



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

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département Science Agroalimentaire

Mémoire de fin d'études pour l'obtention de diplôme de master

Spécialité : Nutrition et Diététique Humaine

Filière : Science Alimentaire



Thème

La Valorisation du jus de pamplemousse sur la diététique

Réalisées par :

- Belkaid Farida
- Bessadi Fella

Devant jury:

Mm Hamzi wahiba	MCA	président	université Blida1
Mm Boulkour Soraya	MCA	Examinatrice	université Blida1
Mm Chabane Dalila	MCB	Promotrice	université Blida1
Mm Benmenssour Nabahet	MCB	Co - Promotrice	université Blida1

Session : 2021/2022.

REMERCIEMENT

*En premier lieu nous remercions ALLAH pour nous avoir
Guidés et donner la force pour la finalisation de ce mémoire,
Nous remercions également nos professeurs pour leur sérieux
Et les efforts déployés à nos profit, ainsi leur contribution
au*

*Bon déroulement de notre formation notamment notre
Encadreur qui nous a réservé une partie de son temps en
Nous orientant pour réaliser notre projet de fin d'étude
Master conformément aux modalités prévues à cet effet.*

Nous remercions les membres de jury de mémoire.

*Nous remercions vivement Mesdames et Messieurs les
Travailleur dans l'administration de notre département*

*Finalemnt, nous ne manquerons pas de remercierons
Enseignantes pour l'échange d'idées qu'on faisait de temps en
Temps afin d'enrichir nos connaissances dans le domaine de
Notre spécialité.*



Dédicace :

*Nous remercions tout d'abord Allah de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et les capacités pour suivre nos études _ Pour cela je dédie le fruit de ce dernier à : *Mes très chers parents ,sous tendresse, qui ont sacrifié pour mon bonheur, et ma deuxième mère MALIKA qui m'encourage toujours qu'ont constamment soutenu dans ma vie «Pour leur amour et leur prières, que dieu me les gardes » * Mon mari adel *Mes adorables sœurs * Mes chers frères * Mon nièce Yousef *Mes très chères amis ``NESRINE, YASMINE " et beaucoup merwa Bouchoul _je remercie tous qui m'aide et m'encourage par un petit mot, tous les enseignants de promotion Science alimentaire (2021_2022) _Enfin, à tous ceux qui j'aime et m'aiment*

B.farida



Dédicaces

Je dédie cet ouvrage

*A Maman qui m'a soutenu et m'encourager durant ces
années d'étude*

*A mon cher père, pour son soutien,
Son affection et sa confiance qu'il m'a accordées.*

*A mon cher mari bilhel qui m'a toujours apporté son
soutien*

A tous les nombres de m'a famille

A tous mes amis.

B.fella

Résumé

Les effets néfastes des radicaux libres sur notre organisme peuvent être inhibés par plusieurs molécules antioxydants (polyphénols, acide ascorbique et caroténoïde) se trouvant dans les fruits tels que les agrumes sont connus par leur richesse en vitamine C et leur effet bénéfique sur la santé prouvés par de nombreuses recherches scientifiques. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude qui a pour objectif de déterminer la valeur nutritive du jus de pamplemousse pur de la variété citrus maxima; pour cela nous avons effectué différents analyses parmi lesquelles:

Les analyses physicochimiques dont le pH a été évalué à 3.05, indice de Brix à 10%, l'acidité titrable à 2.56 g/l, la vitamine C à 16.72 mg/100ml. La teneur en polyphénols trouvée est de 95 mg d'acide gallique/100ml d'extrait, celle des flavonoïdes à 58.18 mg/100ml d'extrait. Les analyses des oligoéléments (Potassium à 1.66 mg/100ml, Cuivre à 0.141 mg/100 ml d'extrait.

Cette étude a révélé une richesse en composés antioxydants tels que les polyphénols et la vitamine C, ayant comme caractéristiques des effets thérapeutiques pour la santé telle que les propriétés anticancéreuses, anti-inflammatoire et surtout pour leur effet de booster l'immunité.

Quant au test de stabilité, les analyses microbiologiques dont le recherche et le dénombrement des Coliforme Fécaux (*Escherichia-coli*), *Salmonella* et les Moisissures sont absents, tandis que les levures sont été indénombrables, ces résultats obtenus sont conformes aux normes fixées par le JORA, (1998),

Mots clés : Citrus maxima, flavonoïdes, polyphénols, pH, vitamine C.

Summary

The harmful effects of free radicals on our body can be inhibited by several antioxidant molecules (polyphenols, ascorbic acid and carotenoids) found in fruits such as citrus fruits. The objective of this present study is determined the nutritional value of pure juice of grapefruit variety (citrus maxima) for this we carried out different analyzes:

Physicochemical analyzes (pH with 3.05, Brix 10%, treatable acidity 2.56 g/l, vitamin C 16.72 mg/100ml, polyphenol 95 mg of Gallic acid/100ml, flavonoid 58.18 mg/100ml, analyzes of trace elements (Potassium 1.66 mg / 100ml, Copper 0.141 mg / 100ml).

carried out reveal a high acidity of other juice whose pH values are lower than 4, a richness in antioxidant compounds such as polyphenols and vitamin C, having as characteristics of therapeutic health effects such as anti-cancer, anti-diabetic properties.

As for the stability test, the microbiological analyzes of which the search and enumeration of Faecal Coliforms (Escherichia-coli), Salmonella and Molds are absent, while yeasts have been uncountable show that the results obtained comply with the standards set by JORA (1998) for fruit juices, which explains the role and effect of citric acid on drinks during storage and guaranteeing its stability.

Keywords: Citrus maxima, flavonoids, polyphenols, pH, vitamin C.

الملخص

يمكن منع الآثار الضارة للجذور الحرة على أجسامنا من خلال العديد من الجزيئات المضادة للأكسدة (البوليفينول وحمض الأسكوربيك والكاروتينات) الموجودة في الفواكه مثل الحمضيات.

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد القيمة الغذائية لعصير الجريب فروت النقي؛ لذلك قمنا بتحليلات مختلفة التي تكشف عن ارتفاع حموضة العصير التي تقل قيم ثابت الحموضة فيها عن 4 ، و ثراء في المركبات المضادة للأكسدة مثل البوليفينول و فيتامين C والتي لها خصائص ذات تأثيرات صحية علاجية مثل خصائص مضادة للسرطان ومضادة لمرض السكري.

3.05 ، بريكس 10% ، الحموضة القابلة للمعايرة 2.56 غ / لتر، pH التحليلات الفيزيائية و الكيميائية مثل ثابت الحموضة فيتامين C 16.72 مغ/100مل، تركيز البوليفينول 95 مغ من حمض الغاليك / 100 مل ، الفلافونويد 58.18 مغ / 100 مل .
تحليل العناصر الاساسية (النحاس 0.141 مغ / 100 مل ، 1.66مغ/100مل البوتاسيوم).

أما بالنسبة لاختبار الثبات ، فقد أظهرت التحليلات الميكروبيولوجية لعصير الجريب فروت النقي مثل تحليل البحث وتعداد ايشريشاكولي، سالمونيلا، الفطريات أنها غائبة ، على عكس الخمائر التي لم نستطع حسابها. إن النتائج التي تم الحصول عليها تتوافق مع المعايير التي حددتها JORA 1988 التي توضح دور و تأثير حمض السيتريك على المشروبات أثناء التخزين و ضمان ثباتها.

الكلمات المفتاحية: الحمضيات القسوى ، الفلافونويد ، البوليفينول ، ثابت الحموضة ، فيتامين سي.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Variété de pamplemousse Citrus maxima	14
Figure 2	Jus de pamplemousse pur après filtration	15
Figure 3	Courbe d'étalonnage des polyphénols	19
Figure 4	Courbe d'étalonnage de flavonoïde	20
Figure 5	courbe d'étalonnage de cuivre	22

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Composition en nutriments, vitamines et minéraux du pomelo et du pamplemousse	9
Tableau 2	Les différentes dilutions de solution mère de courbe d'étalonnage de potassium	21
Tableau 3	les différentes dilutions de solution mère de courbe d'étalonnage de cuivre	21
Tableau 4	Les résultats des analyses physicochimiques de jus de pamplemousse (citrus maxima)	29
Tableau 5	les résultats des analyses nutritionnelles et dosage composés phénoliques	31
Tableau 6	les résultats des analyses microbiologiques	32

Liste des abréviations

J-C : Jésus-Christ

USA: Les États-Unis

HDL : lipoprotéine de haute densité

AFNOR: Association française de normalisation

TSE: Tryptone Sel

OGA: Gélose a l'Oxytétracycline glucose

NF: Norme Française

EPT: Eau Peptone Tamponée

RV: Rappaport Vassiliadis

NA: Norme Algérienne

NPP: le Nombre le Plus Probable

ISO: Organisation Internationale de Normalisation

VRBL: milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

JORA : Journal Officielle de République Algérienne

EAG : Equivalent Acide gallique

pH : Potentiel d'hydrogène

H₂SO₄ : Acide sulfurique

Sommaire

Résumé..
Summary
المخلص
Liste des figures
Liste des tableaux..
Liste des abréviations.....
Introduction.....	1
CHAPITRE 1: RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....	2
1. Généralités sur Les agrumes.....	3
1.1. Historique.....	4
2. Généralité sur le pamplemousse	4
2.1. Généralité sur la famille	5
2.2. Généralité sur le genre.....	6
2.3. Etymologie	6
2.4. Description botanique	7
2.5. Nom communs	7
2.6. Composition biochimique.....	7
2.6.1. Composés du metabolism primaire	7
2.6.2. Composés du métabolisme secondaire	9
2.7. Les bienfaits de pamplemousse :	11
CHAPITRE 2: MATERIELS ET METHODES.....	13
2. Matériels et méthodes	14
2.1. Objectif	14
2.2. Matériels	14
2.2.1. Matériel végétal	14
2.3. Méthodes.....	15
2.3.1. Préparation de jus	15
2.3.2. Les analyses physicochimiques	15
2.3.2.1. Mesure du pH.....	15
2.3.2.2. Détermination du degré Brix ou l'extrait sec soluble.....	16
2.3.2.3. Détermination de l'acidité titrable	17

2.3.2.4. Détermination de la teneur en acide ascorbique	18
2.3.3. Dosage des composés phénoliques.....	18
2.3.3.1. Dosage Polyphénols	18
2.3.3.2. Dosage de flavonoïde.....	19
2.3.4. Les analyses nutritionnelles	20
2.3.4.1. Dosage des oligoéléments.....	20
2.3.4.1.1. Teneur en Potassium	20
2.3.4.1.2. Teneur en Cuivre.....	21
2.3.5. Les analyses microbiologiques	23
2.3.5.1 Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	23
2.3.5.2 Recherche des Salmonelles.....	24
2.3.5.3 Recherche et dénombrement des coliformes fécaux	25
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	28
3. Résultats et discussion	29
3.1. Résultats des analyses physico-chimiques.....	29
3.1.1. Le pH	29
3.1.2. L'acidité.....	29
3.1.3. Le degré Brix°	30
3.1.4. La vitamine C	30
3.2. Résultats des analyses nutritionnelles et dosage composés phénoliques.....	30
3.2.1. Les composés phénoliques	31
3.2.1.1. Les polyphénols	31
3.2.1.2. Les flavonoïdes	31
3.2.2. Les oligoéléments	32
3.3. Résultats des analyses microbiologiques	32
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	33
Conclusion	32
Perspectives.....	33
Référence	35

INTRODUCTION

Introduction

Les agrumes ont de grandes valeurs nutritionnelles et pharmacologiques. Ils sont riches en vitamine C, et une bonne source de minéraux et de fibres alimentaires (**Li-Jun Li, 2019**), Les composés photochimiques comme les monoterpènes, les limonoïdes (triterpènes), les flavonoïdes, les caroténoïdes et l'acide hydroxy - cinnamique ont un grand potentiel pour la protection des humains contre les maladies chroniques et le cancer (**Rao, 2016**)

La production agrumicole renferme 72 % d'oranges, 16% de clémentines, 4% de mandarines, 7% de citrons et 1% de pomelos. Elle compte une quarantaine de variétés, dont 20 d'oranges, 15 de clémentine et mandarines, 5 de citrons et divers fruits dont le pomelo, avec une production estimée à 14 500 quintaux par an. Le verger agrumicole se localise essentiellement dans la plaine de la Mitidja en raison de son exigence en eau et qualité de sol. Une étude de L'INRAA en 2006 a rapporté que l'Algérie détient une collection variétale composée de 227 variétés d'agrumes, cette richesse arboricole constitue un patrimoine génétique inestimable (**Hamidi et Limam, 2018**).

