

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Université Abdelhamid Ibn Badis**  
**Mostaganem**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**



**Département Des Sciences Alimentaires**

**Mémoire De Fin D'étude**

Présenté par :

**Hammoudi Assia**

Pour l'obtention du diplôme de :

**MASTER EN NUTRITION ET PATHOLOGIE**

**Spécialité : Nutrition et Pathologie**

**Thème :**

**Etude comparative du profil phytochimique des extraits  
de jus de *citrus aurantiifolia* et de *Citrus sinensis* et  
évaluation de leurs capacité antioxydante**

**Devant le Jury :**

- |                 |                        |     |               |
|-----------------|------------------------|-----|---------------|
| - Président :   | CHAALAL Abdelmalek     | MCA | U. Mostaganem |
| - Encadrante:   | ALACHAHER Fatima Zohra | MAB | U. Mostaganem |
| - Examinatrice: | Yahla Imene            | MCA | U. Mostaganem |

**Année universitaire : 2022/2023**

# *Remerciement*

Tout d'abord nous tenons à remercier **Allah** le tout puissant et miséricordieux de nous avoir  
. donné le courage, la volonté et la santé pour effectuer ce modeste travail.

Nous exprimons nos profondes gratitude et respectueuses reconnaissances à notre encadrant

**Dr. ALACHAHER Fatima Zohra** pour son encadrement, conseils, sa simplicité,

sa compétence et son sacrifice afin de donner le meilleur et pour son suivi durant

la période de préparation de notre mémoire d'afin d'étude.

Nous voudrions remercier le **Pr. RIAZI. Ali**, le directeur de Laboratoire Des Microorganismes  
Bénéfiques, Aliments Fonctionnels et Santé.

Nos remerciements vont aux membres du jury **M. CHaalal Abdelmalek** et **M. Yahla Imene**

Qui nous ont fait l'honneur d'accepter de jurer notre travail.

Nous voudrions remercier l'ingénieur de laboratoire LMBAFS **M. Djahira HAMED**, pour

son aide, sa disponibilité, son soutien et pour avoir passé la plupart de leur temps

à nous fournir et présenter des informations dans le cadre de nos recherches.

Nous tenons également à exprimer nos vifs remerciements à tous nos amis, l'ensemble

des enseignements ayant contribué de près ou de loin à notre travail.

# *Dédicace*

A l'aide de **Dieu** le tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail

Que je dédie :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral tout au long de ma vie, ma

source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour ma voir réussir,

Que dieu te procure une bonne santé et une longue vie **mon chère papa.**

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon

bonheur, celle qui m'a transmis le courage pour ses encouragements durant mon

parcours, à **ma chère Maman.**

A mes adorables frères

**El-aid et Rafik** qui ont toujours sa m'encourager à leur façon

A mes adorables sœurs

**Djamila et Samira** et ma petite sœur **Soumia** qui ont m' encourager durant la

la période de mon travail

A mes chère amies

**Imane, Fatima , Samra, Wafa, Naima, Assia et Zahira**

A ma famille et toutes les personnes que j'aime

## Liste des abréviations

**ADN** : acide desosciribonucléique

**AGPI** : acide gras polyinsaturés

**DMLA** : maladie dégénérative macula liée à l'âge

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

**EA** : équivalent d'acide gallique

**EQ** : équivalent de Quercétine

**ERO** : espèce réactive de l'oxygène

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène

**H** : heure

**HO•** : radical hydroxyle

**IC<sub>50</sub>** : concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH

**Min** : minute

**Mg** : milligramme

**ml** : millilitre

**Nm** : nanomètre

**NO•** : monoxyde d'azote

**O<sub>2</sub>** : oxygène

**Rdt** : rendement

**RO•** : radical alcoxyle

**ROO•** : radical peroxyde

**Ug** : microgramme

**(%)** : Pourcentage

## Liste des figures

|                  |   |           |
|------------------|---|-----------|
| <b>Figure 01</b> | Schématique de la composition structurale des agrumes   | <b>04</b> |
| <b>Figure 02</b> | Feuilles, fleurs et fruits d'orange   | <b>05</b> |
| <b>Figure 03</b> | Echantillons d'orange ( <i>Citrus sinensis</i> ) et citron vert ( <i>Citrus aurantiifolia</i> )   | <b>14</b> |
| <b>Figure 04</b> | Les étapes de préparation de la matière végétale  | <b>14</b> |
| <b>Figure 05</b> | Les étapes de préparation d'extrait Brute Eau-Méthanol de citron vert <i>C. aurantiifolia</i> et de l'orange <i>C. sinensis</i>           | <b>16</b> |
| <b>Figure 06</b> | Les différentes étapes réalisées dans l'expérimentation   | <b>17</b> |
| <b>Figure 07</b> | Dosage des polyphénols totaux   | <b>19</b> |
| <b>Figure 08</b> | Dosage des flavonoïdes totaux   | <b>20</b> |
| <b>Figure 09</b> | Structure chimique de radical libre et non libre  | <b>21</b> |
| <b>Figure 10</b> | Protocol de préparation des échantillons de test DPPH   | <b>22</b> |
| <b>Figure 11</b> | Mécanisme réactionnel du test DPPH  | <b>22</b> |
| <b>Figure 12</b> | Rendement des extraits hydro-methanoliques de citron vert et d'orange   | <b>24</b> |
| <b>Figure 13</b> | Courbe étalon de l'acide gallique   | <b>26</b> |
| <b>Figure 14</b> | Teneur en polyphénols totaux dans les extraits hydro-methanoliques de citron vert et d'orange   | <b>26</b> |
| <b>Figure 15</b> | Courbe étalon de la quercitine  | <b>27</b> |
| <b>Figure 16</b> | Teneurs en flavonoïdes dans les extraits hydro- methanoliques de citron vert et d'orange  | <b>28</b> |
| <b>Figure 17</b> | Courbe étalon d'acide ascorbique  | <b>29</b> |
| <b>Figure 18</b> | Effet antiradicalaire des extraits hydro-methanoliques de citron vert et d'orange sur la réduction du DPPH et effet de l'acide ascorbique | <b>31</b> |
| <b>Figure 19</b> | Les résultats des IC50 pour le test DPPH  | <b>32</b> |

## Liste des tableaux

|                   |   |           |
|-------------------|---|-----------|
| <b>Tableau I</b>  | Les principaux composés d'orange et citron vert                                 | <b>06</b> |
| <b>Tableau II</b> | Les principales affections liées à la production des radicaux libres et des EOR | <b>11</b> |

# Table des matières

|   |           |
|---|-----------|
| <b>INTRODUCTION</b> .....   | <b>01</b> |
| <b>CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....                            | <b>03</b> |
| <b>I. Caractéristiques générales des fruits étudiés</b> .....             | <b>03</b> |
| I.1.Données botaniques .....  | <b>03</b> |
| I.2.Production mondiale d'agrumes .....                                   | <b>03</b> |
| I.3.Importance de l'agrumiculture en Algérie .....                        | <b>04</b> |
| I.4.Description morphologique et physiologique .....                      | <b>04</b> |
| I.4.1.L'orange .....  | <b>05</b> |
| I.4.2.Citron vert .....   | <b>05</b> |
| I.5.Composition chimiques et valeur nutritive .....                       | <b>06</b> |
| I.6.Utilisation et effets thérapeutiques des fruits de genre Citrus ..... | <b>07</b> |
| <b>II. Les Antioxydants</b> .....   | <b>07</b> |
| II.1.Généralités sur les métabolismes secondaires .....                   | <b>07</b> |
| II.2.Composés phénoliques .....   | <b>07</b> |
| II.2.1.Définition et généralités .....                                    | <b>07</b> |
| II.2.2.Classification des composés phénoliques .....                      | <b>08</b> |
| II.2.2.1.Acide phénoliques .....  | <b>08</b> |
| II.2.2.2.Les flavonoïdes .....  | <b>08</b> |
| II.2.2.2.1.Les flavones .....   | <b>08</b> |
| II.2.2.2.2.Les flavanones .....   | <b>09</b> |
| II.2.2.2.3.Les Iso flavones .....   | <b>09</b> |
| II.2.2.2.4.Flavanols (Flavan-3-ols) .....                                 | <b>09</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| II.2.2.2.5.Flavonols .....   | 09        |
| II.3.Vitamine C .....  | 09        |
| III. Stress oxydatifs .....  | 10        |
| III.1.Conséquence de stress oxydatif .....   | 10        |
| III. Les Maladies liées au stress oxydatif .....   | 11        |
| IV. Propriétés biologiques d'intérêt des composés phénoliques .....                              | 11        |
| IV.1.Activités antioxydant .....   | 11        |
| IV.2.D'autre propriétés biologiques .....  | 12        |
| <b>CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODE .....</b>   | <b>13</b> |
| <b>I .Matériel végétal .....</b>   | <b>13</b> |
| <b>II. Objectifs de l'expérimentation .....</b>  | <b>15</b> |
| <b>III. Préparation des extraits hydro-méthanoliques de jus de citron vert et d'orange .....</b> | <b>15</b> |
| III.1. Le rendement Obtenue .....  | 18        |
| <b>IV. Dosage des polyphénols totaux .....</b>   | <b>18</b> |
| IV.1. Méthode .....  | 18        |
| IV.2. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique .....  | 19        |
| <b>V. Dosage des flavonoïdes .....</b>   | <b>19</b> |
| V.1. Méthode .....   | 19        |
| V.2. Courbe d'étalonnage de la quercétine .....  | 20        |
| <b>VI. Mesure du pouvoir antioxydant .....</b>   | <b>20</b> |
| VI.1. Evaluation de l'activité antiradicalaire du radicale libre DPPH .....                      | 20        |
| VI.2.Mode opératoire .....   | 21        |
| VI.2.1. Préparation du DPPH .....  | 21        |



|  |           |
|--|-----------|
| VI.2.2. Préparation des échantillons .....   | 21        |
| VI.3. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique .....   | 22        |
| <b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>  | <b>24</b> |
| <b>I. Résultats .....</b>  | <b>24</b> |
| I.1. Rendement d'extraction de jus de citron vert et de l'orange .....   | 24        |
| <b>II. Dosage des polyphenols totaux .....</b>   | <b>25</b> |
| II.1. Teneur en polyphenols totaux dans les extraits hydro-méthanoliques de jus de citron vert<br><i>C. aurantiifolia</i> et l'orange <i>C. sinensis</i> ..... | 25        |
| <b>III. Dosage des flavonoïdes .....</b>   | <b>27</b> |
| <b>IV. Evaluation de pouvoir antioxydant .....</b>   | <b>28</b> |
| IV.1. Test réduction du radical libre DPPH .....   | 29        |
| IV.2. Calculs des pourcentages d'inhibition I% .....   | 30        |
| IV.3. Evaluation de l'IC50 .....   | 32        |
| <b>CONCLUSION ET PERSPECTIVE .....</b>   | <b>34</b> |
| <b>ANNEXE .....</b>  | <b>36</b> |
| <b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>   | <b>39</b> |

## Résumé

Les agrumes, une composante de l'alimentation méditerranéenne, sont des fruits composés par les citrons, les oranges, les pamelos et pamplemousses pour ceux les plus consommés. Sur un plan nutritionnel, la perception de ces fruits réside principalement sur leur contenu en vitamine C et l'action antioxydante qui leur est associée. Cependant, la consommation régulière de ces agrumes peut contribuer à maintenir un équilibre optimal pour la santé et prévenir certaines affections associées à l'oxydation et à l'inflammation. Ce travail vise à étudier le profil phytochimique des extraits hydro méthanoliques des deux espèces d'agrumes à savoir, *Citrus aurantiifolia* (Citron vert) et *Citrus sinensis* (Orange douce) provenant de Mostaganem. Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes des deux extraits ont été quantifiées respectivement à l'aide de la méthode Folin-Ciocalteu et la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). De plus, la capacité antioxydante a été évaluée en utilisant la méthode de piégeage des radicaux DPPH. Les résultats de dosage des composés phénoliques totaux des extraits méthanoliques des agrumes étudiés ont montrées que le *C. sinensis* est plus riche en composés phénoliques (**661,4±0,001** ug EAG/g d'extrait) par rapport aux *C. aurantiifolia* (**285,2±0,001** ug EAG/g d'extrait). En revanche, l'extrait méthanolique de jus de citron vert a révélé une concentration plus élevée de flavonoïdes, avec une valeur de **57,8±0,001** µg Eq/mg d'extrait, comparé à l'extrait de jus d'orange qui présente une concentration inférieure de flavonoïdes, avec une valeur de **25,7±0,001** µg Eq/mg d'extrait. Par ailleurs, l'activité antioxydante des extraits de Citrus étudiés a révélé un potentiel antioxydant important avec des pourcentages d'inhibition élevés, atteignant respectivement **94,33%** pour *C. sinensis* et **83,06%** pour *C. aurantiifolia* obtenus avec une concentration de **1000** µg/mg d'extrait eau-méthanol. Ces observations suggèrent que les extraits de jus d'orange et de citron vert constituent de bonnes sources d'antioxydants potentiels. Leur consommation régulière peut contribuer à maintenir un équilibre oxydatif dans le corps et à promouvoir une bonne santé globale.

