

Variation of the quality of lemon (*Citrus limon* L.) juice during stage of fruit maturity

Variation de la qualité du jus de citron (*Citrus limon* L.) au cours de la maturation fruit

I. SMATI, I. BETTAIEB REBEY*, M. HAMMAMI, G. HAMDAOUI, M. SAIDAI TOUNSI

Laboratory of Medicinal and Aromatic Plants Biotechnology Center of Borj Cedria, Hammam-Lif 2050, Tunisia.

*Corresponding author: rosainess@yahoo.fr

Abstract - The aim of the present work was to characterize *Citrus limon* juice during his fruit ripening by studying the quality parameters, aroma and polyphenol composition as well as the antioxidant activity of juice. It was found that the maturity of consumption of lemon juice is characterized by the highest yield of juice, a deacidification as well as the highest total sugars and ascorbic acid amounts with maturity index of around 1.46, which makes our fruit suitable for consumption. Aroma composition of this Tunisian variety is also rich in limonene, while the phenolic profile is characterized by the ascendancy of flavonoids and in particular the rutine. On the other hand, the antioxidant activity of lemon juice was evaluated and the greatest inhibition of DPPH was detected at the end of maturity.

Keywords: *Citrus limon*, juice, maturation, aroma, polyphenols, antioxidant

Résumé - Dans le présent travail, nous nous sommes intéressés à la caractérisation du jus de *Citrus limon* cultivé en Tunisie au cours de trois stades de maturation du fruit et cela en étudiant quelques paramètres de qualité, sa composition en arômes totaux et en polyphénols ainsi que l'évaluation de son activité antioxydante. Nos résultats ont montré que la maturité de consommation du jus de *citrus limon* est caractérisée par une accumulation en jus, une désacidification, un enrichissement en sucres et en acide ascorbique ainsi que par un indice de maturité de l'ordre de 1.46, ce qui rend notre fruit propre à la consommation. La composition d'arômes de cette variété cultivée en Tunisie est aussi riche en limonène alors que le profil phénolique est caractérisé par la prédominance des flavonoïdes et en particulier la rutine. D'autre part, l'évaluation du pouvoir antioxydant du jus de citron par le test DPPH a révélé qu'il possède une capacité antiradicalaire importante et croissante en fonction du stade de maturation du fruit.

Mots clés : *Citrus limon*, jus, maturation, arômes, polyphénols, antioxydant

1. Introduction

En Tunisie, le secteur des agrumes occupe une place importante à l'échelle nationale et surtout au Cap Bon qui regroupe les principaux centres de production d'agrumes: Nabeul, Menzel Bouzelfa, El Gobba, Niannou, Beni Khaled, Hammamet D'autres zones de production vivent le jour dans les environs de Tunis: Mornag, La Soukra, Manouba, la péninsule de Sidi Bou Said, la corniche de Bizerte, et les différents points le long de la côte au sud de Bir Bou Reguba (Sousse, Mahdia, Monastir), la plaine de Sidi Bouzid et Kairouan et dans quelques localités abritées de la région intermédiaire du Nord (Béja, Bou Selem, etc.). Le Cap Bon reste la principale zone de production avec près de 11.000 hectares de vergers soit 75% de la surface agrumicole totale (18.000 ha) et 85% de la production totale du secteur. Pour 2010, la production des agrumes est de 308.000 tonnes. Sur le plan de la production, ce sous-secteur permet l'approvisionnement du marché intérieur en fruits frais pendant une période allant jusqu'à six mois par an avec une exportation de ces fruits, au cours de la même période, de l'ordre de 25000 tonnes (Zekri et Laajimi, 1998). Avec leur longue expérience dans le domaine de l'exportation des agrumes commencée depuis la troisième décennie du 20ème siècle et

consolidée au fil des ans, les exportateurs tunisiens rodés aux usages du commerce international, respectueux des exigences sanitaires et procédurales de leurs partenaires étrangers assurent la livraison du produit dans les meilleures conditions et d'une grande qualité organoleptique représentée par sa teneur en jus, son acidité, sa teneur en sucre et sa composition qualitative et quantitative en arômes (Saidani et al. 2010). Cette importante production d'agrumes génère une biomasse importante de déchets (écorce, pépins, pulpe, etc.) qui peuvent constituer jusqu'à 55% du poids de ce produit (Dupaigne, 1971) posant ainsi le problème de la valorisation de cette biomasse. Les polyphénols ont une grande importance grâce à leurs diverses vertus et applications dans les domaines pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique (Chen et al. 2004). Leur rôle d'antioxydants naturels suscite un intérêt croissant des chercheurs visant à les utiliser pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives (Fraga et al. 2010). Considérant l'importance des substances bioactives dans le jus des Citrus et afin de pouvoir juger leur utilité et de justifier la possibilité de leur valorisation, nous avons conduit un travail pour la caractérisation des jus de ce fruit au cours des différents stades de maturation.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Le citron provient d'arbres situés dans des vergers de la région Beni-Khalled (Cap-Bon) durant la campagne (2015-2016) et au cours de trois stades de maturation (stade 1= début de la maturation, stade 2= mi-maturation, stade 3= complète maturation). A chaque stade, un nombre de fruits $n \geq 30$ est récolté à partir d'au moins trois arbres en prenant soin d'en prélever dans toutes les directions. Les fruits récoltés sont pesés afin de déterminer le poids moyen frais (PMF) et l'extraction du jus est réalisée manuellement à l'aide d'une presse agrume.

2.2. Détermination du pourcentage de jus obtenu

Le volume total de jus est pesé et le pourcentage de jus qui correspond au rapport du poids de jus sur le poids total frais du fruit (PTF) est déterminé.

