

*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 Qualité des produits et sécurité alimentaire*



**Réf :.....**

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

**MASTER**

*Thème*

**Composition physico-chimique et mise en évidence des métabolites secondaires des extraits de pamplemousse optimisés par micro-ondes**

Présenté par :

**Sedkaoui Mira & Ouaret Sabrina**

Soutenu le : **26/06/2019**

Devant le jury composé de :

Mme Ouchemoukh N.

Mme Boulekbache L.

Mme Hamri S.

MCA

Professeur

MCA

Président

Encadreur

Examineur

**Année universitaire : 2018 / 2019**

## **Remerciements**

*Avant tout nous remercions Dieu le tout-puissant qui nous a procuré de la volonté, de la santé et du courage pour mener à terme ce travail*

*Nos remerciements les plus vifs s'adressent au Professeur Mme **Boulekbache L**, pour son encadrement et de nous avoir accueilli dans son laboratoire technologie alimentaire.*

*En seconde lieu nous tenons à remercier notre CO-promotrice Mme **Boudraa G**, pour son exactitude et ses conseils.*

*Nos remerciements les plus sincères et les plus profonds sont adressés aux membres de jury*

***Mme Ouchemoukh N**, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury qui va juger ce travail.*

***Mme Hamri S**, d'avoir acceptée d'examiner notre travail*

*Nous exprimons également notre gratitude au Directeur général de l'unité des aliments du Bétail d El-kseur, Bejaia Monsieur **Benyoub M** de nous avoir accueilli pendant la période de stage sans oublier Mme **Fetahi**, la responsable de laboratoire pour sa disponibilité et serviabilité et surtout sa gentillesse.*

***Je dédie ce modeste travail à :***

*À mes parents, Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*À ma très chère maman Nacira, symbole de courage, de patience et de tendresse. Je t'aime beaucoup plus que tout le monde. Je ne saurais vous rendre le centième de ce que tu m'as donné. Que Dieu te garde de tout malheur et te donne longue vie pour te voir fière de ta fille.*

*À mon fiancé Abdelhek, celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de mon cursus.*

*À Mon petit frère Said, pour son intérêt envers mon travail.*

*À mes grands-parents, qui mont accompagnés par leurs prières et douceurs, puisse Dieu leurs prêter longue vie et beaucoup de santé et de bonheur dans leurs vies.*

*À toute la famille Ouaret et Kacimi.*

*À mes copines, Dihya, Karima, Meriem et Haina pour leurs encouragements et amitiés.*

*À mon très chère binôme, Mira Sadkaoui pour sa complicité*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.*

## *Dédicaces*

### *Je dédie ce modeste travail :*

*Aux être les plus chères aux monde « **mes parents** » **Hocine** et **Nora**, pour tous les sacrifices que vous avez consentis à mon égard afin que je puisse mener à bien mes études. Vous avez m'inculqué le sens du devoir, de la responsabilité, de la dignité et de l'humilité. Je ne pourrais jamais vous rendre ce que vous avez fait pour moi, mais j'espère seulement que vous trouverez dans ce modeste travail, un réel motif de satisfaction.*

*A ma chère sœur **Lilia** et mon frère **Nabil**,*

*Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*A mes meilleure amies : **Zahra** et **Karima***

*A mon cher ami : **Mansour**, merci pour tes encouragements, ta disponibilité toujours à mes coté et tous ce que tu as fait pour moi*

*A tous les membres de ma famille, petits et grands*

*A ma chère binôme, copine et amie avec qui j'ai partagé le travail, ainsi pour tous les membres de sa famille.*

*A Toute la promotion Sciences alimentaires*

*Enfin le mérite de ce travail revient à toutes les personnes qui ont participé à sa réalisation et aux quelles j'exprime ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements.*

**MIRA**

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction ..... 1

## Partie bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur les agrumes

I.1. Généralités sur les agrumes.....	3
I.1.1. Caractères généraux .....	3
I.1.2. Historique.....	3
I.1.3. Définition et description.....	4
I.1.4. Les agrumes dans le monde et en Algérie.....	5
I.1.4.1 Dans le monde .....	5
I.1.4.1 En Algérie .....	5
I.2. Pamplemousse ou Pomelo ?.....	6
I.2.1 Pamplemousse .....	6
I.2.2 Pomelo .....	6
I.3 Pomélo ( <i>Citrus x paradisi</i> ).....	7
I.3.1. Historique sur le Pomélo.....	7
I.3.2. Etymologie.....	8
I.3.3. Description botanique.....	8
I.3.4. Classification de <i>Citrus x paradisi</i> .....	9
I.3.5. Composition physico-chimique .....	10
I.3.6. Valeur nutritionnelle.....	10
I.3.6.1 Minéraux .....	10
I.3.6.2 Vitamine C.....	11
I.3.6.3 Limonoïdes .....	11
I.3.6.4 Les fibre (Pectine).....	12
I.3.6.5 Les flavonoïdes .....	12
I.7 Utilisation et effets thérapeutiques des écorces de genre Citrus.....	13

## Partie expérimentale

### Chapitre II : Matériel et méthodes

<b>II.1. Matériel végétal.....</b>	<b>15</b>
II.1.1. Echantillonnage .....	15
II.1.2. Séchage .....	15
II.1.3. Broyage .....	16
II.1.4. Tamisage.....	16
<b>II. 2. Caractères morphologiques de l'échantillon utilisé .....</b>	<b>17</b>
<b>II.3. Evaluations des paramètres physico-chimiques.....</b>	<b>17</b>
II.3.1. Taux d'humidité et de matière sèche.....	17
II.3.2. Détermination du potentiel hydrogène (pH).....	18
II.3.3. Brix.....	18
II.3.4. Pourcentage du jus %.....	18
II.3.5. Détermination de l'Acidité.....	19
II.3.6. Teneur en cendres .....	19
II.3.7. Dosage d'acide L-ascorbique.....	20
II.3.8. Dosage des caroténoïdes .....	21
II.3.9. Extraction et Dosage des protéines solubles.....	21
II.3.10. Détermination de la matière grasse.....	22
II.3.11. Extraction et dosage des sucres totaux .....	24
II.3.12. Détermination de la teneur en cellulose brute.....	25
II.3.13. Taux de calcium.....	26
II.3.14. Analyse des minéraux par la spectroscopie d'absorption atomique(SAA) .....	27
<b>II.4. Extraction des composés phénoliques .....</b>	<b>29</b>
II.4. 1. Extraction assistée par micro-ondes (MAE).....	29
II.4. 2. Extraction conventionnelle par solvant (ECS).....	30
<b>II.5. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires.....</b>	<b>31</b>

II.5.1. Saponine .....	31
II.5.2. Alcaloïdes.....	31
II.5.3. Térpenoïdes .....	31
II.5.4. Composés phénoliques .....	31
II.5.5. Tanins .....	31
<b>II.6. Détermination de quelques activités anti oxydantes.....</b>	<b>32</b>
II. 6.1. Activité anti radicalaire de l'ABTS.....	32
II .6.2. Pouvoir réducteur du fer .....	33
<b>III. Résultats et Discussions.....</b>	<b>35</b>
<b>III.1. Caractéristiques morphologiques (qualitatifs et quantitatifs).....</b>	<b>35</b>
III.1.1. Les caractéristiques du fruit .....	35
III.1.2. Les caractéristiques des feuilles de <i>citrus x paradisi</i> .....	36
III.1.3. Les caractéristiques qualitatives des graines.....	37
<b>III.2 Evaluation des paramètres physico-chimiques.....</b>	<b>37</b>
III.2.1. Taux d'humidité .....	37
III.2.2. Taux de matière sèche.....	38
III.2.3. Paramètres physico-chimiques du jus du pomelo.....	39
III.2.4. Teneur en cendres de l'écorce séché, fraîche et de la graine .....	41
III.2.5. Vitamine C.....	42
III.2.6. Les caroténoïdes .....	43
III.2.7. Protéines .....	44
III.2.8. Matière grasse .....	45
III.2.9. Sucre totaux .....	47
III.2.10. Teneur en cellulose .....	48
III.2.11. Teneur en minéraux .....	49
<b>III. 3. Résultats de la Mise en évidence des métabolites secondaires dans l'écorce ....</b>	<b>50</b>
<b>III. 4. Activités anti oxydantes.....</b>	<b>54</b>

III. 4.1. Activité anti-radicalaire ABTS.....	54
III. 4.2. Test de pouvoir réducteur.....	55
<b>Conclusion.....</b>	<b>56</b>

## Références bibliographiques

## Annexe

## Résumé

**AA** : acide ascorbique

**ABS** : Absorbance

**ABTS** : Acide 2,2'-azino-Bis(3-éthylbenzoThiazoline-6-Sulphonique

**AP/A** : Absence/présence d'une aréole

**BHA** : Hydroxyanisole butylé

**BSA** : Bovine Sérum Albumine

**CEP** : Couleur de l'épicarpe

**CGR** : Couleur de la graine

**CPT** : composé phénolique totaux

**CPU** : Couleur de la pulpe

**DCIP** : 2,6 dichloro-indophénol

**DF** : diamètre de la feuille

**DFR** : Le diamètre du fruit

**DivF** : Division de la feuille

**ECS** : Extrait sec du bain-marie

**EF** : Ecorce frais

**ES** : Ecorce séché

**EtOH 40%** : Extrait éthanolique 40%

**EtOH 70%** : Extrait éthanolique 70%

**FCT** : Forme de l'axe en coupe transversale

**FFR** : Forme du fruit

**FGR** : Forme des graines

**FL** : Forme du limbe

## *Liste des Abréviations*

---

**FRAP:** Ferric reducing antioxidant power

**IC :** concentration inhibitrice

**ICFV :** Intensité de la couleur verte de la feuille

**ICPU :** Intensité de la couleur de la pulpe

**ILF :** Insertion au limbe de la feuille

**INRAA :** Institut national de la recherche agronomique algérienne

**IPGRI :** International Phyto Gentic ressources Institut

**ITAF :** Institut technique de l'arboriculture fruitière

**LOF :** Longueur de la feuille

**LOFR :** Longueur du fruit

**MAE :** extrait sec optimisé par micro-onde

**MF :** Matière fraîche

**MS :** Matière Sèche

**NGFR :** Nombre de graine par fruit

**NQ :** Nombre de quartiers

**PFR :** Le poids du fruit

**Ppm :** partie par million

**PVPP:** poly-vinylpyrrolidone povidone

**SAA :** Spectroscopie d'absorption atomique

**Trolox :** TEAC

**TSFR :** Texture de la surface du fruit

## Liste des figures

Numéro de la figure	figure	La page de la figure
1	Diversité morphologique des agrumes	3
2	Coupe transversale schématique d'un agrume (a) et détail (b)	4
3	Fruit <i>citrus maxima</i>	7
4	Fruit <i>citrus x paradisi</i>	7
5	Arbre de <i>Citrus x paradisi</i>	8
6	fruit de <i>citrus x paradisi</i>	8
7	<i>citrus x paradisi</i> : (A) : feuilles, (B) : fleurs	9
8	Structure de la vitamine C	11
9	Structure de l'acide limonoïque	12
10	Structure chimique de la naringine	13
11	Structure de l'hespéridine	13
12	Photographie de matériel végétal dans le marché (A) et coupe transversale du <i>citrus x paradisi</i> (B)	16
13	Photographie des échantillons dans l'étuve	17
14	Photographie du tamiseur (type RETSCH)	17
15	Forme du fruit	<b>Annexe</b>
16	Forme du limbe de la feuille	<b>Annexe</b>
17	Insertion au limbe de la feuille	<b>Annexe</b>
18	Forme des graines	<b>Annexe</b>
19	Balance du type RADWAG, PS 1200 R2	<b>Annexe</b>
20	Pied à coulisse du type <i>TARAUDAGES LSQ</i>	<b>Annexe</b>
21	Mètre ruban couture jaune	<b>Annexe</b>
22	Extraction de la matière grasse par soxhlet.	24
23	Matériels utilisés pour (MAE)	30
24	Photographie de matériels utilisés pour (ECS)	31
25	Les étapes de formation du radical ABTS	33
26	Taux d'humidité du fruit et de la graine de pomelo	39
27	Taux de matière sèche du fruit et de la graine de pomelo	40

## Liste des figures

<b>28</b>	Teneur en cendre en % d'écorce séchée, fraîche et de la graine du fruit de pomelo	<b>43</b>
<b>29</b>	Teneurs en vitamine C d'écorce séchée, écorce fraîche et de la graine du fruit de pomélo	<b>43</b>
<b>30</b>	Teneur en caroténoïdes d'écorce séchée, fraîche et de la graine	<b>45</b>
<b>31</b>	Teneur en protéines totaux d'écorce séchée, fraîche et de la graine.	<b>46</b>
<b>32</b>	Teneurs en matières grasses d'écorce séchée, écorce fraîche et de la graine.	<b>47</b>
<b>33</b>	Teneur en glucides totaux	<b>48</b>
<b>34</b>	Teneur en cellulose d'écorce séchée, fraîche et de la graine.	<b>49</b>
<b>35</b>	Photographie montreront les résultats de la mise en évidence des alcaloïdes dans les extraits optimisés par micro-onde et bain marie	<b>52</b>
<b>36</b>	Photographie montreront la mise en évidence des saponines dans les extraits	<b>53</b>
<b>37</b>	Photographie montreront les résultats de la mise en évidence des terpénoïdes	<b>53</b>
<b>38</b>	Photographie montreront les résultats de la mise en évidence des composés phénoliques dans les extraits	<b>54</b>
<b>39</b>	Photographie montreront les résultats de la mise en évidence des tannins dans les extraits	<b>54</b>
<b>40</b>	Résultats du pouvoir anti radicalaire exprimé en IC <sub>50</sub> (ml/équivalent Trolox /ml)	<b>55</b>
<b>41</b>	Résultats du pouvoir réducteur exprimé en IC <sub>50</sub> (mg/EQ/AA/ml)	<b>56</b>

## Liste des tableaux

Numéro de tableau	titre	page
<b>I</b>	Classification des principaux producteurs d'agrumes et leurs parts 2016/2017	<b>5</b>
<b>II</b>	Classification de <i>Citrus x paradisi</i>	<b>9</b>
<b>III</b>	Composition biochimique moyenne du pomélo	<b>10</b>
<b>IV</b>	Composition en éléments minéraux des fruits du <i>citrus x paradisi</i>	<b>11</b>
<b>V</b>	Effets thérapeutiques et domaines d'utilisation des composés phénoliques des écorces d'agrumes.	<b>15</b>
<b>VI</b>	Condition optimal d'extraction (MAE)	<b>31</b>
<b>VII</b>	Caractéristiques morphologiques qualitatives et quantitatives du fruit du pomelo	<b>36</b>
<b>VIII</b>	Caractéristiques morphologiques qualitatives des feuilles	<b>37</b>
<b>IX</b>	Caractéristiques morphologiques qualitatives des graines	<b>38</b>
<b>X</b>	Paramètres physico-chimiques du jus de pomelo	<b>41</b>
<b>XI</b>	Les teneurs en minéraux de l'écorce fraîche, séchée et de la graine de <i>citrus x paradisi</i>	<b>50</b>
<b>XII</b>	les résultats de mise en évidence des métabolites secondaires	<b>52</b>

# **INTRODUCTION**

### Introduction :

Les agrumes représentent l'une des récoltes de fruits les plus importantes dans le monde. Leur production mondiale est estimée à plus de 115 millions de tonnes par an dont 517 mille tonnes ont été produites en Algérie, incluant les citrons, les mandarines, les pomelos, les cédrats, les oranges, les pamplemousses et les limes ...etc **khodir et al. (2017)**.

Le pomelo est une variété d'agrumes très répandue, c'est une source importante de substances bioactives, comme les vitamines C; les composés phénoliques (flavonoïdes, acides phénoliques et coumarines) et terpéniques tels que les caroténoïdes.

Des études ont également souligné que la consommation de pomelo est liée à une perte de poids et améliore le métabolisme des lipides. Cependant, malgré sa haute valeur fonctionnelle, la consommation de pomelo frais est relativement faible, probablement en raison de son fort goût amer et de sa production saisonnière. En effet, dans de nombreux pays, ce fruit peut ne pas être disponible, à l'état frais, pendant toute l'année **Claudia et al. (2017)**.

Le pomelo a une saveur spéciale et une chair colorée. Cette saveur est le résultat d'une combinaison de son goût et de son arôme. Le goût du pomelo dépend principalement des sucres et des acides organiques, alors que son arôme dépend d'un grand nombre de composés organiques volatils **Huiwen et al. (2016)**.

Les différentes variétés de pomelo varient du blanc au rouge en fonction de la présence ou de l'absence du lycopène. Selon les données de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, la Chine et les États-Unis sont les principaux producteurs mondiaux de pomelo dans le monde entier. Parmi les principales variétés de pomelo (*Citrus x paradisi*), les variétés suivantes ; Rose, Ruby Red, Star Ruby, Thompson et White Marsh **Wei-Lun et al. (2017)**.

L'objectif de cette étude est l'identification botanique d'une variété locale de l'espèce *Citrus x paradisi*, ainsi que la valorisation de ses sous produits (écorces et pépins) en vue d'une application industrielle dans les différents domaines (pharmaceutiques, agroalimentaires).

Le document est structuré comme suit, une partie bibliographique, qui est composé d'un seul chapitre (Chapitre I), relatif aux agrumes en général et au fruit *Citrus x paradisi* en particulier et une deuxième partie relative au travail expérimental, réparti classiquement en

deux chapitres. Le chapitre II qui est consacré au matériel et méthodes utilisés, et le 3<sup>ème</sup> chapitre (chapitre III) qui est dédié à la présentation des résultats obtenus ainsi que leur discussion en fonction de la documentation disponible dans la littérature. A la fin du document, nous avons donné une conclusion générale énumérant les principaux résultats obtenus et les perspectives projetés dans l'avenir.

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I.1 Généralités sur les agrumes

### I.1.1 Caractères généraux

Le mot « agrume » provient du latin « *acrumen*= *saveur* » qui désignait dans l'Antiquité des arbres à fruit acide .Les agrumes sont les fruits des végétaux des genres *Citrus*, *Fortunella*, *Microcitrus*, *Eremocitrus* et *Poncirus* (famille des *Rutaceae*), parmi lesquels on trouve les citrons, les clémentines, les bergamotes, les limes, les limettes, les mandarines, les oranges, les pamplemousses, les pomelos...ect (**Barboni. 2006, Benedicte et Michel. 2011**).

Les agrumes sont l'une des plus importantes cultures fruitières commerciales et nutritionnelles au monde **Sadeepaet al. (2009)**. Ils occupent une place de choix parmi les variétés populaires, et ces types de fruits sont largement cultivés dans les régions tropicales et subtropicales **Sharma et al. (2006)**.



**Figure 1:** Diversité morphologique des agrumes **Camille et al. (2013)**

### I.1.2 Historique

D'après **Webber et al. (1967)** les agrumes remontent 4000 ans avant J-C. Où le cédratier a poussé en Mésopotamie. La plupart des types d'agrumes sont originaires des grandes zones climat tempère autour des montagnes de l'Himalaya et du sud-est asiatique.

La culture des agrumes a commencé en Chine, Inde, Indochine, Indonésie. Le cédrat est le premier agrume introduit en Europe par Théophraste en 310 avant J-C. Les romains ont importé les oranges et les citrons de leur province pour leurs banquets. Les plantes qu'ils cultivaient à Rome ont survécu mais portaient peu de fruits.

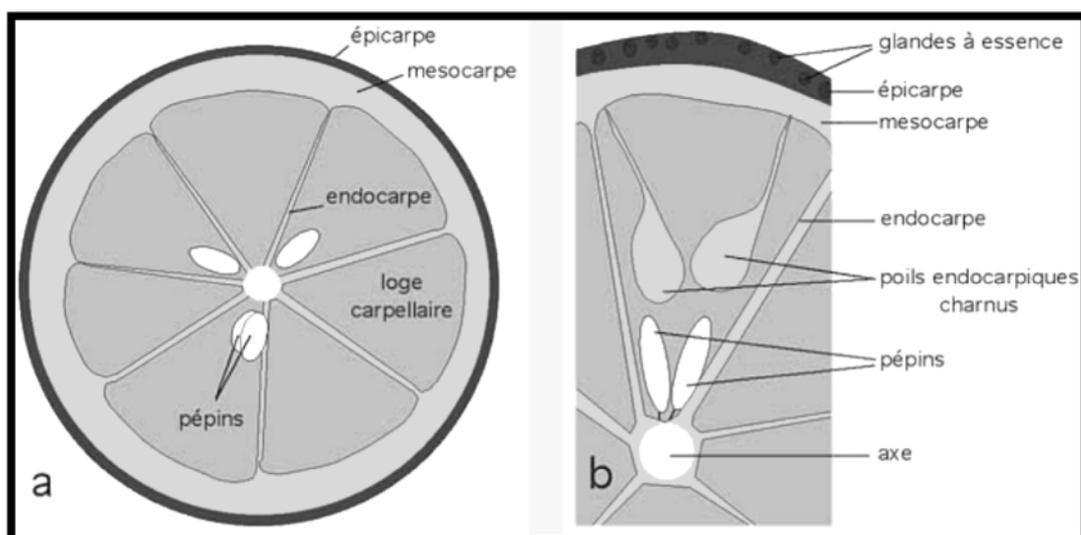
Au 10<sup>ème</sup> siècle, les conquérants arabes réintroduisent le cédrat en Europe et introduisent de nombreuses nouveautés telles que le citron et l'orange amère **Bousbia et al. (2009)**. Alors que le dernier agrume arrive en Europe fut le mandarinier au début du 19<sup>ème</sup> siècle. Depuis lors, il est devenu l'un des agrumes les plus populaires et une source de développement continu **Bousbia et al. (2009)**.

### I.1.3 Définition et description

Les agrumes sont des arbustes, dont la taille variée 2 à 10 mètres selon les espèces. Leur frondaison est généralement dense et leurs feuilles sont persistantes, à l'exception des **Poncirus**. Leurs fruits et toutes les parties de l'arbre (écorces, feuilles, branches, et fleurs) contiennent des glandes à essence.

Ce sont des fruits non-climactériques qui doivent être récoltés à maturité. Ils sont résistants au transport et à la conservation **Bénédicte et Michel. (2011)**.

La peau du fruit est une écorce (péricarpe) composée de deux couches concentriques. La couche superficielle rugueuse et résistante, de couleur vive souvent jaune orange sous l'action des flavonoïdes est nommée **épicarpe** ou flavédo ou encore zeste en cuisine. La couche interne, blanche et spongieuse est le **mésocarpe** ou albédo **Bénédicte et Michel. (2011)**. La pulpe est composée de quartiers juteux contenant les pépins qui sont riche en vitamine C **(Figure 2)**.



**Figure 2** : coupe transversale schématique d'un agrume (a) et détail (b) **(Bmedia, 2010)**

### I.1.4 Les agrumes dans le monde et en Algérie :

#### I.1.4.1. Dans le monde :

La production mondiale d'agrumes se situe autour de 89 millions de tonnes (MT), dont 73% de la production sont consommés frais, 26% sont destinés à la transformation et 9% à l'exportation. Cette production est répartie en plusieurs variétés dans laquelle l'orange représente 57%, la mandarine 30%, le pamplemousse 7%, le citron et la lime 6% **M'HIRI. (2015).**

La Chine est le premier producteur d'agrumes dans le monde avec une part de 34% et une quantité de 29,5 millions de tonnes, elle est suivie par le Brésil avec une part de 22%. L'UE arrive au 3<sup>ème</sup> rang le Mexique (6,7 MT) et les Etats unis (4,6 millions de tonnes). Le Maroc occupe la septième place, suivi par la Turquie avec une part de 1,6%. **(USDA, 2016).** Quant à l'Algérie, elle occupe la 18<sup>ème</sup> place dans le rang mondiale, avec une production de 1.2 millions de tonnes par ans **(FAO, 2013).**

**Tableau I:** Classification des principaux producteurs d'agrumes et leurs parts 2016/2017. **USDA. (2016).**

Pays	Production en tonnes	Part en %
<b>1-Chine</b>	29500000	34%
<b>2-brésil</b>	19217000	22%
<b>3-Union européen</b>	10766101	13%
<b>4-Mexique</b>	6775000	7,9%
<b>5-USA</b>	4601311	5,4%
<b>6-Egypte</b>	3000000	3,5%
<b>7-Maroc</b>	2315040	2,7%
<b>8-Turquie</b>	1399000	1,6%

#### I.1.4.2. En Algérie :

En Algérie, la production agrumicole est constituée de 72% d'oranges, 16% de clémentines, 4% de mandarines, 7% de citrons et 1% de pomelos. L'agrumiculture algérienne compte une quarantaine de variétés, dont 20 d'oranges, 15 de clémentine et mandarines, 5 de

citrons et divers fruits dont le pomelo, avec une production estimée à 14 500 quintaux par an (**Anonyme 1, 2012**). Les trois régions agrumicoles en Algérie toutes situées dans le nord sont :

- La région ouest avec les wilayas d'Oran, Mostaganem, Tlemcen, Mascara, Sidi Be labbes, Rilizane.
- La région centre avec la plaine de la Mitidja qui constitue le berceau de l'agrumiculture en Algérie, avec la plaine Tizi-Ouzou, Chleff et Bouira.
- La région est où la culture des agrumes attient un grand degré de prospérité, avec les régions d'Annaba, Skikda, Jijel, Guelma et Bejaia (**Anonyme 2, 1997**).

