

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des sciences alimentaires
Spécialité : Qualité des produits et sécurité alimentaire



Réi :

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

MASTER

Thème

**Etude comparative de l'activité antioxydante du jus
d'orange enrichi : Valorisation des écorces d'orange et
des pépins de raisin**

Présenté par :

Safia ATROUCHE & Syla BRAHMI

Soutenu le : **29 juin 2019**

Devant le jury composé de :

Mme FELLA née TEMZI Samira	MAA	Présidente
Mme ADRAR née MEDOUNI Sonia	MCB	Promotrice
Mr BOUKHALFA Farid	MCB	Examineur

Année universitaire : 2018 / 2019

Remerciements

A notre chère promotrice

Madame Sonia ADRAR-MEDOUNI

Nous tenons à vous déclarer nos remerciements les plus sincères pour avoir accepté de diriger ce travail avec patience.

Votre dévouement au travail, votre gentillesse imposent le respect et représentent le modèle que nous serons toujours heureux de suivre.

Puisse ce travail être à la hauteur de l'attention, et l'estime que vous nous avez accordés.

A notre chère présidente du jury

Madame Samira FELLA-TEMZI

Nous vous sommes infiniment reconnaissantes du grand honneur que vous nous faites en acceptant la présidence du jury.

Nous avons eu la chance de compter parmi vos étudiantes l'année précédente et de profiter de l'étendue de votre savoir. Nous ne saurons jamais vous exprimer notre profonde gratitude.

Qu'il nous soit permis, chère présidente, de vous exprimer notre estime et notre profonde reconnaissance.

A notre cher examinateur

Monsieur Farid BOUKHALFA

Nous vous remercions d'avoir bien voulu en toute simplicité, nous faire l'honneur d'examiner ce travail.

Nous avons eu le privilège d'être parmi vos étudiantes les deux dernières années et d'apprécier de près, vos qualités et vos valeurs.

Votre sérieux, votre sagesse et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Nous vous prions, de trouver dans ce travail le témoignage de notre profond respect et l'assurance de nos sentiments respectueux.

Dédicaces

Au seuil d'un premier grand diplôme universitaire en attendant Inshallah d'autres études plus approfondies, ma pensée va en premier lieu à mes parents qui n'ont ménagé aucun effort pour que je puisse atteindre ce niveau d'étude et à qui je rends un grand hommage tout en espérant qu'ils soient fiers de leur enfant.

Je n'oublie pas mes frères et sœurs, qui ont aussi chacun de leurs coté tout fait pour me mettre dans de bonnes conditions de travail.

Le mérite revient aussi a tous mes professeurs depuis le 1er cycle à ce jour qui ont fourni énormément d'effort pour me transmettre le savoir de la biologie générale et de la biologie alimentaire en particulier.

Enfin toute ma famille mes ami(e)s qui n'ont pas cessé de m'encourager dans les moments difficiles pour que je garde la même cadence et aller de l'avant.

*Sans oublier bien sûr mon amie particulière et ma binôme « **Safia** » avec qui j'ai travaillé pour arriver à présenter ce mémoire.*

SYLIA

Dédicaces

*A mon regretté et vénérable grand- père paternel **Ali ATROUCHE** « **BABA ALI** » qui reste la source d'inspiration de la famille dans le respect des valeurs fondamentales de la société.*

*A ma chère et regrettée tante paternelle **l'hadja Hanifa ATROUCHE** épouse **DEBZ** qui nous a quittée prématurément ; **Tata Hanifa** était le miroir qui reflétait les valeurs portées par son illustre père « **BABA ALI** ».*

*A mes parents, mon papa **Fattah** et ma maman **Fadila** à qui je dois tout, eux qui ont œuvré pour ma réussite par leur amour, leurs soutien et conseils si précieux.*

Eux qui, au prix de sacrifices, m'ont guidé dans la voie du succès et de la réussite sans jamais douter de mon intégrité morale et intellectuelle.

Aucun mot ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect et la reconnaissance que j'ai pour vous. Ce travail est le fruit de longues années de persévérance, d'efforts, de sacrifices et de privation que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

Que ce modeste travail soit aussi l'expression des engagements que vous n'avez cessé d'affirmer dans votre sacerdoce dédié à notre éducation puisse Dieu, le très Haut, vous accorder santé, bonheur, quiétude d'esprit et longue vie.

*A mon frère **Abdelghani**, son épouse **Narimane** et leur fille **Zahida-Nadine**, mes sœurs **Rabha** son époux **Zahir BERKATI** et leurs filles **Yasmine et Céline**, ma confidente et alliée **Mériem-Nefissa** qui par leur présence et leur compréhension m'ont accompagné sans jamais faillir.*

*A ma grand-mère paternelle **Zoulikha-Nouara** et mes grands-parents maternels **Youcef** et **Houria MEHELLEB** pour leur tendresse infinie et leur soutien.*

A mes oncles et tantes leurs conjoints et leurs enfants pour leurs encouragements.

*A ma binôme «**Sylia** » qui, malgré tous les contretemps auxquels nous avons fait face, a su être disponible et fidèle.*

A mes ami(e)s qui m'ont entouré même dans les moments difficiles.

SAFIA

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 8

Partie théorique

I	Généralités sur l'orange	11
I.1	Habitat et description géographique	11
I.2	Description botanique	11
I.3	Principales espèces.....	12
I.4	Description morphologique de l'orange	13
I.5	Principales variétés	14
I.5.1	Oranges amères.....	14
I.5.2	Oranges douces.....	14
I.6	Composition et valeur nutritive des oranges et des jus d'orange.....	14
I.7	Importance économique.....	15
I.7.1	Production mondiale.....	15
I.7.2	Production nationale	15
I.8	Utilisation et effets thérapeutiques de l'orange	16
II	Antioxydants de l'orange	16
II.1	Composés phénoliques	17
II.1.1	Acides phénoliques.....	17
II.1.2	Flavonoïdes.....	17
II.2	Tanins	19
II.3	Vitamine C	19
II.4	Caroténoïdes.....	19
III	Stress oxydatif.....	20
III.1	Rôles physiologiques et pathologiques des radicaux libres	20

IV	Propriétés des antioxydants.....	21
I	Echantillonnage et traitement des échantillons.....	23
I.1	Oranges	23
I.2	Pépins de raisin	23
II	Préparation et traitement des échantillons	24
II.1	Préparation des jus enrichis par les écorces d'orange et les pépins de raisin.....	24
II.2	Pasteurisation	25
III	Analyses physico-chimiques.....	25
III.1	Test d'humidité	25
III.2	Mesure du pH	26
III.3	Mesure de l'acidité	26
IV	Extraction et dosage des antioxydants	26
IV.1	Caroténoïdes.....	26
IV.2	Composés phénoliques.....	27
IV.2.1	Dosage des polyphénols totaux.....	27
IV.2.2	Dosage des flavonoïdes.....	27
IV.3	Vitamine C	28
V	Evaluation du potentiel antioxydant	28
V.1	Activité anti-radicalaire DPPH.....	28
V.2	Pouvoir réducteur	29
VI	Analyse statistique	29
I	Paramètres physico-chimiques.....	31
I.1	Taux d'humidité.....	31
I.2	Mesure du pH et acidité	32
I.2.1	Jus	32
I.2.2	Jus enrichis avec les écorces d'orange et pépins de raisin	32
II	Dosage des antioxydants.....	35
II.1	Composés phénoliques.....	35
II.1.1	Taux de polyphénols totaux des deux matrices	35
II.1.2	Taux de polyphénols totaux des différents jus enrichis.....	36

II.2	Flavonoïdes	38
II.2.1	Taux de flavonoïdes des deux matrices	38
II.2.2	Taux de flavonoïdes des différents jus enrichis.....	39
II.3	Vitamine C	40
II.3.1	Taux de vitamine C des différents jus enrichis.....	40
II.4	Caroténoïdes.....	42
II.4.1	Taux de caroténoïdes des deux matrices	42
II.4.2	Taux de caroténoïdes des différents jus enrichis	43
III	Evaluation de l'activité antioxydante.....	45
III.1	Pouvoir anti-radicalaire DPPH.....	45
III.1.1	Activité anti-radicalaire des deux matrices.....	45
III.1.2	Activité anti-radicalaire des différents jus enrichis	46
III.2	Pouvoir réducteur	47
III.2.2	Pouvoir réducteur des différents jus enrichis.....	49

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribose Nucléique

ANOVA: Analyse de la variance (Analysis Of Variance).

ES: Ecorces sèches

FAO: Food and Agriculture Organization.

Jus F : Jus frais

Jus Ps : Jus pasteurisé

Jus Ps + E : Jus pasteurisé enrichi avec les écorces d'orange

Jus Ps + P : Jus pasteurisé enrichi avec les pépins de raisin

Jus Ps + E + P : Jus pasteurisé enrichi avec les écorces d'orange et pépins de raisin

Mf : Matière fraîche

Ms : Matière sèche

PI% : Pourcentage d'Inhibition

PS : Pépins secs

T/min : Tours par minute

Liste des figures

Figure 1 : Photographie feuilles, fleurs et fruits d'oranger	12
Figure 2 : Photographie de l'orange.....	13
Figure 3: Evolution de la production mondiale de l'orange	15
Figure 4 : Evolution de la production locale de l'orange.....	16
Figure 5 : Structure du phénol	17
Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes.	18
Figure 7 : Structure chimique de l'acide ascorbique.....	19
Figure 8 : structure de quelques caroténoïdes identifiés dans l'orange	20
Figure 9 : Photographie de l'orange utilisée	23
Figure 10: Analyse sensorielle d'un jus d'orange enrichi par les pépins de raisin (A) et les écorces d'orange (B).....	24
Figure 11 : Taux d'humidité des deux matrices étudiées.	31
Figure 12 : Teneurs en polyphénols totaux des deux matrices étudiées	35
Figure 13 : Teneurs en polyphénols totaux des différents jus enrichis.....	37
Figure 14 : Teneurs en flavonoïdes des deux matrices étudiées	38
Figure 15 : Teneurs en flavonoïdes des jus différents jus enrichis	39
Figure 16 : Teneurs en vitamine C des différents jus enrichis.....	41
Figure 17 : Teneurs en caroténoïdes des deux matrices étudiées	42
Figure 18: Teneurs en caroténoïdes des différents jus enrichis	44
Figure 19 : Activité anti-radicalaire des deux matrices étudiées	45
Figure 20 : Activité anti-radicalaire des différents jus enrichis étudiées	46
Figure 21 : Pouvoir réducteur des deux matrices étudiées	48
Figure 22 : Pouvoir réducteur des différents jus enrichis	49

Liste des tableaux

Tableau I : Description botanique des oranges	11
Tableau II : Classification botanique des oranges douces	12
Tableau III: Composition biochimique moyenne dans 100 g d'orange.....	14
Tableau IV: Structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe	18
Tableau V: Certaines pathologies causées par le stress oxydatif.....	21
Tableau VI : Différentes propriétés des antioxydants.....	21
Tableau VII : Quantités et traitements du jus enrichi avec les écorces d'orange et pépins de raisin.....	25
Tableau VIII: Valeurs du pH et de l'acidité du jus d'orange étudié.....	32
Tableau IX: Effet de la quantité ajoutée des écorces d'orange sur le pH et l'acidité du jus d'orange étudié.....	33
Tableau X : Effet de la quantité ajoutée des pépins de raisin sur le pH et l'acidité du jus...	

Introduction

La compréhension du phénomène de stress oxydant est devenue un des enjeux majeurs de la biochimie, en particulier depuis le début des années 90. Ce déséquilibre de la balance d'oxydoréduction au sein des cellules est impliqué dans un tel nombre de pathologies graves et différentes dont la plupart des cancers qu'il est devenu crucial de cerner ses origines et ses mécanismes, pour envisager une prévention et des traitements plus efficaces (**Bruno, 2007**).

Plusieurs études épidémiologiques confirment le rôle incontestable de la consommation régulière des fruits et légumes dans la réduction des risques de cancers et de maladies chroniques, notamment les affections cardiovasculaires, cette relation est souvent attribuée aux antioxydants présents dans les fruits et légumes (**Liu, 2003 ; Talvas et al., 2008**).

De nombreux travaux réalisés sur différentes espèces de *Citrus* ont montré qu'elles contenaient en majorité des composés phénoliques ayant un fort potentiel antioxydant corroborant leurs usages traditionnels. Parmi toutes ces espèces l'orange «*Citrus sinensis*» est populaire par sa richesse en vitamine C, des quantités considérables de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et de caroténoïdes sont également identifiées (**Del Rio et al., 2004**).

Les écorces d'agrumes sont une source importante d'essences odorantes et d'huiles essentielles de 0,6 à 1% (**Oreopoulou et al., 2007; Yeoh et al., 2008 ; Hosni et al., 2010 ; Farhat et al., 2011**). Ils sont riches en composés phénoliques, essentiellement des flavonoïdes qui sont caractérisés par leur activité anti- oxydante, thérapeutique, antivirale, antifongique et antibactérienne (**Bocco et al., 1998 ; Ma et al., 2009; Huang et al., 2010**).

Les raisins sont parmi les fruits les plus largement consommés. Ils sont riches en polyphénols, avec approximativement 75% de polyphénols du raisin existant dans les graines et la peau. Des composés phénoliques peuvent être employés dans différentes procédures thérapeutiques en vue de la neutralisation des radicaux libres dans les systèmes biologiques et l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines (**Carughi, 2008**).

La préparation industrielle des jus de fruits passe par une étape primordiale « le traitement thermique » afin de conserver ces jus pour une durée plus longue. Plusieurs études (**Renard *et al.*, 2014**) ont montré l'impact du traitement thermique sur les antioxydants des jus de fruits particulièrement celui des oranges, ces études ont montré un effet négatif sur le contenu phénolique de ses jus en comparaison aux jus frais qui n'ont pas subi de traitement thermique.

A notre modeste connaissance, aucune étude n'a été réalisée sur l'utilisation des sous-produits naturels particulièrement les pépins de raisin et l'écorce des oranges pour corriger l'impact négatif des traitements thermiques sur le contenu phénolique des jus de fruits.

C'est dans ce contexte que s'inscrit l'objectif de la présente étude qui vise à :

- (1) Illustrer l'effet de la pasteurisation sur les antioxydants du jus d'orange ;
- (2) Valoriser les écorces d'orange et les pépins de raisin afin d'enrichir nos jus d'orange ;
- (3) Une étude comparative entre les antioxydants et l'activité antioxydante du jus d'orange naturel non pasteurisé avec du jus pasteurisé et jus pasteurisés enrichis avec les écorces d'orange et/ou les pépins de raisin.

Afin de réaliser ces objectifs nous avons réalisé une série d'analyses :

En premier lieu l'extraction et dosage des antioxydants du jus d'orange, des écorces d'orange ainsi que des pépins de raisin à savoir l'acide ascorbique, les caroténoïdes, les composés phénoliques et les flavonoïdes. Ensuite, l'évaluation du pouvoir antioxydant des différents échantillons de jus (activité anti-radicalaire DPPH et le pouvoir réducteur du fer ferrique en fer ferreux).

Partie théorique

I Généralités sur l'orange

I.1 Habitat et description géographique

Le terme «Orange» est apparu au XIII^e siècle, il vient de l'arabe «*Narangi*». Cet hybride ancien est probablement un croisement entre le pamplemousse et la mandarine. L'oranger «*Citrus sinensis*» est originaire de Chine, il est cultivé dans les régions tempérées et chaudes, une fois implanté, dans le bassin méditerranéen, l'oranger est diffusé à travers le monde par les Européens (Liu *et al.*, 2012).

I.2 Description botanique

L'oranger «*Citrus sinensis*» est un arbuste fruitier de la famille de Rutacées qui possède de petites feuilles avec un pétiole discret et de petites fleurs blanches très parfumées. Leurs fruits diffèrent de part leur aspect, la période de récolte et leur saveur (Etebu et Nwauzoma, 2014). Le tableau I établit ci-dessous engendre les principaux caractères botaniques des orangers

Tableau I : Description botanique des oranges (Etebu et Nwauzoma, 2014)

Aspect	Arbre au port harmonieux et de croissance rapide
Hauteur	Grande taille en pleine terre (7 à 8m)
Feuillage	Vert sombre persistant et légèrement ailées
Fleurs	Blanches et immaculées, très parfumées
Fruits	De forme et de coloration variable en fonction des différents groupes auxquelles ils appartiennent
Pulpe	Juteuse diffère en couleur et en acidité selon les variétés
Ecorce	Grise, lisse ou à peine rêche

L'orange est un agrume, fruit comestible de l'oranger, de forme sphérique à ovale à la peau orangée rougeâtre (figure 1), épaisse et assez rugueuse contenant une huile essentielle d'odeur caractéristique. L'orange est un fruit juteux, sucré, on utilise ce fruit pour les salades de fruits, les confitures, ou pour consommer son jus (Liu *et al.*, 2012). Ce dernier est un produit liquide dont les propriétés physiques, chimiques et sensorielles sont ressenties par simple pression du fruit, sans rajout de sucre ou d'additifs (Hendrix et Red, 1995).