Les pamplemousses font partie des nombreux agrumes appréciés pour leur pulpe juteuse, sucrée et acidulée. Sa floraison parfumée laisse place à de beaux fruits qui se récoltent en hiver. (**Gorinstein et al., 2004**).

Le vrai pamplemousse (*Citrus maxima*), aussi appelé à tort pomelo (*Citrus paradisi*), fait partie de la famille des Rutacées (*Rutacée*). Il pousse sur un arbre fruitier qui peut se développer jusque 6 mètres de hauteur, appelé le pamplemoussier. Ce gros fruit est apprécié pour sa pulpe rose ou jaune, entourée d'une peau ou écorce jaune ou rose. La récolte a lieu en hiver alors que celle des pomelos se situe vers le mois d'avril à juin. Le pamplemousse est originaire de Chine alors que le pomelo est né en Amérique du Nord, plus précisément en Floride. (**Gorinstein et al., 2004**).

Le pomelo, issu d'un croisement entre un oranger et le pamplemoussier, est de taille plus petite qu'un pamplemousse, avec une peau jaune, à la pulpe jaune amère ou rose sucrée, suivant les variétés. Il faut savoir qu'en Europe, ce sont les pomelos qui sont le plus consommés, Comme de nombreux agrumes, le pamplemousse est apprécié pour son apport en vitamine C et sa faible teneur en calories. Considéré comme un des fruits les moins sucrés, il est largement consommé lors d'un régime. (**Gorinstein et al., 2004**).

Notre étude a pour but d'étudier l'effet du jus de pamplemousse sur la diététique et l'analyse physico-chimique et microbiologique de ce dernier, pour cela nous avons suivi les étapes suivantes :

La première partie concerne la partie bibliographique dont on parlera de la composition biochimique du pamplemousse et leurs bienfaits sur la santé.

Introduction

La deuxième partie, concerne les méthodes utilisées pour la détermination des paramètres physico-chimique, microbiologique et nutritionnelle du jus de pamplemousse.

La troisième partie concernera l'exposition des résultats obtenue et leur discussion.

CHAPITRE 1
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1. Généralités sur Les agrumes

Le nom agrume désigne un ensemble de fruits de la famille des Rutaceae, et même plus précisément de la sous famille des Aurantioideae, comprenant trois genres principaux : le genre *Citrus*, auquel appartiennent la grande majorité des agrumes, le genre *Fortunella*, avec les kumquats, et le genre *Poncirus* (Tonelli & Gallouin, 2013).

Il semblerait que le terme agrume ne soit employé que depuis les années 1920 en France, alors qu'il provient de l'ancien français *aigrum*, lui-même dérivé du latin médiéval *acrumen* issu du latin *acror*, terme qui s'applique aux fruits acides, amers et âcres (Tonelli & Gallouin, 2013 ; Dupont & Guignard, 2015).

Selon des études génomiques récentes, il existerait un ancêtre commun à tous les agrumes, datant d'il y a 30 millions d'années et originaire de l'Himalaya, et qui serait à l'origine de trois grands groupes : les cédratiers (*Citrus medica*), les mandariniers (*Citrus reticulata*) et les pamplemoussiers (*Citrus grandis*). Tous les autres agrumes en seraient issus et se seraient progressivement diversifiés spontanément et sous l'action humaine (Tonelli & Gallouin, 2013).

Le fruit, charnu, est une baie que l'on nomme hespéride. En partant de la périphérie vers le centre, on distingue une écorce ou épicarpe, aussi appelée communément zeste, qui correspond à la peau du fruit, comprenant de très nombreuses poches à essence schizolysigènes, colorée en jaune orangé, et riche en flavonoïdes, ce qui lui doit son nom de flavedo, du latin *flaveo*, jaune. L'épicarpe recouvre ensuite le mésocarpe, une couche blanche spongieuse qui porte le nom d'albedo, du latin *albedo*, blancheur.

Le mot Agrume provient du latin *acrumen* qui désignait dans l'antiquité des arbres à fruits acides (Benediste et Baches , 2002). Les agrumes englobent plusieurs variétés, parmi lesquelles on trouve le citron, l'orange, le pamplemousse, la lime, etc. (Ladaniya, 2008 ; Khan et al., 2010).

Les agrumes sont de petits arbres, ou des arbustes, de 5 à 15 m de hauteur, assez souvent épineux, et à feuillage dense, persistant à l'exception de quelques variétés hybrides dont les feuilles sont caduques ou semi-persistantes, d'un vert généralement très foncé. Les jeunes plants et les jeunes pousses étant d'un vert nettement plus clair. Le fruit est formé de segments contenant les graines (Ladaniya, 2008 ; Khan et al., 2010).

1.1. Historique

Le problème posé par la détermination exacte du centre d'origine géographique des agrumes se complique, à cause de l'existence de certaines variétés issues d'une hybridation naturelle interspécifique dans ce groupe de plante, quoi qu'il en soit de cette incertitude relative, quant aux limites exactes du centre d'origine des agrumes il se situe principalement, dans le Sud-Est Asiatique. **(Ladaniya, 2008 ; Khan et al., 2010).**

Il est répandu en Afrique du Nord par la migration et le commerce. Pendant le règne des Romains, il s'est déplacé vers le sud de l'Europe à travers les politiciens de la société romaine après l'augmentation du volume des échanges, Les auteurs s'accordent pour admettre que la culture des agrumes a pris naissance en Chine et en Inde, pendant le premier millénaire avant J-C **(Jacquemonnd et al., 2009).**

A partir de ce centre primitif de l'agrumiculture, la diffusion semble d'être opérée vers le monde entier. C'est lors des échanges commerciaux avec l'Asie, à partir du XIème siècle, que les génois et les portugais introduisirent dans le bassin Méditerranéen l'oranger, le bigaradier et le citronnier **(Jacquemonnd et al., 2009).**

2. Généralité sur le pamplemousse

La définition scientifique du pamplemousse, *Citrus maxima (Burm) Merr.* Ou *Citrus grandis (L.) Osbeck*, a pour origine les mots latins grandis et maxima, qui signifient grand et très grand, ce qui est un des premiers caractères visibles de cet agrume, **(Blaisot, 2016).**

Le pamplemousse est aussi connu sous le nom de citron des Barbades, ou *Shaddock* en anglais **(Tonelli et Gallouin, 2013).**

On le trouve dans les îles de l'Indonésie et de la Malaisie, d'où il serait parti à la conquête de l'Asie et des îles de l'océan pacifique. Il semble que le pamplemousse prospéra en Chine il y a plus de 4000 ans. **(Blaisot, 2016).** Le pamplemousse était connu des marins portugais et hollandais qui commerçaient entre l'Extrême-Orient et l'Europe, car grâce à sa peau épaisse, il résistait bien à la durée des traversées maritimes. Ainsi, au début du XVIIIème siècle, des cargaisons de pamplemousses arrivèrent en Hollande, où ils étaient appréciés comme condiments **(Gorinstein et al., 2004).**

Le pamplemousse appartient à la catégorie des « agrumes », terme générique utilisé pour désigner les fruits à saveur acide, recouverts d'une écorce, et divisés en sections juteuses contenant des pépins. Riches en vitamines et composés antioxydants, le pamplemousse est doté

de nombreux atouts nutritionnels. C'est un fruit qui présente d'excellents avantages pour la santé. (**Gorinstein et al., 2004**).

Le pamplemousse est aussi riche en vitamine C et contient également des limonoïdes, des caroténoïdes que l'on trouve principalement dans ses pépins et dans son jus, reconnus pour leurs propriétés antioxydants importantes (**Wang et Yu, 2005**).

2.1. Généralité sur la famille

Les Rutacées consistent en une famille de plantes à fleurs de l'ordre des Sapindales, qui poussent dans les régions tempérées chaudes et subtropicales du globe. Ce sont des arbustes, des petits arbres ou des herbes d'une grande importance économique, car les espèces les plus importants sont le citron, l'orange, le grapefruit et le pamplemousse. Les feuilles des Rutacées sont disposées de manière opposée et sont dépourvues de stipules. Elles comportent des glandes qui sont responsables de l'odeur aromatique des plantes. Les fleurs sont solitaires ou disposées en cames; elles sont hermaphrodites et pollinisées par des insectes. Elles sont composées de 5 pétales et de 5 sépales, ainsi que de 8 à 10 étamines. Les fruits des Rutacées sont variables: des drupes, des capsules ou des baies. (**Benedicte et Michel, 2011**).

➤ **Classification** : selon. (**BLAISOT, 2016**).

Clade : Spermatophyta (plantes à graines).

Clade : Angiospermes (plantes à fleurs).

Clade : Dicotylédones vraies = Eudicotylédones.

Clade : Noyau des Dicotylédones vraies = Eudicotylédones supérieures.

Clade : Rosidées.

Clade : Malvidées = Eurosidiées II.

Ordre : Sapindales.

Famille : Rutaceae.

Genre : *Citrus*.

Espèce : *Citrus maxima* (Burm.) Merr

2.2. Généralité sur le genre

Le citrus est un genre de plantes de la famille des Rutaceae, ayant des feuilles persistantes et simples, natif d'Australie et d'Asie du sud-est, qui pousse partout dans le monde. Les plus grands producteurs sont le Brésil, la Chine, les USA, le Mexique, l'Inde et l'Espagne. (Sidana et al., 2013). Les citrus peuvent atteindre une hauteur de 4 à 12 mètres, selon les espèces. (Sidana et al., 2013).

2.3. Etymologie

Le pamplemoussier est connu sous le nom scientifique *Citrus maxima* (Burm.) Merr. Depuis 1917 (Mabberley, 1997). Dans la littérature, on trouve plusieurs synonymes :

- *Aurantium maximum* Burm., depuis 1755, qui n'est autre que le basionyme de *Citrus maxima*.
- *Citrus grandis* (L.) Osbeck, depuis 1757.
- *Citrus aurantium* var. *grandis* L., depuis 1753, qui est le basionyme de *Citrus grandis*.

