

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche Scientifique

*Université 08 Mai 1945 –Guelma-
Faculté des sciences et de l'ingénierie
Département de Chimie*

Laboratoire de Chimie Appliquée(LCA)

Mémoire de Magistère en

Filière : Chimie

Option : Chimie appliquée

Intitulé : Chimie des Hétérocycles et des Substances naturelles

*Recherche de métabolites
secondaires à intérêt
biologique dans les jus
commerciaux à base
naturelle*

*Présenté par : **Melle Nadia Taileb***

Jury de Soutenance :

<i>Mme H. Amira-Guebailia</i>	<i>MC. à l'université 08 mai 1945-Guelma</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>ABDAOUI Mohamed</i>	<i>Pr. à l'université 08 mai 1945-Guelma</i>	<i>Président</i>
<i>TEGUICHE Mabrouk</i>	<i>Pr. à l'université 08 mai 1945-Guelma</i>	<i>Examineur</i>
<i>MERDES Rachid</i>	<i>Pr. à l'université 08 mai 1945-Guelma</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire 2009-2010

Abréviations utilisées

(ACN) : Acétonitrile.

(CCM) : La Chromatographie sur Couche Mince.

(CHCl₃) : chloroforme.

(DMSO) : diméthylformamide.

(HCOOH) : acide acétique.

(HPLC) : Chromatographie liquide à haute performance.

(IR) : infrarouge.

(MeOH) : méthanol.

(NHDC) : néohespéridine dihydrochalcone.

(TFA) : acide Trifluoro Acétique

(THF) : tétra hydro furane.

(TLC): thin layer chromatography.

(RMN) : La Résonance Magnétique Nucléaire.

(UV) : Spectrophotométrie ultraviolet.

(VIH) : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

المخلص

في هذه الدراسة ، تم عزل مجموعة من البوليفينولات تنتمي إلى فئة الفلافونويدات ، تم تنقيتها وتوضيح بنيتها باستخدام الأشعة تحت الحمراء (RI) ومطيافية الرنين المغناطيسي النووي (MRN) ، وطريقة تنقية استخدمت فيها طريقة الكروماتوغرافية فوق طبقات السليسيوم الرقيقة المحضرة (CCM). وعلاوة على ذلك ، تم قياس كمية هذه المركبات مع السكر ، وحامض الستريك وفيتامين (ج) في ستة عشرة عينة من العصائر التجارية المتوفرة في الأسواق باستخدام الأسلوب التحليلي CLPH.

وتمت مقارنة نتائج القياس الكمي في العصائر الطبيعية من جهة و مقارنتها بعصائر بلدان أخرى. و من بين العصائر التي تم دراستها (ازدهار فواكه مشكلة, روية برتقال, فيطا جي نيكطار برتقال, ازدهار فواكه اسبوائية, فيطا جي برتقال احمر ة و رمان, رامي برتقال, رامي توت, رامي يوسفى, لبال مشمش و برتقال, SEY برتقال, تشينادور برتقال, فرويدور برتقال, منقو برتقال, روية برتقال و جزر, روية ليمون.)

أظهرت النتائج تركيز الفلافونويدات في العصائر الجزائرية مثل الهيسبردين ، الغيتين ، الكيرسيتين والديوسمين ، والأحماض الفينولية في مثل حمض الغاليك وحمض الكفييك ، وحامض السينييك ، وحامض الباراكوماريك وحمض الفيريليك في عصائر البرتقال على وجه الخصوص. بينت دراستنا أيضا ارتفاع مستوى حمض الليمون من بعض عينات العصير.

الكلمات الدالة :

. عصير الفواكه الصناعي, بوليفينولات, التنقية. RMN, HPLC, RI , البرتقال, *Citrus Sinensis* , كروماتوغرافية,

CCM prep

SAMMURY

In this study, polyphenolic compounds belonging to the flavonoids subclass were isolated, purified and their structure was elucidated using IR and NMR spectroscopy, The method of purification used was mainly preparative thin layer chromatography (prep TLC). Furthermore, these compounds along with sugar, citric acid and vitamin C were quantified in twenty samples of commercial juices available in markets using an analytic HPLC method.

The results of quantification were compared, on one hand to natural juices and on the other hand to juices of other countries based on the literature. Juice varieties subjected to our analyses were (Vita jus nectar orange ; Rouïba orange ; izdihar mix fruit ; Vita jus orange sanguine et grenade ; izdihar tropical fruit ; rami orange ; rami mûre ; rami mandarine ; la Belle orange ; la Belle pêche et orange ; Yes orange ; Tchinator orange ; Fruitdor orange ; Mon gout orange; Rouïba orange et carotte ; Rouïba citronnade).

Results show that Algerian juices are concentrated in flavonoids such as Hesperidin, Rutin, Quercetin and diosmin, and in phenolic acids such as Gallic acid, Caffeic acid, sinapic acid, P-coumaric acid and ferulic acid especially orange juices. Also our study shows the high level of citric acid of some juice samples.

Key words : commercial fruit juice, Polyphenols, HPLC, IR, NMR, Chromatography, Orange, *Citrus Sinensis*, prep TLC, Purification.

RÉSUMÉ

Dans cette étude, des composés polyphénoliques appartenant à la sous-classe de flavonoïdes ont été isolés, épuré et leur structure a été élucidée par l'IR et la spectroscopie RMN, la méthode de purification utilisée était principalement la chromatographie en couche mince préparatoire (CCM). En outre, ces composés comme le sucre, l'acide citrique et la vitamine C ont été mesurés dans seize échantillons de jus commerciaux disponibles sur les marchés suivre une méthode analytique de HPLC.

Les résultats de la quantification ont été comparés, d'une part aux jus normaux et d'une part aux jus d'autres pays basés sur la littérature. Les variétés de jus soumises à nos analyses étaient (orange de nectar de jus de Vita ; Orange de Rouïba ; fruit izdihar de mélange ; Sanguin orange et grenade de jus de Vita ; fruit tropical izdihar ; orange de rami ; mûre de rami ; mandarine de rami ; orange de belle de La ; pêche et orange de belle de La ; Oui orange ; Orange de Tchinador ; Orange de Fruitdor ; Orange de goutte de lundi ; Orange et carotte de Rouïba ; Citronnade de Rouïba).

Les résultats prouvent que des jus algériens sont concentrés en flavonoïdes telles que l'Hespéridine, la Rutine, la Quercétine et le Diosmine, et des acides phénoliques tels que l'Acide gallique, l'Acide caféique, l'Acide sinapique, l'Acide p-coumarique et l'Acide férulique dans le jus d'orange particulièrement.

Également notre étude montre l'à niveau élevé de l'acide citrique de quelques échantillons de jus.

Mots clés: jus de fruits commerciaux, Polyphénols, CLHP, IR, RMN, Chromatographie, Orange, *Citrus Sinensis*, CCM prép, Purification.

Mes pensées vont particulièrement vers mes parents et à mes frères et à tous les membres de ma famille (famille T AILEB, famille MEZAACHE, famille BENMACHICHE)

REMERCIEMENTS

J'ai eu la chance et le plaisir d'effectuer ce travail de recherche dans le Laboratoire de

Chimie appliquée (LCA), en collaboration avec le laboratoire L6.2 du département de génie des procédés université 08 mai 1954 -Guelma- sous la direction de Mme H. Guebailia- Amira.

Tout d'abord, je tiens particulièrement à remercier Madame le Dr H. Guebailia- Amira pour m'avoir accueilli au sein du Laboratoire de chimie appliquée (LCA), pour m'avoir fait confiance, m'avoir encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté. Pour son soutien et sa grande générosité, qu'elle soit assurée de ma profonde gratitude, et pour m'apprendre de nombreuses connaissances en matière de phytochimie, de purification et d'identification des composés polyphénoliques, pour ces résultats et commentaires, pour avoir suivi l'évolution de mon mémoire et pour vos remarques précieuses.

Je veux vraiment vous remercier car j'ai eu beaucoup de chance de vous avoir comme encadreur. Merci d'avoir guidé ce travail.

*Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur **M. Abdaoui** chef de Laboratoire de Chimie Appliquée(LCA) d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance de mémoire.*

*Mr le professeur **M. Teguiche** responsable de conseil scientifique Vous m'avez honoré en acceptant d'être examinateur de mon mémoire et membre de jury de ma soutenance. Merci pour toutes les données de chimie organique.*

*Mr le professeur **R. Merdes** chef du département de chimie Je vous remercie pour avoir accepté la charge d'être examinateur de mon mémoire*

J'ai eu la chance, pendant ces 3 années de magistère, de connaître plusieurs équipes de chercheurs et de techniciens dans des structures de recherche variées. Merci à tous pour les nombreux échanges scientifiques et humains, et les amitiés qui se sont tissées avec un certain nombre d'entre vous :

*Merci de **Mme Rouaiguia. Samia** pour sa disponibilité, ses conseils, et son humour.*

*Merci à tous les amis qui m'ont apporté leur soutien surtout **Fatima Hammamdia**.*

Et finalement mes remerciements vont à toutes les personnes que j'aurais malencontreusement oubliées mais à qui je témoigne toute mon affection.

LISTE DES FIGURES

Figure (1.1) : Orange navel.....	4
Figure (1.2) : Orange blonde.....	4
Figure (1.3) : Orange sanguine.....	5
Figure (1.4) : Orange douceâtre.....	5
Figure (1.5) : Structure du limonène.....	11
Figure (1.6) : Chromatogramme HPLC des sucres dans le jus d'orange (pics: 1. Sucre; 2. Glucose; 3. Fructose).....	12
Figure (1.7) : Structure de l'acide citrique.....	14
Figure (1.8). Chromatogramme HPLC d'acides organiques dans le jus d'orange (Peaks: 1.Acide Citrique; 2. Acide ascorbique; 3. Acide malique).....	15
Figure (1.9) : la structure de la vitamine C.....	15
Figure (1.10) : Structure de l'acide malique.....	16
Figure (1.11) : la Structure du limonin.....	20
Figure (1.12 a) : Acide linoléique.....	20
Figure (1.12 b) : Acide oléique.....	21
Figure (1.12c) : Acide palmitique.....	21
Figure (1.12d) : Acide palmitoléique.....	21
Figure (2.1) : Structure chimique de: (a) naringine, (b) neohespéridine, (c) hespéridine et (d) narirutine.....	27
Figure (2.2) : Hespéridine (Hespéretine 7-rhamnoglucoside, hespéretine-7-rutinoside).....	28
Figure (2.3) : L'effet de l'hydrolyse enzymatique sur l' hespéridine.....	28
Figure (2.4): Naringine (4,5,7-Trihydroxyflavanone,Naringenin-7-neohesperidoside).....	29
Figure (2.5) : structure de quelques acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque.....	30
Figure (2.6) : structures de quelques acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.....	32

Figure (2.7) : Structure de l'acide caféique.....	33
Figure (2.8) : la structure de l'acide gallique.....	34
Figure (2.9) : la structure de l'acide paracoumarique.....	35
Figure (2.10) : Structure de l'acide férulique.....	36
Figure (2.11) : Structure de l'acide sinapique.....	38
Figure (2.12) : Structure de l'acide protocatéchique.....	39
Figure (3.1) : A gauche, Schéma de principe d'une chaîne HPLC, à droite, une HPLC shimadzu.....	43
Figure 1.2) : extraction dans une ampoule à décanter.....	46
Figure (3.3) : organigramme d'extraction et de purification des produits.....	47
Figure (3.4) : Chromatogramme du jus Rami-orange à 280 nm et à 306nm. (Tr=1,84mn: acide ascorbique, Tr=3,76 mn : Acide gallique ; Tr=14,30 mn : Acide caféique, Tr=18,95 mn : Hespéridine, Tr=23,37 mn: Diosmine).....	52

Tableau 1.1 : Principales variétés d'oranges de l'espèce <i>Citrus Sinensis</i> (L.) Osbeck : lieux de production et utilisation courante.....	6
Tableau 1.2 : Superficie couverte par les variétés d'agrumes en Algérie, a : Oranges.....	7
Tableau 1.3 : les valeurs nutritives de l'orange.....	9
Tableau 1.4. Composition chimique du jus d'orange.....	10
Tableau 1.5. Composition glucidique du jus d'orange (quantités par 100 g de jus).....	11
Tableau 1.6. Concentration et propriétés structurales des acides organiques du jus d'orange selon la variété d'orange.....	13
Tableau 1.7. Valeurs moyennes et intervalles de variation des Acides aminés (en mg/100 ml) dans des jus d'orange reconstitués.....	17
Tableau 1.8. Composition minérale du jus d'orange selon son origine géographique (en mg/100 ml).....	18
Tableau 2.1. Teneur en flavanone glycosides (en mg/l) dans des jus d'orange fraîchement pressés élaborés à partir de différents cultivars d'oranges.....	27
Tableau 2.3 : les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque.....	31
Tableau 2.4 : les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.....	32
Tableau 3.1 : Gradient HPLC analytique.....	51
Tableau 4.1 : la concentration des acides phénols dans quelque variété de jus commerciaux a base naturelle.....	83
Tableau 4.2 : la concentration des molécules étudiées dans quelque variété de jus commerciaux a base naturelle.....	84

Sommaire

Introduction.....	1
Chapitre 1 : L'ORANGE différents Variétés et composition chimique non polyphénolique.....	3
1 classification.....	3
1.1 Les espèces et les principales variétés d'orange.....	3
1.2 Citriculture en Algérie.....	6
1.3 : Composition et valeur nutritive.....	8
1.4 Composition chimique du jus d'orange.....	9
a). Glucides.....	10
b). Acides organiques.....	12
c). Protéines et acides aminés.....	14
d). Sels minéraux.....	15
e). Limonoïdes.....	17
f). Lipides.....	17
g). Composés volatils.....	18
Chapitre 2. Composés phénoliques de l'orange et activités biologiques.....	20
2.1 Polyphénols.....	20
A- flavonoïdes.....	20
B- Limonoïdes.....	24
C- Vitamine C.....	25
Chapitre 3. Matériels et méthodes.....	27
3.1 Solvants.....	27
3.2 Appareillage.....	27
3.3 mixation et macération.....	28
3.4 Extraction.....	28
3.5 HPLC analytique.....	32

3.5.1 Solvants utilisés.....	32
3.5.2 Gradient.....	32
3.5.3 Préparation des échantillons.....	33
3.5.4 Injection.....	33
3.6 Dosage des polyphénols dans des jus commerciaux.....	33
3.6.1.Échantillons de jus étudiés.....	33
3.6.2. Standards.....	33
3.6.3. Préparation des gammes étalons.....	33
3.6.4. Analyses par HPLC.....	33
3.6.5Intégration.....	35
Chapitre 4 .Résultats et discussion.....	
4.1 Caractérisation des principaux composés isolés des jus d'orange ...	36
4.1.1 Polyphénols isolés.....	36
Références.....	44

1. INTRODUCTION

Plusieurs études épidémiologiques ont montré que la consommation d'antioxydants à base nutritionnelle contenus dans les jus de fruits et certains légumes diminuerait de 31 % le risque de cancers (tous sites confondus) et de 37 % le risque de décès chez des patients ayant reçu les antioxydants, à doses nutritionnelles. Chez les patients survivant à un

cancer du larynx, un mode alimentaire associant la consommation de jus d'orange, de légumes, d'agrumes et d'huile d'olive, entraîne une augmentation de la survie de 36 % à 10 ans (Crosignani P., et al.1996).

Ces études ont aussi montré que les jus de fruits (orange...) et les jus de légumes (carottes...) inhibent la formation d'acides N-Nitrosoaminés (N nitrosoproline, N nitrosamines) dans l'estomac, dont on sait qu'ils sont de puissants cancérigènes (Fontham ET.1990), (Xu G.P., et al.1993), (WCRF.2007).

Autrefois, l'effet bénéfique des fruits et légumes et de leur boissons dérivés sur la santé humaine était plutôt associé à leur teneur en vitamines et en sels minéraux, ça reste vrai, mais ce qu'il faut savoir c'est que, depuis quelques années les recherches ont montré que cet effet est aussi dû à la présence, dans ces nutriments, de métabolites secondaires qui sont les polyphénols. Ces derniers ont montré un large spectre d'activités biologiques (*in vitro* et *in vivo* chez l'animal) parmi lesquels, antioxydants, anti-inflammatoire, anti-neurodégénératives...

L'objectif du travail entrepris dans le cadre de ce mémoire de Magister est de connaître le taux de certains polyphénols, de sucres, de vitamine C (acide ascorbique et acide citrique dans des jus (Orange, pomme, raisin) commerciaux à base naturelle de fabrication locale, puisqu'aucune donnée n'est disponible sur ces boissons.

La démarche à suivre est la suivante : A partir de la pulpe d'orange (*Citrus sinensis*), nous avons fait l'extraction et la purification de molécules par les techniques usuelles de chromatographie. La structure de ces molécules est déterminée par les méthodes spectroscopiques usuelles, IR et RMN.

Les molécules identifiées seront dosées dans des jus commerciaux à base naturelle (100 % orange, à forte teneur en matière naturelle, concentré d'orange ...) par une méthode d'HPLC analytique. Les variétés de jus sur lesquels on va travailler sont : Rouiba (100% orange), Rami (Orange, cocktail, mandarine..), Izdihar, Dejla, Punch,

La composition chimique des jus commerciaux sera comparée d'une part à leur homologues naturels et de l'autre part à leurs homologues commerciaux d'autres pays.

Ce mémoire est divisé en 4 chapitres :

Le premier chapitre est consacré à la présentation des diverses variétés d'orange qui existent dans le commerce, ainsi que les composés naturels non polyphénoliques de cette agrume.

Le chapitre 2 est consacré aux polyphénols de l'orange, leur structure et leurs effets biologiques.

Dans le troisième chapitre, nous présentons le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail.

Les résultats et discussions seront présentés au chapitre 4.

Nous finirons par une conclusion.

Référence :

- Crosignani P., et al. Tobacco and diet as determinants of survival in male laryngeal cancer patients. *Int J Cancer* 1996 ; 65, 308 -313
- Fontham ET. Protective dietary factors and lung cancer. *Int J Epidemiol* 1990;19 Suppl 1:S32-42
- Xu G.P., et al. Hypothesis on the relationship between gastric cancer and intragastric nitrosation : N-nitrosamines in gastric juice of subjects from a high-risk area for gastric cancer and the inhibition of N-nitrosamine formation by fruit juices. *Eur J Cancer Prev* 1993 ; 2 : 25-36
- WCRF (World Cancer Research Fund) Rapport integral 2007

CHAPITRE 1 : L'ORANGE,**DIFFERENTES VARIETES ET COMPOSITION CHIMIQUE NON POLYPHENOLIQUE****1.1 Classification****1.1.1 Les espèces et les principales variétés d'orange :**

L'orange fait partie du genre *Citrus* de la famille des Rutaceae. Le genre *Citrus* contient deux espèces d'orange. La première, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck, correspond aux oranges douces, la deuxième, *Citrus aurantium* L., aux oranges amères. Ces dernières sont également appelées bigarades, elles sont peu comestibles et leur utilisation est

principalement réservée à la production de marmelades ou d'huiles essentielles (Kimball, 1999). L'orange est constituée d'un certain nombre d'éléments :

- La cloison : C'est la membrane de séparation entre deux quartiers.
- La graine : C'est la partie qui une fois germée assure la vie de l'orange.
- La loge : C'est la séparation entre deux étamines de l'orange.
- Le mésocarpe : C'est la couche moyenne du péricarpe d'un fruit.
- Le péricarpe : C'est la partie du fruit qui entoure et protège la graine.
- L'écorce : C'est la peau épaisse d'un fruit.
- La pulpe : C'est le tissu charnu de certains fruits.
- Le zeste : C'est l'écorce extérieure des agrumes.
- Les pépins : Ce sont les graines de certains fruits.
- Le quartier : C'est une des parties d'un fruit, les quartiers font souvent tous la même taille.

Les oranges douces *Citrus sinensis* (L.) Osbeck sont les plus consommées. Elles sont utilisées « en fruits » et certaines variétés servent à l'élaboration des jus (Saunt, 1990). Parmi cette espèce, trois catégories principales sont communément dénombrées :

- **Les oranges navels**, caractérisées par une excroissance « ombilic » ou navel» en anglais dans leur partie inférieure et une quasi absence de pépins. Ces oranges sont les plus consommées en fruits de bouche. D'après Saunt (1990), elles sont moins juteuses que la plupart des autres variétés et elles développent une certaine amertume lors du pressage ce qui peut les rendre impropres à une production de jus.



- **Figure (1.1) : Orange navel**

Les oranges blondes, dont la principale variété est la Valencia, première variété commerciale de tous les types d'agrumes. Celle-ci peut être rencontrée dans toutes les zones principales de production d'oranges (Kimball, 1999). Les

oranges blondes développent beaucoup moins d'amertume que les oranges navels lors de leur pressage. Elles sont donc principalement transformées en jus.



Figure (1.2) : Orange blonde

- **les oranges sanguines**, caractérisées par leur chair colorée due à des pigments rouges, les anthocyanes. Ceux-ci sont sensibles aux techniques d'extraction des jus et au stockage du jus, et leur dégradation peut donner une couleur brune indésirable au produit.



Figure (1.3) : Orange sanguine

- Une dernière catégorie, mineure, peut également être décrite, il s'agit des oranges faiblement acides, encore appelées **oranges douceâtres**. Ces oranges sont consommées en fruits de bouche.



Figure (1.4) : Orange douceâtre

Les principales variétés des catégories navels, blondes, sanguines et douceâtres, lieux de production et utilisation principale sont présentées dans le Tableau (1.1).

Les variétés les plus importantes utilisées pour la fabrication de jus sont **Hamlin, Pineapple, Valencia et Pera**. Ces oranges appartiennent à la catégorie des oranges blondes. Fellers (1985) a classé les diverses variétés d'oranges par ordre décroissant selon des critères sensoriels. Les oranges Valencia sont classées premières (donc

présentées comme produisant le meilleur jus), suivies des oranges brésiliennes Pera puis des oranges Pineapple et Hamlin. Néanmoins, la qualité du jus d'orange dépendra également d'un grand nombre d'autres facteurs comme le climat, les conditions de culture, le processus de maturation des fruits et le procédé de fabrication du jus.

Tableau 1.1 : Principales variétés d'oranges de l'espèce *Citrus Sinensis* (L.) Osbeck : lieux de production et utilisation courante (d'après Saunt, 1990)

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

	Sanguinelli	Espagne	Fruits de bouche
Douceâtres	Succari	Egypte	Fruits de bouche
	Lima	Brésil	

1.1 .2 Citriculture en Algérie :

Les vergers d'agrumes en Algérie, sont répartis le long de la zone côtière, à une altitude inférieure à 400 m, où le climat est doux et les gelées sont rares.. La superficie totale consacrée à la culture des agrumes est estimée à environ 43 000 ha, dont 38 000 ha sont utilisés pour les arbres fruitiers (Alloum, D. & Bencheik El Hocine 1983).

Les vergers d'agrumes sont concentrés dans cinq grands domaines ou de *wilayas*, à savoir Blida (Dans la vallée de la Mitidja), Mascara, Chlef, Mostaganem et Annaba, qui représentent ensemble environ 80 % de la surface totale d'agrumes.

De nombreuses variétés d'agrumes sont cultivées en Algérie, y compris les oranges (49,1%), les mandarines (35,4 %), les citrons (2 %), les pamplemousses (pomelos) (0,5 %) et d'autres variétés mixtes (13 %).

Parmi les oranges, les variétés à maturation précoce représentent 36,7 % de la production, à la mi-saison de 50,4 % et de la maturation tardive 12%, On estime que 20 000 tonnes d'agrumes sont transformées chaque année pour la production de jus et des conserves.

Les informations disponibles pour les variétés d'agrumes et de la superficie cultivée est indiquée au tableau suivant.

Tableau 1.2 : Superficie couverte par les variétés d'agrumes en Algérie, a : Oranges

	Variétés	Superficie (ha)	Pourcentage du total
Oranges			
	Thompson navel	5130	24.10
	Washington navel	2 677	12.59

	Hamlin	701	3 30
	Cadenera et Salustiana	270	127
	Blondes de saison	207	0.97
	Maltaise blonde	37	017
	Shamouti	182	0.88
	PORTUGUAISE	2 648	12.44
	Sanguinelli	1718	8.07
	Double fine	3 643	17.12
	Double fine ameliore	1 307	6.14
	Valencia late	2 501	11.75
	Vernia et ovale	255	1 20

b : Mandarines			
	Satsumas	206	134
	Clémentine Commune	4 241	27.66
	Clémentine Monreal	8 306	5416
	Common mandarin (Willowleaf)	2126	13.86
	Wilking	456	2.98
C : Autres agrumes			
	Citrons	877	---
	Pamplemousses	216	---
			
	Divers (citron, citron vert, kumquat, orange amère)	287	---
			
	kumquat		
	Autres variétés	5 377 5 377	---

1.1.3 Composition et valeur nutritive

L'**orange** est un agrume, c'est le fruit de l'oranger, un arbre de la famille des *Rutacées*. Comestible, il est très riche en vitamine C. C'est le quatrième fruit le plus cultivé au monde.

L'orange est, comme son nom l'indique, de couleur orange. Elle possède une peau épaisse et assez rugueuse. Elle se découpe en quartiers comme la mandarine. L'orange est un fruit juteux, sucré, excitant et il contient de la vitamine C. On utilise ce fruit pour les salades de fruits, les confitures, ou pour consommer son jus. Le fruit est consommé frais, mais il est aussi utilisé dans d'innombrables recettes comme le jus d'orange (54 % du marché des jus de fruits), les confitures, les pâtisseries, certains alcools, ou le canard à l'orange...le tableau (1.3) au dessus représente les valeurs nutritives dans 100g d'orange.

Tableau 1.3 : les valeurs nutritives de l'orange (Lehrner , 2000)

Orange crue (valeur nutritive pour 100g)			
<u>eau</u> : 86,75 g	<u>cendres totales</u> :0,44 g	<u>fibres</u> : 2,4 g	<u>valeur énergétique</u> :47kcal
<u>glucides</u> :11,75 g	<u>sucres simples</u> :9,35 g	<u>protéines</u> : 940 mg	<u>lipides</u> : 120 mg
<u>oligo-éléments</u>			
<u>potassium</u> : 181mg	<u>calcium</u> : 40 mg	<u>phosphore</u> : 14 mg	<u>magnésium</u> : 10mg
<u>fer</u> : 100 µg	<u>zinc</u> : 70 µg	<u>cuiivre</u> : 45 µg	<u>sodium</u> : 0 mg
<u>vitamines</u>			
<u>vitamineC</u> : 53,2 mg	<u>vitamine B1</u> : 87 µg	<u>vitamine B2</u> : 40 µg	<u>vitamine B3</u> : 282 µg
<u>vitamineB5</u> : 250 µg	<u>vitamine B6</u> : 60 µg	<u>vitamine B9</u> : 0 µg	<u>vitamine B12</u> : 0 µg
<u>vitamine A</u> : 225 UI	<u>rétinol</u> : 0 µg	<u>vitamine E</u> : 0,18 µg	<u>vitamine K</u> : 0 µg
<u>acides gras</u>			
<u>saturés</u> : 15 mg	<u>mono-insaturés</u> :23 mg	<u>poly-insaturés</u> :25 mg	<u>cholestérol</u> : 0 mg

*1.1.4
Composition chimique du jus d'orange*

Le jus d'orange est un produit complexe dont les propriétés physiques, chimiques et sensorielles évoluent à travers le processus de fabrication. Le Tableau (1.4) représente la composition chimique moyenne de ce produit. Selon Hendrix et Redd (1995), environ 76% de la matière sèche hydrosoluble du jus d'orange est constituée principalement de glucides et 21% d'acides organiques, d'acides aminés, de sels minéraux, de vitamines et de lipides. Les 3% restants sont constitués d' un grand nombre de composés divers, dont les flavonoïdes, les composés volatiles, les caroténoïdes, etc., qui ont une influence importante sur les propriétés sensorielles de ce produit. Les paragraphes suivants traitent de la complexité de cette composition chimique, des propriétés physico-chimiques et de leurs effets sur la flaveur du jus d'orange.

Tableau 1.4. Composition chimique du jus d'orange.

Constituant	Unité	Quantité par 100	Moyenne	*Référence
-------------	-------	------------------	---------	------------

		<i>g de jus</i>		
Eau	g	87.0 - 92.0	88.3	1, 3
Glucides	g	10.0 - 12.0	10.6	1, 3
Protéine (N*6.25)	g	0.58 - 1.29	0.91	4
Lipides	g	0.0 - 0.56	0.20	4
Cendres	g	0.25 - 0.48	0.35	2
Composés volatils	mg	30.0 - 45.0	37.0	1
Flavonoïdes	mg	80.0 - 118.0	99.0	4
Vitamines :				
Acide ascorbique	mg	44.5 - 68.8	55.5	2
Niacine	mg	0.13 - 0.46	0.26	4
β-carotène	mg	0.04 - 0.37	0.13	2
Acide pantothénique	mg	0.06 - 0.30	0.13	4
Thiamine (B1)	mg	0.64 - 0.96	0.76	2
Riboflavine (B2)	mg	0.01 - 0.06	0.02	4
Pyridoxine (B6)	mg	0.02 - 0.09	0.04	4

* 1 Robards et Antolovich, 1995. 2 : Parketal., 1983. 3 : Ting, 1980. 4 : Hendrix et Redd, 1995.

a). Glucides

Le saccharose, le glucose et le fructose sont les principaux glucides du jus d'orange. On retrouve aussi dans ce groupe chimique des polymères à haut poids moléculaire, comme les pectines et les complexes de cellulose et hemicellulose, qui constituent une partie de la pulpe et les fibres du jus (Klavons *et al.*, 1991; Rangana, *et al.*, 1983). Ces derniers composés sont aussi largement responsables de l'opalescence (Qualité physique de certains milieux comme la nacre et l'opale de présenter un reflet spécial irisé) du jus d'orange. Le Tableau (1.5) montre la proportion des divers glucides du jus d'orange.

Tableau 1.5. Composition glucidique du jus d'orange (quantités par 100 g de jus).

<i>Glucide</i>	<i>Unité</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Intervalle</i>	<i>*Référence</i>
Saccharose	g	3.81	2.90 - 4.76	11
Glucose	g	2.08	1.32 - 2.92	1

Fructose	g	2.46	1.55	-	3.35	2
Solides solubles Totaux	°Bx	12.3	8.10	-	17.7	2
Sucres totaux	g	9.15	6.32	-	14.3	3
Pectine soluble dans l'eau	mg	19.2	6.70	-	34.0	3
Pectine soluble dans NaOH	mg	37.4	24.7	-	80.0	4
Pectine totale	mg	56.9	34.0	-	109.6	3
Composés en suspension	mg	223.0	219.0	-	224.0	

* 1.Arist y *et al.* 1989 2.Hendrix et Redd, 1995 3.Park *et al.* 1983 4. Robards et Antolovich, 1995

Les glucides sont importants car ils sont responsables de la saveur du jus et influencent sa consistance et ses propriétés rhéologiques (écoulement, déformations, et **viscosité** sous l'action de **contraintes**). De plus, ils ont une influence remarquable sur les constituants volatiles du jus. En effet, la présence de glucides modifie la perception sensorielle des arômes. Ahmed *et al.* (1978a), par exemple, ont démontré que le seuil de perception sensorielle du *d*-limonène (structure figure (1.5)) dans l'eau, augmente si on y ajoute du saccharose, du glucose et du fructose à des concentrations équivalentes à celles d'un jus d'orange. Par contre, ce seuil tend à diminuer si l'eau contient une quantité en pectine similaire à celle trouvée dans un jus.

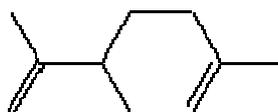


Figure (1.5) : Structure du limonène

La figure (1.6) représente la Chromatogramme HPLC des sucres dans le jus d'orange.

					molaire	carboxylés	l.
Citrique	0.22-	0.30-0.36	0.17-	0.56-0.72	192.1	3	50-
Malique	0.98	0.17-0.26	0.70	0.11-0.15	134.1	2	100
Succinique	0.06-	0.26-0.80	0.15-	0.18-0.90	118.1	2	10-50
	0.26		0.31				1-10
	0.00-		0.02-				
	0.54		0.24				

Sol. : Solubilité dans l'eau (g/100 ml).

b-1 Acide Citrique :

Nom : acide 3-carboxy-3-hydroxypentanedioïque

Synonymes : E330 acide 2-hydroxy-1, 2, 3-Propanetricarboxylique

Formule brute : $C_6H_8O_7$

Masse molaire : $192,123779 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ C 37, 51%, H 4, 2%, O 58, 29%,

Solubilité : Soluble dans l'éthanol ($383 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ à $25 \text{ }^\circ\text{C}$). Insoluble dans le chloroforme.

