk and the potential for dairy based functional foods. Academic Editors, MDPI, 10, 1263.

Sudha, M.L., Vetrmani, R., Leelavathi, K. 2007. Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality. Food Chemistry, 100: 1365-1370.

Tsao R. et Li H. (2013). Analytical techniques for phytochemicals. IN: TIWARI B.K., BRUNTON N.R. et BRENNAN C.S. Handbook of Plant Food Phytochemicals, Sources, Stability and Extraction. © John Wiley & Sons, Ltd. pp 440.

Türkmen I., et Eksi A. 2011. Brix degree and sorbitol / xylitol level of authentic.

Vermerris W. et Nicholson R. (2006). Phenolic compound biochemistry. Springer, Dordrecht, the Netherlands, 211-234.

Vierling, E. (2008). Aliment et boisson : filière et produit. 3 éd. France : centre régionale de documentation pédagogique d'aquitaine. P266-267.

Vujic, L., Cepo, D.V., Sebecic, B. et Dragojevic, V. 2014. Effects of pseudocereals, legumes and inulin addition on selected nutritional properties and glycemic index of whole grain wheat-based biscuits. Journal of Food Nutrition Research, 53: 152-161.

Webber et Herbert, J. 1967. Histoire des agrumes en Europe.

Weghe, P.V. 2012. UMR6226 Science chimiques de Rennes Equipe produits Naturels, synthèse, chimie Médicinale.

Xu G., Liu D., Chen J., Ye X., Ma Y., Shi J. 2008. Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. Food Chemistry, 106: 545-551.

Yadav, D., Thakur, N., Sunooj, K. 2012. Effect of Partially De-Oiled Peanut Meal Flour (DPMF) on the Nutritional, Textural, Organoleptic and Physico Chemical Properties of Biscuits. Food and Nutrition Sciences, 3: 471-476.

Zergouni, H. & Tarfaya, D.J. 2022. Valorisation des sous produits des agrumes : optimisation de la production d'une boisson lactée naturelle à base de jus d'orange et de jus de dattes en utilisant les plans de mélange. Université Mohamed Boudiaf- M'sila, 36 P.

Zhou, W. 2014. Bakery Products Science and Technology. 2ème édition. Wiley blackwell, 776 p.

ANNEXES

Annexe 01 :

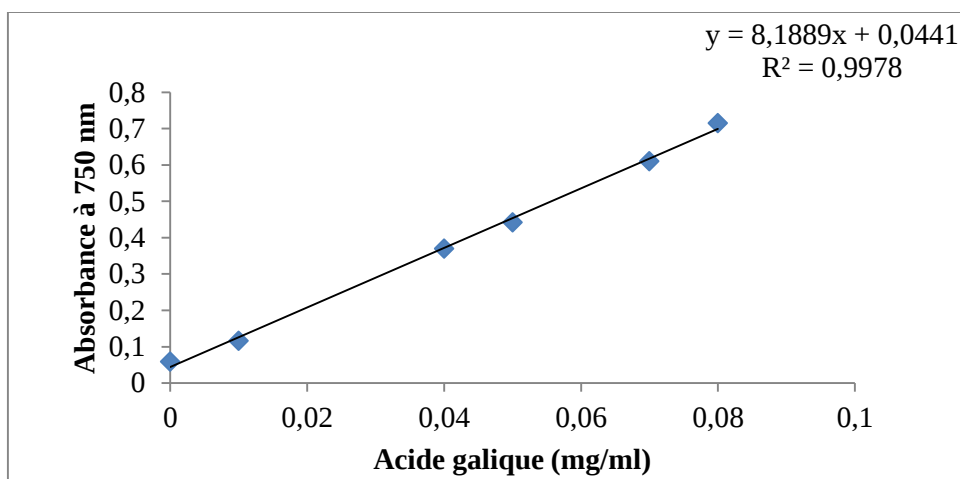


Figure n°44: Courbe d'étalonnage des polyphénols.