Figure 1 : Photographie feuilles, fleurs et fruits d'oranger (Verstege, 1979)

I.3 Principales espèces

Le genre *Citrus* contient deux espèces d'orange : La première, « *Citrus sinensis* » correspond aux oranges douces, la deuxième « *Citrus aurantium* » correspond aux oranges amères.

D'après Kimball, (1999) et Manner *et al.* (2006), la position systématique de l'orange douce est comme suite :

Tableau II : Classification botanique des oranges douces

Règne	Végétal
Ordre	Sapindales
Sous-ordre	Geraniineae
Classe	Dicotyledoneae
Famille	Rutaceae
Genre	Citrus
Espèce	<i>Citrus sinensis</i>

I.4 Description morphologique de l'orange

La structure d'une orange (figure 2), est caractérisée par les composants suivants (Ramful *et al.*, 2010) :

I.4.1 L'écorce :

Se décline en deux parties :

- **L'épicarpe:** c'est la couche extérieure colorée (zeste), appelée « flavedo » qui doit sa couleur jaune orangé aux flavanones. Elle contient des glandes aux huiles essentielles qui donnent l'odeur particulière à l'orange. Elle représente 8 à 10% du fruit.
- **Le mésocarpe:** c'est la couche intérieure blanche, appelée « albedo » à consistance spongieuse plus ou moins épaisse par rapport à la taille du fruit, elle ne contient aucun flavanone soluble. Elle représente 12 à 30% du fruit.

I.4.2 La pulpe (ou endocarpe):

C'est la partie comestible divisée en quartiers juteux. Elle est constituée par un ensemble de poils charnus ou vésicules renfermant le jus. Elle est souvent plus ou moins acide et sucrée ou amère et elle représente 50 à 80% du fruit.

I.4.3 Les pépins:

Se trouvent près du centre de l'orange, ils ont une teneur élevée en huiles essentielles, ils représentent 0 à 4% du fruit.

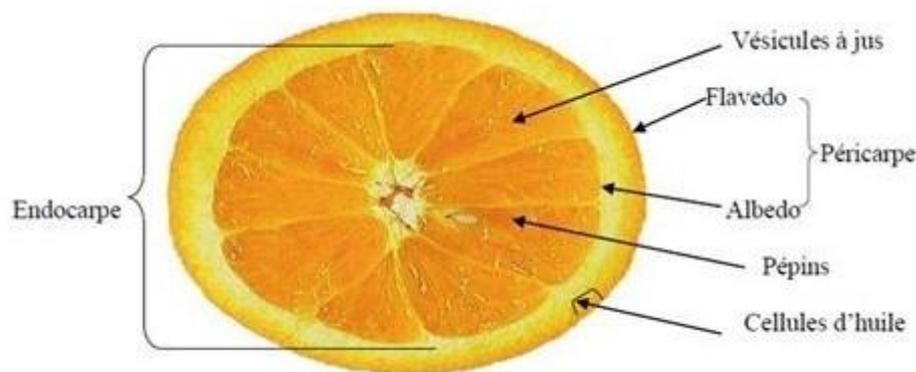


Figure 2 : Photographie de l'orange (Goudeau *et al.*, 2008)

I.5 Principales variétés

I.5.1 Oranges amères

Connues pour leur goût amer, et ne sont pas employées comme fruits comestibles, elles sont plutôt utilisées pour la fabrication des marmelades (confiture d'orange) (**Ersus et Cam, 2007**). Ce groupe inclut quatre variétés : Berguamot, Chinitto, Daida et Séville (**Peterson et al., 2006**).

I.5.2 Oranges douces

Les oranges douces sont les plus comestibles et sont utilisées « en fruits » et servent à l'élaboration des jus. On distingue quatre variétés d'oranges. (**Fanciullino et al., 2008**).

- **Orange navel** : orange de bouche, avec un ombilic bien marqué, moins juteuse, peu sucrée, et avec peu de pépins.
- **Orange blonde**: orange à jus à la peau fine, d'un calibre moyen, sans pépins, très juteuse et parfumée.
- **Orange sanguine** : orange à jus, à la couleur de la peau et de la chair plus ou moins rouge et violet, très juteuse, acidulée avec une saveur légèrement musquée.
- **Orange tardive** : orange à jus, à la peau claire et fine, très juteuse, parfumée, acidulée et sans pépins.

I.6 Composition et valeur nutritive des oranges et des jus d'orange

La composition biochimique moyenne de l'orange est donnée dans le tableau III.

Tableau III: Composition biochimique moyenne dans 100 g d'orange (**Ciquel, 2013**)

Nom Constituant	Teneur moyenne	Nom Constituant	Teneur moyenne
Eau (g)	87,1	Beta-Carotène (µg)	248
Protéines (g)	0,957	Vitamine E (mg)	0,395
Glucides (g)	8,32	Vitamine K1 (µg)	0,1
Lipides (g)	0,26	Vitamine C (mg)	39,7
Fibres (g)	1,82	Vitamine B1 (mg)	0,0777
Sodium (mg)	4,87	Vitamine B2 (mg)	0,0407
Magnésium (mg)	12,4	Vitamine B3 (mg)	0,261
Phosphore (mg)	15,1	Vitamine B5 (mg)	0,215
Potassium (mg)	151	Vitamine B6 (mg)	0,0807
Calcium (mg)	39	Vitamine B9 (µg)	38,7

Le jus d'orange est constitué à environ 76% de matière sèche hydrosoluble, contenant principalement des glucides, et de 21% d'acides organiques, d'acides aminés, de sels minéraux, de vitamines et de lipides. Les 3% restants sont constitués par un grand nombre de composés divers, dont les flavonoïdes, les composés volatiles, les caroténoïdes, qui ont une influence importante sur les propriétés sensorielles de ce produit (**Hendrix et Red, 1995**).

I.7 Importance économique

I.7.1 Production mondiale

La production mondiale des oranges est en évolution continue, elle est estimée en 2000 à 64 millions de tonnes et en 2017 à 73,31 millions de tonnes répartie sur une superficie de 3862 kilos hectares (**FAO, 2019**).

L'évolution de la production des oranges enregistrée au niveau mondial au cours de la période allant de 2000 à 2017 est illustrée dans la figure 3.

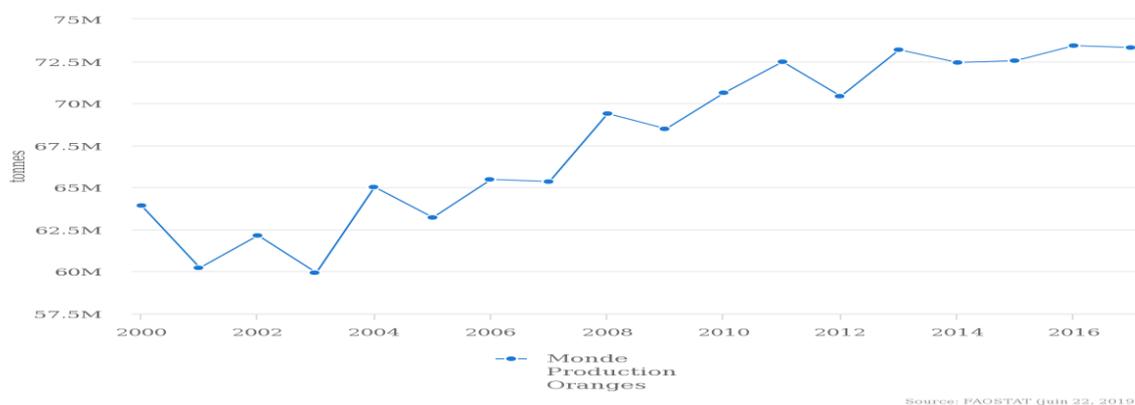


Figure 3: Evolution de la production mondiale de l'orange (**FAO, 2019**)

I.7.2 Production nationale

La production algérienne des oranges en 2017 a été estimée à 1013951 tonnes sur une superficie de 50 Kilos hectares. L'évolution de la production nationale de l'orange, qui a connu une nette progression, depuis l'année 2010, est illustrée dans la figure 4.

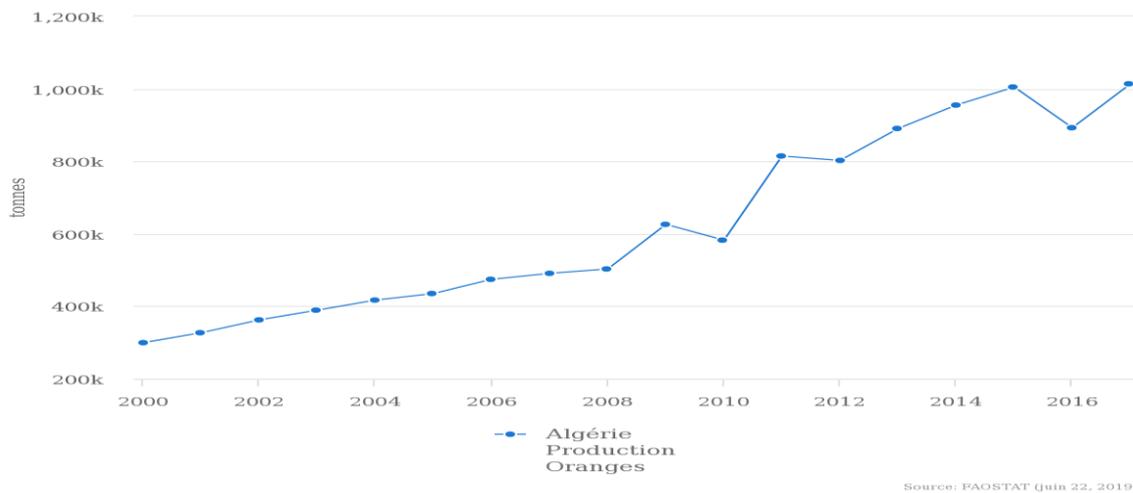


Figure 4 : Evolution de la production locale de l'orange (FAO, 2019)

I.8 Utilisation et effets thérapeutiques de l'orange

Les *Citrus* contiennent des quantités élevées de composés qui ont des effets bénéfiques pour la santé, y compris les polyphénols, l'acide ascorbique, les caroténoïdes et les tocophérols (Ercan *et al.*, 2011), utilisés à des fins thérapeutiques ou dans les domaines cosmétiques ou alimentaires (Kahkonen *et al.*, 1999 ; Shahaib *et al.*, 2011).

- La saveur amère et aromatique de la pulpe d'orange amère ouvre l'appétit et facilite la digestion (Touscher *et al.*, 2005) ;
- La pulpe d'orange fraîche est utilisée pour traiter les maladies de la peau : l'acné et soins de visage (Valnet, 2001) ;
- Stimulation de l'appétit (zestes) (Santo *et al.*, 2011; Karimi *et al.*, 2012) ;
- Activité anti-microbienne, anti-inflammatoire, anti-oxydante, anti-cancéreuse et anti-allergique (Del-rio *et al.*, 2004) ;
- Abaissement de la pression artérielle, traiter l'obésité (Ramful *et al.*, 2011).

II Antioxydants de l'orange

Les antioxydants sont des composés qui peuvent atténuer, inhiber ou prévenir l'oxydation des matières oxydables en éliminant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif (Kim et Lee, 2004).

II.1 Composés phénoliques

Les composés phénoliques (figure 5) qui sont des métabolites secondaires ayant des structures variées et dont l'élément structural de base est un noyau benzénique. Ces composés peuvent être classés en différents groupes en fonction du nombre de cycle phénol et les éléments structuraux liés au cycle phénol (Mompon *et al.*, 1996). Les composés phénoliques les plus abondants dans les jus d'orange sont les acides phénoliques, et les flavonoïdes (Sdiri *et al.*, 2012).

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

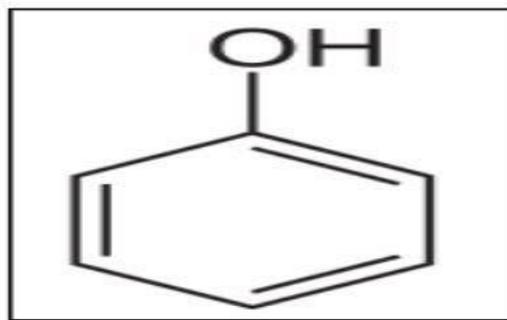


Figure 5 : Structure du phénol (Anonyme, 2019)

II.1.1 Acides phénoliques

Un acide phénolique est un composé organique qui possède au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques sont divisés en deux classes : les acides hydroxy benzoïques et les acides hydroxy cinnamiques (Richter, 1993).

II.1.2 Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes (figure 6), désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ils sont particulièrement présents dans l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits et donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Ils sont stockés sous forme libre ou conjuguée mais leur localisation cellulaire est encore incertaine, bien que certains résultats favorisent le stockage dans la vacuole et/ou dans le réticulum endoplasmique (Lilou *et al.*, 2008).

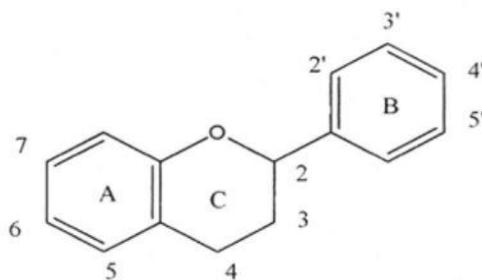


Figure 6 : Structure de base des flavonoïdes (Ghedira, 2005)

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

TABLEAU IV: STRUCTURE CHIMIQUE DE CERTAINS FLAVONOÏDES REPRESENTATIFS DE CHAQUE CLASSE

Principales classes des flavonoïdes	Exemples	Structure de base
Flavone	Naringénine/ Galangine Diosmetine	
Flavonol	Myricétine/Quercétine Kaempférol/Dihydrokaempférol	
flavanone	Hesperétine/ Galangine	
flavanol	Hesperétine /Galangine	
Chalcone	Anthocyanine	

II.2 Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes largement répandus dans le régime alimentaire d'origine végétale obtenus à partir de la condensation des phénols simples (Makkar, 2003). Ils représentent des composés phénoliques secondaires connus essentiellement pour leur capacité de se lier et de précipiter les protéines et autres macromolécules (Hagerman *et al.*, 1998). Swain, (1979) a divisé les tanins en deux groupes principaux : les tanins hydrolysés et les tanins condensés.

II.3 Vitamine C

La vitamine C ou acide ascorbique (figure 7), est une vitamine hydrosoluble sensible à la chaleur et à la lumière. Elle est composée de 6 atomes de carbone, 6 atomes d'oxygène et 8 atomes d'hydrogène (Billiau *et al.*, 2010).

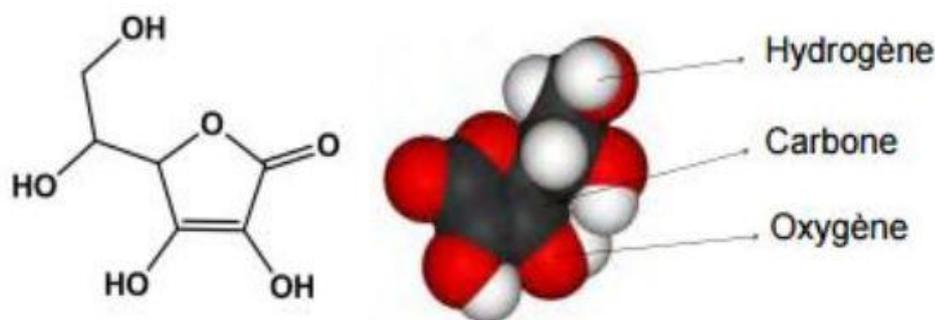


Figure 7 : Structure chimique de l'acide ascorbique (Billiau *et al.*, 2010)

II.4 Caroténoïdes

Les caroténoïdes (figure 8), représentent un ensemble de pigments naturels présents dans les aliments d'origine végétale. Ils leur donnent la couleur jaune qui vire vers le rouge (Alias *et al.*, 2008). Tous les caroténoïdes dérivent par cyclisation, déshydratation et oxydation de la même molécule (C₄₀H₅₆) : le lycopène (Derbel et Ghedira, 2005).