2.3. Mesure de l'acidité totale des extraits

L'acidité du jus est dosée à l'aide d'une solution de soude (0.1N) en présence de la phénolphthaléine. Le résultat final est la moyenne de trois répétitions. L'acidité totale du jus est exprimée en grammes d'acide citrique par litre de jus. Ce paramètre s'exprime par le nombre de ml de soude 0.1 N ayant servi à neutraliser 5 ml de jus à partir de l'équation: $n_a v_a = n_b v_b$

Où:

n_a : normalité de la solution acide (jus).

n_b : normalité de la solution de soude (0.1N).

v_a : volume de la solution acide (jus).

v_b : volume de la solution de soude 0.1N obtenu par lecture directe sur la microburette graduée au centième de ml.

On aura alors: $A \text{ (g/l)} = n_a = n_b v_b \text{ (ml)} / v_a \text{ (ml)} P$

Avec M: masse molaire de l'acide citrique (192 g), P: nombre de protons H^+ acides portés par l'acide citrique (3) (Saidani et Marzouk, 2003).

2.4. Détermination du % Brix et des teneurs en sucres totaux des jus

Le % de Brix a été déterminé par lecture directe en déposant quelques gouttes de jus sur le prisme porte gouttes du réfractomètre. Ce paramètre est défini comme étant la teneur en sucres exprimée en g pour 100 g de jus. La valeur obtenue correspond à la moyenne de dix mesures.

Les résultats obtenus ont été exprimés en g de sucres totaux par litre de jus selon la formule suivante:

$$\text{Teneur en sucres totaux (g/l jus)} = \% \text{ Brix (poids de jus (g) / volume du jus (ml))} * 10$$

2.5. Le rapport sucres/acides

Le taux de sucres rapporté à l'acidité totale permet de définir l'indice de maturité des fruits. Il est calculé par la formule suivante :

$$\text{Indice de maturité} = \text{sucres totaux / acidité totale}$$

2.6. Dosage de l'acide ascorbique

La teneur en acide ascorbique du jus de citron est déterminée par volumétrie au moyen d'une solution d'indophénol jusqu'à l'apparition d'une couleur rose-violette. On procède, d'abord, à la préparation des solutions mères suivantes :

- ❖ Solution (A): mélanger 20 ml l'acide acétique avec 1 l d'eau distillée.
- ❖ Solution (B): dissoudre 0.25 g de 2,6 dichlorphénol-indéphénol et 0.2 g de bicarbonate de sodium dans 1 l d'eau distillée.
- ❖ Solution standard: dissoudre 100 mg d'acide ascorbique dans 100 ml de la solution (A)

L'efficacité des solutions mères a été contrôlée par la solution d'acide ascorbique selon la formule suivante:

$$T = 2\text{ml}/V \text{ (ml)}$$

Avec V: Volume en ml de la solution (B) qui a servi pour le titrage

Ensuite, 5 ml du jus de citron ont été mélangée avec 5 ml de la solution mère et ont été titrée au moyen de la solution indéphénol (B) jusqu'à l'obtention d'une teinte rose-violette.

La teneur en acide ascorbique a été déterminée selon la formule suivante:

$$T' = V'.T.20$$

Avec :

T': teneur en acide ascorbique en mg / 100ml de jus

V': volume en ml indéphénol (B) versé

T: Titre égale à la quantité d'acide ascorbique titrée (2ml) de la solution standard sur le volume de la solution(B) versée

20: coefficient d'extinction

2.7. Extraction des arômes

Afin d'analyser la teneur en arômes de jus de citron, 30 ml d'un mélange de l'éther-pentane (1:1, v:v) ont été ajouté à 30 g de jus et le mélange est soumis à une agitation magnétique pendant 30 min. Après un repos de 15 min, l'échantillon a été congelé à -20°C. Ensuite pour la concentration des arômes, une fois la phase aqueuse est congelée, la phase organique est récupérée dans un ballon piriforme rodé muni d'une colonne de Vigreux puis porté à 36°C dans un bain-marie jusqu'à concentration de l'échantillon à son volume minimum (Tonder et al, 1998).

2.8. Identification par chromatographie en phase gazeuse capillaire

L'analyse des composés volatils est réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de marque HP série 6890 muni d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et d'un injecteur EPC (Electronic Pressure Control). La colonne utilisée de marque HP Innowax. L'identification des composés volatils est réalisée en se référant à des chromatogrammes de témoins purs et par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie en phase gazeuse (GC-MS).

2.9. Extraction des composés phénoliques

Un millilitre du jus de citron a été extrait avec 9 ml de méthanol 80% pendant 30 min à température ambiante. Après centrifugation à 5000 g pendant 10 min, on retire le surnageant.

2.10. Identification des composés phénoliques par RP-HPLC

L'analyse et la séparation des composés phénoliques a été faite par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse (HPLC-RP) à l'aide d'un appareil de type Agilent Technologies 1100, muni d'un détecteur UV-visible à longueur d'onde variable et équipée d'une colonne C18 Hypersil ODS (250 x 4,6 mm, 4 µm), à la température ambiante.

La phase mobile est constituée de deux solvants: l'acétonitrile (A) et l'eau: H₂O à 0,2% d'acide sulfurique (B). Le gradient choisi est comme suit: 15% A/85% B, 0-12 min, 40% A/60% B, 12-14 min, 60% A/40% B, 14-18 min, 80% A/20% B, 18-20 min, 90% A/10% B, 20-24 min, 100% A, 24-28 min. Le débit est maintenu à 0,5ml/min, le volume injecté est 20 µl et les pics ont été mesurés à 280 nm. Les échantillons ont été filtrés à travers une membrane (diamètre des pores: 0,45µm) avant d'être injectés. Les pics ont été identifiés par comparaison avec les temps de rétention des standards et les résultats sont confirmés en effectuant trois répétitions.

2.11. Activité antioxydante : Test DPPH

Une aliquote de 0.2 ml de l'extrait de chaque stade de maturation et à différentes concentrations (1, 10, 100 et 200 µg/ml), est mélangé avec 2.8 ml d'une solution de DPPH (0.1 mmol L⁻¹). Après une agitation vigoureuse du mélange conservé ensuite au repos pendant 30min à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre-UV visible, en se référant à un témoin sans extrait. Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois.