L'acide citrique est une molécule hautement polaire qui contient trois groupements carboxyliques et un groupement hydroxylé. Sa forme dissociée dans des solutions aqueuses est considérablement réactive vis-à-vis des composés volatils. En effet, Hansson *et al.* (2001) ont observé que la libération d'un composé volatil, tel que le limonène ou de certains esters comme l'éthyl hexanoate, à partir d'une solution aqueuse vers la phase vapeur, est modifié par les variations de la concentration de l'acide citrique dans cette solution. À des faibles concentrations (0.2 g/l), l'acide citrique favorise la diffusion des composés volatils vers la phase vapeur. Cependant, à des concentrations élevées (supérieures à 10 g/l), on assiste à des interactions entre l'acide citrique dissocié et les composés volatils qui ont comme conséquence une diminution de la concentration de ce type de composés dans la phase vapeur. Ces observations expliquent l'utilisation de cet acide à des faibles concentrations pour rehausser la saveur (Les sensations gustatives, olfactives, etc., que l'on éprouve en goûtant un aliment...) des aliments.

Usages : (Parlement Européen et Conseil de L'Europe, 20/02/1995)

- L'acide citrique est un additif alimentaire (numéro E330) utilisé dans l'industrie alimentaire comme acidifiant (soda), correcteur d'acidité, agent de l'éviration, dans la composition d'arôme (Numéro FEMA/GRAS 2306) ;

- produits cosmétiques et pharmaceutiques ;
- peut provoquer des allergies cutanées, il est par conséquent à manipuler avec précaution ;
- boissons gazeuses sous forme de citrate de magnésium ($\text{Mg}_3 (\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2, 4\text{H}_2\text{O}$)
- anticoagulant sanguin ;
- réduction de la rouille ;
- fabrication de pâte à modeler artisanale ;
- fongicide, bactéricide, anti-algues (lutte contre le lichen).
- complexant du fer dans les vins pour retarder la casse ferrique
- L'acide citrique est aussi utilisé comme bain d'arrêt en photographie argentique.

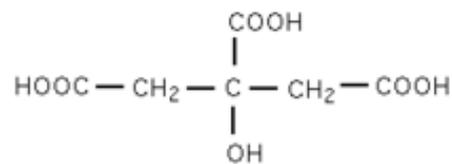


Figure (1.7) : Structure de l'acide citrique

En général, l'intensité de la saveur acidulée des acides du jus d'orange dépend de leur concentration et de leur structure chimique. Hartwig et McDaniel (1995) ont observé que le nombre de groupements carboxyliques d'un acide est inversement proportionnel à l'intensité de la saveur acidulée qu'il manifeste. De plus, CoSeteng *et al.* (1989) ont démontré qu'il existe une corrélation positive entre le poids moléculaire et la solubilité dans l'eau des acides organiques et l'intensité de leur saveur acidulée. Ainsi, bien que l'acide citrique manifeste la plus faible solubilité et contienne le plus grand nombre de groupements carboxyliques parmi les trois acides du jus d'orange, il produit l'intensité la plus élevée car il est le plus abondant et il a le poids moléculaire le plus élevé (Tableau 1.6).

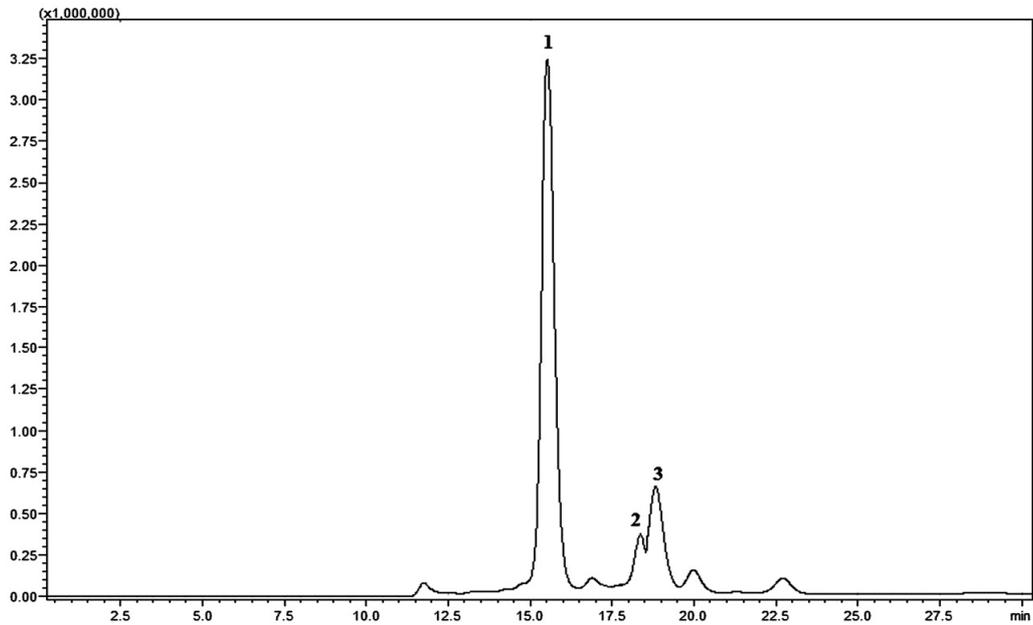


Figure (1.8). Chromatogramme HPLC d'acides organiques dans le jus d'orange (Peaks: 1.Acide Citrique; 2. Acide ascorbique; 3. Acide malique) (H. Kelebek et al. 2009).

b-2 Vitamine C : (acide ascorbique)

La vitamine C contribuerait pour 56 % à 77 % du contenu en antioxydants du jus d'orange (Vinson JA, Liang X, *et al.*2002).

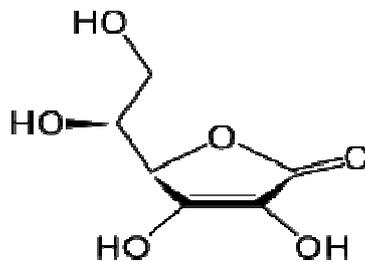


Figure (1.9) : la structure de la vitamine C.

Chez l'animal, la consommation de jus d'orange, inhiberait l'athérosclérose, en plus de diminuer le cholestérol et les triglycérides sanguins (Vinson JA, Liang X, *et al.*2002). La vitamine C seule, en même quantité que ce que contient le jus d'orange, s'est avérée avoir le même effet sur l'athérosclérose, ce qui laisse croire qu'elle aurait un rôle à y jouer. Chez l'humain, la consommation de jus d'orange augmente la concentration de vitamine C dans le sang

(Sanchez-Moreno *et al.*2003). Par contre, une étude a démontré que la consommation de jus d'orange n'avait pas d'effet sur l'agrégation plaquettaire tel qu'observé avec le jus de raisin (Keevil JG, Osman HE, *et al.*2000).

La vitamine C contribuerait pour 46 % de la capacité antioxydante du jus de tangerine (Vinson JA *et al.*, 2002.). Lors d'une étude d'observation, les gens ayant consommé des oranges ou des tangerines au moins une fois par semaine présentaient des risques beaucoup plus faibles de développer un cancer du nasopharynx (Partie **du pharynx qui se trouve en arrière des fosses nasales**) comparativement aux gens qui en mangeaient moins d'une fois par mois (Yuan JM, Wang XL, *et al.* 2000.). Cette étude ne permet pas d'identifier les composés actifs concernés par cet effet, mais les auteurs supposent que la vitamine C contenue dans ces deux fruits pourrait jouer un rôle en bloquant la formation de composés cancérigènes.

b-3 Acide Malique :

L'acide malique est un acide bicarboxylique de formule HOOC-CH₂-CHOH-COOH répandu dans le règne végétal et naturellement présent dans les pommes, les poires et le jus de raisin. Sa base conjuguée et ses sels sont nommés malates.

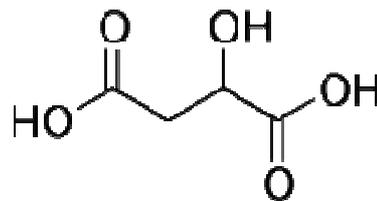


Figure (1.10) : Structure de l'acide malique

Nom : acide hydroxybutanedioïque

Synonymes : E296

Formule brute : C₄H₆O₅

Masse molaire : 134, 087615 g·mol⁻¹ C 35, 83%, H 4, 51%, O 59, 66%,

Conservateur E296

L'acide malique, mais aussi ses sels, sont référencés comme conservateurs organiques, efficaces vis-vis-des microorganismes.

c). Protéines et acides aminés

L'azote organique constitue entre 0.6 et 1.3% de la matière sèche du jus d'orange. Il fait partie des acides aminés (tableau (1.7)), des protéines à faible poids moléculaire, des enzymes, des nucléotides, des

acides nucléiques et des phosphoprotéines. Environ 70% de l'azote organique se trouve dans le jus sous forme d'acides aminés libres (Rangana *et al.*, 1983). Le reste est reparti entre des petits peptides d'approximativement 82 kDa de poids moléculaire (kDa :Kilo Dalton, Un dalton est défini comme égal à 1/12^e de la masse d'un atome de carbone 12) (Sass-Kiss et Sass, 2002), des enzymes et des protéines constituant une partie de l'opalescence du jus. En fait, l'opalescence du jus d'orange est constituée des particules en suspension mesurant entre 0.4 et 5.0 µm. Environ 50% de la masse de ces particules est constituée de protéines insolubles ou des polypeptides liés à des glucides, à des pectines, ou même aux hémicelluloses (Klavons *et al.*, 1991).

Tableau 1.7. Valeurs moyennes et intervalles de variation des Acides aminés (en mg/100 ml) dans des jus d'orange reconstitués (Aristoy *et al.*, 1989).

Acide Aminé	Moyenne	Intervalle
Proline	162.0	61.80 – 397.0
Asparagine	45.70	11.3 - 93.3
Arginine	41.40	8.9 - 95.3
Acide a-aminobutyrique	23.70	6.2 - 47.0
Acide Aspartique	16.90	2.7 - 49.4
Serine	12.80	4.4 - 29.7
Acide Glutamique	9.11	1.9 - 21.9
Alanine	8.80	3.4 - 18.3
Glutamine	3.50	0.9 - 8.8
Lysine	3.05	0.5 - 6.3
Glycine	2.72	1.2 - 5.8
Threonine	2.13	0.7 - 5.0
Valine	1.53	0.3 - 6.2
Methionine	1.26	0.1 - 4.2
Ornithine	1.20	0.3 - 9.7
Histidine	0.86	0.3 - 4.3

d). Sels minéraux

La concentration totale des sels minéraux du jus d'orange dépend fondamentalement de l'origine géographique des oranges (Robards et Antolovich, 1995). Ainsi, les jus d'orange provenant d'une même région ont des teneurs en cendres totales qui ne varient que très peu, tandis que les teneurs en cendres des jus préparés à partir d'oranges de régions géographiques différentes sont très variables (Tableau 1.8). Bien que le jus d'orange contienne un grand nombre de minéraux à l'état de trace, le potassium est le minéral le plus abondant dans ce produit. Sa concentration, ainsi que celles du sodium, du magnésium et du calcium dépendent de la période de récolte des matières premières. En général, la teneur en minéraux des oranges a tendance à diminuer à mesure que la saison avance (Park *et al.*, 1983).

Tableau 1.8. Composition minérale du jus d'orange selon son origine géographique (en mg/100 ml)
(Robards et Antolovich, 1995).

<i>Élément</i>	<i>Floride</i>	<i>Brésil</i>	<i>Autres</i>
Potassium	152.0 – 266.0	203.0 – 302.7	124.5- 246.5
Phosphore	12.4 – 24.0	15.5 – 30.8	10.4 – 30.9
Magnésium	9.5 – 14.0	10.7 – 17.0	8.2 – 15.5
Calcium	6.7 – 12.3	7.7 – 12.0	8.7 – 15.0
Sodium	0.30 – 0.90	0.09 – 2.6	0.25 – 4.33
Fer	0.06 – 0.56	0.08 – 0.75	0.11 – 0.85
Bore	0.06 – 0.18	0.06 – 0.26	0.10 – 0.51
Zinc	0.02 – 0.05	0.03 – 0.05	0.02 – 0.05
Cuivre	0.02 – 0.05	0.02 – 0.04	0.01 – 0.04
Rubidium	0.03 – 0.07	0.26 – 0.67	0.06 – 0.37
Manganèse	0.02 – 0.03	0.02 – 0.08	0.02 – 0.09

La contribution des sels minéraux à la saveur du jus d'orange n'est pas très bien élucidée. Cependant, on peut établir que leur rôle dans cette propriété sensorielle est généralement positif. Rousset et Nagy (1987), par exemple, ont observé une corrélation positive hautement significative entre la teneur en Potassium et le degré de préférence d'un jus d'orange par les consommateurs.

e). Limonoïdes

Les limonoïdes sont des triterpènes qui se trouvent à faibles concentrations dans les divers agrumes. Les molécules qui les produisent, comme l'acide limonoïque, proviennent de l'albédo des oranges. Leur concentration dépend de la variété, de la période de récolte et de la région géographique de provenance des oranges. Le limonin est le limonoïde le plus abondant dans le jus d'orange. Dans des jus élaborés avec des oranges "Washington-Navel", sa concentration peut atteindre jusqu'à 42 ppm, tandis que dans des jus préparés avec des oranges autres que celles appartenant à cette variété, la teneur en ce composé varie entre 2 et 7 ppm. De plus, il existe un ensemble de molécules dérivées du limonin appelées glucosides limonoïques qui se trouvent dans le jus à des concentrations de l'ordre de 80-320 ppm (Robards et Antolovich, 1995).

Le limonin est un composé qui produit une forte saveur amère dans le jus. Cependant, son seuil de détection sensorielle dépend de la sensibilité du dégustateur. Pour un dégustateur hautement sensible, ce seuil est d'environ 0.08 ppm dans de l'eau pure, tandis que pour un sujet peu sensible, il est de 5.0 ppm (Guadagni *et al.*, 1973). De plus, ce seuil de détection dépend aussi des autres constituants chimiques du jus d'orange. Guadagni *et al.* (1974) ont rapporté par exemple, que les sucres, l'acide citrique et quelques flavonoïdes comme le neohespéridine (cf. chapitre 2 pour la structure) augmentent considérablement le seuil de détection sensoriel de ce composé chimique.

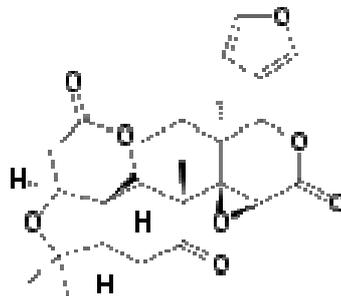


Figure (1.11) : la Structure du limonin

f). Lipides

Les huiles contenues dans le jus d'orange proviennent principalement du flavedo des oranges et y sont incorporées lors de son extraction industrielle. Les lipides provenant de l'endocarpe des oranges, c'est à dire, non originaires du flavedo, se retrouvent dans le jus à très faible concentration. Par exemple, dans 100 g de jus ayant 80 à 100 mg de lipides totaux, 4 à 6 mg proviennent de l'endocarpe (Nagy et Shaw, 1990). Cela indique qu'au moins, 90% des huiles du jus proviennent du flavedo des oranges. La matière lipidique du jus est composée surtout d'acides gras : acide linoléique (27.8 à 35.2%), acide oléique (24.1 à 26.7%), acide palmitique (21.2 à 23.3%), on retrouve aussi de faibles proportions d'acides palmitoléique et linoléique

(Rangana *et al.*, 1983 ; Arena *et al.*,1998). Les lipides jouent un rôle essentiel dans la flaveur du jus d'orange non fait concentrer ; car ils constituent le milieu où sont solubilisés la majorité des composés volatils. En effet, la plupart des composés volatils sont totalement ou partiellement liposolubles et ils sont incorporés dans le jus à partir des huiles du flavedo des oranges. D'autre part, ils contribuent à l'opalescence du jus. Environ 25% des composés constituant l'opalescence de ce produit sont d'origine lipidique et le reste est composé de solides insolubles dans l'éthanol tels que les pectines et, comme mentionné auparavant, les protéines (Rangana *et al.*, 1983).les figures ci- dissous représentent quelques structures des acides lipidiques.

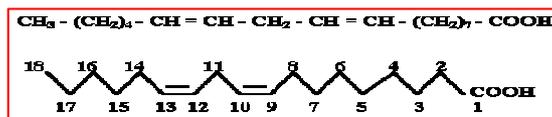


Figure (1.12 a) : Acide linoléique

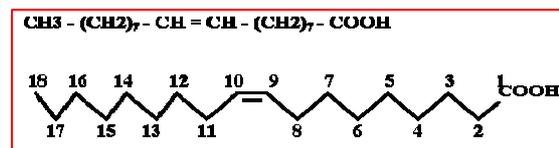


Figure (1.12 b) : Acide oléique

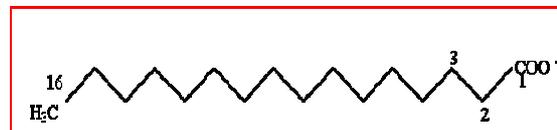


Figure (1.12c) : Acide palmitique



Figure (1.12d) : Acide palmitoléique

g). Composés volatils

Parmi les jus de fruits, le jus d'orange occupe une place de premier rang dans les préférences des consommateurs grâce à son délicat arôme et, de manière générale, à ses propriétés sensorielles exceptionnelles. Plusieurs études ont suggéré que la flaveur typique de ce jus est le résultat d'une combinaison

de plusieurs composés volatils se trouvant à des proportions équilibrées (Shaw, 1991). Jusqu'à présent, plus de 200 composés volatils ont été identifiés dans des jus d'orange fraîchement extraits (Buettner et Schieberle, 2001b).

References du chapitre1:

- Alloum, D. & Bencheik El Hocine. N. 1983. Situation générale de l'agrumiculture algérienne *Communication au Colloque de l'agrumiculture méditerranéenne (21-26 février)*. 12 pp
- Ahmed, E. M.; Dennison, R. A.; Dougherty, R. H.; Shaw, P. E. 1978a. Effect of non Volatile Orange Juice Components, Acid, Sugar, and Pectin on the Flavor Threshold of *d*-limonene in Water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 26 (1): 192-194.
- Arena, E.; Campisi, S.; Fallico, B.; Maccarone, E. 1998. Fatty Acids of Italian Blood Orange Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46 (10): 4138-4143.
- Aristoy, M. C.; Orlando, L.; Navarro, J. L.; Sendra, J. M.; Izquierdo, L. 1989. Characterization of Spanish Orange Juice for Variables Used in Purity Control. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37 (3): 596-600.
- Buettner, A.; Schieberle, P. 2001b. Evaluation of Aroma Differences Between Hand-Squeezed Juices from Valencia Late and Navel Orange by Quantitation of Key Odorants and Flavor Reconstitution Experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (5): 2387-2394.
- Cohen, E.; Sharon, R.; Volman, L.; Hoening, R.; Saguy, I. 1984. Characteristics of Israeli Citrus Peel and Citrus Juice. *Journal of Food Science*. 49 (2): 987-990.
- Coseteng, M. Y.; McLelland, M. R.; Downing, D. L. 1989. Influence of Titratable Acidity and pH on Intensity of Sourness of Citric, Malic, Tartaric, Lactic, and Acetic Acids Solutions and on the Overall Acceptability of Imitation Apple Juice. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*. 22 (1): 46-51.
- Fellers P.J. (1985). Citrus : sensory quality as related to rootstock, cultivar, maturity and season. In Evaluation of quality of fruits and vegetables. Pattee, HE, Ed. AVI Publishing, Co, 83-128.
- Fry, J.; Martin, G. G.; Lees, M. 1995. Authentication of Orange Juice. In: Ashurst, P. R. (Ed.) 1995. *Production and Packaging of Non-Carbonated Juices and Fruit Beverages*. Blackie Academic & Professional, p: 1-51
- Guadagni, D. G. ; Maier, V. P. ; Turnbaugh, J. G. 1973. Effect of some Citrus Juice Constituents on Taste Threshold of Limonin and Naringin Bitterness. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 24 (10) : 1277-
- Guadagni, D. G. ; Maier, V. P. ; Turnbaugh, J. G. 1974. Some Factor Affecting Sensoty Thresholds and Relative Bitterness of Limonin and Naringin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 25 (10) : 1199-

- Hansson, A.; Andersson, J.; Leufvén, A.; Penrson, K. 2001. Effect of changes in pH on the Release of Flavour Compounds from a Soft Drink-Related Model System. *Food Chemistry*. 74 (4): 429-435.
- Hartwig, P.; Mcdaniel, M. R. 1995. Flavor Characteristics of Lactic, Malic, Citric, and Acetic Acid at Various pH Levels. *Journal of Food Science*. 60 (2): 384-388
- . Hendrix, C. M.; Redd, J. B. 1995. Chemistry and Technology of Citrus Juices and By-Products. In: *Ashurst, P. R. (Ed.) 1995. Production and Packaging of Non-Carbonated Juices and Fruit Beverages. Blackie Academic & Professional, p: 53-87*
- Higginbotham, J. D.; Houg, A. M. 1977. Useful Taste Properties of Aminoacids and Proteins. In : *Birch, G. C.; Brennan, J. G.; Parker, A. M. (Eds.) 1977. Sensory Properties of Food. Applied Science Publishers Ltd, p: 129-149.*
-
- Kelebek. H et al. / *Microchemical Journal* 91 (2009) 187–192
- Kimball D.A. (1999). Citrus processing, a complete guide, second edition. Kimball D.A., Ed. Gaithersburg : An Aspen publication.
- Klavons, J. A.; Bennet, R. D.; Vannier, S. H. 1991. Nature of the Protein Constituent of Commercial Orange Juice Cloud. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 39 (9): 1545-1548.
- Lehrner J, Eckersberger C, Walla P, Pötsch G, Deecke L. *Ambient odor of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients*. *Physiol Behav*. 2000 Oct 1-15;71(1-2):83-6.
- Leland, J. V. 1997. Flavor Interactions: The Great Whole. *Food Technology* 51 (1): 75-80.
- Nagy, S.; Shaw, P. E. 1990. Factors Affecting The Flavour of citrus Fruit. In: *Morton, I. D.; MacLeod, A.J. (Eds.) 1990. Food Flavours. Part C: The Flavour of Fruits. Elseiver. p: 93-124.*
- Noble, A. C. 1996. Taste-Aroma Interactions. *Trends in Food Science and Technology*. 7 (12): 444-448.
- Parlement Européen et Conseil de L'Europe, 20/02/1995 «La Directive 95/2/CE concernant les additifs alimentaires autres que les colorants et les édulcorants», dans *Journal officiel de l'Union européenne*, n° L 61, p. 1-56 [(page consultée le 19/05/2008)]. **[PDF]**
- Park, G. L.; Byers, J. L.; Pritz, C. M.; Nelson, D. B.; Navarro, J. L.; Smolensky, D. C.; Vandercook, C. E. 1983. Characteristics of California Navel Orange Juice and Pulpwash. *Journal of Food Science*. 48 (2): 627-632
- Rangana, S.; Govindarajan, V. J.; 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.
- Robards, K. ; Antalavich, M, 1995. Methods for Assessing the Authenticity of Orange Juice. *Analyst*. 120 (1): 1-28.
- Rouseff, R.; Nagy, S. 1987. A Multivariate Pattern Recognition Approach for Identifying Quality Factors in Florida Orange Juice. In: *Martens, M.; Dalen, G. A.; Russwurm, H. (Eds.). 1987. Flavour Science and Technology. John Wiley & Sons, p: 481-488.*
- Sass-Kiss, A.; Sass, M. 2002. Distribution of Various Peptides in Citrus Fruits (Grapefruit, Lemon, and Orange). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (7): 2117-2120.
- Saynt. J. (1990). Citrus varieties of the world : an illustrated guide. Saunt J., Ed. Sinclair International.
- Siebert, K. J. 1999. Modeling the Flavor Thresholds of Organic Acids in Beer as a Function of Their Molecular Properties. *Food Quality and Preference*. 10 (): 129-137.
- Shaw, P. E. 1991. Fruits II. In: *Maarse, H. (Ed). Volatile Compounds in Foods and Beverages. Marcel Dekker Inc. p: 305-327.*
- Solms, J. 1986. Interactions of Non-Volatile and Volatile Substances in Foods. In: *Birch, G. G.; Lindley, M. G. (Eds.). 1986. Interactions of Food Components. Elseiver Applied Science Pub. p: 189-209.*
- Ting, S. V. 1980. Nutrients and Nutrition of Citrus Fruits. In: *Nagy, S.; Atlaway, J. A. 1980. Citrus Nutrition and quality ACS Symposium Series. No. 143 American Chemical society. p: 3-24.*

- URL. http://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_malique19/05/2009.
- Vinson JA, Liang X, *et al.* 2002. Polyphenol antioxidants in citrus juices: in vitro and in vivo studies relevant to heart disease. *Adv Exp Med Biol*; 505:113-22.
- Yuan JM, Wang XL, *et al.* 2000. Preserved foods in relation to risk of nasopharyngeal carcinoma in Shanghai, China. *Int J Cancer* February 1;85(3):358-63.

CHAPITRE 2 :

COMPOSES PHENOLIQUES DE L'ORANGE ET ACTIVITES BIOLOGIQUES

2.1 Généralités

Actuellement, plus de 8000 polyphénols ont été identifiés (Dreosti, 2000). Ce sont des métabolites secondaires des plantes, représentant les composés phytochimiques essentiels des légumes, des fruits et d'autres plantes. Les polyphénols sont associés non seulement aux effets bénéfiques de la santé humaine mais aussi aux propriétés colorantes et sensorielles des boissons tel que le vin et les jus (Harborne, 2000 ; Durbin, 2003 ; Brouillard, 2003 ; Duthie, 2003)

Les plus communs parmi les polyphénols sont les acides hydroxy-cinnamiques, les flavonoïdes et les anthocyanes. La plupart des flavonoïdes existant dans les plantes sont conjugués avec des sucres, pectines, des acides organiques ou sont sous forme de polymères (Wang, 2003 ; German, 2000). Les polyphénols sont largement distribués dans le règne végétal. L'orange *Citrus sinensis* est l'une des plantes particulièrement riche en polyphénols.

2.2 Composés phénoliques de l'orange

2.2.1 Flavonoïdes

Le terme **flavonoïde** (ou **bioflavonoïde**) est attribué à une classe de métabolites secondaires regroupés selon leur structure dérivés de celle du phénylbenzopyrone ou flavone. Les flavonoïdes sont connus principalement pour leur activité antioxydante.

Les flavonoïdes ont été découverts par Albert Szent-Györgyi. Ils se révèlent particulièrement efficaces pour réduire la perméabilité des vaisseaux sanguins (propriétés vasculoprotectrices et veinotoniques). Ils sont notamment utilisés pour traiter les crises hémorroïdaires, les jambes lourdes et les troubles de la fragilité capillaire (pétéchies), (Bruneton, J, 2009).

La majorité des flavonoïdes du jus d'orange appartient au groupe des *glycosides de flavanone*. Ils sont importants car certains de ces composés sont aussi responsables de l'amertume du jus. On retrouve chez les agrumes deux groupes de flavanone glycosides : les **hesperidosides**, qui sont responsables du goût amer, comme le **naringine**, qui se trouve à des concentrations de l'ordre de 73-420 ppm chez le pamplemousse (Rouseff *et al*, 1987), et les **rutinosides**, qui ne produisent pas de saveur. Cependant, ces derniers composés joueraient un rôle significatif dans l'atténuation de la saveur amère provoquée par les hesperidosides et les limonoïdes (Robards et Antolovich, 1995).

Dans le jus d'orange, on retrouve surtout les rutinosides, composés de **narirutine** et d'**hespéridine**. Certains auteurs ont rapporté aussi la présence de la **naringine** dans des jus d'orange commerciaux (Marini et Balestrieri, 1994). Le Tableau 3.1 montre la composition en glycosides de flavanone des jus d'orange obtenus à partir de différents cultivars d'oranges. La figure (3.1) représente la structure de quelques flavonoïdes.

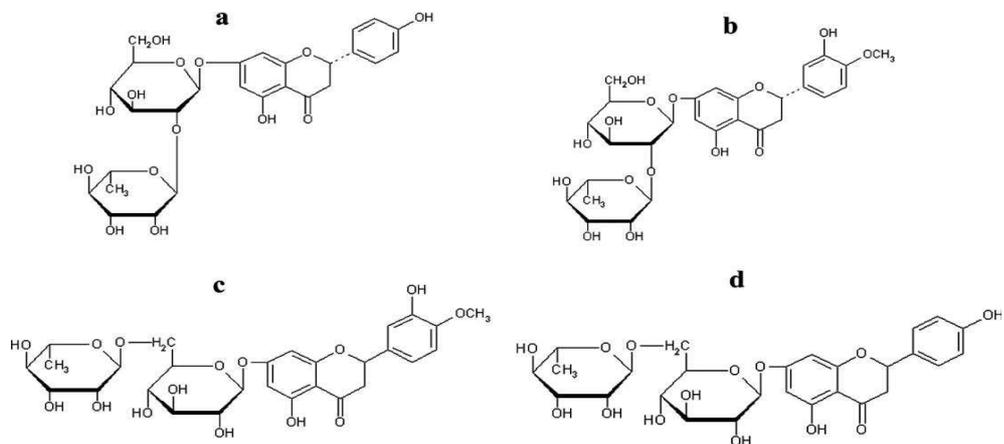


Figure (2.1) : Structure chimique de: (a) naringine, (b) neohespéridine, (c) hespéridine et (d) narirutine (Sawalha et al. 2009)

Tableau 2.1. Teneur en flavanone glycosides (en mg/l) dans des jus d'orange fraîchement pressés élaborés à partir de différents cultivars d'oranges (Pupin *et al.* 1998 ; Marini et Balestrieri, 1994).

Variété	Narirutine	Hesperidine	Naringine	Neohesperidine
Pera	33.0	255.8	0.0	0.0
Natal	34.9	196.0	0.0	0.0
Valencia	49.6	256.3	0.0	0.0
Hamlin	89.1	363.3	0.0	0.0
Baia	101.9	134.6	0.0	0.0
Lima	25.6	167.0	0.0	0.0
Tarocco / Sanguinello	40.0	195.0	0.6	1.4

a

Hespéretine :

C'est le principal flavonoïde de l'orange et se retrouve en grande quantité dans la **partie blanche de la pelure** et les **membranes** du fruit, ainsi qu'en plus petite concentration dans le jus et les pépins (Garg A, Garg S, *et al.* 2001).

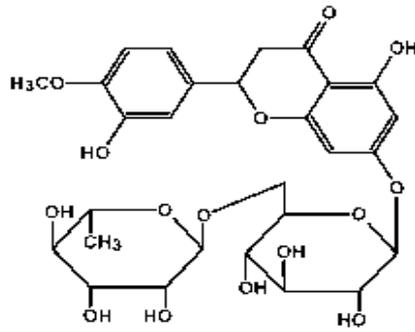


Figure (2.2) : Hespéridine (Hespéretine 7-rhamnoglucoside, hespéretine-7-rutinoside)

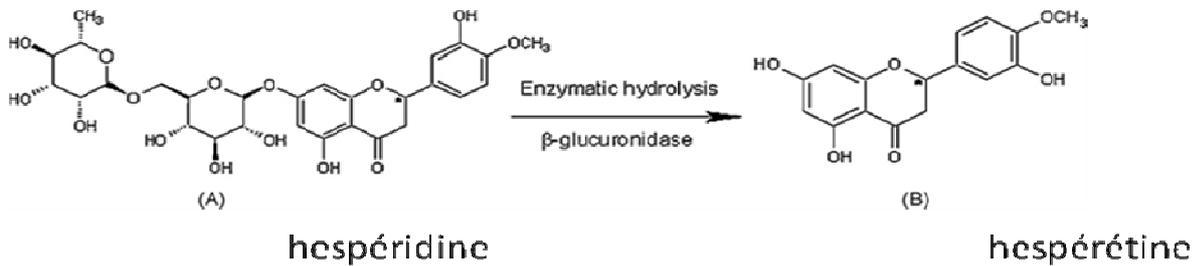


Figure (2.3) : L'effet de l'hydrolyse enzymatique sur l' hespéridine

b. Naringénine :

C'est aussi un flavonoïde présent dans l'orange. À titre de comparaison, le jus d'orange contiendrait environ cinq fois moins de naringénine que d'hespéretine. (Erlund I, Meririnne E, *et al.* 2001). Dans l'organisme, ces deux flavonoïdes possèdent une biodisponibilité très variable entre les individus.