**Mots-clés :** *C. aurantiifolia*, *C. sinensis*, Polyphénols, Activité antioxydants, DPPH.

## Abstract

A staple of the Mediterranean diet, citrus fruits include lemons, oranges, pummelos and grapefruits. Nutritionally speaking, these fruits are mainly perceived for their vitamin C content and associated antioxidant action. However, regular consumption of these citrus fruits can help maintain an optimal health balance and prevent certain conditions associated with oxidation and inflammation. The aim of this study was to investigate the phytochemical profile of methanolic extracts of two citrus species, *Citrus aurantiifolia* (Lime) and *Citrus sinensis* (Sweet Orange) from Mostaganem. The total polyphenol and flavonoid contents of the two extracts were quantified using the Folin-Ciocalteu method and the aluminum trichloride ( $AlCl_3$ ) colorimetric method respectively. In addition, antioxidant capacity was assessed using the DPPH radical scavenging method. Results for total phenolic compounds in the methanolic extracts of the citrus fruits studied showed that *C. sinensis* is richer in phenolic compounds ( $661.4 \pm 0,001$  ug EAG/g extract) than *C. aurantiifolia* ( $285.2 \pm 0,001$  ug EAG/g extract). On the other hand, the methanolic extract of lime juice revealed a higher concentration of flavonoids, with a value of  $57.8 \pm 0,001$   $\mu$ g Eq/mg extract, compared with the orange juice extract, which showed a lower flavonoid concentration, with a value of  $25.7 \pm 0,001$   $\mu$ g Eq/mg extract. Furthermore, the antioxidant activity of the Citrus extracts studied revealed a high antioxidant potential with high inhibition percentages, reaching respectively **94.33%** for *C. sinensis* and **83.06%** for *C.aurantiifolia* obtained with a concentration of **1000**  $\mu$ g/mg water-methanol extract. These observations suggest that orange and lime juice extracts are good sources of potential antioxidants. Their regular consumption may help maintain an oxidative balance in the body and promote overall good health

**Keywords :** *C. aurantiifolia*, *C. sinensis*, Polyphenols, Antioxidant activity, DPPH

## خلاصة

ثمار الحمضيات ، أحد مكونات حمية البحر الأبيض المتوسط ، هي ثمار تتكون من الليمون والبرتقال واليوميلو والجريب فروت لمن هم أكثر استهلاكاً. من وجهة النظر التغذوية ، يكمن مفهوم هذه الفاكهة بشكل أساسي في محتواها من فيتامين سي ومضادات الأكسدة المرتبطة بها. ومع ذلك ، فإن الاستهلاك المنتظم لهذه الحمضيات يمكن أن يساعد في الحفاظ على التوازن الأمثل للصحة ومنع بعض الحالات المرتبطة بالأكسدة والالتهابات. يهدف هذا العمل إلى دراسة الملامح الكيميائية النباتية للمستخلصات المائية الميثانولية لنوعين من الحمضيات ( *Citrus aurantiifolia* ) و ( *Citrus sinensis* ) من مستغانم. تم قياس كمية محتويات البوليفينول الكلي والفلافونويد للمستخلصين على التوالي باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu وطريقة قياس الألوان ثلاثي كلوريد الألومنيوم (AIC13). بالإضافة إلى ذلك ، تم تقييم قدرة مضادات الأكسدة باستخدام طريقة الكسح الجذري DPPH. أظهرت نتائج فحص إجمالي المركبات الفينولية للمستخلصات الميثانولية لثمار الحمضيات المدروسة أن C. يستخرج. من ناحية أخرى ، أظهر المستخلص الميثانولي لعصير الليمون تركيزاً أعلى من مركبات الفلافونويد بقيمة  $0,001 \pm 57.8$  ميكروغرام مكافئ / ملغ من المستخلص ، مقارنةً بمستخلص عصير البرتقال الذي يقدم تركيزاً أقل من مركبات الفلافونويد بقيمة  $0,001 \pm 25.7$  ميكروغرام مكافئ / ملغ من المستخلص. علاوة على ذلك ، أظهر النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الحمضيات المدروسة إمكانات كبيرة لمضادات الأكسدة مع نسب عالية من التثبيط ، وصلت على التوالي لـ  $94.33\%$  لـ C. تشير هذه الملاحظات إلى أن مستخلصات عصير البرتقال والليمون هي مصادر جيدة لمضادات الأكسدة المحتملة. يمكن أن يساعد تناولها بانتظام في الحفاظ على توازن الأكسدة في الجسم وتعزيز الصحة الجيدة بشكل عام.

## INTRODUCTION

---

Le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydants au sein d'un même organisme. Ce déséquilibre est étroitement lié à la production excessive d'espèce réactive de l'oxygène. L'ERO est une substance chimique contenant de l'oxygène produite par divers mécanismes dans les organismes vivants et impliquée dans les processus physiologiques en petites quantités (**Sies, 2019**).

Les radicaux libres sont des molécules hautement réactives et instables produites par divers processus physiologiques tels que la respiration cellulaire, l'inflammation et l'exposition à des facteurs environnementaux tels que la pollution et les radiations (**Lobo et al., 2010**). Ces radicaux libres peuvent causer des dommages oxydatifs aux cellules et aux tissus, ce qui est associé à de nombreuses maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (**Ligurie et al., 2018**).

Cependant, le corps humain dispose d'un système de défense antioxydant qui peut neutraliser ces radicaux libres. Les antioxydants sont des composés qui protègent les cellules contre les dommages oxydatifs en piégeant et en neutralisant les radicaux libres (**Lobo et al., 2010**).

Les agrumes sont une source importante d'antioxydants, en particulier de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les acides hydroxycinnamiques (**Ghasemi et al., 2009**).

Ainsi, Les agrumes font l'objet de nombreuses recherches en raison de leur composition bioactifs, ils peuvent aider à réduire les dommages oxydatifs dans l'organisme et à prévenir certaines maladies chroniques (**Gracia-Nicolás et al., 2023**). Dans cette perspective, cette introduction examinera de plus près les propriétés antioxydants des agrumes et leur potentiel pour la santé humaine.

Les agrumes appartiennent à la famille des Rutacées. Ils sont l'une des principales cultures d'arbres fruitiers cultivées dans le monde. Les agrumes sont également connus contenir des composés phytochimiques (composés bioactifs) tels que les composés phénoliques, les flavonoïdes, les vitamines et les huiles essentielles. Les composés phytochimiques sont responsables d'un large éventail d'avantages protecteurs pour la santé, notamment des activités antioxydants (**Shakya et al., 2019**).

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans les plantes et les produits végétaux. La reconnaissance des composés phénoliques en tant qu'antioxydants naturels est maintenant bien établie et a en partie suscité un intérêt renouvelé pour ces composés en nutrition et en pharmacologie (**Watson et al , 2018**).

Le terme Flavonoïde désigne une très large gamme de substance naturelle appartenant à la famille des polyphénols, qui sont considérés comme des pigments végétaux (**Lillo et al., 2008**).

L'extraction de composés phénoliques à partir d'agrumes a attiré une attention scientifique considérable pour son utilisation en tant qu'antioxydants naturels, en particulier les conservateurs dans les aliments, mais aussi dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Ramful et al., 2010**).

L'objectif de cette étude est d'estimer la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes des agrumes (orange ; citron vert) puis d'évaluer le pouvoir antioxydant des extraits hydro-méthanoliques d'orange et de citron vert étudiés.

Dans ce contexte, que notre travail de mémoire visant à étudier les composés phénoliques de ces deux agrumes et à tester leur pouvoir antioxydant.

- Le premier chapitre présente la partie bibliographique, avec une partie consacrée aux données générales sur les agrumes et une autre partie sur l'activité antioxydante.
- Le deuxième chapitre est la partie expérimentale, comportant l'extraction hydro-méthanolique et le dosage des composés phénoliques, y compris les polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux, et le test antiradicalaire DPPH pour évaluer l'activité antioxydante des deux extraits.

## CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

---

### I. Caractéristiques générales des fruits étudiés

#### I.1. Données botaniques

Les agrumes appartiennent à la famille des Rutaceae, qui fait partie de la sous-famille des Aurantioideae, de la tribu des Citreae et de la sous-tribu des Citrinae. Plusieurs genres composent la famille des agrumes, mais les trois genres les plus couramment cultivés à travers le monde sont *Poncirus*, *Fortunella* et *Citrus* (**Ouissam, 2014**). Le genre *Poncirus* est constitué d'une seule espèce, *Poncirus trifoliata*, qui se distingue des autres agrumes par ses feuilles caduques à trois feuilles, sa floraison précoce avec six à huit ovaires oculaires et ses fruits non comestibles contenant des vésicules riches en huiles essentielles, qui jouent un rôle important dans la culture des porte-greffes des agrumes. Le genre *Fortunella* doit son nom au Kumquat, un petit fruit à écorce molle et comestible, avec trois à sept ovaires en forme d'œil et de fines vésicules. Les feuilles de ce genre sont rugueuses et riches en glandes et en huiles essentielles (**Oueslati Bahri, 2017**).

#### I.2. Production mondiale d'agrumes

Les cultures d'agrumes sont une activité économique importante qui est largement répandue dans le monde. Les principaux producteurs d'agrumes comprennent le Brésil, la Chine, les États-Unis, le Mexique et plusieurs pays européens. Le Brésil est le plus grand producteur d'oranges douces, représentant plus de trois quarts des exportations mondiales de jus d'orange, suivi de la Chine et des États-Unis (**USDA/Foreign Agricultural Services, 2019**).

L'origine de la culture des agrumes remonte aux régions subtropicales du continent asiatique. Aujourd'hui, elle est devenue la principale culture fruitière dans le monde, représentant environ 25% de la production fruitière mondiale, soit une production annuelle estimée à 146,7 millions de tonnes (**Ali Arous, 2020**). Les trois plus grands pays producteurs d'agrumes sont le Brésil (20,6 millions de tonnes), la Chine (19,6 millions de tonnes) et les États-Unis (plus de 10 millions de tonnes). Ils sont suivis par le Mexique (6,8 millions de tonnes) et l'Inde (6,2 millions de tonnes). Dans le bassin méditerranéen, l'Espagne est le premier producteur d'agrumes avec une production de 5,7 millions de tonnes, suivie de l'Italie avec une production de 3,5 millions de tonnes (**Harvey, 2023**). Environ 60% de la production

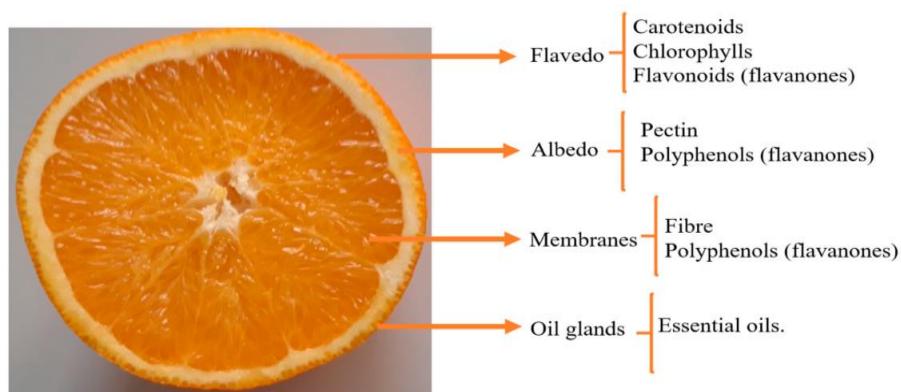
totale d'agrumes est représentée par les oranges, dont le Brésil est le premier producteur avec une production annuelle de 15,62 millions de tonnes, soit 47% de la production mondiale (Barrales *et al.*, 2018).

### I.3. Importance de l'agrumiculture en Algérie

Les agrumes sont les fruits les plus populaires en Algérie, appréciés pour leur valeur nutritionnelle et leurs qualités gustatives. À l'heure actuelle, ils occupent une superficie de 65 974 hectares, ce qui représente environ 6% de la superficie totale occupée par l'arboriculture (Ali Arous, 2020).

### I.4. Description morphologique et physiologique

Les fruits issus des principales espèces et variétés cultivées du genre *Citrus* présentent des différences notables en termes de coloration, de forme, de calibre, de composition de leur jus et d'époque de maturité. Cependant, d'un point de vue anatomique, tous les fruits issus de *Citrus* cultivés partagent une même structure présentée dans la figure 1 (Ramful *et al.*, 2010). Sur le plan botanique, les agrumes sont considérés comme des fruits charnus de type baie, avec un péricarpe qui se compose de trois parties distinctes : l'épiderme appelé flavédo, le mésocarpe appelé albedo, et l'endocarpe (ou pulpe). L'épiderme représente la surface périphérique du fruit et est coloré par des pigments caroténoïdes, constituant environ 8 à 10% du fruit. Il abrite également de nombreuses glandes sécrétrices d'essences aromatiques, réparties de façon irrégulière.



**Figure 01.** Schématisation de la composition structurale des agrumes (Ramful *et al.*, 2010)

Le mésocarpe, quant à lui, représente la couche intérieure blanchâtre et spongieuse du fruit, dont l'épaisseur varie en fonction de la taille de ce dernier et peut constituer de 12 à 30% du fruit. Il est étroitement associé à l'épiderme, avec lequel il forme ce qu'on appelle communément l'écorce d'agrumes. L'endocarpe, quant à lui, est la partie comestible des



agrumes. Il est formé d'une fine membrane qui recouvre les nombreuses loges carpellaires, et qui porte des poils succulents à l'intérieur. L'ensemble de ces poils constitue la partie comestible ou pulpe, qui renferme les graines ou pépins du fruit (**Ramful et al., 2010**)

#### **I.4.1. Orange**

L'oranger est un petit arbre ou arbuste pouvant atteindre environ 10 à 15 mètres de hauteur. Il est caractérisé par de nombreux rameaux, formant une cime touffue et un feuillage persistant de couleur verte sombre, glabre et légèrement ailé. Les feuilles sont alternes, cireuses, coriaces et également persistantes. La floraison de l'oranger est blanche, très parfumée et la formation du fruit, une baie ronde ou allongée, souvent pourvue d'un mamelon proéminent à l'opposé du pédoncule fructifère (**Teuscher et al., 2005**). Les fruits prennent environ 10 à 12 mois pour mûrir et ont une taille moyenne ainsi qu'une couleur caractéristique orange. Chaque variété se distingue par l'intensité de la couleur et la forme du fruit (**Loussert, 1989**).



**Figure 02.** Feuilles, fleurs et fruits d'orange (**Loussert, 1989**)

#### **I.4.2. Citron vert**

Le citronnier est un petit arbre aromatique de la famille des Rutacées. Il peut varier en taille de 2 à 10 mètres et possède généralement 5 à 6 branches. Les racines de surface du citronnier forment un réseau dans les 80 premiers centimètres de sol. Les feuilles du citronnier sont vertes, alternes et persistantes en raison des multiples poches d'essence qu'elles contiennent, qui peuvent être visibles à l'œil nu (**Gollouin & Tone Hine, 2013**).