### I.2 Pamplémousse ou pomelo ?

Deux noms indifféremment donnés par les consommateurs, à deux fruits différents, confondus sous le même vocabulaire de "pamplémousse".

#### I.2.1 Pamplémousse

Le véritable pamplémousse est un fruit à peine comestible sans valeurs alimentaire ni culturelle. Connu sous le nom scientifique *Citrus maxima*, *Citrus grandis* ou encore *Citrus decumana*, de forme légèrement aplatie aux deux pôles, il atteint la grosseur d'un melon, à peau lisse, très épaisse et de couleur vert-jaune à maturité **Brichet. (1946)**.

#### I.2.2 Pomelo

C'est un fruit de grande consommation mondiale, au même titre que l'orange et d'une grande valeur alimentaire et industrielle. Il est de dimension réduite comparé au véritable pamplémousse. Connu sous le nom scientifique *Citrus x paradisi*, il peut atteindre les 300 à 600 grammes selon les variétés. Sa peau est de la même épaisseur que celle de la plupart des oranges, lisse et de couleur jaune citron **Brichet . (1946)**.



**Figure 3** : photographie de Fruit *citrus maxima* (Fabrice et al. 2004).



**Figure 4** : photographie de Fruit *citrus x paradisi* (Toni. 2008).

### I.3 Pomélo (*citrus x paradisi*)

#### I.3.1 Historique du pomélo

Le terme pomelo semble être issu d'un glissement de divers noms attribués au pamplemousse. C'est un terme anglais désignant le « grapefruit », et fait référence aux fleurs puis aux fruits du pomelo qui sont disposés en grappes. Il est connu scientifiquement sous le nom de *Citrus x paradisi Macfad.* Dont *paradisi*, signifie un jardin en latin.

Après que le pamplemousse fut amené dans la Barbade par le capitaine *Philip Shaddock* en 1649, il semblerait qu'une nouvelle espèce apparut spontanément vers 1750 et se répandit dans les Caraïbes qui fut appelée "*petit shaddock* " de par sa taille plus modeste. Ce nouveau fruit fut découvert en 1805, lors de la bataille de *Trafalgar*, lorsque le *comte Odet Philippe*, chirurgien des armées napoléoniennes, fut être prisonnier des anglais et conduit à l'île des Bahamas. Passionné de botanique, il recueillit un sac de graines qu'il sema une fois libéré et installé en tant que médecin à *Charleston*, en Caroline du Sud. Les résultats furent décevants, mais il réitéra l'expérience lorsqu'il installa dans la baie de Tampa, en Floride où le climat fut beaucoup plus adapté à la prolifération de pomelos. C'est ainsi que commença la culture des pomelos, qui couvrent aujourd'hui la Floride. Des cultivars plus résistants au froid permirent ensuite la culture de pomelos au Texas.

En 1837, le botaniste *James Macfadyen* pensait que *Citrus x paradisi* était né d'une mutation naturelle de *Citrus maxima*. Ce n'est qu'en 1948 que des spécialistes des agrumes précisèrent que le pomelo était en réalité un hybride spontané entre le pamplemousse *Citrus maxima* et l'orange douce *Citrus sinensis*. **Cécile . (2016).**

### I.3.2 Etymologie

Ce terme serait issu du latin « pomum-melo » signifiant pomme-melon. On peut y voir aussi une altération de l'anglais « pomelmoose » qui est de même origine que le français « pamplemousse ». Ce qui conforte l'idée de l'existence d'une confusion entre les deux espèces. Le terme pomelo désigne le fruit de *Citrus x paradisi* **Chauvet. (1980).**

### I.3.3 Description botanique

*Citrus x paradisi* est originaire du sud-est de l'Asie et est très rependu en région méditerranéenne. Cet arbre peut atteindre 6 à 12 mètres présentant une forme arrondie (**Figure 6**). Les feuilles et les fleurs sont semblables à celles de *Citrus maxima* (pamplemousse).

Ils sont plus appréciés gustativement que les pamplemousses (consommés sous forme de jus de fruit, de demi-fruit pour un repas ou confiture). C'est donc ce dernier, le pomelo et non le pamplemousse vrai, qui est au centre de ce sujet **Noemie. (2016).**

Les premiers fruits n'apparaissent en général qu'au bout de 4 à 7 ans. Chaque année, un arbre peut produire entre 500 à 700 pomelos, soit une moyenne de 500 kg de fruits par saison. Il faut savoir qu'une fois cueillis, les fruits cessent de mûrir **Cécile. (2016).**



**Figure 5** : photographie d'arbre de *Citrus x paradisi* **Mes rutaceae. (2000)**



**Figure 6** : photographie de fruit de *Citrus x paradisi* **Bob Saunders. (Site internet n°1)**



(A) : photographie des feuilles de *citrus x paradisi*

(B) : photographie des fleurs de *citrus x paradisi*

**Figure 7:** *citrus x paradisi* : (A) : feuilles, (B) : fleurs (**Famille des Rutaceae,**

### I.3.4 Classification botanique du *Citrus x paradisi*

Selon Luna et al. (2018) la classification *Citrus x paradisi* est résumée dans le **Tableau II**

**Tableau II :** Classification de *Citrus x paradisi* (J.M. Cristóbal-Luna et al, 2018)

Règne	Végétal
Division	Magnoliophytes
Classe	Magnoliposida
Ordre	Sapindales
Famille	Rutacées
Genre	Citrus
Espèce	<i>Citrus × paradisi</i>

### I.3.5 Composition chimique

Selon **Morton (1987)**, des analyses réalisées en Californie, au Texas, en Floride, à Cuba et en Amérique centrale ont révélé la composition biochimique moyenne du pomélo. Les résultats sont exprimés dans le **Tableau 3**.

**Tableau III** : Composition biochimique moyenne du pomélo (**Morton, 1987**).

Composition pour 100g	Pulpe	Jus	Ecorce
Calories (Kcal)	34,4-46,4	37-42	316
Humidité (g)	87.5-91.3	89.2-90.4 g	17.4 g
Protéines (g)	0.5-1.0	0.4-0.5 g	0.4 g
Lipides (g)	0.06-0.20	0.1 g	0.3 g
Glucides (g)	8.07-11.5	8.8-10.2 g	80.6 g
Fibres (g)	0.14-0.77	traces	2.3 g
Cendre (g)	0.29-0.52	0.2-0.3 g	1.3 g

### I.3.6 Valeur nutritionnel :

D'un point de vue nutritionnel, les fruits sont riches en eau, glucides, fibres, minéraux et vitamines, en particulier hydrosolubles. La valeur nutritionnelle des fruits est très variable en fonction de leur nature, de leurs conditions de culture et du moment où ils sont consommés **Tonelli et Gallouin. (2013)**.

#### I.3.6.1 Minéraux

Les agrumes sont de bonnes sources de potassium alimentaire et sont relativement faible en sodium. Le rapport sodium/potassium joue un rôle dans le maintien de l'équilibre électrolytique **Matheyambath et al. (2016)**.

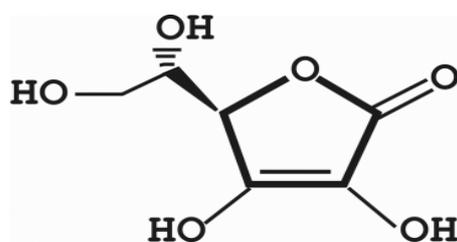
Le pomelo (*citrus x paradisi*) est très riche en eau. Il représente également une très bonne source de potassium avec une teneur de 147 mg/100g, et une source de calcium et de phosphore (**USDA, 2001**).

**Tableau IV:** Composition en éléments minéraux des fruits du *citrus x paradisi* Otmani et al.(2011).

Composants	Valeurs (pour 100g de citrus x paradisi)
Calcium (mg)	12
Fer (mg)	0,1
Magnésium (mg)	9
Phosphore (mg)	8
Potasium (mg)	148

### I.3.6.2 Vitamine C

La vitamine C (*acide ascorbique*) est une vitamine hydrosoluble et très sensible (à la lumière, la chaleur, l'air...). Non synthétisable par l'homme et pourtant d'un grand intérêt, celui-ci doit donc la puiser dans son alimentation notamment par consommation de végétaux capables de la synthétiser à partir du D-glucose **Bruneton. (2009)**. Elle est connue pour ses propriétés antioxydantes. Elle intervient également dans de nombreuses réactions biologiques comme la synthèse du collagène et permet également une meilleure absorption du fer au niveau intestinal **Passeport Sante. (2015)**.

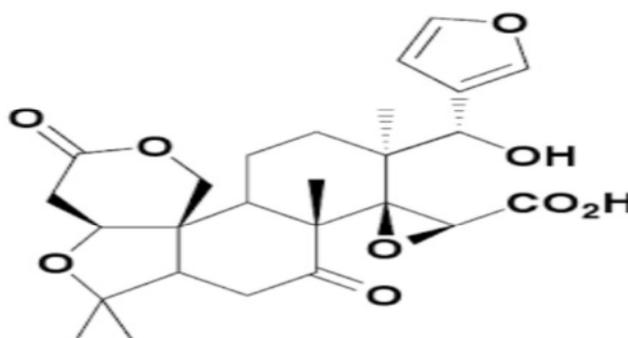


**Figure 8:** Structure de la vitamine C **Dehmolaei et coll. (2014)**

La vitamine C est retrouvée dans l'ensemble des parties du fruit pomelo mais se concentre essentiellement dans le **mésocarpe** et l'**épicarpe** avec des concentrations allant de 108 à 123 mg/100g de fruit frais **Gozde. (2015)**. Sa présence dans les pépins et le **mésocarpe** à une concentration globale de 38,1 mg pour 100g de *Citrus x paradisi* **USDA.(2001)**.

### I.3.6.3 Limonoïdes

Les Limonoïdes sont des triterpènes également présents dans les fruits des plantes du genre *Citrus*. Ils sont responsables du *gout amer* des jus d'agrumes après leur pressage **Bruneton. (2009)**. Ils sont retrouvés majoritairement dans les pépins et dans une moindre mesure dans le **mésocarpe** du pomelo à des concentrations de 0,31-0,87 % du poids sec du fruit. Les limonoïdes sont en majorité sous forme **aglycone** dans les pépins immatures puis au fur et à mesure de la maturation des formes hétérosidiques peuvent apparaître (**Ozaki et coll. (1991)**). Dans le **mésocarpe**, la présence de limonoïdes peut s'observer sous la forme d'acide limonoïque (**Figure 9**) **Bruneton. (2009)**.



**Figure 9** : Structure de l'acide limonoïque **Bruneton. (2009)**

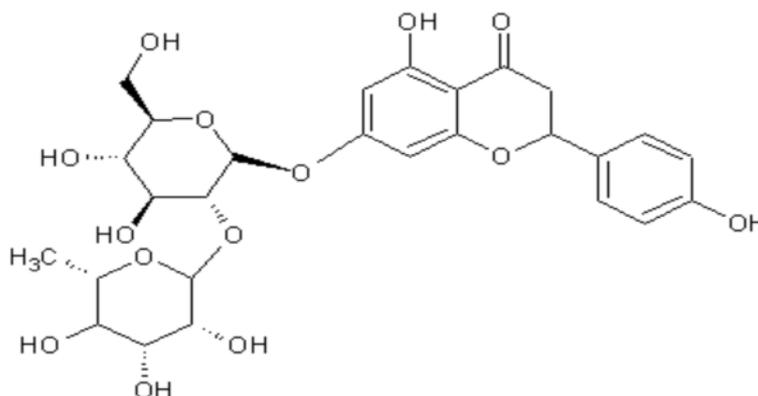
### I.3.6.4 Fibres (pectine)

Les pectines sont des polysaccharides complexes contenant des acides -D-galacturoniques, particulièrement abondants dans les fruits charnus immatures. Dans un premier temps, ils sont insolubles et donnent une certaine rigidité aux tissus. Puis, ils sont dégradés en sucres et en acides lorsque le fruit mûrit **Bruneton . (2016)**.

Dans les agrumes, le pomelo et le citron ont généralement une teneur plus élevée en pectine, varient de  $36,0 \pm 1,46$  mg/g de jus jusqu'à  $86,4 \pm 3,36$  mg/g dans les écorces d'agrumes **Zou et al. (2016)**.

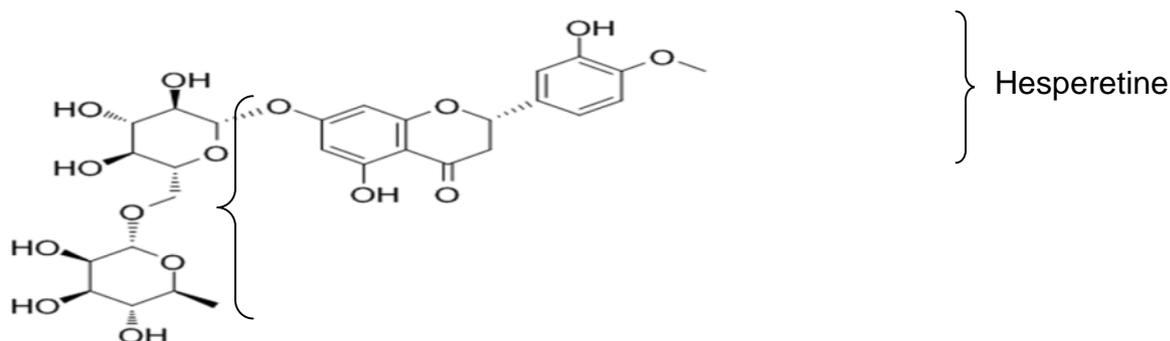
## I.3.6.5 Flavonoïdes

Présent dans l'ensemble du fruit, mais en majorité dans le **mésocarpe**. Leur concentration totale est la plus élevée dans le fruit mur fraîchement cueilli avec 14,5 % de citroflavonoïdes. Le principal flavonoïde est la **naringine** qui représente environ 7,2 g/100g du fruit à pleine maturité. Elle est retrouvée dans le **mésocarpe** à un taux de 490 à 4100mg/100g et dans les pépins un taux de 1070 à 2240 mg/100g (**figure 10**) **Zhang. (2007)**.



**Figure 10** : Structure chimique de la naringine **Emad et al. (2019)**

L'hespéridine, autre citroflavonoïde constitué du groupement rutinosyl (partie osidique) et de l'hespéridine (partie **aglycone**) (**Figure 10**) est essentiellement présente dans le **mésocarpe** du pomelo à des concentrations moindres par rapport à la naringine (0-20 mg/100g) **Zhang. (2007)**. On la retrouve également dans l'épicarpe du pomelo à une concentration de 29,5 mg/100g (**Zhang. 2007, Baron et coll. 2016**).



**Figure 11**: Structure de l'hespéridine **Chemical Book. (2016)**

### I.7. Utilisations et effets thérapeutiques des écorces de genre *Citrus*:

De nombreuses études ont montré que les espèces du genre *Citrus* sont riches en principes actifs tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes...etc, utilisés à des fins thérapeutiques sous dans les domaines cosmétiques ou alimentaires **Shahaib et al. 2011, Kahkonen et al.1999**). L'ensemble de ces utilisations sont regroupées dans le tableau **V**.

composés	Propriétés associés	Utilisations	Références
<b>Caroténoïdes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Propriété organoleptique : colorant.</li> <li>• Activité thérapeutique : Diminution du risque du cancer, de la dégénérescence musculaire, des brûlures de la peau et des maladies cardiovasculaires.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Préparations alimentaires et pharmaceutiques.</li> </ul>	<b>Wang et al, 2008</b>
<b>Cellulose</b> <b>Hémicellulose</b> <b>lignine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Activité thérapeutique : favorise la croissance de la flore intestinale, améliore la digestion et facilite le transit intestinal.</li> <li>• La cellulose utilisée dans la production de la pâte à papier, et fabrication du papier ; emballages</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Préparations alimentaires et pharmaceutiques.</li> </ul>	<b>Larrauri et al, 1996</b> <b>Kratchanova et al, 2004</b> <b>Zia-ur et al, 2006; Liu et al, 2006 ; Marin et al, 2007; Ververis et al, 2007</b>
<b>Glucides</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Production du biocarburant (éthanol) et du biogaz.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Industries chimiques.</li> </ul>	<b>Wilkins et al, 2007; Pourbafrani et al, 2010 ; Lohrasbi et al, 2010</b>
<b>Hespéridine</b> (Flavonones)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Activité antivirale, anti-obésité et sédatrice</li> <li>• Activité antiallergique via l'inhibition de la libération de l'histamine.</li> <li>• Réduction du risque du cancer du tube digestif.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Préparation pharmaceutique</li> </ul>	<b>Kaul et al, 1985</b> <b>Kawaguchi et al, 2004</b> <b>Scalbert et al, 2005</b> <b>Choi et al, 2011</b>
<b>Naringine</b> flavonones	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réduction du niveau du cholestérol dans le plasma et du risque de l'athérosclérose.</li> <li>• Protection du niveau de vitamine E dans le plasma.</li> <li>• Exhausteur de goût (goût amer) pour les bonbons, les boissons et les produits de boulangerie.</li> </ul>	Industrie agro-alimentaire.	<b>Giannuzzo et al, 2003</b> <b>Nogata et al, 2006</b> <b>Zhang et al, 2007</b>

**Tableau V :** Effets thérapeutiques et domaines d'utilisation des composés phénoliques des écorces d'agrumes.

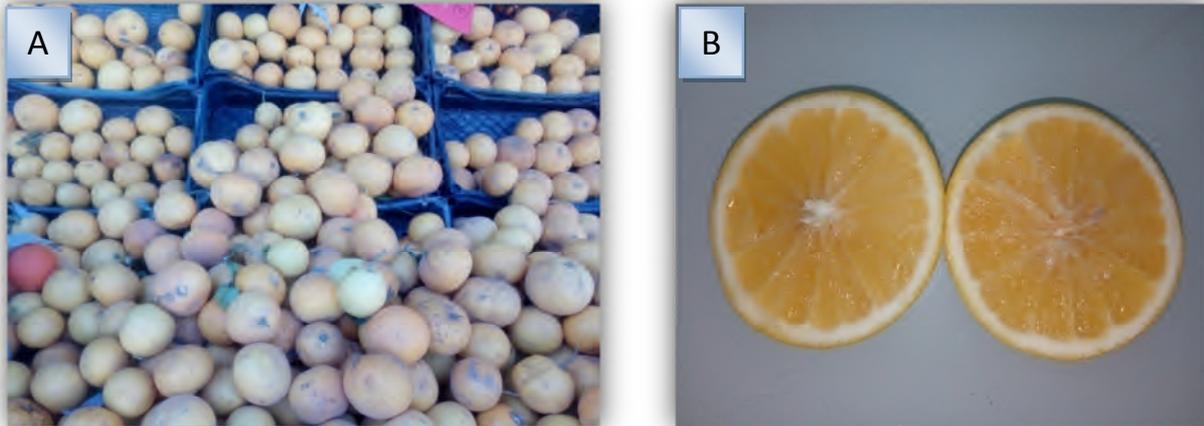




## II.1. Matériel végétal

### II. 1.1 Echantillonnage

Dans le cadre de notre étude, la matrice (figure 12) a été achetée fraîche au marché local, dans la région de Bejaïa (Algérie), au mois de février 2019.



**Figure 12:**(A). Photographie du matériel végétal utilisé, (B). Coupe transversale de *Citrus x paradisi*

### II. 1.2 Séchage

Le séchage est un processus dont la chaleur joue un rôle très important dans l'élimination de l'eau des aliments (Rahman, 2007). Le séchage à l'étuve est un moyen de déshydratation, qui est plus rapide que le séchage à l'air libre, il réduit le risque de contamination.

#### Mode opératoire

Une étape primordiale est nécessaire avant de faire le séchage, il s'agit du nettoyage de l'échantillon. Le fruit de pomélo est lavé à l'eau du robinet, nettoyé et essuyé pour le débarrasser de toutes les impuretés, ensuite il est épluché, les écorces sont découpées et les graines sont récupérées. Tous les échantillons ont été séchés dans une étuve ventilée à une température de 40°C jusqu'à l'obtention d'un poids stable (figure 13).



**Figure13** : Photographie des échantillons dans l'étuve

### II.1.3 Broyage

Après le séchage, les écorces et les graines sont broyées à l'aide d'un moulin à café électrique afin d'obtenir une poudre fine.

### II.1.4 Tamisage

Les poudres obtenues ont été tamisées à l'aide d'un tamiseur à fin d'avoir des particules dont la taille est inférieure à 0,25 mm, puis conservées dans des flacons opaques, étiquetés et stockés à l'abri de la lumière pour les prochaines utilisations.



**Figure14** : Photographie du tamiseur (type **RETSCH**)

### II.2 Caractères morphologiques de l'échantillon utilisé

La détermination de l'espèce et de la variété du fruit (*Citrus* sp.) s'est reposée sur l'étude de plusieurs paramètres à savoir les caractéristiques morphologiques du fruit, des feuilles et des graines. A cet effet, 20 caractères ont été choisis en se basant sur le descripteur international de l'IPGRI (International Phyto Genetic Ressources Institut), dont 15 caractères qualitatifs et 5 caractères quantitatifs. Les caractères mesurés ou estimés sont montrés dans l'annexe II.

### II.3 Evaluation des paramètres physico-chimiques

#### II.3.1 Taux d'humidité

##### ✚ Principe

La détermination de l'humidité des fruits est très importante pour prévoir le rendement après séchage. L'eau et les matières volatiles sont déterminées sur 1g d'échantillon coupé en petits morceaux dans une capsule en porcelaine, puis séché dans une étuve réglée à une température de  $103 \pm 2$  °C jusqu'à obtention d'un poids constant (**Bourekhiss et al. 2009**).

##### ✚ Mode opératoire

- Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 mn à  $103 \pm 2$  °C ;
- Tarer les capsules après refroidissement dans un dessiccateur ;
- Peser dans chaque capsule 1g d'échantillon préalablement coupé en petits morceaux et les placer dans l'étuve réglée à  $103 \pm 2$  °C pendant 3 heures ;
- Retirer les capsules de l'étuve puis les peser après leur refroidissement dans le dessiccateur;
- L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 mn) pour éviter la caramélisation.

##### ✚ Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{(M_1 - M_2)}{P} \times 100$$

Avec :

$H \%$  : Humidité + Matières volatiles ;

$M_1$  : Masse de la capsule + matière fraîche avant séchage en g ;

$M_2$  : Masse de l'ensemble après séchage en g ;

$P$  : Masse de la prise d'essai en g.

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$\text{Matières sèches} = 100 - H \%$$

### II.3.2 Détermination du potentiel hydrogène (pH) du jus de pomelo

#### ✚ Principe

Le pH indique la teneur d'une solution en ion  $H_3O^+$ , il est mesuré directement avec un pH mètre.

#### ✚ Mode opératoire

- Avant de commencer, le *pH mètre* est étalonné avec deux solutions (*pH=7* et *pH=4*);
- On verse une quantité de jus dans un bécher ;
- On plonge l'électrode du *pH mètre* dans le jus;
- La lecture se fait après stabilisation au niveau de la mesure.

### II.3.3 Brix e jus e pomelo

Le pourcentage de Brix est défini comme étant la teneur en sucre exprimée en gramme par 100 grammes d'échantillon (g/100g). Ce paramètre a été déterminé avec un réfractomètre.

### II.3.4 Pourcentage du jus (%) e pomelo

Un volume (3ml) du jus a été extrait à l'aide d'un presse-agrumes mécanique (Santos), filtré à travers une passoire au maillage de 1 mm et pesé.

### II.3.5 Détermination de l'acidité de jus de pomelo

#### ✚ Principe

L'acidité titrable correspond à la somme des acides organiques et minéraux présents dans le produit. Son principe est basé sur le titrage de l'acidité par une solution alcaline NaOH(0,1N) en présence du phénol phtaléine comme indicateur coloré **Ilkay et al.(2011)**.

#### ✚ Mode opératoire

- Transvaser 10ml de jus dans un bécher ;
- Ajouter 03 à 04 gouttes de phénolphtaléine ;
- Titrer avec la soude (**NaOH**) 0,1N jusqu'au virage du milieu au rose pâle, puis lire le volume de chute sur la burette.

#### ✚ Expression des résultats

Les résultats de l'acidité titrable sont exprimés en gramme d'acide citrique pour 100g de produit :

$$\text{Acidité} = [V_{\text{NaOH}} * C_{\text{NaOH}} / \text{PE}] * 0,069 * 100$$

Avec

**V(NaOH)** : Volume chute de NaOH ;

**C(NaOH)** : Concentration de NaOH ;

**Prise d'essai** : Poids de l'échantillon utilisé pour le test ;

**0,069** : Facteur spécifique de l'acide citrique.

### II.3.6 Détermination de la teneur en cendres

#### ✚ Principe

La poudre est incinérée à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant **AOAC. (1975)**.

**✚ Mode opératoire**

- Dans des capsules en porcelaine, on pèse 2 g de poudre ;
- On place les capsules dans un four à moufle réglé à  $550 \pm 15$  °C pendant 5 heures jusqu'à obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre;
- On retire les capsules du four, on les met dans le dessiccateur pour se refroidir puis on les pèse.

**✚ Expression des résultats**

$$\text{MO}(\%) = \frac{(M_1 - M_2)}{P} \times 100$$

Avec

*MO* % : Matière organique ;

*M*<sub>1</sub> : Masse des capsules + prise d'essai ;

*M*<sub>2</sub> : Masse des capsules + cendres ;

*P* : Masse de la prise d'essai.

