

Université Abderrahmane MIRA de Bejaia
Faculté des sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie Physico-chimique

Mémoire de fin de cycle

En vue d'obtention du diplôme Master

Option: Biochimie Appliquée

Thème

Effet de la fortification de l'acide ascorbique sur la stabilité des anthocyanes et les paramètres physico-chimiques du jus d'orange sanguine lors des traitements thermiques.



Présenté par :

M^{elle} AZZOUG Afaf

M^{elle} CHEURFA Zineb

Membres de jury :

Présidente: M^{elle} ACHAT S. (M.A.A à BEJAIA)

Promoteur: M^r MADANI K. (M.C.A à BEJAIA)

Co-promoteur: M^r REMINI H. (Doctorant LMD à BEJAIA)

Examineur 1: M^r OUCHMOUKH S. (M.C.B à BEJAIA)

Examineur 2: M^{elle} BRAHMI F. (M.A.A à BEJAIA)

2012 /2013

Remerciements

En premier lieu nous remercions le Bon Dieu pour

Sa

Bienveillance.

Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à Mr MADANI K., notre promoteur et Mr REMINI Hocine., notre Co-promoteur pour leurs précieuses aides, leurs orientations et le temps qu'ils nous ont accordé pour notre encadrement ;

Nous tenons à remercier très particulièrement M^{elle} HADDACHE LAMIA, M^{me} OUKHMANOU SONIA et Mr AKDIM ABD ELGHANI pour leurs aides et précieux conseils.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent également à M^{elle} ACHAT d'avoir accepté de présider le jury, Ainsi que Mr OUCHMOUKH et M^{elle} BRAHMI de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail ;

*En bref nous remercions Tout le personnel du laboratoire BBBS
Toutes les personnes qui ont participé de près ou de
Loin à la réalisation de ce Travail.*



Merci

Afaf et Zineb



Dédicaces

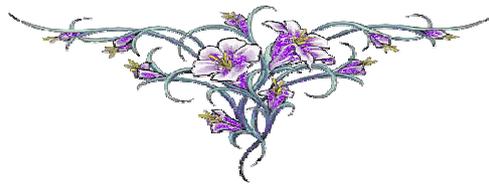


*A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour
A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes moments les plus
difficiles.*

*Et ceux à qui je dois tant
A mes parents pour leur amour et leur support continu ;
A mes sœurs : Amel, Ahlem, Ilham ; Amira ; kaïou ; salina ; chaima
A mon petit frère Adem auxquels je souhaite une très bonne
continuité dans leurs études ;*

*A toute ma famille en particulier ma grands mère
A ceux qui m'ont soutenu de loin ou de près ;
A mes amis; Saliha ; seddik ; Tounes ; hamida ; Amel.
A ma binôme zineb et toute sa famille ;
A toute la promotion Biochimie Appliquée : 2012/2013*

Je présente ce travail.



AFAF

Dédicaces



*Au nom de tout puissant je dédie ce modeste travail
Aux deux êtres les plus chers au monde, mes parents qui n'ont pas
cessé de m'encourager en me prodiguant de précieux conseils, C'est
avec émotion que je leurs exprime toute mon affection.*

A mes chers frères : Taher ; Faouzi ; Lamine ; Ilyes

A mes chères sœurs : Radia ; Syla ; Hanane

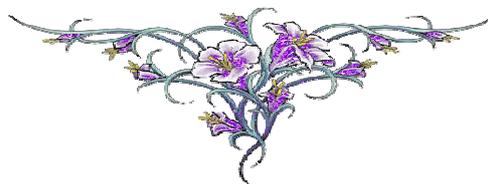
A tous mes très cher(es) ami(es)

A toute ma famille

A ma binôme Afaf et toute sa famille

A toute la promotion Biochimie Appliquée : 2012/2013

Je présente ce travail.



ZINEB

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....01

Partie bibliographique

Chapitre I : Notions sur les anthocyanes

I.1. Anthocyanes.....	03
I.1.1. Définition et structure.....	03
I.1.1.1. Définition.....	03
I.1.1.2. Structure.....	04
I.1.2. Source et localisation.....	05
I.1.2.1. Source.....	05
I.1.2.2. Localisation.....	05
I.1.3. Facteurs influençant sur la stabilité des anthocyanes.....	06
I.1.3.1. pH.....	06
I.1.3.2. Température.....	07
I.1.3.3. Lumière.....	08
I.1.3.4. Oxygène.....	09
I.1.3.5. Copigmentation.....	09
I.1.3.6. Action des enzymes.....	11
I.1.3.7. Action de l'acide ascorbique.....	11
I.1.4. Propriétés fonctionnelles.....	11

Chapitre II : Généralités sur l'orange

II.1. Orange.....	14
II.1.1. Définition et structure.....	14
II.1.1.1. Définition.....	14
II.1.1.2. Structure.....	14
II.1.2. Espèces et principales variétés.....	15
II.2. Orange sanguine.....	15
II.2.1. Définition et classification.....	15
II.2.1.1. Définition.....	15
II.2.1.2. Classification.....	16
II.2.2. Composition biochimique de l'orange douce.....	16
II.2.3. Teneur en anthocyanes de l'orange sanguine.....	17
II.2.4. Intérêts.....	18
II.3. Différents traitements thermiques appliqués au jus d'orange	19
II. 3.1. Pasteurisation après conditionnement.....	20
II.3.2. Remplissage à chaud et autopasteurisation.....	20
II.3.3. Pasteurisation éclair suivie de remplissage aseptique.....	20
II.3.4. Pasteurisation du jus sous vide.....	20

Partie pratique

Chapitre III : Matériel et méthodes

III.I. Matériel végétal.....	21
III.1.1. Orange sanguine sanguinilli.....	21
III.1.1.1. Elaboration du jus d'orange sanguine.....	21
III.2. Méthodes d'analyse.....	22

III.2.1. Analyses physico-chimiques.....	22
III.2.1.1. Détermination du pH	22
III.2.1.2. Détermination de la teneur en eau	22
III.2.1.3. Détermination du degré de Brix	23
III.2.1.4. Détermination de l'acidité titrable	23
III.2.2. Dosage des anthocyanes.....	24
III.3. Dégradation thermique et stabilité des anthocyanes de jus d'orange sanguine.....	25
III.3.1. Dispositif expérimental.....	25
III.3.2. Expression et analyse des résultats.....	26
III.3.2.1. Historique thermique.....	26
III.3.2.2. Barème de pasteurisation.....	26
III.3.2.3. Valeurs pasteurisatrices.....	26

Chapitre VI : Résultats et discussion

IV.1. Effets des traitements thermiques sur le jus d'orange frais et fortifié par acide ascorbique	28
IV.1.1. Historique thermique	28
IV.1.2. Le barème et les valeurs pasteurisatrices.....	29
IV.2. Caractérisation physico-chimique du jus d'orange sanguine frais et fortifié	30
III.3. Effet des traitements thermique sur les paramètres physico-chimique du jus d'orange sanguine frais et fortifié	32
IV.3.1. Evolution du pH du jus frais et fortifié	32
IV.3.2. Evolution du l'acidité titrable du jus frais et fortifié.....	34
IV.3.3. Evolution du °Brix du jus frais et fortifié	35
IV.3.4. Evolution de la matière sèche du jus frais et fortifié	37
IV.4. Effet des traitement thermiques sur la teneur anthocyanique du jus d'orange sanguine frais et fortifié	39

Sommaire

Conclusion.....	41
Références bibliographiques.....	42
Annexes	

Liste des abréviations

ANOVA: Analyse de la variance à un seul critère de classification.

AOAC: Association of Official Analytical Chemists.

Aw: Activity of Water.

C : Concentration .

g : gramme.

HPLC: High Performance Liquide Chromatography (chromatographie liquide de haute Performance).

J AA : jus fortifié par acide ascorbique.

J : jus frais .

m: masse.

M: Molaire.

min : minute .

ml : millilitre.

NF : Norme Française.

nm : nanomètre.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

s : second.

UI : Unité Internationale.

UV : Ultrat violé.

V: Volume.

Figures	Titres	Pages
01	Structure de base des anthocyanes.	04
02	Effet du pH sur la structure des anthocyanes.	07
03	Mécanisme de dégradation thermique de deux anthocyanes communes.	08
04	Interaction des anthocyanes. (A) l'auto-association, (B) copigmentation intramoléculaire, (C) complexation métallique,(D) intermoléculaires.	10
05	Coupe longitudinale et schéma descriptif de Citrus.	15
06	Structures des principales anthocyanes majoritaires de l'orange sanguine.	18
07	Les différentes étapes de traitements thermiques du jus d'orange sanguine.	25
08	Profil des historiques thermiques obtenu sur le jus d'orange sanguine traité à différentes couples temps-températures.	28
09	Evolution du pH du jus frais et fortifié par l'acide ascorbique à différentes températures.	32
10	Evolution de l'acidité titrable du jus frais et fortifié par acide ascorbique à différentes températures.	34
11	Evolution de °Brix du jus frais et fortifié par acide ascorbique à différentes températures.	35
12	Evolution de la matière sèche du jus frais et fortifié par acide ascorbique à différentes températures.	37
13	Evolution des anthocyanes de jus frais et fortifié par acide ascorbique à différentes températures.	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableaux	Titres	Pages
I	Les principales anthocyanes des végétaux.	04
II	La teneur en anthocyanes de quelques fruits et légumes.	05
III	Principales variétés d'oranges de l'espèce <i>Citrus Sinensis</i> (L.) Osbeck : lieux de production et utilisation courante.	Annexe A
IV	Composition biochimique de fruit l'orange douce.	16
V	les barèmes et les valeurs pasteurisatrices du jus d'orange frais et fortifié par l'acide ascorbique à 60 et 70°C pour tous les temps d'exposition.	29
VI	les barèmes et les valeurs pasteurisatrices du jus d'orange frais et fortifié par l'acide ascorbique à 80 et 90°C pour tous les temps d'exposition.	29
VII	La composition chimique du jus d'orange sanguine frais et fortifié avec l'acide ascorbique (100mg/L de jus) à l'état non traité.	30

INTRODUCTION



Introduction

Le remplacement des colorants synthétiques par des colorants naturels est devenu un enjeu majeur au cours des dernières années. Les pigments de sources naturelles peuvent afficher un large éventail de couleurs et sont généralement sûrs. Parmi ces pigments répandus dans la nature, les anthocyanes ont un rôle crucial lorsqu'il s'agit de colorants naturels (**He & Giusti, 2010**).

Les anthocyanes sont des composés bioactifs présents dans de nombreux fruits, légumes et leurs produits. Ils sont responsables d'une large gamme de couleurs présentes dans les pétales, fleurs, feuilles, fruits et légumes et sont un sous-groupe au sein des flavonoïdes (**Patras et al, 2010**).

Outre les propriétés en tant que colorant, les anthocyanes ont récemment attiré l'attention grâce à leurs potentiels bénéfiques pour la santé. Il a été suggéré que les anthocyanes présentent des propriétés anti-inflammatoires, anti-cancérigènes, de préviennent des maladies cardiovasculaires(**Basu et al, 2010**). Toutes ces propriétés sont plus ou moins associées avec leur propriétés antioxydantes élevées (**He & Giusti, 2010**).

Les anthocyanes peuvent présenter une large gamme de couleurs solubles dans l'eau et ont des avantages sur la santé (**Mateus & de Freitas, 2009**). Néanmoins, leur utilisation a été limitée en raison de leur faible pourcentage d'extraction et de leur relative instabilité vis-à-vis des facteurs physiques et chimiques prévalant lors des traitements de transformation ou de stockage (**Cavalcanti et al, 2011**). De ce fait, il reste difficile à gérer les produits transformés, qu'ils soient alimentaires, pharmaceutiques ou cosmétiques.

L'acide ascorbique est couramment ajouté aux jus de fruits pour éviter les réactions de brunissement enzymatiques et améliorer les propriétés nutritionnelles. Toutefois, les effets à la fois positif (**Kaack & Austed, 1998**), et négatifs de l'enrichissement en acide ascorbique ont été signalés dans divers jus de fruits et nectars (**Kirca et al., 2006**), ce qui indique le rôle important de l'effet matrice couplé à la chimie des anthocyanes dans la stabilité globale du pigment.

Ce présent travail a pour objectif de suivre l'effet de la fortification de l'acide ascorbique sur la stabilité des anthocyanes et les paramètres physico-chimique d'une variété

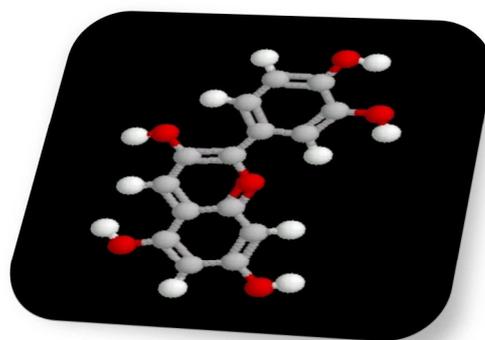
du jus d'orange sanguine (produite localement) lors d'un procédé de transformation (simulant un traitement thermique à l'échelle industriel).

Ce travail comprend deux parties :

- Une partie bibliographique qui donne un aperçu général sur les anthocyanes ainsi que sur les produits étudiés ;
- Une partie expérimentale qui portera sur les différentes analyses effectuées et les méthodes utilisées tout au long de ce travail avec une formulation des résultats et leur interprétation.

PARTIE THEORIQUE

NOTIONS SUR LES ANTHOCYANES



Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels : les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Avec leur diversité structurale remarquable, ces derniers, également appelés polyphénols, constituent une richesse déjà largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Les polyphénols (les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tannins) sont présents dans toutes les parties de la plante (Nkhili, 2009).

Ils sont, en effet, cruciaux pour beaucoup d'aspects fonctionnels de la flore, y compris des rôles structuraux, protecteurs, participants aux stratégies de défense et s'imposants comme intermédiaires particuliers dans les interactions entre les végétaux et leur environnement (Garcia-Salas, Morales-Soto, Segura-Carretero, & Fernández-Gutiérrez, 2010).

I.1. Anthocyanes

I.1.1. Définition et structure

I.1.1.1. Définition

Le terme anthocyane dérive des mots grecs *anthos* (fleur) et *cyanus* (bleu), il définit des pigments importants des plantes vasculaires. Ces pigments sont responsables des colorations oranges, roses, rouges, violettes et bleues brillantes des fleurs et des fruits de nombreuses plantes (Turker, Aksay, & Ekiz, 2004; Valls, Millán, Martí, Borràs, & Arola, 2009).

Les anthocyanes sont des composés phénoliques, qui constituent la fraction la plus importante du métabolisme secondaire des plantes. Elles sont diversement impliquées dans les interactions plantes- environnement:

- ✚ Dans leur reproduction (pollinisation) ;
- ✚ Dans la gestion du métabolisme énergétique ;
- ✚ Dans la protection thermique (contre le gel et contre les hautes températures) ;
- ✚ Dans leur technique de survie (résistance à la prédation) ;
- ✚ Dans la lutte antistress physico-chimiques... (Cavalcanti, Santos, & Meireles, 2011).

I.1.1.2. Structure

Les anthocyanes sont responsables de la coloration rouge, bleu et violette de nombreux fruits, légumes et fleurs. Ces pigments sont principalement issus des fruits rouges (raisin, fraises,...) ou des légumes (choux rouge, carotte pourpre), leur coloration est très tributaire de l'acidité du milieu : elle est rouge en milieu acide et bleu en milieu neutre ou alcalin (Yahlaoui, 2012).