## I.5. Composition chimique et valeur nutritive

Les agrumes présentent une teneur élevée en vitamine C ainsi qu'une variété de vitamines du groupe B. Ils sont également riches en flavonoïdes et en minéraux, principalement en potassium. Les quantités de glucides et de protéines sont faibles (Valnet, 2001).

Les composés principaux de l'orange et du citron vert et d'orange sont résumés dans le Tableau I, selon (Souci *et al.*, 1995 ; Régál, 1996).

**Tableau I.** principaux composés d'orange et de citron Vert

| Composé de nutriment (g)  |                   | Citron vert | Orange |
|---------------------------|-------------------|-------------|--------|
|                           | Glucides          |             | 8.42   |
| Protides                  |                   | 0.42        | 1.00   |
| Lipides                   |                   | 0.07        | 0.20   |
| Eau                       |                   | 90.7        | 86.3   |
| Fibre Alimentaire         |                   | 2.8         | 1.80   |
| Minéraux (mg)             | Phosphore         | 14.00       | 14.00  |
|                           | Calcium           | 14.00       | 40.00  |
|                           | Magnésium         | 8.00        | 10.00  |
|                           | Sodium            | 2.000       | 1.000  |
|                           | Fer               | 0.090       | 0.120  |
|                           | Cuivre            | 0.027       | 0.050  |
|                           | Zinc              | 0.080       | 0.070  |
|                           | Manganèse         | 0.030       | 0.040  |
|                           | Nickel            | 0.020       | 0.017  |
| Vitamines (mg)            | Vitamine C        | 30.00       | 53.00  |
|                           | Provitamine A     | 0.05        | 0.120  |
|                           | Vitamine B1       | 0.025       | 0.090  |
|                           | Vitamine B2       | 0.015       | 0.040  |
|                           | Vitamine B3 ou PP | 0.148       | 0.280  |
|                           | Vitamine B5       | 0.123       | 0.300  |
|                           | Vitamine B6       | 0.038       | 0.060  |
|                           | Vitamine B8       | 0.005       | 0.002  |
|                           | Vitamine B9       | 0.000       | 0.030  |
| Vitamine E                | 0.001             | 0.240       |        |
| Apport énergétique (Kcal) |                   | 23.00       | 25.00  |

## **I.6. Utilisation et effets thérapeutiques des fruits de genre *Citrus***

Les Citrus contiennent des quantités élevées de composés qui ont des effets bénéfiques sur la santé, notamment les polyphénols, l'acide ascorbique, les caroténoïdes et les tocophérols (**Ilhami, 2011**). Ils ont une valeur très importante dans la médecine traditionnelle et dans la fabrication de produits comestibles (**Choi et al., 2007**). Ils présentent de nombreuses activités biologiques, comme des antioxydants, des antiseptiques, des antimicrobiens, des antibiotiques, des antiviraux, des anti inflammatoires et des anticancéreuse (**Del Rio et al., 2004**). Grâce aux caroténoïdes qui stimuleront la production de cellules osseuses et stimuleront l'absorption du calcium (**Valnet, 2001**).

## **II. Antioxydants**

### **II.1. Généralités sur les métabolites secondaires**

On estime qu'il y a plus de 200 000 produits chimiques différents, isolés et identifiés, provenant de diverses structures et classes de plantes supérieures présentes sur la planète. Ces produits chimiques sont divisés en deux groupes principaux : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (**Vuolo et al., 2019**). Bien que les métabolites primaires aient des fonctions protectrices, les métabolites secondaires agissent également comme des molécules de défense contre les dommages causés par le stress (**Ahmad et al., 2019**). Les métabolites secondaires sont classés en trois grandes catégories : les terpènes (tels que les caroténoïdes, les stérols, les glucosides cardiaques et les composés volatils végétaux), les composés phénoliques (tels que les lignines, les acides phénoliques, les tannins, les coumarines, les stilbènes et les flavonoïdes) et les composés contenant de l'azote (tels que les alcaloïdes et les glucosinolates) (**Ashraf et al., 2018**).

### **II.2. Composés phénoliques**

#### **II.2.1. Définition et généralités**

Les composés phénoliques, également connus sous le nom de polyphénols, sont le groupe le plus courant et le plus répandu de métabolites secondaires dans le règne végétal. Ils jouent des rôles importants dans les plantes, tels que la pigmentation, les fonctions de croissance et de reproduction, ainsi que la protection contre les rayons UV (**González Sarrians et al., 2020**). Les polyphénols sont des composés naturels exclusivement synthétisés par les plantes et présentent des caractéristiques chimiques liées aux substances phénoliques,

ce qui leur confère de fortes propriétés antioxydants (**Singla et al., 2019**). Les composés phénoliques constituent une classe essentielle de métabolites secondaires (**Ashraf et al., 2018**). Les oranges sont une excellente source de composés phénoliques (**Balasundram et al., 2006**), qui sont présents en grande proportion dans l'écorce (plus de 15 % que dans la pulpe) (**Goulas & Manganaris, 2012**).

## **II.2.2. Classification des composés phénoliques**

### **II.2.2.1. Acides phénoliques**

Les acides phénoliques sont une sous-classe de composés phénoliques végétaux caractérisée par la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyle sur un cycle aromatique (**Gutierrez-Grijalva et al., 2018 ; Kumar et al., 2019**). Ils sont présents dans différents groupes d'aliments tels que les céréales, les légumineuses, les graines, les légumes et les fruits (**Chandrasekra, 2019**).

Les acides phénoliques sont divisés en deux sous-groupes: les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques. Les acides hydroxycinnamiques, tels que l'acide férulique, l'acide caféique, l'acide p-comarique et l'acide sinapique, sont généralement présents dans les aliments sous forme d'esters simples avec de l'acide quinique ou du glucose. Les acides hydroxybenzoïques, tels que l'acide gallique, l'acide vanillique et l'acide protocatéchuique, ont une structure C6-C1.sinapique (**Singh et al., 2017 ; kumar & Goel, 2019**)

### **II.2.2.2. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes, qui proviennent de la voie des phénylopropanoïdes des plantes, sont des métabolites secondaires clés qui ont un rôle crucial dans le développement des plantes (**Wang et al., 2020**). Officiellement, la famille des flavonoïdes est dérivée du squelette de la phénol-1,4-benzoyrone (**Barreca et al., 2020**).

Ils sont classés en cinq groupes principaux : les flavones, les flavonols, les Flavanones, les iso flavones, et les flavanols (flavan-3-ols) (**Wang et al., 2020**).

#### **II.2.2.2.1. Les flavones**

Sont des métabolites secondaires qui représentent l'une des plus grandes sous-classes de flavonoïdes. Elles jouent un rôle important dans la protection contre les rayons ultraviolets (UV), les interactions entre espèces, la coloration des fleurs et la défense des plantes (**Li et al.,**

2020). Ces composés sont connus pour leurs effets bénéfiques résultant de leur potentiel anti-radicalaire, qui leur permet de piéger les radicaux libres (Spiegel *et al.*, 2020).

#### **II.2.2.2.2. Les Flavanones**

Sont le plus grand sous-groupe de tous les polyphénols et constituent donc la majorité des composés flavonoïdes (Singla *et al.*, 2019). Ils se trouvent principalement dans tous les agrumes tels que les oranges et les citrons (Verma *et al.*, 2020).

#### **II.2.2.2.3. Les Iso flavones**

Sont un sous-ensemble des sous-types de flavonoïdes (Haudum *et al.*, 2020). On les trouve dans de nombreux légumes, en particulier dans les légumineuses (Gómez-Zorita, 2020).

#### **II.2.2.2.4. Flavanols ( Flavan-3-ols)**

Les flavanols sont l'un des groupes les plus courants de composés phénoliques végétaux car ils sont synthétisés par les voies phénylopropanoïdes et flavonoïdes (Enomoto *et al.*, 2019). Ils sont composés de monomères tels que la (+)-catéchine et la (-)-épicatéchine, ainsi que d'oligomères et de polymères de ces monomères, appelés procyanidines (Griffin *et al.*, 2019).

#### **II.2.2.2.5. Flavonols**

Les flavonols sont importants en tant que source exogène d'antioxydants (Spiegel *et al.*, 2020). Structurellement, ils contiennent un noyau de diphenyle (C6-C3-C6). Le squelette des flavonols, appelé 3-hydroxy-2-phénylchromone, est composé de deux cycles benzéniques (cycles A et B) reliés à une chaîne de trois atomes de carbone formant un cycle pyranne. Le cycle C contient un groupe 3-hydroxy et un groupe 4-oxo (Sharma *et al.*, 2018).

### **II.3.vitamine C**

La vitamine C est une substance essentielle pour le corps humain et ne peut Synthétisé par l'organisme et doit donc être apporté par l'alimentation. La vitamine C a De nombreuses fonctions biologiques reconnues essentielles au métabolisme Enzymes et fonction cellulaire. Une carence en vitamine C ralentit l'activité A Systèmes enzymatiques impliqués dans la synthèse du collagène et provoquer le scorbut. La vitamine C prévient certains cancers, en renforçant Fonction immunitaire et neutralisation des radicaux libres au niveau cellulaire et des maladies cardiovasculaires en réduisant l'athérosclérose. Lui aussi L'apport de doses d'antioxydants (en particulier les vitamines C et E) a été observé La pharmacologie semble

être associée à un risque réduit de DMLA (maladie dégénérative macula liée à l'âge) ou cataracte (**Gomez Ruiz, 2016**).

### **III. Stress oxydatif**

Le stress oxydatif survient lorsque la production d'oxydants dans un organisme dépasse les mécanismes de défense antioxydants, entraînant des dommages aux lipides, aux protéines et aux acides nucléiques (**Niki, 2018 ; Tu et al., 2019**). Ces dommages sont impliqués dans le développement de nombreuses maladies chroniques telles que le diabète, le cancer, les maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Bien que les espèces réactives de l'oxygène jouent un rôle important dans les fonctions physiologiques des organismes, un stress oxydatif anormal se produit lorsque les cellules ne disposent pas des ressources antioxydants nécessaires, telles que des vitamines, des oligo-éléments et des enzymes, pour piéger les radicaux libres (**Matschke et al., 2019**).

#### **III.1. Conséquence de stress Oxydatif**

Les radicaux libres peuvent causer des dommages à toutes les biomolécules, telles que les lipides, les protéines, les acides nucléiques et les glucides (**Favier, 2003**). Au niveau de l'ADN, les radicaux libres peuvent induire une oxydation qui peut être mutagène ou interrompre la réplication, provoquant des changements dans les bases, les ponts ADN-protéine ou des ruptures de brins (**Shimizu, 2004**). Les lipides sont particulièrement vulnérables aux radicaux libres, qui peuvent oxyder les acides gras polyinsaturés (AGPI) des phospholipides membranaires, composants principaux des membranes cellulaires, ainsi que des organites et des tissus cardiaques. Ce phénomène est appelé peroxydation lipidique et peut conduire à la formation de LDL oxydées piégées par les macrophages, qui peuvent former des dépôts responsables de maladies cardiovasculaires, tels que des plaques d'athérosclérose, des attaques lipidiques et phospholipidiques des membranes, modifiant la fluidité des membranes et affectant la fonction de nombreuses cellules, récepteurs, transporteurs et transducteurs de signaux (**Favier, 2003**). Les radicaux libres peuvent également inactiver les macromolécules enzymatiques telles que le collagène, les protéoglycanes, l'acide hyaluronique et provoquer la formation de dimères ou d'agrégats de protéines dans la membrane plasmique (**Shimizu H, 2004**).

### III.2. Les Maladies liées au Stress Oxydatif

Plus d'une centaine de pathologies humaines, de l'athérosclérose au cancer, en passant par l'inflammation, les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et le diabète, ont été potentiellement liées au stress oxydatif, comme l'ont démontré de nombreuses études épidémiologiques et cliniques. Le stress oxydatif peut même être impliqué dans des processus physiologiques tels que le vieillissement. De plus, les maladies causées par le stress oxydatif sont souvent associées à l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production de radicaux libres mitochondriaux, entraînant une diminution de l'efficacité du système de réparation et de la dégradation des composants oxydés (Poprac *et al.*, 2017; Liguori *et al.*, 2018).

**Tableau II.** Les principales affections liées à la production des radicaux libres et des EOR.

| Pathologie                        | Référence                            |
|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Cancer                            | Nichols <i>et al.</i> , 2017)        |
| Les maladies cardiovasculaires    | (Incalza <i>et al.</i> , 2017)       |
| Diabète                           | (Oguntibeju, 2019)                   |
| Arthrite rhumatoïde               | (Pradhan <i>et al.</i> , 2019)       |
| Alzheimer, Parkinson              | (Van Raamsdonk <i>et al.</i> , 2017) |
| Allergie et Maladies auto-immunes | (Colucci <i>et al.</i> , 2015)       |
| Athérosclérose                    | (Bryk <i>et al.</i> , 2017)          |
| Vieillessement                    | (Liguori <i>et al.</i> , 2018)       |
| Maladies inflammatoires           | (Qu <i>et al.</i> , 2019)            |

### IV. Propriétés biologiques d'intérêt des composés phénoliques

Les composés phénoliques possèdent un large éventail de propriétés biologiques, en plus de leur capacité antioxydante, qui sont exploitées dans de nombreux secteurs industriels.

#### IV.1. Activité antioxydante

Les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, sont connus pour leur capacité à piéger efficacement les espèces réactives dérivées de l'oxygène ( $O_2^-$ ,  $HO^\bullet$ ,  $NO^\bullet$ ,  $H_2O_2$ ,  $1O_2$ ,  $HOCl$ ,  $RO^\bullet$  et  $ROO^\bullet$ ) produites par des biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides oligonucléiques (ADN, ARN). Cette propriété est largement reconnue comme étant importante pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif, qui est lié à des maladies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les maladies neurodégénératives. Les radicaux libres ont également été impliqués dans le processus de vieillissement (Quideau *et al.*, 2011).