L'activité antiradicalaire est estimée en pourcentage d'inhibition grâce à la formule suivante:

$$PI = (DO \text{ témoin} - DO \text{ extrait} / DO \text{ témoin}) * 100$$

Avec, PI: pourcentage d'inhibition, DO témoin: absorbance du témoin, DO extrait: absorbance de la solution de l'extrait.

3. Résultats et discussion

3.1. Evolution du rendement en jus au cours de la maturation du citron

Au cours de son développement, le citron de la Tunisie accumule de plus en plus de l'eau dans ses fruits en augmentant ainsi le rendement en jus qui passe de 38.43 % au début de la maturation à 48.6 % à la maturation complète (Figure1). Ce taux est plus important que celui déterminé par Guihua et al. (2008) qui est de 40.39% et Saidani et Marzouk (2003) qui est de 27.73% pour la même variété cultivée à maturité, respectivement, en Chine et en Tunisie. Une fois le stade de maturité commerciale des fruits est légèrement dépassé, le rendement en jus décroît très rapidement (stade de sénescence) (Praloran, 1971).

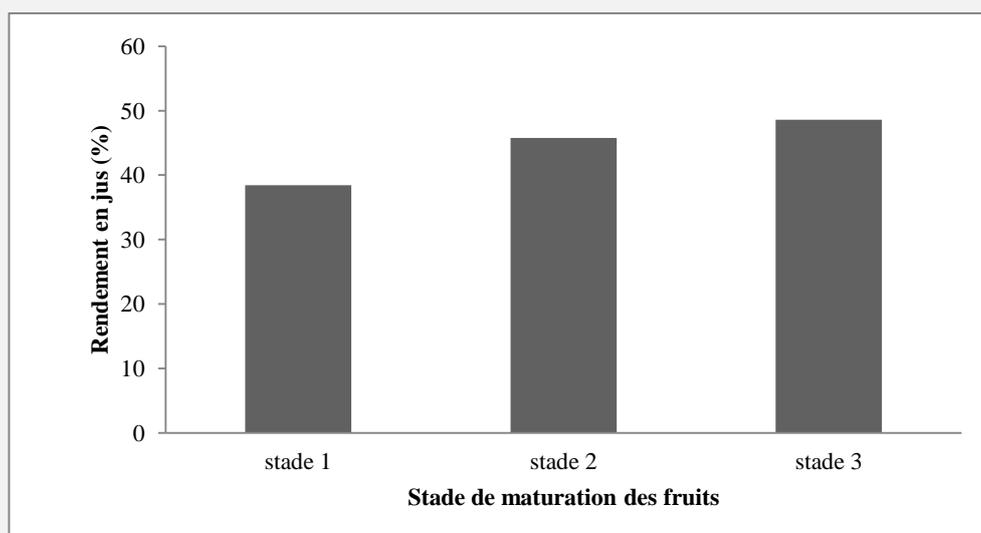


Figure 1. Evolution du rendement en jus de limon en fonction des stades de maturation

3.2. Evolution de l'acidité totale au cours de la maturation du citron

L'analyse de la variance montre un effet très significatif du stade de la maturation des fruits sur l'acidité totale du jus ($p=0.002$). L'acidité du jus de citron diminue au cours de la maturation et passe progressivement de 67.84 g/l à 50.98 g/l (Figure 2). En effet, l'acide citrique et l'acide malique sont les principaux acides qui sont responsables de l'acidité. Les teneurs de ces deux acides décroissent à l'approche de la maturité des fruits ce qui explique la diminution de l'acidité totale. La diminution des teneurs de l'un ou de l'autre ou des deux à la fois, au cours de la maturation, a été mise en évidence aussi bien dans les agrumes que dans d'autres fruits tels que les framboises, les tomates et les pommes (Saidani, 2005).

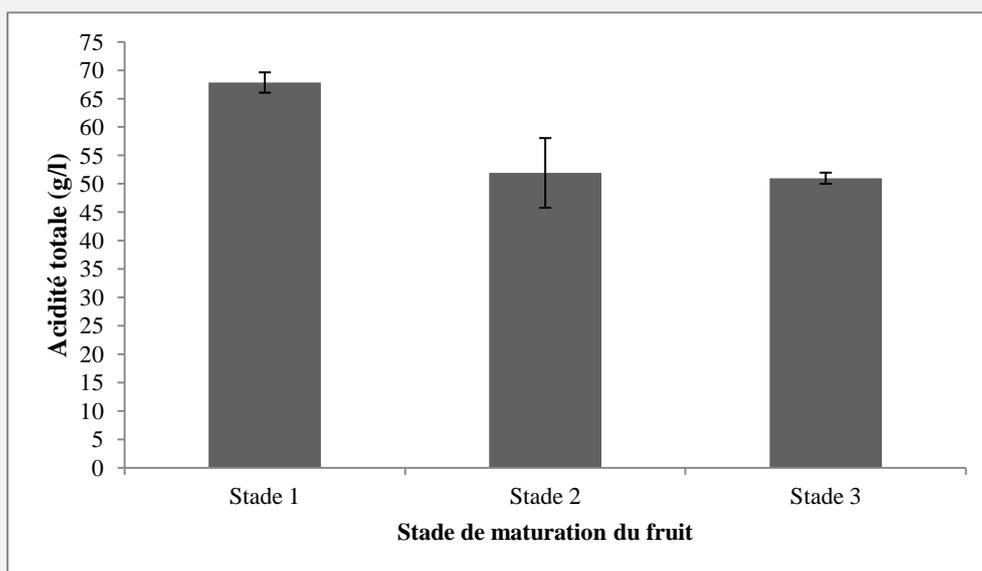


Figure 2. Evolution de l'acidité du jus de citron au cours de maturation

3.3. Evolution des sucres totaux au cours de la maturation du citron

Le calcul de la teneur en sucres totaux se fait grâce au pourcentage de Brix. Ce dernier augmente au cours de la maturation et passe de 6.73 à 7.49%. Par conséquent, la teneur en sucres totaux augmente progressivement et passe de 65.3 g/l au début de la maturation jusqu'à 74.56 g/l à maturité complète (Figure 3). Nos résultats sont en concordance avec les travaux de Praloran (1971) qui a montré que la plupart des agrumes ont la particularité de s'enrichir en sucres réducteurs au cours de la maturation. Ces glucides jouent un rôle important du fait qu'ils soient responsables de l'opalescence du jus et qu'ils participent à sa saveur et aux modifications de sa consistance et de ses propriétés rhéologiques. De plus, ils influent sensiblement sur les constituants volatils du jus. En effet, la présence de glucides modifie la perception sensorielle des arômes (Saidani, 2005).