La structure de base des anthocyanes est donnée par la (figure 1).

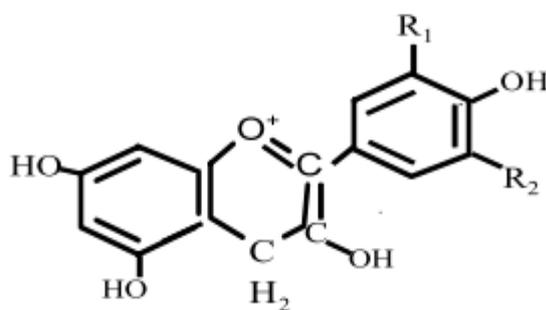


Figure 1 : Structure de base des anthocyanes (Corrales Moreno, 2008; Yahlaoui, 2012).

Selon les groupement R_1 et R_2 , les principaux anthocyanes sont donnés dans le (tableau I)

Tableau I : Les principaux anthocyanes des végétaux (Corrales Moreno, 2008; Yahlaoui, 2012).

R_1, R_2	Anthocyanidines	Couleur
$R_1 = R_2 = H$	Pélagonidines	Orange-rouge
$R_1 = OH, R_2 = H$	Cyanidines	Rouge
$R_1 = OCH_3, R_2 = H$	Péonidines	Rose
$R_1 = R_2 = OH$	Delphinidines	Bleue-violette
$R_1 = OCH_3, R_2 = OH$	Pétunidines	Violette
$R_1 = R_2 = OCH_3$	Malvidines	Mauve

I.1.2. Source et localisation

I.1.2.1. Source

Les anthocyanes (pigments) sont présentes en abondance dans les fruits et les baies (tableau II) et en moindre quantité dans les autres parties de la plante (tige, feuille, racine, bois) (Kevin Gould *et* Turker *et al.*, 2004 *al.*, 2009;).

Tableau II : La teneur en anthocyanes de quelques fruits et légumes (Willig, 2009).

Sources (fruits et légumes)	Nom scientifique	Concentration en anthocyanines (mg/100g)
Pomme	<i>Malus pumila P. Mill.</i>	1-17
Myrtille	<i>Vaccinium myrtillus L.</i>	300-808
Mûre	<i>Rubusspp.</i>	145-607
Raisin	<i>Vitis vinifera</i>	27-120
Oignon rouge	<i>Allium cepa L.</i>	~49
Carotte pourpre	<i>Daucus carota</i>	38-98
Radis rouge	<i>Raphanussativus L.</i>	11-60
Maïs pourpre	<i>Zeamays L.</i>	~1640
Chou rouge	<i>Brassicaoleracea L.</i>	~322
Fraise	<i>Fragaria ananassa D.</i>	13~55

I.1.2.2. Localisation

Les anthocyanes sont le plus grands et le plus divers groupes de colorants hydrosolubles des plantes (Kopjar *et al.*, 2009). Elles s'accumulent dans les vacuoles des cellules les plus externes (épidermes et hypodermes) (Kuti, 2004; Oren-Shamir, 2009).

Les cellules végétales utilisent des mécanismes de transport actif pour transférer les anthocyanes dans la vacuole et la glycosylation des anthocyanes est une condition préalable à ce processus (**Kevin Gould *et al.*, 2009**).

Les anthocyanes sont accumulées sous forme de structures sphériques pigmentées appelées anthocyanoplastes. Ces structures sont nommées incorrectement des anthocyanoplastes puisque des études structurales récentes montrent qu'il s'agit d'inclusions membranaires et non de structures libres dans le cytoplasme (**Kevin Gould *et al.*, 2009**).

I.1.3. Les facteurs influençant sur la stabilité des anthocyanes

Les anthocyanes sont fortement instables et très susceptibles à la dégradation. Leur stabilité est affectée par plusieurs facteurs tels que : le pH, la température de stockage, la structure chimique, la lumière, l'oxygène, la présence des enzymes, des flavonoïdes, des protéines et des ions métalliques (**Castaneda-Ovando *et al.*, 2009**).

I.1.3.1. pH

Les anthocyanes, en milieu aqueux se conduisent pour la plupart d'entre elles comme des véritables indicateurs de pH. Elles sont rouges pour des valeurs de pH faibles, bleues pour des pH intermédiaires et deviennent incolores pour des valeurs de pH élevées (**Malien-Aubert *et al.*, 2001**). Ces changements de couleur sont dus à des réactions d'équilibre entre différentes formes structurales, en fonction du pH (figure 2).

- ✚ à pH=1, le cation flavylium (couleur rouge) est l'espèce prédominante et contribue aux couleurs pourpres et rouges. A ce pH, les anthocyanes présentent leur maximum de stabilité.
- ✚ les espèces bleues quinoidal sont prédominantes à des valeurs de pH comprises entre 2 et 4.
- ✚ à des valeurs de pH entre 5 et 6, on observe deux espèces incolores, un pseudo base carbinol et une chalcone.
- ✚ pH > 7, les anthocyanes sont dégradés selon leurs groupes de substituants (**Neill, 2002; Cavalcanti *et al.*, 2011**).

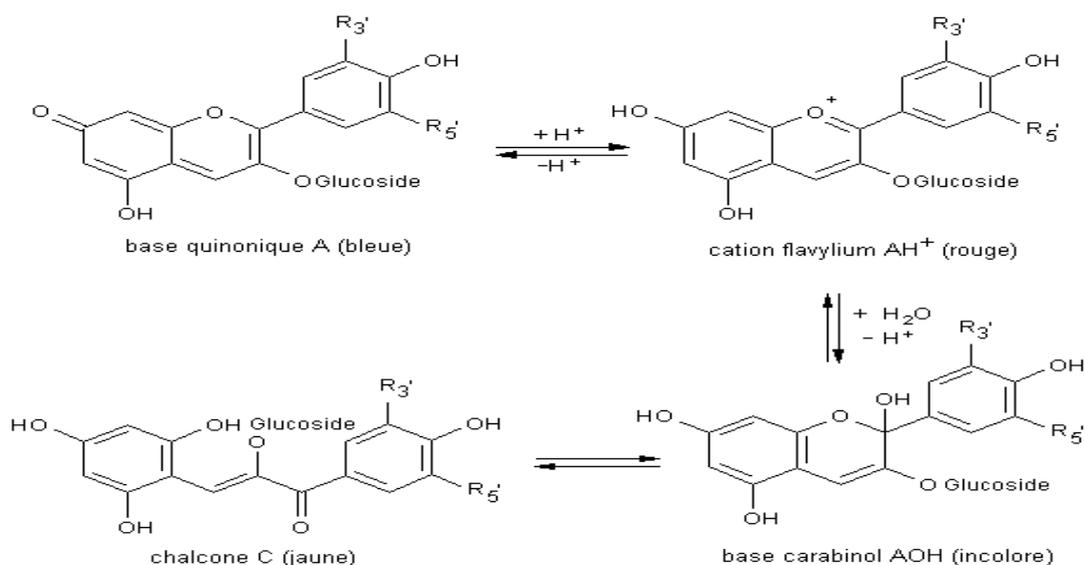


Figure 2: Effet du pH sur la structure des anthocyanes (Stintzing et Carle, 2004).

I.1.3.2. La température

La stabilité d'anthocyanes est affectée par la température. Le taux de dégradation d'anthocyanes augmente pendant le traitement et le stockage, pendant que la température s'élève. L'élévation de la température en valeurs de pH 2-4 induit la perte des parties glycosyliques des anthocyanes, par l'hydrolyse du lien glycosidique. Ceci aboutit à la perte de couleur d'anthocyanes, puisque les aglycones sont beaucoup moins stables que leurs formes glycosidiques. On postule que la formation d'une chalcone est la première étape dans la dégradation thermique des anthocyanes. Par la suite, la dégradation thermique mène à brunir des produits, particulièrement en présence de l'oxygène (Rein, 2005).

La haute température ainsi que la dégradation causée par le pH élevé des anthocyanes de cerise ayant pour résultat trois dérivés différents d'acide benzoïque. Le trihydrobezaldehyde a été identifiée comme produit final de la dégradation thermique des anthocyanes. Les coumarines 3,5-diglycosides sont également les produits thermiques communs de dégradation de l'anthocyanes 3,5-diglycosides. Le schéma suivant montre les voies thermiques proposées de la dégradation d'anthocyanes (figure 3) (Rein, 2005).

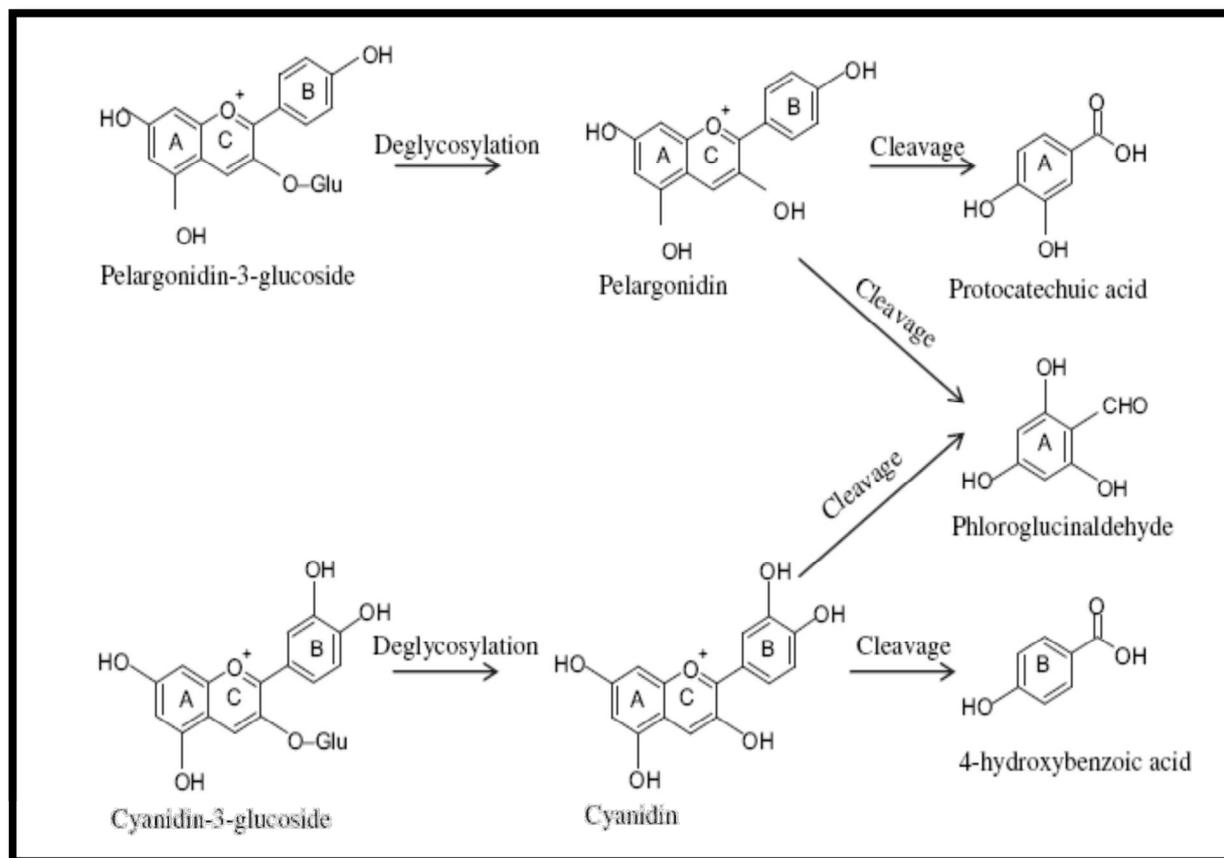


Figure 3: Mécanisme de dégradation thermique de deux anthocyanes communes (**Patras *et al.*, 2010**).

La température peut également avoir un effet positif sur les anthocyanes, elle est importante pour la formation d'anthocyane pendant le stockage des baies fraîches par exemple la teneur en anthocyane des fraises et framboises stockée au frais pendant huit jours a été augmentée dans les températures de stockage au-dessus de 0°C (**Rein, 2005**).

I.1.3.3. Lumière

La lumière affecte les anthocyanes de deux manières différentes : elle est essentielle pour leur biosynthèse, mais elle accélère également leur dégradation. Les anthocyanes préservent leur couleur bien mieux une fois maintenu dans l'obscurité ; la différence a été vue déjà après 24 h quand des anthocyanes ont été stockées dans la lumière. La stabilité d'anthocyane pendant le stockage est affectée par la lumière et particulièrement en présence de sucre (**Cavalcanti *et al.*, 2011**).

I.1.3.4. Oxygène

L'oxygène joue également un rôle essentiel dans les processus de dégradation des anthocyanes. La présence d'oxygène peut accélérer la dégradation des anthocyanes soit par le biais d'un mécanisme d'oxydation directe ou par l'action d'enzymes oxydants qui réagissent avec les anthocyanes pour donner des produits incolores ou bruns (**Cavalcanti *et al.*, 2011**).

Les auteurs ont rapporté que l'oxygène de 60 à 100% fournit l'augmentation dans le contenu phénolique et d'anthocyane pendant le début (0 –7 jours) d'entreposage au froid. Cependant cet effet diminue avec le stockage prolongé (**Cavalcanti *et al.*, 2011**).

I. 1.3.5. Copigmentation

La copigmentation est un outil naturel précieux pour améliorer la couleur des anthocyanes des produits alimentaires riches, dont la couleur peut être stabilisée et améliorée par l'ajout de différents extraits de plantes riches en copigments. Il a été observé déjà que la copigmentation est plus intense dans les jus de baies qu'avec les molécules d'anthocyanes purifiés de ces jus de fruits. Ceci indique que plusieurs autres composants du matériau de jus jouent un rôle dans le phénomène de copigmentation que seulement une molécule de copigment ajoutée (**Rein, 2005**).

En sciences de l'alimentation, ce phénomène est considéré comme une interaction très importante parce que la couleur est l'un des principaux facteurs de qualité essentiels dans l'acceptation d'un produit, certaines enquêtes indiquent que la copigmentation des anthocyanes avec d'autres composés (Copigments) est le principal mécanisme de stabilisation de la couleur des plantes. Les copigments sont des systèmes riches en p-électrons qui sont capables de s'associer avec des ions Flavylium, qui sont plutôt pauvres en électrons. Cette association offre une protection pour l'attaque nucléophile de l'eau dans la position 2 de l'ion flavylium et pour d'autres espèces telles que des peroxydes, et dioxyde de soufre dans la position 4 (**Castaneda-Ovando *et al.*, 2009**).

Les copigments sont généralement incolores, mais quand mélangées à une solution anthocyanique, une interaction est réalisée ; production d'un effet hyperchrome et un déplacement bathochrome dans les spectres de l'absorption (UV-Vis). Les Copigments peuvent être des flavonoïdes, des alcaloïdes, des acides aminés, des acides organiques, les

nucléotides, les polysaccharides, des métaux ou autre anthocyanes (Castaneda-Ovando *et al.*, 2009).

Cependant, les molécules qui apportent la plus grande stabilité sont les flavonoïdes de structure plane : les flavonols (quercitrine, rutine), les C-glycosylflavones et les dérivés acides flavonols sulfonique (Cavalcanti *et al.*, 2011).