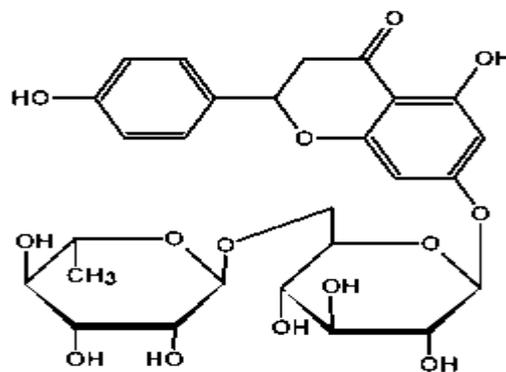


Figure (2.4): Naringine (4,5,7-Trihydroxyflavanone,Naringenin-7-neohesperidoside)

c Activités biologiques des flavonoides de l'orange

Chez l'animal, l'hespérétine, ou ses métabolites, ont démontré différents effets, comme l'inhibition de la prolifération de cellules cancéreuses (Guthrie N, *et al.*1996), la diminution de la tension artérielle (Ohtsuki K, Abe A, *et al.*, 2002) ; des triglycérides (Cha JY, Cho YS, *et al.* 2001; Kim HK, Jeong T-S, *et al.* 2003) et du cholestérol sanguin (Kim *et al.* 2003; Choi *et al.*2004). De tels résultats n'ont pas toujours été observés dans les études conduites chez l'humain. Des études d'interventions ont été effectuées afin de mesurer l'impact de la consommation de jus d'orange chez de petits groupes de sujets. Une première étude a démontré une augmentation du cholestérol-HDL (« bon » cholestérol) à la suite d'une consommation quotidienne de 750 ml (3 tasses) de jus d'orange pendant trois semaines (Kurowska *et al.*, 2000). Toutefois, les chercheurs ont également remarqué une augmentation des triglycérides sanguins (un effet non désirable). Une autre équipe de chercheurs a obtenu des résultats semblables à la suite d'une consommation d'environ 700 ml de jus d'orange chez des sujets légèrement hypercholestérolémiques (Franke *et al.*, 2005). Ces études ne permettent pas d'isoler des principes actifs en particulier, mais les auteurs précisent que la consommation de jus d'orange est un excellent moyen de se procurer des composés phytochimiques en quantité suffisante pour amener des effets intéressants sur la santé. De plus, des chercheurs ont observé des liens entre la consommation de flavonoïdes et l'incidence de maladies chroniques (Knekt al., 2002). En effet, parmi la population finlandaise, les gens consommant des quantités plus élevées d'hespérétine par leur alimentation présentaient moins de risque de souffrir de maladie vasculaire cérébrale ou de thrombose.

De plus, l'orange fut l'un des aliments démontrant la plus grande association avec la diminution de l'incidence de maladies vasculaires cérébrales.

2.2.2 Les acides phénols

Un **acide-phénol** (ou **acide phénolique**) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. La pratique courante en Phytochimie consiste à réserver ce terme aux dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique.

a) Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque: acides hydroxybenzoïques

Ils dérivent par hydroxylation de l'acide benzoïque avec une structure de base de type C6-C1. Ces hydroxyles phénoliques OH peuvent ensuite être méthylés.

Exemples :

- acide gallique, élément constitutif des tanins hydroxylables
- acide vanillique dont l'aldéhyde, la vanilline, est bien connue comme l'arôme naturel de vanille

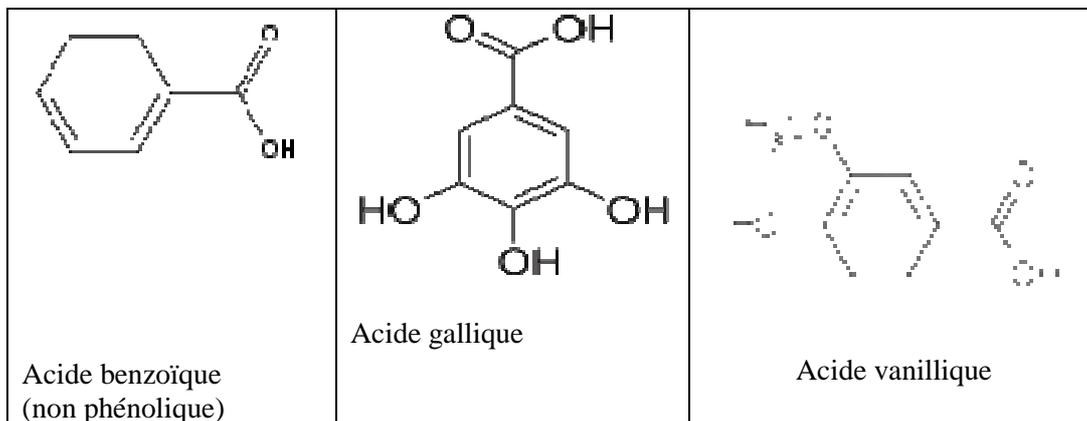
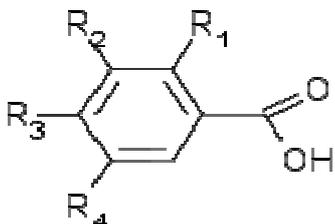


Figure (2.5) : structure de quelques acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque

Tableau 2.3 : les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque

	R1	R2	R3	R4	Formule
Acide parahydroxybenzoïque	H	H	OH	H	
acide protocatéchique	H	OH	OH	H	
acide vanillique	H	OCH3	OH	H	
acide gallique	H	OH	OH	OH	
acide syringique	H	OCH3	OH	OCH3	
acide salicylique	OH	H	H	H	
acide gentisique	OH	H	H	OH	

b)

Acides

phénoliques dérivés de l'acide cinnamique : acides hydroxycinnamiques

Les dérivés de l'acide cinnamique ont une structure de base de type C6-C3. Ils appartiennent à la grande famille des phénylpropanoïdes. Les hydroxyles phénoliques OH de ces dérivés peuvent aussi être méthylés (-O-CH3).

Exemples :

- acide paracoumarique, dont les lactones, les coumarines, sont largement distribuées dans tout le règne végétal
- acide caféique, très large représentation chez les végétaux, souvent sous forme de l'acide chlorogénique, comme dans le grain de café, le romarin, la pomme ou sous forme d'un ester dans l'artichaut et le thé de Java (orthosiphon)
- acide férulique
- acide sinapique

Dans les plantes, ces acides-phénols sont souvent sous forme d'esters d'alcools aliphatiques ou d'esters de l'acide quininique, de l'acide rosmarinique ou de glycosides.

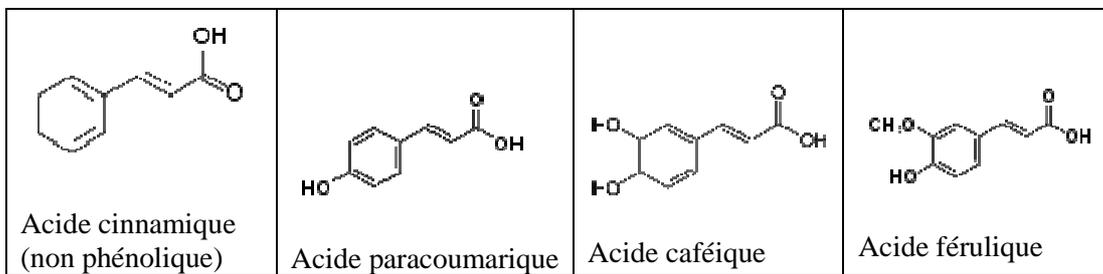
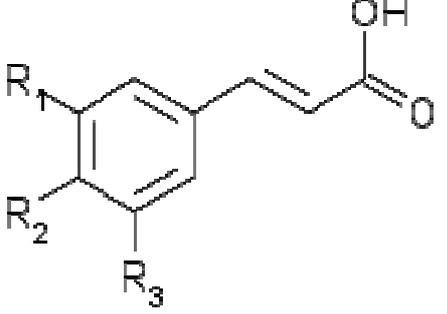


Figure (2.6) : structures de quelques acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.

Tableau 2.4 : les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique.

	R1	R2	R3	Formule
acide paracoumarique	H	OH	H	
acide caféique	OH	OH	H	
acide férulique	OCH3	OH	H	
acide sinapique	OCH3	OH	OCH3	
E-anéthole	H	OCH3	H	

c) **Les acides phénols dans le jus d'orange :**

Acide caféique :

Synonymes : acide 3,4-dihydroxycinnamique ; trans-cafféate ; 3,4-dihydroxy-trans-cinnamate.

Formule brute $C_9H_8O_4$

Masse molaire $180,1574 \pm 0,009 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Solubilité peu soluble dans l'eau et très soluble dans le méthanol.

L'acide caféique ou acide (E) 3-(3,4-dihydroxyphényl) prop-2-énoïque est un composé organique naturellement présent dans toutes les plantes car étant un intermédiaire clé dans la biosynthèse de la lignine. C'est un dérivé de l'acide cinnamique qui a une structure aussi très proche de l'acide férulique et, comme eux deux, il appartient à la grande famille des phénylpropanoïdes.

Il n'a aucun lien avec la caféine, mais est présent naturellement en très grande quantité dans le café (une tasse de café en contient 25 à 75 mg).

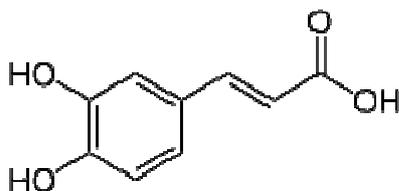


Figure (2.7) : Structure de l'acide caféique.

L'acide caféique a une structure très proche de l'acide cinnamique dont il dérive. Comme lui, il présente un groupe acrylique en bout de chaîne, mais s'en différencie par la présence de deux groupes hydroxyles sur le phényle qui lui donne des propriétés propres aux polyphénols.

Occurrence et rôle biologique :

L'acide caféique et son dérivé, l'ester caféate de phénéthyle (caffeic acid phenetyl ester – CAPE , ester de l'acide caféique et du 2-phényléthanol), sont présents dans presque toutes les plantes et en particulier en grande quantité dans le café, d'où il fut isolé pour la première fois au XIX^e siècle et dont il tire son nom. En général, il est présent sous forme estérifiée, principalement avec l'acide quinique avec lequel il forme l'acide chlorogénique. On rencontre ce dernier particulièrement dans le café mais aussi dans la pomme et l'orange. Parmi les autres formes estérifiées courantes, on trouve l'acide caféoyltartrique (ou acide caftarique) formé avec l'acide tartrique présent dans le raisin, l'acide caféoylshikimique (formé avec l'acide shikimique) naturellement présent dans la datte, l'acide caféoylmalique (formé avec l'acide malique) naturellement présent dans le radis, ou encore estérifiée avec du glucose (caféoylglucose) ou sous forme d'amide avec la putrescine (caféoylputrescine).

Il est biosynthétisé par hydroxylation de l'acide paracoumarique (sous forme ester), lui même obtenu par hydroxylation de l'acide cinnamique (éventuellement aussi obtenu via l'élimination du groupe amine de la tyrosine). C'est un précurseur de l'acide férulique, de l'alcool coniférylique et de l'alcool sinapylique, monomères de la lignine et de la lignane. La transformation de l'acide caféique en acide férulique est catalysée par une enzyme spécifique l'acide caféique-O-méthyltransférase.

Acide gallique :

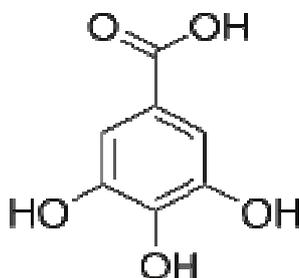


Figure (2.8) : la structure de l'acide gallique

Formule brute $C_7H_6O_5$ ($C_6H_2(OH)_3COOH$).

Masse molaire $170,1195 \pm 0,0075 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (C 49,42 %, H 3,55 %, O 47,02 %,)

Solubilité dans l'eau : $11 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$

L'acide gallique (acide 3, 4, 5-trihydroxybenzoïque) est un acide organique de couleur jaune. Cet acide se trouve à l'état naturel dans des galls de sumac, d'hamamélis, les feuilles de thé, l'écorce de chêne entre autres plantes. Les sels et esters tirés de cet acide sont appelés *gallates*. Fréquemment utilisé dans l'industrie pharmaceutique, c'est un précurseur pour la synthèse de la mescaline.

Acide paracoumarique :

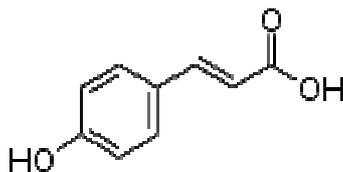


Figure (2.9) : la structure de l'acide paracoumarique

Synonymes acide *para*-4-hydroxycinnamique acide *paracoumarique*, acide coumarique

Formule brute : $C_9H_8O_3$

Masse molaire : $164,158 \pm 0,0087 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (C 65,85 %, H 4,91 %, O 29,24 %),

Solubilité : peu soluble dans l'eau, soluble dans le méthanol, l'éthanol et l'éther diéthylique .

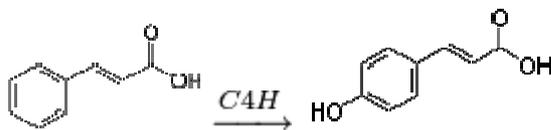
L'acide paracoumarique ou acide parahydroxycinnamique est un composé phytochimique dérivé de l'acide cinnamique de formule brute $C_9H_8O_3$. C'est l'isomère *para* de l'acide coumarique et les plus abondant des trois isomères dans la nature. Il est ainsi, par abus de langage, souvent appelé simplement acide coumarique.

Occurrence naturelle

L'acide *paracoumarique* se trouve dans une grande variété de plantes comestibles, comme les cacahouètes, les tomates, les carottes les orange et l'ail.

Biosynthèse :

L'acide paracoumarique est biosynthétisé à partir de l'acide cinnamique par l'action de l'enzyme cinnamate 4-hydroxylase (C4H), selon *la voie des phénylpropanoïdes*.



Il peut aussi être obtenu à partir de la tyrosine par l'action de l'enzyme tyrosine ammonialyase (TAL).

Précurseur :

Élément-clé *la voie des phénylpropanoïdes*, il est le précurseur de nombreux composés des différentes familles de phénylpropanoïdes :

- deux fois réduit, il donne l'alcool paracoumarique qui, avec l'alcool sinapylique et l'alcool coniférylique, est l'un des principaux constituants de la lignocellulose;
- hydroxylé, il donne l'acide caféique, qui pourra à son tour être transformé en acide férulique (qui pourra être transformé par double réduction en alcool coniférylique), et enfin en acide sinapique (qui pourra être transformé par double réduction en alcool sinapylique);
- par réaction avec le coenzyme A (CoA), il forme un thioester, le 4-coumaroyl-CoA. Ce dernier peut par la suite, par action de la chalcone synthase (CHS), être transformé en chalcone, précurseurs des flavonoïdes, ou transformé par cyclisation interne en stilbénol;
- par cyclisation interne, il peut être transformé en coumarine.

Applications :

L'acide *paracoumarique* a des propriétés antioxydantes et pourrait avoir un rôle dans la réduction de risque de cancer de l'estomac en réduisant la formation des nitrosamines, cancérigènes .

Acide férulique :

Structure

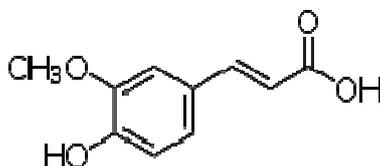


Figure (2.10) : Structure de l'acide férulique

Synonymes : acide 3-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl) acrylique acide 3-méthoxy-4-hydroxycinnamique

Formule brute : $C_{10}H_{10}O_4$

Masse molaire : $194,184 \pm 0,0099 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ C 61,85 %, H 5,19 %, O 32,96 %,

Solubilité : soluble dans l'eau et le méthanol.

L'acide férulique est un phénylpropanoïde, plus précisément un dérivé de l'acide cinnamique. Il s'agit d'un groupe acrylique lié à un cycle phényle substitué par un groupe hydroxy et un groupe méthoxy, ce qui rend sa structure extrêmement proche de celle de l'acide caféique (à partir duquel il est d'ailleurs biosynthétisé), la seule différence étant un groupe méthoxy à la place d'un groupe hydroxy. Sa structure est aussi très proche de celle de la curcumine. L'acide férulique est un acide organique présent, lui ou ses esters, dans de nombreuses plantes. Ce dérivé de l'acide cinnamique participe à la synthèse de la lignine qui forme les parois des cellules végétales et est un précurseur de molécules aromatiques. Son nom provient de *Ferula*, un genre de plantes herbacées de la famille des *Apiacées*.

Occurrence naturelle :

L'acide férulique, comme l'acide dihydroférulique, est un composé de la lignocellulose, qui sert à faire le lien entre la lignine et les polysaccharides, ce qui confère leur solidité aux parois des cellules végétales. Il est présent dans de nombreuses graines comme le riz, le blé, l'avoine mais aussi dans le café, les pommes, les artichauts, les cacahouètes, les oranges et les ananas. Il est d'ailleurs possible d'extraire l'acide férulique du son de blé ou de maïs en utilisant des bases concentrées (soude, potasse). La biosynthèse de l'acide férulique se fait par méthylation de la fonction hydroxy *meta* de l'acide caféique grâce à une enzyme spécifique, l'acide caféique-O-méthyl transférase.

L'acide férulique est aussi un intermédiaire dans la synthèse des monolignols (en particulier de l'alcool coniférylique qui est obtenu par double réduction de l'acide férulique), c'est-à-dire les monomères de la lignine, et il est aussi utilisé dans la synthèse de la lignane.

Applications :

L'acide férulique, comme de nombreux phénols, est un antioxydant dans le sens où il est réactif avec les radicaux libres comme les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO). Des études sur des animaux *in vitro* montreraient que l'acide férulique pourrait avoir une activité anti-tumorale directe dans le cas du cancer du sein ou du foie. L'acide férulique pourrait avoir des effets pro-apoptosiques dans les cellules cancéreuses, menant ainsi à leur destruction. L'acide férulique aurait aussi des effets préventifs sur les cancers induits par l'exposition à certains cancérigènes comme le benzopyrène ou le 1-oxyde 4-nitroquinoline. Ces études ne portent cependant pas sur des essais cliniques aléatoires faits sur des humains et par conséquent les résultats de ces études peuvent ne pas être directement applicables aux humains.

Ajouté à une préparation topique d'acide ascorbique et de vitamine E, l'acide férulique pourrait réduire le stress oxydant et la formation de dimères de thymine dans le derme.

Précurseur synthétique :

L'acide férulique étant très abondant, il pourrait être utile à la synthèse de la vanilline, un arôme de synthèse utilisé couramment à la place d'extraits de vanille. L'acide férulique est aussi un précurseur dans la fabrication de substances anti-microbiennes pour les savons, parfums et cosmétiques.

Spectrométrie de masse :

L'acide férulique est utilisé comme matrice pour les protéines dans la désorption-ionisation laser assistée par matrice pour les analyses par spectrométrie de masse.

Masqueur de l'amertume :

Kraft Foods a breveté en 1993 l'utilisation de l'acide férulique et de ces sels (de 0,001% à 0,2%), en particulier le férulate de sodium, comme masqueur de l'arrière goût amer d'édulcorant artificiels tels que l'acésulfame potassium et la saccharine

Acide sinapique :

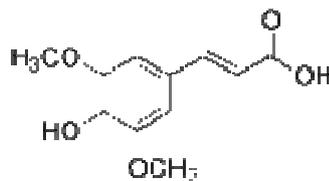


Figure (2.11) : Structure de l'acide sinapique

Synonymes : acide 4-hydroxy-3,5-diméthoxycinnamique acide sinapique acide sinapinique

Formule brute C₁₁H₁₂O₅

Masse molaire : 224,21 ± 0,0111 g·mol⁻¹ C 58,93 %, H 5,39 %, O 35,68 %,

Solubilité : THF: 0.446 M ;éthanol: 0.435 M ;méthanol: 0.575 M

L'acide sinapique (ou parfois *acide sinapinique*) ou acide 3,5-diméthoxy-4-hydroxycinnamique est un composé phytochimique dérivé de l'acide cinnamique de formule brute $C_{11}H_{12}O_5$. Il fait partie des acides phénoliques.

Il est couramment utilisé comme matrice en spectroscopie de masse (MALDI) pour sa capacité à absorber les radiations laser, ainsi que pour sa capacité à donner des protons (H^+) à l'analyte. C'est une matrice utile pour une grande variété de peptides et de protéines.

Occurrence naturelle :

L'acide sinapique et ses esters (sinapoylglucose, sinapoylmalate et plus rarement synapoylcholine) se trouvent dans une large variété de plantes, en grande quantité dans les plantes oléagineuses (contiennent des huiles) (et en général dans les Brassicaceae /Crucifères), et tout particulièrement dans les graines de colza. La teneur en acides phénoliques est d'ailleurs significativement plus grande dans le colza que dans les autres cultures oléagineuses (ex: taux dans l'arachide : $636 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, colza : $6\,399 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), la plus grosse part (entre 70 et 85%) venant de l'acide sinapique et de ses esters.

Dans les plantes, l'acide sinapique est biosynthétisé à partir de l'acide cinnamique, lui même synthétisé à partir de la phénylalanine. L'acide cinnamique subit par la suite des méthylations et des hydroxylations donnant l'acide paracoumarique (qui peut aussi être obtenu à partir de la tyrosine), l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide 5-hydroxyférulique. Ce dernier est finalement transformé en acide sinapique par méthylation d'une de ses fonctions hydroxyles (transformation en méthoxy) grâce à l'enzyme O-méthyltrasférase (OMT).

Acide protocatéchique :

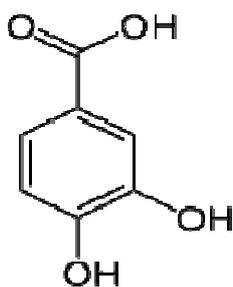


Figure (2.12) : Structure de l'acide protocatéchique

Formule brute : $C_7H_6O_4$

Masse molaire : $154,1201 \pm 0,0072 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ C 54,55 %, H 3,92 %, O 41,52 %,

Solubilité : $20 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ eau à $20 \text{ }^\circ\text{C}$

References de Chapitre2:

- Battinelli L, Mengoni F, *et al.* Effect of limonin and nomilin on HIV-1 replication on infected human mononuclear cells. *Planta Med* 2003 October;69(10):910-3.

- *Breast Cancer Res.* 2004 Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action.; 6(2): R63-74. Epub 2003 Dec 15
- Brouillard R., Chassaing S., Fougerousse A.(2003). Why are grape/fresh wine anthocyanins so simple and why is it that red wine color lasts so long? *Phytochemistry*, 64, 1179-1186.
- Bruneton, J., *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée*, Tec & Doc - Éditions médicales internationales, Paris, 2009, 1288 p. (ISBN 978-2-7430-1188-8)
- Cha JY, Cho YS, *et al.* Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. *Plant Foods Hum Nutr* 2001;56(4):349-58.
- Choi GS, Lee S, Jeong TS *et al.* Evaluation of hesperetin 7-O-lauryl ether as lipid-lowering agent in high-cholesterol-fed rats. *Bioorg Med Chem* 2004 July 1;12(13):3599-605.
- Dreosti I.E. (2000). Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*, 16, 692-694.
- Durbin M.L., Lundy K.E., Morrell P.L., Torres-Martinez C.L., Clegg M.T. (2003) .Genes that determine flower color: the role of regulatory changes in the evolution of phenotypic adaptations. *Mol.Phylogenet.Evol.*, 29, 507-518.
- Duthie G.G., Gardner P.T., Kyle J.A. (2003). Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proc.Nutr.Soc.*, 62, 599-603.
- Erlund I, Meririnne E, *et al.* Plasma kinetics and urinary excretion of the flavanones naringenin and hesperetin in humans after ingestion of orange juice and grapefruit juice. *J Nutr* 2001 February;131(2):235-41.
- Ferulic acid stabilizes a solution of vitamins C and E and doubles its photoprotection of skin. *J Invest Dermatol.* 2005 Oct; 125(4): 826-32. PMID:16185284
- Franke AA, Cooney RV, *et al.* Bioavailability and antioxidant effects of orange juice components in humans. *J Agric Food Chem* 2005 June 29;53(13):5170-8.
- Garg A, Garg S, *et al.* Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother Res* 2001 December;15(8):655-69.
- German J.B., Walzem R.L. (2000). The health benefits of wine. *Annu.Rev.Nutr.*, 20, 561-593.
- Guthrie N, *et al.* So FV, Inhibition of human breast cancer cell proliferation and delay of mammary tumorigenesis by flavonoids and citrus juices. *Nutr Cancer* 1996;26(2):167-81.
- Harborne J.B., Williams C.A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.
- Keevil JG, Osman HE, *et al.* Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation. *J Nutr* 2000 January;130(1):53-6.
- Kim HK, Jeong T-S, *et al.* Lipid-lowering efficacy of hesperetin metabolites in high-cholesterol fed rats. *Clinica Chimica Acta* 2003;327:129-37.
- Knekt P, Kumpulainen J, Jarvinen R *et al.* Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am J Clin Nutr* 2002 September;76(3):560-8.
- Kurowska EM, Banh C, *et al.* Regulation of apo B production in HepG2 cells by citrus limonoids. In: Berhow MA, Hasegawa S, Manners GD, editors. *Citrus Limonoids Functional Chemicals in Agriculture and Foods*. American Chemical Society ed. Washington, DC: 2000. p. 175-84.

- Kurowska EM, Spence JD, *et al.* HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 2000 November;72(5):1095-100.
- Lam LKT, Hasegawa S, *et al.* Limonin and nomilin inhibitory effects on chemical-induced tumorigenesis. In: Berhow MA, Hasegawa S, Manners GD, editors. *Citrus Limonoids Functional Chemicals in Agriculture and Foods*. American Chemical Society ed. Washington, DC: 2000. p. 185-200.
- MARINI, D. ; BALESTRIERI, F. 1994. Variability of Some Analytical Characteristics of Orange Juice. *Italian Journal of Food Science*. 6 (2): 225-235.
- Miller EG, Gonzales-Sanders AP, *et al.* Citrus limonoids as inhibitors of oral carcinogenesis. *Food Technol* 1994;48:110-4.
- Miller EG, Porter JL, *et al.* Further studies on the anticancer activity of citrus limonoids. *J Agric Food Chem* 2004 July 28;52(15):4908-12.
- Ohtsuki K, Abe A, *et al.* Effects of long-term administration of hesperidin and glucosyl hesperidin to spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2002 October;48(5):420-2.
- Poulose SM, Harris ED, Patil BS. Citrus limonoids induce apoptosis in human neuroblastoma cells and have radical scavenging activity. *J Nutr* 2005 April;135(4):870-7.
- PUPIN, A. M.; DENNIS, M. J.; TOLEDO, M. C. F. 1998. Flavanone Glycosides in Brazilian Orange Juice. *Food Chemistry*. 61 (3): 275-280.
- Raphael TJ, Kuttan G. Effect of naturally occurring triterpenoids glycyrrhizic acid, ursolic acid, oleanolic acid and nomilin on the immune system. *Phytomedicine* 2003;10(6-7):483-9.
- Sanchez-Moreno C, Cano MP, *et al.* High-pressurized orange juice consumption affects plasma vitamin C, antioxidative status and inflammatory markers in healthy humans. *J Nutr* 2003 July;133(7):2204-9.
- Sawalha *et al.* S.M.S. / *Food Chemistry* 116 (2009) 567–574.
- Tian Q, Miller EG, *et al.* Differential inhibition of human cancer cell proliferation by citrus limonoids. *Nutr Cancer* 2001;40(2):180-4.
- Vinson JA, Liang X, *et al.* Polyphenol antioxidants in citrus juices: in vitro and in vivo studies relevant to heart disease. *Adv Exp Med Biol* 2002; 505:113-22.
- Wang H., Race E.J., Shrikhande A.J. (2003). Anthocyanin transformation in Cabernet Sauvignon wine during aging. *J.Agric.Food Chem.*, 51, 7989-7994.
- Yu J, Wang L, *et al.* Antioxidant activity of citrus limonoids, flavonoids, and coumarins. *J Agric Food Chem* 2005 March 23;53(6):2009-14.

CHAPITRE 3

MATERIELS ET METHODES

3. Matériels et méthodes

3.1 Solvant

Tous les solvants que nous avons utilisés en chromatographie analytique étaient de grade HPLC, et ils ont été refiltrés. Ceux utilisés pour la chromatographie préparative et pour l'extraction étaient d'une pureté > 99%. L'eau est distillée et filtrée. Les solvants deutérés utilisés pour l' RMN étaient le D₂O et le DMSO-d₆.

3.2 Appareillage

- Évaporateur sous pression réduite.
- Centrifugeuse.
- HPLC analytique : L'appareil utilisé était du type Shimadzu (Tokyo, Japan) équipé de :

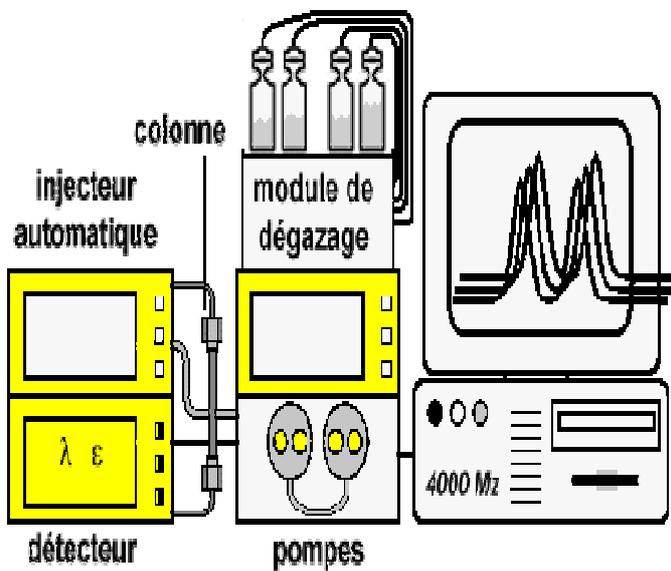


Figure (3.1): A gauche, Schéma de principe d'une chaîne HPLC, à droite, une HPLC shimadzu

-Une colonne garnie de silice greffée au C18 de type Nucleosil 100, diamètre des billes de silice 5 µm.

-Un détecteur à lampe UV/vis de type SPD-10Avp.

-Deux pompes (Scl-10AVP) A et B.

-Dégazeur (modèle DGU-14A).

-Un System de control de type SCL-10Avp.

L'ensemble est piloté par un logiciel appelé CLASS-VP 5.0

- Débit : 1mL/mn.

Première partie

Préparation de la matière pour la purification de polyphénols

3.3 Préparation de la matière pour la purification de polyphénols :

Nous avons utilisé deux procédés d'extraction le premier concerne Les oranges fraîches et le deuxième concerne la peau d'orange sèche et broyée.

3.3.1 Extraction de l'orange fraîche

Les oranges fraîches (mandarine) ont été râpées. Environ 1Kg de matière a été utilisé pour l'extraction dans une ampoule à décanter de 2L avec du méthanol. La macération a duré environ 24 heures à température ambiante. Filtré, l'extrait obtenu est concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif, en vue d'éliminer le méthanol.

A - EXTRACTION LIQUIDE-LIQUIDE:

L'extrait aqueux obtenu de la matière fraîche d'orange (mandarine) est soumis à une délipidation dans une ampoule à décanter à l'éther de pétrole en vue de le débarrasser des lipides, des xanthophylles...etc. L'extrait aqueux issu de cette opération est soumis à l'extraction à l'éther di-éthylique et finalement à l'acétate d'éthyle,

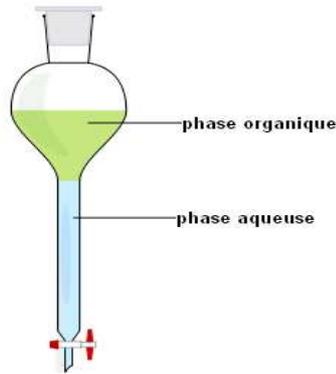


Figure 0.2): extraction dans une ampoule à décanter

Purification de la phase organique:

A partir de la phase acétate d'éthyle, nous avons purifié par essai de recristallisation, les produits N1, N4 (orange) ; N2, N5 (mandarine) et N3 (jus Nectar orange) les produits ne s'étaient pas cristallisés mais obtenus purs à l'état de poudre amorphe. D'après la récupération par le MeOH.

Le produit N6 a été isolé à partir du Flavédo d'orange fraîche et le produit N8 à partir de la mandarine fraîche et utilisé l'acétone comme un solvant d'extraction..

Purification de la phase aqueuse :

Le produit N9 a été obtenu à partir du totum principal de l'extrait de la pulpe d'orange.