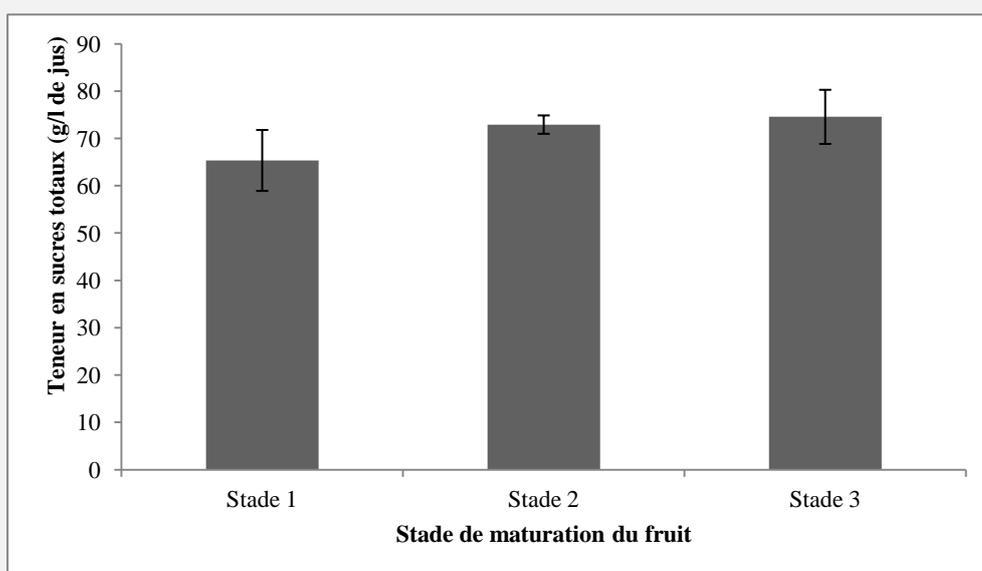


Figure 3. Evolution de la teneur en sucres totaux du jus de citron au cours de maturation

3.4. Evolution de l'indice de maturité

L'indice de maturité qui correspond au rapport des sucres totaux (g/l) à l'acidité totale (g/l), est également un paramètre important qui doit être pris en considération du fait qu'il est lié aux caractéristiques de qualité des agrumes. En effet, ce paramètre doit être supérieur à 1 au moment de la consommation (Agridoc, 1997). Dans cette étude on a montré une augmentation modérée de l'indice de maturité avec le stade de la maturation, ce qui a été déjà prouvé par les travaux de Saidani et al. (2005). A maturité, ce paramètre atteint une valeur de 1.46, ce qui rend notre fruit propre à la consommation.

3.5. Evolution de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique qui représente un élément nutritif vital pour l'homme provient essentiellement des agrumes et en particulier du jus de citron. La figure 4 montre que le stade de maturation a un effet très significatif sur la teneur en vitamine C ($P < 0.05$). En effet, bien que le jus de citron présente un taux élevé en acide ascorbique pendant les trois stades de maturation, il est plus marqué au stade 2 avec un taux de 44.66 mg/100 ml de jus. Cette valeur est plus importante que celle déterminée par (González-Molina et al, 2010) qui varie entre 19 et 34 mg/100 ml pour des variétés de citron cultivées en Espagne.

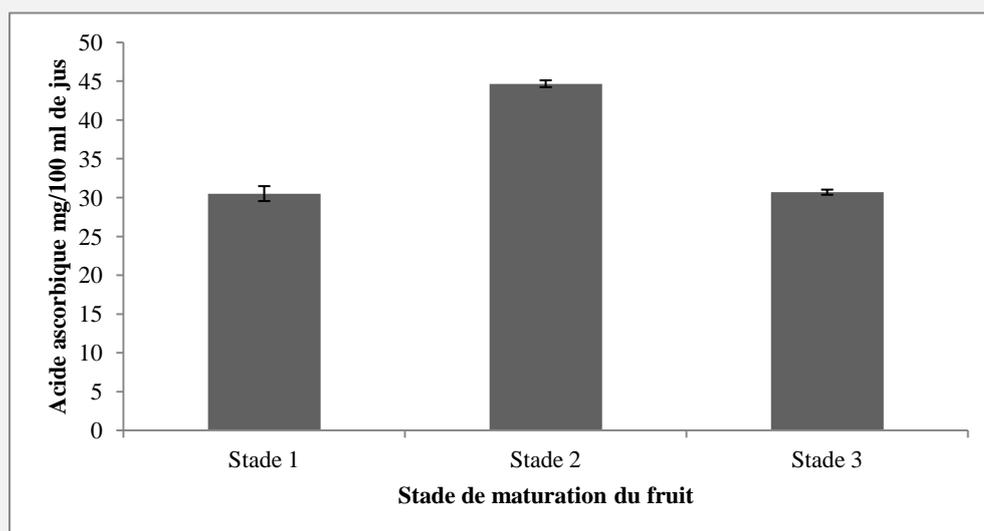


Figure 4. Evolution de la teneur en acide ascorbique dans le jus de citron au cours de la maturation