La copigmentation peut avoir lieu par plusieurs interactions (figure 4). Les mécanismes les plus importants de copigmentation sont la formation de complexes intermoléculaires (D) et intramoléculaires (B). L'auto-association (A) (association de deux molécules d'anthocyanes ou plus) et la complexation métallique sont également des moyens possibles par lesquels la copigmentation se produit (C) (Rein, 2005; Brouillard, 2010).

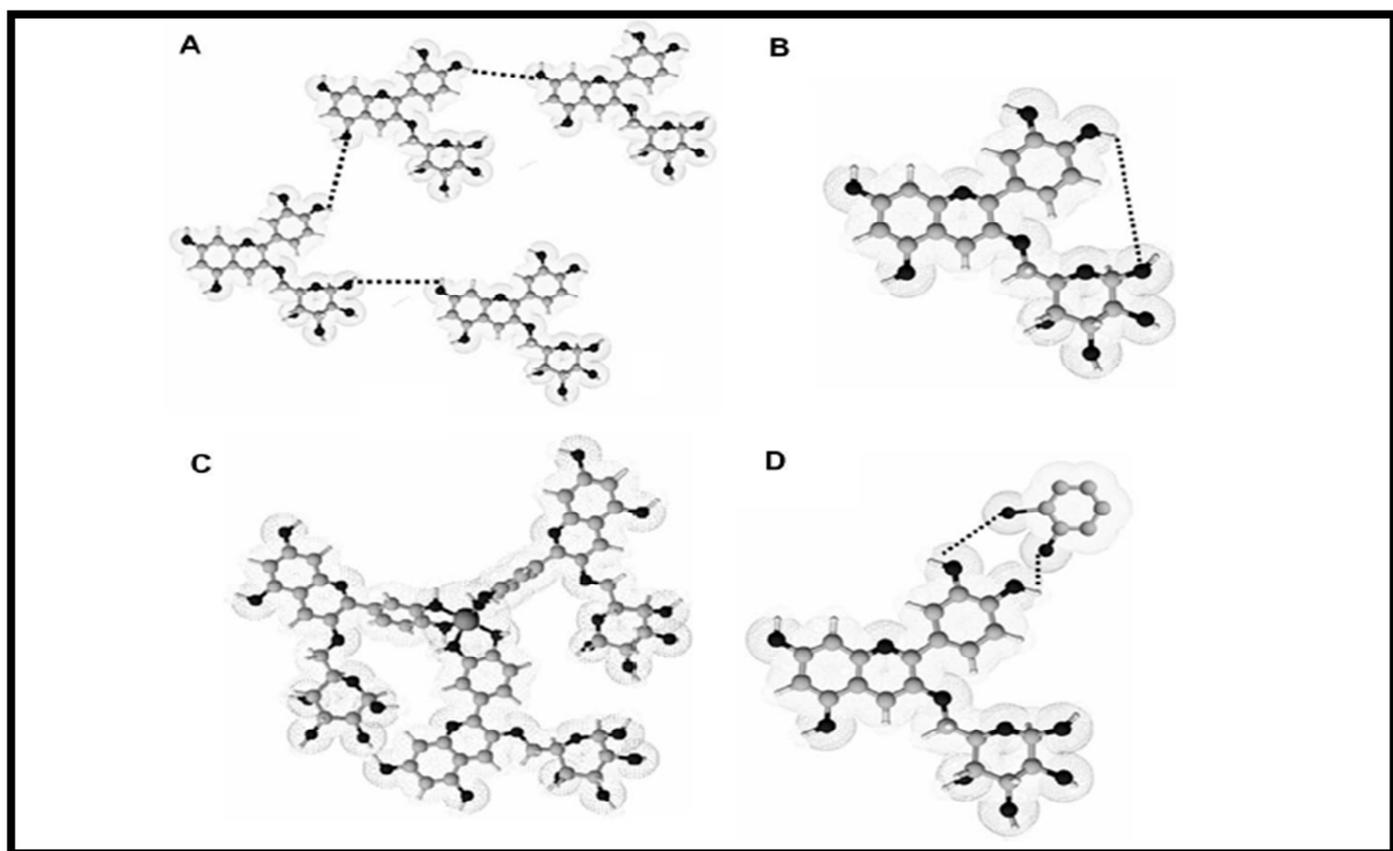


Figure 4 : Interaction des anthocyanes. (A) l'auto-association, (B) copigmentation intramoléculaire, (C) complexation métallique, (D) intermoléculaires (Castaneda-Ovando *et al.*, 2009).

I.1.3.6. Action des enzymes

L'inactivation des enzymes améliore la stabilité d'anthocyane. Les enzymes dégradantes de l'anthocyane les plus communes sont des glycosidases, qui cassent le lien covalent entre le résidu glycosylique et l'aglycone d'une anthocyane, ayant pour résultat la dégradation de l'anthocyanidine fortement instable. Les peroxydases et les phénolases, tels que les oxydases de phénol et les oxydases de polyphénol, que toutes les deux sont trouvées naturellement dans les fruits et les baies eux-mêmes, sont également les enzymes communes de dégradation d'anthocyane (Rein, 2005).

I.1.3.7. Action de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique peut avoir plusieurs rôles dans la stabilité de la couleur d'anthocyane. La décomposition d'anthocyanes est accélérée par la présence de l'acide ascorbique. Ce dernier peut générer du peroxyde d'hydrogène générateur de radicaux libres néfastes aux anthocyanes qui, par polymérisation peuvent donner un précipité brun résineux (Rein, 2005). A l'inverse, la stabilité des anthocyanes *acylées* est augmentée en présence d'acide ascorbique et de plus, elles peuvent ainsi être protégés contre la dégradation enzymatique (Rein, 2005).

En présence de l'acide ascorbique, l'addition de certains flavonols exerce un effet protecteur des anthocyanes, probablement par compétition pour les réactions de condensations (Cavalcanti *et al.*, 2011).

I.1.4. Propriété fonctionnelle

La fonction la plus importante des anthocyanes est leur capacité à donner de la couleur aux végétaux ou aux produits végétaux où ils se produisent. Elles jouent un rôle certain dans l'attraction des animaux pour la pollinisation et la dispersion des graines et donc ils ont une valeur considérable dans la coévolution de ces interactions plantes-animaux (Kong *et al.*, 2003).

Les anthocyanes sont largement reconnues pour leur activité antioxydante, activité proportionnelle au nombre d'hydroxyles libres. Pour certains végétaux, cette activité se montre supérieure à celle de la vitamine E. Elle explique en grande partie le pouvoir

chimioprotecteur attribué, de manière particulière, aux anthocyanes et ceci aussi bien chez les végétaux que chez l'Homme (**Macheix *et al.*, 2006**).

La copigmentation de cyanidine-ADN peut être un moyen de défense possible contre les dommages oxydatifs de l'ADN et peuvent avoir des fonctions physiologiques *in vivo* attribuables à la capacité antioxydante des anthocyanes. En plus de leurs fonctions dans les plantes, les anthocyanes peuvent avoir de nombreuses autres utilisations, par exemple, leur importance fonction dans le déclin cognitif et le dysfonction neuronal (**Kong *et al.*, 2003**).

D'après, **Giusti & Wrolstad (2003)**, **Vera de Rosso & Mercadante (2007)** ; les anthocyanes sont associés au traitement de divers désordres de la circulation sanguine résultant de la fragilité capillaire. Elles possèdent des propriétés vaso-protectrices et anti-inflammatoires, maintiennent la perméabilité vasculaire à l'état normal et inhibent l'agrégation des plaquettes.

De leur part, **Stintzing & Carle, (2004)** ont rapporté que malgré leur taux d'absorption faible qui est au-dessous de 1%, ces pigments exercent des effets bénéfiques sur la santé humaine tels que : effet antinéoplasique, anticarcinogénique, antiathérogénique et antiviral.

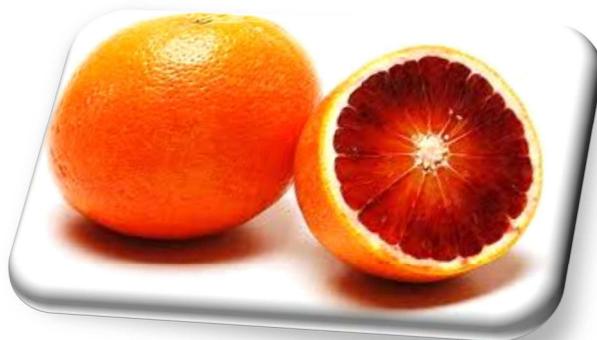
Les anthocyanes peuvent exercer 3 actions majeures: vasodilatation artérielle, protection rétinienne, diminution de l'agrégation plaquettaire. Tous ces effets cumulés en font un excellent protecteur contre les accidents vasculaires cérébraux (**Hennebelle *et al.*, 2004**). De plus elles semblent favoriser l'amélioration de la vision nocturne et l'accommodation à la lumière forte (**Ghosh & Konishi, 2007**).

L'anthocyane exerce une activité anti-inflammatoire, ceci se manifeste surtout par un effet protecteur sur l'oxydation du LDL-cholestérol et des dérivés acides gras polyinsaturés (éicosanoïdes), bloquant ainsi la cascade inflammatoire (**Verge *et al.*, 1999 ; Hennebelle *et al.*, 2004**).

Les anthocyanes renforcent les structures capillaires tout en diminuant leur perméabilité et les niveaux de la vitamine C à l'intérieur des cellules. Les anthocyanes stabilisent la membrane de plasmique des vaisseaux sanguins et augmentent la disponibilité des mucopolysaccharides qui aident à reconstituer la gaine peri-capillaire. Les anthocyanes

aident également à diminuer la perméabilité du sang dans le cerveau, le protégeant contre des drogues, des polluants, des produits naturels de dégradation...(**Kong *et al.*, 2003**).

GÉNÉRALITÉ SUR L'ORANGE



II.1. L'orange**II.1.1. Définition et structure****II.1.1.1. Définition**

L'orange est un agrume qui peut aussi être appelé hesperidium. L'hesperidium diffère des fruits comme la tomate ou le raisin car il possède une peau dure et solide qui protège la partie comestible du fruit (**Berlinet, 2006**).

II.1.1.2. Structure

La structure d'une orange est présentée dans la (figure 5). Les parties caractéristiques communes aux agrumes sont les suivantes :

- Une couche extérieure colorée, le flavedo, rappelant le mot « flaveur » car elle contient les glandes à huiles essentielles ;
- Une couche intérieure blanche et spongieuse, l'albedo (ou mésocarpe), riche en pectines ;
- Une partie comestible, l'endocarpe ou épiderme interne. Dans le cas des oranges, les cellules très juteuses formant des sacs à jus ou encore vésicules à jus sont des poils produits par l'endocarpe. Les segments (ou quartiers) qui comprennent de nombreuses vésicules séparées par des parois carpellaires ou membranes constituées de cellulose, pectine et hémicelluloses. Les segments sont attachés à la partie centrale du fruit appelée columelle (**Berlinet, 2006**).

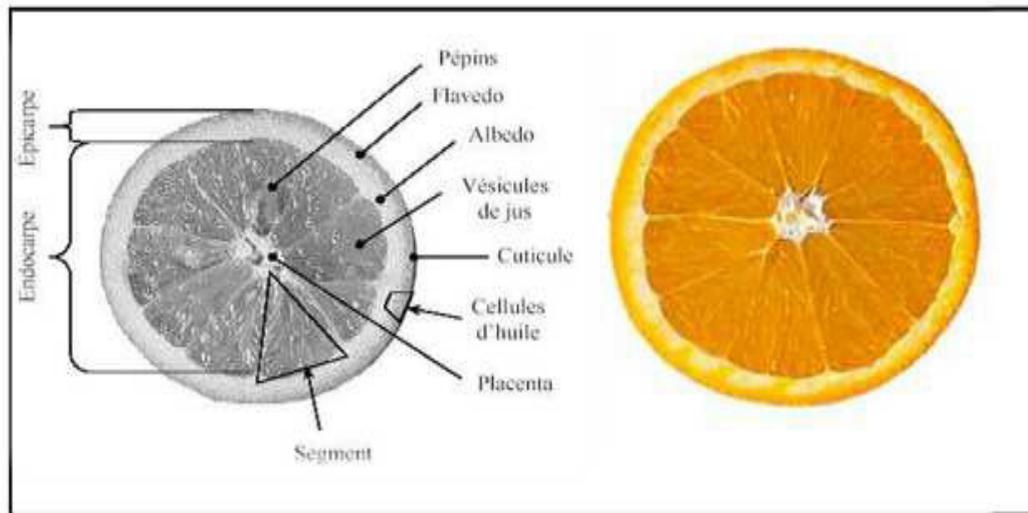


Figure 5: Coupe longitudinale et schéma descriptif de Citrus (Dominguez, 2002).

II.1.2. Les espèces et les principales variétés

L'orange appartient au genre *Citrus* de la famille des *Rutaceae*. Le genre *Citrus* contient deux espèces d'orange : *Citrus sinensis*, (L.) Osbeck) correspond aux oranges douces, *Citrus aurantium* L; correspond aux oranges amères. Ces dernières sont également appelées bigarades, elles sont peu comestibles et leur utilisation est principalement réservée à la production de marmelades ou d'huiles essentielles (Kimball, 1999).

Les oranges douces *Citrus sinensis* (L.) Osbeck sont les plus consommées. Elles sont utilisées comme « en fruits » et certaines variétés servent à l'élaboration des jus (Berlinet, 2006). Les principales catégories de l'orange douce (navels, blondes, sanguines et douceâtres) sont présentées dans le (Tableau III, annexe A).

II.2. Orange sanguine

II.2.1. Définition et classification

II.2.1.1. Définition

L'orange est une baie qui se compose de plusieurs carpelles, ou sections, faciles à séparer, chacune contenant plusieurs graines et de nombreuses cellules juteuses. La peau, ou exocarpe, est coriace et comporte de nombreuses glandes productrices d'huiles. Ce fruit est produit par l'oranger, arbre de la famille des Rutacée. Les orangers dépassent rarement 9 m

de haut. Les feuilles sont persistantes, ovales et luisantes et les fleurs blanches et parfumées. *Moro* et *Sanguinilli* sont des variétés d'orange sanguine provenant des îles de Malte et de Sicile et ont été cultivées, pendant beaucoup de siècles, dans les régions méditerranéennes (Kelebek *et al.*,2008). Leur pulpe est rouge ou rouge violacé, couleur due à l'abondance des pigments colorés tel que les anthocyanes (Cassano, 2007).

II.2.1.2. Classification

Les oranges douces, originaires du sud-est asiatique, ont été introduites en Méditerranée par les marchands génois au XV^e siècle. Elles ont aujourd'hui une grande importance commerciale et sont cultivées dans les régions chaudes. Elles appartiennent au règne des *Plantae*, famille des *Rutacée*, genre *Citus* et espèce : *Citrus sinensis* (Anonyme 1).

II.2.2. Composition biochimique de l'orange douce

L'orange douce est un véritable aliment à part entière, qui contribue utilement à l'équilibre nutritionnel par sa richesse en nutriments essentiels et en principes actifs indispensables au bon fonctionnement du métabolisme (tableau IV) (Khaled Khodja, 2008).

Tableau IV: Composition biochimique du fruit de l'orange douce (Benaïche, 2001).