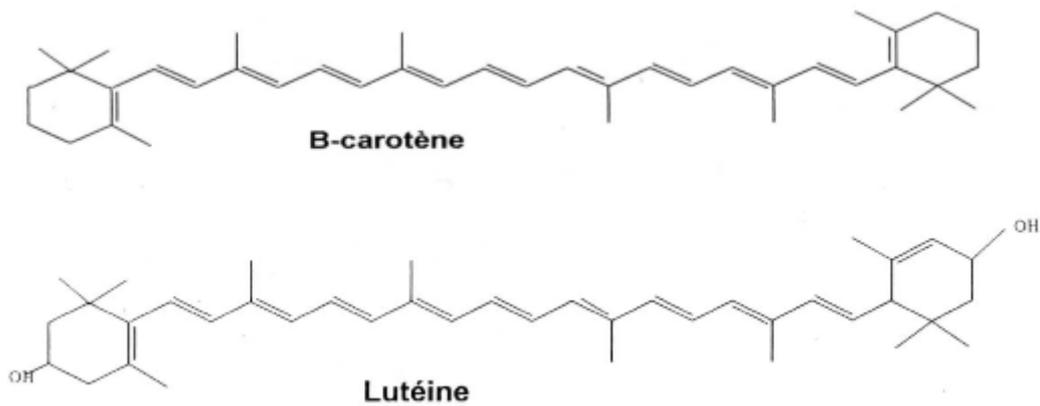


Figure 8 : structure de quelques caroténoïdes identifiés dans l’orange (landrum, 2010)

III Stress oxydatif

Le stress oxydant est un syndrome résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défense antioxydants et la production de radicaux libres oxygénés. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines déficit nutritionnel en antioxydant, surproduction endogène d'origine inflammatoire, exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (Favier, 1994).

L'organisme possède une autre ligne de défense représentée par les piègeurs des radicaux libres, qui sont des composés apportés par l'alimentation et dont le rôle est de neutraliser les effets toxiques des espèces oxygénées réactives limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire (Helliwell, 2011).

III.1 Rôles physiologiques et pathologiques des radicaux libres

A des concentrations physiologiques, les radicaux libres peuvent jouer des rôles au niveau des réponses cellulaires telles que la lutte contre des agents infectieux et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaire (Favier, 2003). Mais à des concentrations plus élevées, ils peuvent endommager par oxydation les macromolécules contenues dans les cellules, notamment les lipides, les protéines et l'acide désoxyribonucléique (ADN) en lien avec l'apparition de nombreuses maladies graves présentées dans le tableau V (Menon, 2014).

Tableau V: Certaines pathologies causées par le stress oxydatif

Pathologies	Références
Cancer	(Roussel et Ferry, 2002)
Athérosclérose	(Singh et Jiala, 2006)
Diabètes	(Maritim <i>et al.</i> , 2003)
Obésité	(Gutowski et Kowalczyk, 2013)
Alzheimer	(Cai et Yan, 2007)
Parkinson	(Cohen, 2002)

IV Propriétés des antioxydants

Les antioxydants jouent un rôle important comme système de défense, leur activité anti oxydante se produit par plusieurs mécanismes. Les différentes propriétés sont engendrées dans le tableau VI.

Tableau VI : Différentes propriétés des antioxydants

« Antioxydants »	« Actions »
Acides phénoliques	<ul style="list-style-type: none"> • Agissent comme donneurs de protons ou d'électrons et chélatent les métaux de transition (Blokhina <i>et al.</i>, 2003)
Flavonoïdes	<ul style="list-style-type: none"> • Piégeage des radicaux libres (Ketsawatsakul <i>et al.</i>, 2000) • Inhibition enzymatique (Dangles et Dufour, 2008) • Chélation des ions métalliques (Gulçin <i>et al.</i>, 2010)
Tanins	<ul style="list-style-type: none"> • les tanins hydrolysables sont des piègeurs de radicaux libres et de l'anion super oxyde (Bruneton, 1999)
Vitamine C	<ul style="list-style-type: none"> • Régénération des tocophérols (Groussard <i>et al.</i>, 2003) • Neutralisation des radicaux libres (Bermond, 1990)

Matériel et méthodes

I Echantillonnage et traitement des échantillons

I.1 Oranges

Une variété d'orange « tardive » (figure 9) du genre «*Citrus sinensis* » a été récoltée dans la région d'Oued Ghir pendant la saison 2019 le jour de chaque extraction du jus, la récolte a été faite manuellement, au hasard et sur le même arbre. Les fruits étaient bien mûrs et ne présentaient aucun signe de blessure.

Chaque fruit possède un poids moyen de 100g, ils ont été emballés dans des sacs, puis transportés au laboratoire.



Figure 9 : Photographie de l'orange utilisée

Les oranges ont été bien lavées à l'eau du robinet, elles sont ensuite épluchées et ses écorces découpées en petits morceaux, ces derniers ont été séchés à l'ombre et à température ambiante jusqu'au poids constant (environ 8 jours). Après séchage les épilucheurs ont été broyés et conservés dans des bocaux à température ambiante.

Pour l'obtention du jus, les oranges ont été tranchées en deux et les pépins ont été retirés. En utilisant un presse-agrumes, l'orange est pressée et le jus est récupéré. La préparation est effectuée le même jour d'analyse.

I.2 Pépins de raisin

Des raisins de la variété « *Red globe* » ont été procurés du marché au mois de septembre de l'année 2018. Les baies de raisin ont été lavées et coupées en deux pour récupérer les pépins. Ces derniers ont été séchés à l'ombre et à température ambiante jusqu'au poids constant (environ 5 jours). Après séchage les pépins sont broyés et conservés dans bocaux à température ambiante.

II Préparation et traitement des échantillons

II.1 Préparation des jus enrichis par les écorces d'orange et les pépins de raisin

Trois jus enrichis avec les écorces d'orange et pépins de raisin et par un mélange des deux matrices, sont préparés dans la présente étude.

Afin de préparer ces jus enrichis, nous avons optimisé la quantité de poudre d'écorces d'orange ainsi que celle des pépins de raisin qu'il faut rajouter au jus. L'optimisation a été basée sur une analyse sensorielle que nous avons effectuée nous même au niveau du laboratoire (figure 10). Le choix a été fait sur la base d'utiliser le maximum de matrice qui n'a pas atteint le seuil d'amertume ou d'astringence. Pour cela, nous avons testé quatre quantités différentes (tableau VII) à volumes de jus constants.

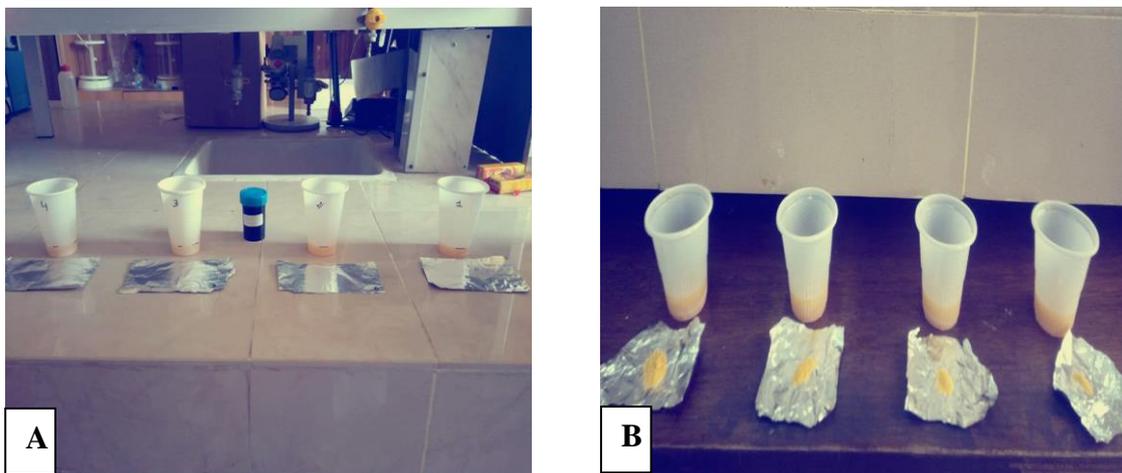


Figure 10: Analyse sensorielle d'un jus d'orange enrichi par les pépins de raisin (A) et les écorces d'orange (B)

Tableau VII : Quantités et traitements du jus enrichi avec les écorces d'orange et pépins de raisin

Echantillons	Quantités ajoutées	Quantités choisies
Jus pressé et filtré (30 ml)	<u>Pépins de raisin</u>	195mg
	90 mg	
	125 mg	
	195mg	
Jus pressé et filtré (30 ml)	<u>Ecorces d'orange</u>	145 mg
	90 mg	
	125mg	
	145mg	
Jus pressé et filtré (30 ml)	195/2 (pépins de raisin)	170 mg (mélange)
	+	
	145/2 (Ecorces d'orange)	

II.2 Pasteurisation

Les différents jus d'orange préparés enrichis et non enrichis ont été pasteurisés dans le but de déterminer l'effet de la température sur l'activité antioxydante du jus étudié ainsi que sur son contenu en antioxydants. La température de pasteurisation appliquée est de 63°C pendant 20 min (Anonyme, 2019).

III Analyses physico-chimiques

III.1 Test d'humidité

Afin de déterminer la teneur en humidité, les écorces d'orange ainsi que les pépins de raisin ont été séchés dans une étuve à 103°C ± 2°C (Doymaz *et al.*, 2004), jusqu'au poids constant.

$$\text{La teneur en eau (\%)} = [(M_f - M_s) / M_f] \times 100$$

M_f : Matière fraîche (g) **M_s** : Matière sèche (g)

III.2 Mesure du pH

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre en immergeant la sonde dans l'échantillon. La valeur du pH est affichée sur le pH-mètre.

III.3 Mesure de l'acidité

L'acidité est déterminée par la méthode de **Verna et Joshi, (2000)**. 10 ml de jus sont dilués dans 40 ml d'eau distillée puis titrés avec une solution d'hydroxyde de sodium (1N) jusqu'au point final pH 8,2 (**Friedrich, 2001**). L'acidité est exprimée en gramme d'acide citrique par 100 ml de jus (g AC/100ml jus).

$$C_0 = \frac{C_1 \times V_{eq} \times M_{eq}}{V_0}$$

C_0 : concentration de l'acide citrique (g /100 ml)

V_{eq} : volume équivalent d'hydroxyde de sodium (ml)

C_1 : concentration d'hydroxyde de sodium

M_{eq} : masse équivalente de l'acide citrique (192,13)

V_0 : volume du jus (ml)

IV Extraction et dosage des antioxydants

IV.1 Caroténoïdes

Une prise d'échantillon (0,5g de poudre d'écorces d'orange, 0,5g de poudre des pépins de raisin et 2 ml de jus d'orange est mélangé avec 10 ml de solvant d'extraction (hexane/acétone/éthanol 5,5/2,5/2). Après agitation pendant 10 min, le mélange est centrifugé (5000T/min pendant 10 minutes) puis le surnageant est récupéré (**Soto-Zamora et al., 2005**) légèrement modifié. L'opération a été répétée jusqu'à l'épuisement total de la couleur. Le mélange est mis dans une ampoule à décanter, après séparation des deux phases, la phase supérieure (hénanique) a été récupérée.

La teneur en caroténoïdes est déterminée par la mesure d'absorbance à 450 nm et les résultats sont exprimés en mg équivalent β -carotène par 100 g de matière sèche (mg E β -carotène/100g MS) et en mg équivalent β -carotène par 100 ml de jus (mg E β -carotène/100ml jus) en se rapportant à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions opératoires (Annexes).

IV.2 Composés phénoliques

L'extraction adoptée est celle de la macération conventionnelle par des solvants polaires. Pour ces derniers nous avons choisi l'éthanol pour tous les échantillons, et dans le but d'estimer le taux de rendement en ces composés dans les conditions du jus (mélange de la poudre et le jus) nous avons essayé de réaliser cette extraction avec un deuxième solvant qu'est une eau acidifiée au pH du jus pour les deux poudres (écorces d'orange et pépins de raisin) qui se rapproche au jus d'orange.

Le protocole adopté pour l'extraction des composés phénoliques est celui de **Medouni-Adrar *et al.*, (2015)** légèrement modifié. 10 ml de jus d'orange, 100 mg de la poudre d'écorces d'orange et 70 mg de la poudre des pépins de raisin auxquels sont ajoutés différents volumes de solvants d'extraction : 10 ml, 30 ml et 50 ml, respectivement. Les différents extraits sont récupérés après agitation pendant 50 min et centrifugation à 4500T/15min puis filtrés et conservés à 4°C.

IV.2.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques est déterminée selon la méthode décrite par **Velioglu *et al.*, (1998)**. 200 μ l d'extrait sont mélangés avec 1500 μ l du réactif de Folin–Ciocalteu. Après 3 min, 1500 μ l de carbonate de sodium (6%) sont additionnés. L'absorbance est mesurée à 760 nm après 60 min d'incubation. La teneur en composés phénoliques des écorces d'orange et pépins de raisin est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de matière sèche (mg EAG/100 g MS). Quant à celle des pulpes, elle est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100 ml de jus (mg EAG/100 ml de jus) par référence à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions opératoires (Annexes).

IV.2.2 Dosage des flavonoïdes

Un volume de 0,9 ml d'extrait est mélangé avec 0,6 ml d'eau distillée, 0,09 ml de nitrite de sodium (5%) et 0,06 ml de chlorure d'aluminium (10%). Après incubation

pendant 5 min le mélange est additionné de 0,2 ml d'hydroxyde de sodium (1N) et de 0,25 ml d'eau distillée (Kim *et al.*, 2003). L'absorbance est mesurée à 510 nm. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de matière sèche (mg EAG/100g MS) et en mg équivalent d'acide gallique par 100 ml de jus (mg EAG/ 100ml de jus) en se référant à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions opératoires (Annexes).

IV.3 Vitamine C

Un volume de 5 ml de jus est mélangé avec 5 ml d'acide oxalique (0,4%), Après agitation pendant 5 min le mélange est centrifugé à (4500T/min pendant 15 minutes). 500 µl du surnageant sont mélangés avec 2500 µl de DCPIP (2,6-dichlorophénolindophénol). L'absorbance est mesurée à 515 nm (Mau *et al.*, 2005). Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par 100 ml de jus (mg EAA/100ml de jus) en se référant à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions opératoires (Annexes).

V Evaluation du potentiel antioxydant

V.1 Activité anti-radicalaire DPPH

L'activité anti radicalaire des échantillons est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical diphényle picryl-hydrazyl (DPPH°), par don d'atomes d'Hydrogènes ou d'électrons (Molyneux, 2004). Le protocole utilisé dans cette méthode est celui décrit par Milardović *et al.* (2006) qui consiste à mélanger 2900 µl de la solution de DPPH avec 100 µl de chaque extrait. La mesure de la réaction de réduction de la solution du DPPH° traduite par une décoloration a été faite à 515 nm après incubation à 30 min. Les résultats sont exprimés en mg équivalent trolox par 100 g de matière sèche (mg ETrolox/100g MS) et en mg équivalent trolox par 100 ml de jus (mg ETrolox/100ml de jus) en référant à une courbe d'étalonnage préparée dans les mêmes conditions opératoires (Annexes).

$$\% \text{ de réduction du DPPH} = (\text{Abs}_{\text{contr}} - \text{Abs}_{\text{éch}} / \text{Abs}_{\text{contr}}) \times 100$$

Abs_{contr} : Absorbance contrôle

Abs_{éch} : Absorbance échantillon

V.2 Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur des différents extraits a été déterminé selon la méthode décrite par **Oyaizu, (1986)** rapportée par **Kumar *et al.* (2005)**. 1 ml de chaque extrait est mélangé avec 2,5 ml de tampon phosphate (0,2M ; pH 6,6) et 2,5 ml de Ferricyanure de Potassium (1%). Après incubation au bain marie à 50°C/20 min, 2,5 ml d'acide trichloracétique (10%) sont additionnés au mélange et centrifugés à (5000T/min pendant 10 minutes). Ensuite 2,5 ml d'eau distillée sont ajoutés à 2,5 ml du surnagent, puis 0,5 ml de chlorure ferrique (0,1%) sont additionnés au mélange et l'absorbance est mesurée à 700 nm. Le pouvoir réducteur des extraits est exprimé en mg équivalent d'acide ascorbique par 100 g de matière sèche (mg EAA/100g MS) et en mg équivalent d'acide ascorbique par 100 ml de jus (mg EAA/100 ml de jus) pour le jus préparée dans les mêmes conditions opératoires (Annexes).