#### **IV.4. D'autres propriétés biologiques**

Les flavonoïdes pourraient agir comme immunostimulants chez les sujets immunodéprimés. L'activité immuno-modulatrice des flavonoïdes dépend, d'une part, de leur capacité à inhiber la formation des eicosanoïdes et de l'histamine et de leur pouvoir piègeur des radicaux libres d'autre (**Wang *et al.*, 2004**). Des propriétés antibactériennes et antivirales des flavonoïdes vis-à-vis de différentes souches bactériennes ont également été mises en (**Yadav & Tiwari, 2005**). Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (**Gonçalves *et al.*, 2001**). Les flavonoïdes atténuent le pouvoir infectieux ou affectent la réplication intracellulaire d'autres virus tels que le virus respiratoire syncytial (VRS), l'herpès simplex virus (HSV) et les adénovirus (**Ganasaki *et al.*, 1994**) .



## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

---

### I. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de cette étude est le citron vert (*Citrus aurantiifolia*) et l'orange (*Citrus sinensis*). Ces fruits sont récoltés en Mars 2023 sur les rochers de la cote de la région d'Achaacha, Wilaya de Mostaganem.

Selon **Cronquist, (1982)**, la classification qu'occupe *Citrus aurantiifolia* dans la systématique est la suivante :

|                          |                             |
|--------------------------|-----------------------------|
| <b>Règne .....</b>       | <b>Plantae</b>              |
| <b>Sous-règne .....</b>  | <b>Tracheobionta</b>        |
| <b>Division .....</b>    | <b>Magnoliophyta</b>        |
| <b>Classe .....</b>      | <b>Magnoliopsida</b>        |
| <b>Sous-classe .....</b> | <b>Rosidae</b>              |
| <b>Ordre .....</b>       | <b>Sapindales</b>           |
| <b>Famille .....</b>     | <b>Rutaceae</b>             |
| <b>Genre .....</b>       | <b>Citrus</b>               |
| <b>Espèce .....</b>      | <b>Citrus aurantiifolia</b> |

---

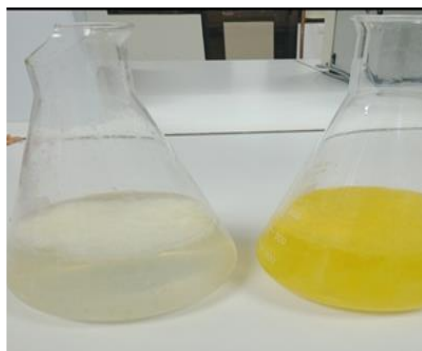
Selon **Anonyme, (2012)**, la classification qu'occupe *Citrus sinensis* dans la systématique est la suivante :

|                    |                 |
|--------------------|-----------------|
| Règne .....        | Plantae         |
| Sous-règne .....   | Tracheobionta   |
| Division .....     | Magnoliophyta   |
| Classe .....       | Magnoliopsida   |
| Sous-classe .....  | Rosidae         |
| Ordre .....        | Sapindales      |
| Famille .....      | Rutaceae        |
| Sous famille ..... | Aurantoideae    |
| Tribu .....        | Citreae         |
| Sous-tribu .....   | Citrinae        |
| Genre .....        | Citrus          |
| Espèce .....       | Citrus sinensis |



**Figure 03.** Échantillons d'orange (*Citrus sinensis*) et citron vert (*C. aurantiifolia*) (Photo prise par nous-mêmes).

Une fois les échantillons (orange et citron vert) identifiés, le matériel végétal est rincé à l'eau du robinet. Ensuite, chaque citron vert et chaque orange est coupé en deux à l'aide d'un presse-agrumes pour extraire le jus de l'orange et du citron vert (**Figure 04**).



**Figure 04.** Les étapes de préparation de la matière Végétale (Photo prise au laboratoire).

## **II. Objectifs de l'expérimentation**

L'objectif principal de cette étude consiste à évaluer les teneurs en polyphénols et flavonoïdes présents dans le jus de citron vert (*C. aurantiifolia*) et le jus d'orange (*Citrus sinensis*). De plus, nous souhaitons mesurer le pouvoir antioxydant des composés phénoliques contenu dans les extraits hydro-méthanoliques de jus de citron vert et d'orange étudiées.

## **III. Préparation des extraits hydro-méthanoliques de jus de citron vert et d'orange**

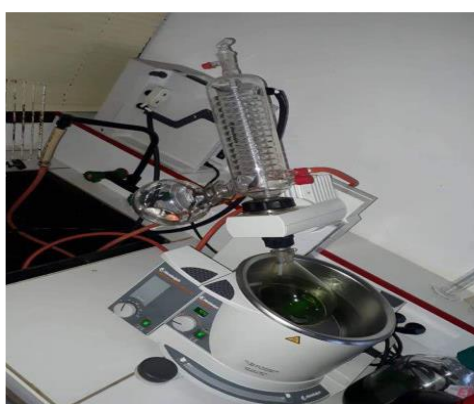
Après pressage de citron vert et de l'orange, 100 g du matériel végétale et soumis à une agitation pendant 30 minutes à température ambiante, dans 200 mL du mélange eau-méthanol (75-125 mL) pendant 1 heure. L'extrait ensuite filtrés sur papier Whatman N°05, puis concentrés au Rotavapeur. La solution récupérée est séchée dans l'étuve à 37° pendant 72h, c'est l'extrait brut eau-méthanol pour jus d'orange et citron vert (**Karumi et al., 2004**). (**Figure 05**).



**Matière Végétale mélangée avec Eau-Méthanol.**



**Filtration des extraits sur papier Whatman.**



**Evaporation rotatif sur un Rotavapeur.**



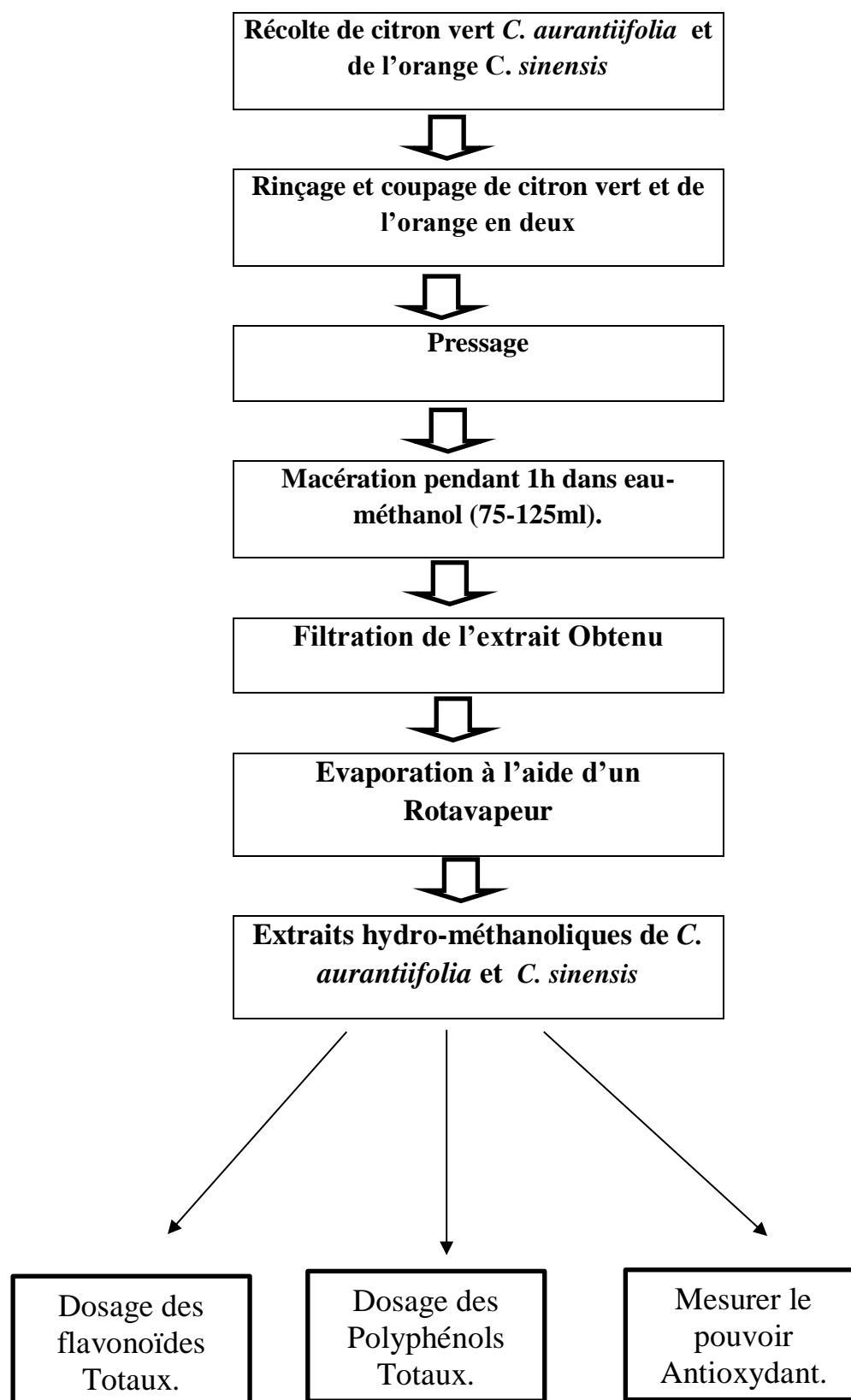
**L'extrait brut eau-méthanol de citron vert.**



**L'extrait brut eau-méthanol d'orange.**

**Figure 05.** Les étapes de préparation d'extrait Brute Eau-Méthanol de citron vert *C. aurantiifolia* et de l'orange *C. sinensis* (Photo prise au laboratoire)

Les étapes de l'expérimentation sont présentées dans **la figure 06** :



**Figure 06.** Les Différents étapes réalisées dans l'expérimentation

### III. 1. Le Rendement Obtenue

Le rendement de l'extraction est déterminé par le rapport entre la masse des Polyphénols extraits et la masse de la matière première végétale traité. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{\text{P1} - \text{P2}}{\text{P3}} \times 100$$

**P1** : Poids du ballon après évaporation.

**P2** : Poids du ballon avant évaporation.

**P3** : Poids de la matière végétale de départ.

### IV. Dosage des Polyphénols Totaux

Ce dosage repose sur la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide Phosphotungstique ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_4$ ) et d'acide Phosphomolybdique ( $\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$ ). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés dont l'absorbance est comprise entre 725 et 760 nm (*Lit et al., 2007*).

#### IV. 1. Méthode

Un Volume de 0.2 mL d'extrait a été mélangé avec 1.5 mL de Folin Ciocalteu (10%). Après 5 minutes, on rajoute 1.5 mL d'une solution de Carbonate de sodium (6%). Le mélange est soumis une agitation puis incubé à température ambiante a l'obscurité pendant 2h et l'absorbance est lue à 765 nm sur un Spectrophotomètre. L'acide gallique est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par mg d'extrait sec ( $\mu\text{g EA}/\text{mg d'extrait}$ ).

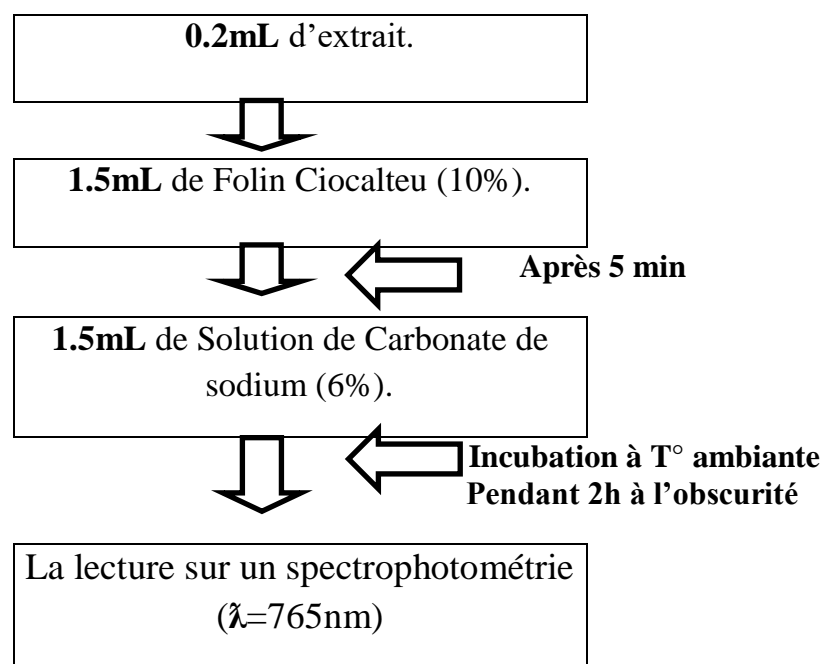
$$\text{Polyphénols} = \frac{\text{a} \cdot \text{f}}{\text{C}}$$

**a** : Concentration de Polyphénols ( $\mu\text{g Eq acide gallique}/\text{mg d'extrait}$ ) déterminée à partir de la courbe étalon.

**f** : Facteur de dilution ( $\times 22$ ).

**C** : Concentration de l'extrait.

Les étapes de dosage de Polyphénols totaux sont présentées dans la **Figure 07**:



**Figure 07.** Dosage de Polyphénols totaux (Lit *et al.*, 2007).

#### IV. 2. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations de 0.1 au 10 µg/L, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière végétale fraîche.

#### V. Dosage des Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont quantifiés par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) 2%. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes, qui absorbe dans le visible à 510 nm (Ardestani & Yazdanparast, 2007).

##### V. 1. Méthode

Un volume de 1 mL d'extrait a été additionné à 1 mL de Trichlorure d'aluminium à 2% (AlCl<sub>3</sub>). Le mélange a été placé à température ambiante et à l'obscurité pendant 10 min puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm sur un Spectrophotomètre. Le quercétine est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents Quercétine par mg d'extrait sec (µg EQ/mg d'extrait).