Constituants	Teneur* mg/100g	Valeur nutritive** (g/MJ)
Eau	85%	447,86
Glucides	8,5-12%	46,00
Acides organiques	1,2%	6,30
Vitamine (vitamine C)	40-80 mg/100g	-
Oligoélément (Cu, Mn, Ni, I ...)	0,3 mg/100g	-
Lipides	1,60%	1,12
Fibres (pectine, hemicellulose...)	1,6-2,4%	8,82
Minéraux	0,48%	2,68
Protéines	1%	5,68

(*): Valeur moyenne par 100g de matière comestible; (**): La densité nutritive d'un composé nutritif d'un aliment est le rapport entre la teneur en ce composé (g) et l'énergie totale fournie par l'aliment (en mégajoules).

II.2.3. Teneur en anthocyanes de l'orange sanguine

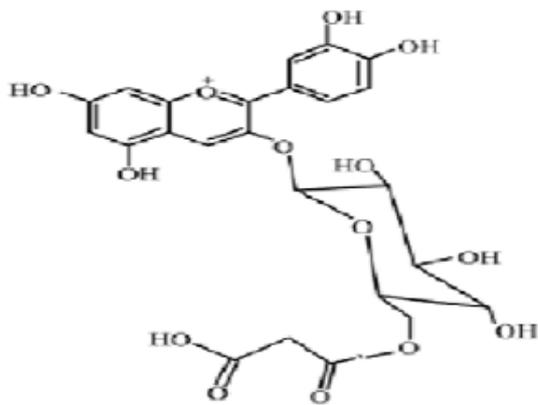
La cyanidine-3-glucoside et la cyanidine 3-(6''-malonyl) glucoside sont les principales anthocyanes présentes dans le jus d'orange sanguine, qui sont responsable de leur couleur rouge brillante (**Rapisarda *et al.*, 1998; Mondello *et al.*, 2000; Hillebrand *et al.*, 2004; Barbagallo *et al.*, 2007**).

Dugo *et al.*, (2003) ont caractérisé, la délphinidine-3-glucoside, péonidine-3-glucoside, cyanidine-3-rutinoside, esters de la délphinidine, de la péonidine, et de la pétunidine, respectivement, en tant qu'anthocyanes mineures de jus d'orange sanguine d'origine sicilienne.

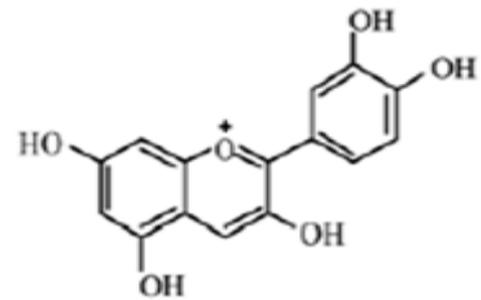
La teneur en anthocyanes dans le jus dépend de la saison et varie de 96 à 166mg/l pour l'orange de la Californie et de 1,2 à 278 mg/l pour l'orange Italienne (**Rapisarda *et al.*, 2000**).

Parmi les 90% des pigment anthocyniques totaux, la cyanidine est la substance prédominante, suivie de la délphinidine avec environ 6% , la péonidine à 1,2-1,7%, la pétunidine et du pélargonidine sous forme de traces (**Lee *et al.*, 1990**).

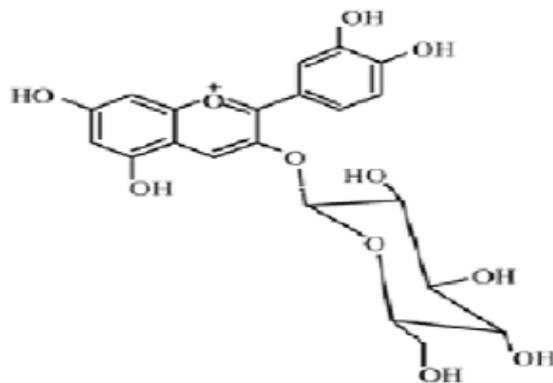
La figure 6 illustre les structures des principales anthocyanes majoritaire del'orange sanguine.



Cyanidine 3-(6''-malonyl)glucoside



Cyanidine



Cyanidine 3- glucoside

Figure 6 : Structures des principaux anthocyanes majoritaires de l'orange sanguine (Cao *et al.*, 2010).

II.2.4. Intérêts

Le jus d'orange constitue une source diététique importante de composés bioactifs. Il contient des caroténoïdes: provitamine A (β -carotène, α - cryptoxanthine), aussi bien que d'autres caroténoïdes antioxydants (zéaxanthine et lutéine). Ces caroténoïdes ont été impliqués dans la réduction des maladies dégénératives (cardiovasculaires et cérébrovasculaires) (Sánchez-Moreno *et al.*, 2003).

Il est également caractérisé par une teneur élevée d'acide ascorbique (vitamine C ; antioxydant naturel pouvant empêcher le développement des conditions d'oxydation chez l'Homme (**Sánchez-Moreno et al., 2003**).

Titta et al., (2009) ont remarqué dans leur étude sur les souris que l'orange sanguine ,caractérisée par une teneur élevée en anthocyanes en particulier la cyanidine -3-glucose, est rapportée pour diminuer le risque d'obésité et pour améliorer la résistance d'insuline une fois supplémenté à un régime à haute teneur en lipides. Ils ont constaté également que la fourniture d'un jus d'orange ou un extrait d'orange de la variété *Moro* enrichi en anthocyanes aux souris empêche le gain de poids corporel et empêche l'obésité induite par des teneurs élevées en lipides sans diminuer la prise totale d'énergie. Par conséquent, le jus de *Moro* semble viser directement la capacité des adipocytes d'accumuler la graisse.

Le magnésium est un minéral bien connu pour ses vertus relaxantes. Antistress naturel, il favorise la bonne transmission de l'influx nerveux et la décontraction musculaire. Il permet également de réguler le transit intestinal. Une étude qui a testé l'effet du magnésium, trouve un risque de cancer diminué (**Kato et al., 1997**). Ceux qui boivent de l'eau riche en calcium et magnésium ont moins de cancer colorectal et du colon (**Messaid, 2008**).

Le calcium abondant dans les aliments, il est indispensable à la formation des os et des dents ; plusieurs études montrent que les femmes consommant les produits riches en calcium ont moins de cancers de seins que les autres (**Messaid, 2008**).

L'acide citrique, constitue le principal acide organique des jus de fruits, il peut se substituer avant la digestion à l'acide chlorhydrique gastrique surtout si ce dernier n'est pas sécrété en quantité suffisante (**Messaid, 2008**).

II.3. Les différents traitements thermiques appliqués au jus d'orange

La pasteurisation est le traitement thermique qui est le plus utilisé pour la conservation des jus de fruits. Cette pasteurisation vise à tuer les micro-organismes, et à inactiver les enzymes pouvant altérer le produit ou le rendre impropre à la consommation humaine (**Benaïche, 2001**).

II. 3.1. Pasteurisation après conditionnement

Le jus est introduit froid ou à une température ne dépassant pas 70 à 75 °C dans les contenants chauffés après fermeture puis refroidis (**Benaïche, 2001**).

II.3.2. Remplissage à chaud et autopasteurisation

Cette méthode consiste à soumettre le jus à une flash-pasteurisation, à le refroidir immédiatement jusqu'à 82/85 °C puis à l'introduire à cette température dans les récipients ; ceux-ci sont instantanément fermés, retournés ou agités de manière que le liquide chaud vienne au contact de toute la surface du récipient et l'aseptise, puis maintenus ainsi 3 à 4 min avant d'être refroidis. La flash-pasteurisation consiste à porter très rapidement et à maintenir le jus à une température de 95 à 97 °C pendant 12 Second environ avant de le refroidir rapidement à une température de 82 à 85°C. Le chauffage et le refroidissement sont réalisés dans des échangeurs de chaleur à plaques tubulaires dans lesquelles le jus circule en couche mince. Par la suite, des échangeurs pouvant fonctionner sous pression ont été mis au point de sorte que les températures de chauffage sont élevées jusqu'à 130 °C, avec une réduction correspondante de durée. Ainsi, il est possible de pasteuriser le jus d'orange en 3 s à 107 °C (**Benaïche, 2001**).

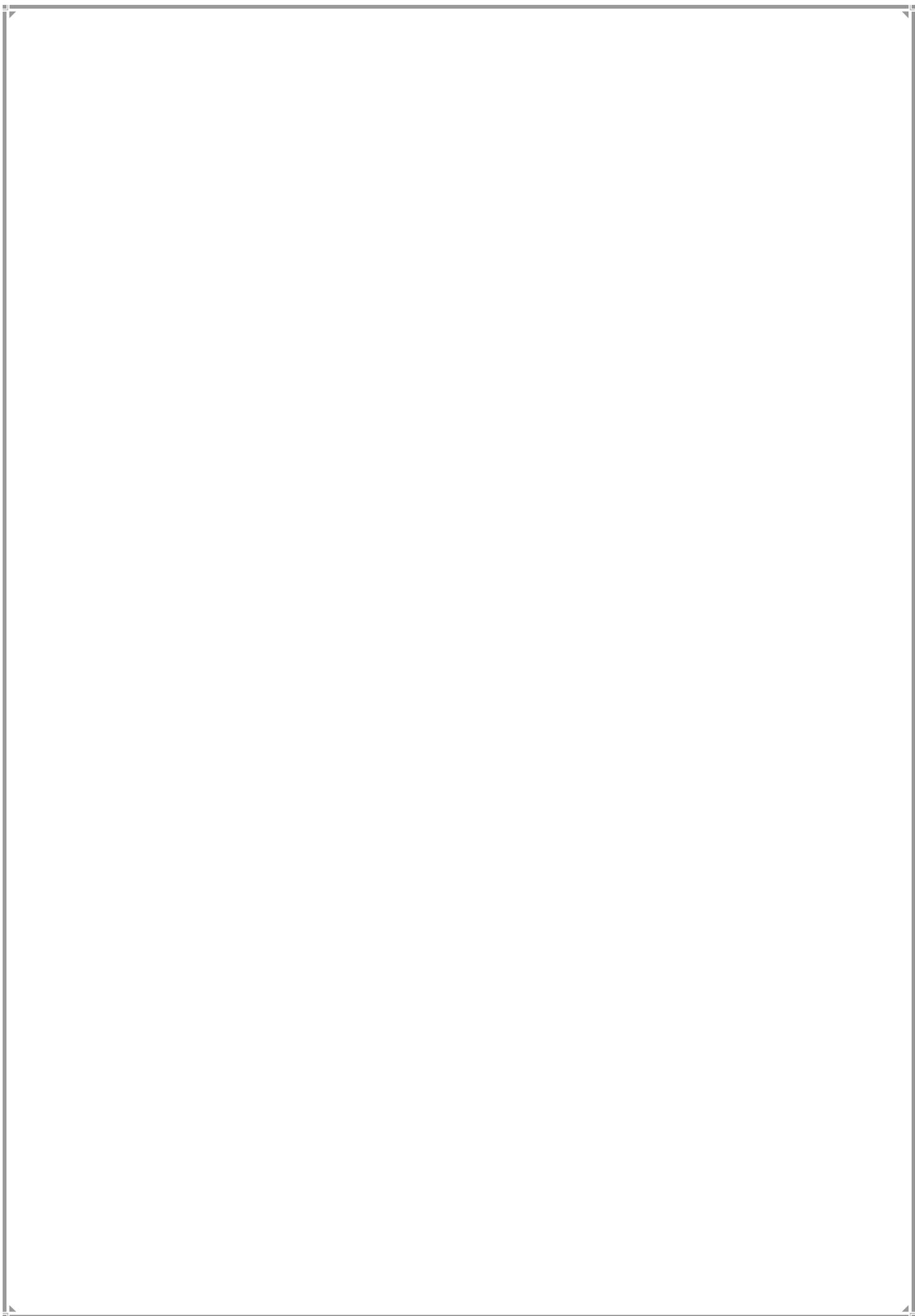
II.3.3. Pasteurisation éclair suivie de remplissage aseptique

Après la flash-pasteurisation, le jus est aussitôt et aseptiquement refroidi jusqu'à une température de 5 à 10 °C ; les opérations de remplissage et de fermeture des récipients sont également réalisées sous asepsie (**Benaïche, 2001**).

II.3.4. Pasteurisation du jus sous vide

L'orange est dézestée, son jus est extrait mécaniquement, sans toucher au mucilage, puis tamisé. Il est ensuite désaéré en couche mince sous vide et dirigé vers des tanks où il est conservé sous vide en attendant l'embouteillage (**Benaïche, 2001**).

PARTIE PRATIQUE



MATERIEL ET METHODES



L'objectif de ce travail est l'appréciation de l'impact de la fortification de l'acide ascorbique sur la stabilité des anthocyanes et les paramètres physico-chimiques du jus d'orange sanguine lors du traitement thermique.

III.I. Matériel végétal

Les fruits murs de l'orange sanguine (*Citrus sinensis* L.Osbeck) variété « *Sanguinilli* » étaient récoltés; à maturité optimale par rapport à la couleur ; des coopératives de production de la commune d'El-Kseur (wilaya de Bejaia) en plein saison de récolte qui s'étale le du janvier jusqu'à mi-mai et ont été transporté au laboratoire pour conservation.

III.1.1. Orange sanguine sanguinilli

III.1.1.1 Elaboration du jus d'orange sanguine

❖ Elaboration du jus d'orange sanguine frais

Les oranges ont été lavées à l'eau distillée ensuite coupées en deux, et pressées à l'aide d'une presse agrume (contenant un filtre pour enlever la pulpe et la graine). La pulpe récupérée a subi une deuxième filtration à l'aide d'une gaze. Le jus fraîchement pressé a été mis dans des bouteilles et ont été conservés dans une chambre froide à -20°C jusqu'au moment des analyses.

❖ Elaboration du jus d'orange sanguine fortifié

Le jus d'orange fraîchement pressé a subi une fortification avec 100 mg d'acide ascorbique avant les traitements qu'on veut appliquée.

III.2. Méthodes d'analyse**III.2.1. Analyses physico-chimiques****III.2.1.1. Détermination du pH****Principe**

Détermination en unité de pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse du jus d'orange sanguine (NF V05-101 1974).

III.2.1.2. Détermination de la teneur en eau**Principe**

La teneur en eau a été déterminée par séchage d'un échantillon de 1 g dans une capsule en porcelaine dans une étuve à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3heurs, ensuite par palier de 30 minutes jusqu'à stabilité du poids (Messaid, 2008).

Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{H}\% = \frac{(\text{M1} - \text{M2})}{\text{P}} \times 100(\%)$$

Où :

H % : Humidité ;

M 1 : Masse de la capsule + matière fraîche avant séchage en grammes ;

M 2 : Masse de l'ensemble après séchage en grammes ;

P : Masse de la prise d'essai en grammes.

$$\text{Matière sèche}\% = 100 - \text{H}\%$$

III.2.1.3. Détermination du degré de Brix

Le Brix exprime le pourcentage de la concentration des composés solides solubles contenus dans un échantillon (une solution aqueuse, un jus ...).

La mesure du degré Brix est réalisée à température ambiante, à l'aide d'un réfractomètre (ABBE Type réfractomètre AR12, doté d'un système de refroidissement). La lecture est faite à $20 \pm 1^\circ\text{C}$ sur une échelle spécifique et l'extrait sec soluble est exprimé en degré Brix (Brat, 2001).