La teneur en cendre (Cd) est calculée comme suit:

$$\text{Cd} = 100 - \text{MO} \%$$

**II.3.7 Dosage de l'acide L-ascorbique****✚ Principe**

L'acide L-ascorbique est une lactone d'un acide hexonique comportant une fonction 2,3 ène-diol, ce qui la rend très oxydable et lui confère sa fonction réductrice importante. Son dosage se base sur une réaction d'oxydo réduction en milieu acide en utilisant le 2,6 dichloro-indophénol (DCIP). En présence de l'acide ascorbique, le DCIP (bleu) est réduit en DCIPH<sub>2</sub> (incolore). L'excès de DCIP donne une coloration rose caractéristique dont le maximum d'absorption est à 515 nm **Tabart et al.(2010)**.

### Mode opératoire

- On pèse 0,8 g d'échantillon (ES et EF) et on le dissout dans 20 ml d'acide oxalique (1%) ;
- Agiter le mélange durant 30 mn à l'obscurité, ensuite filtrer et centrifuger à 5000 tpm/10 min ;
- Le surnageant est utilisé pour le dosage de l'acide ascorbique selon la méthode rapportée par **Klein et Perry. (1982)** qui consiste à ajouter 900 µl de DCIP (15ppm) à 100 µl d'extrait (directement dans la cuve du spectrophotomètre), la lecture se fait à 515 nm.

La concentration en acide ascorbique est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide L-ascorbique. Les résultats sont exprimés en mg par 100 g de matière sèche (MS).

### II.3.8 Dosage des caroténoïdes

#### Mode opératoire

L'extraction et le dosage des caroténoïdes sont estimés par la méthode de **Sass-Kiss et al. (2005)**.

- Peser 0,5 g de poudre des écorces de pomélo ;
- Ajouter 20 ml du mélange hexane/acétone/éthanol (2 :1 :1) ;
- Après agitation pendant 30 min, la phase supérieure est récupérée ;
- 10 ml d'hexane sont ajoutés pour une deuxième extraction ;
- Le mélange des deux phases est utilisé pour le dosage des caroténoïdes totaux par spectrophotométrie à 450 nm.

La concentration en caroténoïdes est estimée en se référant à la courbe d'étalonnage du  $\beta$ -carotène et les résultats sont exprimés en gEq  $\beta$ -carotène/100g de matière sèche.

### II.3.9 Extraction et dosage des protéines solubles

#### Principe

Les protéines sont dosées selon la méthode de **Bradford et al.(1976)**. Le dosage est basé sur la liaison du Bleu de Coomassie G-250 aux résidus d'acides aminés aromatiques présents dans les protéines.

#### ➤ Extraction des protéines solubles

L'extraction des protéines est obtenue selon la méthode rapportée par **Lepengue et al. (2012)**.

#### Mode opératoire

- 1g d'échantillon (écorce fraîche, sèche et graines) est mis en contact de 10 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6,5) en présence de 0,5 g de PVPP;
- Après agitation et centrifugation pendant 15 min à 15 000 rpm, le surnageant est récupéré ;
- Il est précipité avec 5 ml de sulfate d'ammonium 80% puis centrifugé à nouveau ;
- Le culot protéique obtenu a été repris dans 5 ml de tampon d'extraction, homogénéisé et dosé au spectrophotomètre par réaction au bleu de coomassie.

#### ➤ Dosage des protéines solubles

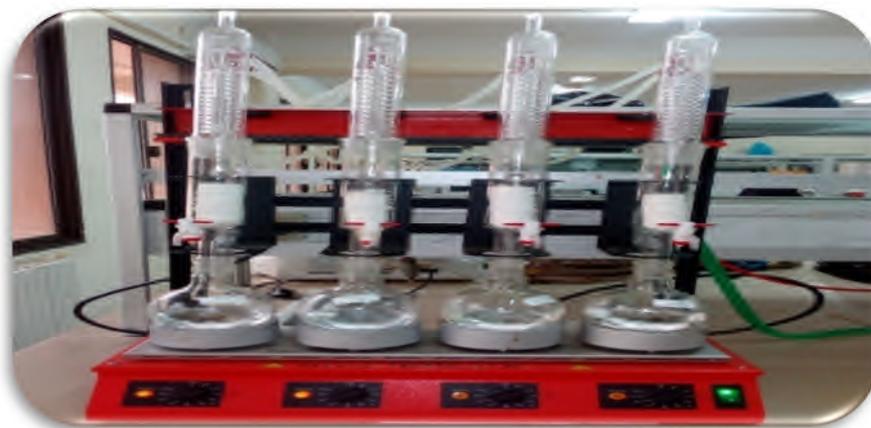
- Prélever 200 µl d'extrait de protéines ;
- Ajouter 2,5 ml de Réactif de Bradford ;
- Homogénéiser le mélange puis l'incuber pendant 5 min à l'obscurité ;
- Mesurer l'absorbance  $\lambda$  595nm.

La teneur en protéines solubles est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue à partir d'une solution de séralbumine bovine BSA. Les résultats sont exprimés en g par 100 g MS.

### II.3.10 Détermination de la matière grasse

#### 🚧 Principe

Quand le ballon est chauffé, les vapeurs du solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le condensât s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, ce qui provoque le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le cycle reprend et le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles. Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète.



**Figure 22:** Extraction de la matière grasse par Soxhlet.

#### 🚧 Mode opératoire

La matière grasse contenue dans l'échantillon est extraite à partir de 30g de poudre en utilisant la méthode de Soxhlet, le solvant utilisé est l'hexane. Après la distillation le pourcentage des lipides est exprimé en poids de matière sèche **AOAC. (1975)**.

- Sécher les ballons de 500 ml à l'étuve à 105 °C pendant une heure, puis les refroidir au dessiccateur pendant 30 mn ;
- Peser les ballons vide à la précision de 0,001 g ;
- Peser 30 g environ de poudre;
- Introduire le broyat dans la cartouche;
- Placer la cartouche avec la prise d'essai à l'intérieur de l'appareil Soxhlet;
- Verser 200 ml de solvant d'extraction dans le ballon et 50 ml dans l'extracteur ;

- Chauffer le ballon pendant 8 h (20 siphonages par heure) jusqu'à épuisement de la matière grasse ;
- Après, éliminer le solvant du ballon par distillation ;
- Sécher le résidu dans une étuve à 70-80 °C ;
- Refroidir le ballon au dessiccateur pendant 30 mn ;
- Peser le ballon avec l'huile à la précision de 0,001g ;
- Répéter l'opération de séchage jusqu'à obtention d'un poids constant du ballon.

### Expression des résultats

Le rendement d'extraction correspondant au taux de matière grasse obtenue est calculé selon la formule suivante :

$$MG(\%) = \frac{P1 - P2}{D2} \times 100$$

**P1** : Poids du ballon vide (g) ; **P2** : Poids du ballon avec l'huile extraite (g) ; **P3** : Poids de la prise d'essai (g).

### II.3.11 Extraction et dosage des sucres totaux

#### Extraction des sucres totaux

L'extraction des sucres est faite selon la technique décrite par **Chow et Landhausser. (2004)**.

- Peser environ 50 mg de poudre et les mettre dans un tube à essai de 15 ml ;
- Ajouter 5 ml d'éthanol 80% froid et bien mélanger ;
- Mettre les tubes au bain-marie 95°C/10 mn ;
- Refroidir dans la glace et centrifuger 10 mn à 2500 tours ;
- Récolter délicatement le surnageant dans un second tube de 15 ml ;
- Verser à nouveau 5 ml d'éthanol 80% sur le culot du premier tube. Bien mélanger et chauffer à nouveau au bain-marie 95°C /10 mn ;
- Récolter le surnageant et mettre dans le second tube ;
- Refaire une troisième extraction ;

- Mesurer le volume du surnageant recueilli et l'utiliser pour le dosage des sucres solubles.

### Dosage des sucres totaux

Les sucres totaux sont mesurés par la méthode de phénol/acide sulfurique **Dubois et al. (1977)**. Cette dernière nécessite une hydrolyse acide (en présence de l'acide sulfurique concentré) qui permet la rupture de toutes les liaisons glucidiques dans les polysides. Le principe du dosage se base sur la condensation des produits de déshydratation des oses avec un chromogène qui est le phénol. Il y'a formation des chromophores de couleur jaune-orange, leurs apparitions sont suivies en mesurant l'augmentation de la densité optique à 490 nm **Dubois et al. (1977)**.

### Mode opératoire

- 1 ml d'extrait est introduit dans un tube;
- Ajouté 1ml de solution de phénol (5%, p/v) et 5 ml d'acide sulfurique (98%);
- Après agitation, les tubes sont maintenus pendant 30 mn à température ambiante et à l'obscurité;
- L'absorbance est lue à 490 nm (la coloration est stable pendant 3 à 4 heures).

La teneur en sucre est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage obtenue avec le glucose. Les résultats sont exprimés en g équivalent de glucose /100g de matière sèche (Eq g glucose /100g MS).

### II.3.12 Détermination de la teneur en cellulose brute

#### Principe

La teneur en cellulose brute est déterminée par la méthode de **Weende. (1809)**. Les matières cellulosiques constituent le résidu organique qui est obtenu après deux hydrolyses successives, l'une en milieu acide et l'autre en milieu alcalin.

 **Mode opératoire**➤ **Hydrolyse acide**

- Peser 0,5g d'échantillon, puis l'introduire dans un Erlenmeyer de 250ml munit d'un réfrigérant ;
- Ajouter 50ml de l'acide sulfurique à 1,25% ;
- Faire bouillir pendant 30 mn; à partir du début de l'ébullition ;
- Séparer l'Erlenmeyer du réfrigérant et filtrer le contenu par un entonnoir à plaque filtrante, ainsi évacuer la plus grande partie du liquide surnageant en conservant la plus grande quantité possible de résidu solide.

➤ **Hydrolyse basique**

- Récupérer le produit retenu par le filtre dans un Erlenmeyer puis ajouter 50ml de la soude et quelques gouttes d'indicateur de bleu de bromothymol (virage du jaune au vert) ;
- Après neutralisation, faire bouillir et laisser pendant 30mn ;
- Filtrer et faire passer le résidu dans des creusets en porcelaine à l'aide d'un jet de pissette d'eau chaude ;
- Mettre les creusets dans l'étuve à 105°C durant une nuit (évaporation sec) ;
- Refroidir et tarer ( $P_1$ ), puis incinérer dans le four à moufle à 550°C pendant 2h ;
- Refroidir dans un dessiccateur et peser de nouveau les creusets ( $P_2$ ) ;
- La différence de poids représente le contenu en fibres brutes sans les cendres.

 **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$\% \text{ Cellulose brute} = \frac{(F_1 - F_2)}{F_0} \times 100$$

Soit :

$F_0$  : Poids sec de la prise d'essai ;

$F_1$  : Poids du résidu dans les creusets pleins avant la calcination ;

$F_2$  : Poids du résidu dans les creusets pleins après la calcination.

### II.3.13 Taux de calcium

#### Principe

Le calcium de l'échantillon à doser est transformé par calcination et acidification en sels de calcium solide ( $\text{CaCl}_2$ ). Le calcium est ensuite précipité sous forme d'oxalate de calcium. L'acide citrique complexe les ions  $\text{Ca}^{2+}$  pour favoriser leur maintien en solution.

#### Mode opératoire

- Transférer 3g de cendres dans un bécher de 250ml, puis ajouter 40ml de HCl et 60ml de  $\text{H}_2\text{O}$  et quelques gouttes d'acide nitrique concentré ;
- Bouillir le mélange pendant 30mn puis filtrer ;
- Récupéré le liquide dans une fiole de 250ml, puis ajouté de l'eau jusqu'à trait de jauge ;
- Après homogénéisation, pipeter du filtrat 25ml;
- Ajouter 1ml d'acide citrique, 5ml de chlorure d'ammonium et 8 à 10 gouttes de bleu de bromocrésol, ensuite porter le tout à un volume de 100ml ;
- Mettre à l'ébullition, puis ajouter 30ml d'une solution chaude d'oxalate d'ammonium ;
- Neutraliser très lentement à l'aide de l'ammoniaque jusqu'à ce que l'indicateur vire au vert bleu ;
- Placer le bécher dans le bain marie pendant 1h ;
- Filtrer le dépôt par un entonnoir filtrant sous vide et laver le précipité à plusieurs reprises jusqu'à la disparition des ions oxalates ;
- Mettre en solution le précipité à l'aide de 50ml d'acide sulfurique ;
- Laver l'entonnoir à l'aide de l'eau chaude et porter le volume à  $\pm 70^\circ\text{C}$  ;
- Titrer goutte à goutte avec le  $\text{KMnO}_4$  (0,1) jusqu'à ce que la solution garde sa couleur légèrement rose.

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante:

$$\text{Ca (\%)} = 2,004 * V * d / \text{PE} * 100$$

Soit

**V** : Volume de  $\text{KMnO}_4$  (ml) ; **D** : Facteur de dilution de la solution ; **PE** : Prise d'essai en mg.

### II.3.14 Analyse des minéraux par la spectroscopie d'absorption atomique(SAA)

Cette partie est réalisée au niveau du laboratoire de Génie Civils de l'université de Bejaia, l'appareil utilisé est un spectromètre d'absorption atomique de marque Thermo Instruments ICE 3000Series AA spectrometer.

#### Principe

L'absorption atomique de flamme est une méthode qui permet de doser essentiellement les métaux en solution. La solution contenant l'élément à doser est aspirée à travers un capillaire et dirigée vers le nébuliseur. Elle est ensuite pulvérisée à très grande vitesse à travers une chambre où s'éliminent les grosses gouttes grâce à une bille brise-jet. La solution ainsi vaporisée est entraînée par le combustible à travers le brûleur à la sortie duquel a lieu la combustion. Après dissociation thermique dans la flamme, les radiations incidentes qui sont fournies par une lampe à cathode creuse qui émet le spectre de l'échantillon sont absorbées. La mesure de cette absorption permet de déterminer la concentration de l'élément à doser.

#### Mode opératoire

##### 1- Minéralisation et préparations des solutions

- Dans trois bécher de 200 ml, peser une quantité de 0,2 g de cendre pour chaque échantillon;
- Ajouté 200ml d'eau distillée dans chaque bécher ;
- Agiter les solutions dans des plaques agitatrices pendant 10min ;
- Filtrer le contenu, puis récupérer le résidu final (liquide) dans des tubes à essai.

##### 2-Préparation des solutions standards

###### a. Solution mère

- Peser environ 0,2g de chaque minéral à analyser (Mg, Cu, Fer) ;
- Ajouter 200 ml d'eau distillée dans chaque solution.

###### b. Solutions filles

À partir de la solution mère de 0,2g/ml, préparer une série de solutions avec de l'eau distillée. (Les concentrations suggérées sont 100, 10, 5, 2,5, 1, 0,5 et 0,25 g/ml).

### 3- Dosage

Les longueurs d'ondes des éléments à analyser sont d'abord définies sur l'appareil (285,5 nm pour le magnésium, 324,8 nm pour le cuivre et 248,3 nm pour le fer). Ensuite, les différentes lectures des gammes d'étalonnages permettent d'établir la courbe d'étalonnage traduisant l'absorbance en fonction de la concentration. Enfin, les solutions contenant les cendres sont présentées à l'appareil afin de déterminer l'absorbance. Notons qu'il faut obligatoirement faire passer le blanc entre le passage de deux solutions différentes.

## II.4. Extraction des composés phénoliques

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour extraire les composés phénoliques des écorces séchées d'agrumes, comme l'extraction par des ultrasons, micro-ondes, hautes pressions, l'extraction conventionnelle par solvant et par CO<sub>2</sub> supercritique.

Dans notre travail, l'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre des écorces de pomélo a été réalisée par deux méthodes, à savoir l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) et l'extraction conventionnelle par solvant (ECS) on utilisant des protocoles déjà optimisés.

### II.4.1 Extraction assistée par micro-ondes des écorces séchées

Les polyphénols ont été extraits à partir des écorces séchées de pomélo en utilisant un four à micro-ondes domestique (MAXI POWER 23S), qui fonctionne à une fréquence de 2,45 GHz et une puissance de sortie maximale de 1000W avec une incrémentation de 100W. La dimension de la cavité de chauffage est de 281mm (H) × 483mm (W) × 387mm (D).

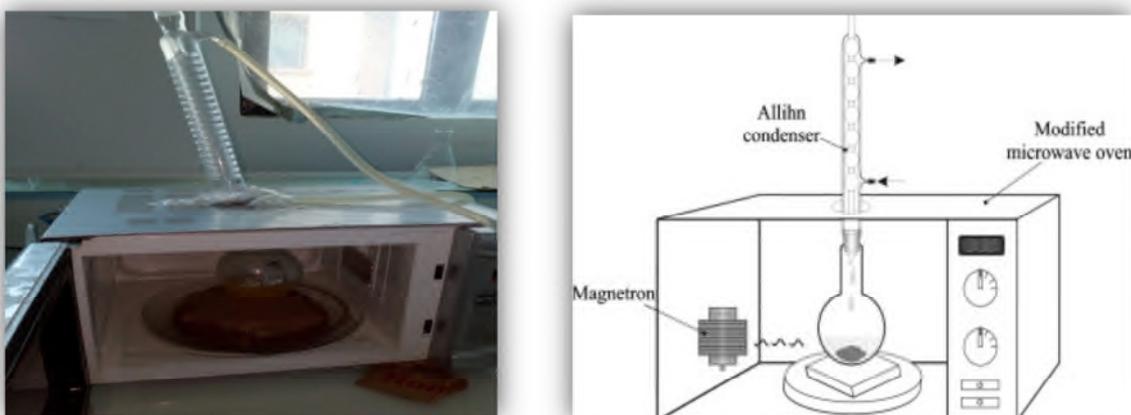


Figure 23: Matériels utilisés pour MAE

Les conditions utilisées sont présentés dans le tableau ci-après.

**Tableau VI :** Conditions optimales d'extraction (MAE)

	% Ethanol (% V/V)	Puissance (W)	Temps (Sec)	Ration (ml/g)	Valeurs expérimentales	Valeurs prédites
TPC (mg EqAG/g)	40	300	30	70	31,10±2,11	29,32

#### II.4.2 Extraction conventionnelle

Les conditions d'extraction par ECS sont celles proposées par **Balunkeswar Nayak et al. (2015)**. Pour permettre la comparaison avec la MAE. Le solvant utilisé est l'éthanol 40% qui est le solvant le plus utilisé dans les applications industrielles, la température d'extraction a été fixée à 60°C pendant 2 heures.

Brièvement, 4g de poudre (écorce séchée) ont été mélangé à 70 ml d'éthanol à 40% (v/v), le mélange a été mis dans un bain-marie thermostatique (*modèle : WNB22, Memmert, Francfort, Allemagne*) à 60°C pendant 2 heures. Les extraits obtenus sont soumis à une filtration à l'aide de papier filtre, puis conservés à 4°C jusqu'à utilisation.



**Figure 24:** Photographie du matériel utilisé pour ECS

**II.5. Mise en évidence de quelques métabolites secondaires****II.5.1. Saponines**

La détection des saponines est réalisée au moyen du test de **Yadav et al. (2011)**. A 1ml d'extrait, sont ajoutés 3ml d'eau distillée. Après agitation pendant 2mn la formation d'une mousse persistante indique la présence des saponines.

**II.5.2. Alcaloïdes**

La présence d'alcaloïdes est révélée par la méthode d'**Amana. (2007)**. Quelques gouttes du réactif de Bouchardat sont ajoutées à 2ml de l'extrait. La formation d'un précipité brun-noir, brun-terne ou jaune-brun indique la présence de ces métabolites dans le milieu.

**II.5.3 Terpenoïdes**

La méthode d'**Azimanet al. (2012)** permet de mettre en évidence la présence des terpénoïdes. A 2,5ml d'extrait est ajouté 1ml de chloroforme. Après homogénéisation, 1,5 ml d' $H_2SO_4$  concentré sont ajoutés au mélange. La formation d'une couleur brun rouge à l'interface indique la présence de ces composés.

**II.5.4 Composés phénoliques**

La méthode de **BÉKRO et al. (2007)** permet de mettre en évidence la présence des polyphénols totaux. Placer 2 ml de chaque solution dans un tube à essai et ajouter quelques gouttes de  $FeCl_3$  10%. La présence des composés phénoliques dans les extraits est indiquée par l'apparition de la couleur vert noirâtre.

**II.5.5. Les tanins**

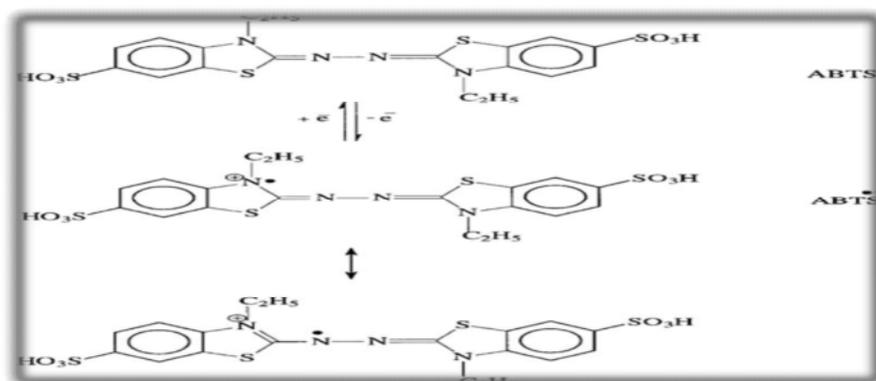
La détection des tanins est réalisée au moyen du test de **Soulama et al. (2014)**. 2 à 3 gouttes de la solution  $FeCl_3$  (2%) sont ajoutées à chaque extrait. L'apparition d'une coloration bleue foncée signale la présence des tanins galliques, tandis qu'une coloration vert foncée indique la présence de tanins catéchiques. La coloration bleu-verdâtre indique la présence des deux types de tanins.

## II.6. Détermination de quelques activités anti oxydantes

## II.6.1 Activité anti radicalaire de L'ABTS

 Principe

C'est l'une des méthodes les plus utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante **Milardovic et al. (2007)**. Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique  $ABTS^{\circ+}$  de coloration bleu-verte en le transformant en  $ABTS^+$  incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant (**Damintoti et al. 2005 ; Osman et al. 2006**) (figure 34).



**Figure 25** : Les étapes de formation du radical ABTS **Stjepan et al. (2007)**.

La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de piéger le radical libre. La capacité antioxydante, exprimée en équivalent Trolox (TEAC), correspond donc à la concentration de Trolox ayant la même activité que la substance testée.

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


 Mode opératoire

Le pourcentage d'inhibition du radical  $ABTS^{\circ+}$  est évalué par la méthode de **Ramfulet al. (2010)**.

- Préparation de la solution d' $ABTS^{\circ+}$  par mélange de 7 mM d'ABTS et de 2,45mM de persulfate de potassium;

- Incubation de cette dernière pendant 12-16h à l'abri de la lumière et de la température ambiante;
- Dilution de la solution d'ABTS est avec l'éthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance de 0,7 plus au moins 0,02) à 734 nm ;
- Addition de 1,9 ml de la solution d'ABTS à 100 µl de l'extrait à différentes concentrations;
- Après l'incubation de 7 mn à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 734 nm.

La capacité antioxydante des extraits testés, est exprimée par rapport aux concentrations du standard Trolox (TEAC). Le pouvoir anti radicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical ABTS<sup>+</sup> :

$$\text{Pourcentage d'inhibition du radical ABTS(\%)} = \frac{|\text{Contrôle}| - |\text{Extrait}|}{|\text{Contrôle}|} \times 100$$

Soit

**Abs Contrôle** : Absorbance du témoin ;

**Abs Extrait** : Absorbance de l'extrait.

Le contrôle contient l'ABTS et le solvant d'extraction (éthanol 40%), par contre le blanc contient juste les solvants de préparation des réactifs.

## II.6.2 Pouvoir réducteur du fer

### Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). En effet le Fe<sup>3+</sup> participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton.

L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm **Oyaizu. (1986)**. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés **Hubert. (2006)**.

### Mode opératoire

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par **Oyaizu. (1986)**.

- 1 ml de l'extrait à différentes concentrations (de 0,005 à 1,604mg/ml) est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1% ;
- L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 mn ;
- 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour arrêter la réaction ;
- Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 mn ;
- Une aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution aqueuse de  $FeCl_3$  à 0,1% ;
- La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par un volume égal de l'éthanol qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre).

Le contrôle positif est un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que celle des échantillons.

Pour explorer les résultats obtenus, la manière la plus commune utilisée par la majorité des auteurs est de tracer les graphes des absorbances obtenues en fonctions des différentes concentrations utilisées pour chaque extrait étudié. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées. La concentration ( $IC_{50}$ ) en extrait brut permettant d'avoir une absorbance de 0,5 **Jabri et al. (2012)** est déterminée en traçant une courbe en fonction de la concentration par le biais du logiciel graph pad.

Une analyse descriptive des résultats de trois essais a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007.

Une étude statistique a été faite par l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur pour les différents dosages pour les écorces séchées, fraîches et pépins et les résultats des activités antioxydants et cela pour la comparaison de ces résultats et la mise en évidence ses différences significatives entre les échantillons.