Citrus aurantium var. *decumana* L., ou *Citrus decumana* L., depuis 1763.

➤ Pomelo :

Les plantes d'origine hybride sont signalées par le signe x précédant leur nom, quel que soit le rang Taxonomique qu'on leur attribue. Lorsque le croisement s'opère entre deux espèces appartenant au même genre, ce qui est notre cas, on obtient une espèce hybride. Ce croisement peut s'effectuer spontanément dans la nature si les deux parents coexistent et ont le même rythme de floraison (Raynal-Roques, 1995).

Le pomelo est un hybride de *Citrus maxima* (Burm.) Merr. Et de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, respectivement le pamplemousse vrai et l'oranger. Il est connu sous le nom scientifique *Citrus x paradisi* Macfad. Depuis 1830.

Il existe deux synonymes à *Citrus x paradisi* Macfad. :

- *Citrus grandis* var. *racemosa* (Roemer) Stone.
- *Citrus maxima* var. *urocarpa* Merr. & Lee depuis 1924.

2.4. Description botanique

Le pamplemousse (*citrus maxima*) est le plus gros des agrumes, allant de 15 à 30 centimètres de diamètre et pouvant peser jusqu'à plusieurs kilos. Pyriforme, sa peau est soit lisse, soit granuleuse, de couleur jaune clair à verte, et épaisse. Sur cette peau sont présentes de très nombreuses poches à essence, colorées par des caroténoïdes visibles à l'œil nu. Il possède un large albédo (peau blanche sous l'écorce du fruit) avec environ 16 à 18 quartiers bien séparés. Selon les différentes espèces, la pulpe peut être blanche, rose ou encore plus colorée. Elle renferme plus ou moins de gros pépins ovoïdes et pointus, qui sont mono-embryonnés (Blaisot, 2016).

Le pamplemoussier est un grand arbre pouvant atteindre 10 mètres de hauteur et 8 mètres d'envergure. De grande taille, allant jusqu'à 16 cm de longueur par 7 cm de largeur, les feuilles sont ovales, avec une marge légèrement dentée vers l'extrémité qui est en pointe, et elles possèdent un pétiole ailé en forme de cœur. Comme pour la plupart des arbres de la famille des Rutaceae, les feuilles sont persistantes (Tonelli et Gallouin, 2013; Dupont et Guignard, 2015).

2.5. Nom communs

Un **Pamplemoussier** est un arbre fruitier de la famille des rutacées, comme tous les agrumes. Ses fruits sont appelés pamplemousse, mais ce ne sont pas les fruits que nous mangeons habituellement. Le pamplemousse rouge, que nous consommons est en fait un hybride du pamplemoussier et de l'oranger, pour éviter les confusions il devrait être appelé Pomélo (Tonelli et Gallouin, 2013).

2.6. Composition biochimique

Les composés chimiques seront divisés en deux parties : d'une part les composés du métabolisme primaire, et d'autre part les composés du métabolisme secondaire.

Il faut savoir que la composition chimique varie de façon non négligeable selon les cultivars ou variétés étudiés.

2.6.1. Composés du métabolisme primaire

Le métabolisme primaire est constitué des réactions qui permettent la synthèse et l'utilisation des substances essentielles pour la vie, telles que les sucres, les acides aminés, les nucléotides et les polymères qui en dérivent (protéines, acides nucléiques, polysaccharides) (Botineau, 2010).

Les composés du métabolisme primaire sont ainsi les glucides, les lipides, et les protides.

- **Vitamine C :**

Les fruits du genre Citrus, les agrumes, sont riches en glucides, en particulier en vitamine C (**Botineau, 2010**). Aussi connue sous le nom d'acide L-ascorbique, la vitamine C dérive directement du D-glucose chez les végétaux. Cependant, elle ne peut être synthétisée par l'homme, c'est pourquoi elle doit lui être apportée par son alimentation. Cette vitamine est impliquée dans de nombreuses réactions biologiques. Elle est indispensable à l'élaboration et au maintien de l'intégrité du collagène chez les animaux, ainsi qu'à celle des extensines, qui sont des protéines intervenant dans la formation des parois cellulaires des végétaux (**Bruneton, 2016**). De plus, elle est utile au métabolisme de la dopamine, de la noradrénaline et de l'hémoglobine, ainsi qu'à la régénération de la vitamine E, et elle favorise l'absorption intestinale de fer. Enfin, c'est une molécule anti-oxydante qui va donc capter les radicaux libres.

- **Pectines :**

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

Les pectines sont intéressantes car leur utilisation régulière pourrait participer au contrôle de la cholestérolémie. En effet, la cholestérolémie totale serait diminuée de 0,07 mmol/l par gramme de pectine ingérée et le LDL-cholestérol serait diminué de 0,055 mmol/l par de gramme de pectine ingérée. De plus, elles diminuent l'absorption intestinale de glucose, et elles augmentent l'excrétion des acides biliaires (**Bruneton,2016**).

Chez Citrus maxima (Burm.) Merr., les pectines sont retrouvées dans l'albedo et le flavedo, avec une concentration plus importante au sein de l'albedo (**Chaidedgumjorn et al., 2009**).

D'après une étude de Wang et al, réalisée en 2008, la peau de pamplemousse contiendrait entre 81,9 et 86,4 mg/g de pectines, dont 29,6 à 33,3 mg/g de pectines solubles dans l'eau (**Wang et al., 2008**).

Nutriments, vitamines et minéraux :

➤ **Tableau 1** : Composition en nutriments, vitamines et minéraux du pomelo et du

Pamplemousse (Blaisot, 2016)

	<i>Citrus x paradisi</i> Macfad.	<i>Citrus grandis</i> (L.) Osbeck
Fibres	Traces	15,8 - 16,2 g/kg
Glucides	68 - 72 g/kg	103 - 127 g/kg
Protéines	6,6 - 7,4 g/kg	5,4 - 6,6 g/kg
Thiamine (vitamine B1)	0,8 - 1,6 mg/kg	0,1 - 0,5 mg/kg
Ribo flavine (vitamine B2)	0,2 mg/kg	0,3 mg/kg
Acide Ascorbique (Vitamine C)	210 - 410 mg/kg	130 - 270 mg/kg
Calcium	146 - 254 mg/kg	92 - 108 mg/kg
Magnésium	92 - 108 mg/kg	197 - 235 mg/kg
Sodium	2 - 18 mg/kg	26,9 - 27,1 mg/kg
Phosphore	191 - 209 mg/kg	179 - 221 mg/kg
Potassium	1,8 - 2,2 g/kg	0,74 - 1,38 g/kg
Fer	4,8 - 5,2 mg/kg	3,7 - 4,3 mg/kg
Zinc	0,8 - 2,0 mg/kg	1,1 - 1,9 mg/kg
Cuivre	0,4 - 0,8 mg/kg	1,4 - 2,4 mg/kg

2.6.2. Composés du métabolisme secondaire

Le métabolisme secondaire correspond aux réactions à l'origine de substances qui, contrairement à celles du métabolisme primaire, ne paraissent pas indispensables à la survie de l'organisme. Il n'est pas toujours évident de séparer le métabolisme primaire du secondaire étant donné que de nombreux métabolites secondaires dérivent de petites molécules issues du métabolisme primaire (**Botineau, 2010**).

➤ **Flavonoïde**

Ces molécules sont reconnues pour leurs propriétés veinotoniques, c'est à dire qu'elles renforcent la résistance des capillaires sanguins en diminuant leur perméabilité. Ce sont aussi des agents antioxydants qui vont piéger les radicaux libres et les réduire en composés moins oxydants et plus stables, et chélater les cations métalliques. Les flavonoïdes sont également reconnus pour leurs propriétés inhibitrices enzymatiques, avec l'inhibition de l'histidine-décarboxylase par le quercétol ou la naringénine, l'inhibition de l'élastase, l'inhibition de la hyaluronidase par les flavones, ou encore l'inhibition de la NO-synthase. Enfin, on leur connaît

une activité anti-allergique, anti-inflammatoire, hypocholestérolémiante, diurétique, ou encore antibactérienne (**Bruneton, 2016**).

Le terme flavonoïde regroupe plusieurs classes de molécules différentes : les flavones, les flavonols, les flavanones, les chalcones, les auronnes, et le bi flavonoïde. Les flavonoïdes retrouvés dans les fruits du genre *Citrus* sont en réalité appelés citroflavonoïdes. Les flavanones sont les citroflavonoïdes les plus abondants, et ils sont présents sous leur forme aglycone ou hétérosidique correspondante. Chez le pomelo et le pamplemousse, on retrouve la naringine, la quercétine, le kaempférol, l'hespéridine, la néo-hespéridine, la poncirine, la narirutine, la didymine et l'ériocitrine ainsi que l'apigénine (**Rolet, 2012; Bernatoniené et al., 2013**), (**Xi et al., 2014**),

En effet, on retrouve dans la peau de *Citrus grandis* (L.) Osbeck entre 2186,47 et 7839,07 mg de naringine par kg de matière fraîche. Pour ce qui est de *Citrus x paradisi* Macfad., on obtient entre 6543,48 et 9871,69 mg de naringine par kg de matière fraîche. Quand à la néo-hespéridine, elle est présente à des taux variant entre 0 et 76,54 mg/kg de matière fraîche dans la peau du pamplemousse. Certaines variétés n'en présentent pas du tout, alors qu'elle est présente à des taux variant entre 12,54 et 7011,15 mg/kg de matière fraîche chez le pomelo (**Rolet, 2012; Bernatoniené et al., 2013**).

- **Les limonoïdes**

Les limonoïdes sont les composés responsables de l'amertume des jus de fruits du genre *Citrus*, qui se développe après leur préparation. Cette amertume qui se développe progressivement après la préparation du jus est commune à tous les agrumes, alors que chez certaines espèces, particulièrement le pomelo, il existe une amertume immédiate due à la présence d'hétérosides de flavanones. Dans le fruit frais et intact, on note la présence d'acide limonoïque monocarboxylique qui existe sous forme de sel, non amer. C'est seulement après expression du jus qu'il se transforme en limonine, qui est amère. En plus de la limonine, d'autres constituants participent à l'amertume tels que la nomiline et les acides obacunoïque et nomilinique (**Bruneton, 2016**).

- **Les caroténoïdes :**

Les caroténoïdes sont des composés tétraterpéniques synthétisés par les plantes. Ce sont des pigments colorés en jaune ou orangé. Il faut savoir que le groupe des caroténoïdes comprend plus de 800 molécules, formées par l'enchaînement de huit unités isopréniques. Lorsque la molécule est un hydrocarbure, on parle de carotène, alors que lorsqu'elle est oxygénée, on parle de xanthophylles (**Bruneton, 2016**). Largement répandus dans la nature, ils s'accumulent dans les chloroplastes de tous les tissus photosynthétiques, sont présents dans les feuilles de presque tous les végétaux, et dans les fruits des *Citrus*.

Une étude réalisée en 2006 par Xu *et al.* a comparé les concentrations en différents caroténoïdes dans la peau de plusieurs variétés de *Citrus x paradisi* Macfad. et de *Citrus grandis* (L.) Osbeck.