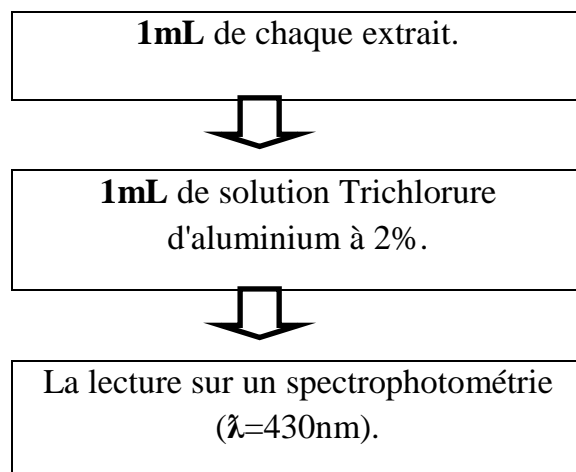
$$\text{Flavonoïdes} = a \cdot f/C$$

**a** : Concentration de flavonoïdes (équivalent de catéchine/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

**f** : Facteur de dilution ( $\times 10$ ).

**C** : Concentration de l'extrait.

Les étapes de dosage de flavonoïdes totaux sont présentées dans la **Figure 08**:



**Figure 08.** Dosage de Flavonoïdes totaux (Ardestani & Yazdanparast, 2007).

## V.2. Courbe d'étalonnage de la Quercétine

La courbe d'étalonnage est effectuée par quercétine à différentes concentrations de 0.1 au 10  $\mu\text{g/L}$ , dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents de quercétine par gramme de matière végétale fraîche.

## VI. Mesure du pouvoir antioxydant

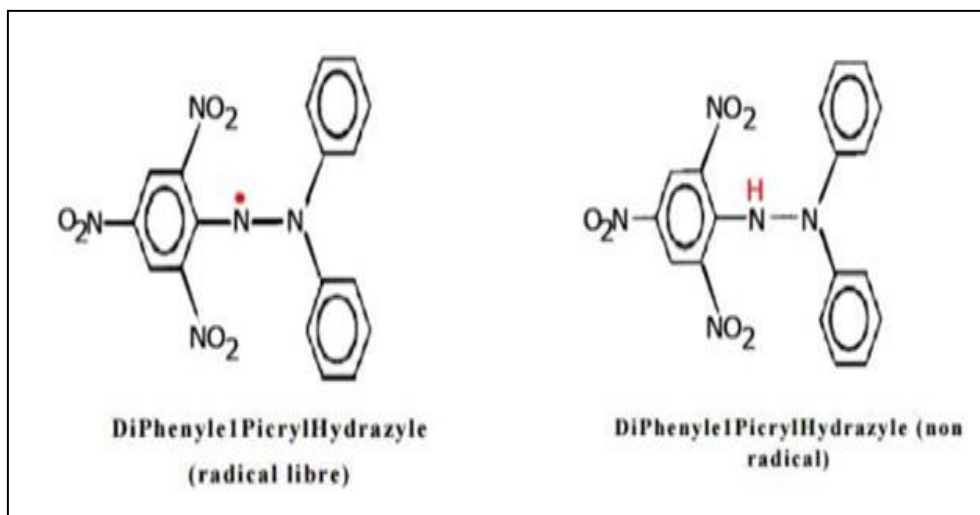
De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante, *in vitro* et *in vivo* des composés Phénoliques purs ou d'extrait. Dans notre étude nous avons utilisé des tests chimiques qui mesurent la réduction du radical stable le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) (Sharma *et al.*, 2009 ; Bourkhiss *et al.*, 2010).

### VI. 1. Évaluation de l'activité Antiradicalaire du radical libre DPPH

La méthode du **DPPH** utilise un radical relativement stable, dont les antioxydants réduisent ce radical ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl picryl hydrazine. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition



du **DPPH** ; dont la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants donneur de proton présents dans l'échantillon (**Sanchez Moreno, 2002 ; Parejo et al., 2003**).



**Figure 09.** Structure Chimique de radical libre et non radical (**Molyneux, 2004**).

## VI. 2. Mode Opérateur

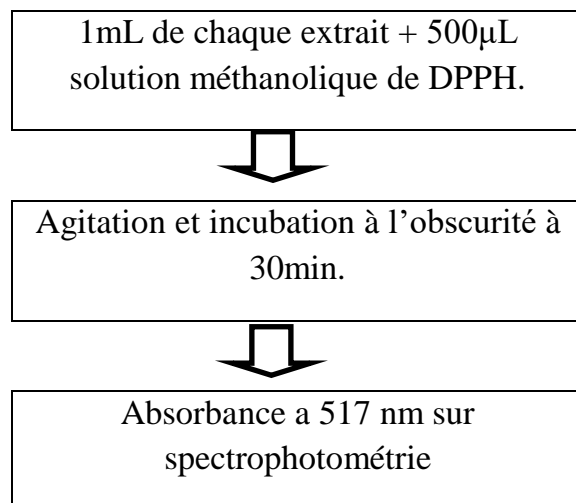
L'effet de chaque extrait sur la réduction du DPPH a été réalisé selon le protocole suivant (**Benariba et al., 2013**).

### VI. 2.1. Préparation Du DPPH

3.15mg de DPPH est dissoute dans 50mL du méthanol pure pour obtenir une solution de **DPPH**.

### VI. 2.2. Préparation des échantillons

Un Volume de 1mL de chaque extrait est dissout dans 500 $\mu$ L de solution méthanolique de DPPH (0.16mmol/mL), fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 0.1mL du méthanol avec 1mL d'une solution méthnolique de **DPPH** à la même concentration utilisée. Le mélange obtenu est ensuite agité, puis gardé à l'abri de lumière à température ambiante pendant 30min. Ensuite La lecture ce fait a l'aide d'un Spectrophotométrie de la densité optique à 517nm (**Figure 10**).



**Figure 10.** Protocol de préparation des échantillons de test *DPPH* (Benariba *et al.*, 2013).

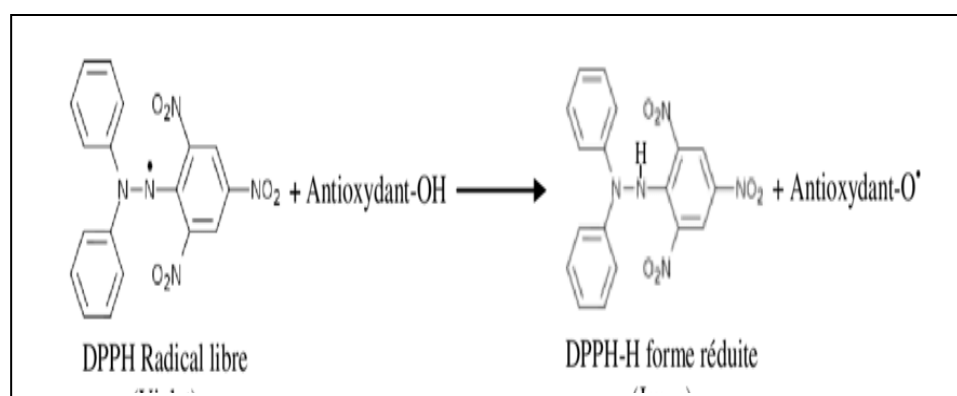
### Pourcentage D'inhibition du radical DPPH

$$I\% = ((Ac - At) / Ac) * 100$$

**Ac** : absorbance du contrôle négatif.

**At** : absorbance de l'extrait.

L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif à différentes concentrations. Le mécanisme réactionnel du test **DPPH** est présenté dans la Figure suivante : (**Figure 11**)



**Figure 11 :** Mécanisme réactionnel du test **DPPH** (Molyneux, 2004).

La valeur **IC50** est la concentration d'extrait qui assure la réduction de **50%** du **DPPH**, déterminée graphiquement par la régression linéaire, pour chaque extrait à partir de la courbe du pourcentage de réduction en fonction de la concentration (Samarth *et al.*, 2008).

### **VI.3. Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique**

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide ascorbique à différentes concentrations de 0.1 au 10 µg/L, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière végétale fraîche.

## CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION

---

### I. Résultats

#### I.1. Rendement d'extraction de jus de citron vert et de l'orange

Le rendement de l'extraction est calculé par le rapport entre les masses de polyphénols des extraits et du matériel végétal transformé. Après extraction et recyclage Le rendement de l'extrait a été déterminé par rapport à 100 g de matériel végétal et exprimé en Le pourcentage est calculé par la formule suivante :

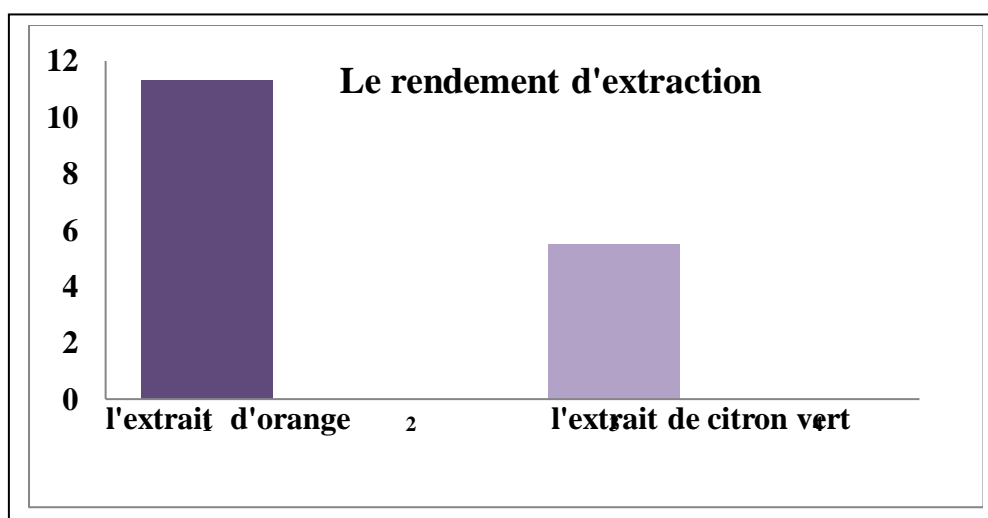
$$\text{Rendement (\%)} = \frac{P1 - P2}{P3} \times 100$$

**P1** : poids du ballon après évaporation.

**P2** : Le poids du ballon avant évaporation.

**P3** : poids du matériel végétal de départ.

Nous avons calculé le rendement d'extraction et les résultats obtenus sont exprimés en **Figure 12**:



**Figure 12.** Rendement d'extraction des extraits hydro-methanoliques de citron vert et d'orange.

Le calcul de la teneur en rendement d'extraction du matériel végétal dépend de plusieurs facteurs qui influencent leur efficacité, tels que la méthode d'extraction, la durée d'extraction, la nature et le volume du solvant utilisé (**Michel et al. 2012**).

Dans cette étude, la méthode d'extraction par macération a été utilisée, avec du méthanol comme solvant d'extraction. Le solvant utilisé pour extraire les deux échantillons (orange et citron vert) a permis d'obtenir un rendement d'extraction de **11,3%** pour l'orange et **5,4%** pour le citron vert (voir **Figure 12**).

Il est intéressant de noter la différence de rendement d'extraction entre les extraits hydro-méthanoliques de jus d'orange et le jus de citron vert. Le jus d'orange a donné le rendement le plus élevé, suivi du jus de citron vert.

Cette différence de rendement entre les deux extraits peut être attribuée à des différences de taille de particules et au type de fruits utilisés (**Tefiani, 2015**).

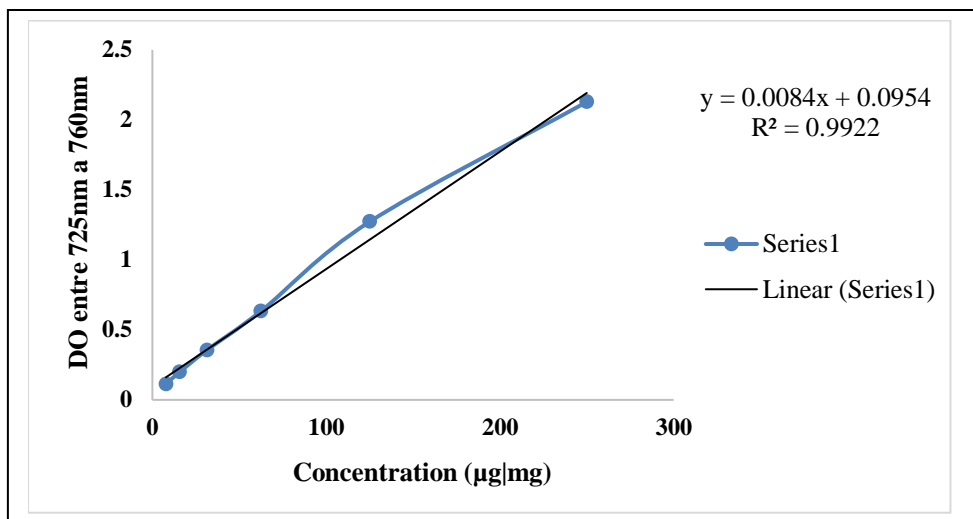
## **II. Dosage des polyphénols totaux**

### **II.1 Teneur en polyphénols totaux dans les extraits hydro-méthanoliques de jus de citron vert *C. aurantiifolia* et de l'orange *C. sinensis***

La teneur en polyphénols totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin Ciocalteu, c'est l'une des méthodes plus anciennes conçue pour déterminer la teneur en polyphénols des plantes médicinales. L'acide gallique est le standard employé le plus souvent dans cette méthode. En utilisant un graduant de concentration allant de 250 ug/mL à 3,9 ug/mL, pour l'acide gallique, on obtient les valeurs des absorbances correspondantes à l'aide de spectrophotométrie.