Le squelette suivant résume l'extraction à partir de la matière fraîche d'orange (mandarine ou jus nectar d'orange) :

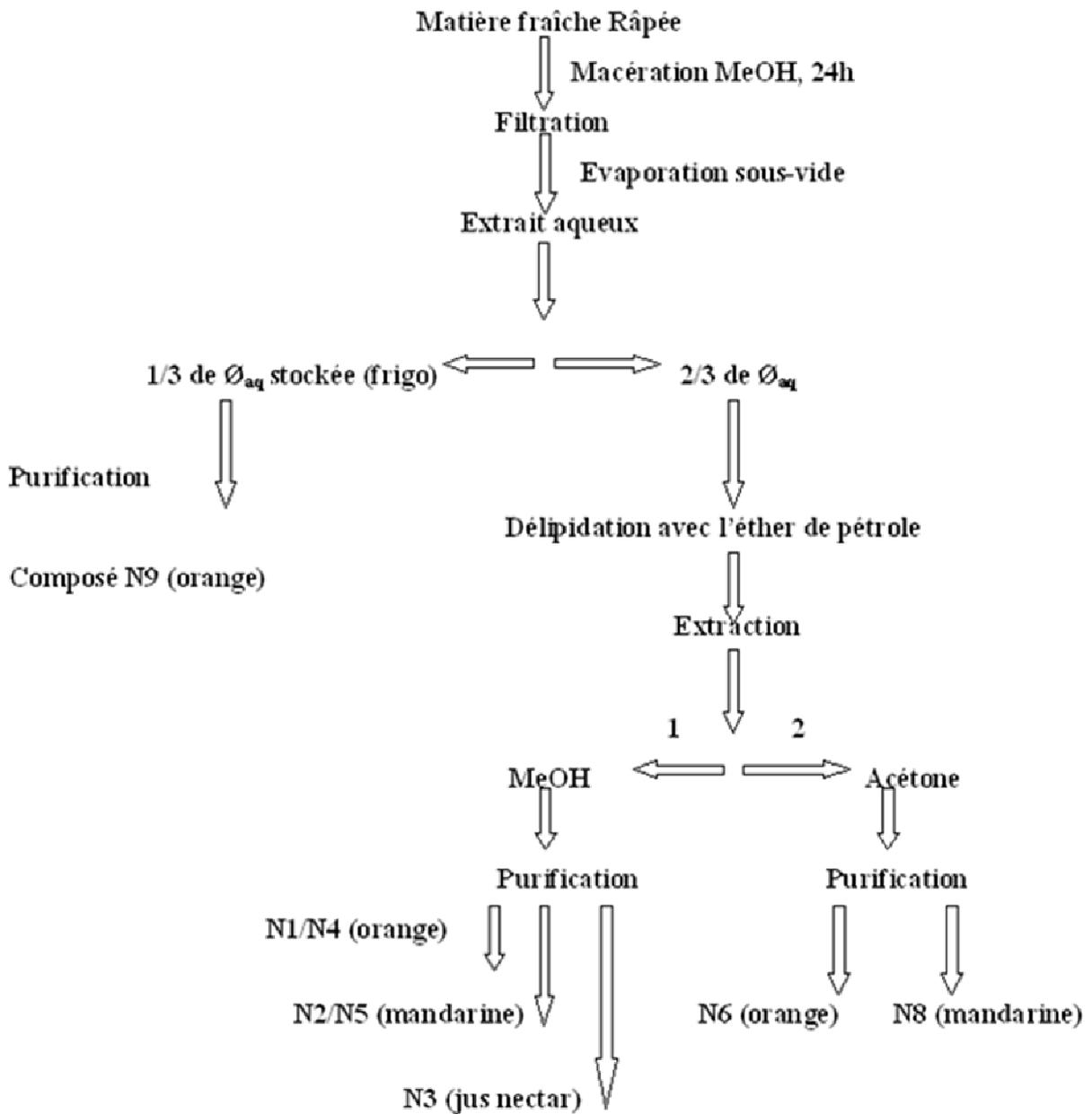


Figure (3.B) : Organigramme d'extraction et de purification des produits

B- CHROMATOGRAPHIE PREPARATIVE SUR COUCHE MINCE

La séparation et la purification des différents composés sont fondées sur des techniques chromatographiques sur couche mince avec indicateur de fluorescence UV_{254} , pour identifier les substances en fonction de leur façon de migrer dans les conditions données. La méthode CCM est efficace et rapide et associe la sensibilité à la simplicité. L'éluant utilisé est un mélange de $CHCl_3/MeOH/HCOOH$, 85/15/3 (v/v).

La migration (verticale) est fonction de la polarité des substances, de la polarité de l'éluant (phase mobile) et du pouvoir d'adsorption de la phase stationnaire.

Les phases suivantes (éther de pétrole ; éther di-éthylique et l'acétate d'éthyle) ont été purifiés par cette technique, mais les produits obtenus n'étaient pas sous forme solide, donc impossible de les peser correctement en l'absence de lyophilisateur (ces produits sont stockés).

3.3.2 Extraction à partir de la peau d'orange sèche (Flavédo) (N. Aghel, Z. Ramezani and S. Beiranvand.2008)

La peau de l'orange séchée était broyée et soumise à l'extraction avec deux procédures :

Deux cents grammes de cette poudre ont été placés dans un condenseur à reflux. Un litre d'éther de pétrole a été ajouté et chauffé au reflux sur un bain d'eau pendant 1 h. Après filtration du mélange à chaud, la poudre a été mise à sécher à la température ambiante. La poudre sèche a été retournée dans le flacon et 1 L de méthanol a été ajouté. Le contenu a été chauffé au reflux pendant 3 h encore et le mélange chaud a été filtré et lavé avec 200 ml de méthanol. Le filtrat a été concentré à pression réduite, laissant un résidu sirupeux.

Purification de la poudre amorphe : Du DMF a été ajouté à la poudre (7 ml g^{-1} de sirop), un peu d'acide acétique glacial a été ajouté à la solution de formamide. La solution a été alors filtrée donnant lieu à une poudre blanc-cassée.

Deuxième partie

Dosage des polyphenols dans des jus commerciaux

3.4 Dosage des polyphénols dans des jus commerciaux

3.4.1 Solvants utilisés

Les solvants utilisés sont A: H₂O/ (TFA (1%)), (97,5/2,5 V/V) et le solvant B était le méthanol grade HPLC.

3.4.2 Préparation des échantillons de jus

Les jus sont préparés en ajoutant 2ml de DMSO et 2ml de MeOH pour bien dissoudre les composés qui pourraient déposer avec le temps tels que les flavonoïdes puis centrifugés à l'aide d'une centrifugeuse, le surnageant est filtré

3.4.3 Injection

10 µl du surnageant préparé par le procédé ci-dessous est additionné de 10 µl d'H₂O et sont injectés manuellement dans la boucle d'injection de l'appareil HPLC. La détection se fait à ; 286 et 306 nm (longueurs d'ondes caractéristiques de la plupart des polyphénols).

3.4.4 Échantillons de jus étudiés

Seize échantillons de jus disponibles dans le commerce à Guelma et à Alger (2009 et 2010) ont été analysés pour leur teneur en polyphénols. Les échantillons de jus sont : Vita jus nectar orange ; Rouïba orange ; izdihar mix fruit ; Vita jus orange sanguine et grenade ; izdihar tropical fruit ; rami orange ; rami mûre ; rami mandarine ; la Belle orange ; la Belle pêche et orange ; Yes orange ; Tchinator orange ; Fruitdor orange ; Mon gout orange; Rouïba orange et carotte et Rouïba citronnade.

3.4.5 Standards

Les composés que nous avons purifiés à partir du jus d'orange et que nous avons dosés dans les seize variétés de jus mentionnés précédemment sont : L'héspéridine ; la diosmine ; la β carotène ;

L'acide citrique et l'acide ascorbique sont commerciaux

Les acides phénoliques ont été fournis par le groupe GESVAB (France) et sont; l'acide férulique, l'acide sinapique, l'acide gallique, l'acide p-coumarique et l'acide caféique.

La rutine et la quercétine ont été purifiés à partir de la tomate (Hamamdia et al. 2010)

3.4.6. Préparation des gammes étalons

La solution mère est préparée à la base d'une masse connue de chacun des standards purs dans un volume précis de mélange de solvants (méthanol/DMSO) (v/v). De cette solution mère nous avons fait les injections suivantes: 10, 7,5, 5 et 2,5 µl. Les courbes étalons sont ensuite tracées pour chacun des standards.

3.4.7. Analyses par HPLC

Les analyses ont été faites sur un appareil du type Shimadzu (Tokyo, Japan). Le gradient utilisé est donné au tableau ci-dessous :

Tableau 3.1 : Gradient HPLC analytique.

Tem ps (mn :sec)	A%	B %	Débit (ml/min)
1	84	16	1
15	50	50	1
30	30	70	1
45	0	100	1
50	0	100	1
55	84	16	1
60	0	0	1

La figure 3.4 ci-dessous montre un chromatogramme HPLC d'une variété de jus Rami-orange ceux des autres variétés seront présentés au chapitre 4.

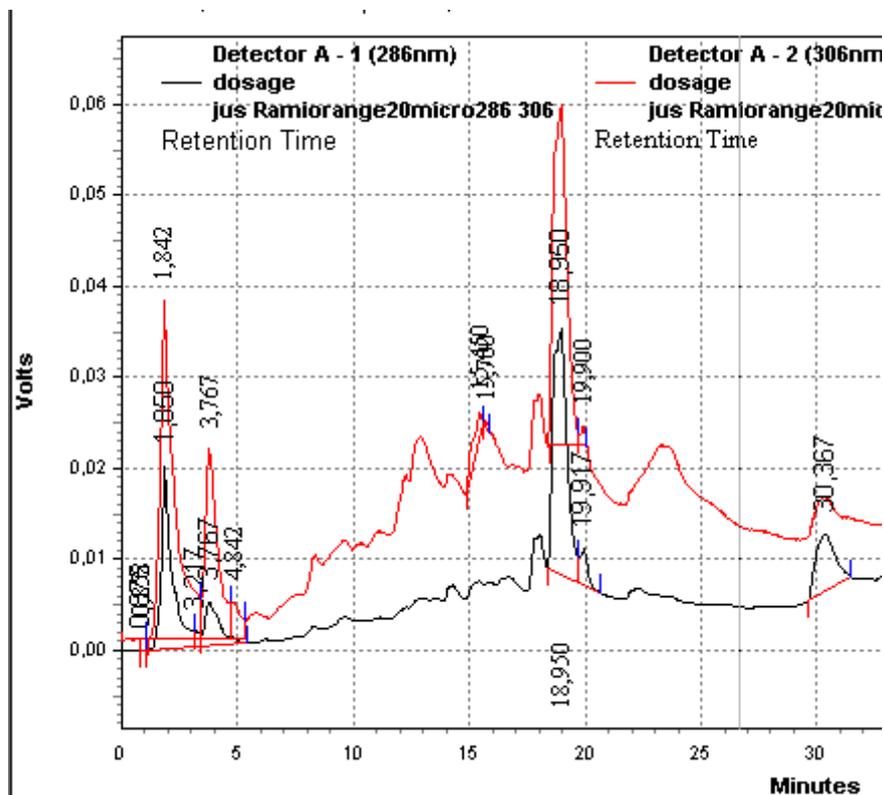


Figure (3.4) : Chromatogramme du jus Rami-orange à 280 nm et à 306nm. (Tr=1,84mn: acide ascorbique, Tr=3,76 mn : Acide gallique ; Tr=14,30 mn : Acide caféique, Tr=18,95 mn : Hespéridine, Tr=23,37 mn: Diosmine).

3.4.8. Intégration

Une intégration consiste à mesurer la surface sous un pic. La détection d'un pic chromatographique par l'intégrateur, dépend de 2 paramètres:

- la largeur attendue des pics
- le seuil d'intégration (sensibilité)

La largeur de pic est à peu près prévisible en fonctions de la technique d'analyse et des conditions opératoires. Elle détermine la fréquence d'échantillonnage du signal. Le pic est alors découpé en tranches. Le seuil d'intégration est la valeur du signal à partir de laquelle le calculateur repère un début de pic. Nous présenterons au chapitre 4, les données d'intégration pour les échantillons de jus étudiés.

References du chapitre3:

- Hamamdia, F.Z., Amira-Guebailia H., 2010, mémoire de Magister, *Recherche de stilbènes et de flavonoïdes dans diverses variétés de tomate et effet de la transformation en conserve de tomate sur la composition chimique de celle-ci*, Université du 08 Mai 1945, Guelma
- (Aghel, N. Ramezani .Z and Beiranvand. S): 2008 Pakistan Journal of Biological Sciences *Hesperidin from Citrus sinensis Cultivated in Dezful, Iran/ Volume: 11 / Issue: 20 / Page No.: 2451-2453*

PREMIERE PARTIE

**CARACTERISATION DES PRINCIPAUX COMPOSES ISOLES A
PARTIR DE L'ORANGE (*CITRUS SINENSIS. L*), MANDARINE
ET VITAJUS NECTAR D'ORANGE**

4.1 CARACTERISATION DES PRINCIPAUX COMPOSES ISOLÉS A PARTIR DE L'ORANGE (*CITRUS SINENSIS. L*), MANDARINE ET VITAJUS NECRATE D'ORANGE

Dans cette partie du chapitre, nous allons présenter les composés que nous avons isolés à partir de l'orange (mandarine, jus) et que dont la structure a été identifiée par spectroscopie IR et RMN.

Certains composés purs n'ont pas encore été complètement identifiés, nous ne possédons pour le moment que leur spectre IR qui montre bien qu'il s'agit de molécules polyphénoliques.

Les figures suivantes représentent les données spectroscopiques des produits isolés : UV, IR et RMN

4.1.1 Molécules complètement identifiées

a- Hespéridine (N6, flavédo, orange)

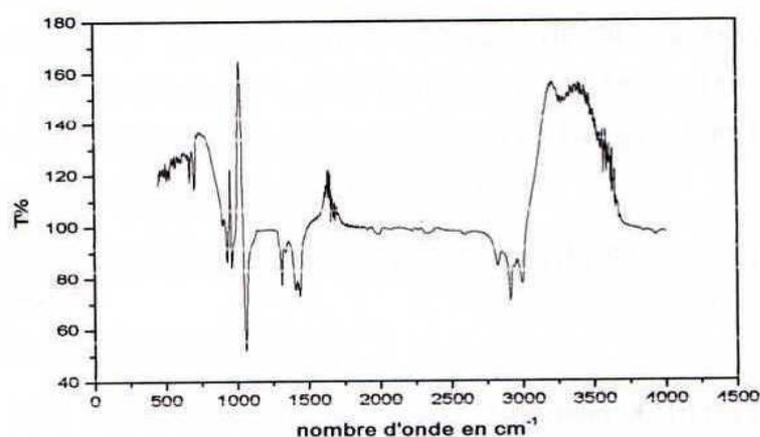


Figure (4.1) : spectre IR d'hespéridine

Le spectre IR sur disque de KBr montre : une bande forte de l'OH à 3550 et 3200 cm^{-1} , C-H (aliphatique) à 3000, 2950 et 2800 cm^{-1} , C=C (aromatique) à 1646 et 1500 cm^{-1} , CH₃ alcane à 1400, C=O à 1648 cm^{-1} , C-O éther à 1350, 1256 et 1050 cm^{-1} , déformation à 900, 850 et 700 (benzène).

En comparant les données du spectre IR du composé N6 à des données de la littérature, nous avons conclu que le composé N6 coïncide bien avec un flavonoïde : L'hespéridine. Une deuxième confirmation de cette structure était la longueur d'onde d'absorption vérifiée par HPLC (286 nm). L'RMN du proton nous permettra de décider définitivement sur la structure de cette molécule.

L'importance biologique de cette molécule et son utilisation autant que médicament a été discutée au chapitre (2)

b- Diosmine N7 (orange)

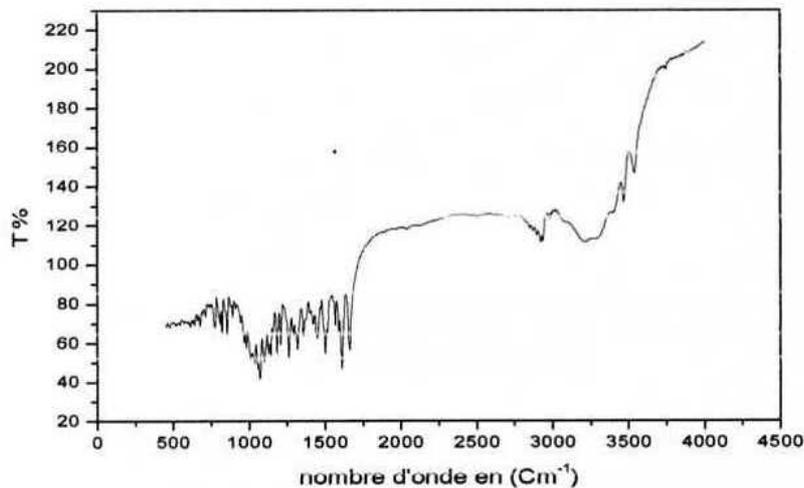


Figure (4.2) : spectre IR de diosmine

Cette molécule a été obtenue sous forme de poudre de couleur beige. son spectre IR (figure 4.6) montre: une bande forte correspondant à un hydroxyle OH à 3550 et 3450 cm^{-1} , C-H (aliphatique) à 3400, 3000 et 2600 cm^{-1} , C=C (aromatique) à 1580 et 1500 cm^{-1} CH₃ alcane à 1450, C=O à 1700 cm^{-1} , C-O éther à 1300, 1220, 1100 et 1050 cm^{-1} , OII alcools déformation dans le plan à 1410 et 1330, déformation à 900, 850 et 700.

Les données spectrales IR de N7 ont été comparées à celles du composé N10 ci-dessous.

c- N10 (isolé à partir d'un extrait standard)

Dans cette partie, nous avons utilisé un extrait qui contient 90/10 (% masse) de Diosmine/Hespéridine (N10/ Hespéridine). Nous avons séparé les deux molécules et nous avons identifié par IR chacune d'entre elles.

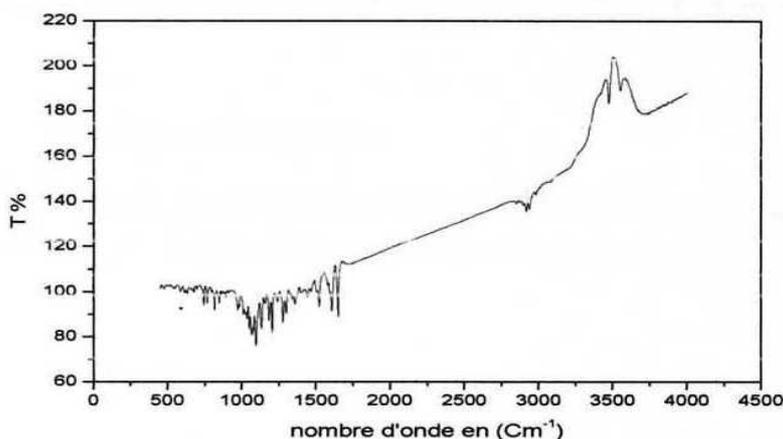


Figure (4.3) : spectre IR de diosmine standard

Le spectre IR sur disque de KBr montre : une bande forte OH à 3590, 3550 et 3450 cm^{-1} , C-H (aliphatique) à 2450 et 2425 cm^{-1} , C=C (aromatique) à 1680 et 1510 cm^{-1} , CH₃ alcane à 1450, C=O à 1700 cm^{-1} , C-O éther à 1300, 1275, 1200 et 1150 cm^{-1} , déformation à 850 et 700.

Le spectre IR des deux molécules N7 et N10 coïncident bien avec les données de la littérature du flavonoïde ; la diosmine.

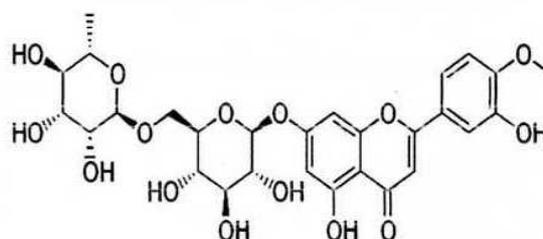


Figure (4.4): structure de la diosmine

(C₂₈H₃₂O₁₅, masse molaire : 608.55 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$),

La diosmine est un polyphénol appartenant à la sous classe des flavonoïdes dont la structure est très proche de celle de l'Hespéridine, la seule différence est l'existence de la double liaison (C2-C3) c'est donc un flavonone glycosilé en position 7. Son importance sur le plan pharmacologique est due à son effet protecteur de vaisseaux et phlébotonique; actuellement, il est utilisé pour traiter l'insuffisance veineuse chronique, les hémorroïdes, le lymphedema, et les varices. La diosmine présente également un effet anti-inflammatoire, anti radicalaire, et anti mutagénique. Cette molécule d'origine naturelle a été employée pendant plus de 30 années comme agent phlébotonique et vasculo-protecteur. Récemment, on a commencé à étudier la possibilité de

l'utiliser à d'autres fins thérapeutiques, y compris le cancer, le syndrome prémenstruel, la colite, et le diabète.

4.1.2 Molécules non complètement identifiées

Les molécules (N1-N2, N4 et N5) ont été isolées à partir de l'orange (mandarine) sous forme de poudre blanchâtre et ont été analysées par IR en attente de leur spectre RMN:

a- N1 (orange)

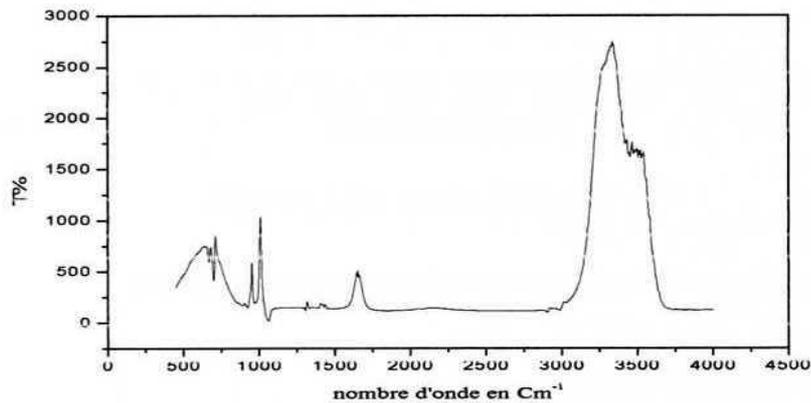


Figure (4.5) : spectre IR de N1

b- N2 (mandarine)

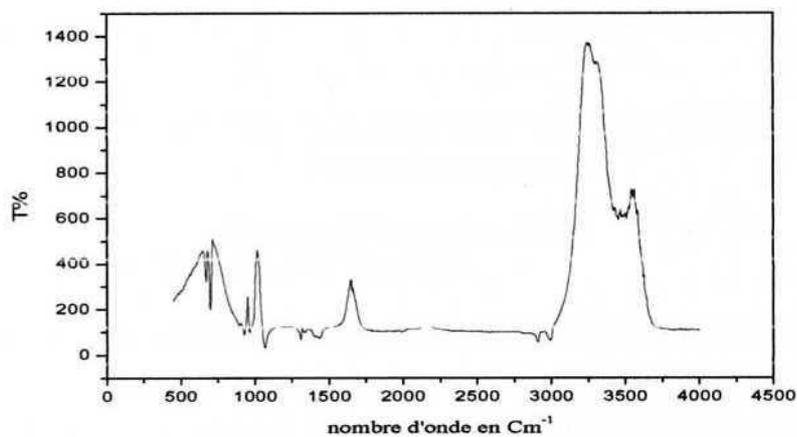


Figure (4.6) : spectre IR de N2

c- N4 (orange)

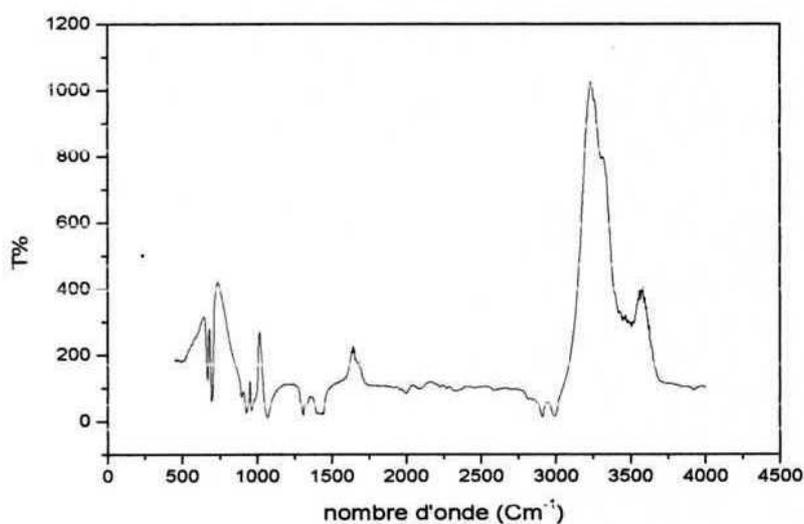


Figure (4.7) : spectre IR de N4

d- N5 (mandarine)

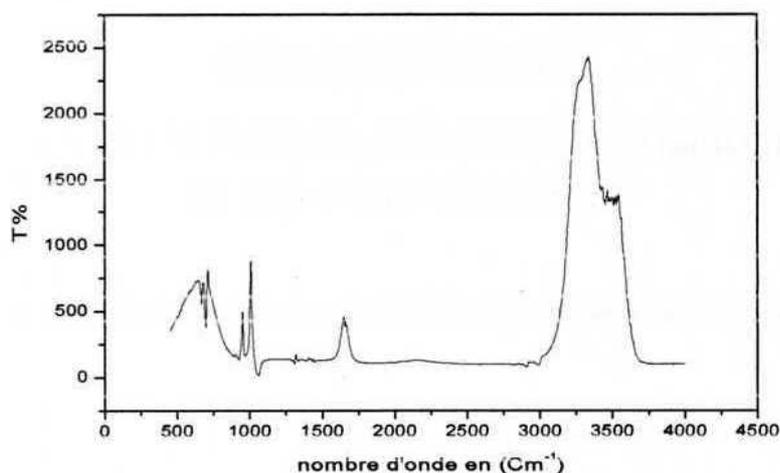


Figure (4.8) : spectre IR N5

Interprétation des spectres IR de N1, N2, N4 et N5 :

La superposition des spectres IR des quatre molécules montre qu'elles sont identiques et montrent les absorptions suivantes : une bande forte à 3550, 3500 (OH) et 3400 cm^{-1} , C-O éther à 1350, 1100 et 1000 cm^{-1} , C=O acétone à 1700 cm^{-1} , CH_3 alcane à 1400 cm^{-1} , déformation à 900, 700 cm^{-1} .

Concernant la solubilité, les trois composés (N1, N2, N5) sont solubles dans le DMSO, N4 lui, ne l'est pas mais il est soluble dans l'eau. Donc, N4 n'est pas identique à ces trois composés comme le suggère les spectres IR.

f) Molécules N8 et N9 : Les molécules N8 (mandarine) et N9 (orange) ont été envoyées en RMN, nous n'avons aucune donnée pour le moment pour les identifier.

DEUXIEME PARTIE

**DOSAGE DES PRODUITS PURIFIES, DES ACIDES ASCORBIQUE ET CITRIQUE
ET DES ACIDES PHENOLS**

4.2 Dosage des produits purifiés, des acides ascorbique et citrique et des acides phénols :

Les molécules dosées sont :

- **L'hésperidine et la diosmine** (purifiées de l'orange et identifiées dans la première partie de ce chapitre)

- **La quercétine** (Formule brute : $C_{15}H_{10}O_7$, T^0 de fusion : 316 °C, masse molaire : 302,2357 \pm 0,0148 $g \cdot mol^{-1}$ C 59,61 %, H 3,33 %, O 37,06 %) isolée à partir de la tomate :

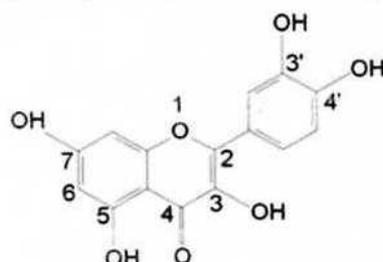


Figure (4.9) : structure de la quercétine

La quercétine ou quercétol est un flavonoïde du type flavonol présent chez les plantes comme métabolite secondaire, le quercétol est le plus actif des flavonoïdes et de nombreuses plantes médicinales doivent leur efficacité à leur fort taux en quercétol. Les études *in vitro* et *in vivo* ont montré que c'était un excellent antioxydant (Andreas Kampkötter et al. 2008).

- **La rutine** (rutoside): (formule brute : $C_{27}H_{30}O_{16}$, T^0 de fusion: 125 °C masse molaire : 610,5175 \pm 0,0285 $g \cdot mol^{-1}$ C 53,12 %, H 4,95 %, O 41,93 %)

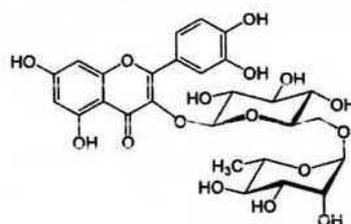


Figure (4.10) : structure de la rutine

C'est un flavonoïde naturel de la classe des flavonols, il est glycosilé en position 3. La rutine possède des propriétés pharmacologiques intéressantes. Elle est hydrolysée en quercétol dans le tractus gastro-intestinal. De nombreuses études ont montré que la rutine était capable de piéger les radicaux libres, d'être dotée d'une puissante activité antioxydante, d'avoir des effets anti-inflammatoires et anticancéreuses et de réduire la cytotoxicité de la lipoprotéine LDL (le mauvais cholestérol) oxydé (Guardia T, et al., 2001).

-Les acides phénols (propriétés et structures présentées au chapitre 2) : **acide gallique, acide caféique, acide férulique, acide p- coumarique, acide sinapique, acide ascorbique et acide citrique.**

3.2.1. Données chromatographiques des standards :

Les figures suivantes représentent les spectres HPLC et les courbes étalons des différents composés à doser.