VI Analyse statistique

Une analyse descriptive des résultats a été réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007, afin de déterminer les moyennes et les écarts types. D'autre part, une étude statistique a été faite par l'analyse de la variance ANOVA au seuil ($p < 0,05$) à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5.

Résultats et discussion

I Paramètres physico-chimiques

I.1 Taux d'humidité

Le taux d'humidité (H%) des écorces d'orange et pépins de raisin est calculé et rapporté sur l'histogramme ci-dessous (figure 11).

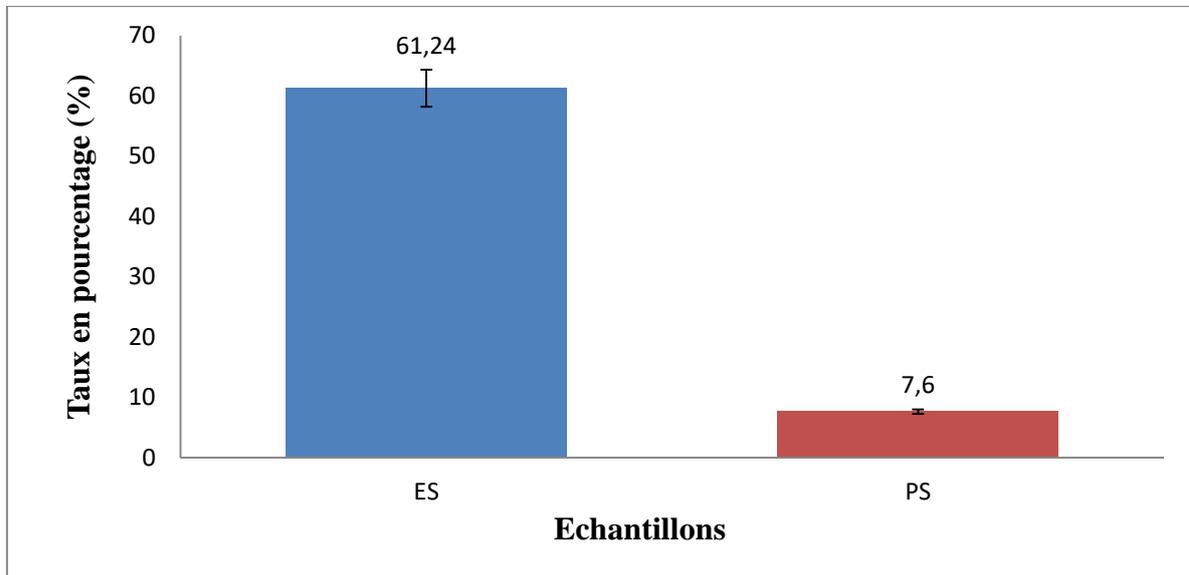


Figure 11 : Taux d'humidité des deux matrices étudiée

ES : Ecorces sèches ; PS : Pépins secs

Les résultats obtenus, montrent la richesse hydrique des écorces d'orange qui sont constitués de plus que la moitié de leurs poids d'eau de l'ordre de 61.24 %. Cependant, les pépins de raisin ont noté un taux d'humidité avec une valeur de 7.6 %.

Ces résultats pouvant être comparés avec des données de différents travaux réalisés dans le même contexte, D'après **Paketa, (2004)**, qui ont travaillé sur les variétés d'agrumes cultivées au nord de Bangladesh, les teneurs varient de 84.2 à 90.7 % qui sont supérieures aux résultats obtenus, cela peut être due soit aux différents facteurs environnementaux (climat, fertilité du sol et degré de maturité...), les traitements d'agriculture biologique (herbicides, insecticides, fongicides...) ou les périodes de récolte.

La teneur en eau des pépins de raisin retrouvée dans le présent travail appartient à l'intervalle obtenu par **Seyed et al. (2009)** dans leur étude de l'effet des propriétés physiques des pépins de raisin sur la teneur en eau allant de 5.21 à 16.55 %.

I.2 Mesure du pH et acidité

I.2.1 Jus

Le pH et l'acidité d'un jus d'orange sont rapportés dans le tableau ci-dessous (Tableau VIII)

Tableau VIII: Valeurs du pH et de l'acidité du jus d'orange étudié

pH	3.41± 0.00
Acidité	3.30± 0.08

Les résultats obtenus dans la présente étude sont compris à ceux rapportés par **Rangana *et al.* (1983)**, qui ont indiqué que le pH des oranges varie entre 3,0 et 3,5.

Dans le cas des agrumes comme le jus d'orange, l'acidité varie généralement de 3,00 à 4,50 (**Anonyme, 2019**), ces valeurs sont comprises à celles trouvées dans la présente étude.

I.2.2 Jus enrichis avec les écorces d'orange et pépins de raisin

Afin de déterminer la quantité optimale de la poudre des écorces d'orange et pépins de raisin qui ne donne pas un goût amer ou astringent au jus enrichi, nous avons testé quatre quantités différentes pour chaque matrice (écorces d'orange et pépins de raisin), et nous avons effectué un test sensoriel au laboratoire contradictoire (panel de trois personnes). Nous avons remarqué que plus on rajoute la quantité de la poudre de pépins de raisin plus l'acidité diminue, donc nous voulions vérifier l'effet de la quantité de poudre rajoutée sur le pH et de l'acidité du jus enrichi avec ces deux matrices. Les résultats ainsi obtenus sont récapitulés dans les tableaux IX et X.

Tableau IX: Effet de la quantité ajoutée des écorces d'orange sur le pH et l'acidité du jus d'orange étudié

Jus enrichi avec la poudre d'écorces d'orange				
Quantités ajoutées (mg)	80	115	135	500
pH	3,51 ^a	3,44 ^b	3,41 ^b	3,34 ^c
Acidité	2,99 ^d	3,15 ^c	3,38 ^b	4,21 ^a

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$), quant à ceux qui portent la même lettre ne présentent pas de différence significative. Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d$

L'étude statistique révèle que les valeurs de pH et de l'acidité des jus varient significativement à ($p < 0,05$) en fonction de la quantité de la matrice rajoutée.

En effet, plus la quantité rajoutée est élevée plus le pH est bas : la quantité 80 mg présente le pH le plus élevé avec une valeur de 3.51, tandis qu'à 115 et 135 mg les valeurs sont plus au moins inférieures avec un effet non significatif ($p < 0,05$) qui sont 3.44 et 3.41 respectivement. Toutefois, un pH de 3.34 a été enregistré à 500 mg, inversement au pH, l'acidité à tendance à augmenter significativement ($p < 0,05$), avec l'élévation de la quantité des écorces d'orange ajoutée. L'étude a enregistré des valeurs croissantes allant de 2.99 ; 3.15 ; 3.38 à 4.21.

Ceci démontre que plus le jus d'orange est enrichi avec les écorces d'orange plus le pH diminue et contrairement, l'acidité augmente. Cela est probablement dû aux concentrations plus élevées du milieu en protons qui sont peut être libérés à partir de la vitamine C et des acides organiques des écorces d'orange.

Tableau X : Effet de la quantité ajoutée des pépins de raisin sur le pH et l'acidité du jus

Jus enrichi avec la poudre des pépins de raisins				
Quantités ajoutées (mg)	80	115	185	500
pH	3,14 ^c	3,19 ^c	3,46 ^b	3,83 ^a
Acidité	3.52 ^a	3.37 ^b	3.22 ^c	3.06 ^d

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$), quant à ceux qui portent la même lettre ne présentent pas de différence significative ($p > 0.05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d$

L'étude statistique révèle que la quantité des pépins de raisin ajoutée aux jus afin de les enrichir, à un effet significatif ($p < 0,05$) sur le pH et de l'acidité du jus.

En effet, une corrélation positive entre la quantité des pépins de raisin et le pH des jus a été obtenue, inversement une corrélation négative et significative a été obtenue avec l'acidité.

Les résultats indiquent que les quantités suivantes : 80 mg et 115 mg présentent le pH le plus bas avec des valeurs de 3.14 et 3.19 respectivement sans différence significative. Tandis qu'à 185 et 500 mg les valeurs sont plus élevées avec un effet significatif ($p < 0,05$) qui sont respectivement de 3.46 et 3.83.

Inversement au pH, l'acidité a tendance à diminuer significativement ($p < 0,05$), au cours de l'élévation de la quantité des pépins de raisin ajoutée. L'étude a enregistré des valeurs de l'ordre décroissant : 3.52 ; 3.37 ; 3.22 et 3.06.

Ceci démontre que plus le jus d'orange est enrichi avec les pépins de raisin plus le pH augmente et contrairement, l'acidité diminue. Cela est dû à la richesse des pépins de raisin en tanins, ces derniers sont capables de se complexer avec les acides organiques libres et de les neutraliser, la réaction des tanins avec les glycoprotéines de la salive est à l'origine de la sensation d'astringence (Anonyme, 2019).

II Dosage des antioxydants

II.1 Composés phénoliques

II.1.1 Taux de polyphénols totaux des deux matrices

La couleur bleue après une heure d'incubation confirme la présence des polyphénols qui ont réduit le réactif Folin-ciocalteu. L'intensité de la couleur qui varie entre le bleu clair et le bleu foncé est en fonction de la teneur en polyphénols.

Les résultats de la teneur en composés phénoliques des deux matrices étudiées à savoir les écorces d'orange et pépins de raisin sont représentés dans la figure 12.

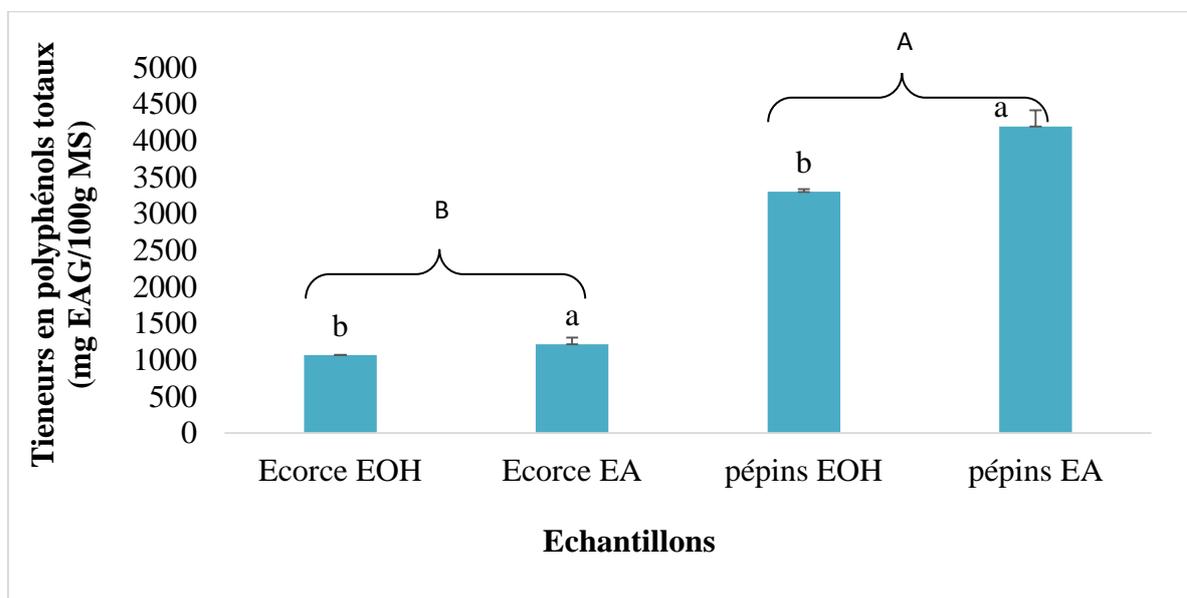


Figure 12 : Teneurs en polyphénols totaux des deux matrices étudiées

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$), Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > :$ pour le solvant ; $A > B :$ la matrice. EOH : éthanol ; EA : eau acidifiée.

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques indique des résultats de : 1065.27 mg EAG/100g MS pour les écorces d'orange et 3300.33 mg EAG/100g MS pour les pépins de raisin. Tandis que celle de l'eau acidifiée a noté des résultats de : 1213.60 mg EAG/100g MS et 4194.01 mg EAG/100g MS pour les écorces d'orange et les pépins de raisin, respectivement.

L'étude statistique montre, d'une part que la teneur en polyphénols totaux est différente significativement ($p < 0,05$) entre les deux matrices, quel que soit le solvant utilisé pour les extraire. D'autre part, elle indique un effet significatif ($p < 0,05$) du solvant

d'extraction sur les teneurs en polyphénols totaux récupérés quel que soit la matrice étudiée.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que l'eau acidifiée permet de mieux libérer les composés phénoliques totaux à partir des écorces d'orange et des pépins de raisin ce qui est un point positif pour le présent travail.

Les résultats de la présente étude ont révélé que les pépins de raisin sont riches en polyphénols totaux 3 à 4 fois plus que les écorces d'orange. D'après **Chira *et al.* (2008)** le raisin contient de grandes quantités de composés phénoliques, principalement concentrées dans les pépins et les pellicules.

Les teneurs en composés phénoliques totaux dans les écorces d'orange obtenues dans la présente étude, sont comparatives à celles rapportées par **Muthiah, (2012)** qui ont trouvé des teneurs qui varient entre 739 et 3305 mg et inférieures à celles rapportées par **Ghasemi *et al.* (2009)** qui ont enregistré des valeurs qui varient de 13290 à 16000 mg EAG/100g MS.

Concernant les pépins de raisin, les résultats enregistrés dans la présente étude indiquent qu'ils sont largement supérieurs à ceux rapportés par **Yesmis *et al.* (2008)**, qui ont enregistré des teneurs allant de 339.45 à 587.30 mg EAG/100g MS dans les pépins de raisin, et inférieurs à ceux trouvés par **Katalinic *et al.* (2010)** qui ont trouvé des valeurs de 4500 mg EAG/100g MS pour les variétés rouges.

Les distinctions observées entre les résultats des différents travaux cités et ceux obtenus dans la présente étude peuvent être liées à l'effet variétal et aux conditions climatiques. Selon **Krzak, (2002)**, les conditions de culture, la saison, la méthode d'extraction, le degré de maturation des fruits et les conditions de l'environnement peuvent être un facteur de variation.

II.1.2 Taux de polyphénols totaux des différents jus enrichis

Les résultats de la teneur en composés phénoliques des différents jus enrichis sont représentés dans la figure 13.

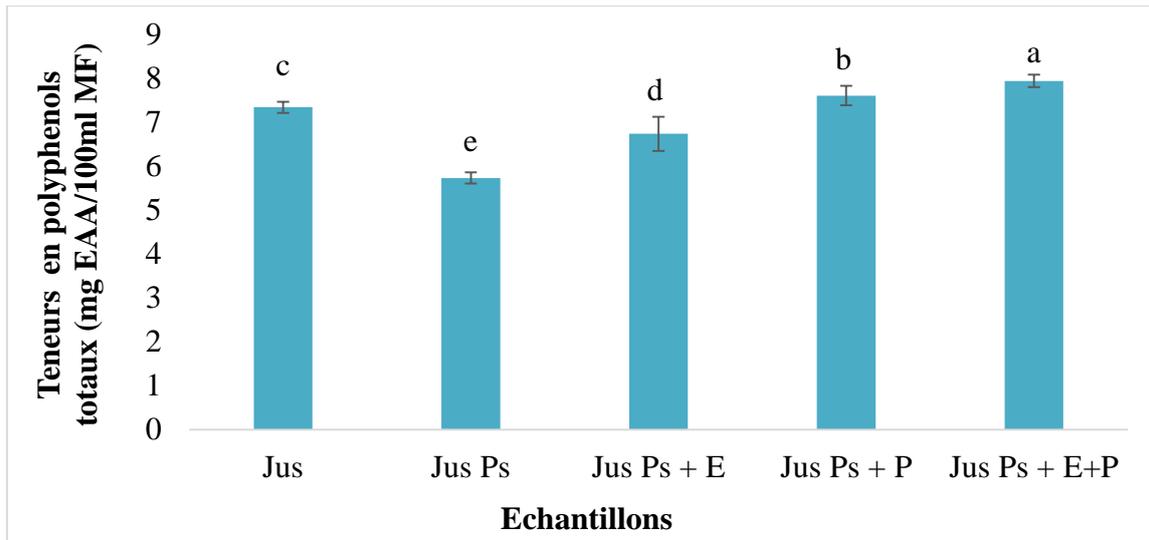


Figure 13 : Teneurs en polyphénols totaux des différents jus enrichis

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$), quant à ceux qui portent la même lettre ne présentent pas de différence significative. Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d$. Ps : pasteurisé ; E : écorces ; P : pépins.