Il apparaît que les concentrations sont très variables en fonction de la variété étudiée, les taux de caroténoïdes totaux allant de 16,77 à 54,25 g/g chez le pamplemousse, et de 3,32 à 218,20 g/g chez le pomelo (**Xu et al., 2006**).

Pour ce qui est de la pulpe, que cela soit pour le pomelo ou le pamplemousse, la quantité de caroténoïdes est là aussi très variable selon la variété, et la couleur du fruit. En effet, un fruit dont la pulpe est rouge sera plus riche en caroténoïdes qu'un fruit dont la pulpe est de couleur pâle. Par exemple, comme le montre l'étude de Tsai *et al.* en 2007, la concentration en caroténoïdes dans le jus de *Citrus grandis* (L.) Osbeck peut varier de 0,34 g/mL pour les variétés "blanches" à 1,73 g/mL pour les variétés "rouges" (**Tsai et al., 2007**).

2.7. Les bienfaits de pamplemousse :

- **Lipides sanguins :**

Chez des patients atteints d'hypercholestérolémie, la consommation de 2 pamplemousses par jour aurait la propriété de diminuer les taux de cholestérol et de triglycérides sanguins et d'augmenter la capacité antioxydant dans le sang (**Gorinstein et al., 2004**). La consommation de pamplemousse rouge aurait davantage d'effet sur les lipides (gras) sanguins que le pamplemousse blanc (**Gorinstein et al., 2006**). Chez les personnes souffrant d'obésité, la consommation de 12 pamplemousses (3 fois par jour) n'influencerait pas le profil lipidique, mais pourrait jouer un rôle dans la perte de poids (**Fujioka et al., 2006**).

Plusieurs études menées sur des animaux ont démontré que les flavonoïdes et les limonoïdes présents dans les jus d'agrumes avaient la propriété de diminuer le cholestérol sanguin. Ils pourraient également augmenter le cholestérol **HDL** (bon cholestérol) et réduire les triglycérides sanguins (**cho et al., 2010**) ainsi que l'oxydation du cholestérol (**Jeon et al., 2001**). Il est à noter que, toujours chez les animaux, la consommation de pamplemousses frais serait plus avantageuse pour le profil lipidique (taux sanguins de cholestérol et de triglycérides) et l'activité antioxydants que la prise d'un supplément de naringine (un flavonoïde du pamplemousse). Par ailleurs, certains flavonoïdes pourraient améliorer l'élasticité de la paroi des vaisseaux sanguins (**Choe et al., 2001**).

- **Glycémie et perte de poids**

Chez des personnes obèses atteintes du syndrome métabolique, la consommation de pamplemousse (un demi-fruit par jour avant chaque repas pendant 12 semaines) a entraîné une importante perte de poids comparativement à un groupe témoin (1,6 kg contre 0,3 kg). Elle a aussi significativement réduit leur résistance à l'insuline. Chez des animaux diabétiques, des suppléments de naringine (un flavonoïde du pamplemousse) ont permis de diminuer de façon

importante le glucose sanguin. Ce composé pourrait jouer un rôle dans la prévention de l'hyperglycémie (**jung et al .,2004**)

- **Inflammation**

Plusieurs études ont démontré que les flavonoïdes des agrumes avaient des propriétés anti-inflammatoires, Ils inhiberaient la synthèse et l'activité de médiateurs impliqués dans l'inflammation (dérivés de l'acide arachidonique, prostaglandines E2, F2 et thromboxanes A2) (**Benavente -Garciao, 2008**)

- **Cancer (prévention)**

Plusieurs études ont démontré que la consommation d'agrumes, dont le pamplemousse, serait reliée à la prévention de certains types de cancers (**chainani-wn, 2002**). Comme le cancer de l'estomac, le cancer du côlon, de la bouche et du pharynx. Selon l'une de ces études, une consommation modérée d'agrumes (soit de 1 à 4 portions par semaine) permettrait de réduire les risques de cancers touchant le tube digestif et à la partie supérieure du système respiratoire. En ce qui concerne spécifiquement le cancer du pancréas, les études demeurent toutefois controversées (**Bae et al., 2009**) .

Une étude populationnelle suggère que la consommation quotidienne d'agrumes jumelée à une consommation élevée de thé vert (1 tasse et plus par jour) serait associée à une plus forte diminution de l'incidence des cancers (**Li et al ., 2010**).

La consommation de pamplemousse pourrait, selon une étude prospective (populationnelle) d'envergure, diminuer les risques de cancer du sein. Toutefois, d'autres études ont montré des résultats inverses, ou une absence de lien. Par ailleurs, des chercheurs ont observé que l'incidence de cancer du poumon était plus faible chez les personnes qui consommaient plus de pamplemousse blanc le (**marchand L et al ., 2000**).

- **Cancer (ralentir la progression)**

Des composés antioxydants contenus dans les agrumes (les limonoïdes) ont démontré des effets anticancer in vitro et sur des animaux. Ils pourraient diminuer la prolifération de cellules cancéreuses du sein de l'estomac, du poumon, de la bouche et du côlon (**Miller et al ., 2004**).

CHAPITRE 2:
MATERIELS ET METHODES

2. Matériels et méthodes

2.1. Objectif

Le but de notre travail est la détermination de la valeur nutritive de jus pur de pamplemousse variété (*citrus maxima*) et son rôle en diététique.

Notre étude a été réalisée sur une période allant de mai à juillet 2022, sur des échantillons de variété de pamplemousse (*citrus maxima*) ainsi l'ensemble de nos l'expérimentations se sont déroulés dans les laboratoires suivants :

- Laboratoire de contrôle de la qualité et la conformité (Altesse Lab) Blida.
- Laboratoire de contrôle de la qualité (laboratoire bioengineers) Blida.
- Laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.

2.2. Matériels

Matériel non biologique (**voir l'annexe**).

2.2.1. Matériel végétal

➤ Echantillonnage :

Dans cette expérimentation, nous avons utilisé la variété de pamplemousse (*citrus maxima*) de commerce d' Ouled El Aleig (Blida) acheté le 30 mars 2022 .



Figure 1: Variété de pamplemousse *Citrus maxima* (photo originale 2022).

2.3. Méthodes

2.3.1. Préparation de jus

La quantité de la pamplemousse utilisée pour la totalité de nos expérimentations est de l'ordre de 7kg. Nous avons procédé à un nettoyage et triage de pamplemousse afin d'éliminer les éléments indésirables présent à la surface de ce fruit qui est par la suite pressé manuellement puis soumis à une filtration avec un papier filtre, le conditionnement du jus se fait dans des bouteilles en plastique et stocker au réfrigérateur à 6 C° pour l'utilisation ultérieure toute au long de l'expérimentation.



Figure 2 : Jus de pamplemousse pur après filtration (photo originale 2022).

2.3.2. Les analyses physicochimiques

2.3.2.1. Mesure du pH (AFNOR, 1986)

➤ **Principe :**

La mesure de pH est basée sur la différence du potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de références plongées dans le produit. Cette détermination est réalisée à l'aide d'un pH mètre.

➤ **Mode opératoire :**

- Etalonner d'abord le pH-mètre à la température de mesure en utilisant deux solutions tampons (pH=4, pH =10);
- prélever comme prise d'essai un volume V de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode, noter ensuite la valeur de pH affichée sur le pH-mètre;
- il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant et après chaque mesure, puis la sécher.

2.3.2.2. Détermination du degré Brix ou l'extrait sec soluble: (AFNOR, 1986)

➤ **Principe :**

Le Brix (%) exprime le pourcentage de la concentration des solides solubles contenus dans un échantillon (solution aqueuse). Le contenu des solides solubles représente le total de tous les solides dissous dans l'eau, incluant les sucres, les sels, les protéines, les acides etc. et la mesure lue est leur somme totale.

On entend par résidu sec soluble (déterminé par réfractomètre) la concentration en saccharose d'une solution aqueuse ayant le même indice de réfraction que le produit analysé, dans des conditions déterminées de préparation et de température. Cette concentration est exprimée en pourcentage en masse.

➤ **Mode opératoire :**

- À l'aide de la tige ou de la pipette d'application, déposer une gouttelette d'échantillon sur le prisme de mesure. Éviter le contact entre l'extrémité de la pipette et la surface du prisme;
- refermer immédiatement la plaque-couvercle de l'échantillon afin de réduire l'évaporation au minimum;
- afin d'effectuer une mesure directe, la plaque-couvercle de l'échantillon doit être en contact parfait avec la surface du prisme de mesure. Pointer le réfractomètre vers une fenêtre ou une autre source de lumière, comme une lampe . Une ligne nette, à l'endroit où le champ passe du clair au sombre, apparaîtra sur l'échelle de l'appareil. Effectuer la lecture à l'emplacement de cette ligne;
- après chaque utilisation, nettoyer à fond le prisme de mesure avec de l'eau distillée et l'assécher avec un chiffon doux. On obtient des relevés erronés ou imprécis lorsque l'appareil n'est pas assez bien nettoyé avant chaque utilisation.

➤ **Expression des résultats :**

1 degré Brix= 1g de sucre dans 100 g de solution

2.3.2.3. Détermination de L'acidité titrable: (AFNOR, 1986)

L'acidité de la boisson est due principalement à l'acide citrique. L'acidité titrable est la somme des acides minéraux et organiques libres.

➤ **Principe :**

Il consiste à un titrage avec une solution NaOH en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré (Solanke et al., 2017).

➤ **Mode opératoire :**

Le titrage de l'acidité se fait en introduisant 10 ml de la boisson dans un bécher et 40 ml d'eau distillée, 2 à 3 gouttes de l'indicateur coloré la Phénolphtaléine à 1% a été ajouté à la fiole, titrer avec une solution d'hydroxyde de Sodium (NaOH) 0.1N tout en remuant la fiole pour mélanger, Le point d'équivalence est déterminé lors du virage de la couleur de la solution vers un rose clair.

Les étapes répétées à l'aide d'une fiole propre pour les différentes boissons, ne pas oublier d'ajouter l'indicateur, enregistrer le volume de NaOH utilisé avant le titrage ou le remettre au volume initial. (Solanke et al., 2017).

➤ **Expression des résultats :**

L'acidité titrable est exprimée en gramme d'acide citrique pour 10 ml de produit.

$$\text{AT (g/l)} = V \text{ Na OH} \times 0.64$$

V : le volume de NaOH en ml correspond à la chute de la burette.

AT : Acidité titrable.

2.3.2.4. Détermination de la teneur en acide ascorbique

Le dosage de la vitamine C est réalisé par la méthode : **titrimétrique (Iodométrie)**.

➤ **Principe :**

Il est basé sur l'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide. Est obtenu lorsque virage du jaune au bleu violeté.

➤ **Mode opératoire :**

-Mesuré 10 ml d'échantillon.

-Ajouter quelques gouttes de la solution d'amidon.

-Ajouter 50 ml d'eau distillée et 1 à 2 ml d'acide sulfurique

-Titrer avec d'iode.

Le Vitamine C est exprimée en mg pour 100g ou 100ml d'échantillon.

➤ **Expression des résultats :**

La teneur en vitamine C est de:

$$\text{Vitamine C} = C \times V \times M_m \times 100 / P_e \text{ de solution}$$

- **C** : Concentration d'iode : 0.005 mol /L
- **V** : Volume titré d'iode
- **M_m** : Masse molaire de la vitamine C.
- **P_e** : La prise d'essai.