Hesperidine :

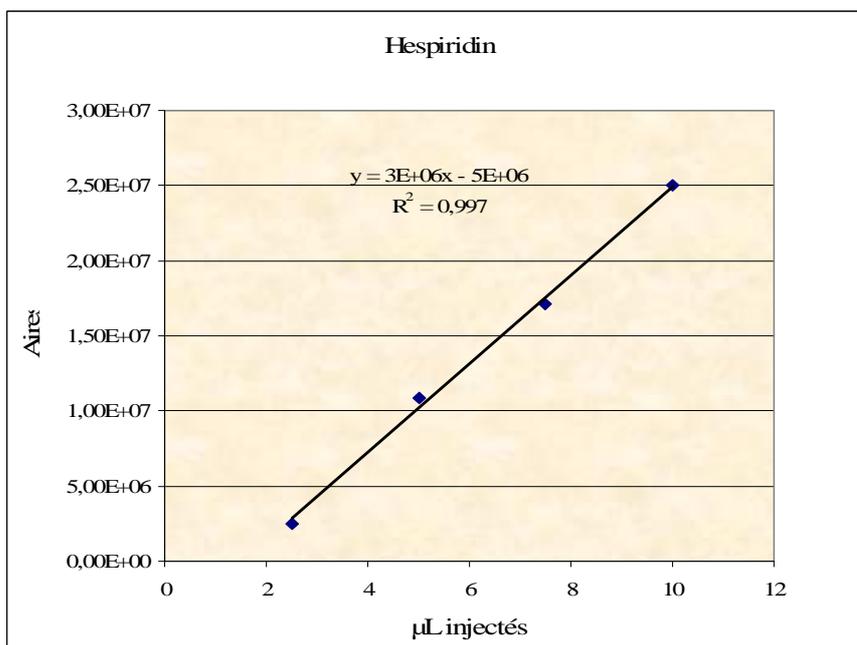


Figure (4.) : Courbe étalon de l'Hesperidine

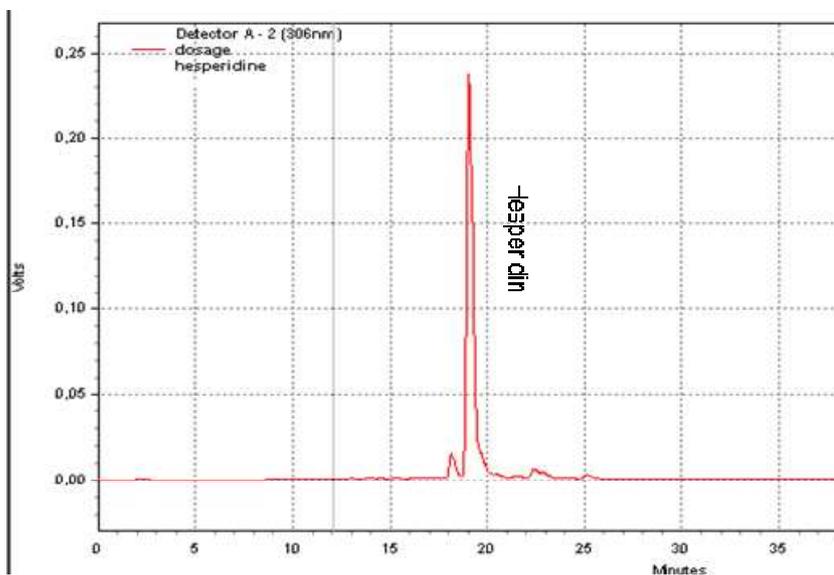


Figure (4.) : Le chromatographe d' HPLC de l'hesperidine

Diosmine :

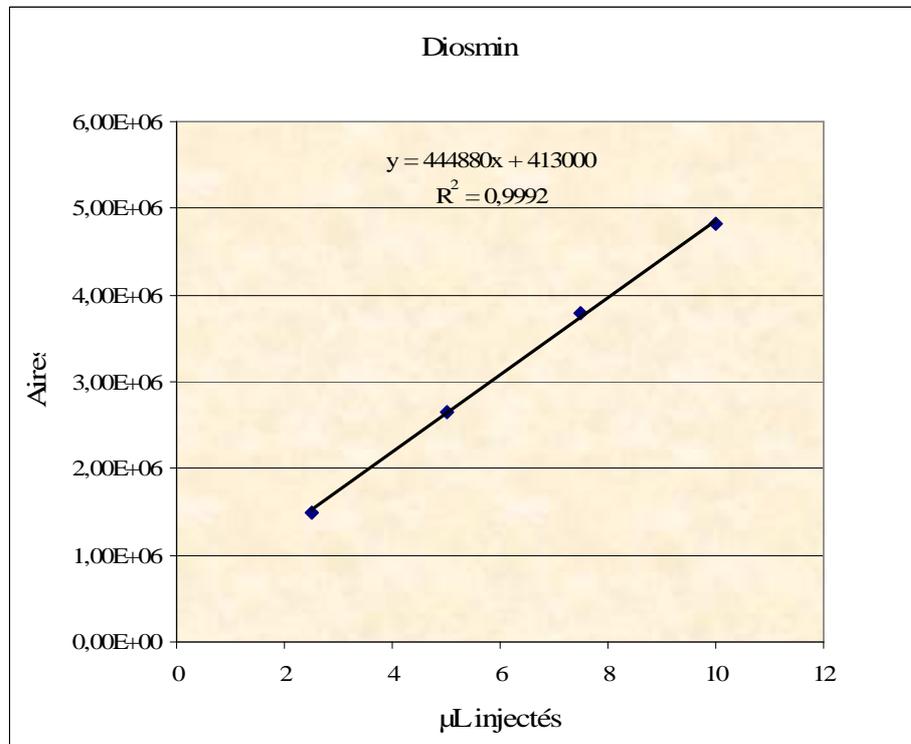


Figure (4.) : Courbe étalon de la Diosmine

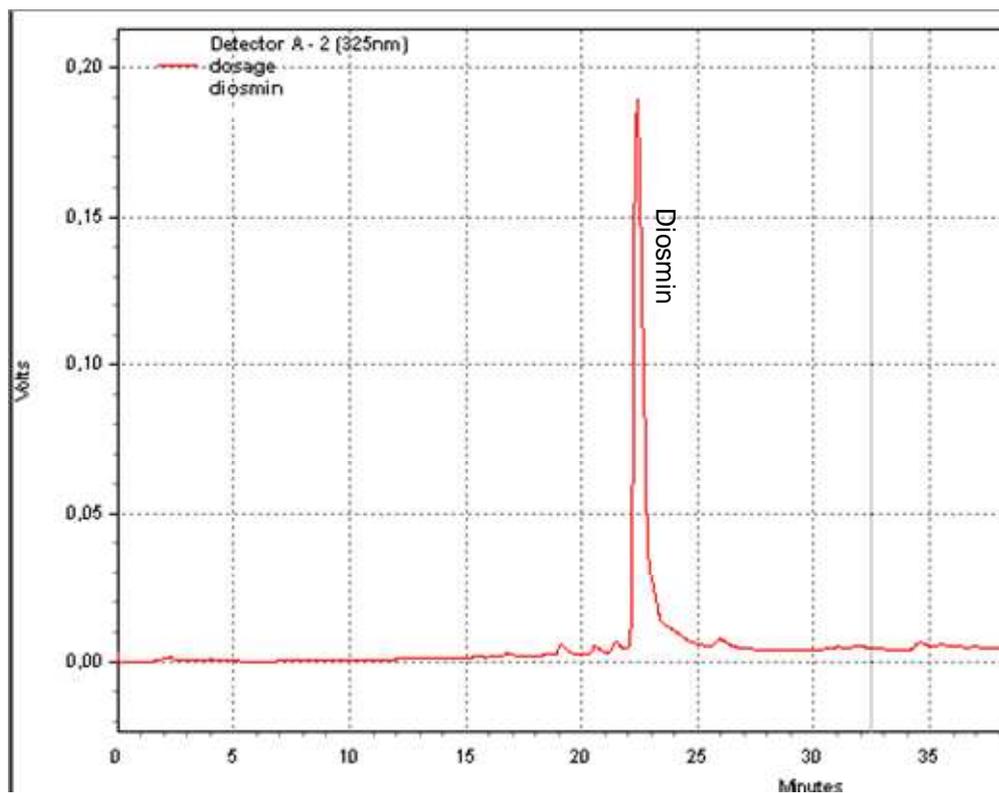


Figure (4.) : Le chromatographe d' HPLC de la diosmine

Quercetine :

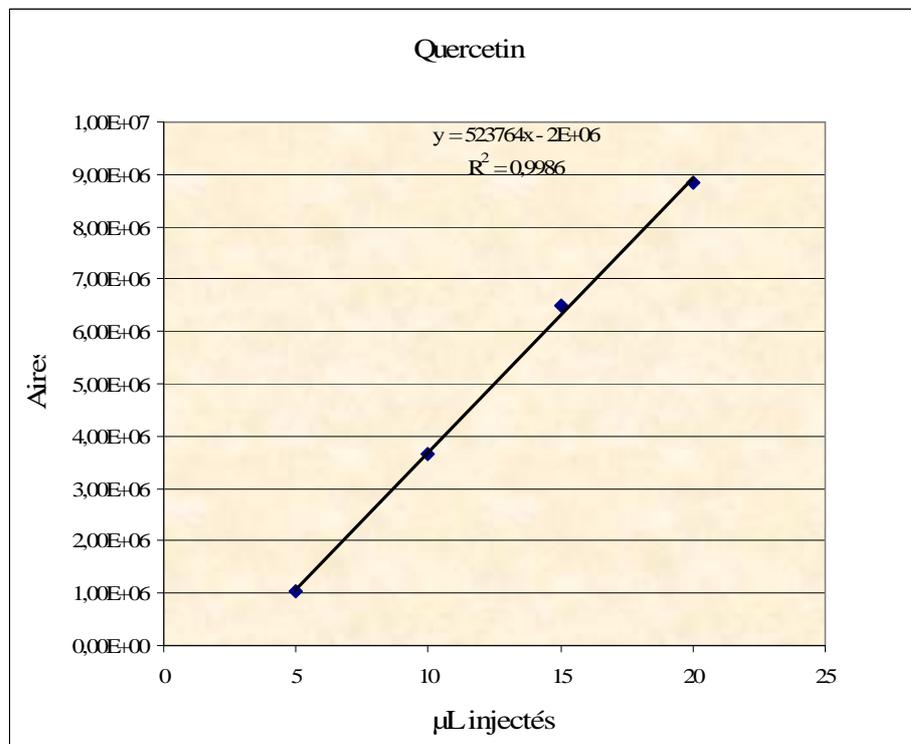


Figure (4.) : Courbe étalon de la Quercetine

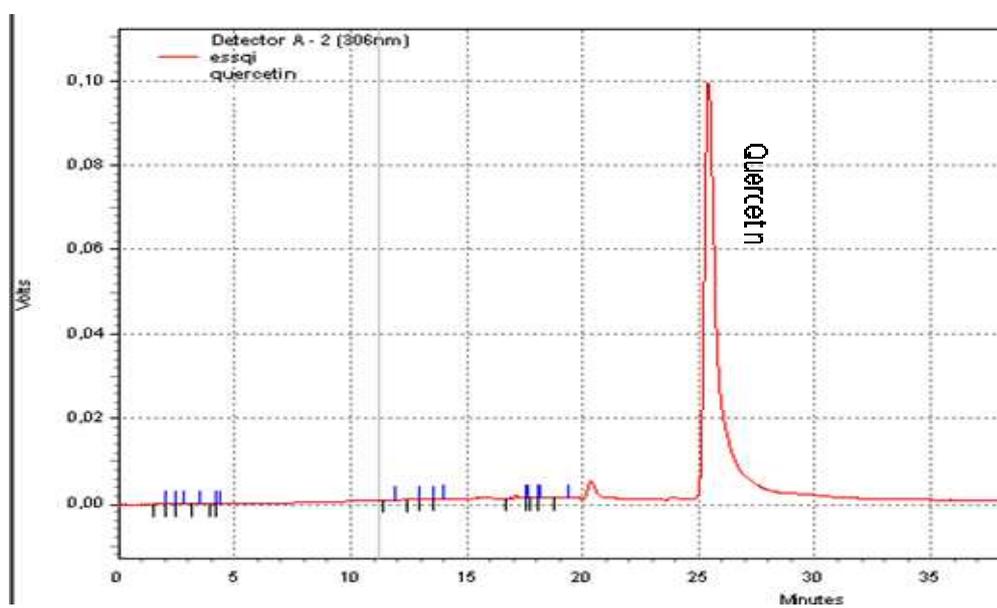


Figure (4.) : Le chromatographe d' HPLC de la Quercetine

Rutine :

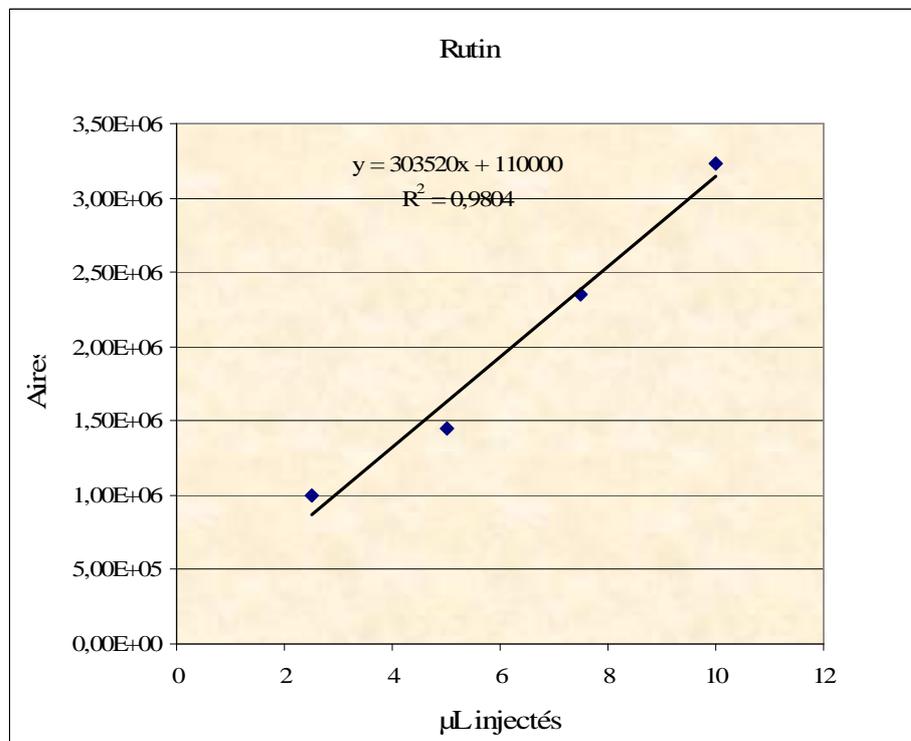


Figure (4.) : Courbe étalon de la Rutine

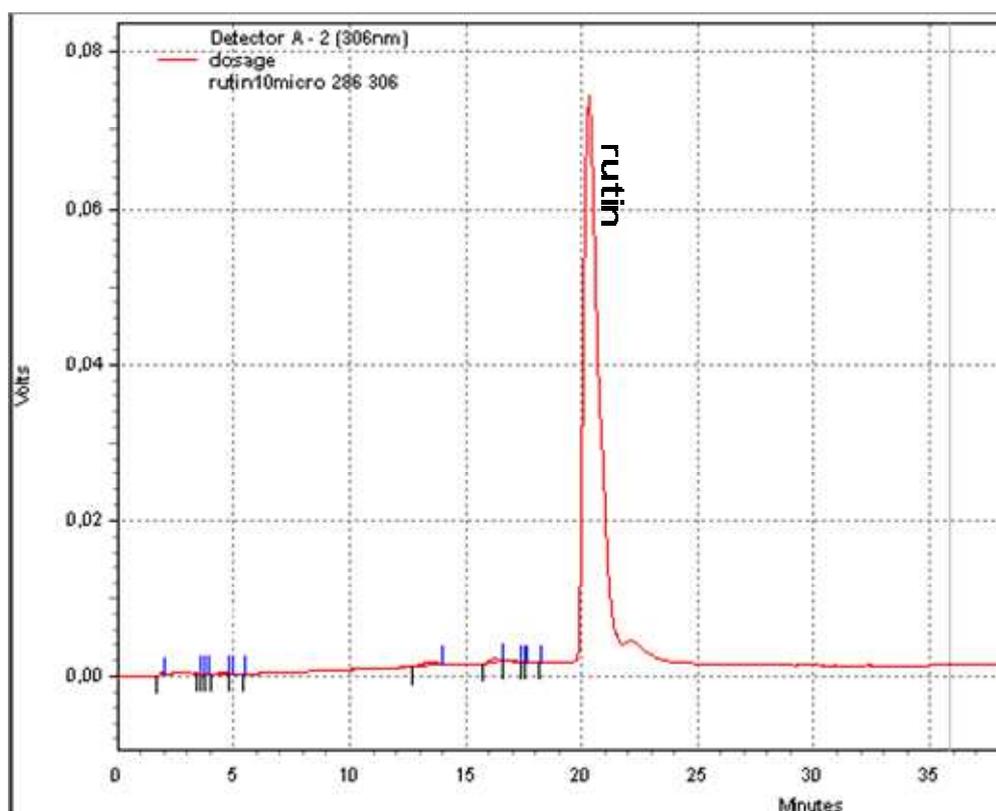


Figure (4.) : Le chromatographe d' HPLC de la Rutine

Acide gallique :

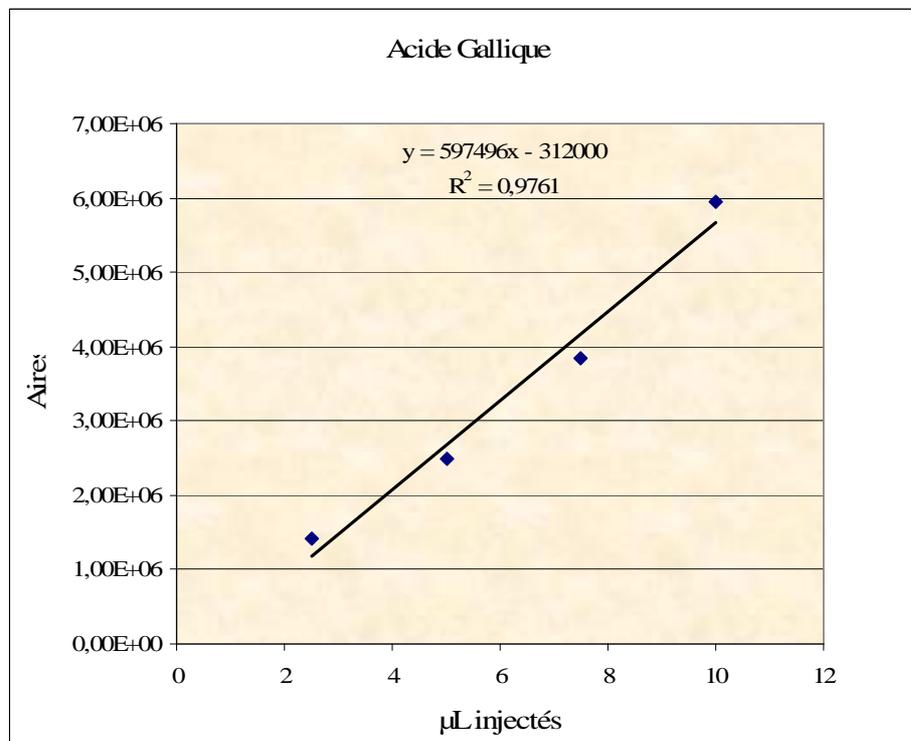


Figure (4.) : Courbe étalon de l'acide gallique

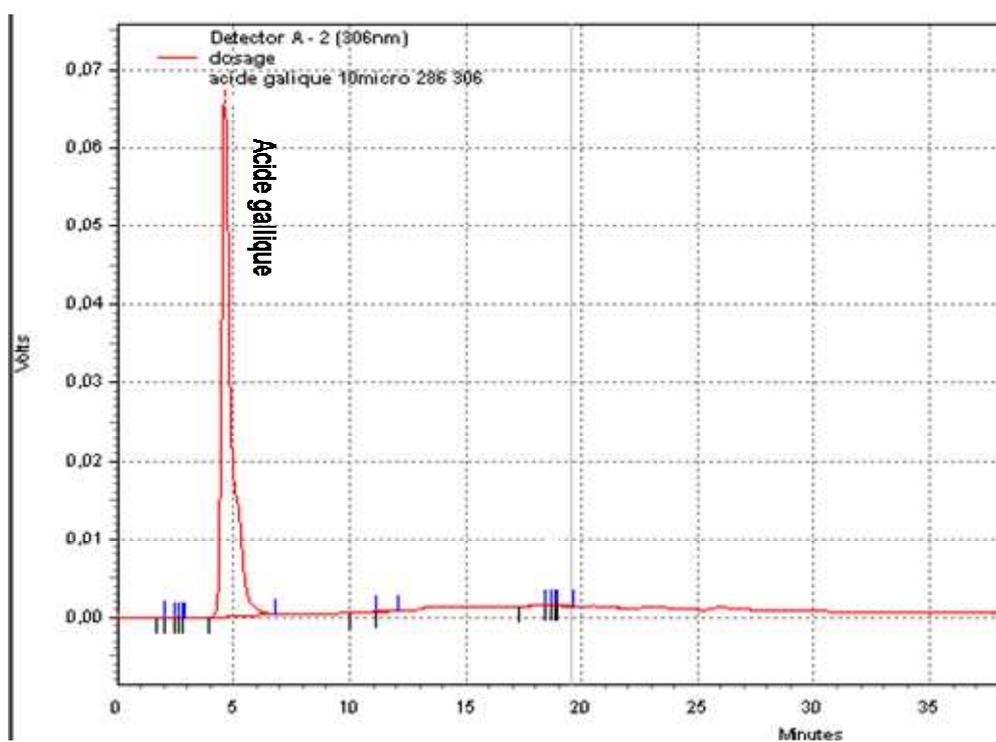


Figure (4.) : Le chromatographe d' HPLC de l'acide gallique

Acide caféique :

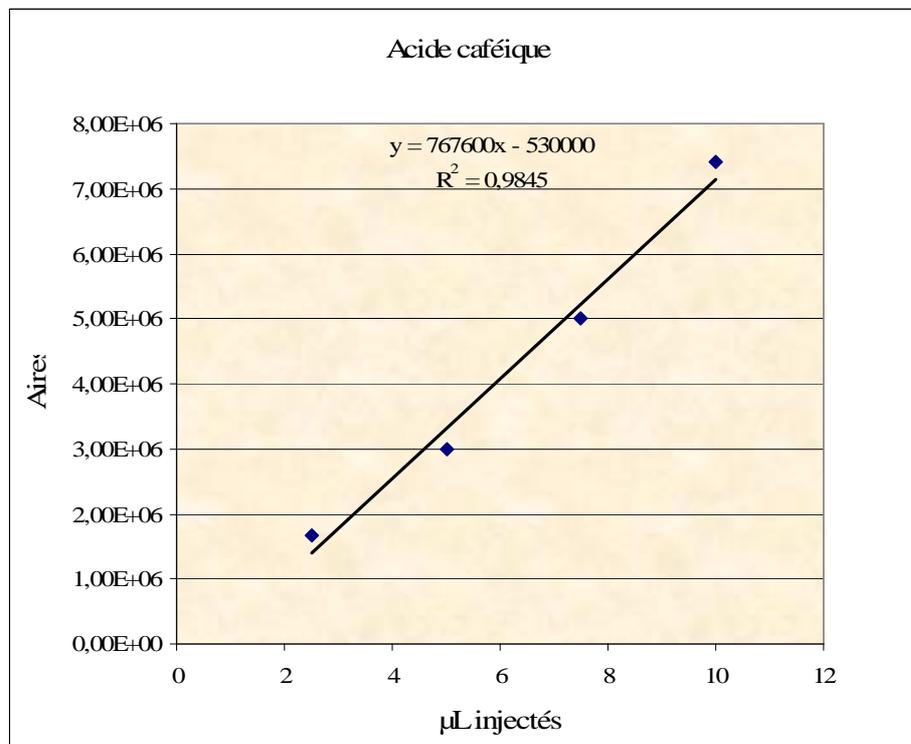


Figure (4.) : Courbe étalon de l'acide caféique

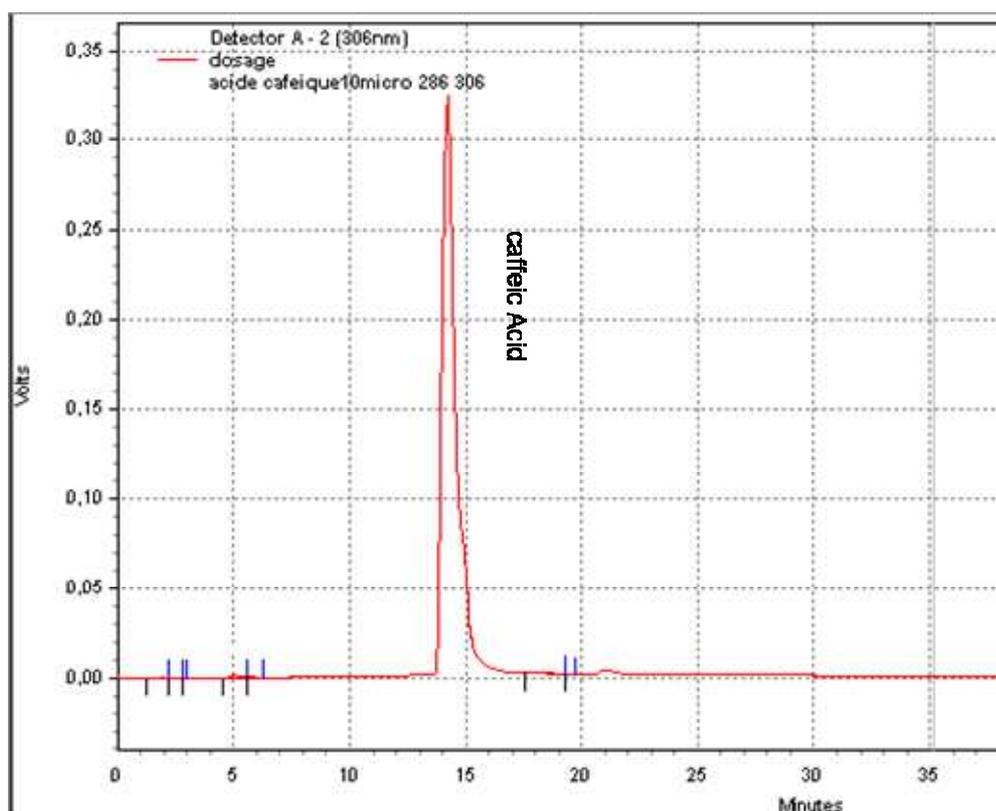


Figure (4.) : Le chromatographe d' HPLC de l'acide caféique

Acide p-coumarique :

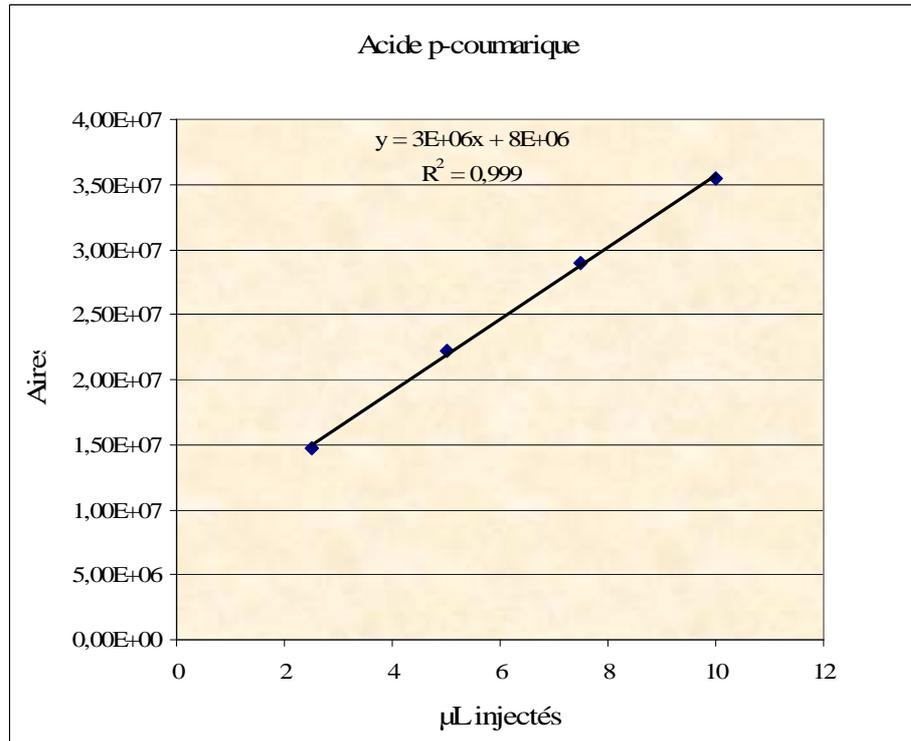


Figure (4.) : Courbe étalon de l'acide p-coumarique

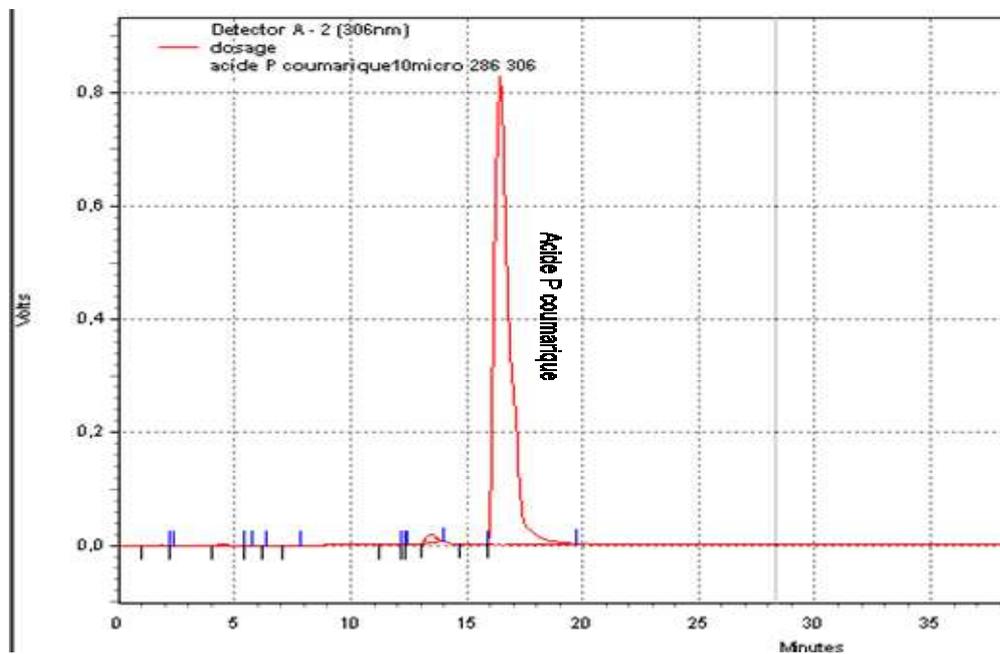


Figure (4.) : Le chromatographe d' HPLC de l'acide p-coumarique

Acide férulique :

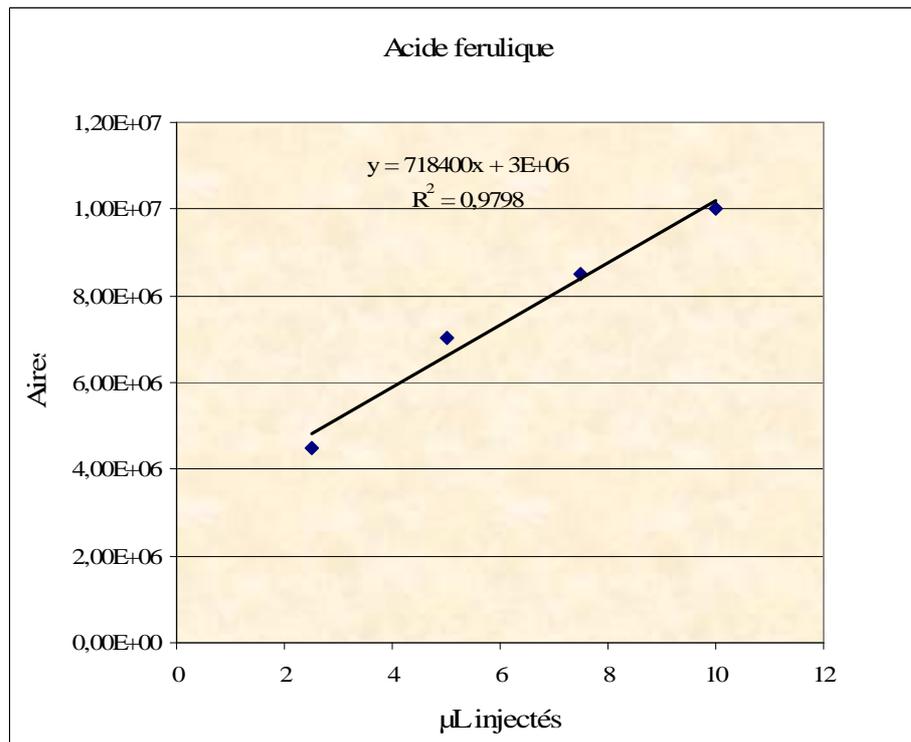


Figure (4.) : Courbe étalon de l'acide férulique

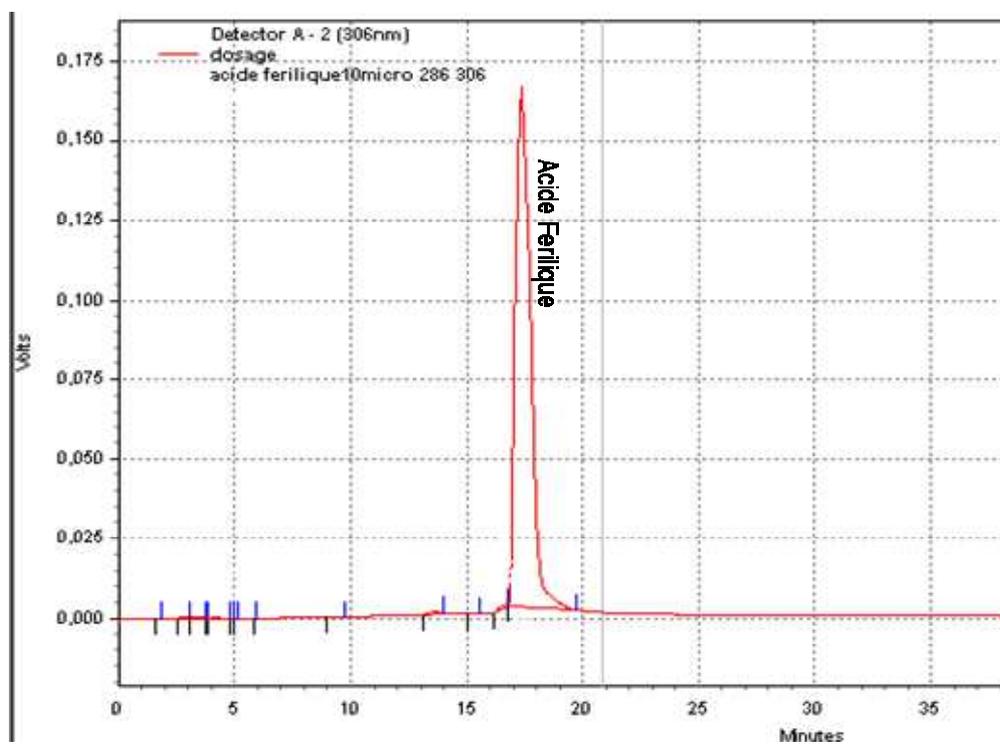


Figure (4.) : Le chromatographe d' HPLC de l'acide férulique

Acide sinapique :