3.6. Evolution des arômes totaux au cours de la maturation du citron

Les arômes représentent un paramètre important qui influe sur l'acceptabilité des produits par les consommateurs. Le but de cette étude est d'observer les changements dans la composition des arômes totaux du jus de citron au cours de la maturation du fruit. D'après le tableau 1, nous avons pu classer les composés d'arômes identifiés dans le jus de citron en composés majeurs et composés mineurs. Les composés majeurs sont essentiellement des composés terpéniques tels que le limonène, le γ -terpinène et le β -pinène. Les constituants mineurs comprennent, généralement, des composés oxygénés comme le nonanol (0 à 0.04%), le nonanal (0.09 à 0.11%), le terpinen-4-ol (0 à 0.95%), l'octanal (0 à 0.07%), le 1-undecanol (0 à 0.03%)...etc. Le limonène, composé majeur, augmente significativement à maturité pour atteindre un pourcentage de 56.84%. Nos résultats concordent avec ceux de Svoboda et Greenaway (2003) qui ont prouvé que le composant majeur des arômes de *Citrus limon* est le limonène (45-76%). Ce composé est l'un des plus puissants antioxydants du règne végétal. En effet, il possède une activité bloquante et une activité suppressive de la tumeur. Ces activités sont reliées au fait que ce composé induit de nombreuses enzymes dont les glutathions S-transférases qui sont impliquées dans la détoxification des radicaux libres induits (Wattenberg et al, 1989). Le γ -terpinène

est le second composé majeur (12.34 %). Le taux de ce dernier diminue légèrement en fonction du stade de maturation. Ce composé est considéré comme un antioxydant naturel utilisé comme substitut potentiel des antioxydants synthétiques dans des secteurs spécifiques de conservation des aliments où son utilisation n'est pas en contraste avec son arôme (Saidani et al, 2010). Le pourcentage du β -pinène présente un maximum au premier stade de maturation avec une valeur 10.68%. Ce résultat concorde avec celui de Mondello et al. (1995) qui ont déjà identifié ce monoterpène dans les arômes de citron avec un pourcentage de 12.40 %. Le taux de β -pinène diminue sensiblement jusqu'à 9.93% à maturité. L' α -citral et le β -citral sont présents dans le jus de citron avec un taux moyen ne dépassant pas 4%. Ces composants aromatiques sont utilisés en parfumerie pour leurs odeurs de citron et comme arômes dans les produits alimentaires. Les citrals sont également utilisés dans la synthèse de la vitamine A, de l'ionone et de la méthylionone. De plus, ces composés montrent une activité fongicide ou fongistatique, en fonction de la densité de l'inoculum ce qui les rend utiles comme ingrédients possibles contre les mycoses superficielles dans la formulation des médicaments topiques (Moleyar et Narasimhamp, 1987). L' α -pinène est présent dans l'arôme du jus de citron avec un pourcentage qui varie légèrement au cours des stades de maturation, et ne dépassant pas un taux de 1.95%. Ce résultat est en accord avec les travaux de Mondello et al. (1995) qui ont eu un taux de 2% dans des variétés de citron cultivées en Mexique. Finalement, l'examen du tableau 1, nous permet de remarquer que les pourcentages des composés d'arôme identifiés dans le jus de citron subissent des fluctuations durant la maturation. En effet, il y en a ceux qui augmentent en fonction du stade de maturation comme celui du β -citral (2.72% à 3.19%), valencène (0 à 0.17%) et de l'aromadendren (0% à 0.11%). Il y en a d'autres qui diminuent significativement au cours de la maturation comme celui de l' α -phellandrène (0.07% à 0.03%), de l' α -terpinène (0.45% à 0.35%), de l'octanal (0.03% à 0%), de l' α -santalène (0.72% à 0%), du β -bisabolène (1.26% à 0.86)...etc. Ceci s'explique par le fait que la biosynthèse des composés d'arôme est un phénomène dynamique montrant un métabolisme très actif avec des interconversions entre les différents composés d'arôme (Croteau et al, 2000).

3.7. Evolution des composés phénoliques du jus de citron au cours de la maturation du fruit

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires connus par leurs activités biologiques. En effet, ces composés ayant une forte capacité antioxydante, sont utilisés comme médicaments ou suppléments. De ce fait, nous avons identifié et quantifié par RP-HPLC les principaux composés phénoliques du jus de citron en fonction des stades de maturation du fruit. Les teneurs en polyphénols, varient en fonction de la maturation. En effet, durant la maturation, dans le jus de citron, la teneur en polyphénols diminue sensiblement en passant de 1234,34 (stade 1) à 769,90 $\mu\text{g/ml}$ (stade 3). Cette diminution est confirmée par Macheix et al. (1990) qui ont mentionné que les teneurs en composés phénoliques sont élevées au début de la maturation et diminuent ensuite au cours de la croissance. Ils expliquent que simultanément à une évolution des polyphénols, il est vraisemblable que l'accumulation des sucres solubles lors de la maturation interfère directement avec les polyphénols et limite les interactions avec les protéines, d'où la perte d'astringence. Le tableau 2 montre que 14 composés phénoliques ont été identifiés dans le jus de citron comprenant 8 acides phénoliques et 6 flavonoïdes. Ces derniers ont le plus fort taux durant les 3 stades de maturation en variant entre 30.21% et 31.75%. Cette richesse en flavonoïdes attribue au jus de citron une valeur nutritionnelle et industrielle importante puisqu'ils inhibent les enzymes mitochondriales, par conséquent ils provoquent une importante activité antioxydante, anti-spasmolytiques et anti inflammatoire. De ce fait, ils permettent la protection contre plusieurs maladies (Castello et al, 1992). Le composé le plus abondant des flavonoïdes est la rutine trihydrate avec un taux allant de 30.37% à 28.13%. Plusieurs études ont montré l'importance de ce composé dont le travail de Luo et al. (2008) qui ont prouvé qu'il possède une activité inhibitrice de l'angiogenèse tumorale. Il inhibe également l'agrégation plaquettaire ainsi que la baisse de la perméabilité des vaisseaux améliorant, ainsi, la circulation sanguine. De plus, il possède une activité antioxydante, anti-inflammatoire et prévient les maladies cardiovasculaires. Les acides phénoliques identifiés dans le jus de citron sont : l'acide chlorogénique (0.34%-0.40%), l'acide caféique (0.83%-1.37%), l'acide 4-hydroxybenzoïque (1.12%-1.31%), l'acide vanillique (0.74%-1.22%), l'acide 2,5-dihydroxybenzoïque (0.77%-1.03%), l'acide *p*-coumarique (0.49%-0.57%), l'acide protocatechuique (0.27%-0.47%) et l'acide gallique dont le taux est le plus important, variant de 1.74% à 2.05%. Cet acide phénolique possède une forte activité anti-radicalaire (Rangkadilok et al, 2007). Nos résultats infirment ceux de Guihua et al. (2008) qui ont prouvé l'absence de l'acide gallique dans les jus d'agrumes et qui ont montré que l'acide phénolique le plus