# **Matériel et méthodes**

### III.1 Caractéristiques morphologiques (qualitatifs et quantitatifs)

Afin de déterminer la variété de l'espèce étudiée, les caractères qualitatifs et quantitatifs (vingt) ont été déterminés sur les fruits, les feuilles et les graines de *Citrus x paradisi* (Tableaux IX, X et XI).

#### III.1.1 Caractéristiques du fruit

Dans le tableau (VII) sont montrées les caractéristiques morphologiques qualitatives et quantitatives du fruit *Citrus x paradisi*. D'après les résultats obtenus nous avons observé que le fruit est d'une forme aplatie, enveloppé d'une écorce moyennement épaisse de couleur jaune, (épicarpe) avec une pulpe fine très juteuse de couleur jaune pâle. Concernant la texture de la surface du fruit, elle est lisse dépourvue d'aréoles avec un nombre moyen de quartier qui varie entre 10-14. Ainsi que la forme de l'axe en coupe transversal est généralement ronde.

**Tableau (VII):**Caractéristiques morphologiques qualitatives et quantitatives du fruit pomélo

Fruit	Caractères qualitatifs	FFR	CEP	CPU	ICPU	NQ	FCT	TSFR	AP/A
		Aplatie	Jaune	Jaune	Pale	10-14	Rond	Lisse	Absence
Fruit	Caractères quantitatifs	PFR(g)		DFR (mm)		LOFR (mm)			
		216,20±28,25		79,5± 4,21		66,96±3,43			

La forme du fruit étudié a été confirmée par **Chapot.(1950)** lors de son étude comparative entre le pamplemousse *Citrus grandis* (forme ovoïde) qui est originaire des Antilles Anglaise et le pomélo *Citrus x paradisi* (forme aplatie) de Malaisi, ainsi que le poids (296,4g), le nombre de quartier par fruit (12 quartiers) et la texture de surface du fruit (lisse) on été confirmés par **Guimarães et al.(2010)** lors de leur étude sur la caractérisation morphologique des différents agrumes Grapefruit (*Citrus paradisi*), Limon (*Citrus limon*), Lime (*Citrus- aurantifolia*) et Orange (*Citrus sinensis*).

Concernant les caractères quantitatifs, les résultats présentés dans le tableau (IX) (annexe II) indiquent clairement que le poids du fruit étudié varie entre 281,07g-146,36g, avec une moyenne de 216,20g, et un diamètre qui varie entre 89mm-68mm dont la moyenne

est de 79,5mm ainsi que la longueur moyenne qui est de 66,96mm. Le poids des fruits évalués dans la présente étude nous confirme aux résultats trouvés par **Guimarães et al. (2010)** lors de leur étude sur la caractérisation morphologique des différents fruits de citrus. Ces chercheurs ont trouvé un poids de 296,4g pour le *Citrus x paradisi* (d'origine Espagnole) qui est proche du poids de nos échantillons. **Herath et al. (2016)** ont également signalé que la hauteur et la largeur du fruit est de 100,3mm et 99mm, respectivement, ces dernières sont supérieures à celles de notre échantillon. Cela peut s'expliquer par le fait que la quantité du jus contenu dans le fruit étudié est faible.

### III.1.2 Caractéristique des feuilles de *Citrus x paradisi*

Les caractéristiques qualitatives et quantitatives de *Citrus x paradisi* cultivé en Algérie sont illustrées dans le tableau (VIII).

**Tableau VIII:** Caractéristiques morphologiques qualitatives et quantitatives des feuilles

Feuilles	Caractères qualitatifs	ICFV	FL	ILF	DivF
		Vert foncé	Ovée	Brévipétiolé	Bi foliée
Caractères quantitatifs	LOF (cm)		DF (cm)		
	9,14		4,13		

D'après une étude morphologique qualitative sur 20 feuilles du fruit *Citrus x paradisi* nous avons constaté qu'elles sont de couleur verte foncée, de forme ovée et d'une insertion brévipétiolé (le pétiole est plus court que le limbe) dont le limbe mesure en moyenne 7,765cm, et le pétiole 1,385cm; elles ont une division bi foliée (Divisée en deux folioles).

Nous avons également effectué une étude morphologique quantitative sur 20 feuilles, leur longueur varie entre 6,4cm–13,5 cm avec une moyenne de 9,14cm. Ainsi que leur diamètre qui varie entre 3,2cm-6,9cm dont la moyenne est de 4,13cm. Ces résultats concordent avec ceux de **Morton.(2004)** qui a étudié la morphologie des différents citrus (Sour Orange, Orange, Mandarin Orange, Tangor, Pummelo, Grapefruit '*Citrus paradisi*', Tangelo, Orangelo, Lemon Mexican, Lime Tahiti, Lime Sweet, Lime Calamondin, Mandarin Lime, Citron, Kumquat, Sundry Hybrids, and Rootstocks, Bael Fruit, Wood-Apple, White Sapote, Wampee). Les feuilles de *Citrus x paradisi* étudiés par **Morton** sont de couleur verte

foncée et de forme ovoïde, leur diamètre varie entre 4,5-7,5 cm et leur longueur entre 7,5-15 cm.

### III.1.3 Caractéristiques qualitatives des graines

Le tableau IX montre le nombre de graines par fruit, leurs différentes formes et leur couleur. Nous avons constaté que la forme des graines de *Citrus x paradisi* est ovoïde (ovale), et d'une couleur crème avec un nombre qui varie entre 1-4 par fruit. On comparant les résultats obtenus à ceux rapportés par Morton.(2004) concernant le nombre de graines par fruits, on déduit que nos valeurs sont dans la gamme de celles décrites pour la même espèce de la variété *Marsh seedless* cultivé en Floride, Californie, Texas (Nombre de graines entre 3 à 8 graines dans un fruit ou parfois absente. Chapot. (1950) a décrit également que la graine de pomélo (*Citrus paradisi*) est de couleur crème et lisse.

**Tableau (IX):** Caractéristiques morphologiques qualitatives des graines

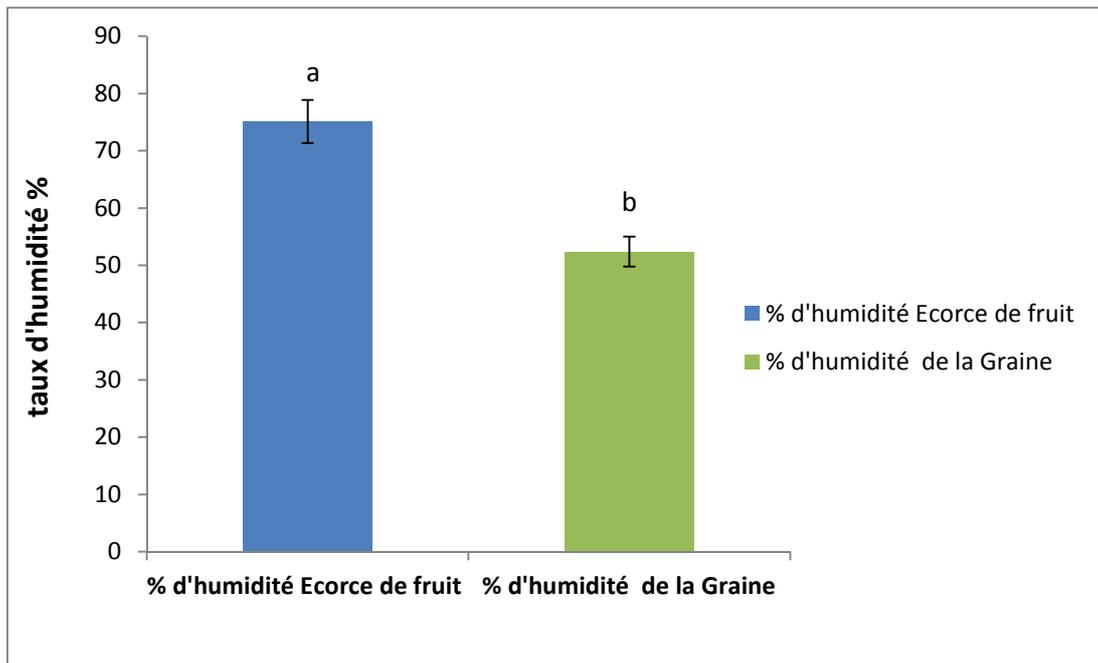
Graines	Caractères qualitatives	FGR	CGR	NGFR
		Ovoïdes	Crème	1-4

Dans le cadre de notre étude, le fruit utilisé a été acheté frais au marché local dans la région de Bejaïa (Algérie), au mois de février 2019. Les résultats trouvés ont été comparés aux travaux menés par certains auteurs. D'après les résultats des caractéristiques étudiées et selon les experts du département expérimental de l'ITAF de BOUFARIK (Alger), nous avons conclu que la variété étudiée est celle de *Marsh seedless*, qui se caractérise par son écorce lisse de couleur jaune, sa chair juteuse et son nombre de pépins (peu ou pas de pépins). Le pomélo a une saveur acidulée, plus ou moins sucrée avec une pointe d'amertume.

## III.2 Evaluation des paramètres physico-chimiques des sous-produits (écorce et graines)

### III.2.1 Taux d'humidité

Les taux d'humidité des échantillons de *Citrus x paradisi* (écorce et graines) sont calculés et les résultats sont montrés dans la figure 26. L'analyse statistique des valeurs obtenues pour les deux parties a révélé une différence significative ( $p < 0,05$ ).



**Figure 26** : Taux d'humidité du fruit et de la graine de pomelo

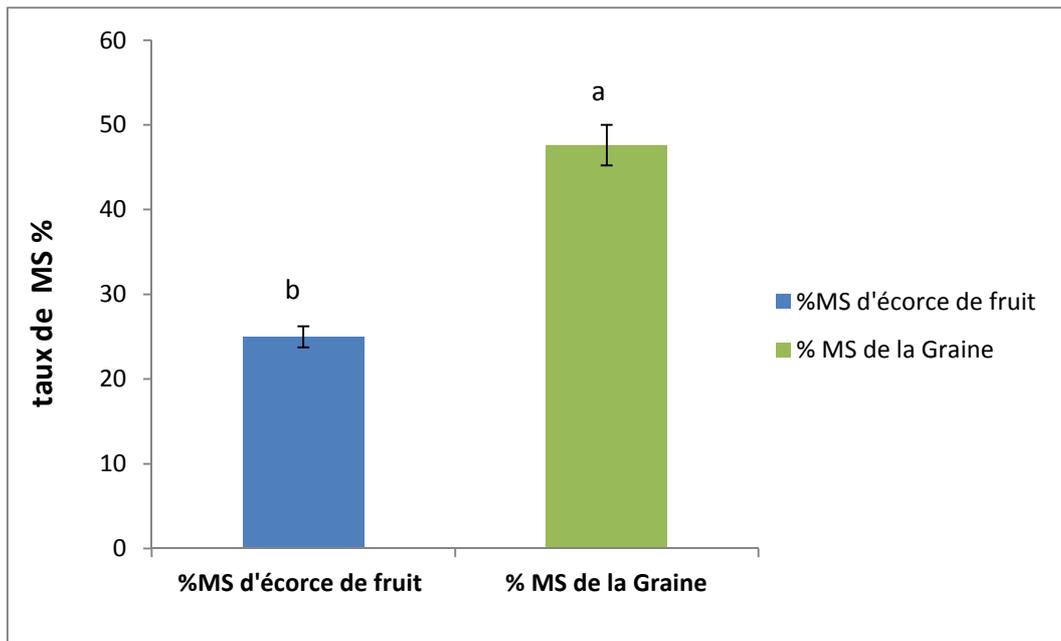
*Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : test student ( $p < 0.05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $a > b$*

La détermination de l'humidité des fruits est très importante pour prévoir le rendement après le séchage. Au regard des résultats présentés dans la **figure 26**, il ressort que les différents échantillons analysés sont très riches en eau (75,11% pour l'écorce fraîche et 52,38% pour la graine).

### III.2.2 Taux de matière sèche

Les taux de matière sèche des échantillons de *Citrus x paradisi* sont calculés et les résultats sont montrés dans la **figure 27**.

L'analyse statistique des valeurs obtenues pour les deux parties a révélé une différence significative ( $p < 0,05$ ).



**Figure 27:** Taux de matière sèche du fruit et de la graine de pomelo.

*Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $a > b$*

Au regard des résultats présentés dans la **figure 27**, il ressort que la graine de pomélo présente un pourcentage très important en matière sèche (49,38%). Par conséquent un pourcentage faible en matière sèche dans les écorces séchées de pomélo avec un pourcentage de 24,98%.

### III.2.3 Paramètres physico-chimiques du jus de pomelo

#### 🚦 Le pH

Le potentiel d'hydrogène est une des variables utilisées pour caractériser les propriétés des milieux. Relativement facile à mesurer, le pH est utilisé dans de nombreux domaines comme variable opératoire, caractérisant le produit fini, il est aussi utilisé à des fins de contrôle de qualité **Boukhiar. (2009)**.

Les résultats obtenus (tableau **XII**) montrent que la valeur du pH de pomélo est de 2,723. Cette valeur est inférieure à celle trouvée par **Herath et al. (2016)** lors de leur étude sur les paramètres morphologiques et biochimiques des agrumes (*C.limon*, *C.maxima*, *C.sp*, *C.paradisi* et *C.aurantium*), ils ont rapporté une teneur de 3,42 pour l'agrume pomélo (*Citrus x paradisi*).

Tableau X: Paramètres physico-chimique du jus

Paramètres étudiés	pH (T°=20,8°C)	Acidité (g /100 g)	Brix (20°C) g/100 g	Jus (%)
Valeurs	2,723±0,004	0,59167±0,026	11,18±0,716	37,364±3,234

#### 🚦 Acidité titrable

L'acidité titrable est une mesure de la concentration totale d'acide. Dans la titration avec une base, tous les ions H<sup>+</sup> sont neutralisés qu'ils soient ionisés ou non.

L'acidité est étroitement liée à la composition biochimique de la matrice étudiée. D'après les résultats présentés dans le tableau X, l'acidité titrable du jus de *Citrus paradisi* est de 0,59±0,026g/100g. **Aadi et al.(2014)** ont mesuré l'acidité titrable du jus de *Citrus paradisi*, elle était de 0,11±0,01g/100g, elle est inférieure à celle obtenue dans la présente étude. La variabilité de l'acidité peut être due à la période de récolte des fruits ou bien aux conditions écologiques de croissance (**Simsek et Yildirim, 2010**).

#### 🚦 Brix du jus

Le Brix ou pourcentage de matière sèche soluble sert à mesurer la concentration des glucides dans un produit. Selon les résultats illustrés dans le tableau X, la teneur en glucides contenue dans le jus de pomélo *Citrus paradisi Marsh sedless* est de 11,18 g/100g. Les études réalisées par **Sharma et al. (2015)**, ont rapporté que le Brix du jus de *Citrus paradisi* de cette variété est de 8,50±0,23 g/100g.

La valeur du Brix obtenue dans le présent travail est supérieure à celle obtenue par **Sharma et al. (2015)**, cette différence peut être expliquée par l'origine géographique, la composition du sol et la température du climat. Selon **Janick. (1992)**, la position du fruit sur l'arbre peut influencer sa concentration en sucres. En effet, l'exposition du fruit à la lumière, induit une augmentation de sa teneur en sucres. L'énergie électromagnétique libérée par la lumière est utilisée pour synthétiser les carbohydrates et d'autres constituants cellulaires à partir de dioxyde de carbone et d'eau. Les triose-phosphates obtenus sont convertis en saccharose (**Van Bel et Hess, 2008**).

### 🚩 Pourcentage du jus

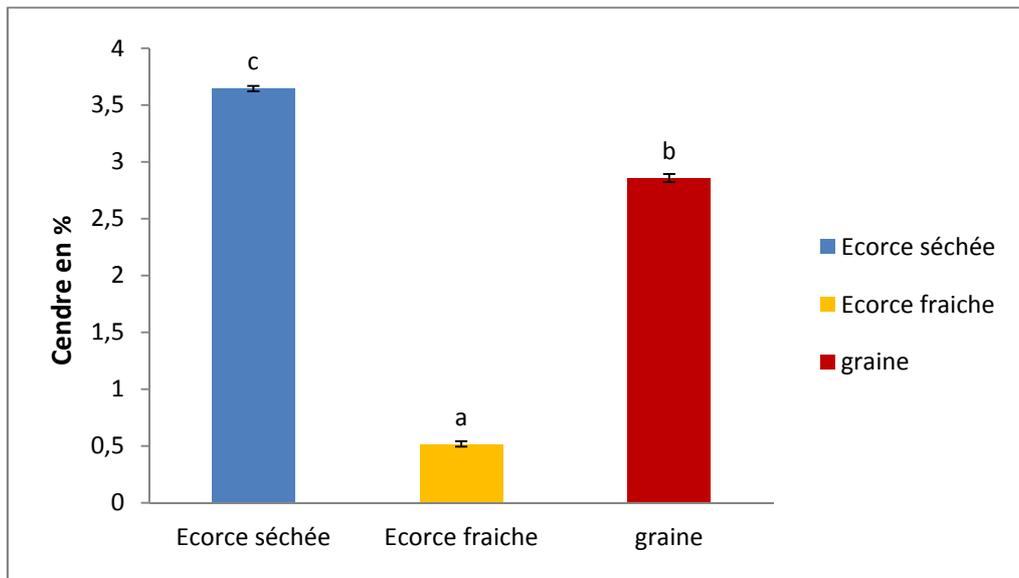
La teneur en jus est un critère déterminant de la qualité organoleptique des agrumes. Selon les résultats obtenus (**tableau X**), le pourcentage du jus est de  $37,364 \pm 3,234\%$ . Les études réalisées par **Sharma et al. (2015)** sur *Citrus paradisi* de variété *Marsh sedles* sont rapporté un pourcentage de  $(53,45 \pm 2,29\%)$ .

Généralement le pourcentage du jus varie selon les variétés, l'état de maturité et les conditions climatiques (**Russo et Fanizza, 1992; Etxeberria et al, 2005; Iglesias et al, 2007; Iqbal et al, 2012**). De même la qualité du jus des agrumes dépend également d'un grand nombre de facteurs comme le climat **Ebel et al. (2004)**, les conditions de culture **Cabezas et al. (2010)**, l'exposition et le positionnement des fruits dans l'arbre.

#### III.2.4. Teneur en cendres de l'écorce séchée, fraîche et de la graine

Les teneurs en cendres des échantillons sont calculés et rapportées sur de la figure 28. L'analyse statistique révèle des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre les différents échantillons.

Le taux de cendres représente la quantité totale de sels minéraux présents dans un échantillon. Selon la figure 28, cette teneur est plus élevée dans l'écorce séchée (3,64 %), suivie respectivement de la graine (2,85 %), puis de l'écorce fraîche (0,51 %). Nos résultats sont inférieurs à celui trouvé par **Luna et al. (2018)** qui est de 5% pour l'écorce de *Citrus paradisi Macfad*. Selon ces auteurs, le taux de cendres de la graine de *Citrus paradisi Macfad* est de 5,03%. Cela signifie que le traitement thermique par évaporation de la poudre fait augmenter la teneur en sels minéraux et par conséquent celui des cendres.

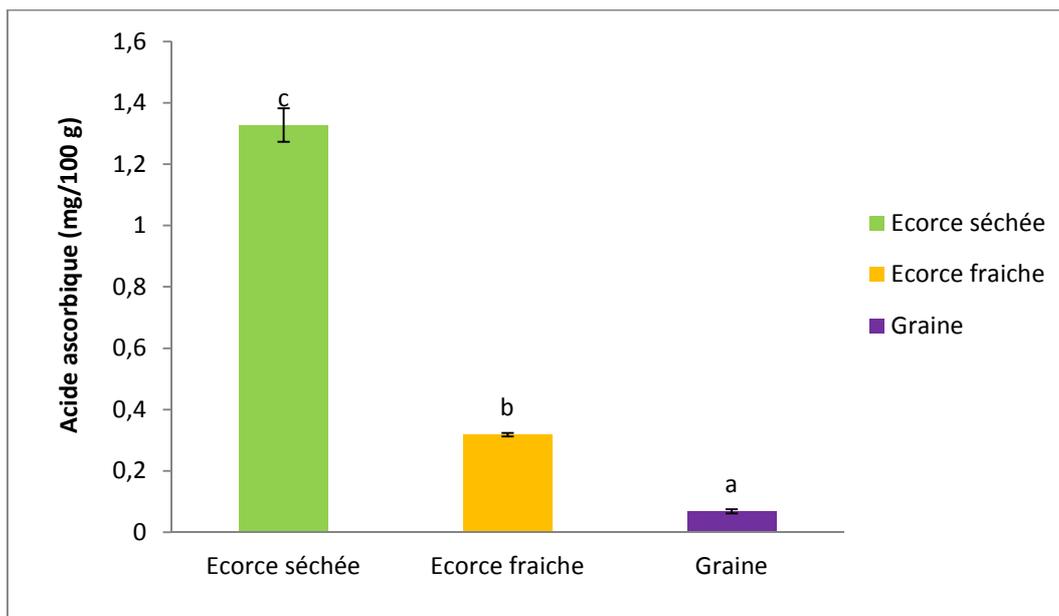


**Figure28:** Teneur en cendres(%) de l'écorce séchée, fraîche et de la graine du fruit de pomelo.

*Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes: MANOVA-LSD ( $p < 0.05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $c > b > a$*

### III.2.5. Vitamine C

Les teneurs en vitamine C rapportées sur l'histogramme ci-dessous (**figure 29**). L'étude statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les différentes parties du fruit.



**Figure 29 :** Teneurs en vitamine C de l'écorce séchée, écorce fraîche et de la graine du fruit de pomélo.

Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : ANOVA- LSD ( $p < 0.05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $c > b > a$

L'acide ascorbique est la forme réduite de la vitamine C, possède des propriétés antioxydantes et même pro-oxydantes. La **figure 29** illustre les résultats du dosage de l'acide ascorbique dans les différentes parties du fruit pomélo, dont le pourcentage de la graine est faible et ne dépasse pas 0,0682 g/100 g, la plus grande teneur est notée pour l'écorce séchée (1,3275 g/100 g) suivie de l'écorce fraîche avec une teneur de 0,3176 g/100g.

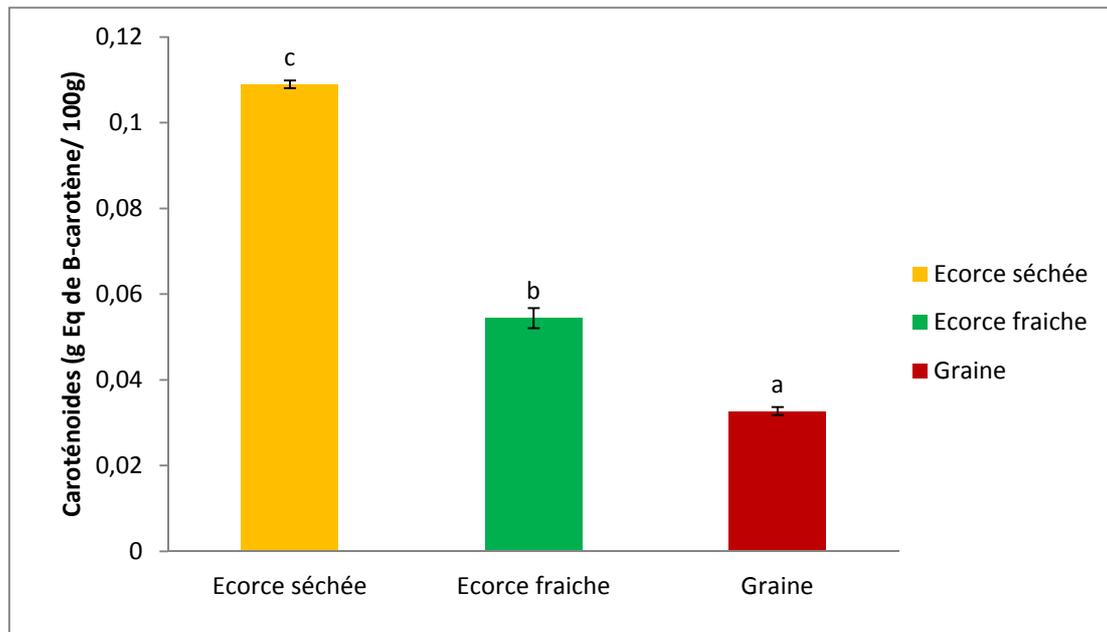
Quelques études se sont intéressées à la quantification de l'acide ascorbique dans le pomélo. Selon **Kefford. (1960)**, l'écorce séchée du fruit pomélo contient une teneur de 0,239g/ 100g, alors que **Magwaza. (2018)** a rapporté une teneur de 0,030–0,060g /100 g et **Burdurluet al. (2005)** a enregistré une concentration de 0,2058 g /100g. D'autre part, les pépins de *Citrus x paradisi* renferment une teneur 1,7g/100g de poids frais en vitamine C (**Steven Nagy, 1980**). Nous constatons que les concentrations retrouvées pour l'écorce séchée de pomélo sont plus élevées que celles trouvés par les auteurs déjà cités, contrairement à la graine qui contient une teneur plus faible en vitamine C.

Le contenu en acide ascorbique peut être affecté par plusieurs paramètres tels que le climat (plus l'intensité de lumière augmente, plus la teneur en acide ascorbique augmente), les pratiques culturales (l'ajout de potassium augmente la teneur en acide ascorbique, l'effet contraire est obtenu avec l'ajout de l'azote), la maturation à la récolte, la méthode de récolte (les fruits endommagés à la récolte ont tendance à perdre de l'acide ascorbique), le stockage et les transformations post-récoltes (**Kader, 1988 ; Valenteet al, 2011**).