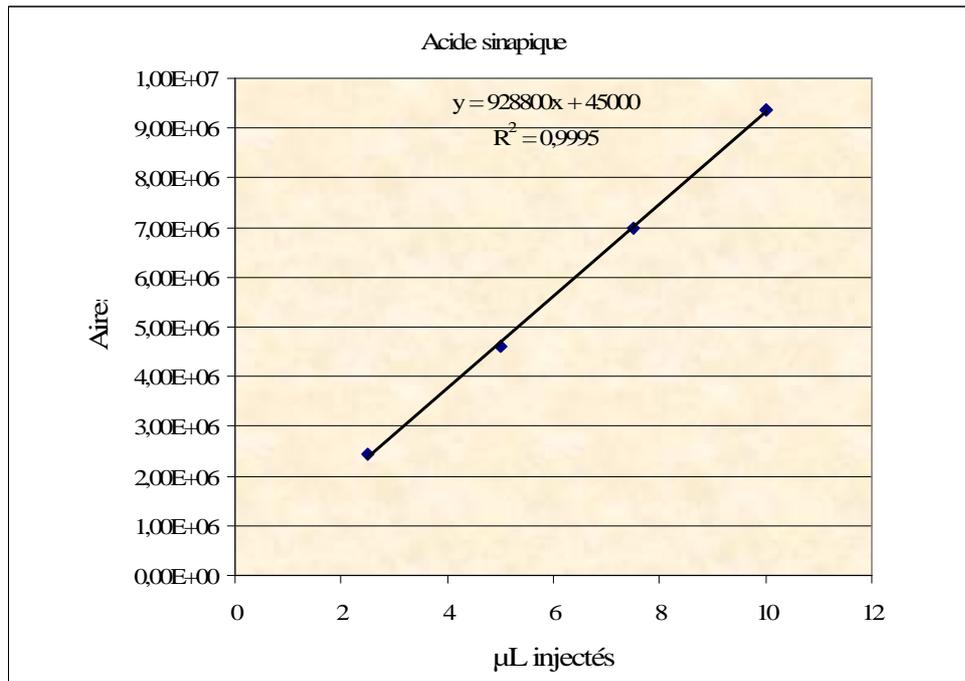


Figure (4.) : Courbe étalon de l'acide sinapique

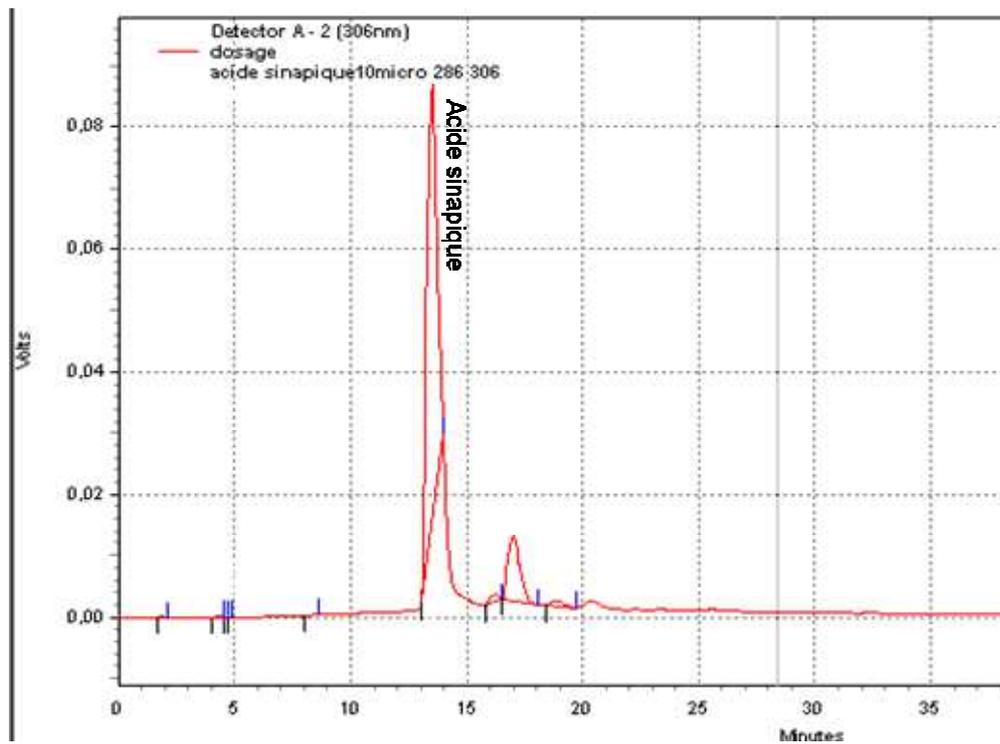


Figure (4.) : Le chromatographe d' HPLC de l'acide sinapique

l-Acide ascorbique :

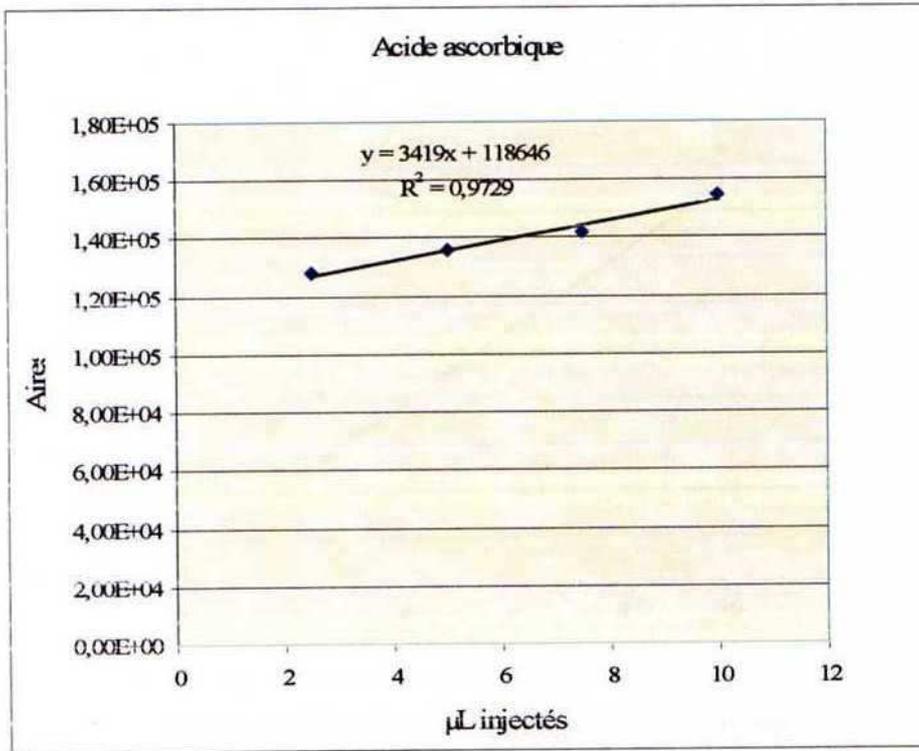


Figure (4.29) : Courbe étalon de l'acide ascorbique

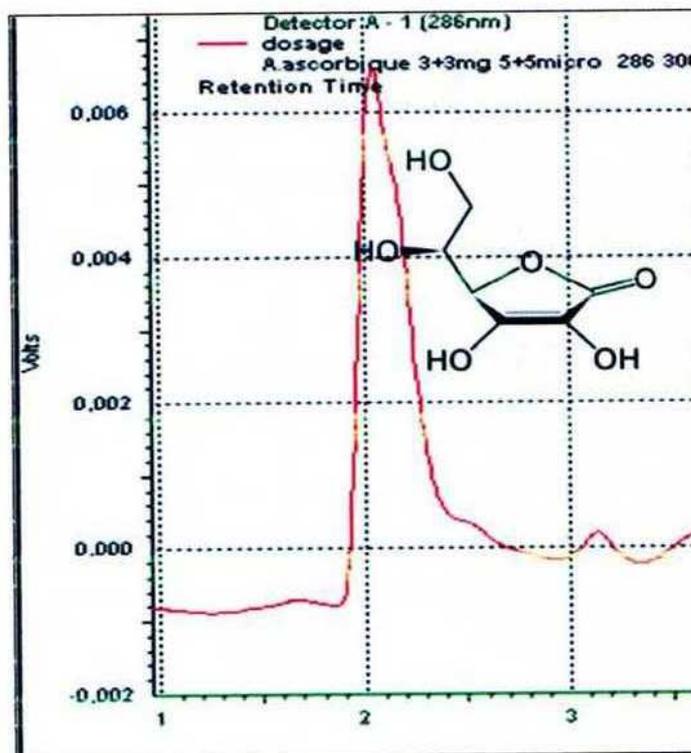


Figure (4.30) : Le chromatogramme HPLC de l'acide ascorbique

k-acide citrique :

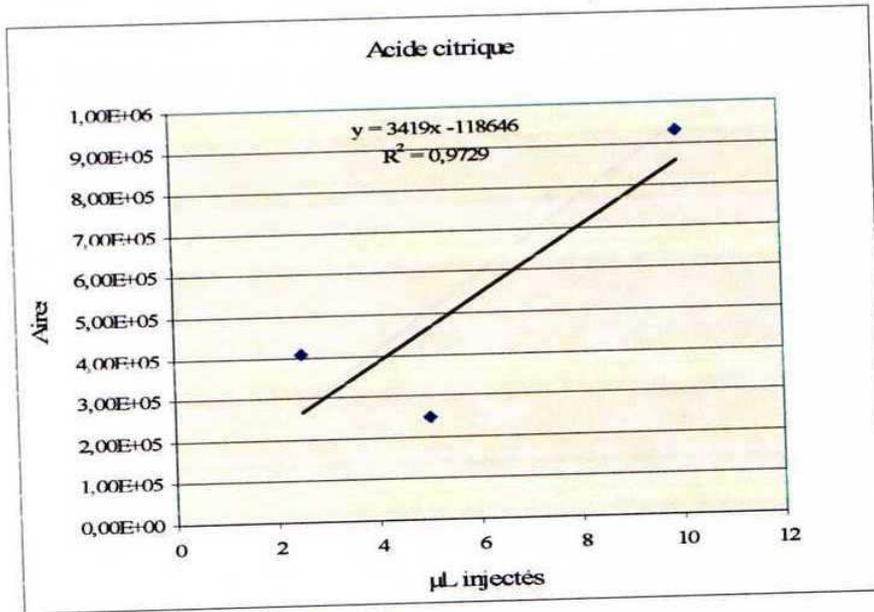


Figure (4.31) : Courbe étalon de l'acide citrique

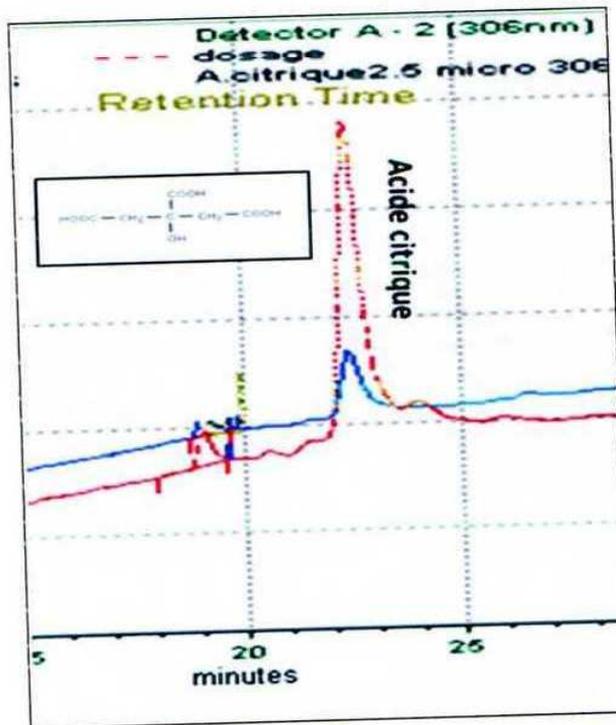


Figure (4.32) : Le chromatogramme HPLC de l'acide citrique

l-saccharose :

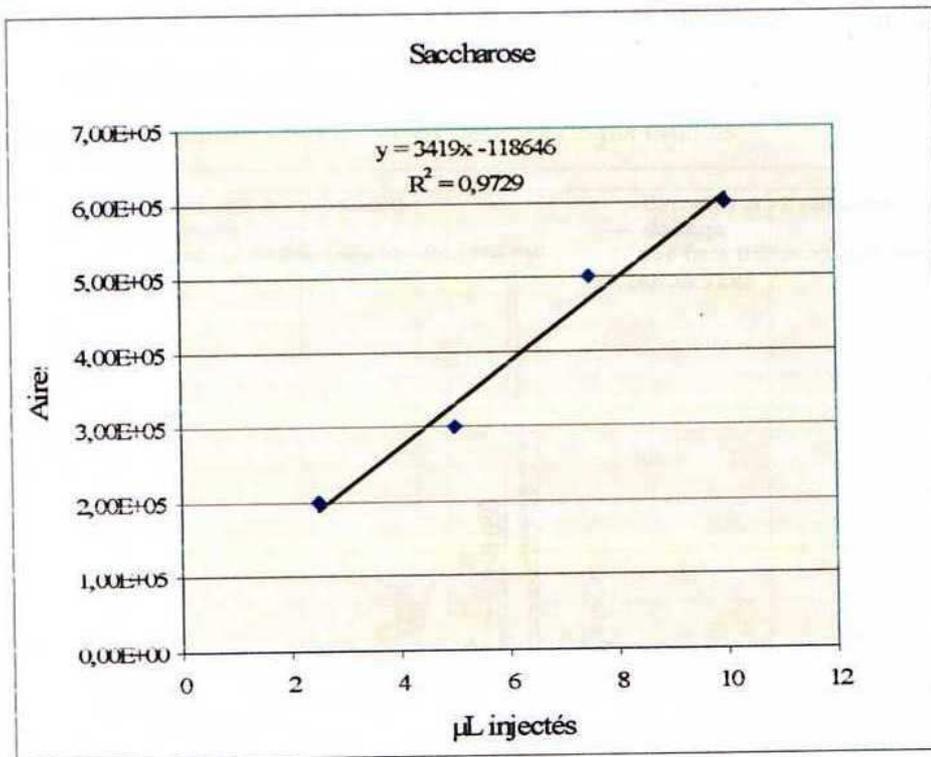


Figure (4.33) : Courbe étalon du saccharose

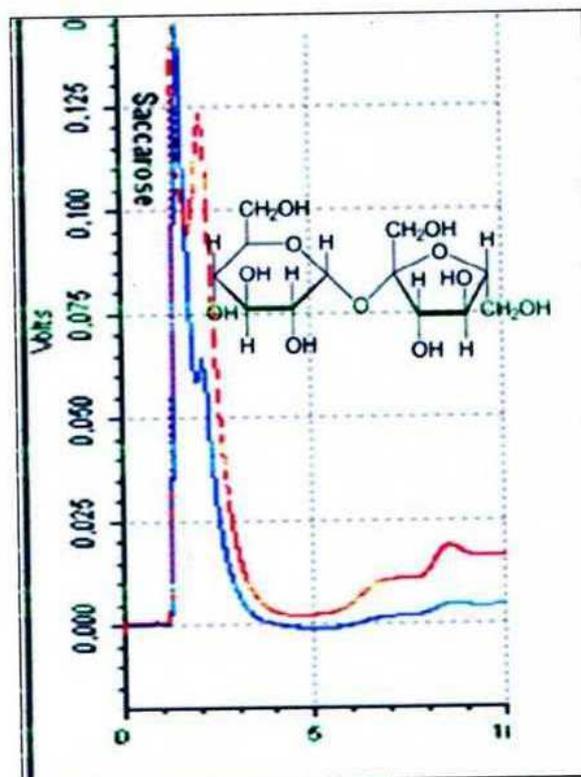


Figure (4.34) : Le chromatogramme HPLC du saccharose

4.4. Les chromatogrammes HPLC des variétés de jus étudiées

Dans cette partie, nous allons présenter les résultats des injections des jus industriels dont les échantillons ont été préparés par la méthode explicitée au chapitre (3). Ci-dessous nous présentons, les chromatogrammes des diverses variétés de jus étudiés

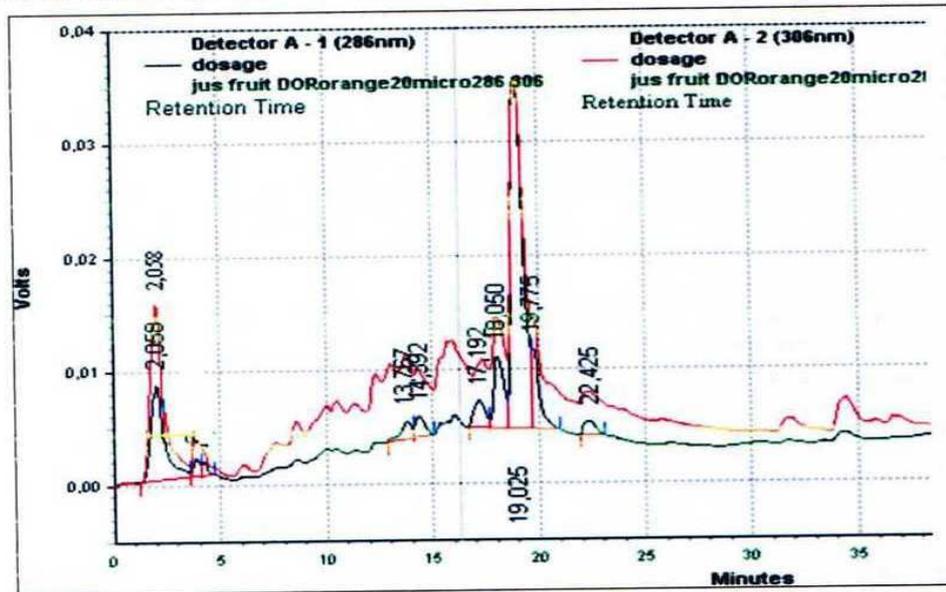


Figure (4.35) : Chromatogramme HPLC du jus fruit dor orange (Tr=1,87 mn=saccharose, Tr= 2,01 mn=acide ascorbique, Tr= 3,85 mn=acide gallique, Tr= 13,74 mn=acide sinapique, Tr= 14,93 mn=acide caféique, Tr= 17,19 mn= acide férulique, Tr=19,02 mn=hespéridine, Tr=19,77 mn=rutine, Tr= 22,42 mn=acide citrique).

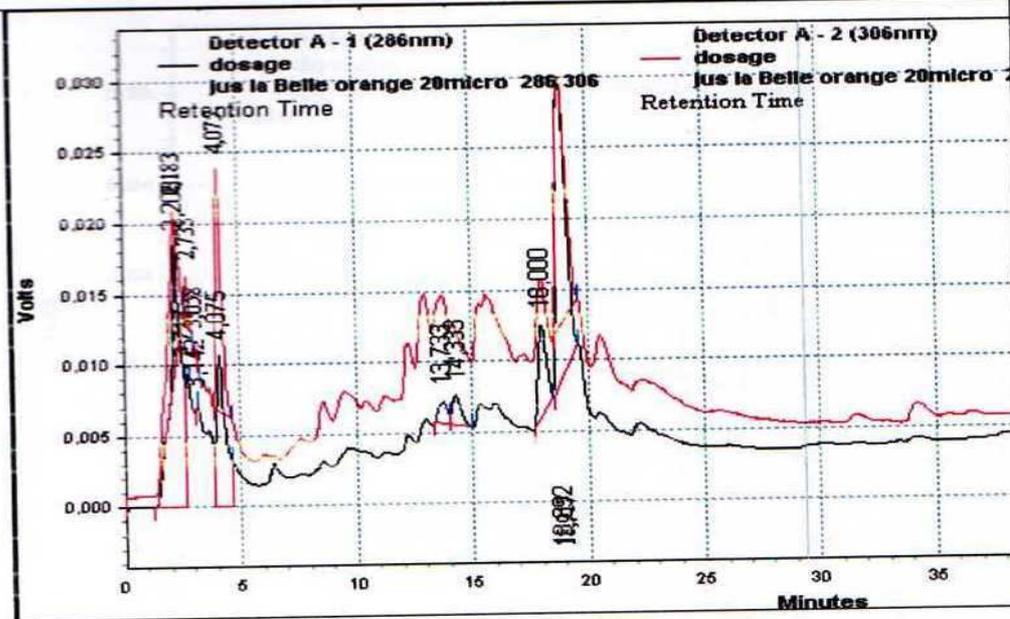


Figure (4.36) : Chromatogramme HPLC du jus *la belle orange* (Tr= 2,18 mn= saccharose, Tr= 2,73 mn=acide ascorbique, Tr= 4,07 mn=acide gallique, Tr= 13,73 mn=acide sinapique, Tr= 14,33 mn=acide caféique, Tr= 18,89 mn=hespéridine, Tr=20,56 mn=rutine, Tr=22,27 mn=acide citrique).

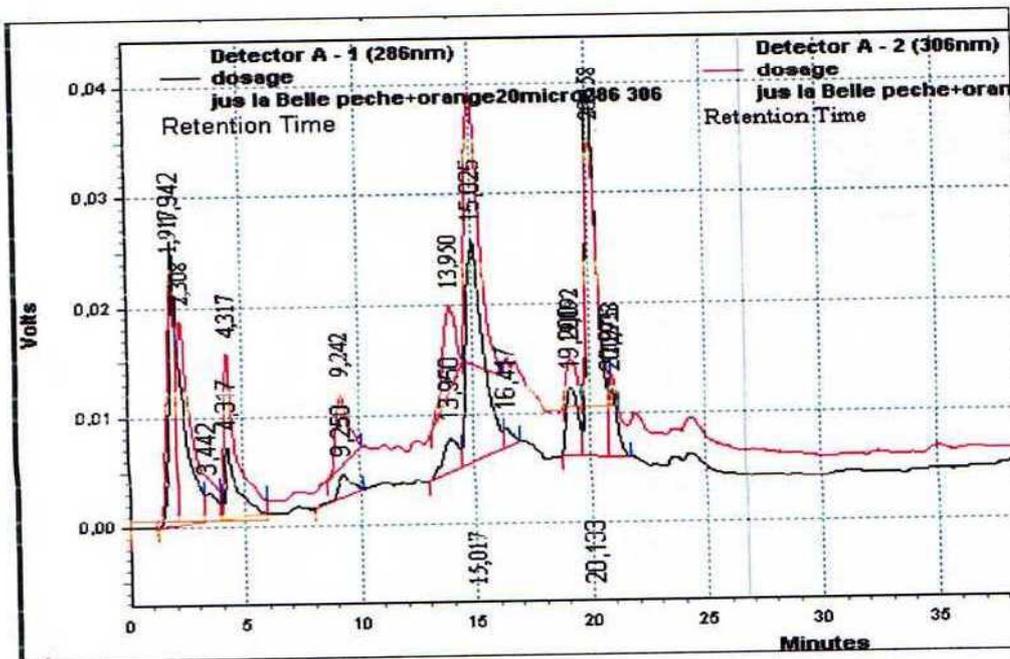


Figure (4.37) : Chromatogramme HPLC du jus *la belle pêche et orange* (Tr= 1,91 mn= saccharose, Tr=2,30 mn=acide ascorbique, Tr= 4,31 mn=acide gallique, Tr= 13,95 mn=acide sinapique, Tr= 15,01 mn=acide caféique, Tr= 20,12 mn=hespéridine, Tr=21,86 mn=acide citrique, Tr= 24,44 mn=quercétine).

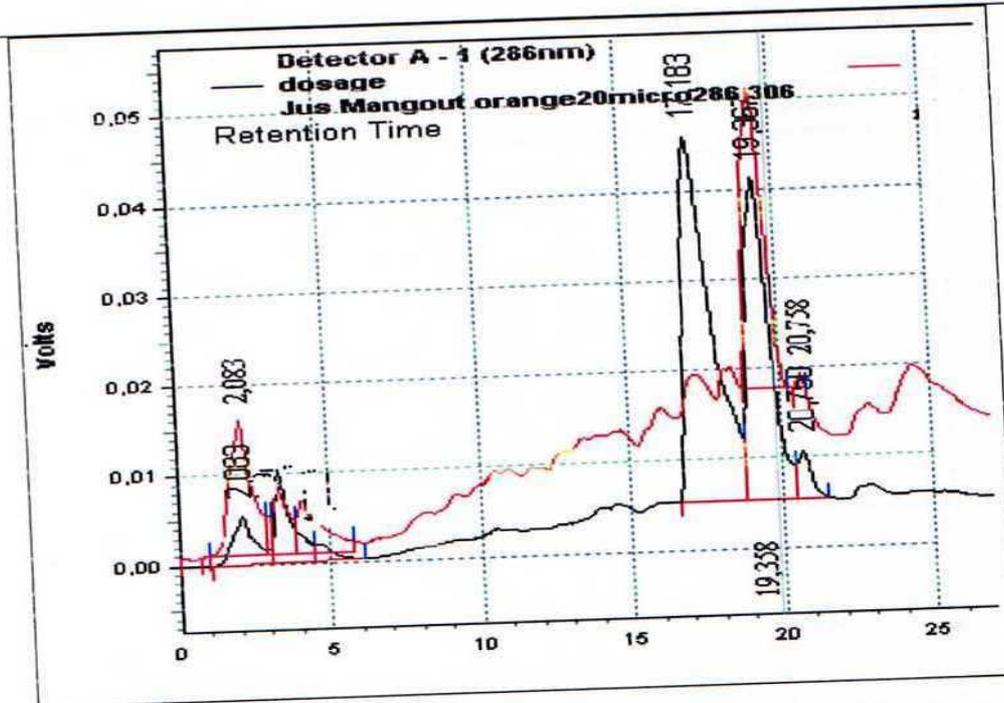


Figure (4.38) : Chromatogramme HPLC du jus *Mon gout orange* ($T_r = 2,08$ mn=saccharose, $T_r = 3,30$ mn=acide ascorbique, $T_r = 4,06$ mn=acide gallique, $T_r = 16,14$ mn=acide p-coumarique, $T_r = 17,30$ mn=acide férulique, $T_r = 19,37$ mn=hespéridine, $T_r = 22,92$ mn=acide citrique, $T_r = 24,53$ mn=quercétine).

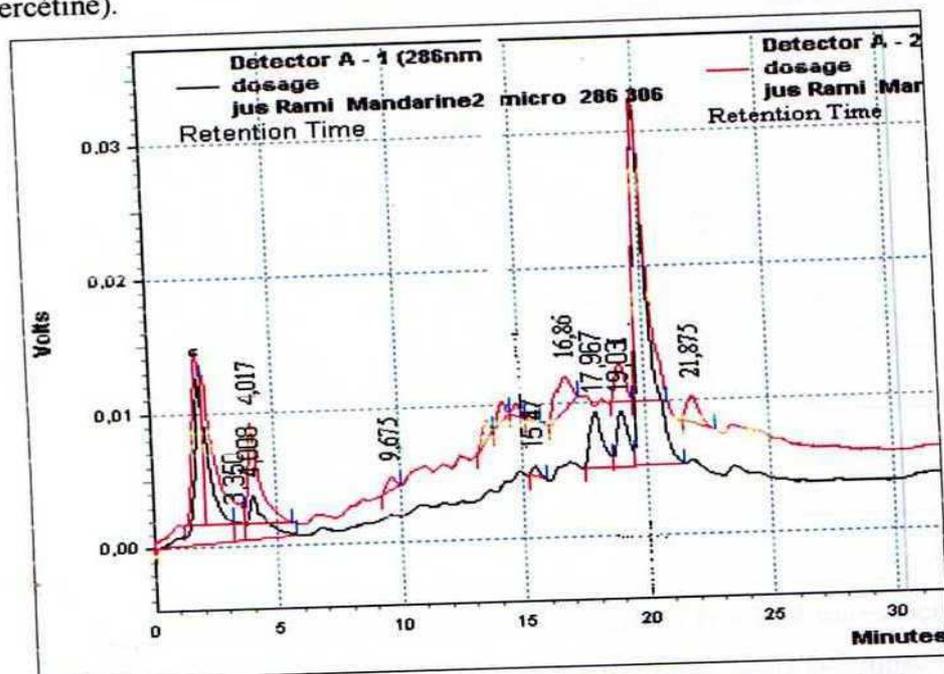


Figure (4.39) : Chromatogramme HPLC du jus *Rami mandarine* ($T_r = 1,90$ mn=saccharose, $T_r = 2,14$ mn=acide ascorbique, $T_r = 4,01$ mn=acide gallique, $T_r = 13,59$ mn=acide sinapique, $T_r = 14,82$ mn=acide caféique, $T_r = 16,86$ mn=acide p-coumarique, $T_r = 17,96$ mn=acide férulique, $T_r = 21,87$ mn=quercétine).

19,91 mn=hespéridine, Tr= 21,88 mn= acide citrique, Tr= 23,49 mn=diosmine).

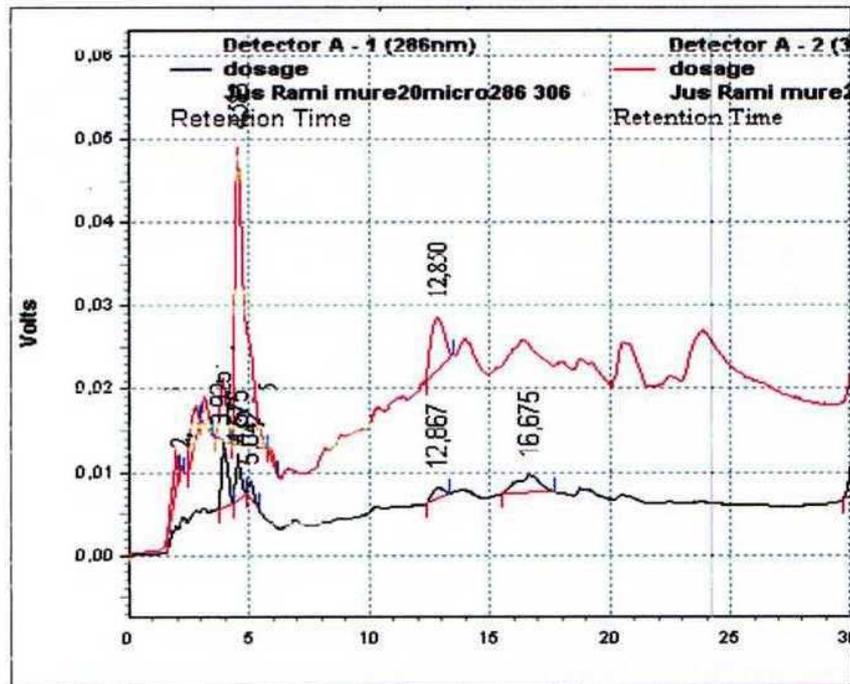


Figure (4.40) : Chromatogramme HPLC du jus *Rami mure* (Tr= 1,92mn=saccharose, Tr=2,80 mn= acide ascorbique, Tr= 4,58mn=acide gallique, Tr= 12, 85mn=acide sinapique, Tr= 13,99mn=acide caféique, Tr= 20,61mn=hespéridine, Tr= 23,81mn=diosmine)

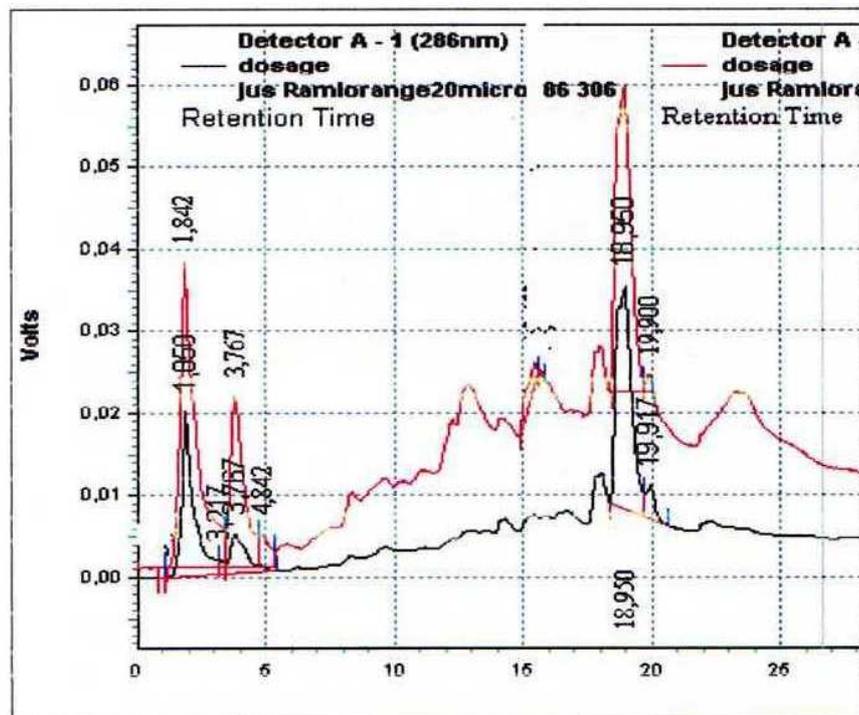


Figure (4.41) : Chromatogramme HPLC du jus *Rami orange* (Tr= 1,84 mn=saccharose, Tr=3,76 mn=acide ascorbique, Tr= 4,64 mn=acide gallique, Tr= 14,30 mn=acide caféique, Tr= 18,85 mn=hespéridine, Tr=19,91 mn= rutine, Tr= 23,37 mn= diosmine).