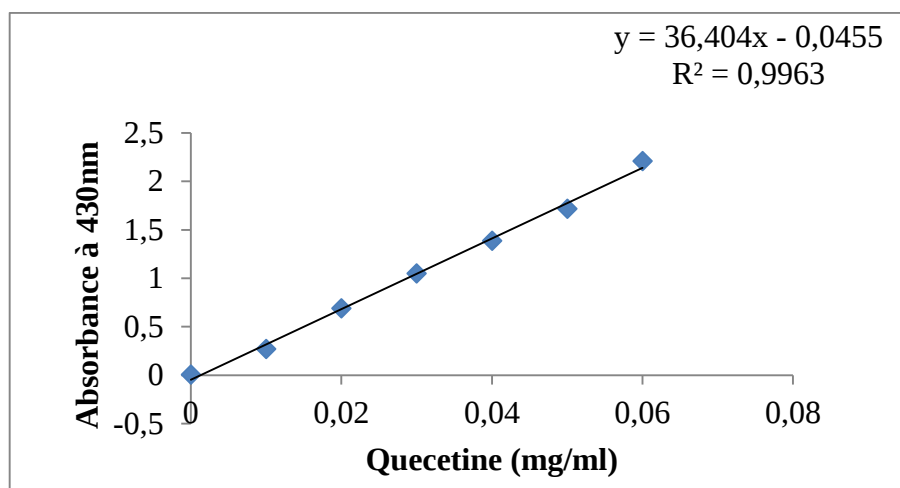


Figure n°45: Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

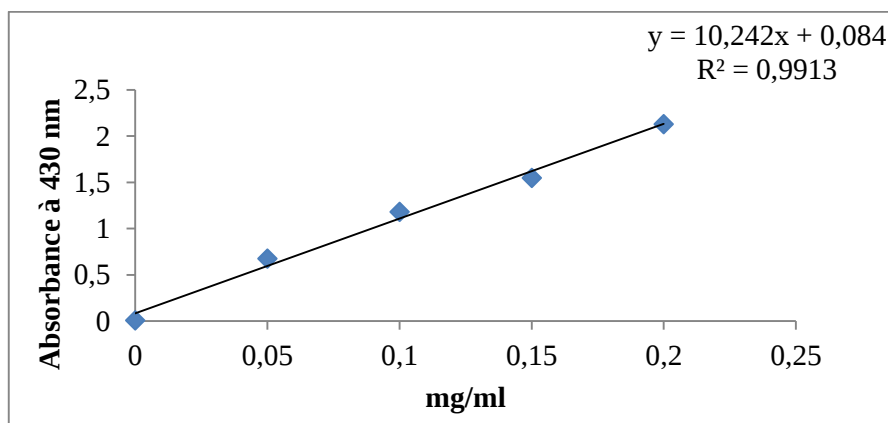


Figure n°46: Courbe d'étalonnage des flavonols.

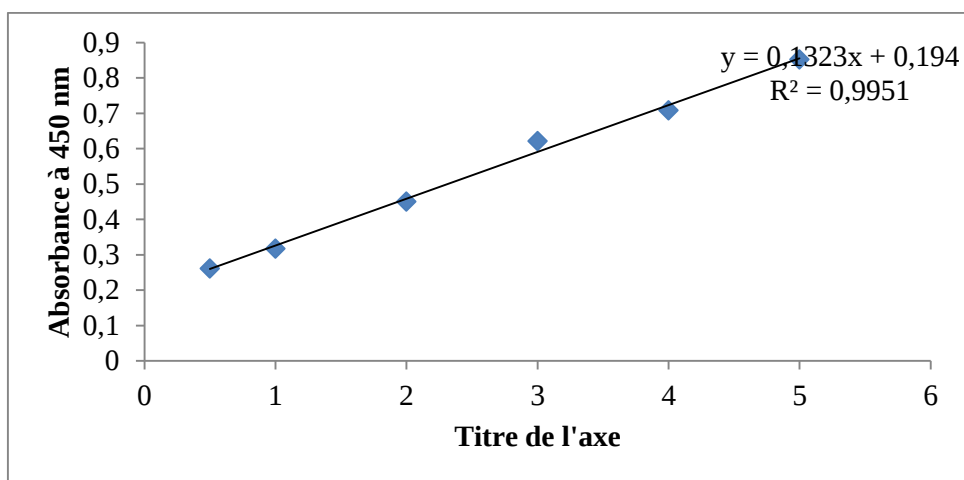


Figure n°47: Courbe d'étalonnage des caroténoïdes.

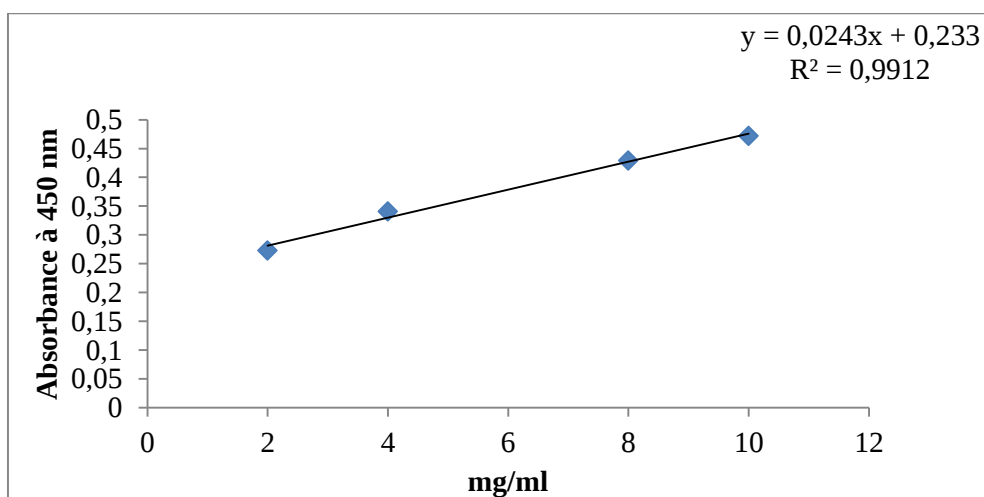


Figure n°48: Courbe d'étalonnage des protéines.