### III.2.6. Caroténoïdes

Les teneurs en caroténoïdes (g/100g de  $\beta$ -carotène) de l'écorce séchée, fraîche et de la graine du fruit de pomelo sont calculées et rapportées sur l'histogramme ci-dessous (**figure 30**). L'étude statistique a montré une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre la teneur des différents échantillons.

Les agrumes sont une bonne source de caroténoïdes, ces pigments sont responsables de la couleur jaune, orange, et rouge des fruits et des légumes. Ils ont un impact significatif sur la qualité commerciale et alimentaire des produits. Par ailleurs, les caroténoïdes peuvent agir en tant qu'antioxydant selon plusieurs mécanismes (**Pastre, 2005**).



**Figure 30 :** Teneur en caroténoïdes de l'écorce séchée, fraîche et de la graine.

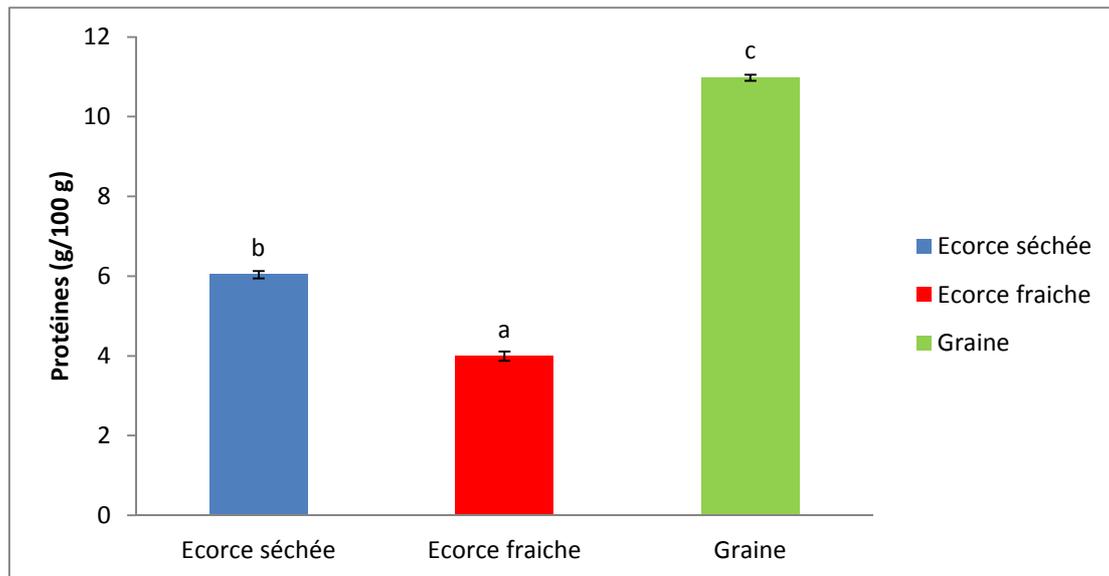
Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : ANOVA-LSD ( $p < 0.05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $c > b > a$

Au cours de leur extraction deux phases bien distinctes se sont formées: une phase apolaire lipophile à partir de laquelle ont été isolées les caroténoïdes et une phase polaire qui renferme des molécules hydrophiles telles que les polyphénols et particulièrement les flavonoïdes.

D'après les résultats obtenus (**figure 30**), la teneur la plus élevée est notée pour l'écorce séchée (0,10 g équivalent  $\beta$ -carotène/100g MS) suivie des écorces fraîches et pépins avec des concentrations de 0,05 et de 0,03 g équivalent  $\beta$ -carotène/100g MS, respectivement. L'étude de **Guimarães et al. (2010)** sur les écorces de pomélo du genre (*C. paradisi* 'Star Ruby') a rapporté des concentrations en caroténoïdes de  $2,1 \cdot 10^{-4} \pm 0,0310^{-4}$  g E  $\beta$ - carotène/100 g MS. Ces valeurs sont largement inférieures à celles trouvées dans la présente étude. Cette différence est due entre autre à l'espèce de l'agrume étudiée et à d'autres facteurs incontrôlables tels que la maturation, l'ensoleillement, les précipitations, la température et l'origine géographique, et même la méthode de dosage.

### III.2.7. Protéines

Les teneurs en protéines totales de l'écorce séchée, fraîche et de la graine du fruit de pomelo sont calculées et rapportées sur l'histogramme ci-dessous (**figure 31**).



**Figure 31:** Teneur en protéines totaux de l'écorce séchée, fraîche et de la graine.

*Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : ANOVA-LSD ( $p < 0.05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $c > b > a$*

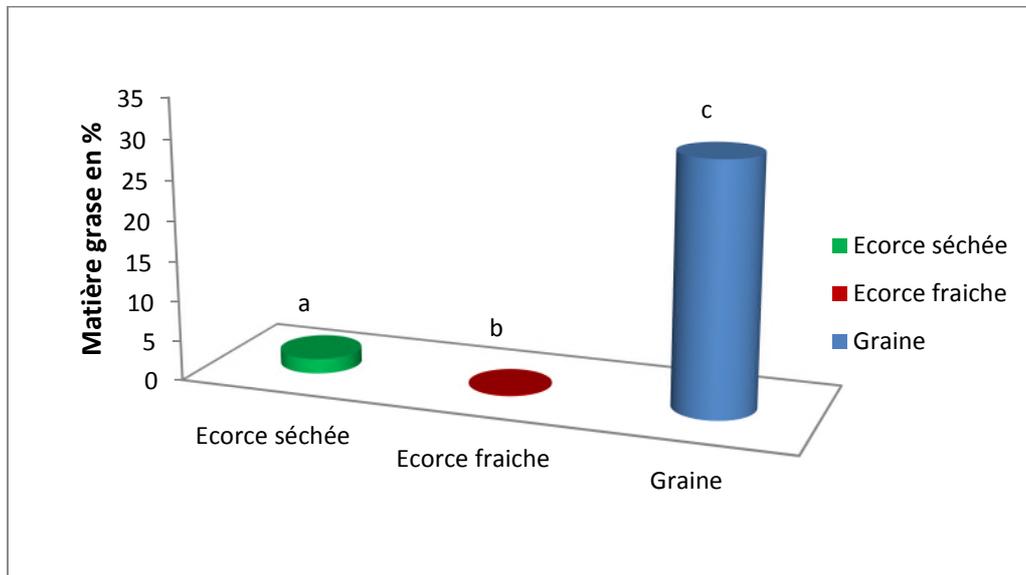
La teneur la plus élevée est notée pour les graines (10,9769 g/100 g MS), suivie de celle des écorces séchée et fraîche avec des concentrations de 6,0353 et 3,9936 g /100g MS, respectivement. L'étude statistique a montré une différence ( $p < 0,05$ ) entre les différentes parties de pomélo. Ces valeurs sont plus élevées que celle trouvée par **Anwar et al. (2008)** qui est de  $3,90 \pm 0,15$  g/100g MS pour la graine et celle rapportée par **Morton.(2004)** qui est de 0,4 g/100g pour les écorces de pomélo. Ces différences entre les résultats peuvent être dues à la différence de la méthode utilisée pour le dosage de ces métabolites.

### III.2.8. Matière grasse

Les teneurs en matière grasse de l'écorce séchée, fraîche et de la graine du fruit de pomelo sont calculées et rapportées sur l'histogramme ci-dessous (**figure 32**).

L'analyse statistique a montré une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les différentes parties. Les résultats de notre étude montrent que la graine du fruit contient une teneur plus élevée en matière grasse qui est de 30,64 %.

Concernant l'écorce, il est remarquable que l'écorce séchée possède une teneur faible en matière grasse 1,85%, suivie par l'écorce fraîche qui vient en dernière position avec seulement 0,11%.



**Figure 32:** Teneurs en matières grasses de l'écorce séchée, écorce fraîche et de la graine.

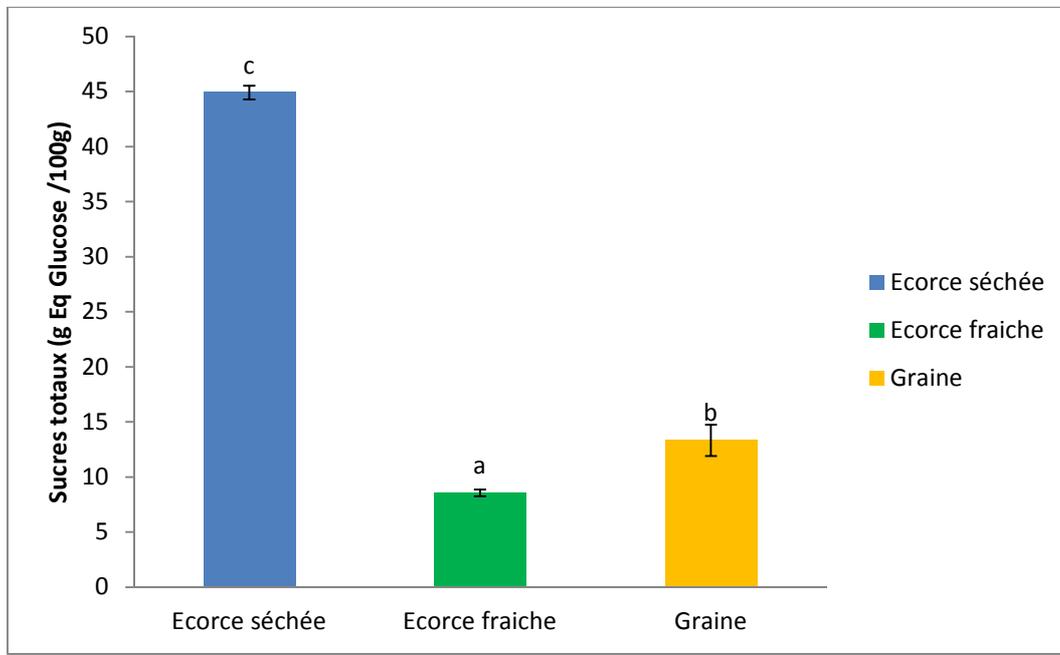
*Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : ANOVA- LSD ( $p < 0.05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $c > a > b$*

L'étude menée par **Kefford. (1960)** sur les constituants chimiques des agrumes (orange, mandarine, pamplemousse, citron et citron vert) a enregistré une teneur approximative de 41% en matière grasse pour la graine et un pourcentage de 2-4% pour l'écorce de pomélo. Ces valeurs sont supérieures à celles obtenues dans notre étude qui sont de 30,64% et 1,85%, 0,11%, respectivement.

La graine contient la teneur la plus élevée en matière grasse par contre la teneur en matière de l'écorce séchée est relativement élevée par rapport à celle de l'écorce fraîche, ceci pourrait être expliqué par une concentration des nutriments dans le fruit après l'élimination d'une partie de l'eau présente dans le fruit frais, sous l'effet du séchage.

### III.2.9. Sucre totaux

Les résultats de dosage des sucres totaux sont représentés dans la **figure 33**. L'analyse statistique a montré une différence significative ( $p < 0,05$ ) de la teneur en sucres totaux des différents échantillons.



**Figure 33** : Teneur en glucides totaux de l'écorce séchée, écorce fraîche et de la graine.

*Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : ANOVA-LSD ( $p < 0,05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $c > b > a$*

Les glucides totaux constituent la majeure partie de notre alimentation et sont apportés surtout par les fruits **Lee et al. (1970)**. La concentration en glucides des fruits est d'un grand intérêt à cause de leur influence sur les propriétés organoleptiques, elle constitue un critère d'évaluation de la maturation, elle conditionne la stabilité des fruits (**Golubev et al, 1987 ; Jiang et al, 2013**).

A l'état frais, la teneur en sucres totaux de l'écorce de pomélo est de 8,564 g/100 g MS, après le séchage cette concentration subit une augmentation importante (44,901g/100 g MS). En effet, le séchage s'accompagne d'une augmentation significative du taux de sucres totaux. Concernant la graine, elle présente une teneur de 13,33 g/100 g MS en sucres totaux. Ces teneurs sont supérieures à celles rapportées dans la littérature (**Guimarães et al. 2010**) pour l'écorce séchée (pelure fraction polaire :  $27,368 \pm 2,023$  g/100g), ainsi que l'étude

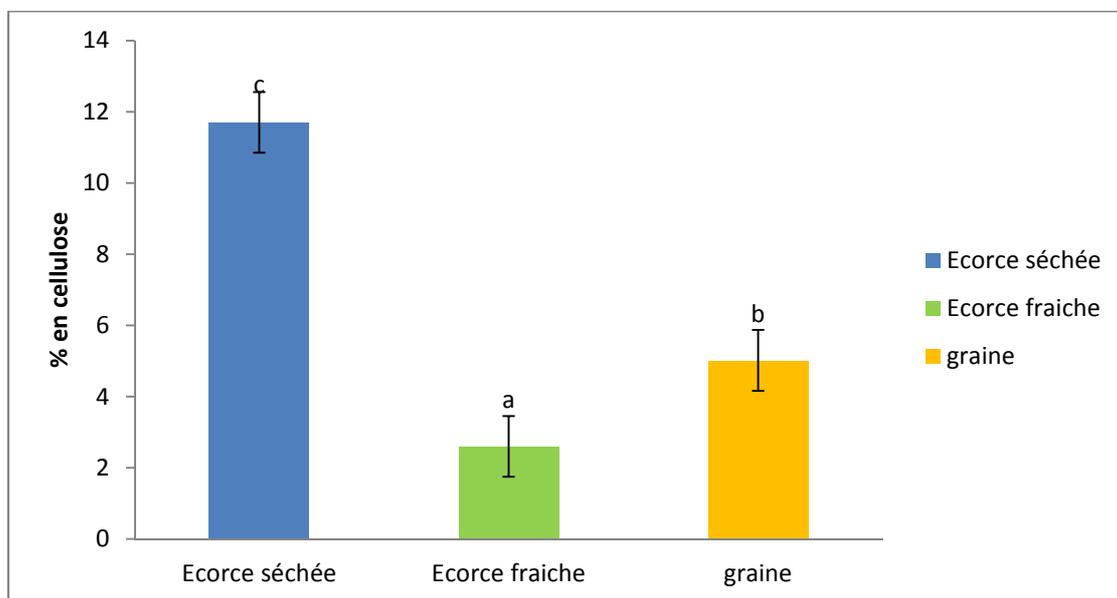
réalisée par **Habib et al.(1986)** qui a rapporté une teneur en sucres totaux qui est de 0,039g/100g MS pour la graine, cette dernière est inférieure à celle trouvée dans la présente étude.

La différence dans le contenu en sucres peut être due à l'effet variétal, aux modalités de dosage, aux conditions environnementales (sol, climat, etc.), au degré de maturation des fruits et aux différents traitements post-récolte que subissent les fruits (conditions de conservation, sulfatation, etc.) (**Aljaneet al., 2007 ; Aljane et Ferchichi, 2009 ; Gozlekci, 2011; Jiang et al., 2013**).

Nos résultats ont indiqué que les sucres totaux étaient plus concentrés dans les écorces séchées que dans les écorces fraîches et cela peut être justifié par l'augmentation de la leur concentration suite au séchage qui a augmenté la teneur en matière sèche. Le séchage s'accompagne toujours d'une augmentation du taux de glucides.

### III.2.10. Teneur en cellulose

Les teneurs en cellulose de l'écorce séchée, fraîche et de la graine du fruit de pomelo sont calculées et rapportées sur l'histogramme ci-dessous (**figure 34**). L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les teneurs des différents échantillons.



**Figure 34** : Teneur en cellulose de l'écorce séchée, fraîche et de la graine.

*Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : ANOVA-LSD ( $p < 0,05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $c > b > a$ .*

La cellulose est un polymère naturel et linéaire de  $\beta$ - (1  $\rightarrow$  4) -D-glucopyranose. C'est un composant structural des parois cellulaires végétales, elle est présente dans les plantes sous forme de micro fibrilles (**Karataş et al. 2016**).

La teneur la plus élevée est notée pour l'écorce séchée (11,70%), suivie de la graine et l'écorce fraîche avec des concentrations de 5,01% et 2,59%, respectivement. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par **Gorinstein et al. (2001)**. **Shela Gorinstein et al. (2001)** qui ont comparé les caractéristiques biochimiques des citrons (*Citrus paradisi*) et orange (*Citrus sinensis*), ont rapporté des teneurs de  $13,9 \pm 1,2\%$  pour l'écorce séchée et  $2,47 \pm 0,22\%$  pour l'écorce fraîche. Par ailleurs **Anwar et al. (2008)** ont trouvé 8,50% pour la graine de *Citrus paradisi*.

### III.2.11. Teneurs en minéraux

Les valeurs des différents minéraux (Mg, Ca, Cu, Fer) présents dans les différents échantillons sont répertoriées dans le tableau **XIII**.

#### Dosage du fer

D'après les résultats du tableau **XIII**, la concentration en Fer est plus élevée dans l'écorce séchée (0,4633 mg/l), que dans l'écorce fraîche (0,11 mg/l), elle est très faible dans la graine (0,05 mg/l).

**Tableau XI:** Teneurs en minéraux de l'écorce fraîche, séchée et de la graine de *citrus paradisi*

Minéraux	[Fe] mg/l	[Mg] mg/l	[Cu] mg/l	[Ca] %
Ecorce séchée	0,4633 $\pm$ 0,0055	6,8474 $\pm$ 0,0141	0,4829 $\pm$ 0,0127	1,35 $\pm$ 0,14
Ecorce fraîche	0,113 $\pm$ 0,0014	3,0177 $\pm$ 0,05819	0,4151 $\pm$ 0,0262	0,84 $\pm$ 0,11
Graine	0,0593 $\pm$ 0,0004	1,9123 $\pm$ 0,0266	0,2822 $\pm$ 0,0125	2,20 $\pm$ 0,25

#### Dosage du magnésium

Les résultats illustrés dans le tableau **XI**, révèlent une teneur importante en magnésium dans l'écorce séchée (6,84 mg/l), suivie de celle de l'écorce fraîche et des graines (3,01 mg/l et 1,91 mg/l, respectivement).

### Dosage du calcium

D'après les résultats présentés dans le tableau **XI**, le Ca se concentre plus dans la graine (2,20%) que dans l'écorce séchée (1,31%) et l'écorce fraîche (0,84%).

### Dosage du cuivre

D'après les résultats présentés dans le tableau **XI**, c'est dans l'écorce séchée que la teneur en cuivre est la plus élevée (0,48mg/l), puis dans l'écorce fraîche (0,41mg/l), et enfin dans la graine (0,28mg/l).

Nous avons remarqué que les concentrations des quatre métaux étudiés (Fer, magnésium, et cuivre) sont plus élevées dans l'écorce séchée, à l'exception du calcium, qui est plus concentré dans la graine.

D'après nos résultats, les concentrations en minéraux retrouvés dans l'écorce séchée sont supérieures aux valeurs trouvées par **Czech et al.(2019)** dans son étude sur la teneur en minéraux de la pulpe et de la peau de divers cultivars d'agrumes dont l'orange (*Citrus sinensis*), le pomelo (*Citrus maxima*), la mandarine (*Citrus reticulata Blanco*), le citron (*Citrus limon*), le citron vert (*Citrus aurantifolia*) et le pamplemousse rouge, jaune ou vert (*Citrus paradisi*), avec des teneurs de 0,111 mg /l pour le Mg, 0,0028 mg /l pour le fer, 0,0007mg /l pour le cuivre et  $3,48 \cdot 10^{-4}$  g/100g pour le calcium.

Selon **Edet et al. (2016)** qui ont enregistré des concentrations élevées dans l'écorce séchée de *Citrus paradisi*, par rapport à celle trouvée dans la présente étude, et qui sont de 1,1834 mg/l pour le Mg, 0,109mg/l pour le Fer, 0,026mg/l pour le Cu et un pourcentage de 0,0784% pour le Ca. Ceci peut s'expliquer par la richesse du sol en ces composés.

### **III.3.Résultats de la mise en évidence des métabolites secondaires dans l'écorce**

Le screening phytochimique des extraits nous a permis de mettre en évidence la présence, dans chacun des extraits des deux écorces (sèche et fraîche) de *Citrus paradisi*, les cinq métabolites secondaires recherchés (**tableau XII**). La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation, de turbidité et un changement de couleur spécifique.

Dans ce travail, nous avons à caractériser deux extraits déjà optimisés obtenus par deux procédés d'extraction différents le premier est celui obtenu par micro-ondes (méthode verte) et le deuxième est l'extrait obtenu au bain marie (méthode conventionnelle) on utilisant l'éthanol 40%.

**Le tableau XII:** Résultats de la mise en évidence des métabolites secondaires

Composants Type d'extraction	Micro-onde	Bain marie
<b>Alcaloïdes</b>	-	-
<b>Saponines</b>	-	-
<b>Terpenoïdes</b>	++	++
<b>Composés phénoliques</b>	+++	++
<b>Tannins</b>	+	+++

+ : présence, - : absence

Ces résultats (**figure 35**) indiquent clairement l'absence totale des alcaloïdes au niveau de tous nos extraits suite au virage au jaune-brun de la couleur du témoin.



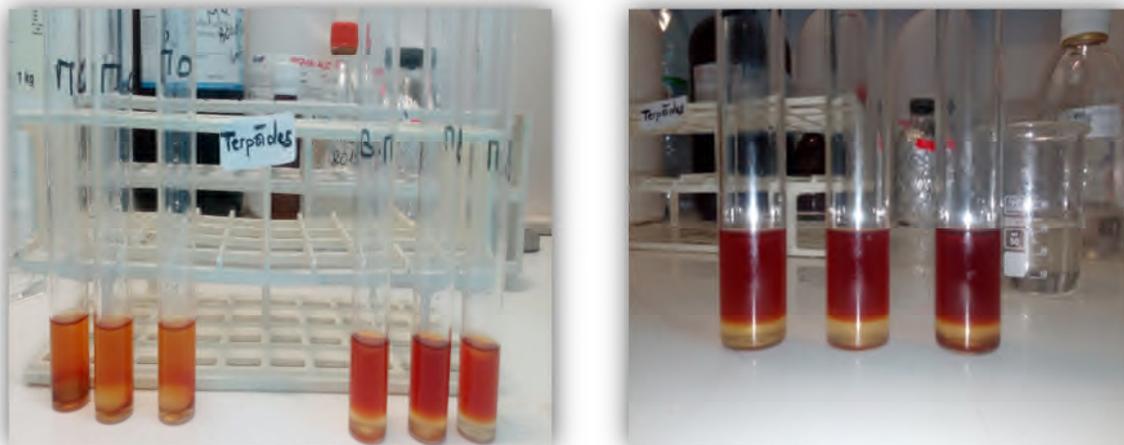
**Figure (35) :** Photographie montrant les résultats de la mise en évidence des alcaloïdes dans les extraits optimisés par micro-ondes et bain marie.

Les résultats (**figure 36**) indiquent clairement l'absence des saponines dans tous les extraits testés.



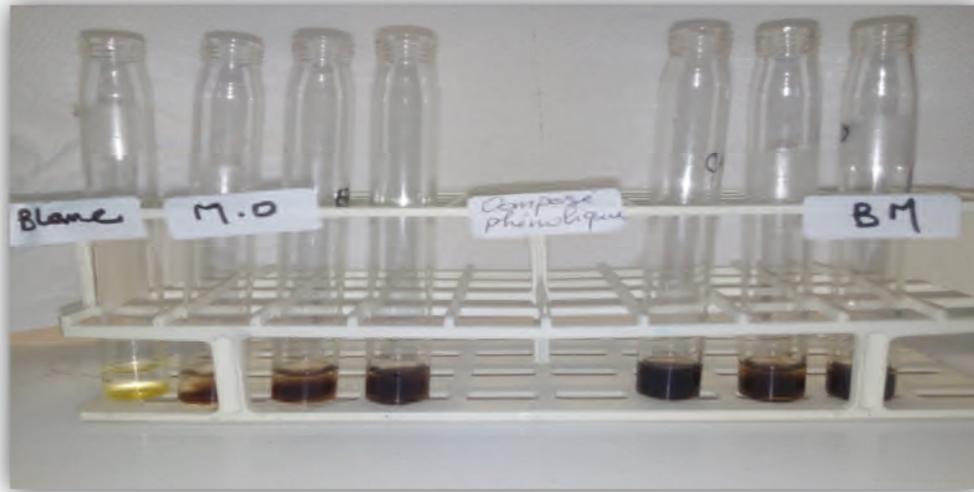
**Figure (36)** : Photographie montrant les résultats de la mise en évidence des saponines dans les extraits

L'apparition d'un anneau brun-rouge à l'interface est observée dans tous les extraits (**Figure 37**), traduisant ainsi la présence de terpénoides. Nous notons toute fois que l'apparition de l'anneau est plus marquée dans l'extrait issu de l'extraction par micro-ondes.