2.3.3. Dosage des composés phénoliques

2.3.3.1. Dosage Polyphénols

➤ **Principe :**

La spectrophotométrie est une technique analytique qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution préalablement étalonnée sur la longueur d'onde de l'espèce chimique à étudier.

Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des polyphénols. L'analyse par le réactif de Folin-Ciocalteu décrite par Singleton et Rossi en 1965 est la plus

utilisée. Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait (Harborne et al., 2009).

➤ Mode opératoire :

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie, suivant le protocole appliqué par (Miaulasses et al., 2004). On prépare une macération avec 1 ml de jus dans 20 ml de solvant organique (méthanol) à 70°, après 24 h le solvant est évaporé à sec.

L'extrait méthanolique (20 µL) est mélangé avec 5 ml de Folin-Ciocalteau dilué 10 fois et 4 ml de Na₂CO₃ à concentration de 75 g.L⁻¹.

La lecture de la densité optique s'effectue à 765 nm après une heure d'incubation contre un blanc sans extrait. La quantification des polyphénols est déterminée en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax$) réalisée par un extrait d'étalon d'acide gallique à différentes concentrations, dans les mêmes conditions opératoires que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique (EAG.g⁻¹) par gramme de plante sèche à l'aide de courbe d'étalonnage (Figure 3). Toutes les mesures sont répétées 2 fois (Singleton et al., 1965).

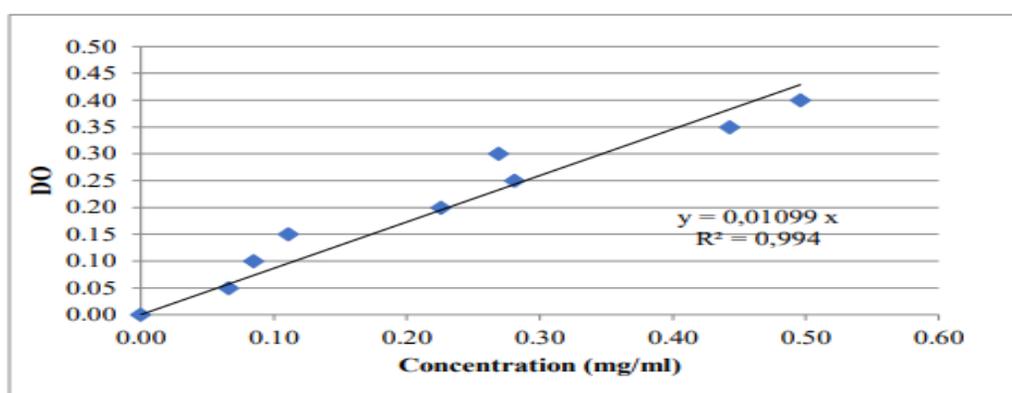


Figure 3: Courbe d'étalonnage des polyphénols

2.3.3.2. Dosage de flavonoïde

➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation de complexes suite à la chélation de métaux (Al⁺³), utilisés sous forme de chlorure d'aluminium (AlCl₃), par les groupements OH (Ribereau Gayon., 1968).

➤ Mode d'opérateur

A 2 ml de jus ou des extraits méthanoliques on ajoute 2 ml de solution de chlorure d'aluminium ($\text{Al Cl}_3, 6 \text{ H}_2\text{O}$) (2%). Puis homogénéiser et laisser au repos pendant 15 min à température ambiante à l'obscurité. Le blanc est préparé dans les mêmes conditions. La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de catéchine par 100 ml de jus, à l'aide une courbe d'étalonnage (Figure 4)

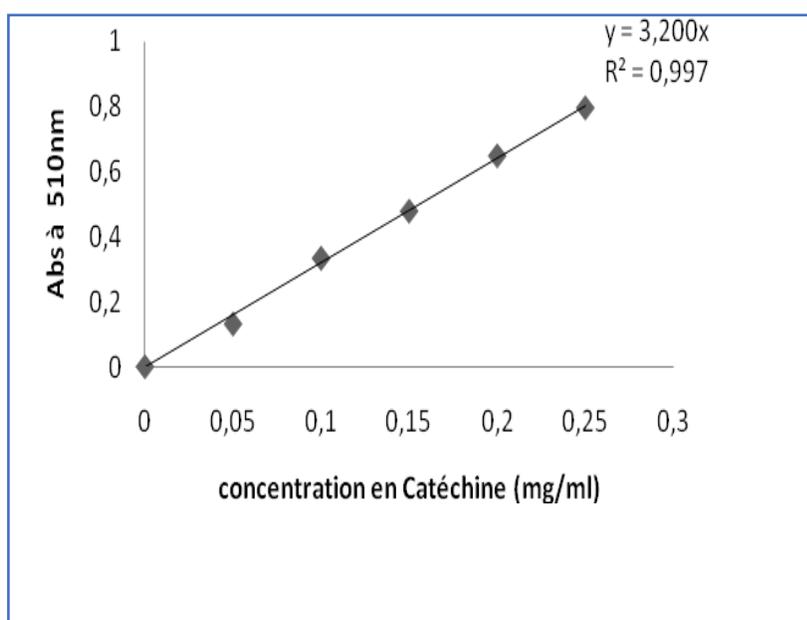


Figure 4: Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes

2.3.4. Les analyses nutritionnelles

2.3.4.1. Dosage des oligoéléments

2.3.4.1.1. Teneur en Potassium (ISO 9964)

➤ Principe :

Le potassium est dosé directement dans le jus dilué par photomètre à flamme.

➤ Mode opératoire :

➤ Dans une série de fioles 50ml on :

-Peser avec précision 0,477 g de K cl ;

- dissoudre dans de l'eau dé ionisée pure et laver dans un flacon de 500 ml ou Fiole jaugée;

-Remplir jusqu'au repère avec de l'eau déionisée pure;

-Pour préparer la solution standard à utiliser avec le photomètre à flamme, cette solution mère doit être diluée au 1/ 50. La dilution au 1/50 donne un standard de 1 mg K / 100 ml = 10 ppm de K;

-Doser l'échantillon directement par le photomètre à flamme.

- **Tableau 2 :** les différentes dilutions de solutions mères de la courbe d'étalonnage de potassium :

Solution mère en ml	1	1.5	2	2.5	5
Correspondance en ppm	10	15	20	25	50

2.3.4.1.2. Teneur en Cuivre (Spectrophotométrie d'absorbance moléculaire)

- **Appareillage :** spectrophotomètre avec Longueur d'onde 543 nm.
- **Etablissement courbe d'étalonnage :**

-Une série de fiole de 50mL 1, 2, 3, 4, 5,6.

-Pour la courbe en ajoute H_2SO_4 + 5ml chlorhydrate d'hydroxylamine .

- **Tableau 3 :** les différentes dilutions de solution mère de courbe d'étalonnage de cuivre.

N° de fiole	Témoin	1	2	3	4	5
Solution étalon fille a 20mg /l (ml)	0	1	2.5	5	7.5	10
Eau distillé (ml)	50	40	47.5	45	42.	40
Concentration en (mg/l)	0	0.4	1	2	3	4

➤ Dosage:

- 50 ml d'eau à analyser +1 ml H₂SO₄ + 5 ml d'acide nitrique puis chauffé jusqu'à émission de vapeurs blanches si la coloration reste ajouter acide nitrique jusqu'à décoloration;
- Refroidir et ajouter environ 80 ml d'eau distillée puis porter à ébullition;
- Refroidir et filtrer dans une fiole de 50 ml puis ajuster le volume;
- Dans une ampoule à décanter mettre 50 ml du filtrat ajouté 5ml de solution chlorhydrate + 10 ml de solution citrate, mélanger.
- Ajuster le pH à 4 avec hydroxyde d'ammonium;
- Ajouter 10 ml réactif à la néocuproïne + 10 ml chloroforme;
- Boucher l'ampoule et agiter pendant 30 sec puis laisser la couches se séparer;
- Soutirer le chloroforme dans une fiole de 25 ml et procéder à une deuxième extraction avec 10ml de chloroforme. Puis ajuster le volume à 25ml, mélanger et faire la lecture.

La teneur en cuivre est exprimer en mg /L, la courbe donne directement la teneur en cuivre (Figure 5)

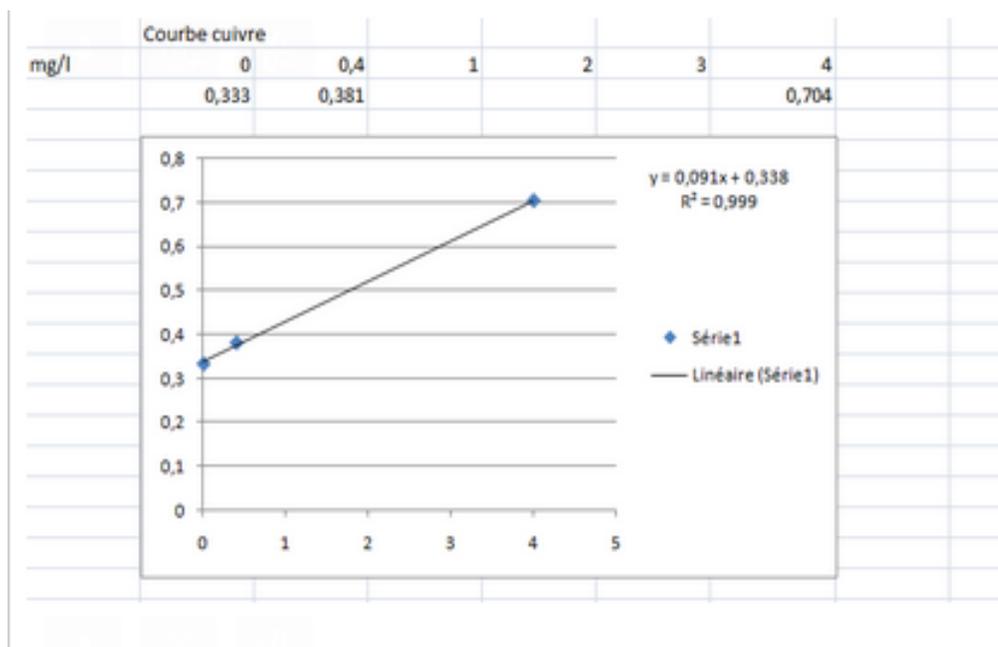


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de cuivre

2.3.5. Les analyses microbiologiques :

Ces analyses ont été réalisées afin d'assurer aux produits proposés la qualité marchande et hygiénique mettant en cause la santé des consommateurs. Elles consistent à chercher et à dénombrer certaines espèces ou certains groupes de bactéries les plus représentatifs. Ces analyses comportent la recherche et le dénombrement des : les levures et moisissures, coliforme fécaux, et salmonella.

- **Préparation des dilutions décimales:**
- **Prépare la solution mère :**

Introduire 10 ml de jus de pamplemousse dans 90 ml de **TSE** (tryptone sel eau) avec pipette gradué

- **Réalisation des dilutions :**

A partir de la solution mère, on prépare une série de dilution allant de 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , puis on répartit de manière aseptique les dilutions décimales à l'aide d'une pipette pasteur;

- On introduit 1 ml de la solution mère dans 9 ml d'TSE dans le première tube (dilution à $1/10$ ou 10^{-1});
- On prélève ensuite 1 ml de la dilution 10^{-1} et on l'introduit dans 9 ml d'TSE du deuxième tube (dilution à $1/100$ ou 10^{-2});
- On prélève encore 1 ml de la dilution 10^{-2} et on l'introduit dans 9 ml d'TSE de troisième tube (dilution à $1/1000$ ou 10^{-3}) (**Guillet *et al*, 2002**).