III.2.1.4. Détermination de l'acidité titrable

Principe

Titration de l'acidité d'une solution aqueuse de l'orange sanguine avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH, 0,1N) jusqu'à un pH de 8,1 à 8,2 (NF V05-101 1974).

Expression des résultats :

$$C_{\text{acide citrique}} \times V_{\text{acide citrique}} = C_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}}$$

Où :

$$m_{\text{acide citrique}} (\text{g}/100\text{g du jus}) = 0,064 \times V_{\text{NaOH}}$$

C : concentration ;

m : masse en grammes ;

V : volume en ml.

Remarque

Il est également possible d'exprimer conventionnellement l'acidité titrable en grammes d'acides pour 100g ou 100ml de produit.

III.2.2. Dosage des anthocyanes

Principe

Le dosage des anthocyanes des extraits de l'orange sanguine a été déterminé par la méthode de pH différentiel utilisée par plusieurs auteurs (Al-Farsi *et al.*, 2005 ; Wrolstad *et al.*, 2005 ; Cheel *et al.*, 2007)

La méthode du pH-différentiel est basée sur le changement de la structure du chromophore d'anthocyane entre pH 1,0 et 4,5. Les anthocyanes monomériques subissent une transformation structurale réversible en fonction du pH (forme colorée d'oxonium à pH 1,0 et forme hémiacétale incolore à pH 4,5). La différence dans l'absorbance de ces pigments à 520 nm (λ visible max des anthocyanes) est proportionnelle à la concentration du colorant (Wrolstad *et al.*, 2002; AOAC, 2005; Lee *et al.*, 2005).

Mode opératoire

- La teneur en anthocyanes totales est mesurée en utilisant deux tampons : le chlorure de potassium à pH 1,0 (0,025 M) et l'acétate de sodium à pH 4,5 (0,4 M) ;
 - Déterminer le facteur de dilution en diluant la prise d'essai avec un tampon pH 1,0 dont l'absorbance doit être comprise entre [0,2 et 1,4 UI] ;
 - Préparer deux dilutions de l'échantillon à analyser, l'une avec le tampon pH 1,0 et l'autre avec le tampon pH 4,5 ;
 - Déterminer l'absorbance de l'échantillon dilué avec le tampon pH 1,0 et pH 4,5 à la fois à 520 et 700 nm.
- ✚ Calculer l'absorbance de l'échantillon dilué (A) comme suit:

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

- ✚ Calculer la concentration des pigments en anthocyanes monomères dans l'échantillon initial en utilisant la formule suivante:

$$\text{Pigment d'anthocyane monomère (mg / litre)} = (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

Où :

- **A** : l'absorbance de l'échantillon ;
- **MW** : (masse molaire de la cyanidine 3-glucoside) = 449,2 g/mol ;
- **DF** : facteur de dilution de l'échantillon ;
- ϵ : coefficient d'extinction molaire = 26900 L.mol⁻¹ ;
- **10³** : le facteur de conversion de g à mg
- **l** : le trajet optique.

III.3. Dégradation thermique et stabilité des anthocyanes de jus d'orange sanguine

III.3.1. Dispositif expérimental

- La dégradation thermique des anthocyanes de l'orange sanguine a été suivie à 60,70, 80 et 90°C.
- Le jus est chauffé dans des tubes en pyrex résistant à la chaleur (KIMAX) à des temps variables .
- Un volume d'échantillon est réparti dans des tubes en pyrex, ces derniers sont placés dans un bain marie agitateur (MEMMERT 8L) préréglé à la température désirée (l'homogénéité de la température dans le bain a été vérifié dans 5 points différents, la variation ne dépasse jamais 1° C pour toute les températures utilisées) , l'évolution de la température en fonction du temps (l'historique thermique) est suivie par un thermocouple (COOKING THERMOTIMER) équipé d'une sonde à température placée au cœur de l'échantillon dans un tube témoin de jus.
- À intervalles réguliers de temps, les échantillons de jus ont été retirés et refroidis rapidement dans un bain d'eau glacée. Le jus ainsi refroidis est conservé directement à -18°C pour des analyses approfondies. La teneur en anthocyanes et les différents paramètres physico-chimiques des différents jus (à différents couple temps-températures) est déterminée après décongélation à température ambiante.



Figure 7 : Les différentes étapes de traitements thermiques du jus d'orange sanguine.

III.3.2. Expression et analyses des résultats

III.3.2.1. Historique thermique

L'historique thermique à cœur enregistré dans le jus d'orange sanguine se traduit par une augmentation de la température qui croît pendant la phase de chauffage (la montée) ensuite un maintien de la température de consigne lors de la phase de stabilisation (le palier) puis une diminution au cours du refroidissement (phase de refroidissement) (**Bimbenet et al., 2002**).

III.3.2.2. Barème de pasteurisation

Un barème de pasteurisation est défini par la température du milieu chauffant (température appliquée par le bain) pendant la phase de montée et du palier (**Bimbenet et al., 2002**).

III.3.2.3. Valeurs pasteurisatrices

La notion de valeur pasteurisatrice peut être utilisée pour quantifier l'effet d'un barème thermique appliqué sur la destruction d'un micro-organisme de référence ou en d'autres termes pour quantifier l'efficacité d'un traitement thermique (**Bimbenet et al., 2002**).

La valeur ainsi définie correspond à un temps équivalent que l'aliment aurait passé à la température de référence (**Bimbenet et al., 2002**).

Le calcul de la valeur pasteurisatrice (VP) se fait comme suit :

$$VP = t \times 10^{(T - T_{réf})/z}$$

Où :

VP : Valeur pasteurisatrice ;

t : Durée de la pasteurisation ;

T: température appliquée en °C ;

z : Elévation de température nécessaire pour réduire D au dixième de sa valeur ;

D : Temps nécessaire pour réduire une population microbienne au dixième de sa valeur à la température T.

La température croît pendant la phase de chauffage puis décroît au cours du refroidissement. Dans ce cas, la VP est définie à partir de l'évolution constatée de la température T(t) par la formule suivante :

$$VP = \int [10^{(T(t) - T_{réf})/z}] dt \text{ évaluée par } \sum_i [10^{(T_i - T_{réf})}] \Delta t_i$$

Où :

T_{réf} : Température de référence en °C. Pour la pasteurisation, T_{réf} = 70°C ;

z = 10°C, généralement Pour la pasteurisation ;

T_i : Les températures relevées à des intervalles de temps Δt_i dans le produit ;

10^{(T(t)-Tréf)/z} : facteur de Bigelow.

III.4. Analyse statistique

-Une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur suivie du test de Tukey avec un niveau de signification à $p < 0,05$ est appliquée à l'aide du logiciel Statistica (version 5.5), afin de mettre en évidence des différences significatives entre les échantillons analysés pour chaque paramètre.

-Les historiques thermiques sont obtenus à l'aide de logiciel MATLAB version 2011.

RESULTATS ET DISCUSSION



IV. Résultats et discussion

IV.1. Effet des traitements thermiques sur le jus d'orange frais et fortifié par acide ascorbique

IV.1.1. Historique thermique

Les historiques thermiques du jus d'orange sanguine frais et fortifié avec acide ascorbique (100mg) sont présentés dans la figure 8.

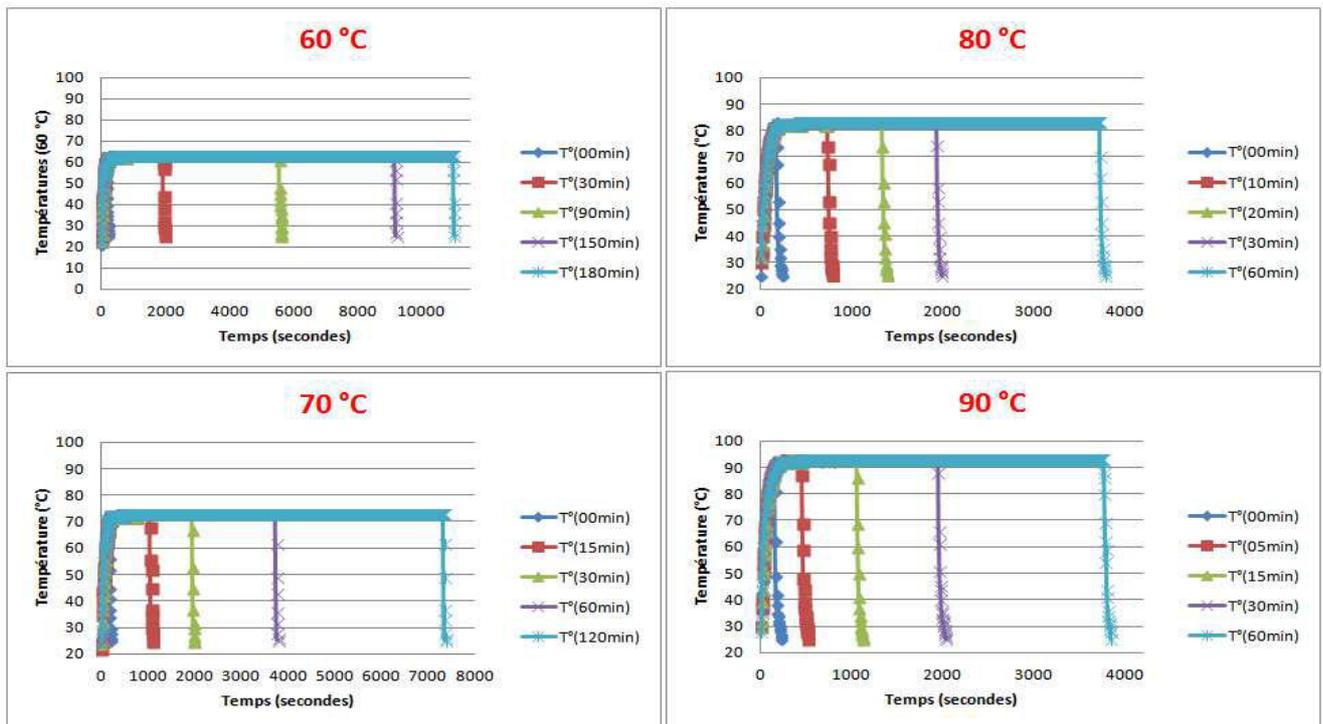


Figure 8 : Profil des historiques thermiques obtenu sur le jus d'orange sanguine traité à différentes couples temps-températures.

La figure 8 présente les historiques thermiques qui donnent une idée explicative sur les trois étapes caractéristiques des traitements thermiques (montée en température ; palier et refroidissement). Le suivi de l'évolution de la température en fonction de temps nous a permis d'obtenir les quatre historiques thermiques selon les quatre températures étudiées (60 °C, 70°C, 80°C, 90°C) pour le jus frais et fortifié, qui expliquent les températures enregistrées à coeur du jus (dans le tube) et les phénomènes et les temps de transfert de chaleur (un temps qui a été minimisé par utilisation des tubes en pyrex dont la paroi du verre est fine) du milieu chauffant (le bain marie) vers la matrice à chauffer (le jus).

Les résultats des historiques thermiques pour le jus frais et fortifié étaient identiques, ce qui explique que la température évolue de la même façon dans les deux jus.

IV.1.2. Le barème et les valeurs pasteurisatrices

Tableau V: les barèmes et les valeurs pasteurisatrices du jus d'orange frais et fortifié par l'acide ascorbique à 60 et 70°C pour tous les temps d'exposition.

60°C			70°C		
Temps (min)	Barème de pasteurisation	Valeurs pasteurisatrices	Temps (min)	Barème de pasteurisation	Valeurs pasteurisatrices
0	1min+55s	0,5	0	2min+25s	0,62
30	32min+5s	5,76	15	17min+30s	27,93
90	92min+25s	17,73	30	32min+25s	57,94
150	152min+35s	29,68	60	62min+25s	117,72
180	182min+35s	35,67	120	122min+20s	237,37

Tableau VI: les barèmes et les valeurs pasteurisatrices du jus d'orange frais et fortifié par l'acide ascorbique à 80 et 90°C pour tous les temps d'exposition.

80°C			90°C		
Temps (min)	Barème de pasteurisation	Valeurs pasteurisatrices	Temps (min)	Barème de pasteurisation	Valeurs pasteurisatrices
0	2min+75s	10,14	0	2min+35s	50,89
10	12min+20s	179,91	5	7min+35s	939,95
20	22min+20s	379,27	15	17min+45s	2917,94

30	32min+15s	577,27	30	32min+40s	5801,76
60	62min+15s	1175,72	60	63min+5s	11793,38

D'après les deux tableaux , on remarque que :

- Plus le temps du palier augmente plus la valeur pasteurisatrice augmente par conséquent la composition chimique des produits sera affectée (catalyse, des laissons...).
- La température suivie à cœur est homogène pour tous les temps d'exposition pour chaque température de traitement appliquée.

Le choix de barème de pasteurisation tient compte du couple temps/température ,qui a une importance sur le niveau de destruction des microorganismes ,mais surtout le comportement thermolabile de la composition des produits alimentaires (le jus).

IV.2. Caractérisation physico-chimique du jus d'orange sanguine frais et fortifié

Les résultats des différents paramètres physico-chimiques du jus d'orange sanguine frais et fortifié par 100 mg d'acide ascorbique à l'état non traité sont résumés dans le tableau VI.

Tableau VI: La composition chimique du jus d'orange sanguine frais et fortifié avec l'acide ascorbique (100mg/L de jus) à l'état non traité.

Paramètres analysés	Jus frais	Jus fortifié
Ph	3,520±0,005a	3,450±0,015b
Matière sèche (%)	14,00±1,73a	11,66±0,57b
Brix (°Brix)	13,26±0,28a	12,84±0,58a
Acidité titrable (g / 100g)	1,059±0,008b	1,130±0,015a
Anthocyanes (mg/l)	116,30±11,40a	121,17±10,88a

Toutes les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois essais (n=3).

Les valeurs désignées par les lettres présentent des différences significatives ($p < 0,05$).

Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b$.

Les résultats qui portent la même lettre ne présentent pas de différences significatives.

Les barres verticales représentent les écarts types.

Le résultat du pH du jus d'orange sanguine frais (3,52) est supérieur à celui obtenu par (Kelebek, Canbas, & Selli, 2008) (3,05) et proche du pH trouvé par (Kirca & Cemeroğlu, 2003) qui est de (3,44).

L'acidité titrable du jus d'orange sanguine frais (1,059) est proche de celle trouvée par (Barbagallo, Palmeri, Fabiano, Rapisarda, & Spagna, 2007) qui est de (1,09 g d'acide/100g).

L'analyse statistique a révélé une différence significative ($p < 0,05$) pour le pH (3,44) et l'acidité titrable (1,13 g d'acide/100g) entre le jus frais et le jus fortifié avec l'acide ascorbique (100 mg/L de jus), cela est vraisemblablement due à l'acidité apportée par l'acide ascorbique.

Toutefois, on note que les teneurs en matières solubles du jus frais (13,26° Brix) est supérieure à celles données par (Kirca & Cemeroğlu, 2003) et au voisinage de celle obtenues par (Kirca & Cemeroğlu, 2003), qui sont de 11,20 et 12,60 respectivement, cela peut être expliqué par la richesse de la variété étudiée en pulpe.

La fortification par l'acide ascorbique (à 100 mg/L de jus) n'a pas montré une différence significative pour le°Brix (12,84) par rapport au jus frais (12,26), alors que la teneur en matière sèche du jus d'orange sanguine frais (14%) est significativement supérieure à celle du jus fortifié (11,66), cela est due probablement aux erreurs instrumentales ou de manipulateurs, car il y a pas de cohérence entre le résultat du Brix et celui de la matière sèche.