abondant dans le jus de variétés de citron cultivés en Chine, est l'acide férulique avec un pourcentage avoisinant les 36% à maturité. Considérant le pouvoir antioxydant potentiel des composés phénoliques, nous allons évaluer, dans ce qui suit, la capacité antioxydante du jus de citron.

Tableau 1. Evolution des pourcentages des composés d'arômes du jus de citron durant les stades de maturation

Composés volatils	Stade 1	Stade 2	Stade 3
α -thujène	0.48 \pm 0.09 ^a	0.45 \pm 0.02 ^a	0.40 \pm 0.007 ^a
α -pinene	1.95 \pm 0.26 ^a	1.91 \pm 0.01 ^a	1.78 \pm 0.06 ^a
camphene	0.06 \pm 0.007 ^a	0.06 \pm 0.004 ^a	0.03 \pm 0.04 ^a
β -pinene	10.68 \pm 0.36 ^a	10.52 \pm 0.19 ^a	9.93 \pm 0.09 ^b
β -myrcène	1.79 \pm 0.17 ^a	1.82 \pm 0.02 ^a	1.78 \pm 0.007 ^a
α -phellandrène	0.07 \pm 0.007 ^a	0.07 \pm 0 ^a	0.03 \pm 0.04 ^b
α -terpinène	0.45 \pm 0.01 ^a	0.45 \pm 0.02 ^a	0.35 \pm 0.04 ^b
octanal	0.07 \pm 0 ^a	0.03 \pm 0.04 ^b	0 ^c
limonène	52.55 \pm 1.47 ^b	53.46 \pm 0.29 ^b	56.84 \pm 1.99 ^a
Z- β -ocymène	0.09 \pm 0 ^a	0.08 \pm 0 ^b	0.08 \pm 0 ^b
E- β -ocimène	0.18 \pm 0.007 ^a	0.16 \pm 0 ^b	0.15 \pm 0.007 ^b
γ -terpinène	12.34 \pm 0 ^a	11.52 \pm 0.6 ^b	10.65 \pm 0.75 ^b
terpinolène	0.82 \pm 0.01 ^a	0.77 \pm 0.01 ^b	0.68 \pm 0 ^c
linalool	0.71 \pm 0.1 ^a	0.85 \pm 0.04 ^a	0.82 \pm 0.15 ^a
nonanal	0.09 \pm 0.01 ^a	0.11 \pm 0.01 ^a	0.09 \pm 0 ^a
3-carène	0.03 \pm 0.04 ^a	0.03 \pm 0 ^a	0 ^a
camphre	0.06 \pm 0.007 ^a	0.08 \pm 0 ^a	0.03 \pm 0.04 ^a
citronellal	0.15 \pm 0.03 ^a	0.13 \pm 0.01 ^a	0.1 \pm 0 ^b
2-pinène-4-ol	0.06 \pm 0.007 ^a	0.04 \pm 0.05 ^a	0 ^b
terpinène-4-ol	0.95 \pm 0.21 ^a	0.46 \pm 0.65 ^a	0 ^b
α -thujone	0.05 \pm 0.07 ^a	0 ^a	0 ^a
nonanol	0.04 \pm 0.05 ^a	0 ^a	0 ^a
sabinène	0.04 \pm 0.06 ^a	0.11 \pm 0.01 ^a	0.09 \pm 0 ^a
bonnéol	0.03 \pm 0.04 ^a	0 ^a	0 ^a
α -terpinéol	1.84 \pm 0.38 ^a	1.71 \pm 0.007 ^a	0.87 \pm 1.23 ^a
geraniol	1.49 \pm 0.52 ^a	1.39 \pm 0.36 ^a	1.33 \pm 0.7 ^a
citronellol	0.42 \pm 0.18 ^a	0.32 \pm 0.09 ^a	0.29 \pm 0.15 ^a
β -citral	2.72 \pm 0.08 ^b	3.19 \pm 0.23 ^a	2.88 \pm 0.19 ^b
nerol	1.91 \pm 0.7 ^a	1.73 \pm 0.43 ^a	1.64 \pm 0.81 ^a
α -citral	3.33 \pm 0.03 ^b	3.82 \pm 0.26 ^a	3.49 \pm 0.20 ^{ab}
citronellyl acétate	0.07 \pm 0.01 ^a	0.06 \pm 0.02 ^a	0.03 \pm 0.04 ^a
α -santalène	0.72 \pm 0.03 ^a	0 ^b	0 ^b
β -caryophyllène	0.58 \pm 0.02 ^a	0.55 \pm 0.07 ^a	0.52 \pm 0.02 ^a
α -bergamotène	0.79 \pm 0.02 ^a	0.66 \pm 0.10 ^b	0.57 \pm 0.04 ^b
β -santalène	0.08 \pm 0 ^a	0.07 \pm 0.02 ^a	0.03 \pm 0.04 ^b
bicyclogermacrène	0.14 \pm 0 ^b	0.19 \pm 0 ^a	0.19 \pm 0.03 ^a
α -bisabolène	0.08 \pm 0.007 ^a	0.07 \pm 0.01 ^{ab}	0.03 \pm 0.04 ^b
β -bisabolène	1.26 \pm 0.06 ^a	1.01 \pm 0.16 ^b	0.86 \pm 0.07 ^b
epi- β -santalène	0.04 \pm 0.05 ^a	0.03 \pm 0.04 ^a	0 ^a
naphthalène	0.07 \pm 0.01 ^a	0.03 \pm 0.04 ^b	0 ^c
β -farnésène	0.09 \pm 0.02 ^a	0.04 \pm 0.05 ^b	0 ^c
trans-sabinène hydrate	0 ^a	0.02 \pm 0.03 ^a	0 ^a
1-undecanol	0 ^a	0.03 \pm 0.04 ^a	0 ^a
cis-géranol	0 ^a	0.47 \pm 0.67 ^a	0 ^a
psi-limonène	0 ^c	0.17 \pm 0.24 ^b	0.47 \pm 0.18 ^a
valencène	0 ^c	0.11 \pm 0.007 ^b	0.17 \pm 0.007 ^a
p-cymène	0 ^a	0 ^a	0.44 \pm 0.62 ^a
cis-limonène oxide	0 ^a	0 ^a	0.03 \pm 0.04 ^a
β -l-pinene	0 ^a	0 ^a	0.67 \pm 0.94 ^a
β -phellandrene	0 ^a	0 ^a	0.32 \pm 0.45 ^a
aromadendren	0 ^b	0 ^b	0.11 \pm 0.02 ^a
cis-p-mentha-2, 8-dien-1-ol	0 ^a	0 ^a	0.03 \pm 0.04 ^a
cyclofenchène	0 ^a	0 ^a	0.38 \pm 0.54 ^a