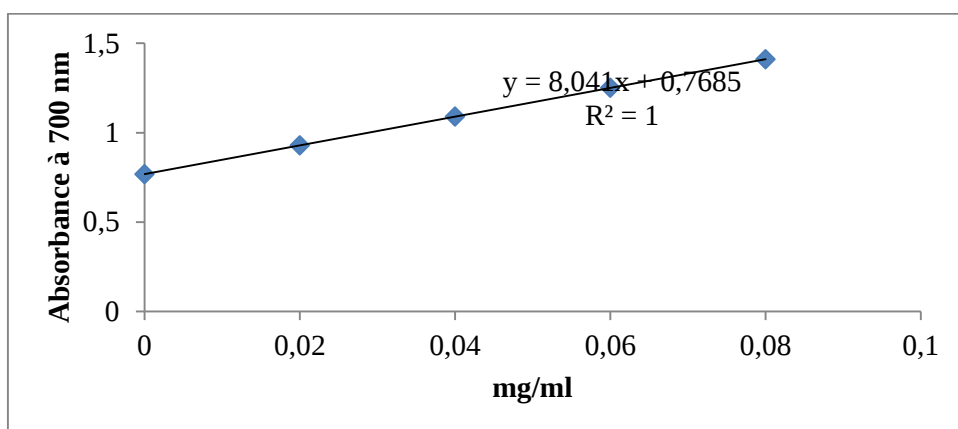


Figure n°7 : courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur.

Annexe 02 :

Tableau I : Ingrédients de différents biscuits fabriqués.

Ingrédients	Type de biscuit				
	Témoin	Colorant synthétique en poudre	Colorant synthétique liquide	Colorant naturel	
Margarine	50g	50g	50g	50g	50g
Sucre glace	30g	30g	30g	30g	30g
Œuf	24g	24g	24g	24g	24g
Colorant	0g	40mg	40mg	40mg	120mg
Eau distillé	10ml	10ml	10ml	10ml	10ml
Farine	120g	120g	120g	120g	120g



Figure 01 : les pates de biscuits avec le colorant naturel et synthétique en poudre.

Résumé

Cette étude vise à faire l'extraction des caroténoïdes par la méthode de Rodriguez-Amaya qui consiste à établir un contact direct entre le zeste et le solvant (éthanol) organique pendant un temps précis, et l'incorporer dans le biscuit de type (sablé) comme colorant naturel et les comparer avec deux autres colorants synthétique (poudre et liquide). Un ensemble d'analyses physicochimiques (PH, brix, acidité, protéines, matière grasses, Humidité), et phytochimiques (polyphénols, flavonoïdes, tanins, caroténoïdes, pouvoir réducteur ...) ont été effectués. Pour les biscuits et les colorants. Pour le biscuit de colorant naturel, les résultats ont été les suivants : pH ($6,635 \pm 0,06$), Acidité ($0,007 \pm 0,006$ g/l), humidité ($4,32 \pm 0,056\%$), activité anti-radicalaire DPPH ($92,59 \pm 0,04\%$), pouvoir réducteur de fer ($674,70 \pm 0,19$ mg/100g), teneur en polyphénols ($15,28 \pm 0,04$ mg/100g), teneurs en caroténoïdes ($1344,76 \pm 0,15$ mg/ml), teneur en tanins ($160,14 \pm 0,06$ mg/g) et une teneur en protéines de $230,4646 \pm 0,102$ mg/100g.

Mots clés : Biscuit, polyphénols totaux, paramètres physicochimiques, colorant, caroténoïdes, antioxydants.

Abstract

This study aims to extract carotenoids by the Rodriguez-Amaya method which consists in establishing direct contact between the zest and the organic solvent (ethanol) for a specific time, and incorporating it into the biscuit type (shortbread) as a natural dye and compare them with two other synthetic dyes (powder and liquid). A set of physicochemical analyzes (PH, brix, acidity, proteins, fat, humidity), and phytochemicals (polyphenols, flavonoids, tannins, carotenoids, reducing power, etc.) were carried out. For cookies and dyes. For the natural dye biscuit, the results were as follows: pH (6.635 ± 0.06), Acidity (0.007 ± 0.006 g/l), humidity ($4.32 \pm 0.056\%$), scavenging activity DPPH ($92.59 \pm 0.04\%$), iron reducing power (674.70 ± 0.19 mg/100g), polyphenol content (15.28 ± 0.04 mg/100g), carotenoid content ($1344.76 \pm 0, 15$ mg/ml), tannin content (160.14 ± 0.06 mg/g) and a protein content of 230.4646 ± 0.102 mg/100g.

Keywords: Biscuit, total polyphenols, physicochemical parameters, dye, carotenoids, antioxidants.