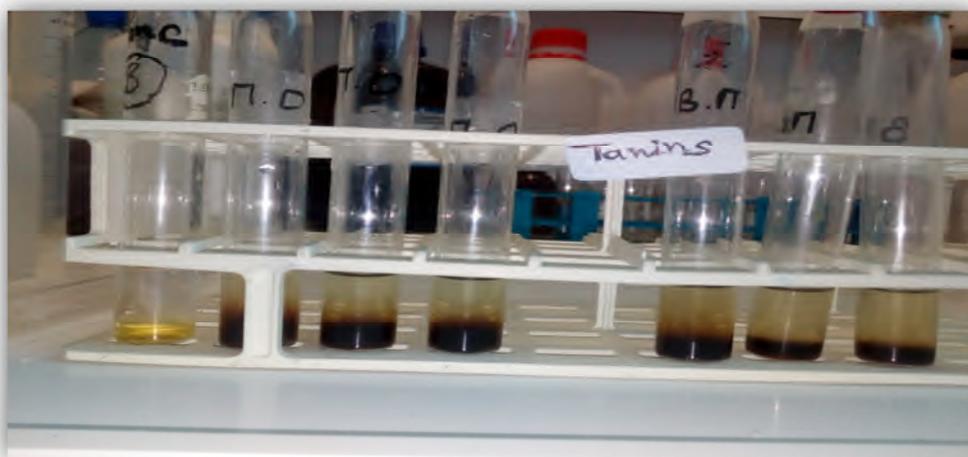
**Figure (37)** : Photographie montrant les résultats de la mise en évidence des terpénoides

La formation de la couleur vert noirâtre (**figure 38**) témoigne d'une présence de composés phénoliques dans tous nos extraits. Néanmoins, les extraits obtenus par micro-onde sont montrés une réactivité plus importante que celle observée dans les extraits obtenus par extraction au bain marie.



**Figure (38)** : Photos de mise en évidence des composés phénoliques dans les extraits

L'apparition d'une coloration vert foncé dans tous les extraits (**Figure 39**) indique la présence des tanins catéchiques.



**Figure (39)** : Photographie montrant les résultats de la mise en évidence des tannins dans les extraits

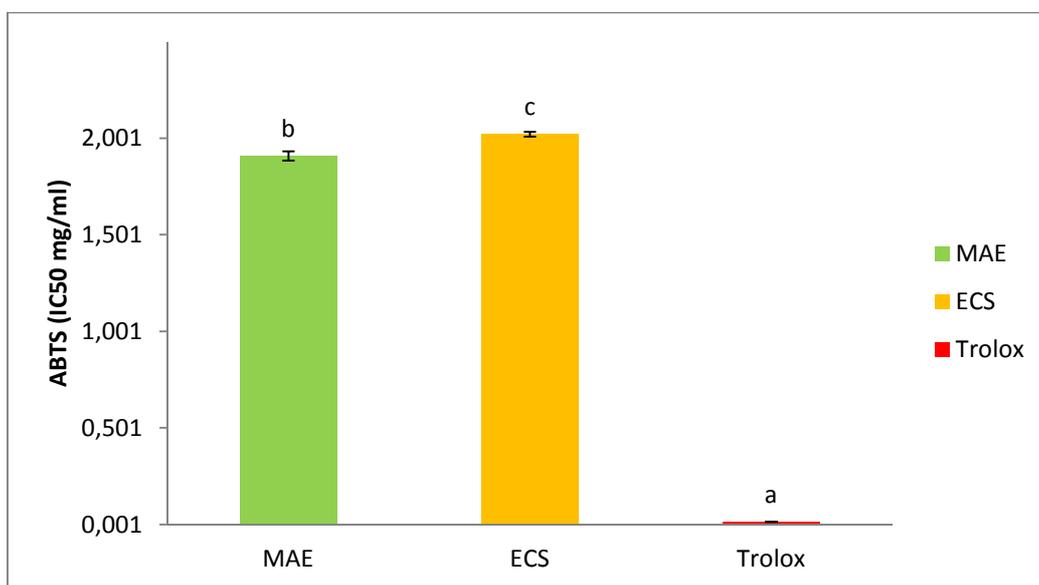
Selon ces résultats, le screening phytochimique du fruit *Citrus x paradisi* nous a permis de connaître ces composants majoritaires qui sont les alcaloïdes, tanins, composés phénoliques et les terpénoïdes.

Ces résultats confirment ceux obtenus par **Bouabid et al. (2016)** qui ont souligné la présence des terpènes et des tannins avec l'absence des saponines ; ainsi que ceux de **Ganiyu Oboh.(2014)** qui a rapporté la présence des composés phénoliques.

### III.4 Activités Antioxydantes

#### III.4.1. Activité anti radicalaire ABTS

L'activité antioxydante déterminée par la méthode utilisant le radical ABTS dans les différents extraits varie de façon significative ( $p < 0,05$ ) selon le type d'extrait utilisé (**figure 40**). L'activité des extraits est comparée à celle du Trolox (Standard). L' $IC_{50}$  est la concentration qui correspond à 50% d'inhibition du radical  $ABTS^{\circ+}$ , la valeur la plus faible correspond à l'efficacité la plus élevée par conséquent une activité anti radicalaire plus importante.



**Figure (40):** Résultats du pouvoir anti-radicalaire exprimés en  $IC_{50}$  (mg Eq Trolox /ml).

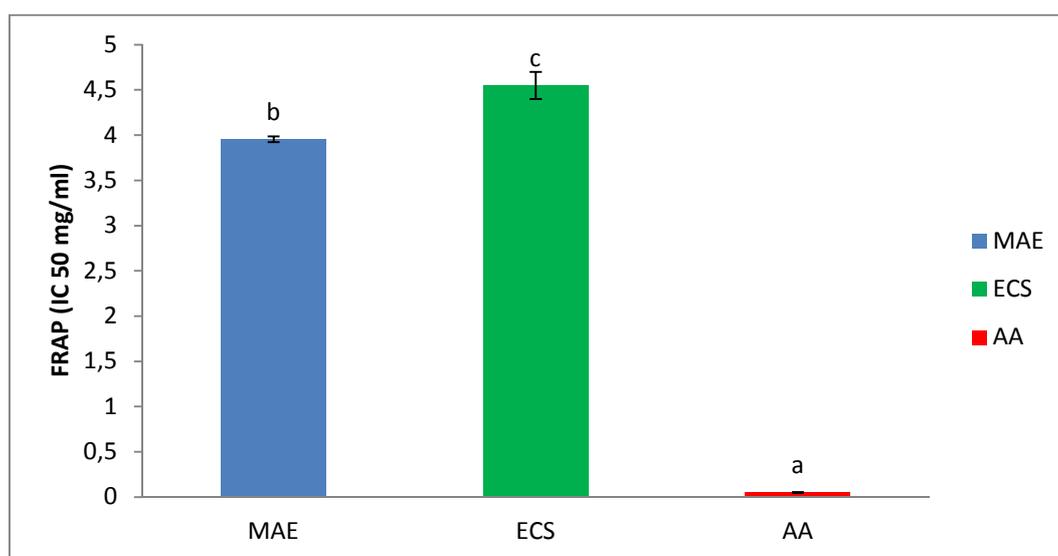
*Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : ANOVA- LSD ( $p < 0,05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $c > b > a$*

On analysant les résultats obtenus, on déduit que c'est l'extrait micro ondes qui a présenté la meilleure activité avec une  $IC_{50}$  qui est de 1,90mg/ml comparé à l'extrait obtenu par la méthode conventionnelle ( $IC_{50} = 2,02$ mg/ml). Toutefois, l'activité antioxydante des deux d'extraits est significativement ( $p < 0,05$ ) plus faible que celle du standard utilisé ( $IC_{50} = 0,015$ mg/ml).

Nos résultats sont différents de ceux obtenus par **Rodsamran et al. (2019)** sur les écorces du fruit *Citrus aurantiifolia* avec des valeurs de 44,4 mg/ ml MS pour MAE et 46,5 mg/ml pour EC, cette divergence est probablement due à la méthode d'extraction utilisée

### III.4.2. Test du pouvoir réducteur

Les teneurs en  $IC_{50}$  du pouvoir réducteur des extraits secs MAE, EC et acide ascorbique sont calculées et rapportées sur l'histogramme ci-dessous (**figure 41**). L'analyse statistique a montré qu'elle existe une différence significative entre les extraits secs testés et le standard.



**Figure 41:** Résultats du pouvoir réducteur exprimés en  $IC_{50}$  (mg EqAA /ml).

*Les valeurs suivies par des lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes : ANOVA- LSD ( $p < 0.05$ ). Les résultats sont classés par ordre croissant ;  $c > b > a$*

Des études antérieures ont montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle **Jeong et al. (2004)**. D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les extraits obtenus par micro-ondes ont présenté la meilleure activité avec une  $IC_{50}$  (3,9540 mg /ml) plus faible par rapport aux extraits issus de l'extraction par bain marie (4,5493mg/ml). Toute fois, le pouvoir réducteur de ces deux extraits est très faible comparé à celui du standard (acide ascorbique) avec une  $IC_{50}$  de 0,0518mg/.

En se référant aux travaux effectués par **Castro-Vazquez et al. (2015)** qui ont rapporté une  $IC_{50}$  de  $71.57 \pm 0.60$  mg /ml, l'activité de nos extraits est plus importante, cette différence peut être due aux méthodes d'extraction utilisées.

# **Résultats et discussions**

# **CONCLUSION GENERALE**

### Conclusion

Le but de travail est d'apporter un supplément de connaissance sur les caractéristiques physico-chimiques et antioxydantes du fruit d'agrumes (pomélo) de *Citrus x paradisi* de la variété *March sedless* algérienne ce qui peut contribuer à mettre en relief la possibilité de sa valorisation dans plusieurs domaines : industrie pharmaceutique, la cosmétique et l'industrie alimentaire...etc.. Dans cette optique, une caractérisation physico-chimique et antioxydante ont été effectuées.

D'après nos résultats, le fruit de la variété étudiée présente des différences notables concernant les paramètres physico-chimiques. Des différences significatives sont enregistrées entre les différentes parties de pomélo, le taux d'humidité varie de  $(75,11 \pm 0,53)$  (écorce) à  $(52,38 \pm 0,72)$  (graine) %, le taux de matière sèche présente des valeurs allant de  $(24,98 \pm 0,53)$  (écorce) à  $(47,61 \pm 0,72)$  (graine) %, des teneurs en cendres varient de  $(3,64 \pm 0,02)$  (écorce séchée),  $0,51 \pm 0,02$  (écorce fraîche) et  $2,85 \pm 0,03$  (graine) %. Les résultats du dosage des glucides totaux forment la plus grande part du fruit, leur teneur varie entre  $44,90 \pm 0,63$  (écorce séchée),  $8,56 \pm 0,29$  (écorce fraîche) et  $13,33 \pm 1,41$  (graine) g/100 g suivie par les protéines en quantité allant de  $6,03 \pm 0,09$  (écorce séchée),  $3,99 \pm 0,11$  (écorce fraîche) à  $10,97 \pm 0,076$  (graine) g/100g. Concernant la teneur en matières grasses, les valeurs varient de  $1,85 \pm 0,02$  (écorce séchée),  $0,11 \pm 0,002$  (écorce fraîche) à  $30,64 \pm 1,82$  (graine) %. Les teneurs en cellulose entre  $11,70 \pm 0,85\%$  (écorce séchée) et  $2,59 \pm 1,08\%$  (écorce fraîche). Tandis que la concentration en cellulose de graine de pomélo est de  $5,01 \pm 1,91\%$ .

Les teneurs en acide ascorbique sont différentes d'une partie de pomélo à une autre, les concentrations varient entre  $1,32 \pm 0,05$  (écorce séchée) et  $0,31 \pm 0,005$  (écorce fraîche) g/100g MS, alors que la teneur de la graine de pomélo est de  $0,068 \pm 0,006$  mg/100g de MS. Le *Citrus paradisi* n'a pas une bonne source de caroténoïdes, sa teneur est relativement faible (0,03 à 0,10 g/100 g).

La technique d'analyse par la Spectroscopie d'absorption atomique à flamme a été employée pour la quantification des métaux choisis pour l'étude. D'après nos résultats, les concentrations de trois métaux étudiés (fer, magnésium, et cuivre) sont plus élevées dans l'écorce séchée de pomélo (*Citrus x paradisi*) de la variété *marsh sedless*. À l'exception du calcium, qui présente une concentration plus importante dans la graine de pomélo.

Dans cette étude, deux méthodes d'extraction (EAM et EAU) ont été utilisées à fin de mettre en évidence la présence des composés phénoliques dans nos extraits, ainsi que pour évaluer certaines activités antioxydantes. L'activité anti-oxydante est estimée en déterminant le pouvoir réducteur et l'activité anti-radicalaire (ABTS). Cependant l'écorce séchée de pomélo présente la meilleure activité anti-radicalaire en utilisant l'extraction assistée par micro onde avec un  $IC_{50}$  de 1,90 mg/ml pour l'ABTS et de 3,95mg/ml pour le pouvoir réducteur, par ailleurs l'extraction conventionnelle par bain marie révèle une faible capacité antioxydante avec un  $IC_{50}$  de 2,02 mg/ml pour l'ABTS et de 4,54 mg/ml pour le pouvoir réducteur. Les résultats obtenus ont révèlent que l'extraction assistée par microonde est la plus adéquate pour l'extraction des composés phénoliques que celle par bain marie.

Au terme de cette étude, il serait nécessaire de signaler que les écorces de citrus par adis constituent une source de composés phénoliques avec des activités anti oxydantes appréciables et une source importante en nutriment.

### ❖ Perspectives :

Il est souhaitable dans l'avenir de :

- ✓ Réaliser des tests de toxicité (In vivo et In vitro) pour les extraits optimisés,
- ✓ Elaboration de nouveaux produits dans diverses industries (pharmaceutique, alimentaire.. ect),
- ✓ Sensibilisation des consommateurs sur les bienfaits de ce fruit.

### A

**A.O.A.C. (1975).** Official Methods of analyses. Association of Analytical Chemists Handbook. Horwitz Washington.

**AC Matheyambath,(2016).** Citrus Fruits University of Guelph, Guelph, ON, Canada 134-140pp.

**Aljane F. et Ferchichi A. (2009).** Postharvest chemical properties and mineral contents of some fig (*Ficus carica* L.) cultivars in Tunisia. Journal of Food Agriculture and Environment. 7 (2): 209-212.

**Aljane F., Toumi I. et Ferchichi A. (2007).** HPLC determination of sugars and atomic absorption analysis of mineral salts in fresh figs of Tunisian cultivars. African Journal of Biotechnology. 6 (5): 599-602p.

**Amana K. (2007).** Les anacardiaceae du togo: Études botaniques, Écologiques et propriétés antifongiques. Thèse de Doctorat de l'Université de Reims Champagne-Ardenne. 182p.

**Amelia Nazareno, Giannuzzo AN, Boggetti HJ, Mishima HT,(2003).** Supercritical fluid extraction of naringin from the peel of *citrus paradisi*. Phytochemical analysis. 14: 221–223 p.

**Amintoti .K., Mamoudou .H. D., Jacques S., Alfred S. T. (2005).** Antioxidant and antibacterial activity of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso, African Journal of Biotechnology; 4 (8), 823-823p.

**Anna Czech, Ewa Zarycka, Dmytro Yanovych, Zvenyslava Zasadna, Izabela Grzegorzczak, Sylwia Klis, (2019).** Mineral Content of the Pulp and Peel of Various Citrus Fruit Cultivars. Biological Trace Element Research. 1-8p

**Aziman N., Abdullah N., Noor Z.M., Zulkifli K. S., et Kamarudin W. S. S. W. (2012).** Phytochemical constituents and *in vitro* bioactivity of ethanolic aromatic herb extracts. Sains Malaysiana. 41(11): 1437–1444p.

### B

**Bahia BOUABID, Ouafae EL YAHYAOU, Amal SAMMAMA, Saloua KERROURI, Lella OULD ABDELLAHI, Nabil AIT OUAAZIZ, L. Aicha LRHORFI, Ali QUYOU, and Rachid BENGUEDDOUR, (2016).**thèse Screening phytochimique de deux variétés de pamplemousse: citrus paradisi yellow et blood. Département de Biologie, Faculté des sciences, Université Ibn Tofail, Kenitra, Maroc. Vol. 17 No. 2, p 506-512.

**BalunkeswarNayak, Dahmoune, F. Moussi, K.Remini, H. Dairi, S. Aoun, O.Khodir, M.(2015).** Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from Citrus sinensis peels, Food Chemistry 507–516p

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

**BaronJ, Gomez G, (2016).** Heterosides, <http://sciences physiques. acmontpellier. fr/ ABCDORGA/Famille4/HETEROSIDES.htm#DeuxDeux>; consulte le 6 mai 2016.

**Békro Y. Yves-Alain Békro, Janat A. Mamyrbekova BÉKRO, Boua B. Boua, Fézan H. Tra BI &Ehouan E. Éhilé, (2007).** Etude ethnobotanique et screening phytochimique de caesalpinibenthamiana (baill.) herend et zarucchi (caesalpinaceae). *Sciences & nature*. vol 4 n° 2: 217 – 225p.

**BékroY.A ,Janat a, békro M , Boua B. B , trabi F.H and Éhilé E. (2007)** Etude ethno botanique et screening phytochimique de caesalpinibenthamiana (baill.) herend et zarucchi (caesalpinaceae). *Sciences et nature*: 217 – 225p.

**Bénédicte ET Michel B, (2011).** Agrumes comment les choisir ET cultiver facilement. Les bienzymatically produced ABTS <sup>o+</sup>; Food chemistry, 105,1688-1694p.  
Biophysical Research Communication: 321-329p.

## *Références bibliographiques*

---

**Boukhiar A, (2009).** Analyse du processus traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes tel qu'appliqué au sud Algérie : essai d'optimisation. Mémoire de magistère, centre universitaire de Boumerdes. 45-52p.

Bousbia, N et al (2009).A New process for extraction of essential oil from citrus peel: Microwave Hydrodiffusion and Gravity. *Journal of Food Engineering*, 90: 409- 413.

**Bousbia, N. (2009).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique.

**Bradford M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. (72): 248-254p.

**Bradford M.M.( 1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. (72): 248-254p.

**Brichet, J.** Pamplémousse ou pomelo, une équivoque à supprimer. *Fruits d'Outre-Mer*, (1946), vol. 1, n° 10, p297-300.

**Bruneton J. (2016)** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales - 5ème Ed. Tec & Doc / Lavoisier.

**Bruneton J., (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Ed.Tec& Doc. 4ème ed, Paris. France. 1288 p.

**BY J. F. KEFFORD, (1960).**The chemical constituents of citrus fruits.Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Division of Food Preservation and Transport, Homebush, New South Wales, Australia.286-355 p.

### **C**

**C.Ververis,K. Georghiou D. Danielidis D.G. Hatzinikolaou P. Santas R. Santas V. Corlet i ,(2007).**Cellulose, hemicelluloses, lignin and ash content of some organic materials and their suitability for use as paper pulp supplements. *Bioresource Technology* (98) 296–301p.

## *Références bibliographiques*

---

**Cabezas GM, Rodríguez ECA,( 2010).**Horticultural techniques for improving orange fruit (*Citrus sinensis L.*) size and quality.*Agronomía Colombiana*, 28, 1: 55– 62p.

**Camille jacquemon, Franck Curk, Marion Heuzet,(2013).** Les clémentiniers et autres petits agrumes. Editions quae, France. P361.

**Carole PastreJustine, Odile,(2005).**Intérêt de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université de Toulouse. p110.

**Cécile Blaisot, (2016).**Le marché des extraits de pépins de pamplemousse. Comparatif des produits existants et conseil à l'officine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie.Université de Rouen UFR de médecine et de pharmacie. p176.

**Chapot Henri, (1950).** Pamplemousses, Pomelos ou Grape-fruits et Tangelos. In: *Revue internationale de botanique appliquée et, d'agriculture tropicale*, 30<sup>e</sup> année, bulletin n°327-328, Janvier-février. pp. 62-75p.

**Chauvet Michel, (1980).** Pamplemousse ou pomelo : un cas exemplaire de conflit entre usage et norme. In: *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 27<sup>e</sup> année, bulletin n°1, Janvier-mars. P 55-81.

**Chow P. S., et Landhäusser S. M. (2004).** A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues.*Tree Physiology*.24: 1129 –1136p.

**ClaudiaAgudeloLillian Barros,Celestino Santos-Buelga 'Nuria Martínez-Navarrete 'Isabel CFR Ferreira , (2017 ).** Phytochemical content and antioxidant activity of grapefruit (Star Ruby): Acomparison between fresh freeze-dried fruits and different powder formulations. P1-23.

**Cristóbal-Luna, JM, Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E, et Chamorro-Cevallos, G, (2018).**Grapefruit and its biomedical, antigenotoxic and chemopreventive properties, *Food and Chemical Toxicology*.

### **D**

**Dehmolaei A., Vadi M.; (2014);** Comparative Study of Adsorption Isotherms of Vitamin C Multi wall and single wall Carbon Nanotube; *Oriental Journal of Chemistry*; 30, (1).

**Dubois, G.E., Grosbay, G.A., Saffron, P. (1977).** Non nutritive Sweeteners: Taste structure relationships with for some new simple dihydrochalcones. *Science*, 195: 397-399p.

### **E**

**Ebel RC, M Ockma, W A dozier, Floyed M WoofS( 2004).**Fruit quality of Satsuma mandarin grown on the northern coast of the Gulf of Mexico.American Society for Horticultural Science, Alexandria, USA, HortScience. 39 (5): 979-982 et sécurité des aliments, p 174.

**Edet,.(2016).**Phytochemical Screening, Nutrient Analysis, Antitermite and Antimicrobial Activity of *Citrus paradisi* Peel Powder.Journal of Applied Life Sciences Internationaleditions eugenulmer, 8 rue Blanche, Paris, N° d'édition: 440-01. p127.

**Emad M. Atta ,Khaled H. Hegab,Ahmed AM Abdelgawad,abdelghany A. Youssef,( 2019).** Synthesis, characterization and cytotoxic activity of naturally isolated naringin-metal complexes.Saudi Pharmaceutical Journal 27: 584–592p.

**Etxeberria E, Gongalez P, Pozueta Romero J,( 2005).**Sucrose transport into citrus juice cells.Evidence for andocytic transport system.J Am Soc HortSci. 130: 269-274p.

### **F**

**FarooqAnwar, Rehana Nasser, Mouhamedlqbalbhenger, samiaachref, (2008).**Physico-Chemical Characteristics of Citrus Seeds and Seed Oils from Pakistan. *J Am Oil ChemSoc* 85:321–330P.

**Francisco R. Marin Cristina Soler-Rivas, Obdulio Benavente-García,Julian Castillo ,José A. Pérez-Alvarez ,( 2007).**By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry* 100, 736–741p.

**François Luro, (2015).** L'origine des agrumes : leur évolution et la naissance des espèces cultivées. Histoire de plantes, P 35-37.

### **G**

**Golubev V.N., Pilipenko L.N. et Kakhniashvili T.A.( 1987).** Fractionation and composition

**Gozde S.; (2015);** The Investigation of the Vitamin C Concentrations of Distinctive Layers (Flavedo, Albedo&Locule) of Different Citruses (Citrus limon, Citrus sinensis, Citrus paradisi and Citrus tangerine) .TED Ankara College High School, Ankara, TURKEY. p1129.

**Gozlekci S.( 2011).** Pomological traits of fig (*Ficus carica*L.) genotypes collected in the west Mediterranean region in Turkey. Journal of Animal & Plant Sciences, 21(4): 646-652p.

**GRAEBE J.E, ( 1987).** Gibberellin biosynthesis and control. Annu. Ruv. Plantphysiol. Vol. (38): 419-465p.

### **H**

**H.M.P.D.Herath,M.DMIM Dissanayake, D.RRP Dissanayake M.DM Chamikara K.WT R Kularathna M. Ishan S.DSS ,Sooriyapathirana, (2016).** Assessment of the variations in selected industrially desirable morphological and biochemical traits of eleven *Citrus* species in Sri Lanka. Elsevier, Procedia Food Science 6, 176 – 180p.

**Hubert A.J. (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctorale des Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments, p 174.

**HuiwenZheng,(2016).**Determination of sugars, organic acids, aroma components, humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctorale

### **I**

## *Références bibliographiques*

---

**Iglesias DJ Manuel Cercós; José M. Colmenero-Flores; Miguel A. Naranjo; Gabino Ríos; Esther Carrera; Omar Ruiz-Rivero; Ignacio Lliso; Raphaël Morillon ; Francisco R. Tadeo; Manuel Talon,( 2007).**Physiology of citrus fruiting.Braz J Plant Physiol; 19 (4): 333-362p.

**Ilkay,T.etAziz,E. (2011).** Brix degree et sorbitol/xylitol level of anthntic pomegranate (Punicagramatum) juice. *Food Chemistry*, 127: 1404-1407p.

**IPGRI,( 1999).** Descripteurs des agrumes. *Citrus* spp. Institut international des ressources.

**Iqbal M, Khan MN, Zafar M, Munir M, (2012).**Effect of harvesting date on fruit size, fruit weight and total soluble solids of feutrell’s early and kinnow cultivars of Mardan (Citrus Reticulata) on the economic conditions of farming community of Faisalabad.Sarhad J. Agric. 28 (1): 19-21p.

### ***J***

**Fernández-López J.M. Fernández-Ginés L. Aleson-Carbonell E. Sendra E. Sayas-Barberá J.A. Pérez-Alvarez ,( 2004).** Application of functional citrus by-products to meat products Trends in Food Science & Technology 15,176–185p.

**Janick J. (1992).** Horticultural Reviews.Wiley-Interscience.Vol. 13.Japanese Journal of Nutrition, 44: 307-315.Japanese Journal of Nutrition, 44: 307-315p.