Tableau 2. Evolution des pourcentages des composés phénoliques du jus de citron durant sa maturation

Composés phénoliques	stade 1	stade 2	stade 3
Acides phénoliques totaux	7.48 ± 0.25 ^b	6.94 ± 1.24 ^{ab}	7.99 ± 1.13 ^a
acide gallique	1.74 ± 0.19 ^a	2.05 ± 0.63 ^a	1.78 ± 0.06 ^a
acide chlorogénique	0.34 ± 0.02 ^a	0.37 ± 0.02 ^a	0.40 ± 0.01 ^a
acide caféique	0.83 ± 0.01 ^c	1.02 ± 0.08 ^b	1.37 ± 0.04 ^a
acide 4-hydroxybenzoïque	1.31 ± 0.003 ^a	1.12 ± 0.03 ^b	1.14 ± 0.05 ^b
acide vanillique	1.22 ± 0.02 ^a	0.81 ± 0.03 ^b	0.74 ± 0.1 ^b
acide 2.5-dihydroxybenzoïque	1.01 ± 0.03 ^a	0.77 ± 0.006 ^b	1.03 ± 0.01 ^a
acide <i>p</i> -coumarique	0.49 ± 0.004 ^b	0.52 ± 0.04 ^{ab}	0.57 ± 0.005 ^a
acide protocatechique	0.34 ± 0.06 ^a	0.27 ± 0.005 ^a	0.47 ± 0.14 ^a
Flavonoïdes totaux	31.75 ± 0.18 ^a	31.18 ± 2.08 ^{ab}	30.21 ± 0.64 ^b
catechine hydrate	0.28 ± 0.008 ^b	0.28 ± 0.02 ^b	0.40 ± 0.01 ^a
rutine trihydrate	30.37 ± 0.04 ^a	30.10 ± 1.34 ^a	28.13 ± 0.33 ^b
luteoline	0.32 ± 0.02 ^b	0 ^c	0.41 ± 0.01 ^a
naphtoresorcinol	0.28 ± 0.01 ^b	0.32 ± 0.05 ^b	0.43 ± 0.01 ^a
flavone	0.23 ± 0.02 ^b	0.22 ± 0.01 ^b	0.39 ± 0.03 ^a
coumarine	0.26 ± 0.01 ^b	0.25 ± 0.03 ^b	0.44 ± 0.05 ^a

3.1. Evaluation de l'activité antioxydante du jus de citron au cours de la maturation

L'évaluation de l'activité antioxydante du jus de citron a montré que le jus examiné est capable de capter le radical synthétique DPPH. En effet, le premier stade de maturation montre le plus faible pourcentage d'inhibition avec une valeur de 86.56% (Figure 5). Ce pourcentage est comparable avec celui de l'acide ascorbique (un antioxydant synthétique) dont la valeur atteint les 90%.

De plus, la figure 5, montre que le pourcentage d'inhibition augmente progressivement au cours de la maturation du citron. En effet, le troisième stade qui présente un pourcentage d'inhibition dépassant les 90%, est le plus efficace à inhiber le radical synthétique DPPH. Le pouvoir antioxydant du jus de citron de la Tunisie étudié dans ce travail est meilleur par rapport à celui du citron cultivé en Chine présentant un pourcentage de 24.50% (Guihua et al, 2008).

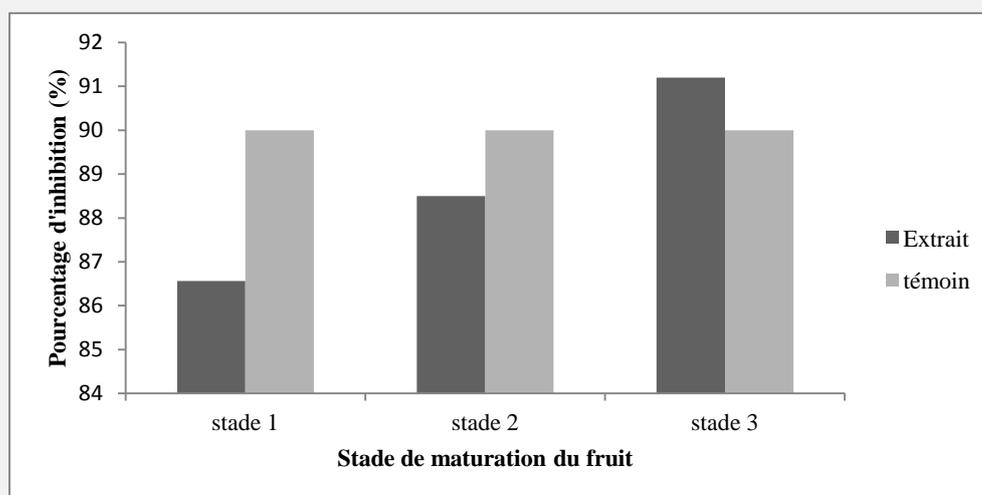


Figure 5. Capacité inhibitrice du radical synthétique DPPH du jus de citron au cours de la maturation