La teneur en anthocyanes du jus d'orange sanguine frais (116,30mg/l) est largement supérieure à celle donnée par (Kelebek, Canbas, & Selli, 2008) qui est de (43,07mg/l) et elle est proche de celle trouvée par (Cisse, Vaillant, Acosta, Dhuique-Mayer, & Dornier, 2009) et (Kirca & Cemeroğlu, 2003) (98,00 et 87,40 mg/l respectivement), ceci peut s'expliquer par des caractéristiques variétales ou saisonnières de l'échantillon analysé (Vierling, 2008).

Le jus d'orange sanguine fortifié par l'acide ascorbique (100mg/L de jus) n'a pas montré de différences significatives par rapport à l'état frais pour la teneur en anthocyanes (121,26mg/l), cela montre qu'à l'état frais l'acide ascorbique n'a pas d'effet sur la concentration en anthocyanes.

III.3. Effet des traitements thermique sur les paramètres physico-chimique du jus d'orange sanguine frais et fortifié

IV.3.1. Evolution du pH du jus frais et fortifié

L'évolution du pH du jus d'orange frais et fortifié avec acide ascorbique (100mg) lors des différents traitements thermiques est présentée dans la figure 9.

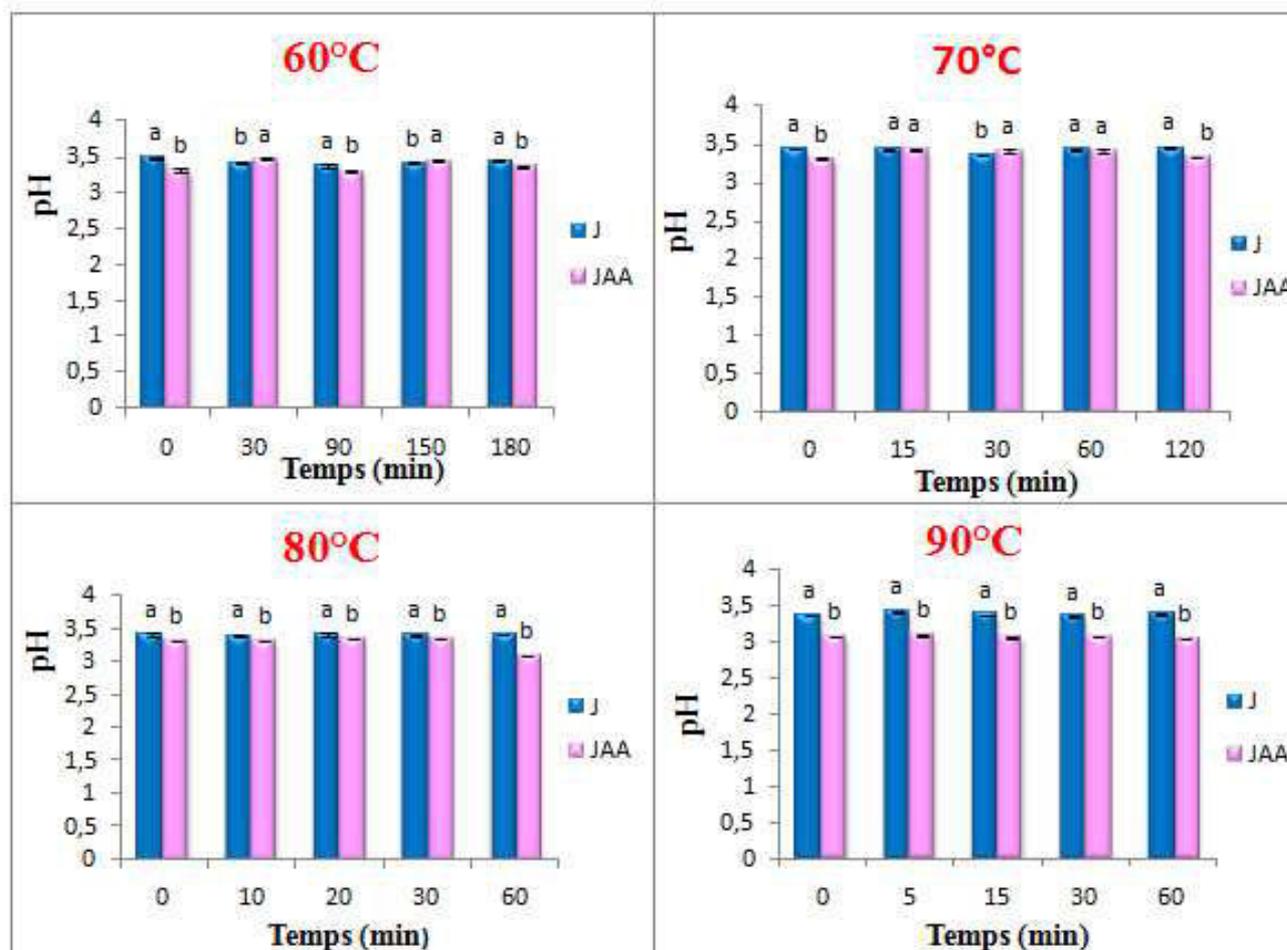


Figure 9: Evolution du pH du jus frais et fortifié par l'acide ascorbique à différentes températures.

Toutes les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois essais ($n=3$).
 Les valeurs désignées par les lettres présentent des différences significatives ($p<0,05$).
 Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a>b$.
 Les résultats qui portent la même lettre ne présentent pas différences significatives.
 Les barres verticales représentent les écarts types.

Selon les quatre histogrammes présentés, l'application des traitements thermiques sur les jus d'oranges sanguines frais montre un pH stable pour toutes les températures, à l'exception du

traitement (60°C/30 et 150min) et (70°C/30min) ou, on remarque une légère diminution ,qui est aussi obtenue par **(Buckow, Kastell, Terefe, & Versteeg, 2010)** dans le jus de myrtille,cette diminution peut etre expliquée par des erreurs de determination (personnelles ou instrumentales).

Une difference significative est constaté pour le pH entre le jus frais et fortifié pour toutes les températures. une diminution du pH après forftification est enregistré à (60°C/ 0, 90 et 180min), à (70°C/0 et 120min) et à (80 et 90°C) à tous les temps d'exposition et une augmentation significative à (60°C/30 et 150min) et à (70°C/ 30min), cela est probablement due à l'ajout d'acide ascorbique (diminution du pH) oubien à la formation de composé à fonction basique lors du traitement thermique (élévation de pH).

IV.3.2. Evolution de l'acidité titrable du jus frais et fortifié

L'acidité est un paramètre qui estime la teneur en acide organique libres dans un aliment. Son évolution dans les deux types de jus lors des différents traitements thermiques est présentée dans la figure 10.

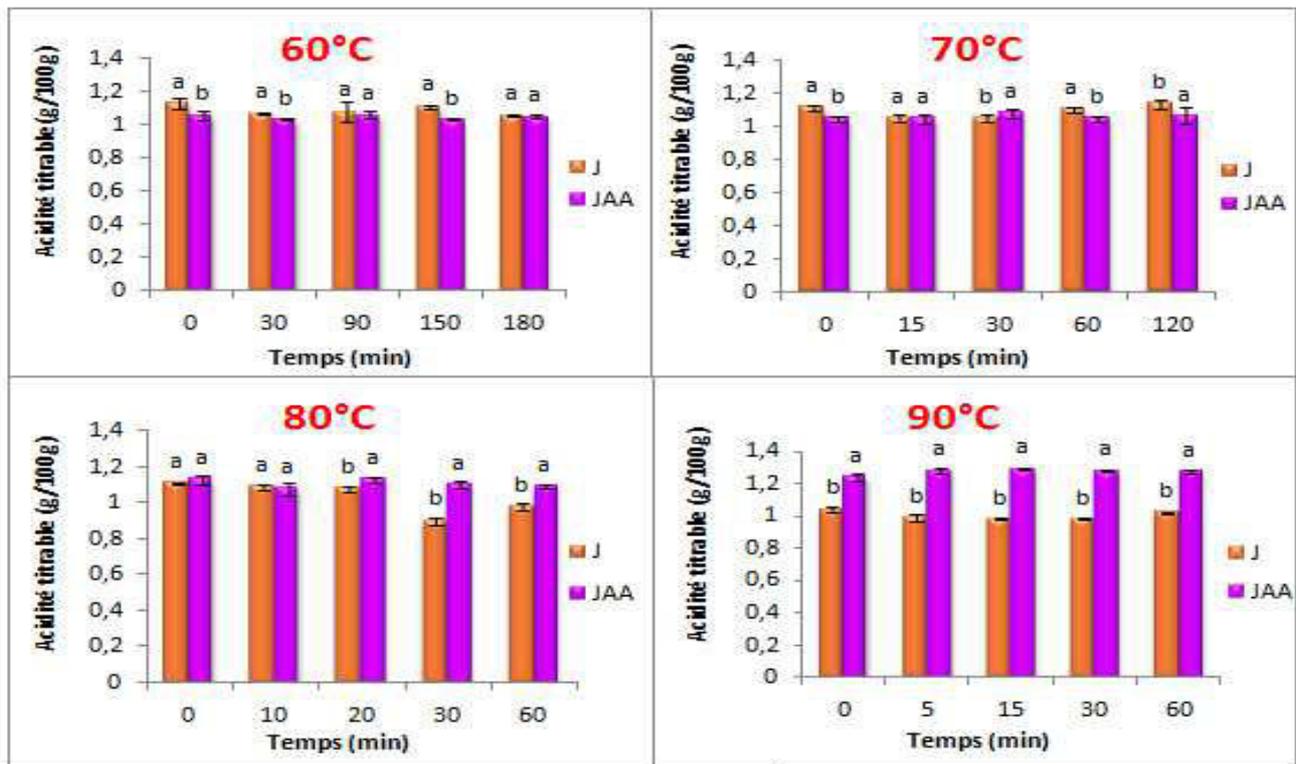


Figure 10: Evolution de l'acidité titrable du jus frais et fortifié par acide ascorbique à différentes températures.

Toutes les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois essais ($n=3$).
 Les valeurs désignées par les lettres présentent des différences significatives ($p<0,05$).
 Les Résultats sont classés par ordre décroissant : $a>b$.
 Les résultats qui portent la même lettre ne présentent pas différences significatives.
 Les barres verticales représentent les écarts types.

Dans le jus frais (selon la figure 10), l'acidité titrable a été majoritairement stable pour les températures 60 et 70°C. Parallelement aux résultats donnés par (Cabrera, Jang, Kim, Lee, Lee, Chung, et al., 2009; Chen, Xi, Guo, Qin, Pang, Hu, et al., 2013) lorsqu'ils ont étudié l'effet des traitements thermiques sur l'acidité du jus de grenade et de raisin respectivement, une diminution significative de l'acidité titrable est observée la température augmente de 80 à 90°C.

La figure 10 montre aussi qu'il y a une différence significative pour l'acidité titrable entre le jus frais et fortifié. Lorsque la température augmente, les écarts augmentent, c'est le cas pour (70°C/ 30 et 120 min), (80°C/ 20, 30 et 60 min) et pour (90 °C/ à tous les temps) où les écarts sont les plus importants. Ces différences sont peut être engendrées par les traitements thermiques qui provoquent des hydrolyses responsables de la libération des acides libres (ie : acide pyruvique, acide citrique...).

Par contre, l'acidité titrable du jus frais est significativement supérieure à celle du jus fortifié à (60°C/0, 30, 150 min) et à (70°C/0, 60 min) suite à l'effet de ces traitements thermiques qui peuvent provoquer des hydrolyses libérant ainsi des bases.

IV.3.3. Evolution du °Brix du jus frais et fortifié

Le °Brix de jus frais et fortifié avec acide ascorbique (100mg) lors les différents traitements thermiques présentés dans la figure 11.

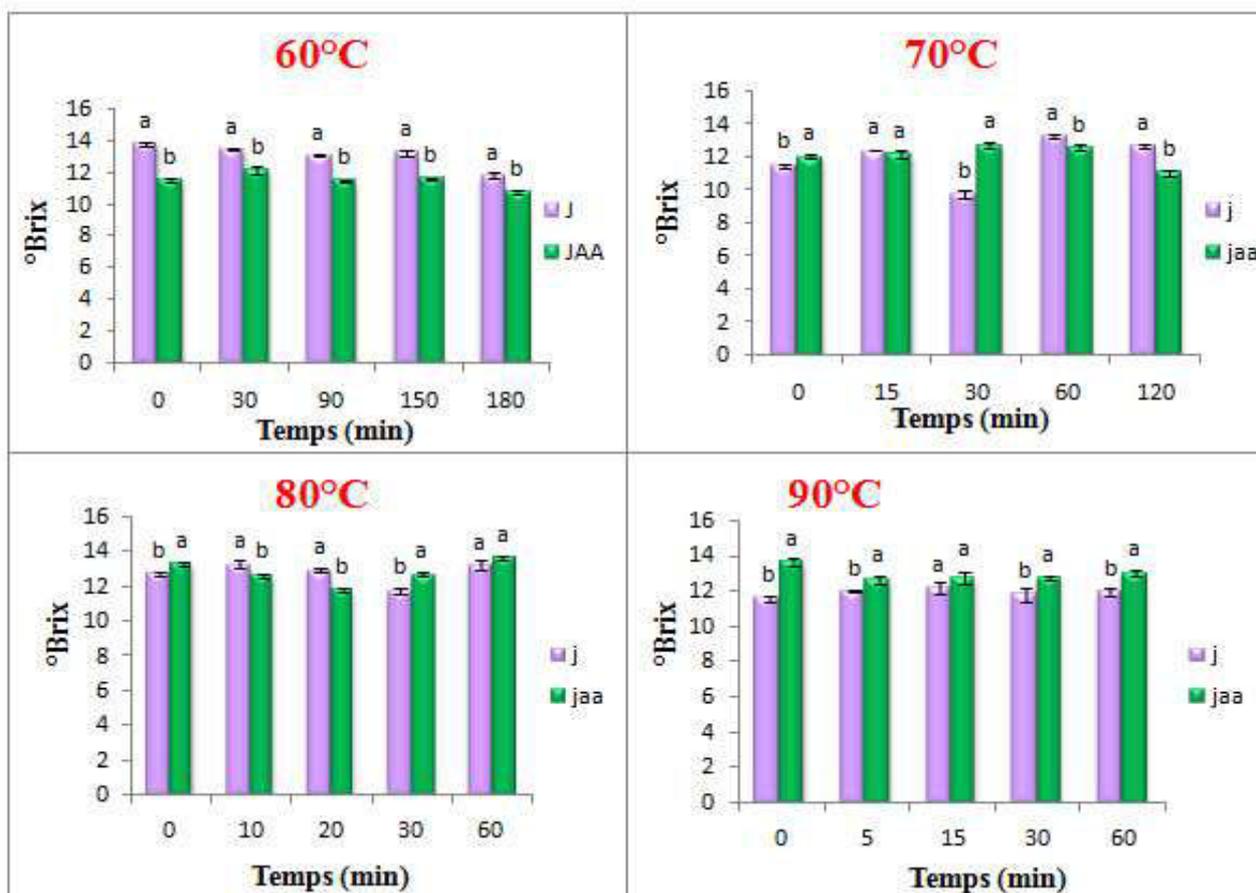


Figure 11: Evolution de °Brix du jus frais et fortifié par acide ascorbique à différentes températures.