L'étude statistique a permis de révéler des différences significatives ($p < 0.05$) entre les teneurs en polyphénols totaux des différents jus enrichis et de les classer dans l'ordre décroissant suivant : $\text{jus}_{\text{Ps+E+P}} > \text{Jus}_{\text{Ps+P}} > \text{jus}_{\text{F}} > \text{Jus}_{\text{Ps+E}} > \text{Jus}_{\text{Ps}}$ avec des valeurs : $7,94 > 7,61 > 7,34 > 6,74 > 5,48$ mg EAG/100ml de jus, respectivement.

Les résultats montrent clairement que la température affecte négativement les teneurs en polyphénols totaux du jus d'orange étudié, une perte de 25 % a été obtenue. Cela est probablement dû à la sensibilité des composés phénoliques du jus d'orange à la température ($63^{\circ}\text{C}/20$ min).

L'enrichissement avec les deux matrices étudiées permet de compenser, les pertes induites par la pasteurisation, des teneurs non négligeables en polyphénols totaux de l'ordre de 29 % pour les pépins de raisin et 17% pour les écorces d'orange comparativement au jus pasteurisé non enrichi. En effet, le jus enrichi avec les pépins de raisin donne des teneurs plus élevées que celles du jus frais qui n'a pas subi une pasteurisation, et le jus enrichi par le mélange des deux matrices a enregistré des teneurs plus importantes que le jus frais. Ces résultats peuvent être expliqués par la richesse des matrices étudiées en composés phénoliques, et comme les pépins de raisin sont plus riches en composés phénoliques en comparaison aux écorces d'orange, l'enrichissement avec les pépins de raisin a donné un meilleur rendement en composés phénoliques.

Les résultats de la présente étude sont inférieurs à ceux rapportés par **Guimarães et al. (2010)** pour le jus d'orange 12.41 mg EAG/100ml de jus. Cela est peut-être dû à l'effet variétal, à la méthode d'extraction et aux conditions d'extractions en général.

II.2 Flavonoïdes

II.2.1 Taux de flavonoïdes des deux matrices

Une couleur jaunâtre est formée dans tous les extraits après l'addition de la solution de chlorure d'Aluminium ($AlCl_3$), cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans les extraits analysés.

Les résultats de la teneur en flavonoïdes des deux matrices sont représentés dans la figure 14.

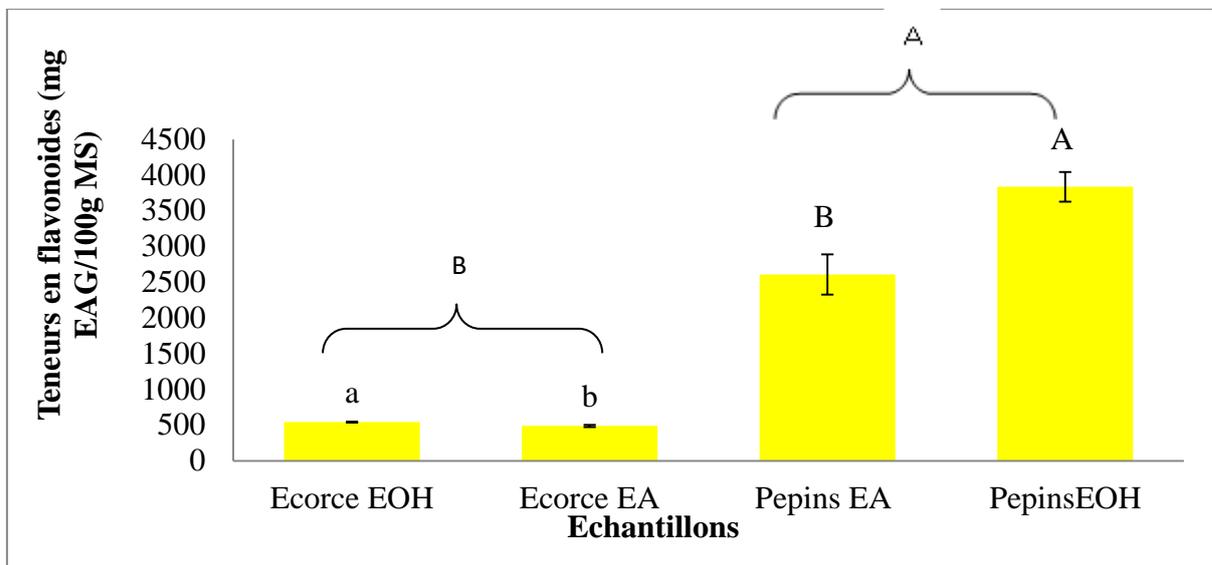


Figure 14 : Teneurs en flavonoïdes des deux matrices étudiées

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > :$ pour le solvant ; $A > B :$ la matrice. EOH : éthanol ; EA : eau acidifiée.

Les résultats obtenus indiquent que la teneur en flavonoïdes dans les extraits éthanoliques est de : 541,68 mg EAG/100g MS pour les écorces d'orange et 3836.01 mg EAG/100g MS pour les pépins de raisin. Tandis que celle de l'eau acidifiée est de : 487,84 mg EAG/100g MS et 2606,67 mg EAG/100g MS pour les écorces d'orange et pépins de raisin, respectivement.

L'étude statistique montre, d'une part que la teneur en flavonoïdes est différente significativement ($p < 0,05$) entre les deux matrices, quel que soit le solvant utilisé pour les extraire. D'autre part, elle indique un effet significatif ($p < 0,05$) du solvant d'extraction sur les teneurs en flavonoïdes récupérés quel que soit la matrice étudiée.

Selon les résultats obtenus dans la présente étude, l'éthanol permet de mieux extraire les flavonoïdes à partir des écorces d'orange et des pépins de raisin étudiés. Néanmoins, l'eau acidifiée permet quand même l'extraction de 90% pour les écorces d'orange et 68% pour les pépins de raisin.

Les résultats de la présente étude ont révélé que les pépins de raisin sont riches en flavonoïdes 5 à 9 fois plus que les écorces d'orange. La variation est due au fait que les deux matrices appartiennent à deux espèces différentes.

Les teneurs trouvées dans la présente étude sont largement supérieures à celles rapportées par **Oboh et Ademosun, (2012)** pour les écorces d'orange 130mg/100g MS. Selon **Melo et al. (2006)** et **Xu et al. (2008)**, la diversité des teneurs en flavonoïdes peut être due aux conditions environnementales (la lumière, climat, saison, et le soleil), le degré de maturation ainsi que les méthodes analytiques.

II.2.2 Taux de flavonoïdes des différents jus enrichis

Les résultats de la teneur en flavonoïdes des différents jus enrichis sont représentés dans la figure 15.

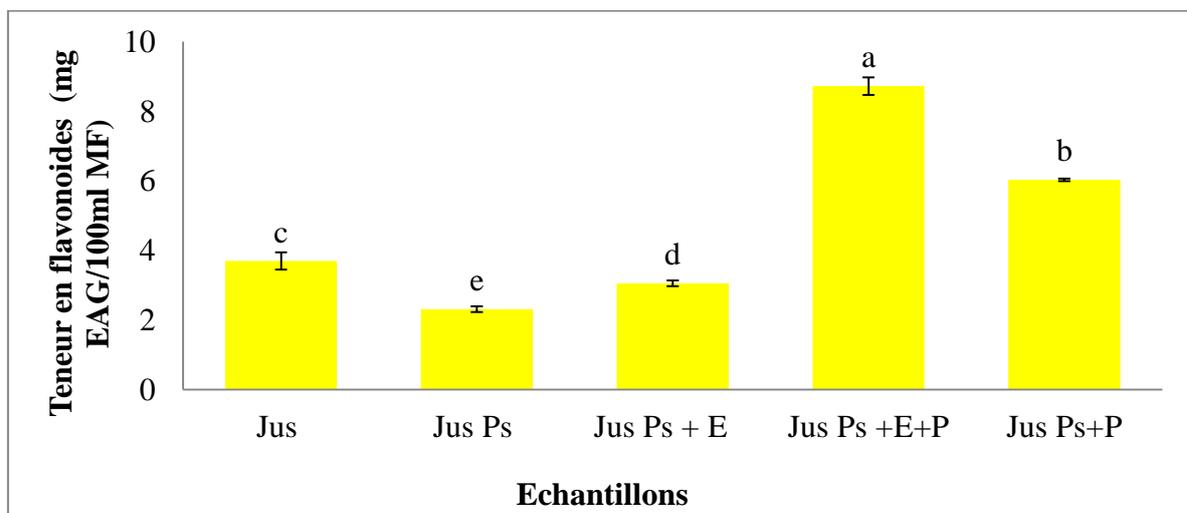


Figure 15 : Teneurs en flavonoïdes des jus différents jus enrichis

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$), quant à ceux qui portent la même lettre ne présentent pas de différence significative. Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d$. Ps : pasteurisé ; E : écorces ; P : pépins.

L'étude statistique a permis de révéler des différences significatives ($p < 0.05$) entre les teneurs en flavonoïdes des différents jus enrichis et de les classer dans l'ordre décroissant suivant : Jus $Ps +E+P > Jus_{Ps +P} > Jus_F > Jus_{Ps +E} > Jus_{Ps}$, avec des valeurs : $8.72 > 6.00 > 3.69 > 3.05 > 2.31$ mg EAG/100ml de jus, respectivement.

L'analyse statistique des résultats indique des différences significatives ($p < 0.05$) entre les différents jus enrichis, et a noté que le jus enrichi avec le mélange des pépins de raisin et des écorces d'orange a donné le rendement d'extraction le plus élevé, ceci s'explique par l'apport d'une quantité en plus de flavonoïdes par ces dernières. En effet la richesse des pépins en flavonoïdes comme il a été prouvé dans l'étude précédente a fait que le jus enrichi avec les pépins de raisin soit classé en deuxième position. Vient en troisième position le jus naturel puis le jus enrichi avec les écorces d'orange qui elle aussi améliore la teneur en flavonoïdes mais moins, contrairement aux pépins de raisin comme il s'est avéré antérieurement. Enfin le jus pasteurisé classé en dernière position avec une efficacité moindre d'extraction, ce qui est lié au fait que les flavonoïdes sont sensiblement affectés et détruits par la chaleur lors du traitement de pasteurisation.

Les résultats de la présente étude sont nettement inférieurs à ceux rapportés par **Guimarães et al. (2010)** qui ont indiqué pour le jus d'orange une valeur de 62 mg EAG/100ml de jus. Cela peut être expliqué par la différence des variétés, le climat, la méthode d'extraction et à la technique d'analyse de dosage.

II.3 Vitamine C

II.3.1 Taux de vitamine C des différents jus enrichis

Dans la présente étude, l'extraction adoptée est celle de macération de la matière fraîche. Le dosage est basé sur l'oxydation de l'acide ascorbique qui conduit à la réduction de 2,6-dichlorophénolindophénol (DCPIP) de couleur initiale bleu (forme oxydée) vers la couleur rose (forme réduite).

Les résultats de la teneur en vitamine C des différents jus enrichis sont représentés dans la figure 16.

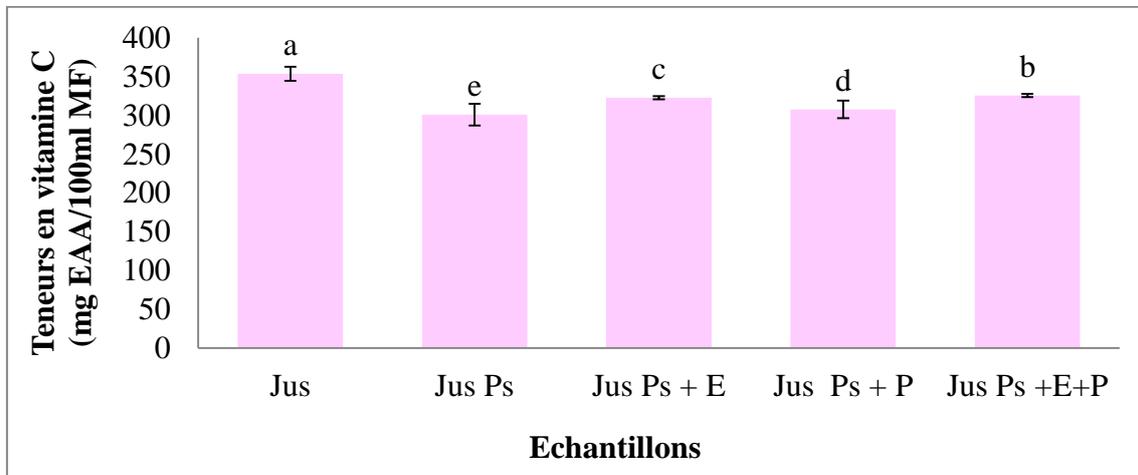


Figure 16 : Teneurs en vitamine C des différents jus enrichis

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$), quant à ceux qui portent la même lettre ne présentent pas de différence significative. Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d$. Ps : pasteurisé ; E : écorces ; P : pépins.

L'étude statistique a permis de révéler des différences significatives ($p < 0.05$) entre les teneurs en vitamine C des différents jus enrichis et de les classer dans l'ordre décroissant suivant : Jus_F > Jus_{Ps +E+P} > Jus_{Ps +E} > Jus_{Ps +P} > jus_{Ps} avec des valeurs : $353.54 > 325.47 > 322.58 > 307.61 > 300.80$ mg EAA/100ml de jus, respectivement.

La teneur en vitamine C dans le jus pasteurisé est très faible par rapport à celle du jus naturel, ceci peut être expliqué par le fait que le traitement thermique présente un facteur principal dans la dégradation de la vitamine C (**Elez-Martinez et Martin-Belloso, 2007**).

D'autre part, plusieurs études montrent que les écorces d'agrumes contiennent aussi des composés biologiquement actifs comme la vitamine C (0,109-1,150 g/100g) (**Goulas et al., 2012 ; Barros et al., 2012**), ce qui a été confirmé dans les résultats enregistrés pour le jus enrichi avec les écorces d'orange. Cependant la teneur en vitamine C du jus enrichi avec les pépins de raisin est nettement inférieure à celle du jus enrichi avec les écorces d'orange cela est due à la carence des pépins de raisin en vitamine C comme il a été rapporté par **Lemoigne, (2008)**. Enfin celle du jus enrichi par le mélange des deux poudres est supérieure aux deux dernières.

Les résultats de la présente étude sont nettement supérieurs à ceux rapportés par **Iós et al., (2014)**, qui ont démontré que la pulpe des agrumes contient des teneurs en vitamine C qui varient de 20 à 70 mg/100ml, et à ceux rapportés par **Rapisarda et al., (1999)** qui ont enregistré des teneurs en acide ascorbique pour le jus d'orange variant de 41.7 à 78.1 mg/100ml.

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

II.4 Caroténoïdes

II.4.1 Taux de caroténoïdes des deux matrices

Dans la présente étude, l'extraction adoptée est celle de macération de la matière sèche par un mélange de solvant (Hexane/acétone/éthanol). Les résultats de la teneur en caroténoïdes des deux matrices sont représentés dans la figure 17.

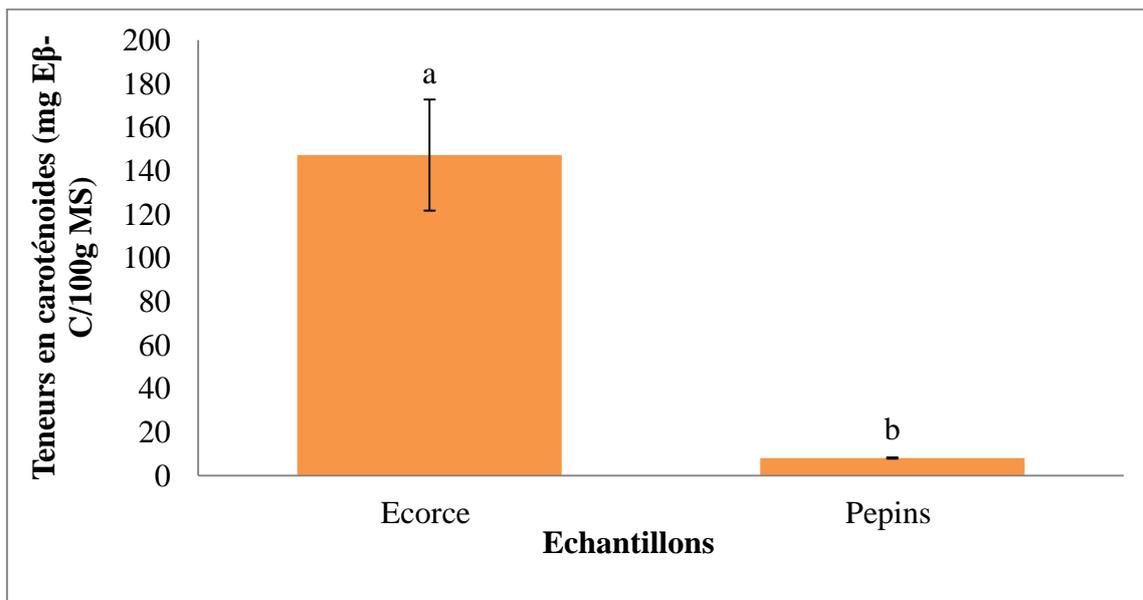


Figure 17 : Teneurs en caroténoïdes des deux matrices étudiées

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$), Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > :$ pour la matrice

Les résultats obtenus montrent que les écorces d'orange sont plus riches en caroténoïdes avec une teneur de 147.17 mg E β -carotène/100g MS que les pépins de raisin avec une teneur de 8.06mg E β -Carotène/100g MS.