4. Conclusion

Au cours du cycle de formation et de maturation de citron cultivé au Cap-Bon, plusieurs modifications biologiques et biochimiques sont enregistrées. Tout d'abord, le rendement en jus accuse une augmentation progressive pour atteindre plus de 48 % dans le citron complètement mûr. Simultanément, il se produit une désacidification progressive du jus ainsi qu'un enrichissement en sucres solubles et en teneur en acide ascorbique (44.66 mg/100 ml du jus). De plus on a enregistré un indice de maturité de l'ordre de 1.46 à maturité, ce qui rend notre fruit propre à la consommation.

Les terpènes sont les composés d'arôme majeurs du jus de citron. Le limonène est l'hydrocarbure monoterpénique le plus représenté et dont le taux augmente sensiblement à maturité. D'autre part, les variations quantitatives et qualitatives des composés d'arôme du jus de citron sont la conséquence d'une dynamique métabolique, c'est ce qui explique l'évolution irrégulière des pourcentages des composés d'arôme dans le jus de citron. Les teneurs en polyphénols du jus de citron diminuent sensiblement à la fin de la campagne. Parmi les composés phénoliques identifiés, les flavonoïdes sont les plus abondants et en particulier la rutine trihydrate ce qui attribue au jus de citron de la Tunisie des activités antioxydantes, anti-spasmodiques anti-inflammatoire et anticancéreuse intéressantes.

Enfin, l'évaluation de l'activité antioxydante du jus de citron a montré que le jus examiné est capable de capter le radical synthétique DPPH et que ce pouvoir devient de plus en plus important en fonction de la maturation, ce qui rend le jus de citron de la Tunisie un substitut potentiel des antioxydants synthétiques.

5. Références

- Castello, F., Fernandez, A., Llauro, F., Vinas, R (1992).** Effect of different types of food on growth in captive grouper (*Epinephelus guaza*, L.). Mar Life 1: 57-62.
- Chen, D., Daniel, KG., Kuhn, DJ., Kazi, A., Bhuiyan, M., Li, L., Wang, Z., Wan, SB., Lam, WH., Chan, TH., Dou, QP (2004).** Green tea and tea polyphenols in cancer prevention. Front Biosci. 1: 9-31.
- Croteau, R., Kutchan, TM., Lewis, NG (2000).** Natural products (secondary metabolites). Biochem Mol Biol Plants 24: 1250-1319.
- Dupaigne, P (1971).** Sur la détermination du pourcentage de jus dans les fruits frais. Fruit 26: 305-308.
- El Atyqy, M (2005).** Lipides: Acides gras, Lipides simples et complexes. Sciences et Techniques des Aliments. www.azaquar.com/download/tm/lipides_tm.pdf
- Farhat, A., Fabiano-Tixier, AS., El Maataoui, M., Maingonnat, JF., Romdhane, M., Chemat, F (2010).** Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: Kinetic data, extract's global yield and mechanism. Food Chem 125: 255-261.
- Fraga, CG., Galleano, M., Verstraeten, SV., Oteiza, PI (2010).** Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. Mol Aspects Med 31: 435-445.
- González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, DA., García-Viguera, C (2010).** Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. J Pharma Biom Anal 51: 327-345.
- Guihua, X., Donghong, L., Jianchu, C., Xingqian, Y., Yaqin, M., John, S (2008).** Juice components and antioxidant capacity of *Citrus* varieties cultivated in China. Food Chem. 106: 545-551.
- Luo, H., Jiang, BH., King, SM., Chen, YC (2008).** Inhibition of Cell Growth and VEGF Expression in Ovarian Cancer Cells by Flavonoids. Nut Cancer 60: 800-809.
- Macheix, JJ., Fleuriet, A., Billot, J (1990).** Fruit phenolics, CRC Press, Boca Raton, 378p
- Moleyar, V., Narasimham, P (1987).** Detoxification of essential oil components (citral and menthol) by *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer*. J Sci Food Agric 39: 239-246.
- Mondello L., Dugo P. et Bartle D., 1995.** Automated HPLC-HRGC: A powerful method for essential oil analysis. Part V. Identification of terpene hydrocarbons of bergamot, lemon, mandarin, sweet orange, bitter orange, grapefruit, Clementine and Mexican lime oils by coupled HPLC-HRGC-MS (ITD). Flavour Fragr 10: 33-42.
- Praloran JC (1991).** Les agrumes. Paris, Maisonneuve et Larose. Techniques agricoles et production tropicales, 565p.
- Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worsuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat, M., Satayavivad J (2007).** Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract. Food Chem Toxicol 45: 328-336.
- Saidani, TM., Wannas, AW., Ouerghemmi, I., Jegham, S., Ben Njima, Y., Hamdaoui, G., Zemni, H., Marzouk B (2010).** Juice components and antioxidant capacity of four Tunisian *Citrus* varieties. J Sci Food Agric 15: 142-51.
- Saidani, M., Marzouk, B (2003).** Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. Phytochem 62: 1283-1289.
- Svododa, K., Greenaway, RI (2003).** Lemon scented plants. Int J Aromather 13: 23-32.
- Tonder, D., Petersen, MA., Poll, L., Olsen, CE (1998).** Discrimination between fresh lymade and stored reconstituted orange juice using GC odour profiling and aroma values. Food Chem 61: 223-229.

- Wattenberg, LW., Sparnins, VL., Barany, G (1989).** Inhibition of Nnitrosodiethylamine carcinogenesis in mice by naturally occurring organosulfur compounds and monoterpenes. *Cancer Res* 49: 2689–2692.
- Zekri, S., Laajimi, A (1998).** Etude de la compétitivité du sous-secteur agrumicole en Tunisie. <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/c57/01600238.pdf>.