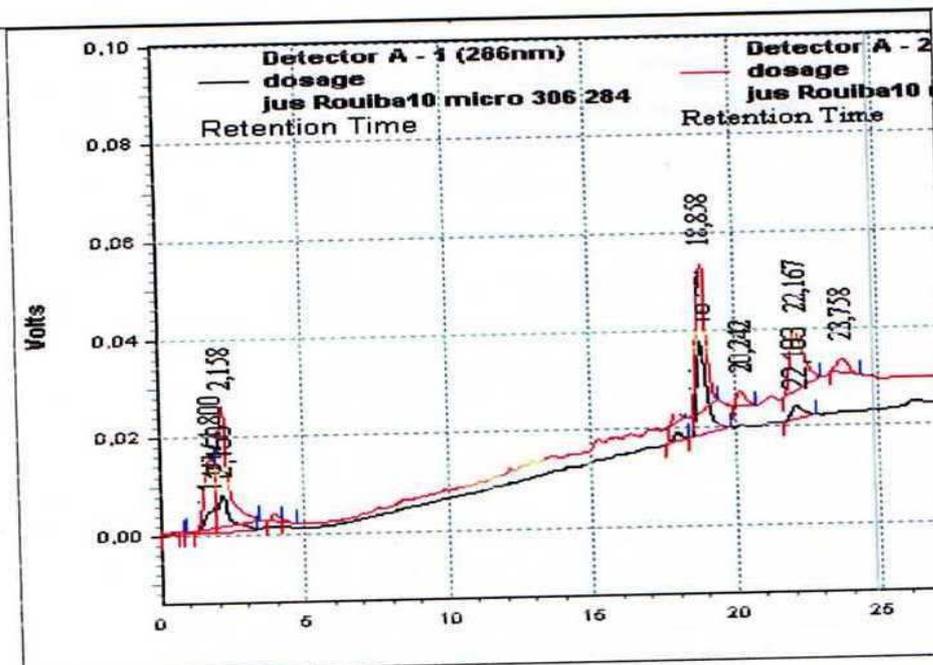


Figure (4.42) : Chromatogramme HPLC du jus *Rouïba orange* ($Tr= 1,80mn=saccharose$, $Tr= 2,15 mn=$ acide ascorbique, $Tr= 3,93mn=$ acide gallique, $Tr= 17,95mn=$ acide férulique, $Tr= 18,85mn=$ hespéridine, $Tr= 20,22mn=rutine$, $Tr=22,15mn=$ acide citrique, $Tr= 23,73mn=$ diosmine).

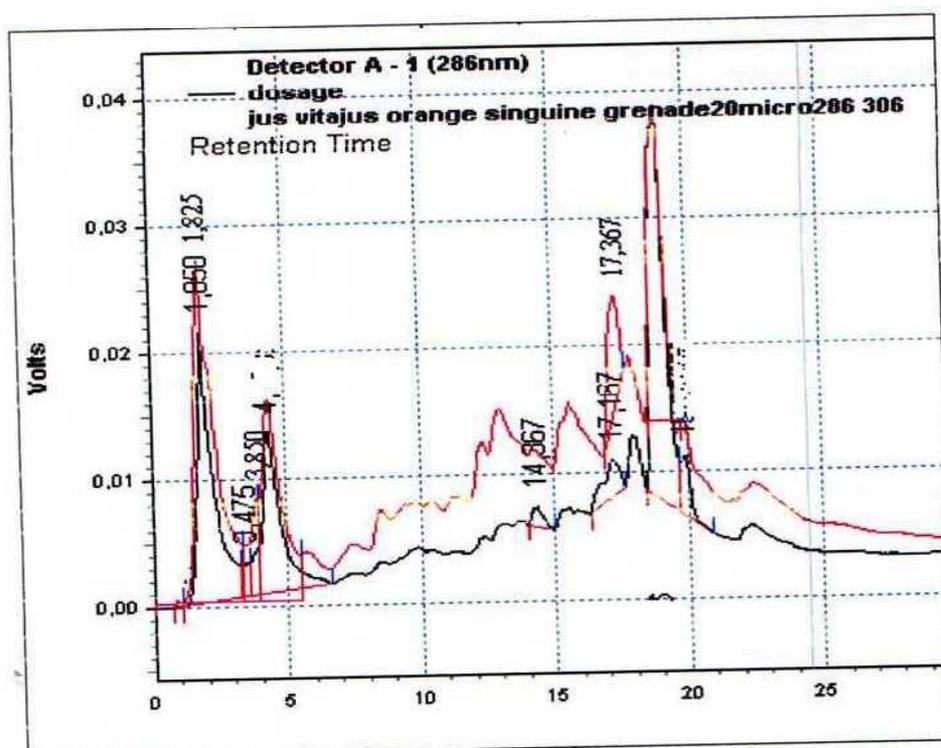


Figure (4.43) : Chromatogramme HPLC du jus *vitajus orange sanguine et grenade* ($Tr=1,82 mn=$ Saccharose, $Tr=3,85 mn=$ acide ascorbique, $Tr=4,35 mn=$ acide gallique, $Tr=13,02 mn=$ acide sinapique, $Tr=17,36 mn=$ acide férulique, $Tr=18,98 mn=$ hespéridine, $Tr=19,90 mn=rutine$).

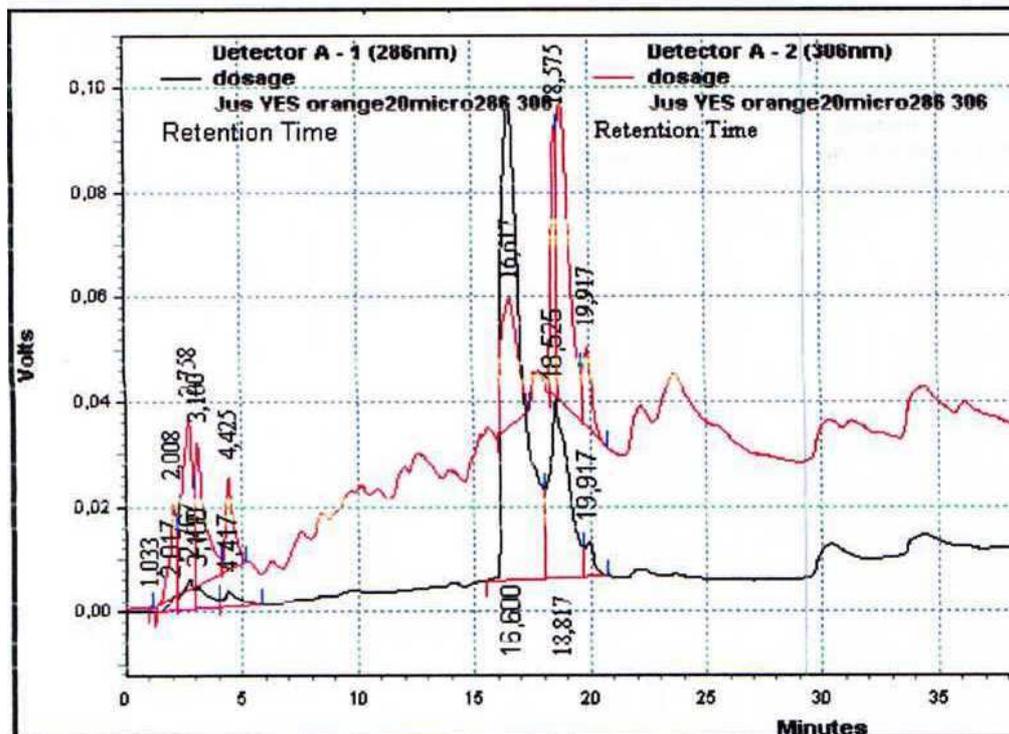


Figure (4.44) : Chromatogramme HPLC du jus *Yes orange* ($Tr= 2,75$ mn=saccharose, $Tr=3,10$ mn=acide ascorbique, $Tr= 4,42$ mn=acide gallique, $Tr= 16,60$ mn=acide p-coumarique, $Tr=18,81$ mn= hespéridine, $Tr= 19,94$ mn=rutine, $Tr= 22,17$ mn= acide citrique, $Tr= 23,65$ mn=diosmine.

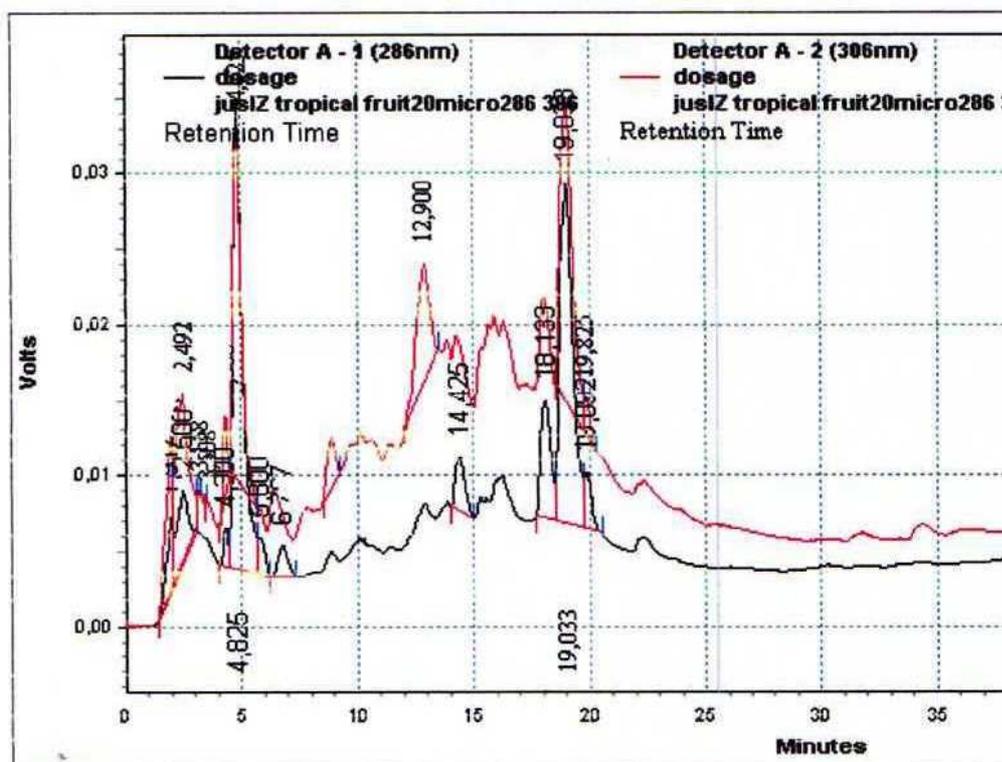


Figure (4.45) : Chromatogramme HPLC du jus *IZ tropical fruit* ($Tr= 1,91$ mn=saccharose, $Tr=2,49$ mn=acide ascorbique, $Tr= 4,82$ mn=acide gallique, $Tr= 12,90$ mn= acide sinapique, $Tr= 14,42$ mn=acide caféique, $Tr= 18,13$ mn=acide férulique, $Tr= 19,03$ mn=hespéridine, $Tr= 22,34$

mn=acide citrique).

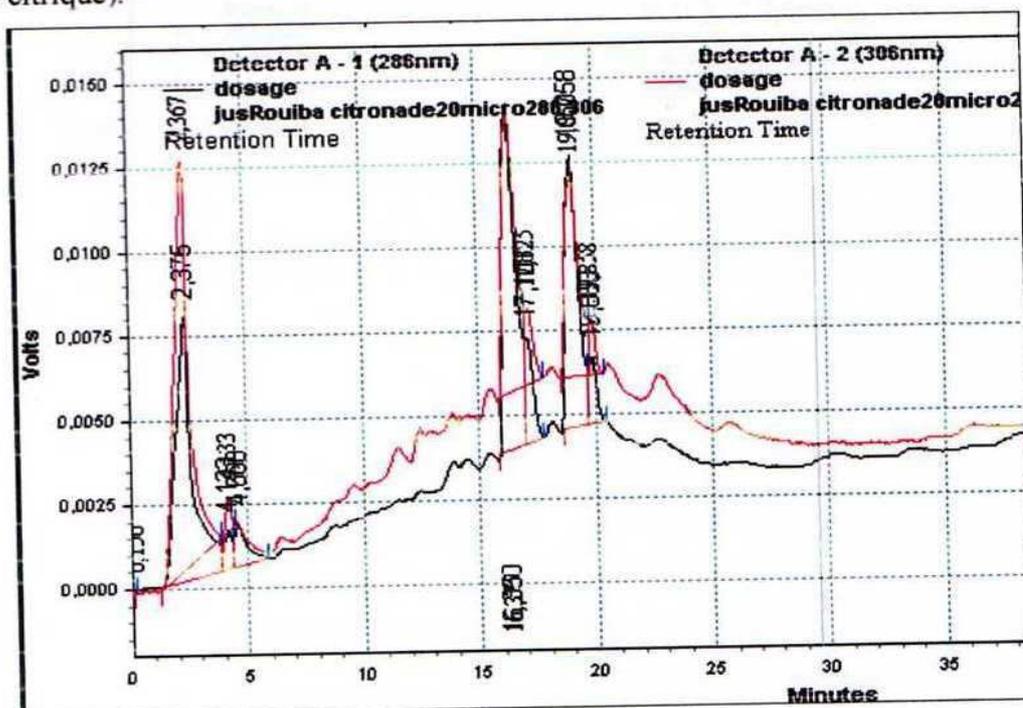


Figure (4.46): Chromatogramme HPLC du jus *Rouiba citronnade* ($Tr= 2,36$ mn=acide ascorbique, $Tr= 4,13$ mn=acide gallique, $Tr= 16,35$ mn=acide p-coumarique, $Tr= 17,10$ mn=acide férulique, $Tr= 19,05$ mn=hespéridine, $Tr=20,61$ mn=rutine, $Tr= 22,79$ mn=acide citrique).

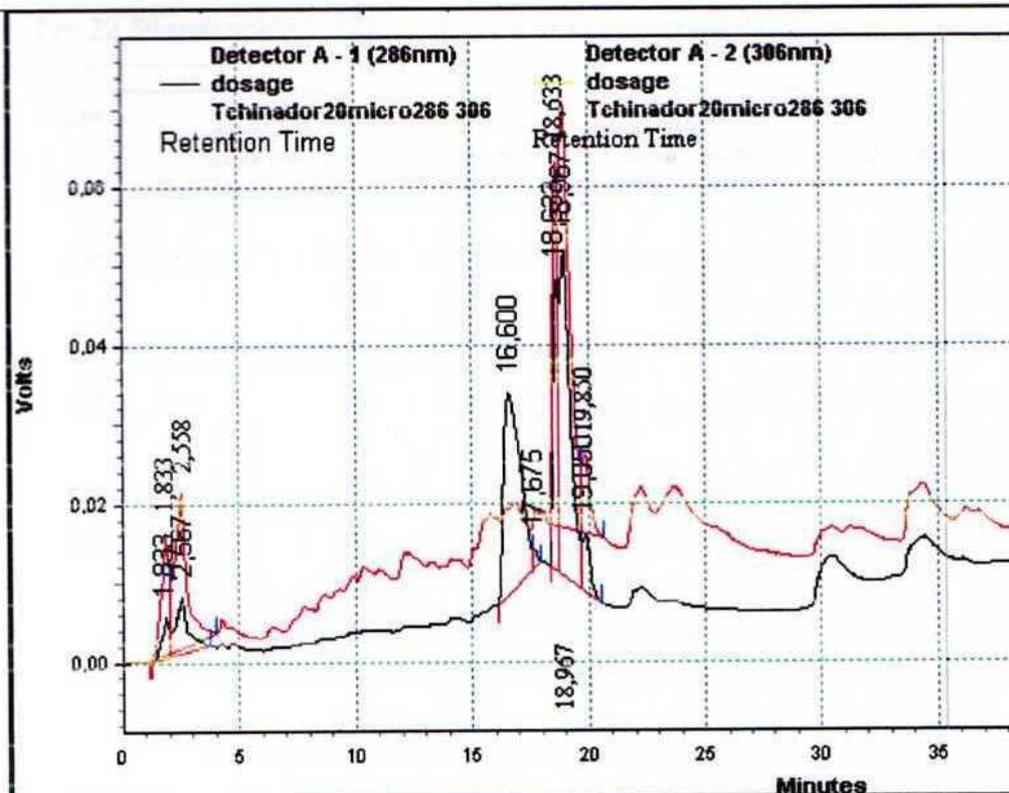


Figure (4.47) : Chromatogramme HPLC du jus *Tchinador orange* (Tr= 1,83 mn=saccharose, Tr=2,55 mn=acide ascorbique, Tr= 16,60 mn=acide p-coumarique, Tr= 18,96 mn=hesperidine, Tr= 22,24 mn=acide citrique, Tr=23,67 mn=diosmine).

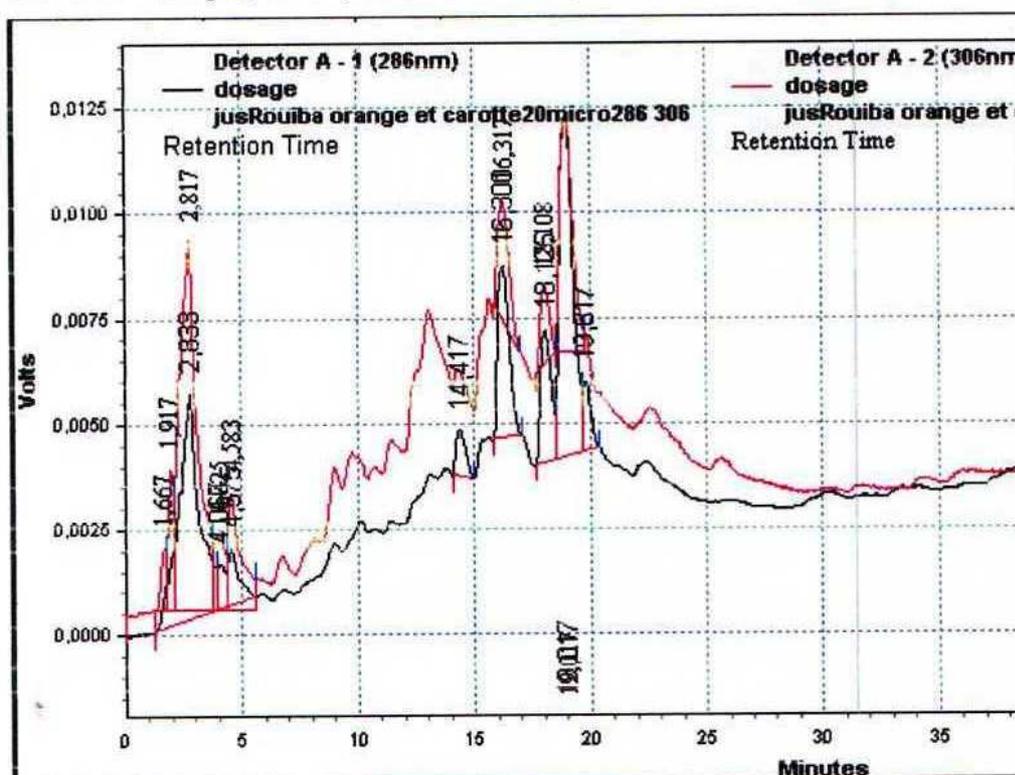


Figure (4.48) : Chromatogramme HPLC du jus *Rouiba orange et carotte* (Tr=1,91 mn=saccharose, Tr=2,81mn= acide ascorbique, Tr=4,58mn= acide gallique, Tr=13,07mn= acide sinapique, Tr=14,41mn= acide caféique, Tr= 16,30mn=acide p-coumarique, Tr= 19,01mn=

hespéridine, $T_r=22,59$ mn= acide citrique, $T_r=25,49$ mn =quercétine).

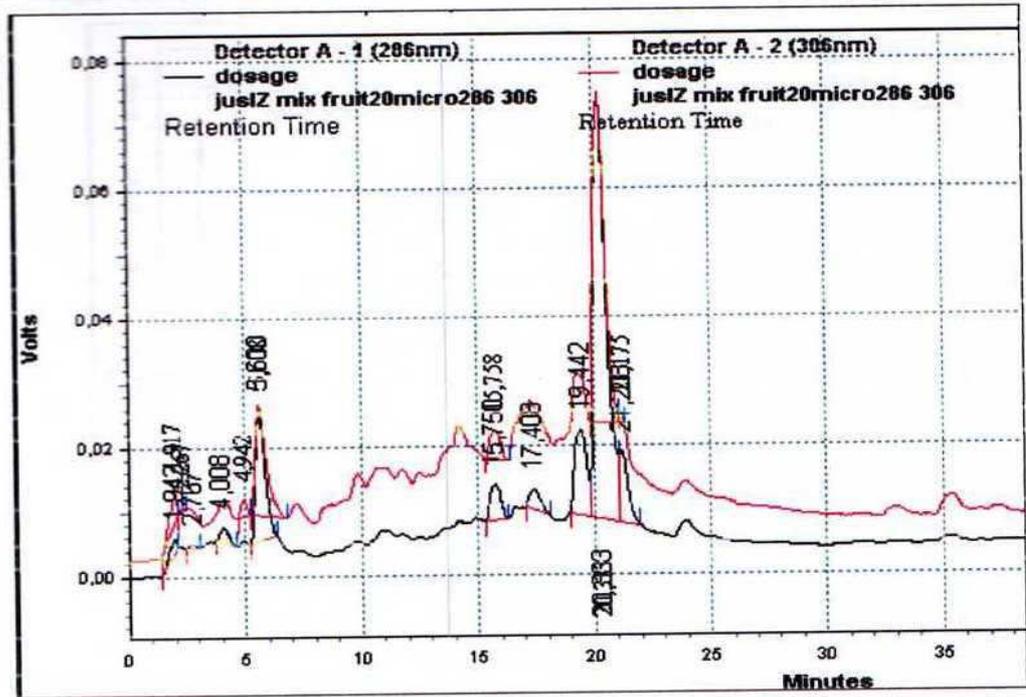


Figure (4.49) : Chromatogramme HPLC du jus *IZ mix fruit* ($T_r=1,91$ mn=saccharose, $T_r=2,26$ mn=acide ascorbique, $T_r=4,94$ mn=acide gallique, $T_r=15,75$ mn= acide p-coumarique, $T_r=20,33$ mn=hespéridine, $T_r=21,20$ mn=rutine, $T_r=23,93$ mn=diosmine).

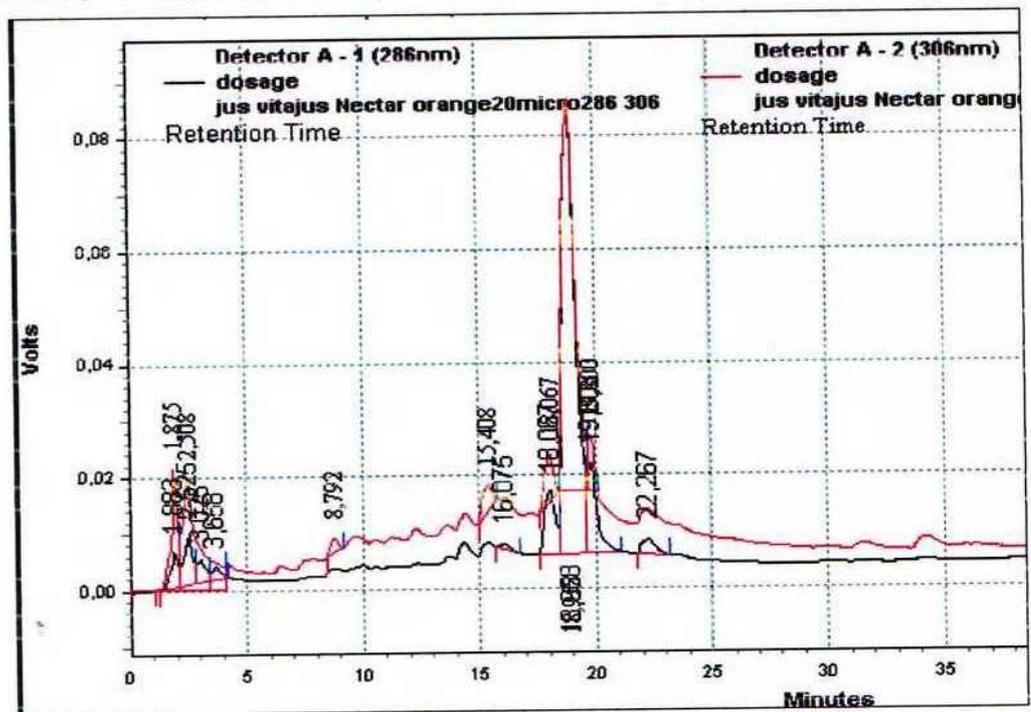


Figure (4.50) : Chromatogramme HPLC du jus *vitajus nectar orange* ($T_r=1,87$ mn=saccharose, $T_r=2,50$ mn= acide ascorbique, $T_r=14,39$ mn= acide caféique, $T_r=18,06$ mn=acide férulique, $T_r=22,26$ mn= hespéridine, $T_r=25,49$ mn =quercétine).

18,85 mn= hespéridine, Tr=19,81 mn=rutine, Tr=22,16 mn=acide citrique).

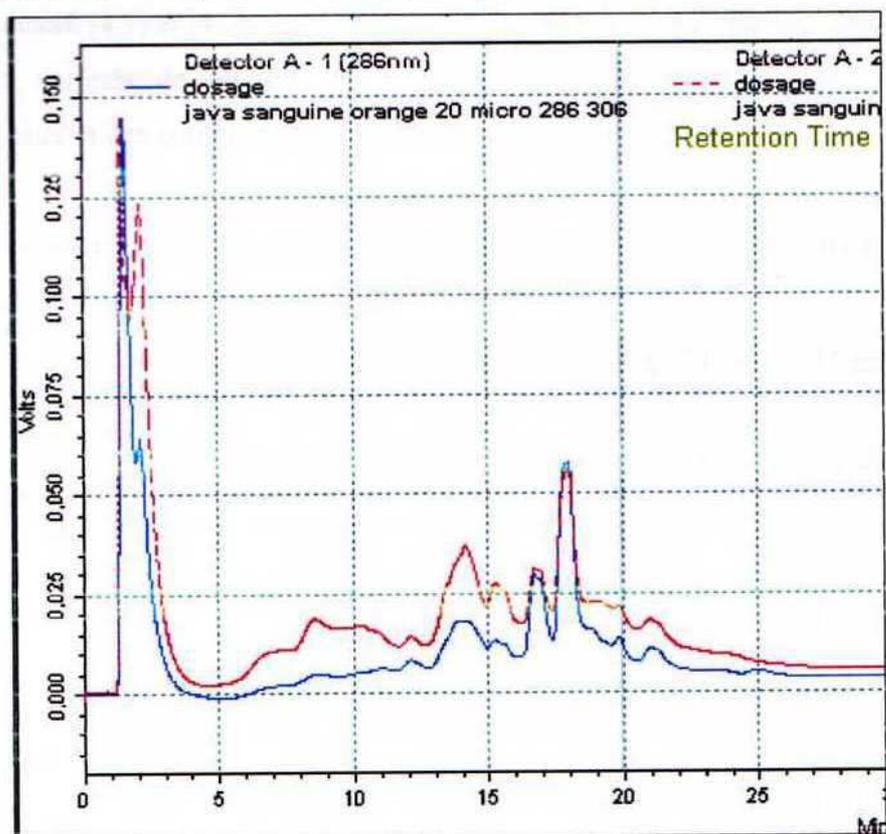


Figure (4.51): Chromatogramme HPLC du jus naturel *java sanguine orange* (Tr=1,53 mn=saccharose, Tr=2,12 mn= acide ascorbique, Tr=14,14 mn= acide caféique, Tr=16,74 mn=acide p-coumarique, Tr=17,87 mn=acide férulique, Tr= 19,96 mn= hespéridine, Tr=20,97 mn=rutine)

4.5 Concentrations des polyphénols dans des différentes marques du jus algérien :

Les tableaux (4.1) et (4.2) représentent la concentration des différents composés dosés dans les différentes variétés de jus étudiés et le tableau (4.3) représente la concentration des polyphénols totaux et des acides organiques totaux dans les jus.

Tableau 4.1 : Concentration des acides phénols et du saccharose dans les variétés de jus étudiés

Variété de jus	Concentration des acides phénols et du saccharose (mg/100ml)					saccharose
	A. sinapique	A. caféique	A. gallique	A. p.coumarique	A. férulique	
Fruit d'or (orange)	0,37	0,606	0,937	ND	0,015	1400
La belle (pêche/orange)	1,57	13,84	2,63	ND	ND	7010
Mon gout (orange)	ND	ND	1,083	20	0.11	2720
La belle (orange)	0,54	5,75	2,251	ND	ND	7000
Rami (mandarine)	0,158	5,77	1,41	7,9	0.02	5090
Vitajus (orange sanguine et grenade)	0,9	ND	5,08	ND	0.005	8700
Rami (orange)	ND	6,23	0,437	ND	ND	8160
Vitajus (nectar orange)	ND	6,599	ND	ND	0.037	880
Rouïba (orange/carotte)	0,73	6,0598	0,590	45,4	ND	150
Izdihar (mix fruit)	ND	ND	1,391	168,12	ND	810
Rami (mure)	0.78	5,755	2,989	ND	ND	160
Rouïba (orange)	ND	ND	0,477	ND	0.0057	570
Tchinador (orange)	ND	ND	ND	1,18 g	ND	360
Jus YES (orange)	ND	ND	ND	6g	ND	300
Izdihar (tropical fruit)	1,22	ND	11,41	ND	0,02	630
Rouïba (citronnade)	ND	ND	0,478	142	0.00086	Mal résolu
Orange Java sanguine naturelle	ND	12,31	ND	737	0,24	39000

ND : non détecté

Tableau 4.2 : Concentration des flavonoïdes et des acides organiques dans les variétés de jus étudiées

Concentration des flavonoïdes et acides organiques (mg/100ml)						
variété de jus	Hespéridine	Diosmine	Quercétine	Rutine	A. citrique	A. ascorbique
Fruit Dor (orange)	49	ND	ND	0,48	9500 mg	584
La belle (pêche/orange)	56	ND	10,05	ND	538	982,6
Mon gout (orange)	73,83	ND	11,78	ND	12539,86	671,05
La belle (orange)	49,63	ND	ND	4,28	4767,99	20
Rami (mandarine)	56,79	0,94	ND	ND	3421	314,7
Vitajus (orange sanguine et grenade)	58,38	ND	ND	12,84	ND	251,37
Rami (orange)	56,87	6,99	ND	4,61	ND	467,92
Vita jus (nectar orange)	71	ND	ND	7,93	ND	281,5
Rouïba (orange/carotte)	56,87	ND	2,5	ND	2872	248
Izdihar (mix fruit)	65,45	6,7	ND	8,61	ND	5,13
Rami (mure)	47,94	5,66	ND	ND	ND	19,49
Rouïba (orange)	51,68	1,6	ND	0,96	18924,2	311,77
Tchinador (orange)	54,37	0,088	ND	ND	22355	202,98
Jus YES (orange)	51,78	4,2	ND	6,37	6092,66	39,5
Izdihar (tropical fruit)	54,82	ND	ND	ND	10139	286,8
Rouïba (citronnade)	48,6	ND	ND	0,35	3606	576
Orange java sanguine naturelle	13	ND	ND	20	ND	3946,2

ND : non détecté

4.5 Discussion :

Les concentrations des composés dans les différentes variétés de jus étudiés (tableaux 4.1 et 4.2) sont calculées à partir des courbes étalons des standards et des aires des pics des chromatogrammes de l'HPLC analytique. Comme il est montré dans les tableaux [(4.1) et (4.2)], des teneurs importantes en polyphénols et acides organiques ont été détectées dans les jus Algériens. On peut remarquer que certains composés ne sont pas présents dans certaines variétés de jus étudiées.

Les flavonoïdes sont les polyphénols principaux dans les variétés de jus étudiées. Quatre flavonoïdes ont été identifiés dans le jus d'agrume; la diosmine, l'héspéridine, la quercétine et la rutine.

L'*héspéridine* était présente en quantité plus ou moins importante et elle représentait le composé polyphénolique majoritaire dans toutes les variétés de jus étudiées. Le jus **Mon gout orange** contient la quantité la plus importante d'*héspéridine* (73,83mg/100ml), suivi de **Vitajus nectar orange** (71 mg/100ml), **Izdihar mix fruit** (65,45mg/100ml), **Vita jus orange sanguine et grenade** (58,38mg/100ml), **Rouïba orange et carotte** (56,87 mg/100ml), **Rami mandarine** (56,79mg /100ml), **La belle pêche et orange** (56mg/100ml) et **Rami mure** (47,94mg/100ml). La quantité minimale d'*héspéridine* a été détectée dans le jus d'orange pressé à la main de la variété Java sanguine (13mg/100 ml).

La concentration moyenne d'*héspéridine* était de 53,882 mg/100ml. Comparée à la littérature, cette valeur se trouve dans le même intervalle reporté par Leuzzi et al. (2000) pour l'*héspéridine* dans des jus commerciaux et qui variait de 4.45 à 76.3mg/100ml.

L'*héspéridine* est synthétisée principalement par la peau des plantes de la famille *Citrus*. La peau et les parties membraneuses de ces fruits ont les concentrations les plus élevées en héspéridine. Donc, l'existence de quantités si élevées d'*héspéridine* dans les jus commerciaux prouve leur richesse en peau d'agrumes. Ceci est démontré par le taux bas (13mg/100 ml) de ce flavonoïde dans le jus d'orange pressé à la main.