*Japanese Journal of Nutrition*, (44) 307-315p.

**JeongST, N Goto-Yamamoto,S Kobayashi,M Esaka, (2004).**Effects of plants hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skin. *Plant Sci*, 167, 247-252.

**Jiang L., Shen Z., Zheng H., He W., Deng G. et Lu H. (2013).** Noninvasive evaluation of fructose, glucose, and sucrose contents in fig fruits during development using chlorophyll fluorescence and chemometrics. *Journal of Agricultural Science and Technology*. (15): 333-342p.

**Jiang L., Shen Z., Zheng H., He W., Deng G. et Lu H. (2013).** Noninvasive evaluation of fructose, glucose, and sucrose contents in fig fruits during development using chlorophyll fluorescence and chemometrics. *Journal of Agricultural Science and Technology*. (15): 333-342p.

**Jabri- Karoui I, Bettaieb I, Masaada K, Hammami M, et Marzouk B. (2012).** Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian thymus capitatus. *Journal of Functional Foods*.4, 661-669p.

**Jabri- Karoui I., Bettaieb I., Masaada K., Hammami M., et Marzouk B. (2012).** Research on the phenolic compounds and antioxidant activities of Tunisian thymus capitatus. *Journal of Functional Foods*.4:661-669p.

**José A. Larrauri, Pilar Rupérez Laura Bravo Fulgencio Saura-Calixto, (1996).** High dietary fibre peels: associated powders from orange and lime polyphenols and antioxidant capacity. *Food Research International*, Vol. 29, No. 8, 751-162, 1996p.

**José Melesio Cristóbal-Lunaa, Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., Chamorro Cevallos, Germá., (2018).** Grapefruit and its biomedical, antigenotoxic and chemopreventive properties, Review, *Food and Chemical Toxicology* 112, p224–234.

### **K**

**Kader A.A.(1988).** Influence of preharvest and postharvest environment on nutritional composition of fruits and vegetables. In: Quebedeaux B. et Bliss F.A. *Horticulture and Human Health, Contributions of fruits and vegetables*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J. p 18-32.

**Karataş, M, Nurhan Arslan, (2016).** Flow behaviours of cellulose and carboxymethyl cellulose from grapefruit peel, *Food Hydrocolloids*.

**KHANBABAE K., REE T.R., (2001).** Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. Vol. (18): 641-649p.

## *Références bibliographiques*

---

**Khodirmadani, LAGHA-BENAMROUCHE Samiraa, ADDAR Lydiaa , BOUDERHEM Hassibaa, TANI Saïdaa, (2017).** Caractérisation chimiques des écorces d'oranges, identification par GC-MS et évaluation du pouvoir antioxydant de leurs huiles essentielles .Laboratory of Biochemistry, Biophysics, Biomathematics and Scientometry (3BS laboratory), Faculty of Nature and Life Sciences, Abderahmane Mira University, Bejaia 06000, Algeria.p1-8

**Kiichiro KAWAGUCHI, Hiroko Maruyama , Takafumi Yoshikawa , Yoshio Kumazawa , Ryoichi Hasunuma , Seyoichi Kikuchi, (2004).** A Citrus Flavonoid Hesperidin Suppresses Infection-Induced Endotoxin Shock in Mice. *Biol. Pharm. Bull. Vol27(5)* 679—683p.

**Klein, B ,AK PERRY, (1982).** Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *Journal of Food Science.* (47): 941-945p.

**Klein, B. P. et Perry, A. K. (1982).** Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the United States. *Journal of Food Science.* (47): 941-945p.

### **L**

**Lee C.Y., Shallenberger R. S. et Vittum M. T. (1970).** Free sugars in fruits and vegetables.

**LembeSamukeloMagwaza, (2018).** Comparative effects of canopy position on physicochemical properties of Marshgrapefruit during non-chilling postharvest cold storage. *Scientia Horticulturae* 241. 1–7 p.

**Lucia Castro-Vazquez, María Elena Alañón,<sup>2</sup> Virginia Rodríguez-Robledo,<sup>1</sup> María Soledad Pérez-Coello, Isidro Herмосín-Gutierrez, María Consuelo Díaz-Maroto, Joaquín Jordán, María Francisca Galindo, and María del Mar Arroyo-Jiménez, (2015).** Bioactive Flavonoids, Antioxidant Behaviour, and Cytoprotective Effects of Dried Grapefruit Peels (*Citrus paradisi* Macf.). p1-11.

### **M**

## *Références bibliographiques*

---

**M. El-Otmani, Ait O, Zakarias I (2011).** Citrus spp: orange, mandarin, tangerine, clementine, grapefruit, pomelo, lemon and lime. Woodhead Publishing Limited, 438-511p.

**M. Kratchanova, E Pavlova' , I Panchev , (2004).** The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin Carbohydrate Polymers 56, 181–185p.

**M. Pourbafrani, Gergely Forgács, Ilona Sárvári Horváth, Claes Niklasson, Mohammad J. Taherzadeh, (2010).** Production of biofuels, limonene and pectin from citrus wastes. Bioresource Technology 101, 4246–4250p.

**M.A Habib, MA Hammam, AA Sakr YA Ashoush, (1986).** Chemical Evaluation of Egyptian Citrus Seeds as Potential Sources of Vegetable Oils. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Mlnuflya, Shebin EI-Kom, Egypt. 1993-1996p.

**M. BOURKHISS. MH ,( 2009).** Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *tertacliniarticulata* (vahl) Masters. VOL.20.

**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. Thèse pour le diplôme d'état de doctorat en Sciences Agronomiques Et en Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. Université de Carthage et de Lorraine. p147.

**Mark R. Wilkins, Wilbur W. Widmer, Karel Grohmann , (2007).** Simultaneous saccharification and fermentation of citrus peel waste by *Saccharomyces cerevisiae* to produce ethanol. Process Biochemistry 42, 1614–1619 P.

**Mau J. L, Tsai S. Y, Tseng Y. H., et Huang S. J. (2005).** Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma lucidum*. Food Chemistry. 93: 641–649p.

## *Références bibliographiques*

---

**Mau J. L., Tsai S. Y., Tseng Y. H., et Huang S. J. (2005).** Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma lucidum*. *Food Chemistry*, 93: 641–649p.

**Mehdi Lohrasbi, Pourbafron M, Niklason C, Tahrezdeh MJ, (2010).** Process design and economic analysis of a citrus waste biorefinery with biofuels and limonene as products. *Bioresource Technology* 101, 7382–7388p.

**MeléndezMartínez, (2007).** Analysis of carotenoids in orange juice. *Journal of Food Composition and Analysis* (20) 638–649 p.

**Miladovic S, Iveković D, Grabarić BS, (2006).** A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, 68, 175-180p.

**Miladovic, S., Ivekovic, D. et Bozidar, S.G. (2006).** A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, 68:175-180p.

**Moon-Young Choi, Chuan Chai, Jeong Hill Park, Johan Lim, Jeongmi Lee, Sung Won Kwon, (2011).** Effects of storage period and heat treatment on phenolic compound composition in dried Citrus peels (Chenpi) and discrimination of Chenpi with different storage periods through targeted metabolomic study using HPLC-DAD analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 54, 638–64p.

**Morton, J. (1987).** Grapefruit. In: *Fruits of warm climates*. (Eds), Julia F. Morton, Miami, p 152–158.

### **N**

**Nimisha Sharma, Anil Kumar Dubey<sup>1</sup>, Manish Srivastava<sup>1</sup>, Bikram Pratap Singh<sup>2</sup>, Anand Kumar Singh<sup>1</sup>, Nagendra Kumar Singh. (2015).** Assessment of genetic diversity in grapefruit (*Citrus paradisi* Macf) cultivars using physico-chemical parameters and microsatellite markers. *AJCS* 9(1):62-68p

### **O**

**Osman A.M., Wong .K.K.Y., Hill .S.J., Feryhough .A. (2006).** Isolation and the characterization of the degradation products of the mediator ABTS- derived radicals formed

## *Références bibliographiques*

---

upon reaction with polyphenols, *Biochemical and Biophysical Research Communications(BBRC)*, (340) 597-603p.

**Oyaizu M. (1986).** Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine, *gpanesejournal of nutrition* (44)307p-315p

**Ozaki.YChi H. FONG, Zareb HERMAN, Hisao MAEDA, Masaki MIYAKE, Yasushi IFUKU, Shin HASEGAWA, (1991).** Limonoidglucosides in citrus seeds, *Agricultural and Biological Chemistry*, 137-141 p.

### **\_P\_**

**PatrathipRodsamran, Rungsinee Sothornvit , (2019).** Extraction of phenolic compounds from lime peel waste using ultrasonicassisted and microwave-assisted extractions. *Food Bioscience* 28, 66 73p.

### **\_R\_**

**R.R. Sharma, (2006).** Caractéristiques des agrumes en relation avec la granulation. *ScientiaHorticulturae*, 111 (1) p 91–96.

**Rafaela Guimarães, Lillian Barros João, CM Barreira M, João Sousa Ana**

**Maria Carvalho Isabel CFR Ferreira,( 2010).** Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. Elsevier, *Food and Chemical Toxicology* 48, 99 –106p.

**Rahman S.M.( 2007).** Hand book of food preservation. CRC press Taylor and Francis Group.

**Ramful D, Bahorun T, Bourdon E, Tarnus E, Aruoma, O.I. (2010).** Bioactivephenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, (278) 75-87.

**Rana Muhammad Aadi,Xin-An Zeng Zhong Han , AmnaSahar, Anees Ahmed Khalil,**

**Ubaid Ur Rahman, Muneeb Khan, Tariq Mehmood,( 2014) .** Combined effects of sonication and pulsed electric field on selected quality parameters of grapefruitjuice, *LWT - Food Science and Technology*.relationships with for some new simple dihydrochalcones. *Science*, 195: 397-399p.

## *Références bibliographiques*

---

**RetailleauNoemie, (2016).** Les compléments alimentaires à base d'extrait de pépins de pamplemousse : propriétés et recommandations à l'officine.Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Poitiers faculté de médecine et de pharmacie. France. 120p.

**RIRA M., (2006)-** Effet des polyphénols et des tanins sur l'activité métabolique du microbioteruminal d'ovins. Thèse de Magister en biochimie et microbiologie appliquées, Université Mentouri Constantine, Algérie.94 p.

**Russo G, Fanizza G, (1991).** Genotypic variability and interrelationships among Morphological and biochemical fruit Characters in Mandarins. Proc In. SocCitriculture; 7: 96-97p.

### **\_S**

**Sandeepa Singh and Manchikatla V. Rajam, (2009).**Physiology and Molecular Biology of Plants.Department of Genetics, University of Delhi p 15(1).

**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*, vol.38, pp. 1023 – 1029p.

**Sharkey t.d.h.e, (1991)-** Stomatal control of trace gas emissions. Trace gas emission by plants. Physiological ecology.A series of monographs, texts, and treatises. Ed. Ca, Academic press, San diego. USA. p 335 -339.

**ShelaGorinstein, , Olga Martí'n-Belloso, Yong-Seo Park, RatipornHaruenkit, Antonin Lojek, Milan C^i'z', Abraham Caspi, ImanuelLibman, Simon Trakhtenberg. (2001).** Comparison of some biochemical characteristics of different citrus.fruits *Food Chemistry* 74, 309–315p.

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

**Simsek M. et Yildirim H.( 2010).**Fruit characteristics of the selected fig genotypes.*African Journal of Biotechnology*. 9 (37): 6056-6060p.

**Soulama S, Sanon H. O, Meda, R, and Boussim J. I. (2014).**"Teneurs en tanins de 15 ligneux fourragers du Burkina Faso." *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(4), 180-190p.

**Soulama, S, HO Sanon, RN Meda, JI Boussim, (2014).**"Teneurs en tanins de 15 ligneux fourragers du Burkina Faso." *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(4), 180-190p.

**Steven B. Hawthorne, (2000).** Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix. *Journal of Chromatography A*, 892:421–433p.

### **T**

**Tabart J Claire Kevers, Joël Pincemail ,Jean-Olivier Defraigne ,Jacques Dommes , (2010).**Evaluation of spectrophotometric methods for antioxidant compound measurement in relation tototal antioxidant capacity in beverages. *Food Chemistry*. (120): 607-614p.

**Tabart J, Kevers C, Pincemail J, Defraigne J.O. et Dommes J. (2010).**Evaluation of spectrophotometric methods for antioxidant compound measurement in relation to total antioxidant capacity in beverages.*Food Chemistry*. (120): 607-614p.

**Tej N. Kaul, Elliott Middleton Jr. MD Pearay L. Ogra, 1985.**Antiviral Effect of Flavonoids on Human Viruses.*Journal of Medical Virology* (15)71-79p.

**Tonelli N. etGallouin F. (2013 ).** Des fruits et des graines comestibles du monde entier - Ed. Lavoisier.

### **V**

**Van Bel AJE, Hess PH. (2008).** Hexoses as phloem transport sugars: the end of a dogma? *Journal of Experimental Botany*59, 261-272.

### **W**

## *Références bibliographiques*

---

**Webber Walter Reuther; Herbert John; Leon Dexter Batchelor, (1967).**The citrus industry, volume 1: History, world distribution, botany and varieties. Edition.University of California press.

**Wei-Lun Hung SuhJH , Wang Y ,(2017).**Chemistry and health effects of furanocoumarinsin grapefruit. Citrus Research and Education Center, Department of Food Science and Human Nutrition, University of Florida, LakeAlfred, FL, USA.p 72-83

### **\_Y\_**

**Y. Liu, (2006).** Water based extraction of pectin from flavedo and albedo of orange peels. Chemical Engineering Journal 120, 203–209 p.

**Yadav R., etAgarwala M. (2011).** Phytochemical analysis of some medicinal plants.Journal of Phytology. 3(12): 10-14p.

**Yoichi NogataSakamoto K , Shiratsuchi H , Ishii T , Yano M , Ohta H,(2006).**Flavonoid composition of fruit tissues of citrus species.bioscienc, biotechnol, biochem.70, 178,192p.

**Yu f.n.a, Utsumi R., (2009).** Diversity regulation and genetic manipulation of plant mono-and sesquiterpenoid biosynthesis. Cell.mol. Life sci. Vol. (66): 3043-3052p.

**Yuan-Chuen;Wang Yueh-Chueh; Chuang Hsing-Wen Hsu,(2008).**The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. Food Chemistry 106, 277–284p.

### **\_Z\_**

**Z. Zou,Wanpeng Xi, Yan Hu, Chao Nie ,Zhiqin Zhou,( 2016).**Antioxidant activity of Citrus fruits. Food Chemistry 196, p 885–896.

**Zhang J, (2007).** Flavonoids in Grapefruit and Commercial Grapefruit Juices: Concentration, Distribution, and Potential Health Benefits. 120, 288-294p.

**Zhi-Yong Zhang,Xian-Jin Liu, Xiao-Yue Hong,( 2007).** Effects of home preparation on pesticide residues in cabbage.Food Control 18, 1484–1487p.

## *Références bibliographiques*

---

**Zia-uretrehmen,(2006)**, Citrus peel extract – A natural source of antioxidant .Food Chemistry 99, 450–454p.

**ZuhdiFathiZuhdi Al Khawajah, (2003)**. Utilization of Citrus Pulp in Broiler Rations.An-Najah National University Faculty of Graduate Studies.

### **Références électroniques :**

**Anonyme 1 (2012)**: Des chiffres positifs à consolider : Légère baisse de la production agrumicole en 2011/12, 2012. [En ligne] <http://www.made-in-algeria.com/news/production-agricole6608.html>,

**Anonyme 2 (1997) :** La création d'un verger. Spécial agrumes. Edité par le CNPA, Bir Mourad Rais, Alger, 74p.

**Au jardin.info,( 2002)**. Fiche descriptive Pomelo. <https://www.aujardin.info/plantes/citrus-x-paradisi.php>. Site consulté le 06 mai 2019.

**USDA, (2001)**. Full Report (All Nutrients): 09113, Grapefruit, raw, pink and red, California and Arizona, <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2224?fgcd=&man=&lfacet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Full&new=&measureby>, consulté le 16 avril 2019.

**USDA, National Agricultural Statistics Service, (2016)**. <https://www.nass.usda.gov/>. Consulté le 19 avril 2019.

**Toni Siebert, (2008)**.Citrus paradisi Macfadyen. <https://citrusvariety.ucr.edu/citrus/whitneymarsh.html>

**Passport Santé, (2015)**. Vitamine C. [https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/Plantes/Supplement/Fiche.aspx?doc=vitamine\\_c\\_ps](https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/Plantes/Supplement/Fiche.aspx?doc=vitamine_c_ps)consulté le 16 avril 2019

**Le Bellec Fabrice, Le Bellec Valérie.( 2004)**. A la découverte des fruits des Antilles Abymes : PLB Editions, 128 p. ISBN 2-912300-77-0.Toni Siebert, 2008. Citrus variety collection.<https://citrusvariety.ucr.edu/citrus/whitneymarsh.html>.

## *Références bibliographiques*

---

**Bmedia, (2010)** fruits et légumes du marché. Biologie et multimédia. Sorbonne université. UFR des sciences de la vie.<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Marche/orange.htm>. Consulté le 19 avril 2019.

**Bob Saunders.** PLANT FINDER - la ressource de référence de jardin ultime.[https://www.gardensonline.com.au/gardenshed/plantfinder/show\\_1200.aspx](https://www.gardensonline.com.au/gardenshed/plantfinder/show_1200.aspx) (site internet n°1)

**Famille des Rutacées, (2018).** *Citrus - x paradisi* -Famille des Rutacées.<http://www.quelleestcetteplante.fr/especes.php?genre=Citrus&variete=x%20paradisi>

**FAO, (2013).** Production d'agrumes. <https://fr.actualitix.com/pays/wld/production-d-agrumes.php>. Consulté le 19 avril 2019.

**Mesrutaceaes; (2000);**Les pamplemoussiers / Citrus Paradisi; <http://agrumespassion.onlc.eu/2-PamplemoussierCitrus-Paradisi.html>.

**Chemical Book, (2016).** Hesperidine (520 -26 -3), [http://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3234127\\_EN.htm](http://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3234127_EN.htm). Consulté le 06 mai 2019.

# **ANNEXES**

## Annexe I

### Préparation des solutions

<b>solutions</b>	<b>réactifs</b>
<b>DCIP</b>	3mg de DCIP puis on lui ajoute de l'eau distillée jusqu'à avoir 100g
<b>Acide oxalique (1%)</b>	1g d'acide oxalique +100ml de l'eau distillée
<b>Acide ascorbique</b>	100mg d'acide ascorbique +50ml d'acide oxalique
<b>Réactifs de bradford (0,5L)</b>	50 mg de poudre de bleu de coomassie G250 +25 ml d'éthanol 96 % + 50 ml d'acide ortho-phosphorique à 85 %, Le mélange résultant est ajusté avec de l'eau distillée à un volume de 500 ml
<b>Tampon phosphate (0,1M)</b>	1.36 g de $\text{KH}_2\text{PO}_4$ dans 100 ml d'eau distillée. 2.28 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ dans 100 ml d'eau distillée. La solution acide est ajustée avec la solution basique jusqu'à l'obtention d'un pH 6,5.
<b>sulfate d'ammonium 80%</b>	Peser 80 g de sulfate d'ammonium dans 100ml d'eau distillée
<b>BSA (sérumalbumine bovine)</b>	1mg de BSA dans 1ml du tampon acétate
<b>éthanol (80%)</b>	116,66 ml de l'éthanol 96% dans 34,44 ml dans l'eau distillée
<b>phénol (5%)</b>	5g dans 100ml de l'eau distillée
<b>glucose</b>	200 mg de glucose dans 100ml de l'eau distillée
<b>réactif de Bouchardat</b>	2g d'iode bisublimé ( $\text{I}_2$ ) + 2 g de KI dans 100ml d'eau distillée
<b>Chlorure ferrique (<math>\text{FeCl}_3</math>) à 10%</b>	10g de $\text{FeCl}_3$ dans 100 ml d'eau distillée.
<b>Chlorure ferrique (<math>\text{FeCl}_3</math>) à 2%</b>	2g de $\text{FeCl}_3$ dans 100 ml d'eau distillée.
<b>Ethanol (40%)</b>	208, 333 ml de l'éthanol 96% dans 291,999 ml de l'eau distillée
<b>Tampon Acétate (0,2 M acide acétique et 0,17M NaCl)</b>	11.4 ml D'acide acétique +9.86 g NaCl +800ml eau distillé le pH est ajusté à 4.9 avec NaOH (4N) le volume est ajusté à 1L avec l'eau distillée.
<b>NAOH (4N)</b>	2g de NaOH dans 500ml de l'eau distillée

## Annexe I

<b>Nacl (0,17M)</b>	0,993g de NaCl dans 100ml de l'eau distillée
<b>ABTS</b>	0,360g d'ABTS dans 100 ml de l'éthanol + 0,066 g de Persulfate de potassium dans 100 ml de leau distillée
<b>trolox</b>	40,3mg de trolox dans 20ml d'eau distillé
<b>BHA</b>	20mg BHA dans 20ml d'éthanol 100%
<b>Ferricyanure de potassium à 1%</b>	1g de ferricyanure de potassium dans 100ml d'eau distillée
<b>Acide trichloracétique à 10%</b>	10g de l'acide trichloracétique dans 100ml d'eau distillée
<b>Chlorure ferrique (FeCl3) à 0,1%</b>	0,1g de chlorure ferrique dans 100ml d'eau distillée
<b>Tampon phosphate à 0,2M et pH 6,6</b>	2,72g de KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> dans 100ml d'eau distillée + 4,56g de K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> dans 100ml d'eau distille
<b>Acide sulfurique à 1,25%</b>	Pour préparer 500 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1,25%. On prélève un volume de 6,25 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> à 98% puis complété avec 493,75 ml d'eau distillée
<b>Hydroxyde de sodium à 2,5%</b>	12,5g d'hydroxyde de sodium dans 500ml d'eau distillée
<b>Bleu de bromothymole à 0,02%</b>	0,02 g de bleu de bromothymole dans 100ml d'éthanol
<b>Sulfate de fer (Fe SO4)</b>	0,2g de Fe SO <sub>4</sub> dans 200ml d'eau distillé
<b>Nitrate de magnésium Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></b>	0,2g Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> dans 200ml d'eau distillé
<b>Sulfate de cuivre (CuSO<sub>4</sub>)</b>	0,2g de CuSO <sub>4</sub> dans 200ml d'eau distillé
<b>Vert de bromocrésol à 0,004%</b>	0,004g dans 100ml d'eau distillée
<b>Acide citrique (3%)</b>	3g d'acide citrique dans 100ml d'eau distillée
<b>Chlorure d'ammonium (Na<sub>4</sub>cL) à 5%</b>	5g de chlorure d'ammonium dans 100ml dans l'éthanol

## Annexe II

N°	Caractères étudié	abréviations
01	Intensité de la couleur verte de la feuille	ICVF
02	Insertion au limbe de la feuille	ILF
03	Division de la feuille	DF
04	Longueur de la feuille	LOF
05	Largeur de la feuille	LAF
06	Forme du limbe	FL
07	Le poids du fruit	PFR
08	Le diamètre du fruit	DFR
09	Longueur du fruit	LOFR
10	Forme du fruit	FFR
11	Couleur de l'épicarpe	CEP
12	Texture de la surface du fruit	TSFR
13	Absence/présence d'une aréole	AP/A
14	Nombre de quartiers	NQ
15	Forme de l'axe en coupe transversale	FCT
16	Couleur de la pulpe	CPU
17	Intensité de la couleur de la pulpe	ICPU
18	Nombre de graine par fruit	NGFR
19	Forme des graines	FGR
20	Couleur de la graine	CGR

### II.2.1 Les caractères qualitatifs :

Les observations ont été faites sur 50 fruits et 20 feuilles.