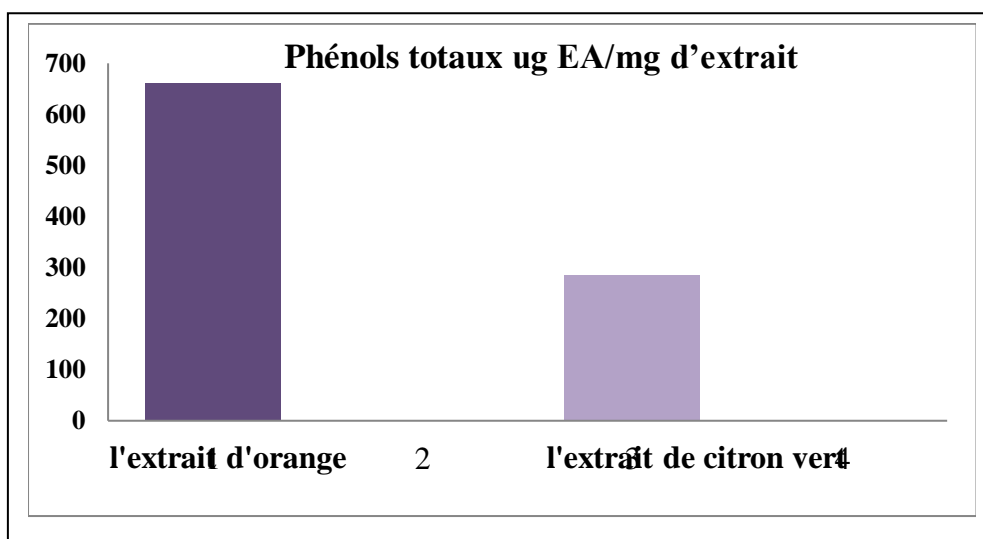
Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme étalonnage établie avec l'acide gallique ( $Y = 0,084X + 0,0954$ ), où Y représente l'absorbance et X représente la concentration.

Les résultats obtenus sont exprimés en ug acide gallique par mL d'extrait en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Figure 13**).



**Figure 13.** Courbe étalon de l'acide gallique.

Les concentrations des polyphénols totaux obtenues sont présentées dans la **Figure 14**, ils sont exprimés en ug EA par mg d'extrait.



**Figure 14.** Teneur en polyphénols totaux dans les extraits hydro-méthanoliques de citron vert et d'orange.

Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits montre des résultats différents qui sont **285,2** ug EA/ mg d'extrait ; **661,4** ug EA/ mg d'extrait correspondant respectivement aux extraits hydro-méthanoliques de jus de citron vert et de jus d'orange. D'après les résultats, les teneurs en polyphénols totaux d'extrait d'orange est significativement plus élevée que celle de l'extrait de citron vert.

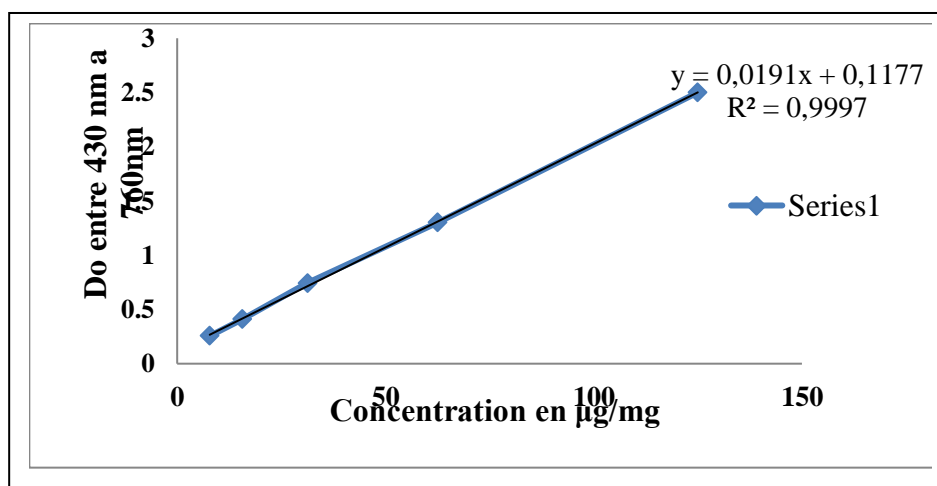
On comparant nos résultats avec celles de la littérature, les teneurs en polyphénols de nos échantillons étudiés sont inférieures que celle rapportées par **Tounsi *et al*, (2010)** pour le jus d'agrumes (78,46 orange amer ; citron 33,3 ; sanguine 25,5 ; et mandarine 10,62 mg/100mL), et **Velazquez -Estrada *et al*, (2013)** pour le jus d'orange (77,10 mg/ mL de jus). Ces différences observées entre nos résultats et ceux de la littérature peuvent être expliqués selon **Li *et al*, (2006)** à la méthode d'extraction, le degré de maturation des fruits et les conditions de l'environnement, en plus de réactif adopté pour le dosage.

### III. Dosage des Flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes totaux ont été estimées à l'aide de la méthode du trichlorure d'aluminium, qui est couramment utilisée dans ce contexte. La quercétine a été utilisée comme étalon, étant souvent employée dans cette méthode. Un étalonnage de concentration a été réalisé en préparant une série de solutions de quercétine avec des concentrations graduées allant de 125 µg/mL à 7,8 µg/mL. Ensuite, les valeurs d'absorbance correspondantes de ces solutions ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre.

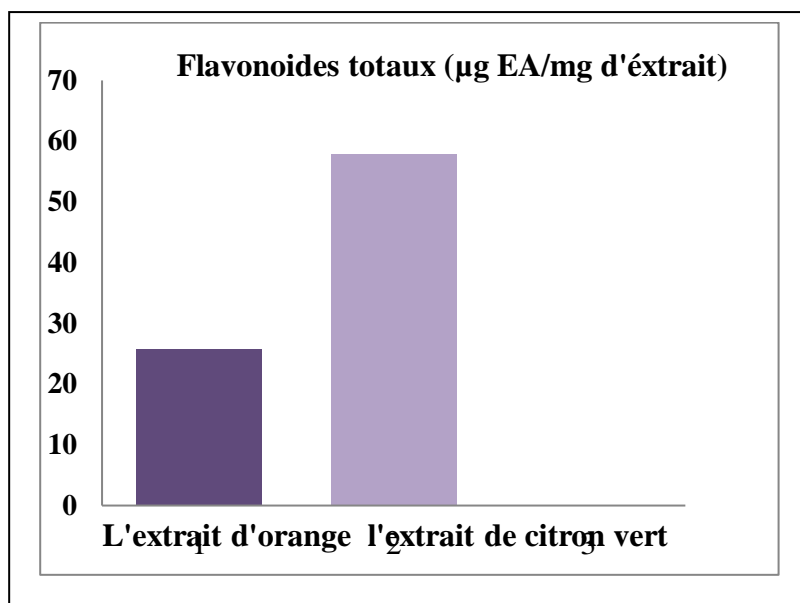
Les concentrations des flavonoïdes sont calculées à partir de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la Quercétine ( $Y = 0,019X + 0,117$ ), où Y représente l'absorbance et X représente la concentration.

L'équation de la régression linéaire de courbe d'étalonnage exprimé en ug Eq quercétine par mg d'extrait (**Figure 15**).



**Figure 15.** Courbe étalon de quercétine.

Les concentrations des flavonoïdes obtenues sont présentées dans la **Figure 16**, ils sont exprimés en ug Eq/ mg d'extrait.



**Figure 16.** Teneurs en Flavonoïdes dans les extraits de citron vert et d'orange

D'après l'histogramme, il a été observé que l'extrait hydro méthanolique de jus de citron vert présente une quantité plus élevée de flavonoïdes, avec une valeur de **57,8** µg Eq/mg d'extrait. En comparaison, l'extrait d'orange présente une quantité inférieure de flavonoïdes, avec une valeur de **25,7** µg Eq/mg d'extrait.

On peut constater une répartition inégale des flavonoïdes dans les différentes parties de plantes. Cette variabilité de la teneur en flavonoïdes chez le citron et l'orange a également été signalée par d'autres auteurs (**Ghasemi et al., 2009 ; Ramful et al., 2010**). Ceci peut être expliqué par l'influence de certains facteurs tels que la méthode d'extraction et la nature de solvant utilisé.

Les résultats obtenus mettent en évidence des différences significatives entre l'extrait de jus de citron vert et l'extrait d'orange en termes de composition phénolique. L'orange se distingue par une teneur élevée en phénols totaux, mesurée à **661,4** µg EA/mg d'extrait, ce qui suggère une forte présence de composés phénoliques bénéfiques. D'un autre côté, le citron vert se distingue par une concentration plus élevée de flavonoïdes totaux, atteignant **57,8** µg Eq/mg d'extrait. Ces résultats suggèrent que les deux agrumes peuvent offrir des avantages différents sur le plan nutritionnel en raison de leur profil unique de composés phénoliques.



## IV. Évaluation de pouvoir antioxydant

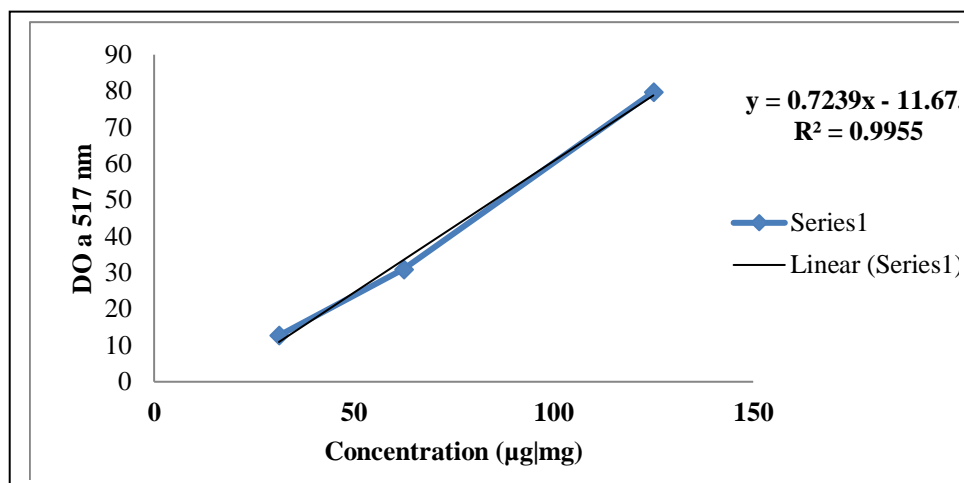
L'activité antioxydant de l'extrait orange et citron vert est évaluée par le test de réduction libre DPPH.

### IV.1. Test réduction du radical libre DPPH

L'activité antioxydante est évaluée par la méthode du test DPPH, qui repose sur l'utilisation du composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle. Ce radical libre, de couleur violacée, absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517 nm, mesurée par spectrophotométrie. Utilisé pour étudier l'activité antioxydante des composés phénoliques, ce test se base sur la réduction du DPPH en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) par une molécule antioxydante, ce qui entraîne une perte d'absorbance caractéristique à 517 nm. Les réactions ont lieu à température ambiante et en milieu méthanolique, permettant une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Bien que ce test soit rapide et facile, son coût peut être élevé.

Pour quantifier l'acide ascorbique dans l'extrait de jus de citron vert et l'extrait de jus d'orange, nous utilisons des dosages spectrophotométriques. Ces dosages permettent de déterminer la teneur en vitamine C, qui est exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait. Les résultats de ces dosages sont représentés graphiquement dans la **figure 17**, ce qui permet de visualiser la variation de la teneur en vitamine C dans les échantillons. Cette méthode spectrophotométrique est couramment utilisée, car elle est sensible, précise et relativement simple à mettre en œuvre.

La capacité antioxydant totale des extraits étudiés est exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique à partir d'une courbe d'étalonnage ( $Y = 0,7239X + -11,675$ ) (voir **Figure 17**).



**Figure 17.** Courbe étalon d'acide ascorbique

#### IV.2. Calculs des pourcentages d'inhibition I%

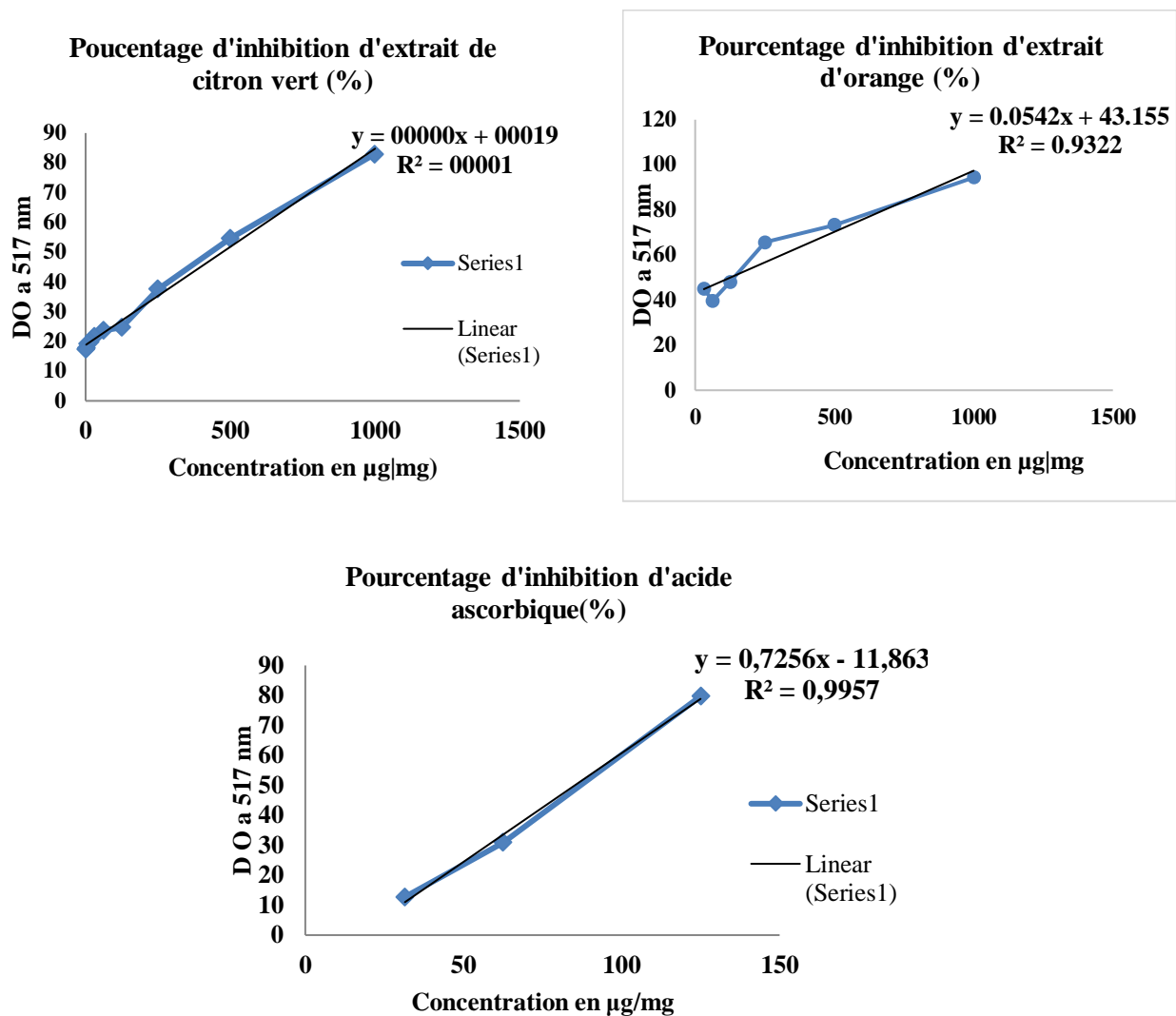
Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par les extraits hydro-méthanoliques de jus de citron vert *C. aurantiifolia* et de l'orange *C. sinensis* sont représentés graphiquement dans la **Figure 18**. Ces données sont ensuite comparées aux pourcentages d'inhibition obtenus avec un antioxydant puissant, l'acide ascorbique, qui est utilisé comme témoin positif dans le cadre de cette étude (**Figure 18**). Cette comparaison permet d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait de citron vert et de déterminer si celle-ci est comparable ou différente de celle de l'acide ascorbique. L'utilisation de l'acide ascorbique comme témoin positif est courante car il est largement reconnu pour son fort pouvoir antioxydant.