Des différences significatives ($p < 0,05$) ont été notées entre les teneurs en caroténoïdes dans les écorces d'orange et les pépins de raisin. L'analyse statistique permet de les classer selon leurs contenus en caroténoïdes dans l'ordre décroissant suivant : écorces d'orange > pépins de raisin.

Les caroténoïdes sont déterminés fortement dans les écorces d'orange ce qui corrobore avec les résultats apportés par **Alquezar, (2008), Carmona, (2012), et Goulas et Manganaris (2012)**.

La concentration en caroténoïdes varie non seulement avec les espèces mais aussi avec les variétés, les facteurs naturels (la lumière, le sol, le degré de maturation, le climat, l'origine géographique et les conditions de culture), ainsi que les conditions de conservation et de stockage. Selon **Kato et al. (2004)** l'accumulation des caroténoïdes pendant la maturation des agrumes est régulée par l'expression des gènes responsables de leur biosynthèse. Cependant, il y'a peu d'études relatives à la composition en caroténoïdes des pépins de raisin, ce qui rend difficile de comparer nos résultats avec les données bibliographiques.

II.4.2 Taux de caroténoïdes des différents jus enrichis

Les résultats de la teneur en caroténoïdes des différents jus enrichis sont représentés dans la figure 18.

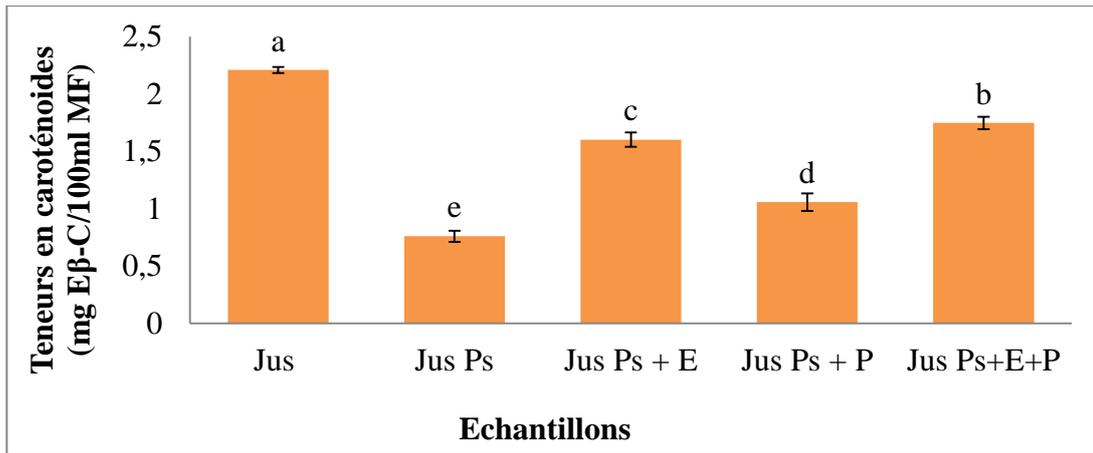


Figure 18: Teneurs en caroténoïdes des différents jus enrichis

Les résultats qui portent des lettres différentes présente une différence significative ($p < 0.05$), quant à ceux qui portent la même lettre ne présentent pas de différence significative. Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d$. Ps : pasteurisé ; E : écorces ; P : pépins.

L'étude statistique a permis de révéler des différences significatives ($p < 0.05$) entre les teneurs en caroténoïdes des différents jus de les classer dans l'ordre décroissant suivant : Jus_F > Jus Ps_{+E+P} > Jus Ps_{+E} > jus Ps_{+P} > Jus Ps avec des valeurs : $2,20 > 1,74 > 1,60 > 1,05 > 0,75$ mg Eβ-C/100ml de jus respectivement.

La teneur en caroténoïdes dans le jus d'orange pasteurisé est très faible par rapport à celle du jus d'orange naturel, en effet l'exposition de ce dernier à des températures élevées favorise les pertes en caroténoïdes (**Rodriguez-Amaya, 2001 ; Dias et al., 2009**).

Le jus enrichi par les écorces d'orange est classé en troisième position après celui enrichi par le mélange des deux matrices, ceci s'explique par le fait que les écorces d'orange sont pourvus de caroténoïdes mais moins que le jus enrichi avec les pépins de raisin qui quant à lui est classé en quatrième position, comme il a été prouvé dans la présente étude.

Les résultats obtenus dans la présente étude sont supérieurs à ceux obtenus par **Favier et al., (1993)** qui ont obtenu une teneur de 0.12mg/100ml de jus. Cette variabilité peut être expliquée par la différence des méthodes et des solvants d'extraction utilisés. Les conditions climatiques et l'effet variétal ne peuvent pas être exclus.

III Evaluation de l'activité antioxydante

III.1 Pouvoir anti-radicalaire DPPH

III.1.1 Activité anti-radicalaire des deux matrices

Après 30 min d'incubation de la solution DPPH-extrait la coloration violette vire vers une coloration jaune dans les extraits, ce changement de couleur est dû à la réduction du DPPH, ce qui montre que les échantillons ont un effet scavenger de radical DPPH. Les résultats du pouvoir anti-radicalaire DPPH des différents extraits sont rassemblés dans la figure 19.

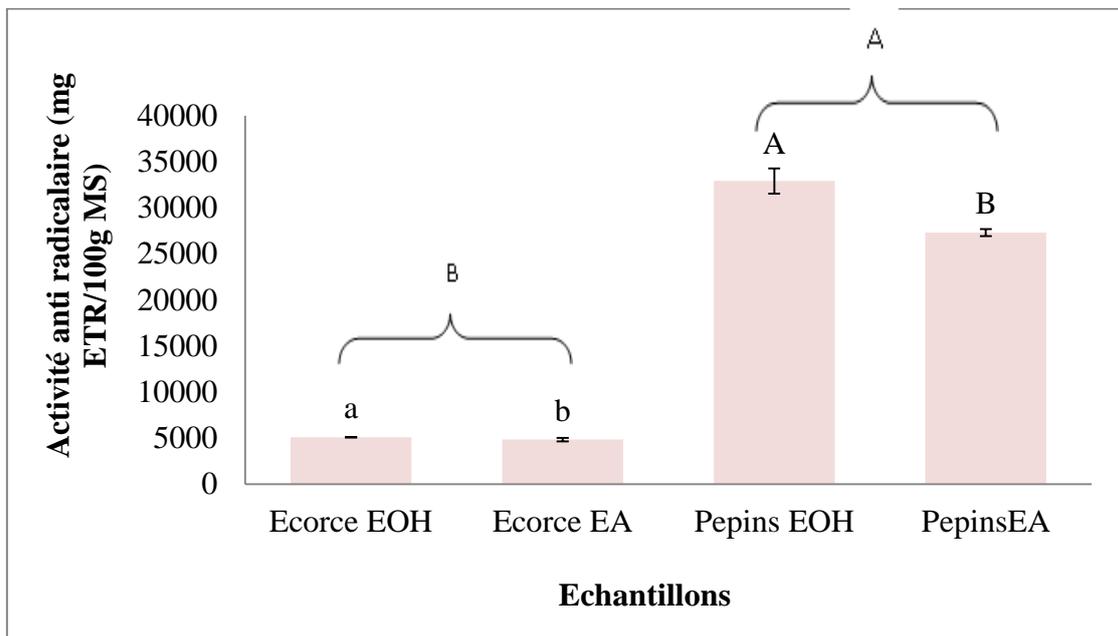


Figure 19 : Activité anti-radicalaire des deux matrices étudiées

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$), Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > :$ pour le solvant ; $A > B :$ la matrice. EOH : éthanol ; EA : eau acidifiée.

L'analyse statistique montre que l'activité anti-radicalaire dans les extraits éthanoliques indique des résultats de : 5081.20 mg ETrolox/100g MS pour les écorces d'orange et 32917.45 mg ETrolox/100g MS pour les pépins de raisin. Tandis que celle de l'eau acidifiée a noté des résultats de : 4824.36 mg ETrolox/100g MS pour les écorces d'orange et 27328.13 mg ETrolox/100g MS pour les pépins de raisin.

L'étude statistique a révélé une différence significative ($p < 0.05$) de la neutralisation du radical DPPH entre les deux matrices.

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits des écorces d'orange et des pépins de raisin présentent une capacité de piéger le radical DPPH^o qui dépend de la nature du solvant, et que l'éthanol a permis de neutraliser le maximum de DPPH à partir des écorces d'orange et des pépins de raisin. Les différences constatées entre les solvants utilisés pourraient être expliquées par la nature variable des antioxydants présents dans chaque extrait. En effet, la polarité du solvant peut affecter le transfert d'atomes d'hydrogène (Jayaprakasha et Patil, 2007).

Comparés aux écorces d'orange, les pépins de raisin ont une activité anti radicalaire plus élevée. Cette différence dans l'activité anti-radicalaire entre les extraits analysés est probablement due à leur composition en différents composés phénoliques. La réduction du DPPH n'est généralement pas due à l'action d'un seul composé mais aux interactions entre plusieurs composés, ces dernières peuvent exister dans un extrait pas dans un autre, conduisant ainsi à cette différence d'activité anti oxydante entre les extraits.

III.1.2 Activité anti-radicalaire des différents jus enrichis

Les résultats du pouvoir anti radicalaire par le DPPH des différents jus enrichis sont rassemblés dans la figure 20.

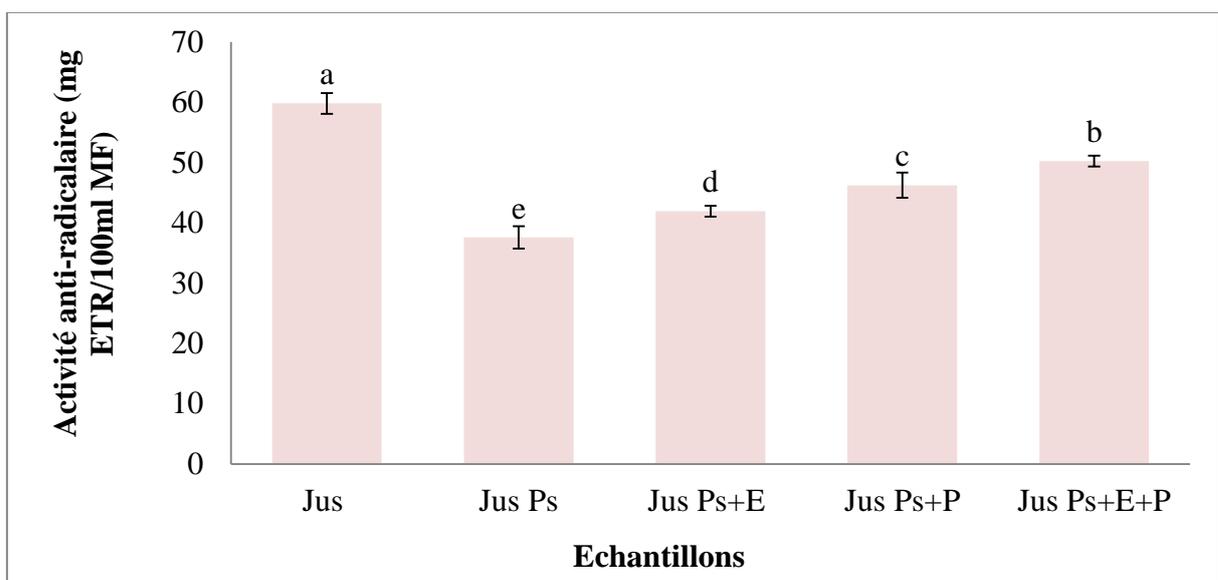


Figure 20 : Activité anti-radicalaire des différents jus enrichis étudiées

Les résultats qui portent des lettres différentes présente une différence significative ($p < 0.05$). Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d$. Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d$. Ps : pasteurisé ; E : écorces ; P : pépins.

L'étude statistique a permis de révéler des différences significatives ($p < 0.05$) entre l'activité anti radicalaire des différents jus et de les classer dans l'ordre décroissant suivant : Jus_F > Jus_{Ps +E+P} > Jus_{Ps +P} > Jus_{Ps+E} > jus_{ps} avec des valeurs : $58.78 > 50.21 > 46.22 > 41.91 > 37.56$ mg ETrolox/100ml de jus, respectivement.

L'activité anti-radicalaire dans le jus pasteurisé est très faible par rapport à celui du jus frais, ceci peut être expliqué par le fait que le traitement thermique présente un facteur principal dans la dégradation des antioxydants. En effet, la totalité de l'activité anti radicalaire serait due à ces derniers, tandis que le jus enrichi par le mélange des deux matrices est classé en deuxième position.

La neutralisation du radical a été attribuée par plusieurs auteurs à la présence de composés phénoliques qui cèdent facilement des protons pour le réduire (Tepe *et al.*, 2007 ; Li *et al.*, 2009 ; Nisha *et al.*, 2009), en raison de la richesse des pépins de raisin en composés phénoliques avec un taux plus élevé que celui des écorces d'orange. Le jus enrichi par les pépins de raisin a été classé en troisième position et celui enrichi par les écorces d'orange en quatrième position.

Les valeurs obtenues dans la présente étude sont largement inférieures à celles rapportées par Guimarães *et al.* (2010), 530 mg/100ml, ainsi qu'à celles rapportées par Moreno *et al.* (2005), qui ont indiqué que l'activité anti radicalaire de jus d'orange varie de 163.91 à 206.90 mg/100ml.

III.2 Pouvoir réducteur

III.2.1 Pouvoir réducteur des deux matrices

Le pouvoir réducteur des extraits est estimé en utilisant la méthode de réduction au ferricyanure de potassium. La présence de réducteurs dans les extraits induit la réduction du fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferreux (Fe^{+2}) selon la réaction suivante :



La couleur jaune de la solution de ferricyanure de potassium vire vers une couleur bleue verte dont l'intensité dépend du pouvoir réducteur de chaque extrait.

Les résultats du pouvoir réducteur des différents jus enrichis sont rassemblés dans la figure 21.

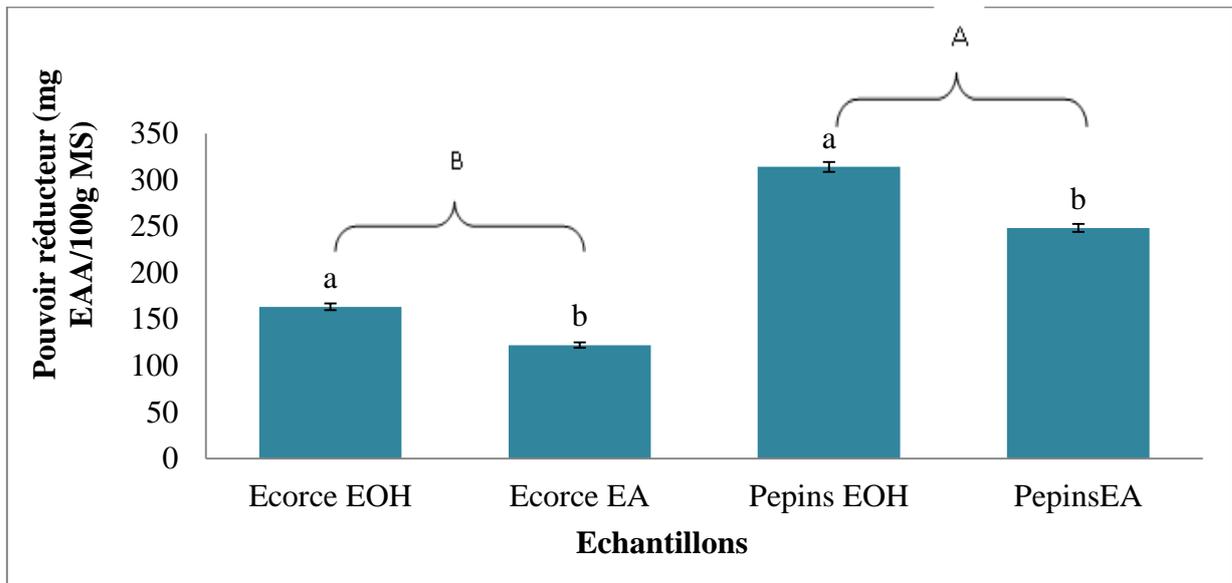


Figure 21 : Pouvoir réducteur des deux matrices étudiées

Les résultats qui portent des lettres différentes sont significativement différents ($p < 0.05$), Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b$: pour le solvant ; $A > B$: la matrice. EOH : éthanol ; EA : eau acidifiée.