#### II.2.1.1 Les fruits

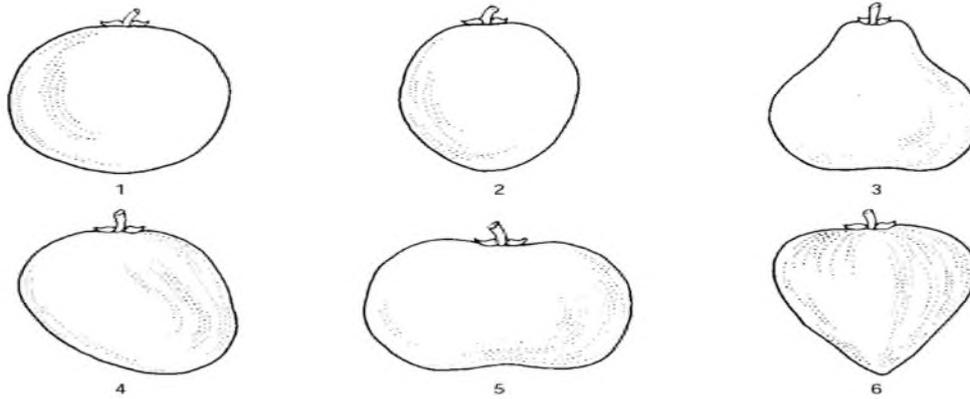
##### a- Forme du fruit (FFR)

1. Sphéroïde
2. Ellipsoïde
3. Piriforme
4. Oblique (asymétrique)
5. Aplatie
6. Ovoïde

99 Autre (préciser dans le descripteur IPGRI).

## Annexe II

---



**Figure 15: Forme du fruit (IPGRI, 1999)**

### **b- Couleur de la peau du fruit (épicarpe) (CEP)**

- |                 |                  |
|-----------------|------------------|
| 1. Vert         | 7. Orange        |
| 2. Vert-jaune   | 8. Orange foncé  |
| 3. Jaune pâle   | 9. Rose-jaune    |
| 4. Jaune        | 10. Rose-orange  |
| 5. Jaune foncé  | 11. Rouge        |
| 6. Orange clair | 12. Rouge-orange |

### **c- Texture de la surface du fruit (TSFR)**

- |                |                                     |
|----------------|-------------------------------------|
| 1. Lisse       | 4. Picotée                          |
| 2. Irrégulière | 5. Bosselée                         |
| 3. Papillée    | 6. Rainures et côtes longitudinales |

### **d- Absence/présence d'une aréole (AP/A)**

- 0 Absente
- 1 Présente

### **e- Nombre de quartiers par fruit (NQ)**

## Annexe II

---

- |            |            |
|------------|------------|
| 1. <5      | 4. 15 - 18 |
| 2. 5 - 9   | 5. >18     |
| 3. 10 - 14 |            |

### **j- Forme de l'axe en coupe transversale (FCT)**

- 1 Ronde
- 0 Irrégulière

### **k-Couleur de la pulpe (chair) (CPU)**

- |           |  |
|-----------|--|
| 1. Blanc  | 6. Rouge pâle                                  |
| 2. Vert   | 7. Orange rouge                                |
| 3. Jaune  | 8. Rouge                                       |
| 4. Orange | 9. Pourpre                                     |
| 5. Rose   | 99 Autre (Préciser dans le descripteur IPGRI). |

### **l-Intensité de la couleur de la pulpe (ICPU)**

- 3 Pâle
- 7 Foncée

### **II.1.2 Les Feuilles :**

L'observation est faite sur 20 feuilles mûres. (Feuilles complètement développées).

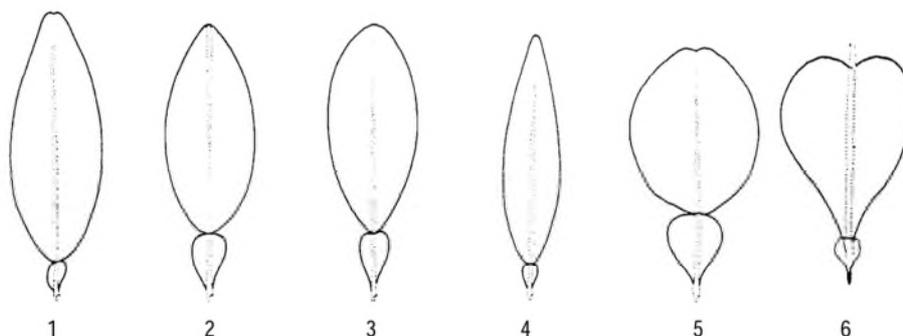
#### **a. Intensité de la couleur verte du limbe de la feuille : (ICFV)**

- 1. Claire
- 2. Moyenne (vert)
- 3. Foncée

#### **b. Forme du limbe de la feuille (FL)**

## Annexe II

1. Elliptique
2. Ovée
3. Obovale
4. Lancéolée
5. Orbiculaire
6. Obcordée

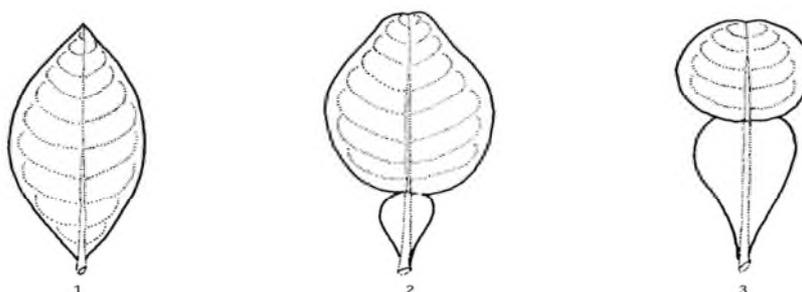


**Figure 16:** Forme du limbe de la feuille (IPGRI, 1999)

### c- Insertion au limbe de la feuille

Longueur du pétiole par rapport à la longueur du limbe de la feuille. (Voir la figure 28)

1. Sessile (sans pétiole)
2. Brépétiolé (pétiole plus court que le limbe)
3. Longipétiolé (pétiole plus long ou aussi long que le limbe)



**Figure 17 :** Insertion au limbe de la feuille (IPGRI, 1999)

### d- Division de la feuille

1. Simple
2. Bifoliée
3. Trifoliée
4. Pentafoliée
- 99 Autre (p.ex. mélange de simple, bifoliée et trifoliée, précisé dans le descripteur)

## Annexe II

### II.1.3. Les Graines :

Graines complètement développées extraites de 20 fruits à maturité.

#### a- Nombre moyen de graines par fruit (NGFR)

- |          |            |
|----------|------------|
| 0. Sans  | 3. 10 – 19 |
| 1. 1 – 4 | 4. 20 – 50 |
| 2. 5 – 9 | 5. > 50    |

#### b- Forme des graines (FGR)

Observée sur 20 graines fraîches.

- |               |  |
|---------------|--|
| 1. Fusiforme  | 5. Semi-deltaïde                               |
| 2. Claviforme | 6. Sphéroïde                                   |
| 3. Cunéiforme | 7. Semi-sphéroïde                              |
| 4. Ovoïde     | 99 Autre (préciser dans le descripteur IPGRI). |

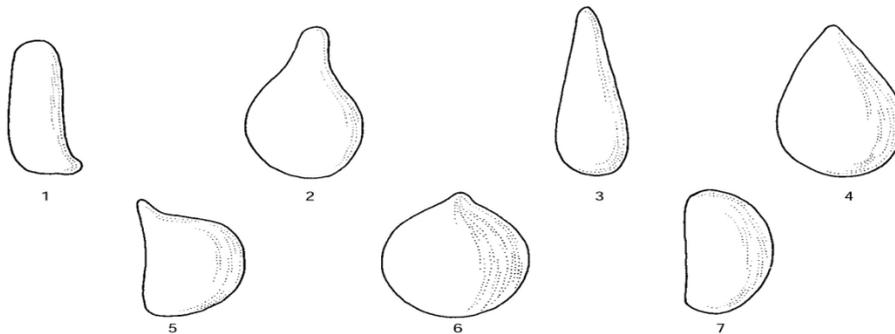


Figure 18: Forme des grains (IPGRI, 1999)

#### c- Couleur des graines (CGR)

Observée sur 20 graines fraîches. Observation visuelle moyennant des essais de graines

- |             |  |
|-------------|--|
| 1. Blanc    | 4. Vert  |
| 2. Crème    | 5. Brun  |
| 3. Jaunâtre | 99 Autre (préciser dans le descripteur IPGRI). |

## Annexe II

---

### II.2.2 Les caractères quantitatifs :

#### II.2.2.1 Les Feuilles

##### a- Longueur du limbe de la feuille [cm] (LOF)

Calculée à partir de la base du pétiole jusqu'à l'extrémité du limbe à l'aide d'une règle, à la moyenne de 20 feuilles.

##### b- Largeur du limbe de la feuille [cm] (LAF)

Mesurée à l'endroit le plus large, à la moyenne de 20 feuilles.

#### II.2.2.2 Les fruits

##### a- Poids du fruit [g] (PFR)

Cette moyenne est déterminée en mesurant le poids total engendré par 50 fruits. Il est apprécié à l'aide d'une balance électrique.

##### b- Diamètre du fruit [mm] (DFR)

Moyenne calculée sur 50 fruits et appréciée par un pied à coulisse.

##### c- Longueur du fruit [mm] (LOFR)

Moyenne calculée sur 50 fruits et appréciée par un pied à coulisse.

### II.2.3 Matériels utilisés :

Afin d'effectuer les différentes mesures quantitatives et toutes les estimations qualitatives nous avons utilisé le matériel du laboratoire suivant :

- ✚ **Une balance** : du type **RADWAG, PS 1200 R2** Max 1200g, MIN 0,5g d=0.01g. utilisée pour les pesées des fruits supérieures à 250g.

## Annexe II

---



**Figure 19:** Balance du type **RADWAG, PS 1200 R2**

- ✚ Un pied à coulisse du type *TARAUDAGES LSQ* 0-16 cm. Il a été utilisé pour les mesures de la longueur et le diamètre des fruits.



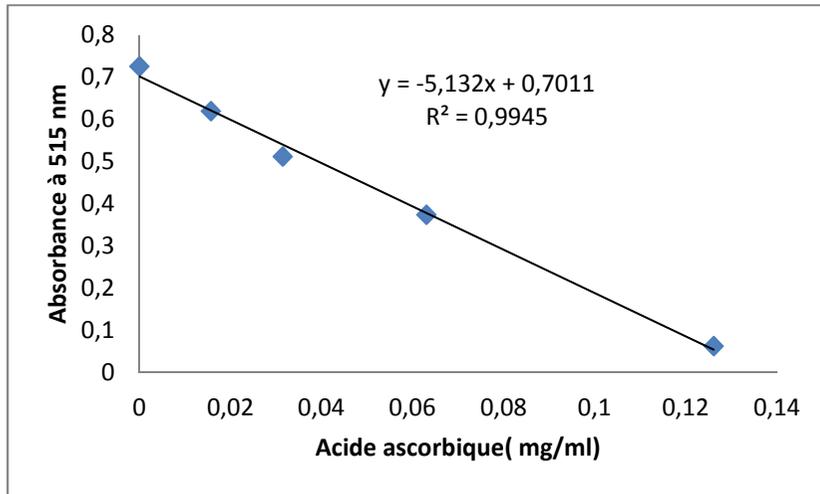
**Figure 20 :** Pied à coulisse du type *TARAUDAGES LSQ*

- ✚ Mètre ruban couture jaune 100cm. Elle a été utilisée pour les mesures de la longueur et la largeur des feuilles

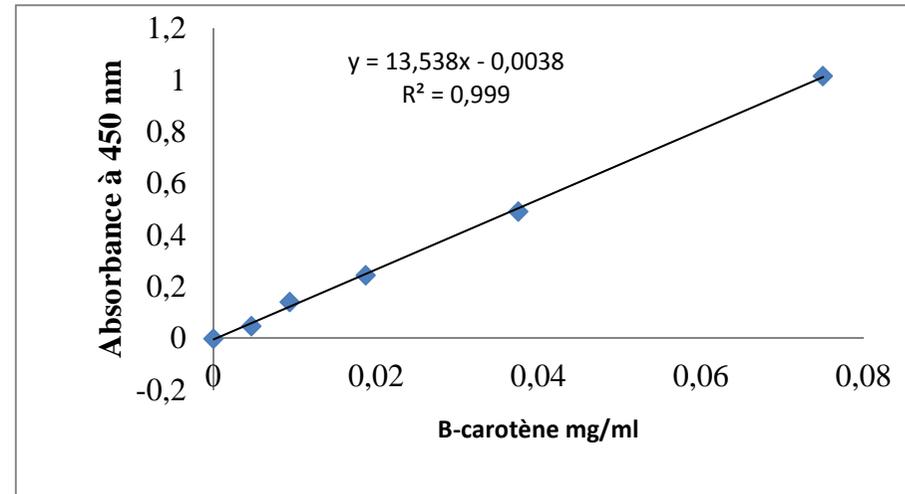


**Figure 21 :** Mètre ruban couture jaune

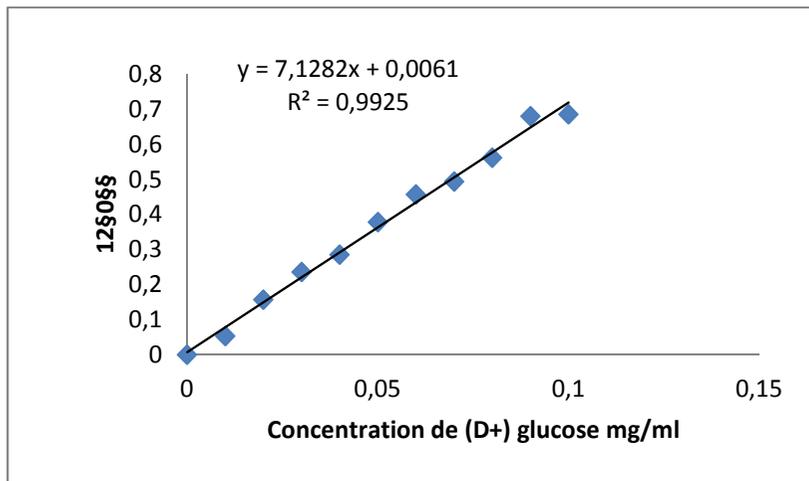
## Annexes III



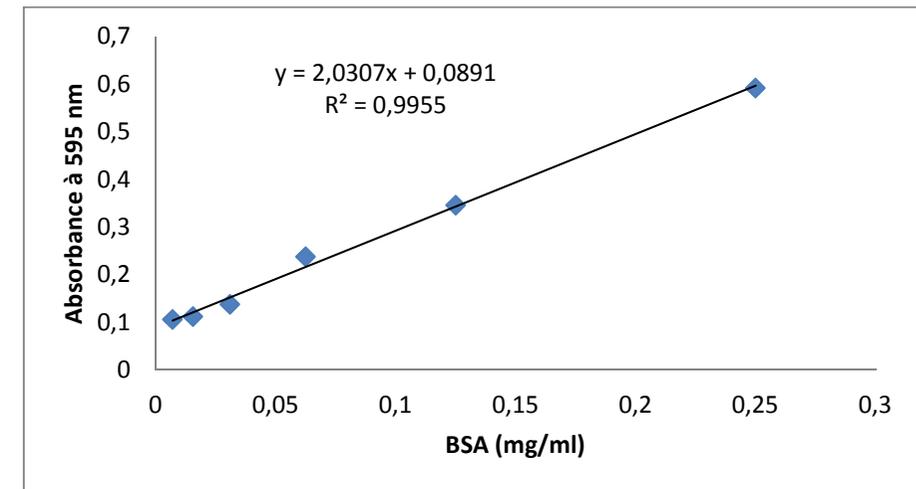
**Figure 01** : courbe d'étalonnage de vitamine C



**Figure 2** : Courbe d'étalonnage du B-carotène (mg/ml).



**Figure 03** : Courbe d'étalonnage des sucres totaux.



**Figure 04** : Dosage des protéines.

## Annexes III

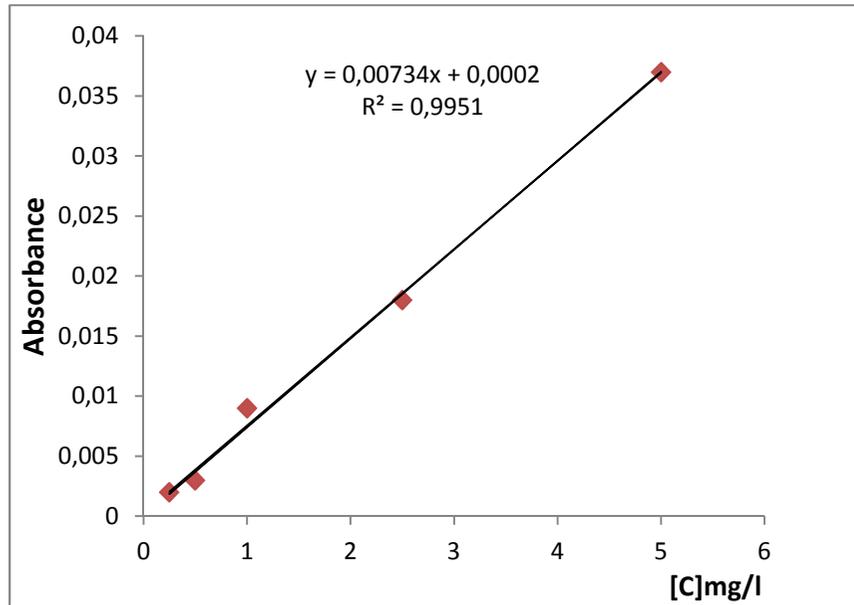


Figure 06 : Courbe d'étalonnage de fer

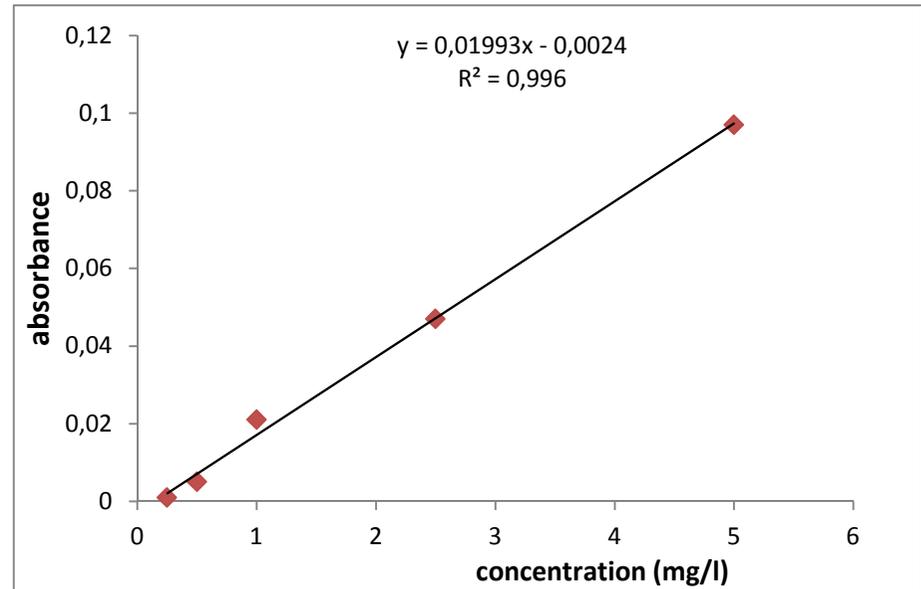


Figure 07 : Courbe d'étalonnage de cuivre

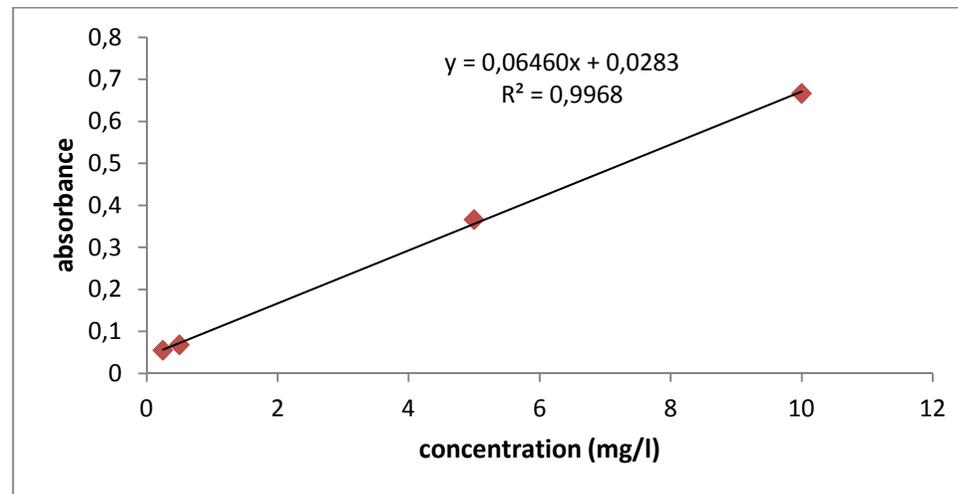


Figure 08 : Courbe d'étalonnage de magnésium

## Annexes II

---

## Résumé

Le fruit *Citrus x paradisi* est un agrume nommé « pomélo », de la famille des rutacées, c'est un fruit populaire en raison de son goût et de sa valeur nutritionnelle qui peuvent contribuer à la prévention de nombreuses maladies. La présente étude a pour objectif la détermination botanique d'un fruit locale qui est le pamplemousse (*Citrus x paradisi*), l'évaluation de la physico-chimie de son jus, de ses deux sous produits (écorce et graines), ainsi que l'évaluation des sels minéraux de ces derniers. La mise en évidence des métabolites secondaires et l'activité anti-oxydante ont été déterminé par deux méthodes d'extraction. D'après l'étude morphologique, l'échantillon étudié dans ce présent travail appartient à la variété *Marsh sedless* de l'espèce *Citrus x paradisi*. Les résultats ont montré que l'écorce séchée est riche en sucre totaux (44,901g/100 g MS), vitamine C (1,3275 g/100g), caroténoïdes (0,10 g Eq  $\beta$ -carotène/100g MS), cellulose (11,70%), cendres (3,64 %), et en 3 sels minéraux qui sont le fer, magnésium, et cuivre ; alors que les graines sont riches en matière grasse (30,64%), protéines (10,9769 g/100g MS) et cendres (3,64 %) et calcium. Plusieurs métabolites secondaires (composés phénoliques, tanins et terpenoïdes) ont été caractérisés dans les deux extraits optimisés (MAE et bain marie ECS). Ces derniers ont révélé une activité anti-oxydante réductrice assez faible avec une IC<sub>50</sub> de 3,9540 mg /ml pour l'extrait MAE et (4,5493 mg/ml) pour l'extrait ECS. Les deux extraits ont montré également un faible pouvoir anti-radicalaire de l'ABTS (IC<sub>50</sub> = 2,02 mg/ml, pour l'extrait MAE et 1,90 mg/ml pour l'extrait ECS).

**Mots clés :** *Citrus x paradisi*, Identification botanique, Sous-produits, physico-chimie, Métabolites secondaires, Activité anti-oxydante.

## Abstract

*Citrus x paradisi* "pomelo", from Rutaceae family; is a popular fruit because of its taste and nutritional value that can contribute to the prevention of many diseases. The present study aims to the botanical determination of this fruit and the evaluation of the physico- chemical parameters of its juice, its two by-products (bark and seeds), as well as the evaluation of their mineral salts. The screening of the secondary metabolites and antioxidant activity were done on the two optimized extracts of the bark. According to the morphological study, the sample studied in the present work belongs to the *Marsh sedless* variety of the *Citrus x paradisi* species. The results showed that the dried bark is rich in total sugars (44.901g / 100 g MS), vitamin C (1.3275 g/ 100g), carotenoids (0.10 g Eq  $\beta$ -carotene / 100g MS), cellulose (11.70%), ash (3.64%), and in 3 mineral salts which are iron, magnesium, and copper; while the seeds are rich in fats (30.64%), proteins (10.9769 g / 100g MS) and ash (3.64%) and calcium; while the seeds are rich in fats (30.64%), proteins (10.9769 g / 100g MS) and ash (3.64%). Several secondary metabolites (phenolic compounds, tannins and terpenoids) were characterized in the two optimized extracts (MAE and bain-marie ECS). They show a low reducing activity with an IC<sub>50</sub> value of 3.9540 mg / ml for the MAE extract and 4.5493 mg / ml for the ECS extract. Both extracts showed also a low antiradical potency against ABTS radical (IC<sub>50</sub> = 2.02 mg / ml, for the MAE extract and 1.90 mg / ml for the ECS extract).

**Keywords:** *Citrus x paradisi*, Botanical identification, By-products, Physico-chemical parameters, Secondary metabolites, Antioxidant activity.

## ملخص

ثمرة *Citrus x paradisi* هي فاكهة حمضية تدعى "بوميلو"، من عائلة rutaceae، وهي ثمرة شائعة بسبب مذاقها وقيمتها الغذائية التي يمكن أن تساهم في الوقاية من العديد من الأمراض. تهدف هذه الدراسة إلى التحديد النباتي للفاكهة المحلية التي هي grape fruit، و التقييم الفيزيائي والكيميائي لعصيرها، ومنتجاتها الثانوية (القشور والبذور)، وكذلك تقييم الأملاح المعدنية لهذا الأخير و تسليط الضوء على المستقبلات الثانوية ونشاط اثنين من مضادات الأكسدة المقتطفة الأمثل للقشور. وفقاً للدراسة المورفولوجية، تنتمي العينة المدروسة في هذا العمل إلى تشكيلة *marsh sedless*. أظهرت النتائج أن اللحاء المجفف غني بالسكر الكلي (44.901 غرام / 100 غرام MS) وفيتامين C (1.3275 غرام / 100 غرام)، الكاروتينات (0.10 غرام مكافئ بـتا كاروتين / 100 غرام MS)، السليلوز (11.70 %)، والرمد (3.64 %)، وفي 3 أملاح غير عضوية وهي الحديد و المغنيسيوم والنحاس؛ في حين أن البذور غنية بالدهون (30.64 %)، البروتين (10.9769 غرام / 100 غرام MS) والكالسيوم. وهناك عدة مستقبلات ثانوية (المركبات الفينولية والعفص والتيربينويدات) كانت تتميز في اثنين من مقتطفات الأمثل (MAE و ECS). أظهرت هذه النشاطات المضادة للأكسدة منخفضة مع وجود IC<sub>50</sub> يبلغ (3.9540 ملغ / مل) من خلاصة MAE و (4.5493 ملغ / مل) لمستخلص ECS. أظهر كلا المستخلصين أيضاً فعالية منخفضة من المضادات الحيوية لـ ABTS (IC<sub>50</sub> = 2.02 ملغ / مل) لمستخلص MAE و (1.90 ملغ / مل) لمستخلص ECS.

**الكلمات المفتاحية :** *Citrus x paradisi*، التعرف على النبات، المنتجات الثانوية، الكيمياء الفيزيائية، الأيضات الثانوية، نشاط مضادات الأكسدة.