- **Remarque :**

- Au moment de la réalisation des dilutions décimales, il est impératif de changer les pipettes entre chaque dilution.
- Contrairement à cela, lors de l'ensemencement, il est recommandé de commencer par La haute dilution, dans le but de ne pas changer de pipette.

2.3.5.1 Recherche et dénombrement des levures et moisissures (ISO 21527-2)

- **Principe :**

La recherche des levures et moisissures se faites sur gélose OGA.

➤ **Mode opératoire :**

- A partir des dilutions décimales 10^{-1} à 10^{-3} , porté aseptiquement 4 gouttes dans une boîte de pétri contenant de la gélose OGA ;
- Etaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile.

Les boîtes sont incubées à 25 °C pendant 5 jours

➤ **Lecture :**

La lecture et le dénombrement des levures et moisissures se fait quotidiennement et séparément car les moisissures se développent rapidement et peuvent envahir les colonies des levures.

Les colonies des levures sont brillantes, rondes et bombées, de couleur blanche avec une texture crémeuse, tandis que celles des moisissures sont épaisses, filamenteuses, pigmentées à aspect velouté.

2.3.5.2 Recherche des Salmonelles (NF V 08-052 Mai 1997)

➤ **Principe :**

La recherche des salmonelles se fait par l'utilisation de différents milieux de culture EPT, Rappaport-Vassiliadis et Hektoen.

- **Rappaport-Vassiliadis :**

Le bouillon de Rappaport-Vassiliadis (**RV**) est utilisé pour l'enrichissement sélectif de *Salmonella* dans les denrées alimentaires.

➤ **Mode d'opératoire :**

- **Pré enrichissement en milieu non sélectif liquide**

L'analyse est effectuée en utilisant 25 ml de jus de pamplemousse dans 225 ml de milieu de pré-enrichissement (eau peptonée tamponnée EPT).

L'incubation est de 24 heures à 37°C

- **Enrichissement en milieu sélectif liquide :**

On ensemence 1 ml de la culture obtenu dans 2 tubes à essai stériles contenant chacun 9 ml de bouillon d'enrichissement sélectif contenant des agents inhibiteurs actifs sur les germes qui font concurrence aux *Salmonella sp* :

- Sélénite-cystine, puis incubé pendant 24 heures à 37 °C;
- Rappaport-Vassiliadis, puis incubé pendant 24 heures à 43 °C.

- **Isolement :**

L'isolement se fait sur milieux sélectifs gélose Hektoen par ensemencement en stries à partir de tubes, les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37 °C.

- **Lecture :**

Le changement de couleur initiale de bouillon fraîchement préparé indique une réaction positive. Après incubations, sur milieu Hektoen, les colonies caractéristiques de *salmonella* sont lisses et de couleur verte à centre noir.

2.3.5.3 Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (NA 2691 1992 E)

- **Principe:**

La recherche et dénombrement des coliformes se fait en milieu liquide par la technique de **NPP** (le nombre le plus probable)

- **Coliformes :** Il s'agit de Bacilles Gram Négatif (BGN), aérobies ou anaérobies facultatifs, non sporulés, ne possédant pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37 °C, selon l'ISO.
- **Coliformes Thermo-tolérants:** Il s'agit là de coliformes possédant les mêmes caractéristiques que les coliformes mais à 44 °C ; ils remplacent dans la majorité des cas l'appellation de (coliformes fécaux)
- **Escherichia coli:** Il s'agit là de coliformes thermo-tolérants qui produisent, en outre, de L'indole à partir du tryptophane à 44 °C.

- **Principe :**

Il s'agit d'une culture en profondeur d'un milieu gélosé VRBL.

- **Mode d'opérateur :**

- A partir de la solution mère ainsi que de ses dilutions décimales (10^{-1} 10^{-2} 10^{-3}) on procède à un ensemencement en profondeur;
- En portant aseptiquement 1ml dans les boîtes de Pétri stériles, auxquelles on ajoute 15 ml **VRBL** fondue puis refroidie à 45°C;
- Procéder à des mouvements circulatoires pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.
- Laisser solidifier sur paille.

Incuber les boîtes, couvercle en bas à 44°C pendant 24 à 48 h

➤ **Dénombrement et lecture :**

Il s'agit de compter toutes les colonies rouge violettes d'un diamètre d'au moins 0.5 mm ayant poussé sur les boîtes.

➤ **Expression des résultats:**

Calculer le nombre N de microorganismes dénombrés à 44°C selon la formule suivante : selon la norme (NA 2691 1992E).

$$N = \Sigma C / 1,1 \times d$$

Soit :

ΣC : est la Somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.

d : correspond à la première dilution

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats des analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques du jus de pamplemousse (*citrus maxima*) sont consignées dans (Tableau 4) suivant:

- **Tableau 4 : Les résultats des analyses physicochimique du jus de pamplemousse (*citrus maxima*)**

Paramètre	Résultats
Ph	3,05
Acidité titrable (g/L)	2,56
Degré Brix(%)	10
Vitamine C (mg/100ml)	16 ,72

D'après notre résultat le pH du jus de pamplemousse est de 3.05, l'acidité titrable est 2.56, l'indice de brix est 10, la vitamine C est 16,72.

3.1.1. Le pH

Le pH du jus de pamplemousse obtenu est de 3.05 ce résultat concordait avec celui indiqué par l'étude de (**Roussos et al., 2011**) qui ont travaillé sur le jus de citron dont la valeur varie entre 2.08 à 3.5, par ailleurs les études réalisées par (**Boudries et al ., 2012**) sur le jus de mandarine et clémentine , montrent des ph qui oscillent entre 3.68 à 3.91 qui est supérieur à celui trouvé dans notre étude.

Cette différence dans les résultats de pH peut être due aux facteurs tels que la variété, la position de fruit sur l'arbre le degré de maturité, la variation saisonnière et annuelle de l'ensoleillement, ainsi que l'humidité (**Nagy, 1980**).

3.1.2. L'acidité

L'acidité est l'une des caractéristiques majeures des agrumes. Elle est due à la présence de plusieurs acides organiques tels que les acides citrique, malique, quinique, tartrique et malonique (**Ladanyia, 2008**).

L'acidité de jus de pamplemousse est 2.56 g/l, ce résultat concorde avec l'étude de (**Lounaci et Ziad , 2018**) sur le jus de fruit à base de nectar.

Les valeurs de l'acidité dépendent largement de l'origine, du climat, de la variété et du degré de maturité (**Fellers, 1985**). Les teneurs en acides organiques

chutent généralement à l'approche de la maturité des fruits, d'où l'acidité joue un rôle très important dans la détermination de la maturité du fruit.

3.1.3. Le degré Brix°

L'extrait sec soluble de jus permet d'évaluer rapidement leurs concentrations en sucres solubles. Il mesure, en effet, la fraction de matière sèche soluble et plus précisément les sucres solubles (**Ladanyia, 2008**).

Le degré de brix est de 10 % cette valeur est comparable avec à celle trouvé par (**Mahfoud et Ihadadene, 2017**) qui sont dans l'ordre de 10 à 11,5 %, mais elles sont inférieures à celles trouvés par (**Bouchal et Djebbar , 2013**).

3.1.4. La vitamine C

La vitamine C est un nutriment extrêmement important pour l'organisme où elle assure différentes fonctions (**Aprifel, 2010**).

Elle contribue au maintien de la fonction immunitaire, participe à la formation des globules rouges et augmente l'absorption du fer contenu dans les végétaux. Elle a un effet antioxydant qui protège les cellules contre les dommages infligés par les radicaux (**Ruby et al., 2007**).

Le jus de pamplemousse contient de la vitamine C. Ce jus a été préparé à partir de fruits pelés et mixés; on peut donc facilement considérer que la valeur de vitamine C trouvée dans le jus correspond à la valeur de vitamine C présente dans la pulpe. Ainsi, le jus de *Citrus maxima* contient entre 135,26 et 139,06 g de vitamine C par ml. Paul D. K. et Shaha R. K étudièrent aussi le pamplemousse et le pomelo en 2004 (**Paul et Shaha ,2004**). En analysant la composition en nutriments, vitamines et minéraux des parties fraîches et comestibles des fruits. Il en ressort que *Citrus maxima* n'en contient que 130 à 270 mg par kg de fruit. (**Blaisot, 2016**).

La teneur en vitamine C obtenue est de 16.72 mg/100 ml; cette valeur est inférieure à celle trouvée par (**Aitour, 2007**) qui est de 70.4 mg/ml. Cela est probablement dû à :

- Les conditions climatiques et stade de maturité du fruit lors de la récolte.
- Les conditions de stockage du jus de fruit (congélation)

3.2. Résultats des analyses nutritionnelles et dosage composés phénoliques

Les analyses nutritionnelles et dosages composés phénoliques sont résumés dans

(Tableau 5) suivant :

Tableau 5: les résultats des analyses nutritionnelles et dosage composés phénoliques.

Paramètre	Unité	Résultats	Référence
Potassium	mg/100ml	1.66	Photomètre à flamme
Cuivre	mg/100ml	0.141	Spectrophotométrie
Flavonoïde	mg/100ml	58.18	Spectrophotométrie
Polyphénols	mg d'acide gallique/100ml	95	Spectrophotométrie

3.2.1. Les composés phénoliques

3.2.1.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des composés ubiquistes, ils attirent l'attention depuis quelques années à cause de leurs propriétés antioxydantes, en effet, ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices (**Richard et al., 2001**).

Selon l'étude de (**Tsai et al., 2007**), la teneur en polyphénols du jus de pamplemousse (*Citrus maxima*) est de 50.62mg EAG / 100ml qui est inférieur à celle trouvée chez (*Citrus maxima*) de notre étude qui est de 95 mg EAG /100ml.

L'étude de (**Kim et Shin, 2013**) sur le jus de pamplemousse montre que les résultats de dosage des polyphénols est de 72.02 mg EAG /100ml qui est aussi inférieurs à nos résultats.

Les différences observées entre les résultats des différents travaux et ceux obtenus dans la présente étude peuvent être liées selon (**Balasundram et al, 2005**) et (**Li et al, 2006**) à la méthode d'extraction, le degré de maturation des fruits et les conditions de l'environnement, en plus de réactif adopté pour le dosage ou également au standard.

3.2.1.2. Les flavonoïdes

La teneur en flavonoïde est de 58.18 mg/100ml, ce résultat concorde avec ceux de (**Tsai et al., 2007**) ou la teneur est de 58.12mg/100ml.

Selon l'étude de (**Ghasemi et al., 2009**) et (**Ramful et al., 2010**) sur le jus de citron la teneur en flavonoïde est 246,25mg/ml qui est largement supérieur à celle trouvée dans notre étude.

La différence observée est due à l'influence de certains facteurs extrinsèques tels que la méthode d'extraction, la nature du solvant utilisé et aussi la variété de fruits.