Nous calculons les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

$$I\% = ((Ac - At)/Ac) \times 100.$$

**Ac** : Absorbance du contrôle négatif.

**At** : Absorbance de l'extrait.



**Figure 18.** Effet antiradicalaire des extraits hydro-méthanolique de citron vert et d'orange sur la réduction du DPPH et effet de l'acide ascorbique.

Selon les données présentées dans la **figure 18**, les pourcentages d'inhibition de l'extrait (orange ; citron vert) varient respectivement entre **39,73%** et **94,33%**, et entre **19,82%** et **83,06%**.

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition le plus élevé, atteignant **94,33%** pour l'orange et **83,06%** pour le citron vert, est obtenu avec une concentration de l'extrait hydro-méthanolique de **1000 µg/mg**. Ces résultats indiquent que les extraits hydro-méthanoliques de jus de citron vert et d'orange présentent une activité antioxydante significative, avec des pourcentages d'inhibition élevés, en particulier à la concentration la plus élevée testée. Cela suggère que les extraits de jus d'orange et de citron vert peuvent être considérés comme de bonnes sources d'antioxydants potentiels.

Floegel *et al.*, (2011) ont enregistré des activités antiradicalaire de 72,4 ; 47,4 ; 41,8 et 18,9 mg EAA/100mL des jus de mangue, d'orange, de citron et de pomme, respectivement.

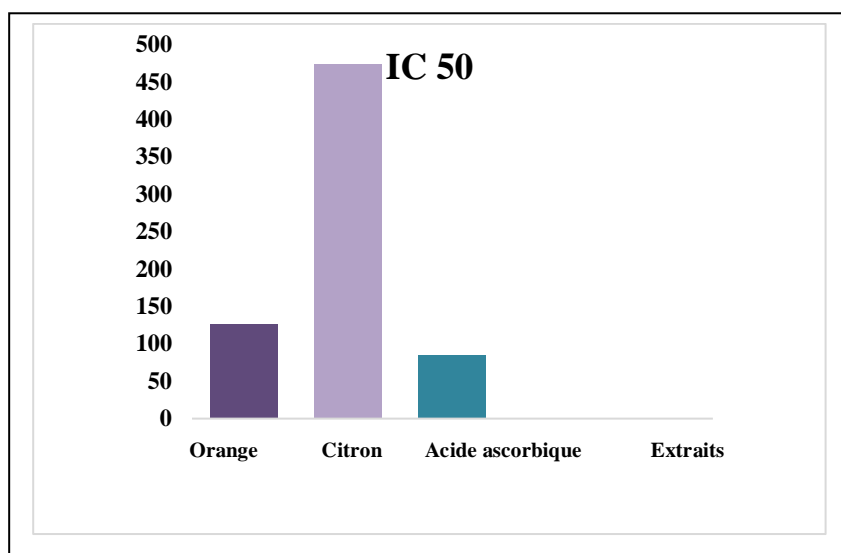
Ces différences observées entre nos résultats et ceux de la littérature peuvent être expliqué selon Ismail *et al.*, (2004) à de nombreux facteurs tels que, la polarité des solvants et la variation des espèces utilisées.

### IV.3. Evaluation de l'IC50

L'IC50, ou concentration inhibitrice à 50%, est une mesure inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé. Il représente la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire de 50% les concentrations de radicaux libres. Une valeur IC50 plus faible indique une activité antioxydante plus élevée du composé.

Dans notre étude, nous avons calculé l'IC50 en utilisant la régression linéaire du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits préparés. Cette méthode nous permet de déterminer la concentration d'échantillon requise pour inhiber le radical libre DPPH de 50%.

Les résultats de l'activité antioxydante, exprimés en termes d'IC50, sont présentés dans la **figure 19**.



**Figure 19.** Les résultats des IC50 pour le test DPPH

Selon les résultats obtenus, il est important de noter que l'extrait hydro-méthanolique de jus de citron vert a montré une activité antioxydante plus puissante que l'extrait de jus d'orange. Cependant, il est important de souligner que cette activité antioxydante est significative même par rapport à l'acide ascorbique utilisé comme standard, dont la concentration est de **85,19** µg/mL.

Les différences d'activité de piégeage du radical libre DPPH entre les deux extraits d'agrumes peuvent être attribuées à une composition phénolique différente des matériaux analysés. En effet, la réduction du radical DPPH n'est généralement pas le résultat de l'action d'un seul composé, mais plutôt des interactions entre plusieurs composés présents dans l'extrait. Ces interactions complexes peuvent différer d'un extrait à un autre, ce qui conduit à des différences d'activité antioxydante entre les extraits (**Li et al., 2006**).

Ces observations soulignent l'importance de la composition phénolique et des interactions entre les composés dans la détermination de l'activité antioxydante des extraits d'agrumes. Ces résultats mettent également en évidence le potentiel des extraits de citron vert et de l'orange en tant que sources d'antioxydants naturels et suggèrent la présence de composés phénoliques spécifiques dans ces extraits qui contribuent à leur activité antioxydante. En plus, ces informations nous permettent de mieux comprendre les propriétés antioxydantes des échantillons étudiés et de sélectionner les concentrations les plus appropriées pour des applications potentielles en tant qu'agents antioxydants.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

---

Les composés phénoliques sont des substances chimiques produites par les plantes qui jouent un rôle important dans leur défense, leur adaptation au stress environnemental, leur reproduction et leur interaction avec d'autres organismes. Leur diversité et leurs avantages potentiels en font un domaine de recherche fascinant en biologie végétale et en pharmacologie.

L'utilisation de la méthode d'extraction par macération avec du méthanol comme solvant est en effet une technique couramment utilisée pour extraire les composés phénoliques à partir de matériel végétal, y compris les agrumes tels que les oranges et les citrons verts.

La différence de rendement entre l'extraction de jus d'orange et de jus de citron vert peut être attribuée à des facteurs tels que la taille des particules et le type d'échantillon utilisé, ainsi qu'à la composition chimique propre à chaque agrume.

Les résultats principaux indiquent que l'extrait de jus d'orange présente une plus grande concentration de phénols totaux par rapport à l'extrait de jus de citron vert, tandis que l'extrait de jus de citron vert est plus riche en flavonoïdes par rapport à l'extrait de jus d'orange. Ces observations soulignent les différences dans la composition phénolique entre les deux jus et mettent en évidence leur profil unique de composés phénoliques.

L'évaluation de la capacité antioxydante des extraits de jus a révélé que l'extrait de jus de citron vert présente une puissance antioxydante supérieure à celle de l'extrait de jus d'orange, mesurée par sa capacité à réduire le radical DPPH. Cette observation suggère que le jus de citron vert peut avoir un potentiel plus élevé en termes d'activité antioxydante par rapport au jus d'orange dans le contexte spécifique de cette étude.

Pour approfondir ce travail sur l'extraction de composés phénoliques et l'évaluation de leurs propriétés antioxydantes dans le jus d'orange et le jus de citron vert, plusieurs perspectives de recherche peuvent être explorées :

- Identifier et quantifier les composés phénoliques spécifiques présents dans le jus d'orange et le jus de citron vert. Des techniques analytiques avancées, telles que la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, peuvent être utilisées pour caractériser en détail les différents composés phénoliques présents dans les extraits.
- Menées des études *in vitro* et *in vivo* pour examiner les voies de signalisation et les réactions biochimiques impliquées dans la protection contre les radicaux libres.
- Étudier comment les procédés de transformation (tels que la pasteurisation) et le stockage à long terme affectent la teneur en composés phénoliques et les propriétés antioxydantes du jus

d'orange et du jus de citron vert. Cela permettrait de mieux comprendre l'impact des procédés industriels sur la qualité nutritionnelle des jus d'agrumes.

- Étendre cette étude à d'autres variétés d'agrumes outre que le jus d'orange et le jus de citron vert pour évaluer leurs profils de composés phénoliques et leurs propriétés antioxydantes.
- Étudier d'autres activités biologiques des extraits de jus d'orange et de jus de citron vert, telles que leurs effets anti-inflammatoires, antimicrobiens ou anticancéreux. Cela permettrait d'élargir notre compréhension des potentiels bienfaits pour la santé liés à la consommation de ces jus.

Ces perspectives de recherche pourraient contribuer à une meilleure compréhension des composés phénoliques dans les jus d'agrumes, de leurs propriétés antioxydantes et de leur impact sur la santé. Elles permettraient également d'explorer de nouvelles applications et opportunités pour l'utilisation des extraits de jus d'orange et de jus de citron vert dans les domaines de la nutrition, de la médecine et de l'industrie alimentaire.

# Annexe

## I. Matériels et produits chimiques

### 1. Matériel du laboratoire

- La verrerie : tube à essai, bécher, erlenmeyer, flacon
- Spectrométrie
- Rotavapeur
- Spatule, micropipettes, papier d'aluminium, papier absorbant, papier filtre
- Étuve

### 2. Les produits chimiques et les solvants

- Réactif de Folin-Ciocalteu
- Carbonate de sodium
- Trichlorure d'aluminium
- Le DPPH
- Eau distillée
- Méthanol

### 3. Les standards utilisés

- Acide gallique
- Quercétine
- Acide ascorbique



## II. Les tableaux

**Tableau III.** Rendement des extraits hydro-méthanoliques de citron vert et d'orange

| Échantillon | Masse initiale (g) | Masse final (g) | Rendement (%) |
|-------------|--------------------|-----------------|---------------|
| Orange      | 223,3              | 234,6           | 11,3%         |
| Citron vert | 113,351            | 115             | 5,49%         |

**Tableau IV.** Gamme étalon des polyphénols totaux réalisés à l'aide de l'acide gallique.

|                       |       |       |       |       |       |       |       |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Concentration (ug/mL) | 250   | 125   | 62,5  | 31,25 | 15,63 | 7,8   | 3,9   |
| Absorbance (750nm)    | 2,128 | 1,272 | 0,634 | 0,354 | 0,198 | 0,114 | 0,062 |

**Tableau V.** Gamme étalon des flavonoïdes réalisés à l'aide de la quercétine

|                       |     |      |       |       |       |
|-----------------------|-----|------|-------|-------|-------|
| Concentration (ug/mL) | 125 | 62,5 | 31,25 | 15,63 | 7,8   |
| Absorbance (430 nm)   | 2,5 | 1,3  | 0,742 | 0,409 | 0,255 |

**Tableau VI.** Les pourcentages d'inhibition de l'extrait hydro-méthanolique de citron vert

|   |        |        |        |        |        |        |        |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Concentration (ug/mL)                                 | 1000   | 500    | 250    | 125    | 62,5   | 31,25  | 15,63  |
| Pourcentages d'inhibition de l'extrait de citron vert | 83,006 | 54,575 | 37,581 | 24,727 | 23,747 | 21,677 | 19,825 |

**Tableau VI.** Les pourcentages d'inhibition de l'extrait hydro-méthanolique d'orange

|   |        |        |        |      |       |
|---|--------|--------|--------|------|-------|
| Concentration (ug/mL)                           | 1000   | 500    | 250    | 125  | 62,5  |
| Pourcentages d'inhibition de l'extrait d'orange | 94,335 | 73,281 | 65,547 | 47,9 | 39,73 |

**Tableau VII.** Les pourcentages d'inhibition de l'acide ascorbique

| <b>Concentration (ug/mL)</b>                        | 1000  | 500   | 250   | 125   | 62,5  | 31,25 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Pourcentages d'inhibition d'acide ascorbique</b> | 91,61 | 63,82 | 61,49 | 79,69 | 30,92 | 12,71 |

**Tableau VIII.** Les résultats des IC50 pour le test DPPH

|  | <b>IC50 (ug/mL)</b> |
|--|---------------------|
| <b>Acide ascorbique</b>                          | 85,19               |
| <b>Extrait hydro-méthanolique de citron vert</b> | 473,575             |
| <b>Extrait hydro-méthanolique d'orange</b>       | 126,291             |

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

### *A*

- 1- **Ahmad, S., Nadeem, S., Muhammad N. (2019).** Boundary layer flow over a curved surface imbedded in porous medium. *Communications in Théoretical Physics*.**71**: 344.
- 2- **Ali Arous, S. (2020).** Rôle des pucerons dans la propagation du virus de la Tristeza (CTV) responsable du dépérissement rapide des agrumes dans le moyen Chlef et identification des biotypes vecteurs des souches virulentes. Thèse doctorat. Sciences agronomiques. Université Abdelhamid Ibn Badis. Mostaganem. P (22-24).
- 3-**Ardestani, A. and Yazdanparast, R. (2007).** Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of Achillea santolina Extracts. *Food Chemistry*. **104**: 21-29.
- 4- **Ashraf, M. A., Iqbal, M., Rasheed, R., Hussain, I., Riaz, M., & Arif, M. S. (2018).** Environmental Stress and Secondary Metabolites in Plants. *Plant Metabolites and Regulation Under Environmental Stress*. 153-167.