Dans la présente étude, le pouvoir réducteur varie d'un extrait à l'autre, d'après la présentation graphique les extraits éthanoliques présentent le meilleur pouvoir réducteur avec des valeurs de : 163,41 mg EAA/100g MS pour les écorces d'orange et 314,07 mg EAA/100g MS pour les pépins de raisin. Tandis que celle de l'eau acidifiée a noté des résultats de : 122.23 mg EAA/100g MS pour les écorces d'orange et 248.26mg EAA/100g MS pour les pépins de raisin.

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits présentent une capacité réductrice qui dépend de la nature du solvant, et que l'éthanol permet d'extraire mieux les composés possédant une capacité meilleure de réduire le fer ferrique (Fe^{+3}) en fer ferreux (Fe^{+2}) à partir des écorces d'orange et des pépins de raisin.

D'autre part, l'étude statistique a révélé une différence significative ($p < 0.05$) du pouvoir réducteur entre les deux matrices. Comparés aux écorces d'orange, les pépins de raisin ont un pouvoir réducteur plus élevé, qui peut être expliqué au fait que les pépins de raisin soient riches en composés phénoliques comme il a été prouvé dans l'étude présente.

III.2.2 Pouvoir réducteur des différents jus enrichis

Les résultats du pouvoir réducteur des différents jus enrichis sont rassemblés dans la figure 22.

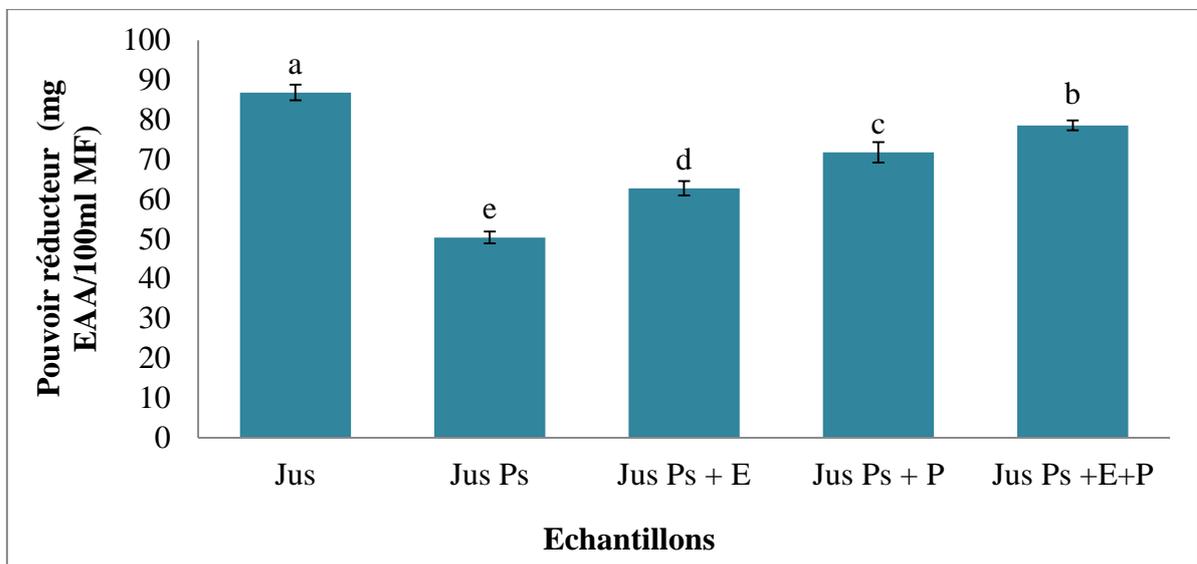


Figure 22 : Pouvoir réducteur des différents jus enrichis

Les résultats qui portent des lettres différentes présente une différence significative ($p < 0.05$), quant à ceux qui portent la même lettre ne présentent pas de différence significative. Les résultats sont classés par ordre décroissant : $a > b > c > d$. Ps : pasteurisé ; E : écorces ; P : pépins.

L'étude statistique a permis de révéler des différences significatives ($p < 0.05$) entre le pouvoir réducteur des différents jus et de les classer dans l'ordre décroissant suivant : Jus_F > Jus Ps_{+E+P} > Jus Ps_{+P} > Jus Ps_{+E} > jus Ps avec des valeurs : $86.86 > 78.56 > 71.80 > 62.76 > 50.38$ mg EAA/100ml MF, respectivement.

Le pouvoir réducteur des différents jus enrichis présente un effet significatif ($p < 0.05$), il varie d'un mélange à un autre, d'après la présentation graphique, le jus pasteurisé présente le plus faible pouvoir réducteur par rapport au jus d'orange frais. Tandis que le jus enrichi par le mélange des deux matrices est classé en deuxième position.

La diminution de la capacité antioxydante du jus d'orange pasteurisé est due à la diminution du taux des composés phénoliques totaux qui sont altérés sous l'effet de la température élevée. Le potentiel antioxydant dépend selon **Huang *et al.* (2006)** de la teneur en composés phénoliques, incluant les flavonoïdes. En effet, la richesse des pépins de raisin en composés phénoliques fait que le jus pasteurisé enrichi avec les pépins de raisin soit classé en troisième position et le jus enrichi avec les écorces d'orange en quatrième position.

D'après **Guimarães *et al.* (2010)** qui ont enregistré une teneur pour le jus d'orange de 319 mg/100ml, cette dernière est 4 fois plus supérieure que les résultats obtenus dans la présente étude. Selon **Xu *et al.* (2008)** la capacité antioxydante est influencée par plusieurs facteurs, tels que la variété, le degré de maturation, le sol, le climat et les méthodes analytiques.

Conclusion

Dans notre étude, nous nous sommes intéressées sur l'étude physicochimique (Humidité, pH, acidité) et l'extraction des principes actifs (composés phénoliques, flavonoïdes, caroténoïdes, vitamines C) ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante (activité anti-radicalaire DPPH, et le pouvoir réducteur au ferricyanure de potassium) contenus dans la pulpe, les écorces d'orange et les pépins de raisin ainsi que leur mélange.

Les résultats de l'analyse physico-chimique (Humidité, pH, acidité), ont montré que le taux d'humidité dans les écorces d'orange est supérieur à celui des pépins de raisin avec une valeur de 61.24% et 7.6%, respectivement. Les valeurs du pH et de l'acidité du jus étudié sont respectivement, 3.41 et 3.30.

Dans la présente étude nous avons constaté que la poudre de pépins de raisin diminue la saveur acide du jus d'orange. Ce qui a été confirmé par l'étude de l'effet de la quantité ajoutée des deux matrices au jus sur le pH et l'acidité.

L'étude de l'effet du solvant sur l'extraction, (1) des composés phénoliques totaux à partir des deux matrices étudiées, a révélé que l'eau acidifiée (conditions du jus) permet une meilleure extraction en comparaison à l'éthanol et (2) des flavonoïdes a montré que l'eau acidifiée permet d'extraire des taux de 68 à 90% par rapport à l'éthanol. D'autre part l'activité antioxydante a été meilleure dans les extraits éthanoliques.

Les résultats obtenus dans ce travail nous permettent également de déduire que nos échantillons sont une source importante de différents antioxydants. En effet, les dosages effectués ont montré que les écorces d'orange contiennent la teneur la plus élevée en caroténoïdes avec une valeur de 147.17022 mg E β carotène/100g MS. Alors que la teneur la plus importante en composés phénoliques et flavonoïdes a été enregistrée dans les pépins de raisin avec une valeur de 4194.0149 et 3836.0119 mg EAG/100g MS, respectivement.

Dans la présente étude nous avons bien illustré l'effet de la température (pasteurisation à 63°/20min) sur les antioxydants et le pouvoir antioxydant du jus d'orange étudié. En effet, une dégradation en composés phénoliques totaux, flavonoïdes, caroténoïdes et en vitamine C a été enregistrée. De même une diminution du pouvoir antioxydant a été révélée.

L'enrichissement des jus par les matrices étudiées a compensé les pertes en composés phénoliques induites par la pasteurisation de l'ordre de 17% pour le jus enrichi avec les écorces d'orange, 29% pour le jus enrichi avec les pépins de raisin et 33% pour le jus pasteurisé enrichi avec le mélange des deux matrices. En effet, le jus pasteurisé enrichi par la poudre de pépins de raisin a apporté une quantité plus importante en composés phénoliques et flavonoïdes que celle du jus pasteurisé enrichi par la poudre d'écorces d'orange. Alors que dans le cas des caroténoïdes et de la vitamine C, le jus pasteurisé enrichi avec la poudre d'écorces d'orange a enregistré un apport plus élevé que celui du jus pasteurisé enrichi par la poudre des pépins raisins.

Les résultats de cette étude nous permettent de conclure que le jus pasteurisé enrichi avec la poudre de pépins a enregistré le meilleur potentiel antioxydant par rapport à celui du jus enrichi avec la poudre d'écorces d'orange.

La technologie industrielle peut donc exploiter les sous-produits d'oranges et les raisins pour leur richesse en principes actifs, afin de remplacer les antioxydants synthétiques qui pourraient nuire à la santé. Ainsi il est possible de valoriser les sous-produits (écorces d'orange, pépins de raisin) et de participer activement à la protection de l'environnement avec un gain économique (création d'emplois et de richesses supplémentaires).

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

- Une étude approfondie pour une meilleure optimisation du rapport quantité/ volume (matrice/jus) en utilisant des plans de mélange (Exemple : JMP);
- Faire une analyse sensorielle hédonique par les experts;
- Une étude toxicologique pour les sous-produits naturels étudiés;
- L'étude d'autres espèces d'agrumes;
- L'étude d'autres variétés des autres régions;
- Caractérisation par utilisation de méthodes plus précises HPLC, RMN ... ;
- Penser à une application à l'échelle industrielle.

Références bibliographiques

Alias C., Linden G. et Miclo L. (2008). Biochimie alimentaire. Ed. Dunode. Paris. 125-126.

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

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

Billiau L., Constant M. Mattaigne A. Nzeza R. Vanhamme Everachten P. Vercauteren Awuidart. (2010). Sciences Biomédicales Printemps des Sciences Bruxelles.

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

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier Thechnique et documentation, Paris : 227-401.

Dangles O., Dufour C. (2006). Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. Eds Andersen O. and Markham K. CRC Press, Boca Raton, Chapter **9**: 443-469.

Dangles O., and Dufour C. (2008). Flavonoid-protein binding processes and their potential impact on human health. *Recent advances in polyphenol research*, **1**: 67-87.

Derbel S. et Ghedira K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, **1**: 28-34.

Elez-Martinez P. et Martin-Belloso O. (2007). Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxydant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup. *Food Chemistry*, **102 (1)** : 201-209.

Ernould A. (2008). Les vertus de l'oranger amer et de l'oranger doux. Diss, **1**: 108.

Ersus S. et Cam M. (2007). Determination of organic acids, total phenolic content, and

antioxydant capacity of sour *Citrus aurantium* fruits. *Chemistry of Natural Compounds*. **43** (5) : 607-609.

Etebu E., and Nwauzoma A. B. (2014). A review on sweet orange (*Citrus sinensis* L Osbeck): health, diseases and management. *American Journal of Research Communication*, **2(2)**: 33-70.

Fanciullino A. L., Dhuique-Mayer C., Froelicher Y., Talón M., Ollitrault P., and Morillon R. (2008). Changes in carotenoid content and biosynthetic gene expression in juice sacs of four orange varieties (*Citrus sinensis*) differing in flesh fruit color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56(10)** : 3628-3638.

Favier A. (1994) Biological indicators of oxidative stress in humans: *Trace elements and free radicals in oxidative disease*. Favier A, Neve J, Faure P eds, AOCS Press, Champaign, Illinois : 57-80.

Favier, A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique* : 108-115.

Ghasemi, K., Ghasemi, Y., et Mohammed, A.E. (2009). Antioxydant Activity, Phénol and Flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pakistan. Journal. Pharmceutical Sciences*, **22 (3)**: 277.

Gülçin I., Bursal E., Şehitoğlu M. H., Bilsel M., et Gören A. C. (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, **48(8)**: 2227-2238.

Jayaprakasha G.K. et Patil B.S. (2007). In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange. *Food Chemistry*, **101**: 410-418.

Kahkonen M.P., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J-P., Pihlaja K., Kujala T.S. et Heinonen M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **47**: 3954-3962.

Ketsawatsakul U., Whiteman M. et Halliwell B. (2000). A revaluation of the peroxynitrite scavenging activity of some dietary phenolics. *Biochemical and biophysical research communications*, **279(2)**: 692-699.

Kimball D.A. (1999). Citrus processing, a complete guide, second edition. Kimball D.A., Ed Gaithersburg. An Aspen publication.

Ladrum J.T. (2010). Carotenoides Physical, Chemical, and Biological Functions and Properties. Ed. *CRC Press Taylor et francis Group.Landon* p : 66.

Lillo, C., Uunis. et Peter, R. (2008). Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway. *Plant, Cell and Environment*, **31**: 787-601.

Liu Y., Heying E. et Tanumihardjo S. A. (2012). History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **11(6)**: 530-545.

Manach, C., Scalbert, A., Morand C., Remesy C. et Amenez L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American journal of Clinical Nutrition*. **79**: 727-747.

Menon R. (2014). Oxidative stress damage as a detrimental factor in preterm birth pathology. *Frontiers in Immunology*, **5(567)**: 1-14.

Milind P. et Dev C. (2012). Orange: range of benefits. *International Research Journal Pharmacy*, **3(7)**: 59-63.

Mompon B., Lemaire B. Mengal P. et Surbled M. (1996). Extraction des Polyphenols: du laboratoire a la production industrielle. In «polyphénols».Ed. *INRA*. Paris: 31-43.

Moreno. C. S. Plaza. L. Martiänez. P. E. Ancos. B. D. Belloso. O. M. et Cano. M. P. (2005). Impact of High Pressure and Pulsed Electric Fields on Bioactive Compounds and antioxidant Activity of Orange Juice in Comparison with Traditional Thermal Processing.

- Oreopoulou, V. et Tzia, C. (2007).** Utilization of plant by-products for the recovery of proteins, dietary fibers, antioxidants and colorants. In "Utilization of By-products and Treatment of Waste in the Food".Ed. *Springer*, USA: 209-232.
- Peterson J.J., Dwyer J.T., Beecher G.R., Bhagwet S.A., Gebhardt S.E., Haytowitz D.B. et Holden J.M. (2006).** Flavanones in orange, tangerines (mandarine), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, **19**: S66-S73.
- Ramful D., Bahorunb T., Bourdonc E., Tarnusc E., Aruoma O. I. (2010).** Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits. potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, **278 (1)**: 75-87.
- Ramful D., Tarnus E. , Aruoma O. I., Bourdon E., Bahorun T. (2011).** Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps; *Food Research International*; **44**: 2088-2099.
- Rangana, S.; Govindrajan, V. J. et Ramana K. V. R. (1983).** Citrus Fruits - Varieties. Chemistry, Technology, and Quality Evaluation. Part II: Chemistry, Technology and Quality Evaluation. A: Chemistry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **18 (4)**: 313-386.
- Renard C.M.G.C., Caris-Veyrat C., Dufour C. et Le Bourvellec C. (2014).** Le devenir des polyphénols et caroténoïdes dans les fruits et légumes traités thermiquement. *Innovations Agronomiques* **42** : 125-137.
- Richter, G., (1993).** Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie. Ed. *presses polytechniques et universitaires, Romandes*. **P** : 318-338.
- Sdiri S., Bermejo A., Aleza P., Navarro P., et Salvador A. (2012).** Phenolic composition, organic acids, sugars, vitamin C and antioxidant activity in the juice of two new triploid late season mandarins. *Food Research International*. **49**: 462-466.
- Tepe B., Eminagaoglu O., Akpulat H.A. et Aydin E. (2007).** Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of methanolic extracts of *Salvia verticillata (L.)* subsp. *Verticillata* and *S. verticillata (L.)* subsp. *Amaciaca* (Freyen & Bornm.) Bornm. *Food Chemistry*, **100 (3)**: 985-989.