3.2.2. Les oligoéléments

L'apport de jus de pamplemousse en minéraux est faible comme le confirment les résultats d'analyse de la teneur en potassium de 1.66 mg/100ml ; et cuivre de 0.141mg/100ml est respectivement.

3.3. Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques obtenues sont résumés dans (Tableau 6) suivant:

- **Tableau 6 : les résultats des analyses microbiologiques**

Paramètre	Résultats			Normes, JORA N°35 (1998)
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
Escherichia-coli	Absents	Absents	Absents	Abs
Salmonella	Absents	Absents	Absents	Abs
Les levures	Indénombrable	Indénombrable	100 colonies	<20
Les Moisissures	Absents	Absents	Absents	<10

- Pour les analyses microbiologiques, nous avons remarqué une absence des coliformes fécaux (Escherichia coli) dans toutes les dilutions du jus de pamplemousse, ce résultat est conforme à la norme **JORA 1998**, ce résultat est dû au respect des règles d'hygiène et ceci durant tout le long de la manipulation ainsi que celui du matériel utilisé.
- Nous avons remarqué également l'absence de salmonelles qui peut être expliquée par une bonne pratique d'hygiène lors de la préparation et la manipulation, et aussi aux bonnes conditions de conservation, par l'ajout de conservateur chimique (acide citrique).

On remarque l'absence des moisissures dans le jus de pamplemousse. D'après nos résultats nous avons remarqués que le nombre des levures est trop élevé 100×10³ UFC/ml.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressées à l'étude des valeurs nutritives (potassium, cuivre) ainsi que l'acide ascorbique, composés phénoliques (polyphénol) et flavonoïdes. Contenus dans le jus de pamplemousse variété (citrus maxima), ainsi que les analyses physico-chimique et microbiologique.

La qualité des jus ainsi que leur valeur nutritionnelle sont en rapport directe avec les caractéristiques de la matière première, sa composition chimique, ainsi que la manière de préparation et la durée de stockage .

Les analyses physicochimiques ont permis de mesurer le degré Brix°, le pH, l'acidité titrable, la vitamine C, les composés phénoliques et l'activité antioxydant :

La mesure de pH a révélé que les boissons sont acides, ce qui leur confère une bonne protection contre les microorganismes, et une teneur en acidité titrable importante qui met en évidence sa richesse en acides organiques.

La mesure de l'activité antioxydant, le dosage des polyphénols et la vitamine C nous a montré que le jus est riche en composés phénoliques et en agents antioxydants « exemple de la vitamine C » d'où leur activité antioxydante élevée, qui présentent des bienfaits sur la santé.

L'ensemble des analyses physico-chimiques et microbiologiques effectuées montrent la conformité de nos produits aux différentes normes notamment celle de JORA (1998) pour la microbiologie.

Nous pouvons conclure que le jus de pamplemousse peut effectivement avoir un avenir en industrie agroalimentaire Algérienne et peut être utilisé en diététique; aussi il peut- être facilement transformé en boisson en utilisant des procédés peu exigeants et une technologie peu coûteuse.

Perspectives

Le jus de pamplemousse présente aussi, à côté de ces valeurs nutritionnelles et thérapeutiques, des intérêts économiques, d'où la nécessité de lui accorder plus d'intérêt en suivant quelques perspectives et recommandations :

- ❖ une étude plus approfondie avec un échantillonnage plus élevé est envisagée.
- ❖ un suivi minutieux des paramètres microbiologiques et physicochimiques au cours du stockage sont recommandés
- ❖ Une évaluation de son activité anti-oxydante est souhaitable pour son intérêt à piéger les radicaux libres qui sont à l'origine de nos jours de nombreux cancers.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Référence Bibliographiques

Bachès, B., & Bachès, M. (2002). Agrumes: comment les choisir et les cultiver facilement. Ulmer.

Bae, J. M., Lee, E. J., & Guyatt, G. (2009). Citrus fruit intake and pancreatic cancer risk: a quantitative systematic review. *Pancreas*, 38(2), 168-174.

Balasundram, N., Tan, Y. A., Sambanthamurthi, R., Sundram, K., & Samman, S. (2005). Antioxidant properties of palm fruit extracts. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 14(4), 319.

Beldjenna, W. (2019). Contrôle du processus de fabrication, et l'influence du stockage et de l'emballage PET sur la qualité physico-chimique et microbiologique d'une boisson gazeuse fabriquée en Algérie (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Benavente-Garcia, O., & Castillo, J. (2008). Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(15), 6185-6205.

Benedicte ; Michel B. (2011). Agrumes (comment les choisir et les cultiver facilement), édition Eugen Ulmer, Paris; 6-11, 68-70.

Blaisot Cécile (2016), Le marché des extraits de pépins de pamplemousse. Comparatif des produits existants et conseil à l'officine., Thèse de Doctorat en pharmacie, Université de Rouen, 176pp.

Botineau, M. (2010). Systematic and applied botany of flowering plants. Systematic and applied botany of flowering plants.

BOUCHAL, Y ., et DJEBAR L. (2013). Essais de fabrication d'une boisson de type nectar à base de trois variétés locales de melon (*Cucumis melo L*) Caractérisations physicochimiques, microbiologiques et sensorielle. Ingénieur d'Etat en Agronomie. Université Mouloud MAMMERI, Tizi Ouzou.

Bruneton, E. (2016). A qualitative and quantitative evaluation of 8 clear sky models. *IEEE transactions on visualization and computer graphics*, 23(12), 2641-2655.

Cao, Z., Qin, T., Liu, T. Y., Tsai, M. F., & Li, H. (2007, June). Learning to rank: from pairwise approach to listwise approach. In Proceedings of the 24th international conference on Machine learning (pp. 129-136).

Chaidedgumjorn, A., Sotanaphun, U., Kitcharoen, N., Asavapichayont, P., Satiraphan, M., & Sriamornsak, P. (2009). Pectins from *Citrus maxima*. *Pharmaceutical Biology*, 47(6), 521-526.

Chainani-Wu, N. (2002). Diet and oral, pharyngeal, and esophageal cancer. *Nutrition and cancer*, 44(2), 104-126.

Cheftel, H., & Roebben, G. (1948). Méthodes actuelles de l'industrie des conserves de tomates (tomates entières, purées de tomates, jus de tomates) aux États-Unis: rapport de mission de MM. Henri Cheftel et Gustave Roebben... 1945.. Gauthier-Villars.

Choe, S. C., Kim, H. S., Jeong, T. S., Bok, S. H., & Park, Y. B. (2001). Naringin has an antiatherogenic effect with the inhibition of intercellular adhesion molecule-1 in hypercholesterolemic rabbits. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 38(6), 947-955.

Dupont, F.& Guignard,J.-L.(2015). Abrégés de pharmacie: Botanique, Les familles de plantes – 16^{ème} Ed . Elseveir Masson –p.243-246.

Feliciano, R. P., Antunes, C., Ramos, A., Serra, A. T., Figueira, M. E., Duarte, C. M., ... & Bronze, M. R. (2010). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1–Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *Journal of functional foods*, 2(1), 35-45.

Fujioka, K., Greenway, F., Sheard, J., & Ying, Y. (2006). The effects of grapefruit on weight and insulin resistance: relationship to the metabolic syndrome. *Journal of medicinal food*, 9(1), 49-54.

Ghasemi, K., Ghasemi, Y., & Ebrahimzadeh, M. A. (2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak J Pharm Sci*, 22(3), 277-281.

Gorinstein, S., Caspi, A., Libman, I., Katrich, E., Lerner, H. T., & Trakhtenberg, S. (2004). Preventive effects of diets supplemented with sweetie fruits in hypercholesterolemic patients suffering from coronary artery disease. *Preventive medicine*, 38(6), 841-847.

Gorinstein, S., Cvikrová, M., Machackova, I., Haruenkit, R., Park, Y. S., Jung, S. T., ... & Trakhtenberg, S. (2004). Characterization of antioxidant compounds in Jaffa sweeties and white grapefruits. *Food chemistry*, 84(4), 503-510.

Harborne, N., Marete, E., Jacquieier, J. C., & O'Riordan, D. (2009). Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). *LWT-Food Science and Technology*, 42(9), 1468-1473.

Jacquemond, C., Agostini, D., & Cur, K. (2009). Des agrumes pour l'Algérie. Bureau d'ingénierie en horticulture et agro-industrie, 4.

Jung, U. J., Lee, M. K., Jeong, K. S., & Choi, M. S. (2004). The hypoglycemic effects of hesperidin and naringin are partly mediated by hepatic glucose-regulating enzymes in C57BL/KsJ-db/db mice. *The Journal of nutrition*, 134(10), 2499-2503.

Ladaniya, M. S. (2008). Commercial fresh citrus cultivars and producing countries. *Citrus Fruit: Biology, Technology and Evaluation*. Academic Press, San Diego, 13-65.

Laiche, A. T., & Siboukeur, O. (2019). Contribution to the valorization of whey by studying the influence of storage conditions on bovine whey microflora. *Studia universitatis" Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 29(1), 13-20.

Le Marchand, L., Murphy, S. P., Hankin, J. H., Wilkens, L. R., & Kolonel, L. N. (2000). Intake of flavonoids and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(2), 154-160.

Lee, H. S., Shim, T. S., Hwang, H., Yang, S. M., & Kim, S. H. (2013). Colloidal photonic crystals toward structural color palettes for security materials. *Chemistry of Materials*, 25(13), 2684-2690.

Li, W. Q., Kuriyama, S., Li, Q., Nagai, M., Hozawa, A., Nishino, Y., & Tsuji, I. (2010). Citrus consumption and cancer incidence: the Ohsaki cohort study. *International journal of cancer*, 127(8), 1913-1922.

Lounaci, H., & Ziad, S. (2018). Essai de formulation d'un nectar à base des fruits et légumes et étude de l'influence de la température au cours du stockage (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Miceli-Richard, C., Lesage, S., Rybojad, M., Prieur, A. M., Manouvrier-Hanu, S., Häfner, R., ... & Hugot, J. P. (2001). CARD15 mutations in Blau syndrome. *Nature genetics*, 29(1), 19-20.

Miliauskas, G., Venskutonis, P. R., & Van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food chemistry*, 85(2), 231-237.

Miller, E. G., Porter, J. L., Binnie, W. H., Guo, I. Y., & Hasegawa, S. (2004). Further studies on the anticancer activity of citrus limonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4908-4912.

Nagy, S. (1980). Vitamin C contents of citrus fruit and their products: a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 28(1), 8-18.

Paul D.K. & Shaha, R. K. (2004). Nutrients, Vitamins and Minerals Content in Common Citrus Fruits in the Northern Region of Bangladesh – Pakistan Journal of Biologica Sciences – Volume 7- Numéro 2- p.238- 242.

Plumey, S., Simonin, P., & Huguelet, R. (2009). Assainissement et renforcement du pont sur le Doubs à Ocourt. *Geomatik Schweiz*, (8), 398.

Potyrailo, R. A., Nagraj, N., Surman, C., Boudries, H., Lai, H., Slocik, J. M., ... & Naik, R. R. (2012). Wireless sensors and sensor networks for homeland security applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 40, 133-145.

Qin, W., Hu, L., Zhang, X., Jiang, S., Li, J., Zhang, Z., & Wang, X. (2019). The diverse function of PD-1/PD-L pathway beyond cancer. *Frontiers in immunology*, 10, 2298.

Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., & Aruoma, O. I. (2010). Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flaveddo extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278(1), 75-87.

Rao, P. V., Krishnan, K. T., Salleh, N., & Gan, S. H. (2016). Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: a comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26, 657-664.

Ribereau-Gayon, P. (1968). Notion générale sur les composés phénoliques. In : Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod :1-40.

Rook, F., Hadingham, S. A., Li, Y., & Bevan, M. W. (2006). Sugar and ABA response pathways and the control of gene expression. *Plant, cell & environment*, 29(3), 426-434.

Roussos, E. T., Condeelis, J. S., & Patsialou, A. (2011). Chemotaxis in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 11(8), 573-587.

Ruby, J. G., Stark, A., Johnston, W. K., Kellis, M., Bartel, D. P., & Lai, E. C. (2007). Evolution, biogenesis, expression, and target predictions of a substantially expanded set of *Drosophila* microRNAs. *Genome research*, 17(12), 1850-1864.

Sebag, M., Rolet, P., & Gaudel, R. (2012). Monte-carlo tree search

Sidana, J., Saini, V., Dahiya, S., Nain, P., & Bala, S. (2013). A review on citrus-“the boon of nature”. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 18(2), 20-27.

Singleton, V. L., Joseph A, & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

solanke, n.d; sontakke, sh. and verma, s. (2017). Study on Effect of Carbonation on the Properties of Fruit Juices. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, ISSN: 2319-7706 Volume 6 Number 4, pages 2426-2432.

Tonelli ,N, Gallouin F. - 2013 -Des fruits et des graines comestibles du monde entier - Ed. Lavoisier.

Wang, Y.-C., Chuang Y., C., Hsu, H.-W. (2008). The flavonoids, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan –Food chemistry- Volume 106- p.227-284.

Xu, W. T., Huang, K. L., Qu, W., Lin, X. J., Deng, A. K., Yang, J. J., & Luo, Y. B. (2006). Inhibitory activity of grapefruit seed extract against fungi and its application in preservations of grape and per-simmon. Food Science, 29(10), 41-46.

Yu, J., Wang, L., Walzem, R. L., Miller, E. G., Pike, L. M., & Patil, B. S. (2005). Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids, and coumarins. Journal of agricultural and food chemistry, 53(6), 2009-2014.

Hamidi, F., et Liamam F.(2018). Etude pétrochimique et pouvoir antioxydants de l'écorce d'orange et citron .Mém de master. Département des Sciences Alimentaires, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre, Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem ; p5.

Mabberley, D., J. (1997). A Classification for edible Citrus (Rutaceae) –Telopea- Volume 7 – Numéro 2- p.167-172.

Raynal-Roques .A. (1994). La botanique redécouvert-Ed .Belin- p.62-63.

Li-Jun-Li., 1,2,3.-Wan- Seng Tan 1; Wen- Jing Li 1; Yan-Bing Zhu ,1,2,3.Yicheng 4,4 and (2019). Citrus Taste Modification Potentials by (Revue) // International Journal of 2019 –p.16.

Aitour A, Messaoudi F, Mimoun A. (2007). Le control de la qualité d'une eau fruitée à l'orange (Boisson Tchina). Université de Jijel.

Bernatoniené J, Keraitè R., Masteiková R., Pavilonis A., Savickas A. (2013). A combination of grapefruit seed extract and concentrated cranberry juice as a potential antimicrobial preservative for the improvement of microbiological stability of hypromellose gel - Ceska a Slovenska Farmacie - Volume 62 - Numéro 5 - p. 212-219.

Xi W., Fang B., Zhao Q., Jiao B., Zhou Z. (2014). Flavonoid composition and antioxidant activities of Chinese local pummelo (Citrus grandis Osbeck.) varieties - Food Chemistry – Volume 161 - p. 230-238.

Boudries H., Madani M., Touati N., Souagui S., Me douni S., chibane M. 2012. Pulp antioxidant activities, mineral contents and juice nutritional properties of Algerian Clementine Cultivars and Mandarin Six cultivars of Clementine fruits including. Journal of biotechnology, 11 (18) : 4258-4267

Kim S.Y ., Shin K .S. (2013). Evaluation of physiological activities of the citron (citrus junos sieb ex TANAKA) seed Extracts.

Richard T., Vergé S., Vercautren J., Monti J.P.(2001). Étude de l'interaction tanin-protéine par RMN et modélisation moléculaire . Deuxième journée scientifique de l'UFR des sciences pharmaceutiques. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 140 : 127-166

Sugiyama, H., Lewis, D. N., White, J. L., & Fellers, J. F. (1985). Structural characteristics, rheological properties, extrusion, and melt spinning of 60/40 poly (hydroxybenzoic acid-coethylene terephthalate) (PHB/PET). Journal of applied polymer science, 30(6), 2329-2341.

Feliciano, R. P., Antunes, C., Ramos, A., Serra, A. T., Figueira, M. E., Duarte, C. M., & Bronze, M. R. (2010). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1–Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. Journal of functional foods, 2(1), 35-45.

Ihadadene,L, & Mahfoud, T. (2017) . Essais de fabrication d'un nectar de melon (Cucumis melo L) et étude de la stabilité (Doctoral dissertation . Université Mouloud Mammeri).

LES ANNEXES

Annexe 1 : Les réactifs utilisés



Acide nitrique



Acide sulfurique



Hydroxyde de sodium



Phénol phétaline



Folin-Ciocalteu

Chlorure de potassium (KCl)

Solution d'amidon

**Solution
d'iode**

Carbonate de sodium (Na₂CO₃)

Acide gallique

Catéchine

**Solution de chlorure
d'aluminium (AlCl₃)**

Méthanol

Solution d'iode



Hektoen



VRBL



OGA



Sélénite cystéine



EPT



TSE



Rappaports vasiladis

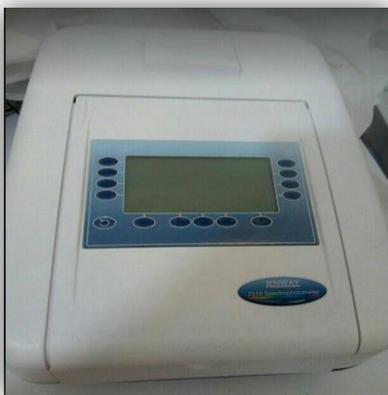
Annexe 3 : Les appareils utilisés



Photomètre à flamme



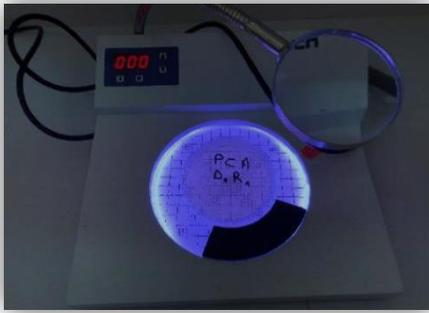
Balance analytique



Spectrophotomètre



Autoclave



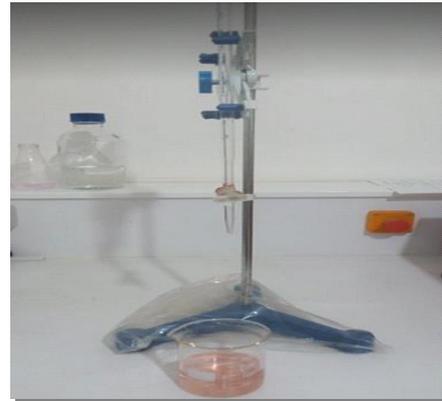
Compteur de colonies



pH-mètre



Réfractomètre (Brix 0-99%) à T°=20°C



Burette + Support (Titration)

Annexe 4 : la composition des milieux de culture

Héktoen

- **protéose-peptone** 12,0 g
- **extrait de levure** : facteur de croissance 3,0 g
- **lactose** : critère de différenciation 12,0 g
- **saccharose** : critère de différenciation 12,0 g
- **salicine** : critère de différenciation 2,0 g
- **citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H₂S** 1,5 g
- **sels biliaires** : inhibiteur 9,0 g
- **fuchsine acide** : inhibiteur 0,1 g
- **bleu de bromothymol** : indicateur de pH 0,065 g
- **chlorure de sodium** : maintien de la pression osmotique 5,0 g
- **thiosulfate de sodium** : précurseur d'H₂S 5,0 g
- **agar** 14,0 g

VRBL :

- peptone 7 g
- extrait de levure 3 g
- lactose 10 g
- chlorure de sodium 5 g
- mélange sel biliaire 1,5 g
- cristal violet 0,002 g
- rouge neutre 0,03 g
- agar-agar 15 g
- eau distillée 1 000 ml

OGA :

- Extrait autolytique de levure 5 g
- Glucose 20 g
- Agar bactériologique 15 g
- Eau q.s.p. 1000 ml
- Autoclavage à 120 °C pendant 20 mn.

EPT :

Exempte d'indole 10,0 grammes
Chlorure de sodium 5,0 grammes
pH = 7,2

Sélénite-cystine :

- Tryptone 5 g
- Lactose 4 g
- Sélénite 4 g
- Hydrogénosélénite de sodium 4,0 g
- Eau distillée (quantité suffisante pour 1 L)

TSE

- tryptone 10 g/l
- Extrait de levure 5 g/l
- NaCl 5 g/l
- ajusté à pH 7,0

Rappaport vassiliadis

- BactoTryptone. 4,54 g.
- Chlorure de sodium. 7,2.
- Dihydrophosphate de potassium. 1,45.
- Chlorure de magnésium anhydre. 13,4.
- Oxalate de verte malachite. 0,036.
- pH 5,1 \pm 0,2. *Ajustée et/ou complétementée en fonction des critères de performances imnosés.

Annexe 5 : La préparation des solutions

1- solutions d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1N :

Soude (4g)

Eau distillée (1000ml)

2- solutions de phénolphtaléine à 1% :

Phénolphthaléine (1g)

Eau distillée (100ml)

3- solutions d'amidon à 0,5 % (P/V) :

Amidon (0,5g)

Eau distillée (100ml)

4- Solution de chlorure d'aluminium (AlCl₃ 6H₂O) à 2 % :

Chlorure d'aluminium (2g)

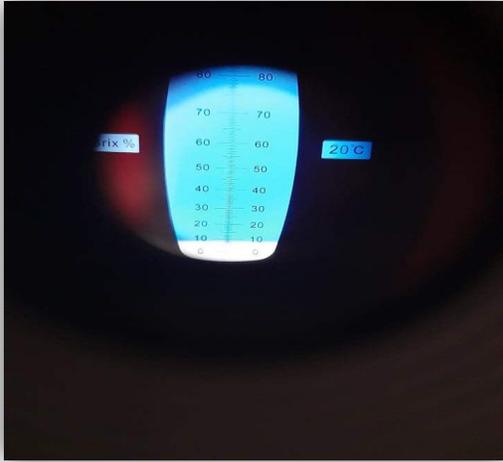
Eau distillée (100ml)

5-Solution d'iode de 0,005mol/l :

L'iode(I₂) (0,1275 g) +iodure de potassium (KI)

Eau distillée (100 ml)

Annexe 6 : les résultats des analyses physicochimiques



Indice de Brix



L'acidité titrable

Annexe7 : les résultats des analyses microbiologiques



Recherche des levures et moisissures



Recherche d'Escherichia-coli