Toutes les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois essais (n= 3).
 Les valeurs désignées par les lettres présentent des différences significatives (p<0,05).
 Les résultats sont classés par ordre décroissant : a>b.
 Les résultats qui portent la même lettre ne présentent pas différences significatives.
 Les barres verticales représentent les écarts types.

Le comportement du Brix à différentes températures est variables; une stabilité à 60°C et une importante diminution à 90°C. Selon la composition en matières solubles augmentent jusqu'à 80°C et puis diminue lorsque la température atteint 90°C cela peut être expliqué par l'effet néfaste de la haute température sur les composés solides solubles du jus de raisins constaté par (Flora, 1979).

Concernant la comparaison entre le jus frais et fortifié, les quatre histogrammes présentés ci-dessus montrent qu'il y a une différence significative entre les différentes températures du même jus.

On remarque que lorsque la température augmente, le °Brix augmente, cela est dû à la fortification, en prenant en considération le Brix de l'acide ascorbique. C'est le cas pour 70 et 80°C à t= 0 et 30 min et à tous les temps d'exposition pour 90°C.

La diminution du °Brix de jus fortifié à (60°C/60 min), à (70°C/ 60 et 120 min) et à (80°C/ 10 et 20 min) peut s'expliquer par la différence des indices de réfraction entre les molécules mesurées.

IV.3.4. Evolution de la matière sèche du jus frais et fortifié

Le degré brix de jus frais et fortifié avec acide ascorbique (100mg) lors les traitements thermiques sont présentés dans la figure 12.

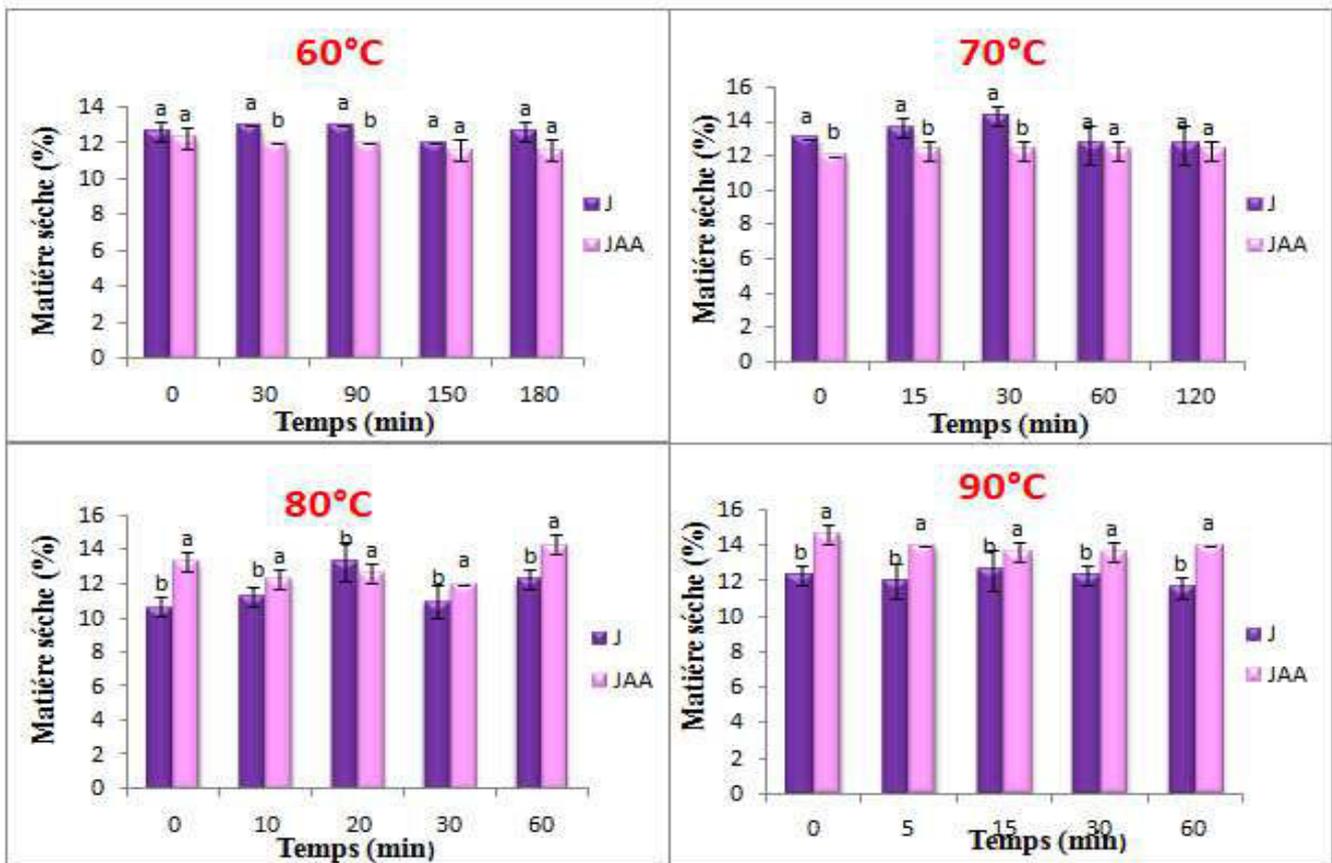


Figure 12: Evolution de la matière sèche du jus frais et fortifié acide ascorbique à différentes températures.

Toutes les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois essais (n= 3).
 Les valeurs désignées par les lettres présentent des différences significatives (p<0,05).
 Les résultats sont classés par ordre décroissant : a>b,
 Les résultats qui portent la même lettre ne présentent pas différences significatives.
 Les barres verticales représentent les écarts types.

La matière sèche du jus d'orange sanguine frais a montré une stabilité pour les températures 60°C et 70°C, et une diminution significative à haute température 80°C et 90°C. Cela peut s'expliquer par l'effet négatif de l'augmentation de la température sur la teneur en matière sèche.

Comme l'illustre la figure 12, des différences significatives en matières sèches sont observées entre le jus frais et fortifié dans chaque couple temps/température.

Toutefois, une diminution de la matière sèche a été remarquée à (60°C/ 90,30min) et à (70°C / 0, 15 et 30, min), qui peut être expliquée par l'évaporation de certains composés lors du séchage (105°C).

Contrairement aux deux premières températures, on note une augmentation de la matière sèche à 80 et 90°C à tous les temps d'exposition, probablement due à la quantité de la pulpe prélevée.

IV.4. Effet des traitement thermiques sur la teneur anthocyanique du jus d'orange sanguine frais et fortifié

l'évolution de la teneur en anthocyanes lors les différentes températures et temps d'exposition de jus frais et fortifié avec acide ascorbique (100mg) deux types de jus sont présenté dans la figure13.

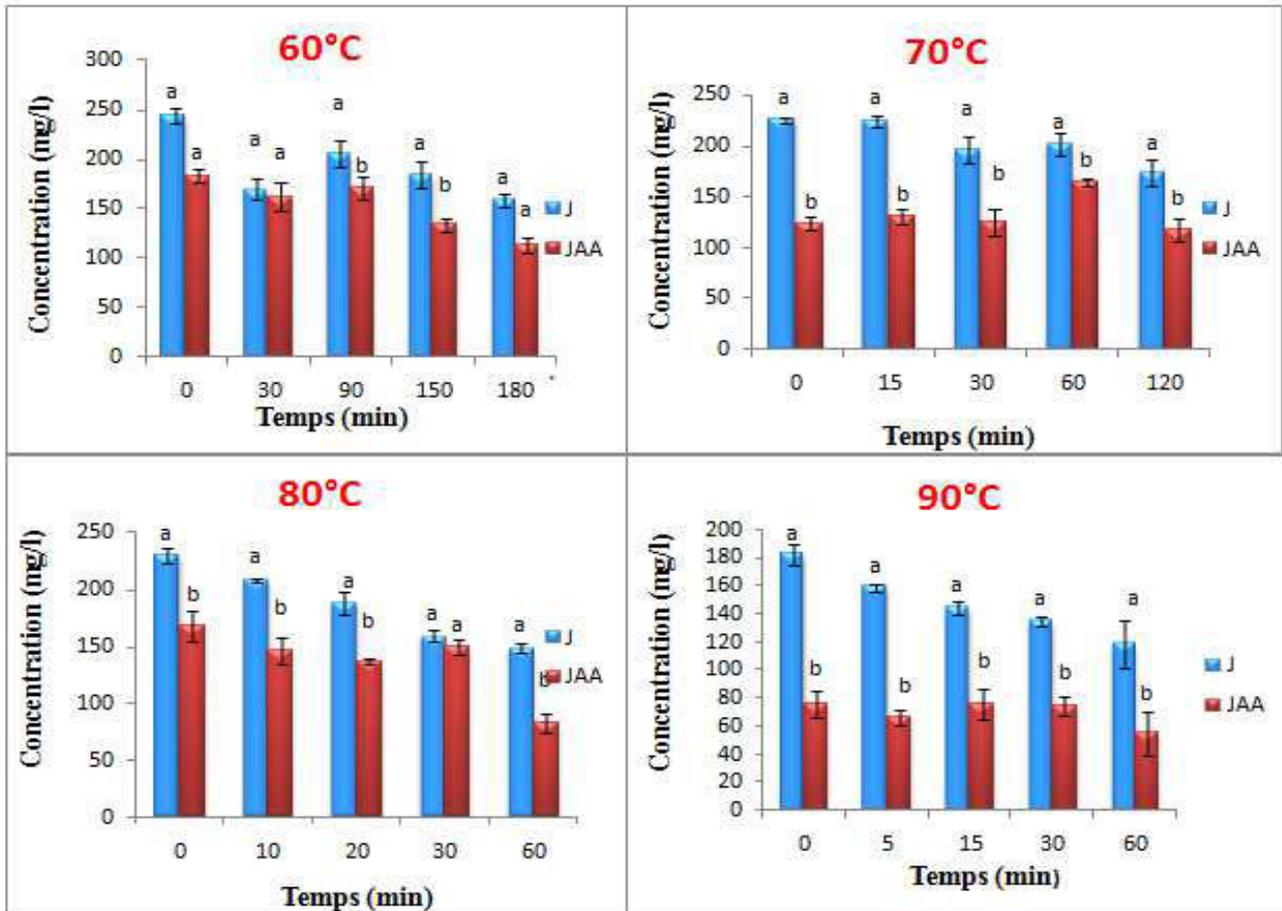


Figure13 : Evolution des anthocyanes de jus frais et fortifié par acide ascorbique à différentes températures.

Toutes les valeurs sont exprimées par la moyenne de trois essais (n= 3).
 Les valeurs désignées par les lettres présentent des différences significatives (p<0,05).
 Les résultats sont classés par ordre décroissant : a>b.
 Les résultats qui portent la même lettre ne présentent pas différences significatives.
 Les barres verticales représentent les écarts types.

D'après la figure 13, qui résume l'évolution de la teneur en anthocyanes dans le jus frais et fortifié en fonction des traitements thermiques et à différents temps, on constate :

- Pour le jus frais, on a remarqué qu'il y a une dégradation mais pas significative pour toutes les températures, Cette dégradation peut s'expliquer par la sensibilité des anthocyanes de la variété d'orange étudiée (orange d'El Kseur, Algérie) aux traitements thermiques.

Ces résultats sont aussi obtenus par plusieurs auteurs (**Kirca & Cemeroglu, 2003**), (**Shao-qian, Liang, & Si-yi, 2011**), (**Cao, Liu, & Pan, 2011**), (**Barbagallo, Palmeri, Fabiano, Rapisarda, & Spagna, 2007**; **Dugo, Mondello, Morabito, & Dugo, 2003**; **Kelebek, Canbas, & Selli, 2008**).

La diminution de la teneur en anthocyane de la variété étudiée à 60 et 70°C est soit d'origine enzymatique ou thermique. Cependant, de légères augmentations de la teneur en anthocyanes aux couples température-temps (60°C/90 et 150min) et à (70°C/60min) est enregistré, due probablement à la lyse des vacuoles et à la libération de molécules d'anthocyanes. A 80 et 90°C, une dégradation plus importante est enregistré suite à l'effet du traitement thermique appliqué.

-Pour le jus fortifié, on remarque une dégradation significative pour les concentration en anthocyanes par rapport au jus frais traité lors des différentes températures appliquées, cependant, la dégradation des anthocyanes du jus fortifié commence à apparaître pour le couple (60°C/90min) cette dégradation en anthocyanes continue à baisser pour 70°C et 80°C, alors qu'une diminution des valeurs minimales pour la température (90°C) à tout les temps d'exposition, cela peut être due au rôle négatif de l'acide ascorbique sur les anthocyanes qui accélère leur dégradation lors des traitements thermique et le stockage comme a été expliqué par (**Kaack & Austed, 1998**), ce dernier peut générer du peroxyde d'hydrogène générateur de radicaux libres néfastes aux anthocyanes qui, par polymérisation peuvent donner un précipité brun résineux.

CONCLUSION



Conclusion

L'exposition des jus d'oranges (variété *Sanguinilli*) frais et fortifiés avec l'acide ascorbique aux différents couples temps-températures, laisse voir que les anthocyanes et les paramètres physico-chimiques suivis présentent des comportements variables.

Pour le jus frais traité thermiquement, les paramètres physico-chimiques ont montré une variabilité dans certaines couples temps-température, alors que les anthocyanes ont présenté une légère diminution dans leurs concentrations avec les différents traitements thermiques appliqués. On note que ces concentrations tendent à diminuer à 80°C et 90°C.

Pour un même produit-source, l'effet de la température sur les anthocyanes peut varier selon, le degré de fraîcheur, la composition du produit, la nature des anthocyanes, le pH, le Brix, l'humidité, la lumière, ...

Les paramètres physico-chimiques des jus fortifiés traités thermiquement et non-fortifié ont montré une légère variabilité dans toutes les températures et les durées d'expositions, par contre la teneur en anthocyanes a diminué d'une façon remarquable par rapport au jus frais, on a noté des valeurs minimal dans les hautes températures (70, 80,90°C).

La fortification du jus d'orange sanguine par l'acide ascorbique a démontré que ce dernier peut avoir différents rôles dans la stabilité des anthocyanes. Nos résultats montrent que la dégradation des anthocyanes est accélérée par la présence de l'acide ascorbique.

Ceci souligne à quel point il est difficile d'isoler l'effet de la température et la fortification avec l'acide ascorbique des autres paramètres physico-chimiques mais aussi à quel point, il est crucial de le maîtriser et de l'optimiser dans les procédés agro-alimentaires, pharmaceutique et cosmétique, là où les anthocyanes sont utilisées...et elles le sont de plus en plus !

Néanmoins, dans notre travail nous avons juste étudiée une seule variété. Pour cela et afin d'améliorer beaucoup plus la compréhension de dégradation des anthocyanes, il serait intéressant :

-  D'élargir l'étude sur d'autres variétés ;
-  De varier les doses de fortification en acide ascorbique pour mieux confirmer le rôle négatif sur les anthocyanes de la variété étudiée et d'autres variétés ;

- ✚ D'utiliser des techniques d'analyse développées (HPLC, RMN...) afin de caractériser les composés initialement suivi ou les éventuels composés de dégradation pour en définir par la suite des mécanismes réactionnels de dégradation fiables.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Morris, A., Baron, M., & Shahidi, F. (2005). Comparison of antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, and phenolics of three native fresh and sun-dried date (*Phoenix dactylifera* L.) varieties grown in Oman. *Journal of agricultural and food chemistry*, **53(19)**, 7592-7599.