La *diosmine* est présente à des concentrations différentes dans sept variétés de jus analysées. La valeur maximale a été détectée dans **Rami orange** (6,99mg/100ml) alors que le jus **Tchinador orange** présente la valeur minimale de ce flavonoïde et qui est de 0,088mg/100ml. La valeur moyenne étant de 3,73mg/100ml. Nous signalons l'absence de la diosmine dans le jus d'orange pressé à la main de la variété (Java). Ceci est la preuve que la diosmine existant dans les jus commerciaux provient totalement de l'écorce d'orange.

En outre, les teneurs de diosmine trouvées dans les jus commerciaux dans cette étude, sont dans le même intervalle des valeurs reportées dans la littérature (Giuseppe G et al., 2007).

La *rutine* est présente dans neuf variétés de jus analysées à des concentrations importantes. Le jus **naturel d'orange Java sanguine** contient la quantité maximale de rutine (20 mg/100ml), alors que la valeur minimale a été trouvée dans le jus **Rouïba citronnade** (0,35mg/100 ml). La valeur moyenne de rutine était de 6,643 mg/100 ml.

La quercétine était présente dans trois variétés de jus avec des concentrations différentes qui sont par ordre croissant: 2,5 mg/100ml (**Rouïba orange et carotte**), 10,05 mg/100ml (**La belle pêche et orange**) et 11,78 mg/100ml (**Mon gout orange**). La valeur moyenne de la concentration en ce composé est égale à 8,11mg/100 ml.

Par ailleurs, notre étude montre l'existence d'acides phénols mais en quantité moins importante que les flavonoïdes, parmi lesquelles : *L'acide caféique*, *l'acide gallique*, *l'acide p-coumarique*, *l'acide férulique* et *l'acide sinapique*.

L'acide caféique est présent dans huit variétés de jus, sa concentration s'échelonne de 0,606mg/100ml (**Fruit d'or orange**) à 13,84 mg/100ml (**La belle pêche et orange**).

Quant à l'acide gallique, il n'était absent que dans quatre variétés de jus étudiées. Sa valeur moyenne est de 2,397 mg/100ml. La variété **Vita jus orange sanguine et grenade** contient la quantité la plus importante d'acide gallique (5,08 mg/100ml), alors que la variété **Rami orange** en contient la concentration la plus faible.

L'acide p-coumarique était présent dans sept échantillons de jus avec différentes concentrations variant de 7,9 mg/100 ml dans le jus **Rami mandarine** à 168,12 mg/100 ml dans le jus **Izdihar mix fruit**. La concentration moyenne d'acide p-coumarique était de 950,0525mg/100ml.

L'acide férulique était présent dans huit variétés de jus avec une plus faible concentration par rapport aux autres composés dosés, la valeur maximale de la concentration en cet acide est de 0,24mg/100ml (**jus naturel d'orange Java sanguine**) et le minimum est de 0.00086 mg/100ml (**Mon gout orange**). La concentration moyenne d'acide férulique était de 0,0504 mg/100ml.

La teneur en *acide sinapique* variait de 0,37mg/100 ml dans le jus **Fruitdor orange** à 1,57mg/100 ml dans le jus **La belle pêche et orange**. L'acide sinapique a été détecté dans huit variétés de jus avec une concentration moyenne de 0,783mg/100 ml.

Dans cette étude, nous nous sommes aussi intéressés au dosage de la vitamine C (acide ascorbique) vu son importance pour la santé humaine et pour la synergie qui existe entre ce composé et les polyphénols dans les divers effets biologiques. En effet, des études ont prouvé que

l'activité antioxydante des polyphénols augment en présence de la vitamine C (Curtay et al., 2000).

Dans notre étude, nous avons dosé la vitamine C et nous avons trouvé qu'elle était présente dans toutes les variétés de jus étudiées avec des concentrations très importantes pour la plupart d'entre elles. La valeur maximale étant de 3946,2mg/100ml et a été trouvée dans cette étude dans le **jus naturel d'orange Java sanguine**. Pour les jus commerciaux, quatre seulement parmi les variétés étudiées présentaient des concentrations inférieures à 100 mg/100 ml avec une valeur minimale détectée dans **Izdihar mix fruit** et qui est de 5,13mg/100ml.

Le deuxième acide organique auquel on s'est intéressé dans cette étude, était l'acide citrique, et ceci pour le rôle qu'il joue comme antioxydant, anti-bactérien et anti-coagulant à des concentrations faibles à moyennes, sans oublier de signaler son effet néfaste à de fortes concentrations (allergie, ulcère de l'estomac...).

Notre étude portant sur la détection et la quantification de l'*acide citrique* dans les jus commerciaux a montré leur richesse en ce composé (538 à 22355 mg/100ml). La valeur moyenne était de 8180,7018mg/100ml.

Nous n'avons pas détecté l'acide citrique dans le jus naturel de la variété Java sanguine quoique, dans la littérature, on reporte des valeurs de (8,4 à 12,6 g/l) dans le jus d'orange Navelina.

Vu les valeurs élevées d'acide citrique détectées dans la plupart des variétés de jus étudiées d'une part et le taux élevé d'hespéridine montrant l'utilisation du zeste d'agrumes (flavédo et/ou albédo) de l'autre part, nous avons supposé qu'une quantité importante de sucre a été ajoutée pour parvenir à un goût délicieux de jus commerciaux. Pour ce faire une analyse quantitative de saccharose a été conduite.

Notre étude a effectivement montré des valeurs très élevées de *saccharose* dans tous les jus commerciaux étudiés avec une valeur moyenne de 5,1837g/100ml. Mais la valeur maximale de sucre a été détectée dans le jus pressé à la main de l'orange Java sanguine, ceci peut être dû au fait que la pulpe d'orange est riche en saccharose, fructose et glucose et qu'un seul pic représente la somme de ces composés. Par contre les jus industriels riche plutôt en peau d'orange, sont pauvres en fructose et glucose, donc le seul sucre représentant les glucides dans ces jus est le saccharose ajouté.

Dans le tableau (4.3) ci-dessous nous présentons les concentrations totales en composés biologiquement actifs totaux dans 100 ml de jus de chaque variété. Cette valeur est obtenue en faisant la somme des teneurs de toutes les molécules étudiées (polyphénols + acides organiques).

La quantité maximale de polyphénols totaux a été détectée dans le jus **Yes orange** et elle est de 6062,35mg/100ml alors que la quantité minimale est de 51,408mg/100ml (**Fruitdor orange**). La moyenne des polyphénols totaux étaient de 555,363mg/100ml et la valeur moyenne des acides organiques totaux étaient de 11790,414mg/100ml.

Tableau 4.3 : concentrations totales des composés biologiquement actifs totaux dans 100 ml de jus de chaque variété

<u>Variété de jus</u>	<u>Concentration des polyphénols totaux et des acides organiques totaux (mg/100ml)</u>	
	<u>Polyphénols totaux</u>	<u>Acide organique totaux</u>
Fruit d'or (orange)	51,408	10084
La belle (pêche/orange)	84,09	1520,6
Mon gout (orange)	106,803	13410,91
La belle (orange)	62,451	4787,99
Rami (mandarine)	81,988	3735,7
Vitajus (orange sanguine et grenade)	77,205	251,37
Rami (orange)	75,137	467,92
Vitajus (nectar orange)	85,566	281,5
Rouïba (orange/carotte)	112,1498	3120
Izdihar (mix fruit)	250,271	5,13
Rami (mure)	63,124	19,49
Rouïba (orange)	54,7227	19235,97
Tchinador (orange)	1234,458	22557,98
Jus YES (orange)	6062,35	6132,16
Izdihar (tropical fruit)	67,47	10425,8
Rouïba (citronnade)	191,42886	4182
Jus naturelle orange Java sanguine	780,55	3946,2

Référence :

- Andreas Kampkötter, Claudia Timpel, Ruben Felix Zurawski, Sven Ruhl, Yvonne Chovolou, Peter Proksch, Wim Wätjen. « Increase of stress resistance and lifespan of *Caenorhabditis elegans* by quercetin », dans *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2008, p. 314-323
- Guardia T, Rotelli AE, Juarez AO, Pelzer LE, 2001, « Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. », dans *Farmaco*, vol. 56, p. 683-7)
- Giuseppe Gattuso, Davide Barreca, Claudia Gargiulli, Ugo Leuzzi and Corrado Caristi .2007 Flavonoid Composition of Citrus Juices. *Molecules. Review 12*, 1641-1673
- Jean. P, Jean ; M Robin. 2000, Intérêt des complexes antioxydants ; *Centre D'étude et de développement de la nutrithérapie, info* .
- Leuzzi, U.; Caristi, C.; Panzera, V.; Licandro, G. 2000, Flavonoids in pigmented orange juice and second-pressure extracts. *J. Agric. Food Chem.* 48, 5501–5506.

Conclusion et perspectives

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et analytique d'un fruit parmi les plus utilisés par la population Algérienne et dans le monde ; l'orange (*Citrus sinensis.L*).

Nous sommes particulièrement intéressés par les composés polyphénoliques pour leur grand intérêt dans le domaine biologique.

Ce travail de mémoire de Magister a été divisé en deux parties :

A-POLYPHENOLS IDENTIFIES DANS LES AGRUMES FRAICHE (orange et mandarine) :

La séparation et la purification des extraits de solvants, à permis d'isoler différentes molécules appartenant à la famille des polyphénols. D'eux d'entre elles ont été identifiées ; ce sont l'héspéridine et la diosmine. L'élucidation structurale a été accomplie par comparaison des spectres IR à des données de la littérature en plus d'une comparaison à des molécules purifiées à partir d'un extrait standard contenant ces mêmes composés.

Les autres molécules (6) ne sont pas totalement identifiées et des analyses par RMN sont nécessaires.

B-DOSAGE DE POLYPHÉNOLS DANS LES JUS COMMERCIAUX A BAS NATURELLE :

Les composés purifiés de l'orange, Cinq acides phénols, deux acides organiques et le saccharose ont été quantifiés dans seize échantillons de jus commerciaux et un jus d'orange naturel. Tous les jus étudiés contiennent une concentration importante d'héspéridine. C'est un composé qu'on trouve en concentration importante dans le flavédo d'orange mais beaucoup moins dans la pulpe. La plupart des jus commerciaux

sont donc riche en flavédo et c'est ce qui donne la saveur plus ou moins amère à ces jus.

La comparaison des résultats a montré des différences en concentration variant en mg/100mL de :

(13 à 73, 83) hespéridine, (0,088 à 6,99) diosmine, (2,5 à 11,78) quercétine, (0,35 à 20) rutine, (5,13 à 3946,2) acide ascorbique, (538 à 9500) acide citrique, (0,158 à 1,57) acide sinapique, (0,606 à 13,84) acide caféique, (0,437 à 11,41) acide gallique, (7,9 à 6000) acide p-coumarique, (0,00086 à 0,24) acide férulique et (0,15 à 39g) saccharose.

Les résultats du dosage des composés polyphénoliques et des acides organiques dans les échantillons de jus mènent aux conclusions suivantes:

L'hespéridine est le composé le plus intéressant et le plus étudié sur le plan pharmacologique. Cette molécule, en combinaison avec la diosmine, est utilisée pour le traitement de l'insuffisance veineuse et les hémorroïdes. L'isolement de ces deux composés s'est avéré très difficile.

L'hespéridine, la rutine et les autres flavonoïdes pourraient réduire la perméabilité capillaire et avoir une action anti-inflammatoire et sont connus sous le nom de vitamine P quoiqu'ils ne soient pas des vitamines. L'hespéridine, ou ses métabolites, ont montré différents effets, comme l'inhibition de la prolifération de cellules cancéreuses, la diminution de la tension artérielle, et la diminution du taux de cholestérol.

L'acide citrique est un additif alimentaire (numéro E330) , il est utilisé dans l'industrie alimentaire comme acidifiant (soda), correcteur d'acidité, agent de levuration et dans la composition d'arôme (Numéro FEMA/GRAS 2306). il est utilisé comme anticoagulant sanguin, fongicide, bactéricide, anti-algues (lutte contre les lichen). Mais l'augmentation de la quantité d'acide citrique chez l'être humain peut provoquer des allergies cutanées, il est par conséquent à manipuler avec précaution.

Les jus sont une **bonne source** de vitamine C. Le rôle que joue cette vitamine dans l'organisme va au-delà de ses propriétés antioxydants; elle contribue aussi à la santé des os, des dents et des gencives. De plus, elle favorise l'absorption du fer contenu dans les végétaux, protège contre les infections et accélère la cicatrisation

Ceci montre bien l'importance de la consommation quotidienne des jus même industriels vu leur richesse en composés ayant un grand intérêt biologique.

Mais vu le taux élevé de l'acide citrique et du saccharose dans ces jus, il est préférable de ne pas en abuser.

En conclusion, le but de notre travail était de montrer que la consommation des jus commerciaux à base naturelle apporte au consommateur un taux non négligeable de composés possédant un intérêt biologique croissant, spécialement pour les personnes ayant des difficultés à consommer les fruits frais. Car il a été montré que les gens consommant des quantités élevées d'héspéridine venant de leur alimentation présentaient moins de risque de souffrir de maladie vasculaire cérébrale ou de thrombose.

Prises séparément, ces molécules, mis à part l'acide citrique et le sucre, n'ont que des effets bénéfiques pour la santé humaine, cependant, ce que nous ne pouvons pas confirmer est l'effet bénéfique de l'ensemble des composés avec des teneurs élevées sur l'être humain. Pas ou peu d'études ont été faites dans ce domaine.

Pour cela et comme perspective, nous voyons utile d'étudier l'effet sur la santé humaine (étude épidémiologique et in vivo sur l'animal à priori) des jus commerciaux pour voir l'effet de cet amas de molécules ensemble sur la santé humaine. Ce travail pourra bien se faire en collaboration avec une équipe de biologistes ou de médecins motivés.

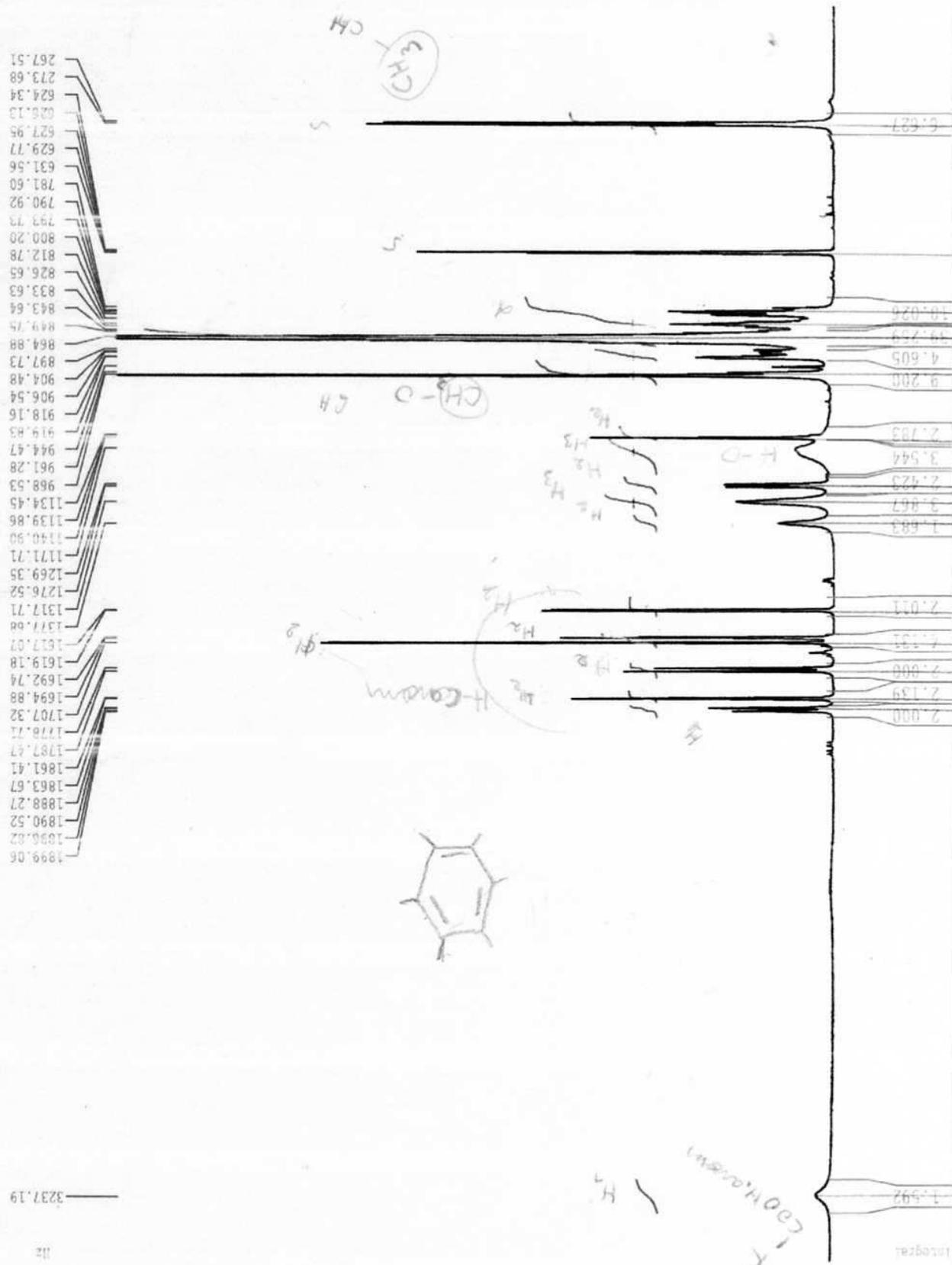
Spectre proton : ECH: FBSAN7

Current Data Parameters
 NAME: FBSAN7
 EXPNO: 2
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ Time: 13. 11. 2000
 INSTRUM: spect
 PROBHD: 5 mm QNP
 PULPROG: zgpg30
 TD: 32768
 SOLVENT: dms
 NS: 16
 DS: 4
 SFO: 500.136262
 FIDRES: 0.1684
 AQ: 2.46801
 RG: 1
 DW: 90.5
 DE: 139
 TE: 300
 D1: 1.000000
 F1: 12
 DE: 129
 SFO: 250.13225
 RUC: -6
 P1: 1

F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 250.13000
 NUC1: 13C
 NUC2: 1H
 PC: 2

ID list parameters
 CX: 23
 F1: 13.6
 F2: 3417
 F3: -0.2
 F4: -53
 F5: 0.603
 F6: 150.935



Spectre proton :ECH: FBSAN7

Current Data Parameters
 NAME: ECH
 EXPCNO: 1
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 500000
 Time: 13.52
 INSTRUM: spect
 PULPROG: zgpg
 CH1: 32788
 SOLVENT: demo
 NS: 1064
 DS: 2
 SWH: 5620.287 Hz
 FIDRES: 0.168465 Hz
 AQ: 2.1680116 sec
 RG: 181
 DW: 90.575 usec
 DE: 129.39 usec
 TE: 300.0 K
 LC: 1.0000000 usec
 FL: 12.00 usec
 JC: 129.39 usec
 STOI: 256.132512 MHz
 NUC1: 1H
 P1: -6.00 dB

F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 250.1300000 MHz
 NQ: no
 SFO: 0
 LB: 0.00 Hz
 GB: 0
 PC: 2.00

ID RMS plot parameters
 CX: 23.00 cm
 FIP: 7.659 mm
 FI: 1925.63 Hz
 FZ: 6.408 mm
 F2: 1801.70 Hz
 FWHM: 0.05829 ppm/cm
 RESOL: 16.07865 Hz/cm

1619.18
1617.07

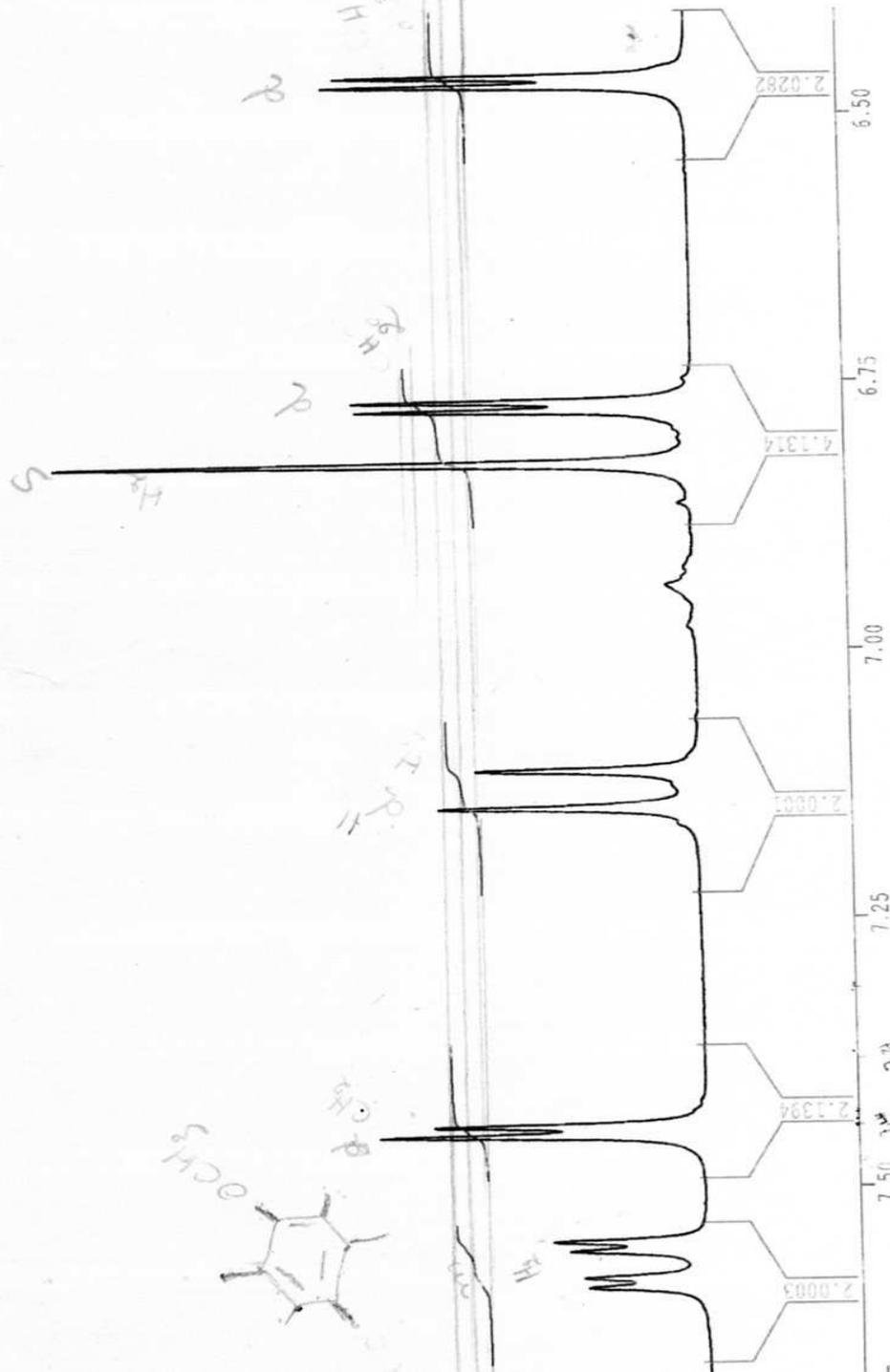
1692.74
1694.88
1707.32

1735.69

1778.71
1787.67

1863.67
1861.41

1888.27
1890.82
1896.82
1899.06



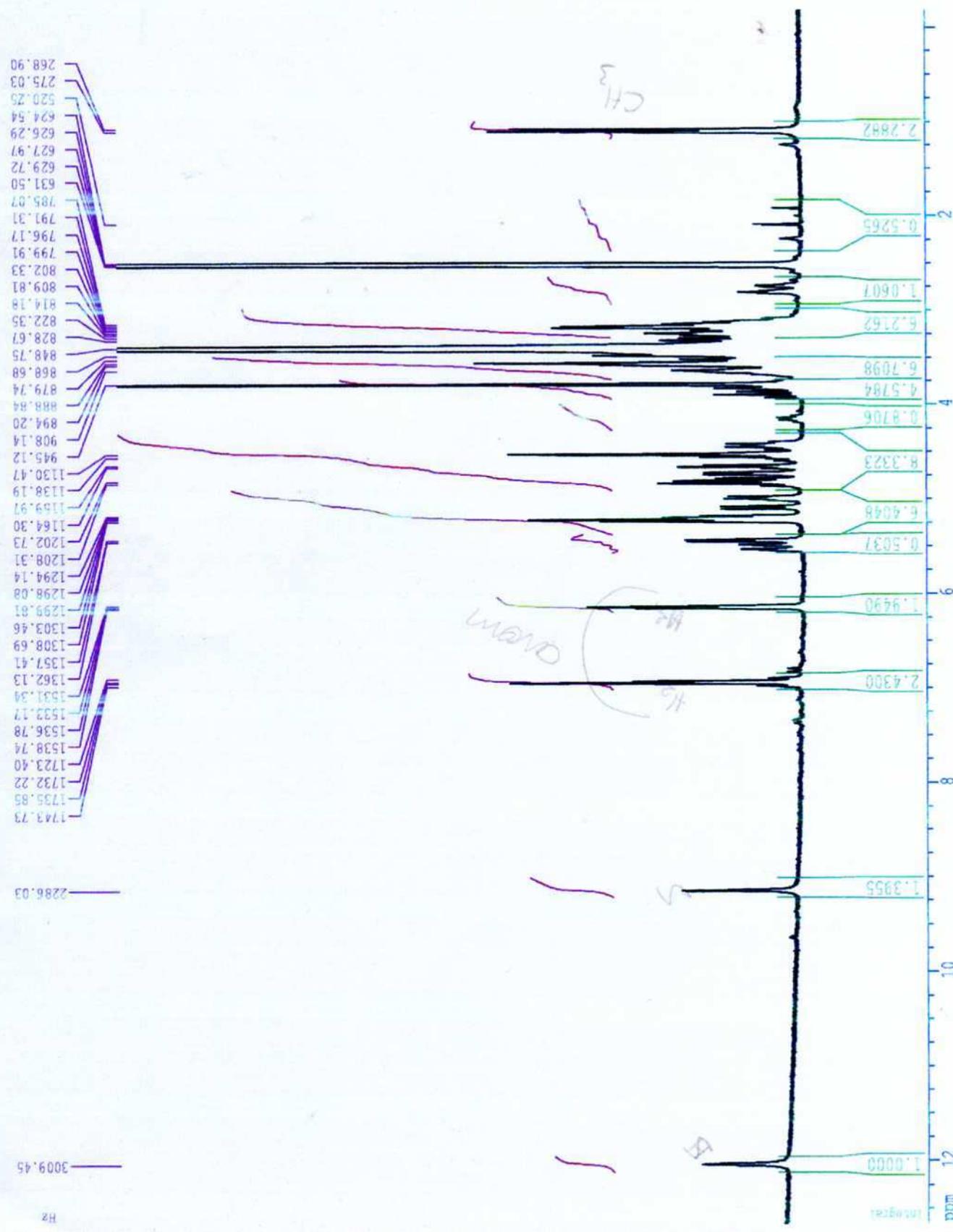
Spectre proton : ECH:FBSAN8

Current Data Parameters
 NAME fbsan8
 EXPNO 1
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 500000
 Time 11.53
 INSTRUM spect
 PROBRD 5 mm QNP 1H
 PULPROG zg30
 TD 32768
 SOLVENT dms
 NS 728
 DS 2
 SWH 5530.287 Hz
 FWHM 0.188566 Hz
 AQ 2.5900116 sec
 RG 362
 DM 40.575 usec
 DE 129.39 usec
 TE 300.0 K
 O1 1.0000000 sec
 F1 12.00 usec
 DE 129.39 usec
 SE01 250.1322512 MHz
 NUCL 1H
 P1 1.0000000 sec
 PL1 -6.00 dB

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 250.1300000 MHz
 NQW 0
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 2.00

1D INMR plot parameters
 CX 23.00 cm
 FIP 12.657 ppm
 F1 3165.80 Hz
 F2 -0.192 ppm
 F2 -45.56 Hz
 FREQW 0.55821 ppm/cm
 HZCN 135.6434 Hz/cm



Integral

ppm

12

10

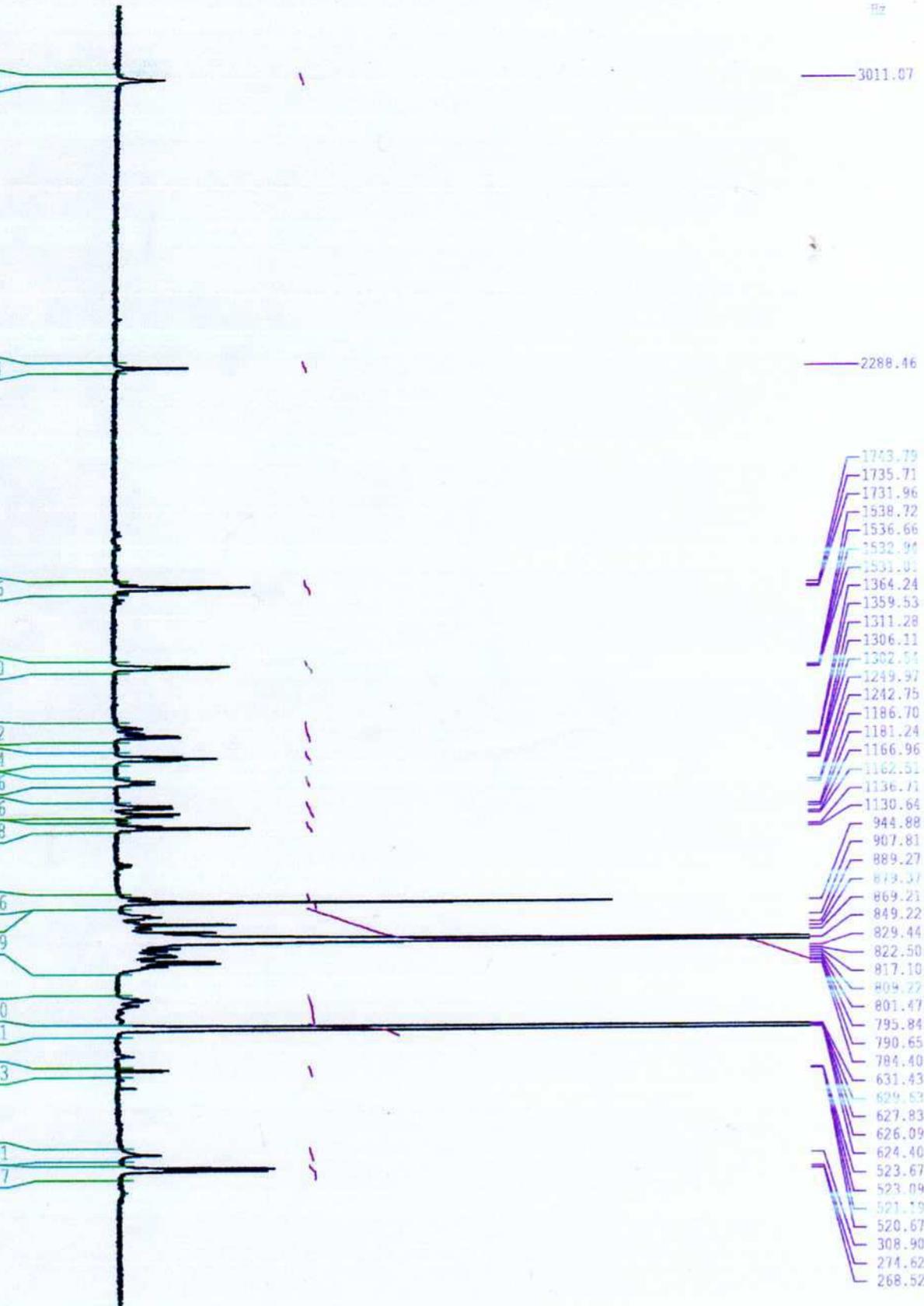
8

6

4

2

0



Current Data Parameters

NAME: 1

EXTNO: 1

EXPNO: 1

F2 - Acquisition Parameters

Date_ : 300920

Time : 9.32

INSTRUM : spect

PROBHD : 5 mm QNP 1H

PULPROG : zg30

TD : 32768

SD : 32768

DETECTOR : dsmo

NAME : 500

NUC1 : 13C

NUC2 : 13C

QNP1 : 500.136267 MHz

QNP2 : 0.125760 MHz

PC : 2.00

F2 - Processing parameters

SI : 32768

SF : 250.1300000 MHz

KCM : no

SSB : 0

LB : 0.00 Hz

GB : 0

PC : 2.00

10 NMR plot parameters

SI : 32768

CF : 23.00 cm

RF : 12.787 MHz

F1 : 3198.42 Hz

F2 : -0.512 ppm

F3 : -78.08 Hz

PRM1 : 0.56951 ppm/cm

PRM2 : 147.45218 Hz/cm