Teucher E., Anton R., et Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques : Epices, aromates et huiles essentielles. Ed. Tec & Doc. Lavoisier (France). 79 p.

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

Versteeg C., (1979). Pectinesterases from the orange fruit-their purification, general characteristics and juice cloud destabilizing properties. Centre for Agricultural Publishing and Documentation.

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

Xu G., Liu D., Chen J., Ye X., Ma Y. et Shi J. (2008). Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food Chemistry*, **106 (2)**: 545-551.

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

Références électroniques

Anonyme 1 (2019) :

FAO: faostat.org

Anonyme 2 (2019) :

<https://www.fondation-lamap.org/fr/page/9734/la-pasteurisation-france-encyclopédie-la-découverte>

Anonyme 3 (2019) :

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Tanin>.

Annexes

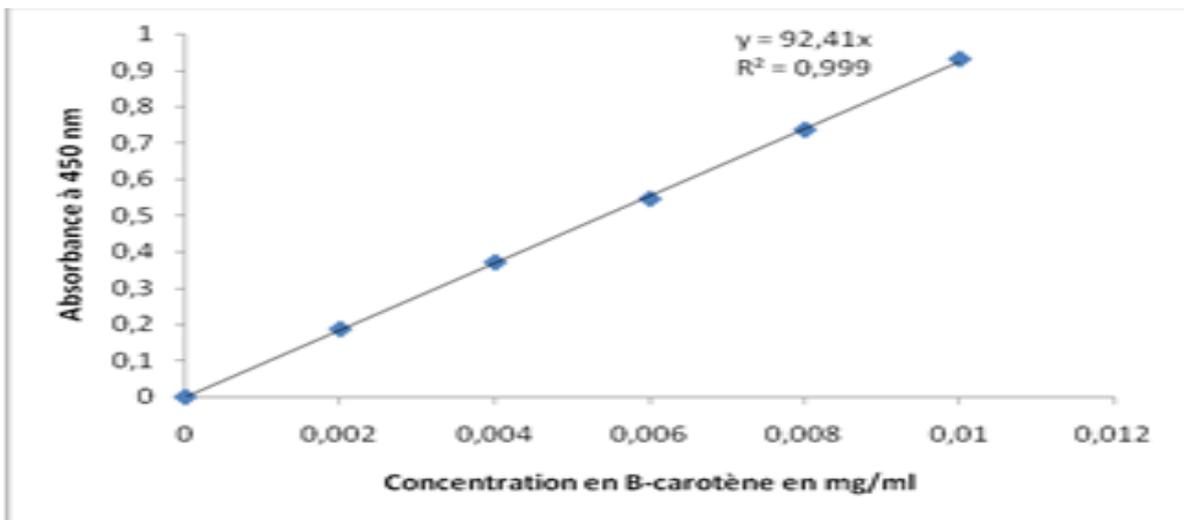


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des caroténoïdes

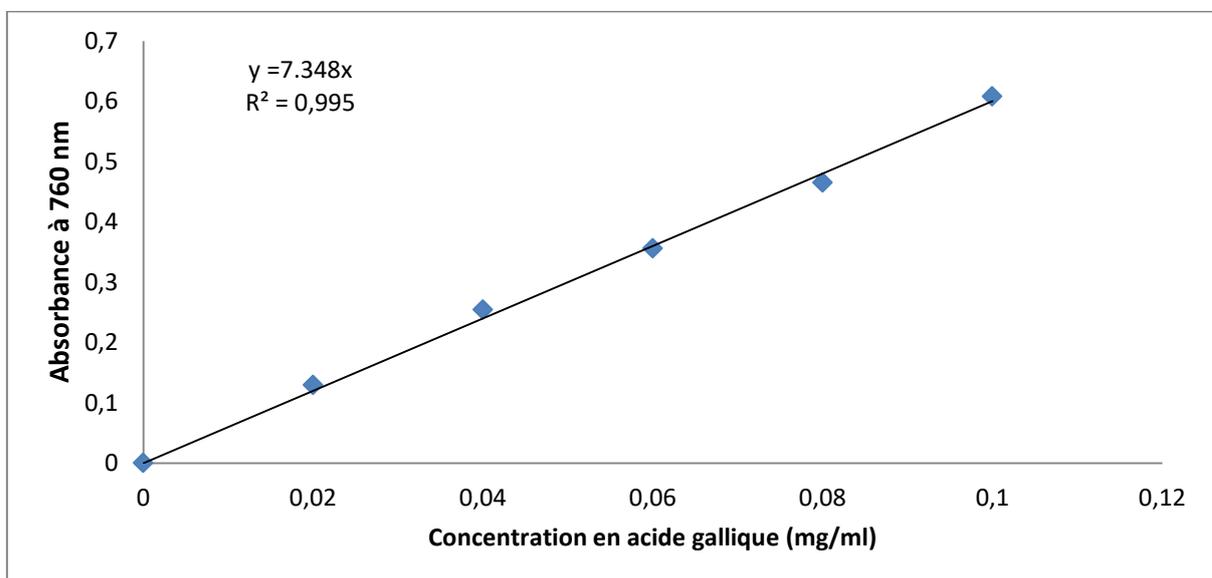


Figure 2 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

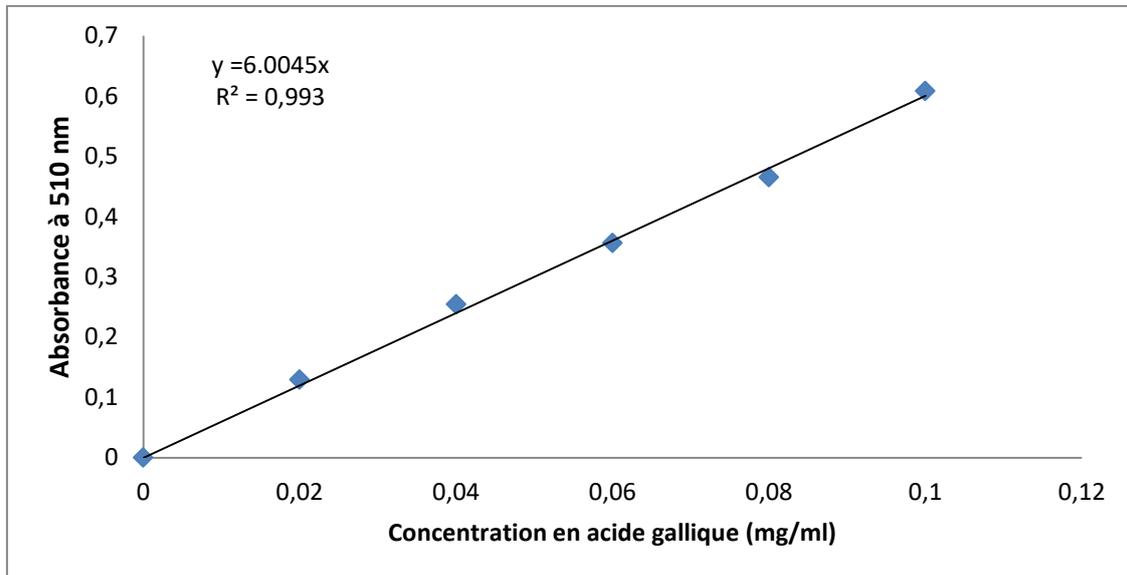


Figure 3 : Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes

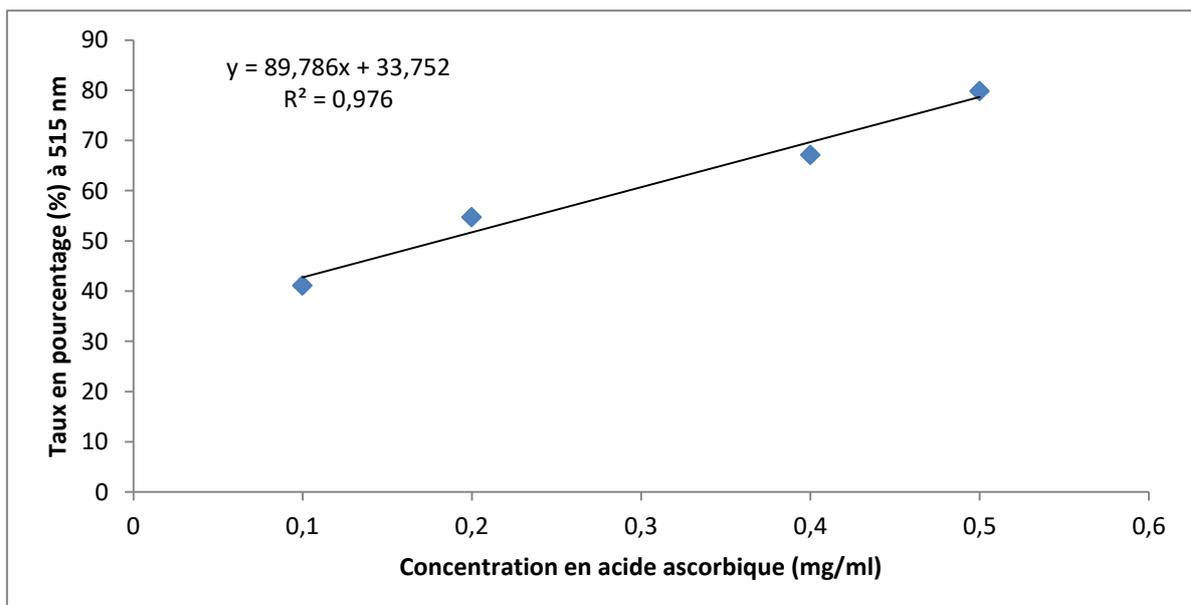


Figure 4 : courbe d'étalonnage de la vitamine C

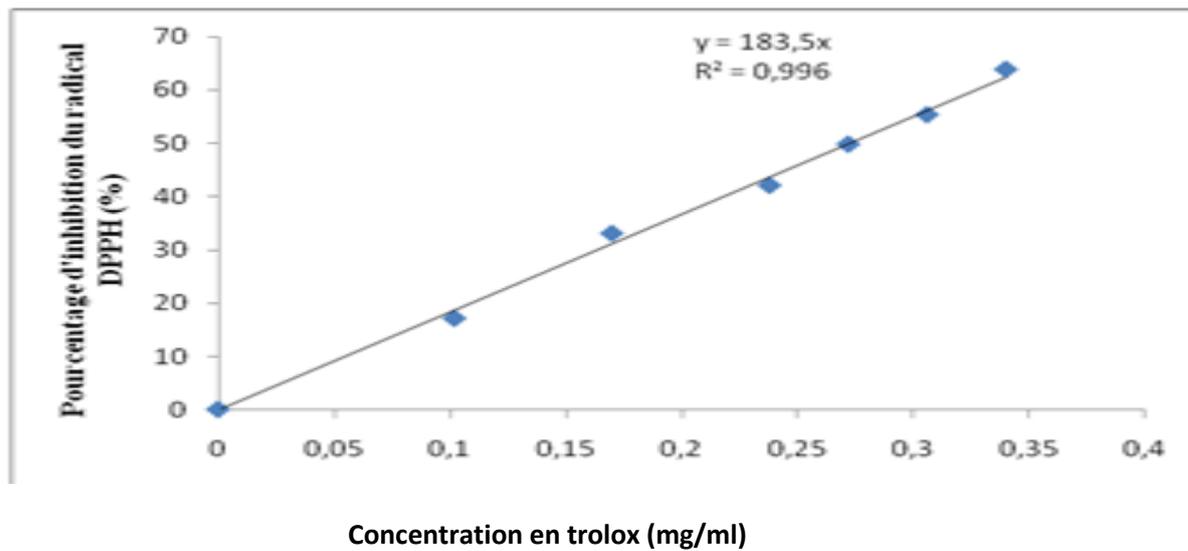


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de la neutralisation du radical DPPH

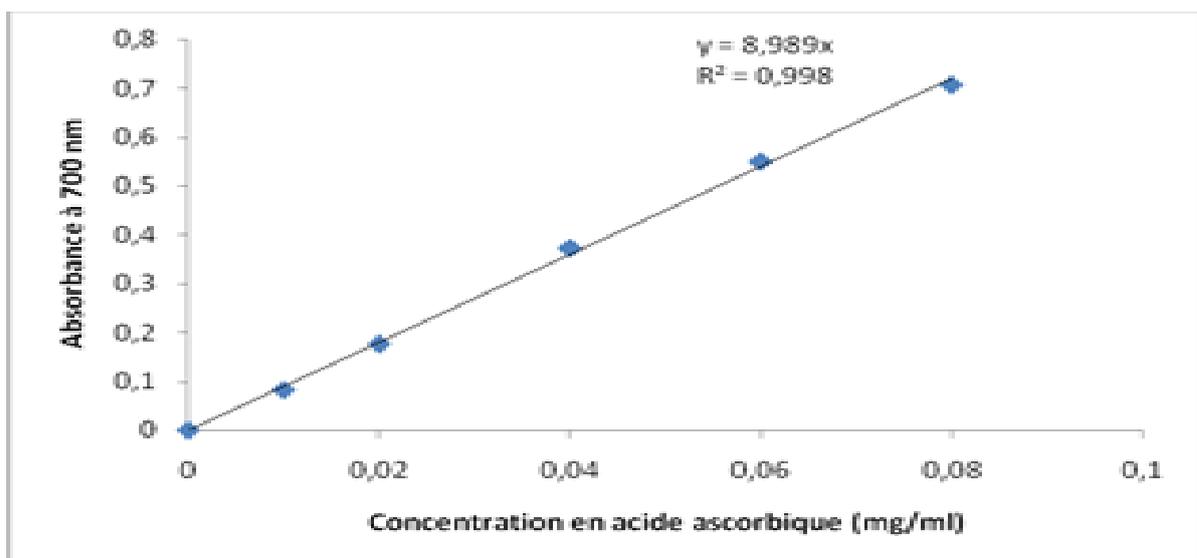


Figure 6 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

Résumé: L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet d'ajout des sous-produits de raisins (pépins) et des oranges (écorces) sur le contenu antioxydant du jus d'orange après pasteurisation et de faire une étude comparative entre le jus pasteurisé, non pasteurisé et les jus enrichis avec les écorces d'orange et les pépins de raisin. Dans la présente étude nous avons constaté que la poudre de pépins de raisin diminue la saveur acide du jus d'orange. Une dégradation des composés phénoliques totaux, flavonoïdes, caroténoïdes et de la vitamine C a été enregistrée sous l'effet de la pasteurisation. De même une diminution du pouvoir antioxydant a été révélée. L'enrichissement des jus par les matrices étudiées a compensé les pertes en composés phénoliques induites par la pasteurisation de l'ordre de 17% pour le jus enrichi avec les écorces d'orange, 29% pour le jus enrichi avec les pépins de raisin et 33% pour le jus pasteurisé enrichi avec le mélange des deux matrices. Les résultats de cette étude nous permettent de conclure que le jus pasteurisé enrichi par la poudre des pépins de raisins a enregistré le meilleur potentiel antioxydant par rapport à celui du jus enrichi par la poudre d'écorces d'orange.

Mots clés: Jus d'orange, écorces d'orange, pépins de raisin, pasteurisation, antioxydants, activité antioxydante.

Abstract: The objective of our work is to study the effect of adding by-products of grapes (pips) and oranges (peel) on the antioxidant content of orange juice after pasteurization and to make a comparative study between the Pasteurized, unpasteurized juice and juice enriched by orange peel and grape seeds. In this study we found that grape seed powder decreases the acidic flavor of orange juice. Degradation of total phenolics, flavonoids, carotenoids and vitamin C was recorded under the effect of pasteurization. Similarly a decrease in antioxidant power has been revealed. Enrichment of the juices by the matrices studied compensated for losses of phenolic compounds induced by pasteurization of the order of 17% for juice enriched with orange peel, 29% for juice enriched with grape seeds and 33% for the pasteurized juice enriched with the mixture of the two matrix. The results of this study allow us to conclude that pasteurized juice enriched with grape seed powder has the best antioxidant potential compared to juice enriched with orange peel powder.

Keywords: Orange juice, orange peel, grape seeds, pasteurization, antioxidants, antioxidant activity.