Anonyme 1 WWW.tela-botanica.org.2011.

AOAC. (2005). Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines.

B

Barbagallo, R., Palmeri, R., Fabiano, S., Rapisarda, P., & Spagna, G. (2007).

Characteristic of β -glucosidase from Sicilian blood oranges in relation to anthocyanin degradation. *Enzyme and microbial technology*, **41(5)**, 570-575.

Benaiche, J. (2001). Jus d'orange concentré: extraction et conservation: Ed. Techniques Ingénieur. 15P

Berlinet, C. (2006). Etude de l'influence de l'emballage et de la matrice sur la qualité du jus d'orange. Thèse DOCTORAT. AgroParisTech. P 224.

Bimbenet, J.-J., Duquenoy, A., & Trystram, G. (2002). Génie des procédés alimentaires: des bases aux applications: Dunod.

Brat, P. (2001). Application du procédé de flash-détente (P) sous vide aux fruits tropicaux et méditerranéens pour la préparation de purées et huiles essentielles. Université de la Réunion.

Brouillard, R., Chassaing, S., Isorez, G., Kueny-Stotz, M., & Figueiredo, P. (2010). The visible flavonoids or anthocyanins: from research to applications. *Recent advances on polyphenol research*, **2**, 1-22.

Buckow, R., Kastell, A., Terefe, N. S., & Versteeg, C. (2010). Pressure and temperature effects on degradation kinetics and storage stability of total anthocyanins in blueberry juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, **58(18)**, 10076-10084.

C

- Cabrera, S. G., Jang, J. H., Kim, S. T., Lee, Y. R., Lee, H. J., Chung, H. S., & Moon, K. D. (2009).** Effects of processing time and temperature on the quality components of Campbell grape juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, **33(3)**, 347-360.
- Cao, S.-q., Liu, L., & Pan, S.-y. (2011).** Thermal Degradation Kinetics of Anthocyanins and Visual Color of Blood Orange Juice. *Agricultural Sciences in China*, **10(12)**, 1992-1997.
- Cao, S.-q., Pan, S.-Y., Yao, X.-L., & Fu, H.-F. (2010).** Isolation and purification of anthocyanins from blood oranges by column chromatography. *Agricultural Sciences in China*, **9(2)**, 207-215.
- Cassano, A., Marchio, M., & Drioli, E. (2007).** Clarification of blood orange juice by ultrafiltration: analyses of operating parameters, membrane fouling and juice quality. *Desalination*, **212(1)**, 15-27.
- Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. d. L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009).** Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food chemistry*, **113(4)**, 859-871.
- Cavalcanti, R. N., Santos, D. T., & Meireles, M. A. A. (2011).** Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems an overview. *Food Research International*, **44(2)**, 499-509.
- Cheel, J., Theoduloz, C., Rodríguez, J. A., Caligari, P. D., & Schmeda-Hirschmann, G. (2007).** Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *Chiloensis*, *F. vesca* and *F. x ananassa* cv. Chandler. *Food chemistry*, **102(1)**, 36-44.
- Chen, D., Xi, H., Guo, X., Qin, Z., Pang, X., Hu, X., Liao, X., & Wu, J. (2013).** Comparative study of quality of cloudy pomegranate juice treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. Article in press.
- Cisse, M., Vaillant, F., Acosta, O., Dhuique-Mayer, C., & Dornier, M. (2009).** Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, blackberry, and roselle using the Arrhenius, Eyring, and Ball models. *Journal of agricultural and food chemistry*, **57(14)**, 6285-6291.

Corrales Moreno, M. (2008). Optimal extraction and technological revalorisation of bioactive polyphenols from grape pomace. Universitätsbibliothek.

D

Dominguez, A. (2002). Caractérisation et optimisation de la flaveur du jus d'orange non fait de concentré. Thèse DOCTORAT. Université Laval.

Dugo, P., Mondello, L., Morabito, D., & Dugo, G. (2003). Characterization of the anthocyanin fraction of Sicilian blood orange juice by micro-HPLC-ESI/MS. *Journal of agricultural and food chemistry*, **51(5)**, 1173-1176.

F

Flora, L. (1979). Optimum quality parameters of muscadine grape juices, beverages, and blends. *Journal of Food Quality*, **2(3)**, 219-229.

G

Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, **15(12)**, 8813-8826.

Ghosh, D., & Konishi, T. (2007). Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, **16(2)**, 2007.

Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, **14(3)**, 217-225.

H

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

Hillebrand, S., Schwarz, M., & Winterhalter, P. (2004). Characterization of anthocyanins and pyranoanthocyanins from blood orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, **52(24)**, 7331-7338.

K

Kaack, K., & Austed, T. (1998). Interaction of vitamin C and flavonoids in elderberry (*Sambucus nigra* L.) during juice processing. *Plant Foods for Human Nutrition*, **52(3)**, 187-198.

Kato, I., Akhmedkhanov, A., Koenig, K., Toniolo, P. G., Shore, R. E., & Riboli, E. (1997). Prospective study of diet and female colorectal cancer: the New York University Women's Health Study.

Kelebek, H., Canbas, A., & Selli, S. (2008). Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) grown in Turkey. *Food chemistry*, **107(4)**, 1710-1716.

Kevin Gould , Kevin Davies , & Winefield, C. (2009). *Anthocyanins Biosynthesis, Functions, and Applications*. éd: springer.

Khaled Khodja , Y. (2008). Etude de l'activité antioxydante des jus et pulpes de quelques variétés d'orange de la région de Bejaia. These MAGISTER. Université Abderrahmane Mira.

Kimball, D. A. (1999). *Citrus processing: a complete guide*: Aspen Gaithersburg, MD.

Kirca, A., & Cemeroglu, B. (2003). Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food chemistry*, **81(4)**, 583-587.

Kong, J.-M., Chia, L.-S., Goh, N.-K., Chia, T.-F., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, **64(5)**, 923-933.

Kopjar, M., Piližota, V., Šubarić, D., & Babić, J. (2009). Prevention of thermal degradation of red currant juice anthocyanins by phenolic compounds addition. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, **1(1)**, 24-30.

Kuti, J. O. (2004). Antioxidant compounds from four *Opuntia cactus* pear fruit varieties. *Food chemistry*, **85(4)**, 527-533.

L

Lee, H., Carter, R., Barros, S., Dezman, D., & Castle, W. (1990). Chemical characterization by liquid chromatography of Moro blood orange juices. *Journal of food composition and analysis*, **3(1)**, 9-19.

Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC international*, **88(5)**, 1269-1278.

M

Macheix, J., Fleuriet, A., & Jay-Allemand, C. (2006). Les composés phénoliques des végétaux. *SCIENCES DES ALIMENTS*, **26**, 189-190.

Malien-Aubert, C., Dangles, O., & Amiot, M. J. (2001). Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra-and intermolecular copigmentation. *Journal of agricultural and food chemistry*, **49(1)**, 170-176.

Messaid, H. (2008). Optimisation du processus d'immersion-rehydratation du système dattes seches-jus d'orange. Thèse MAGISTER. Université M'hamed Bougura Boumerdes.p 74.

Mondello, L., Cotroneo, A., Errante, G., Dugo, G., & Dugo, P. (2000). Determination of anthocyanins in blood orange juices by HPLC analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, **23(1)**, 191-195.

N

Neill, S. O. (2002). The functional role of anthocyanins in leaves. ResearchSpace@

Auckland.

NF V05-101 1974. Production dérivés des fruits et légumes.101.

Nkhili, E.Z. (2009). Polyphénols de l'Alimentation: Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. P 328.

O

Oren-Shamir, M. (2009). Does anthocyanin degradation play a significant role in determining pigment concentration in plants? *Plant Science*, **177(4)**, 310-316.

P

Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., & Tiwari, B. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*, **21(1)**, 3-11.

R

Rapisarda, P., Carollo, G., Fallico, B., Tomaselli, F., & Maccarone, E. (1998). Hydroxycinnamic acids as markers of Italian blood orange juices. *Journal of agricultural and food chemistry*, **46(2)**, 464-470.

Rapisarda, P., Fanella, F., & Maccarone, E. (2000). Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juices. *Journal of agricultural and food chemistry*, **48(6)**, 2249-2252.

Rein, M. (2005). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. University of Helsinki.1-38.

S

Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., de Ancos, B., & Cano, M. P. (2003). Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **83(5)**, 430-439.

Shao-qian, C., Liang, L., & Si-yi, P. (2011). Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual color of blood orange juice. *10(12)* 207-215.

Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, **15(1)**, 19-38.

T

Titta, L., Trinei, M., Stendardo, M., Berniakovich, I., Petroni, K., Tonelli, C., Riso, P., Porrini, M., Minucci, S., & Pelicci, P. (2009). Blood orange juice inhibits fat accumulation in mice. *International journal of obesity*, **34(3)**, 578-588.

Turker, N., Aksay, S., & Ekiz, H. I. (2004). Effect of storage temperature on the stability of anthocyanins of a fermented black carrot (*Daucus carota* var. L.) beverage: Shalgam. *Journal of agricultural and food chemistry*, **52(12)**, 3807-3813.

V

Valls, J., Millán, S., Martí, M. P., Borràs, E., & Arola, L. (2009). Advanced separation methods of food anthocyanins, isoflavones and flavanols. *Journal of Chromatography A*, **1216(43)**, 7143-7172.

Vera de Rosso, V & Mercadante, A. Z. (2007). Evaluation of colour and stability of anthocyanins from tropical fruits in an isotonic soft drink system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **8(3)**, 347-352.

Verge, S., Soulet, S., Lacan, F., Mas, T., Arnaudinaud, V., Nay, B., Castagnino, C., Delaunay, J., Cheze, C., & Monti, J. (1999). Les polyphénols, du vin: de la chimie pour la vie. *bulletin-societe de pharmacie de bordeaux*, **138(1/4)**, 75-90.

Vierling, E. (2008). *Aliments et boissons: filières et produits*: Wolters Kluwer France.

W

Willig, J. A. (2009). The effect of anthocyanin acylation on the inhibition of ht-29 colon cancer cell proliferation. The Ohio State University.

Wrolstad, R. E., Durst, R. W., Giusti, M. M., & Rodriguez-Saona, L. E. (2002). Analysis of anthocyanins in nutraceuticals. In *ACS Symposium Series*, vol. **803** (pp. 42-62): ACS Publications.

Wrolstad, R. E., Durst, R. W., & Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology*, **16(9)**, 423-428.

γ

Yahlaoui, N. (2012). Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyapatite et charbon actif. Thèse MAGISTER, University Mouloude Mammeri Tizi ousou 115.

ANNEXES

Tableau III : les principale categories de l'orange douce.

Oranges <i>Citrus Sinensis</i> (L.) Osbeck			
Catégorie	Variété	Lieu de production	Utilisation principale
Navels	Bahianinha	Brésil	Fruits de bouche
	Navelate	Espagne, Maroc, Afrique du Sud	
	Naveline	Espagne, Portugal, Maroc	
	Washington ou Bahia	Brésil, Californie, Floride, Mexique, Région Méditerranéenne	
Blondes	Valencia	Espagne, Argentine, Australie, Californie, Floride, Maroc, Afrique du Sud, Uruguay, Brésil, Israël	Jus
	Pera	Brésil	Jus
	Pineapple	Floride, Argentine, Brésil, Mexique, Inde	Jus
	Hamlin	Brésil, Floride, Maroc, Turquie, Chine	Jus et Fruits de bouche
	Shamouti	Israël, Turquie, Afrique du Sud, Egypte, Chine, Inde	Fruits de bouche
Sanguines	Maltaise	Tunisie, Maroc	Fruits de bouche
	Moro	Italie, Sicile	Jus
	Sanguinelli	Espagne	Fruits de bouche
Douceâtres	Succari	Egypte	Fruits de bouche
	Lima	Brésil	Fruits de bouche

✚ Matériel et Appareils utilisés au cours de l'expérimentation :

Balance de précision



Thermocouple COOKING THERMO-TIMER



Bain marie agitateur MEMMERT 8L



Dissicature



Réfractomètre (ABBE Type refractomètre AR12)



Spectrophotomètre (scan 50)



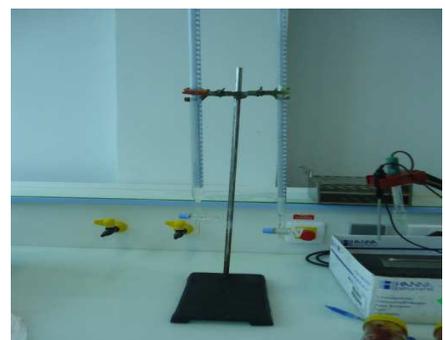
PH mètre (HANNA)



Centrifugeuse SIGMA 2-16 PK



Burette de 100 ml



Résumé

Le présent travail porte sur l'étude de l'impact de la fortification du jus d'orange sanguine (*Citrus sinensis* L ; Osbeck) variété *sanguinilli* par l'acide ascorbique sur les teneurs en anthocyanes et les paramètres physico-chimiques (pH, Brix, matière sèche et l'acidité titrable) lors d'un procédé de transformation thermique (la pasteurisation) à différentes couples temps-températures. Les résultats obtenus ont montré deux faits marquants : une légère diminution de la teneur en anthocyanes du jus frais traité proportionnelle à la température et au temps d'exposition et une influence de la fortification de jus d'orange sanguine étudié par l'acide ascorbique sur les anthocyanes ainsi qu'une variabilité de leur paramètres physico-chimiques.

Mots-clés : *Sanguinelli*, anthocyanes, traitement thermique, acide ascorbique.

Abstract

This work focuses on the study of the impact of ascorbic acid fortification in blood orange juice (*Citrus sinensis* L; Osbeck) *sanguinilli* variety on the levels of anthocyanins and physico-chemical parameters (pH, Brix, solids and titratable acidity) in a thermal processing methods (pasteurization) at different time-temperature couples. The results showed two highlights: a slight decrease in the anthocyanin content of fresh juice treated proportional to the temperature and the exposure time and the influence of the ascorbic acid fortification in blood orange juice studied on anthocyanins and a variability of their physical and chemical parameters.

Keywords: *sanguinilli*, anthocyanins, thermal processing, ascorbic acid.

ملخص :

يركز هذا العمل على دراسة تأثير تقوية عصير البرتقال الدموي (الحمضيات سينينسيس أل؛ أسبيك) نوعية سنقيلي بحمض الاسكوربيك على محتويات الأنثوسيانين والمعلومات الفيزيائية والكيميائية (درجة الحموضة، برقس ، المادة الجافة والحموضة) أثناء عملية المعالجة الحرارية في درجات حرارية وأوقات مختلفة. و من أبرز ما أظهرته النتائج : انخفاض طفيف في محتوى الأنثوسيانين لدى عصير البرتقال المعالج حراريا في مختلف درجات الحرارة ومدة التعرض و ظهور تأثير تقوية عصير البرتقال بحمض الاسكوربيك على محتويات الانثوسيانين مع تغيرات المعلومات الفيزيائية والكيميائية .

كلمات المفتاحية : سنقيلي ، الأنثوسيانين، المعالجة الحرارية، حمض الاسكوربيك.