### *B*

- 5- **Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006).** Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial By-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses. *Food Chemistry*. **99**: 191-203.
- 6- **Barralles, F.M., Silveira, P., Barbosa, M., Ruviaro, R., Paulino, N., Pastore, M., Macedo, G. A., & Martinez, J. (2018).** Recovery of phenolic compounds from citrus by-products using pressurized liquids-An application to orange peel. *Food and Bioproces*, **112**: 9-21.
- 7- **Barreca, D., Mandalari, G., Calderaro, A., Smeriglio, A., Trombetta, D., Felice, M. R., & Gattuso, G. (2020).** Citrus Flavones: An Update on Sources, Biological Functions. *National Library of Medecine*. **9**: 288.
- 8- **Benariba, N., Djaziri, R., Bellakhdar, W., Belkacem, N., Kadiata, M., Malaisse, J., & Sener A. (2013).** Phytochemical screening and free radical scavenging activity of Citrullus colocynthis seeds extracts. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. **3**: 35-40.
- 9- **Benavente-García, O and Castillo J. (2008).** Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of Agriculturaland Food Chemistry*. **156**: 6185-205.

**10- Bolling, B., Peur, R., & Liu X. (2020).** Flavonoïds and gut health. *Current Opinion in Biotechnology.* **61:** 153-159.

**11-Bourkhiss, M., Hnach, M., Paolini, J., Costa, J., farah., & satrani, B. (2010).** Propriétés Antioxydants et Anti-inflammatoires des Huiles essentielles des Différentes Parties de Tetraclinis Articulations (VAHL) Maters du MAROC. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.* **79:** 141 – 154.

**12- Bryk, D., Olejarz, W., & Zapolska-Downar D. (2017).** Le rôle du stress oxydatif et de la NADPH oxydase dans la pathogenèse de l'athérosclérose. *Postepy Hig Med Dosw.* **71:** 57-68.



**13- Choi, Y., Ko, C., Ko, Y., Hwang, H., Park, G., Kang, H., Han, H., Yun, H., & Kim J. (2007).** Correlation between flavonoid content and the NO production inhibitory activity of peel extracts from various citrus fruits. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* **4:**772-8.

**14- Colucci, R., Dragoni, F, & Moretti S. (2015).** Oxidative stress and immune system in vitiligo and thyroid diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* **2015:** 631927.

**15- Conforti, F., Sosa, M., Marrelli, F., Menichini, G., Statti, D., Uzunov, A., Tubaro & Loggia, D. (2008).** "In vivo anti-inflammatory and in vitro antioxidant activities of Mediterranean dietary plants." *J Ethnopharmacol.* **116:** 144-151.

**16- Cronquist, A. (1982).** En Integrated System of Classification of Flowering Plants. *Brittonia.* **34(2):** 268-270.



**17- Del, Rio., A., Fuster, D., Gomez, P., Porrás, I., Garcia-Lidon, A., & Ortuno, A. (2004).** Citrus limon a source of flavonoid of pharmaceutical interest. *Food chemistry.* **84:**457- 461.

**18- Enomoto, H., Takahashi, S., Takeda, S., & Hatta, H. (2019).** Distribution of Flavan-3-ol Species in Ripe Strawberry Fruit Revealed by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Mass Spectrometry Imaging. *Mol,* **25:** 103.

**19- Ercan B. and Ilhami U. (2011).** Polyphénol contents and in vitro antioxydant activites of lyophilised aqueous extract of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Research International.* **44:** 1482-1489.

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

**21- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011).** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition Analysis*. **24**: 1043–1048.



**22- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., & Mohammed, A.E. (2009).** Antioxydant Activity, Phénol and Flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. Journal of Pharmaceutical sciences*. **22**: 277- 281.

**23- Gollouin F. and Tone I. (2013).** Des fruit et des graines comestible le du monde entier. Edition Brigitte Peyrot Poos, Paris Lavoisier. **PP**: 186-195.

**24- Gomez Ruiz, B. (2016).** Prédiction de la dégradation de la vitamine C en conditions de traitement thermique: étude en milieu modèle liquide entre 50 et 90 °C. *Food chemistry*. 583-589.

**25- Gonçalves, J.L.S., Leitão, S.G., Delle Monache, F., Miranda, S., Santos, M., Romanos M.T.V, & Wigg, D. (2001).** Effet antiviral in vitro d'extraits riches en flavonoïdes de *Vitex polygama* (Verbenaceae) contre le virus herpès simplex de type 1 résistant à l'acyclovir. *National Library of Medicine*. **8**: 477-480.

**26- González-Sarrías, A., Tomás-Barberán, F.A., & García-Villalba, R. (2020).** Structural Diversity of Polyphenols and Distribution in Foods. In F. A. Tomás-Barberán, A. González-Sarrías, & R. García-Villalba (Éds.), *Dietary Polyphenols*. 1-29.

**27- Goulas, V. and Manganaris, G.A. (2012).** Exploring the phytochemical content and antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry*. **131**: 39-47.



**28- Haudum, C., Lindheim, L., Ascani, A., Trummer, C., Horvath, A. & Münzker B. (2020).** Impact of Short-Term Isoflavone Intervention in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) Patients on Microbiota Composition and Metagenomics. *Nutrients*. **12**: 1622.



**29- Incalza, M.A., D'Oria, R., Natalicchio, A., Perrini, S., Laviola, L., & Giorgino, F (2017).** Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases. *Vascular Pharmacology*. **100**: 1-19.

**30- Ismail, A., Marjan, Z.M., & Foong C.W. (2004).** Total antioxidant activity and phenolics content in selected vegetables. *Journal of Food Chemistry*. **87**: 581-586.



**31- Karumi, Y. (2004).** Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medecine Sciences*. **4**: 179-182.

**32- Kumar, N. and Goel, N. (2019).** Phenolic acids : Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biology Reports*. **24**: 45-52.



**33- Li, B.B., Smith, B., & Hossain, M.d.M. (2006).** Ex traction of phenolics from citrus peels: Solvent extraction method *Separation and Purification Technology*. **48**: 182-188.

**34- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F, & Jiang Y. (2007).** Évaluation de la capacité antioxydante et du contenu phénolique total de différentes fractions de microalgues sélectionnées. *Journal Algérien des régions Arides*. **102**: 771-776.

**35- Li, H., Li, D., Yang, Z., Zeng, Q., Luo, Y., & He, N. (2020).** Flavones Produced by Mulberry Flavone Synthase Type I Constitute a Defense Line against the Ultraviolet-B Stress. *Plants*. **9**: 215.

**36- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., & Della, M. (2018).** Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*. **13**: 757-772.

**37- Lillo, C., Lea U.S. & Ruoff P. (2008).** Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway. *Plants*. **31**: 787-601.

**38- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacological reviews*. **4**: 118–126.

**39- Loussert R., (1989).** Les agrumes.2. Paris : production Édition Lavoisier. **157**: 12.



- 40- Matschke, V., Theiss, C., & Matschke, J. (2019).** Oxidative stress: the lowest common denominator of multiple diseases. *Neural Regeneration Research*. **14**: 238-241.
- 41- Michel, T., Destandau, E., Floch, G.L., Lucchesi, M.E., & Elfakira C. (2012).** Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed, *Food Chemistry*. **131**: 754-760.
- 42- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. **26**: 211-219.



- 43- Nassiri-Asl, M. and Hosseinzadeh, H. (2009).** "Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive compounds. *Phytotherapy Research*. **23**: 1197- 204.
- 44- Nichols, H.B., Anderson, C., White, A.J., Milne, G.L. & Sandler D.P. (2017).** Oxidative stress and breast cancer risk in premenopausal women. *Epidemiology*. **28**: 667-674.
- 45- Niki, E. (2018).** Oxydative stress and antioxydants : Distress or eustress ?. *Free Radical Biology and Medicine*. **124**: 564.



- 47- Oguntibeju, O.O. (2019).** Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links. *International Journal of Physics Research and Applications*. **11**: 45-63.
- 48- Bahri, A. (2017).** Diversité et origine génétique des espèces de la sous famille des Aurantioideae et décryptage des structures interspécifiques des génomes des agrumes modernes. THÈSE DE DOCTORAT EN BIOLOGIE. University of Tunis Almanar. 8-9.
- 49- Ouissam. K. (2014).** Origine et classification des agrumes. Erosion génétique des espèce agrumicoles dans la wilaya de Skikda : Contraintes de production, université 20 Aout 1955 Skikda.



- 50- Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra, G., Murcia, M.A., Jiménez, A.M. & Codina, C. (2003).** Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Science*. **73**: 1667-81.

**51- Poprac, P., Jomova, K., Simunkova, M., Kollar, V., Rhodes, C.J. & Valko, M. (2017).** Targeting Free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Pharmaceutical Sciences*. **38**: 592-607.

**52- Pradhan, A., Bagchi, A., De, S., Mitra, S., Mukherjee, S., Ghosh, P. & Chatterjee, M. (2019).** Role of redox imbalance and cytokines in mediating oxidative damage and disease progression of patients with rheumatoid arthritis. *Free Radical Research*. **53**: 768-779.

## *Q*

**53- Qu, J., Mei, Q., & Niu R. (2019).** Oxidative CaMKII as a potential target for inflammatory disease. *Molecular Medicine Reports*. **20**: 863-870.

**54- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouységu, L. (2011).** Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew Chemie International Ed Engl*. **50**: 586-621.

## *R*

**55- Ramful, D., Bahorunb, T., Bourdonc, E., Tarnusc, E., & Aruoma, O.I. (2010).** Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*. **278**: 75-87.

## *S*

**56- Shakya, A., Luitel, L., Kumari, P., Devkota, R., Rah Dahal, P., Chaudhary, R. (2019).** Comparative Study of Antibacterial Activité of Juice ans Peel Extract of Citrus Fruits. *Nepal Journal*. **6**: 56-59.

**57- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009).** DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*. **113**: 1202-1205.

**58- Sharma, P., Singh Tuli, H. & Sharma, A.K. (2018).** Phytochemical and Pharmacological Properties of Flavonols. In John Wiley & Sons, Ltd. 1-12.

**59- Sanchez-Moreno, C. (2002).** Review: Methods used to evaluatethe free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology*. **8**: 121-137.

**60- Sartori-Thiel, A. (2003).** "Activités anti-microbiennnes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols." *Science et Agronomie ED 380 Doctorat*: **177**.



**61- Sies, H. (2019).** Oxidative Stress: Eustress and Distress in Redox Homeostasis. In *Stress: Physiology, Biochemistry and Pathology*. 153-163.

**62- Samarth, R.M., Panawar, M.,Soni, A., & Kumar, M., (2008).** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract, *Food Chem*, **106**: 868-873.

**63- Singla, R.K., Dubey, A.K., Garg, A., Sharma, R.K., Fiorino, M., Ameen, S.M., Haddad, M.A., & Al-Hiary, M. (2019).** Natural Polyphenols: Chemical Classification, Definition of Classes, Subcategories, and Structures. *Journal of AOAC Inter*,**102**: 1397-1400.

**64- Spiegel, M., Andruniów, T., & Sroka, Z. (2020).** Flavones' and Flavonols' Antiradical Structure–Activity Relationship -A Quantum Chemical Study. *Antiox*, **9**: 461.



**65- Tefiani, I. 2015.** Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydant des extraits d'algue verte: *Ulva linza*. Doctoral dissertation, université Abou BekrBelkaïd-Tlemcen.

**66- Teuscher, E., Anton, R. & Lobstein, A. (2005).** *Plantes aromatiques*. Ed. Tec et Doc-Lavoisier, Paris. Pp: 60: 79.

**67- Tu, W, Wang, H, Li Q. & Sha H. (2019).** Les mécanismes anti-inflammatoires et antioxydant de la voie de signalisation Keap 1/Nrf2/ARE dans les maladies chroniques. *Vieillessement Dis*. **10**: 637-651.



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

**69- Vuolo, M., Lima., V.S., & Maróstica, M.R. (2019).** Phenolic Compounds. In *Bioactive Compounds*. Elsevier. 33-50.

**70- Van Raamsdonk, J.M., Vega, I.E. & Brundin, P. (2017).** Oxidative stress in neurodegenerative disease: causation or association?. *Oncotarget*. **8**: 10777-10778.

**71- Velázquez-Estrada, R.M., Hernández-Herrero, M. M., Rüfer, C. E., Guamis-López, B., & Roig-Sagués, A.X. (2013).** Influence of ultra-high-pressure homogenization processing on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice. *Innovation Food and Science Emerging Technologies*. **18**: 89–94.

**72- Verma, M. L., Sharma, S., Saini, R., Rani, V., & Kushwaha, R. (2020).** Bioflavonoids. In *Biotechnological Production of Bioactive Compounds*. Elsevier. **7**: 69-105.

*W*

**73- Wagner, H. (1983).** Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effect of an Aqueous Extract of *Alchornea cordifolia* Leaves. *Pharmacology and pharmacy*. **8**: 11.

**74- Wang, H.B., Yao, H., Bao, G.H., Zhang, H.P., Qin, G.W. 2004.** Flavone glucosides with immunomodulatory activity from the leaves of *Pleioblastus amarus*. *Phytochemistry* **65**: 969-974.

**75- Wang, X., Wu, J., Guan, M., Zhao, C., Geng, P. & Zhao, Q. (2020).** ARABIDOPSIS MYB4 plays dual roles in flavonoid biosynthesis. *Plant Journal*. **101**: 637-652.

**76- Watson, R.R., Preedy, V.R. & Zibadi S. (2018).** Polyphenols: Prevention and Treatment of Human Disease. 2 Eds, Academic press. 484.

*X*

**77- Xia, E., Deng, Q.G.F., Guo, Y.J. & Li, H.B. (2010).** "Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Science*. **11**: 622-646.

*Y*

**78- Yadava, R.N. and Tiwari, L. (2005).** A potential antiviral flavone glycoside from the seeds of *Butea monosperma* O.Kuntze. *Journal of Natural Products*. **7**: 185-188.