

**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 :

**Ziane Fatima**

Pour l'obtention du diplôme de :

**MASTER EN NUTRITION ET PATHOLOGIE**

**Spécialité : Nutrition et Pathologie**

**Thème :**

**Etude phytochimique quantitative et évaluation du  
pouvoir antioxydant d'écorce de *citrus aurantiifolia***

**Devant le Jury :**

- |                 |                        |            |               |
|-----------------|------------------------|------------|---------------|
| - Président :   | Riazi Ali              | Professeur | U. Mostaganem |
| - Encadrante:   | ALACHAHER Fatima Zohra | MAB        | U. Mostaganem |
| - Examinatrice: | Mir Hakima             | MCA        | U. Mostaganem |

**Année universitaire : 2022/2023**

# Remerciement

Nous rendons grâce à Dieu le tout puissant pour le courage, la force et la patience qu'il nous a accordé pour mener à bien notre travail.

Nous voudrions remercier le **Pr RIAZI ALI**, le directeur de Laboratoire Des Microorganisme Bénéfiques, Aliment Fonctionnels et Santé.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements pour mon grand et respectueux,

**Dr. ALACHAHER FATIMA ZOHRA**, d'avoir accepté de nous encadrer pour notre projet de fin d'études, ainsi que pour ses précieux conseils et surtout pour nous avoir laissé une grande liberté dans la conception et la rédaction de ce travail. Ses remarques pertinentes et son encouragement.

Nos remerciements vont aux membres du jury **Pr. Riazi Ali** et **Dr. Mir Hakima**

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter l'évaluation de ce travail.

Nous voudrions remercier l'ingénieur de Laboratoire LMBAFS Madame **Djahira HAMED**, pour son aide, sa disponibilité, son soutien et sa sympathie, et pour donner des informations sur notre recherches.

Nos remerciements vont aussi à tous professeurs, enseignants et toutes les personnes qui nous a soutenus jusqu'au bout, et qui ne cessent de nous donner des conseils très importants enseigne de reconnaissance.

Merci

ZIANE Fatima

# *Dédicace*

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma tendre mère et mon très cher père

A ma précieuse amie Assia HAMOUDI. A mes chères tantes

A mes frères : Mohammed .Naima, Aicha, rouba, Nadia et saliha

Spécial dédicace à vous: Madame Fatima Zohra ALACHAHER

A mes meilleurs amis :

Fatima, safia, Itab ,Wiam et warda

A Tous mes amis d'enfance et du long parcours scolaire et  
universitaire.

*ZIANE Fatima*

## Liste des abréviations

**Ac** : absorbance du contrôle négatif.

**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'aluminium

**AMPc** : Adénosine mono phosphate cyclique

**At** : absorbance de l'extrait

**ATPase** : Enzymes liée aux métabolismes énergétique qui hydrolysent au synthétisent les molécules d'adénosine -triphosphate

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

**Ca<sup>+</sup>** : Calcium

**c<sup>0</sup>** : degré Celsius

**DPPH** : Dipheyl-picrylhydrazyle

**EA** : équivalent d'acide gallique

**EQ** : équivalent de quercitrine

**F** : **facteur de dilution**

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

**H** : hydrogène

**H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : Acide phosphomolybdique

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>4</sub>** : Acide phosphotungstique

**HSV** : Virus herpes simplex

**IC50** : la concentration d'extrait qui assure la réduction de 50% du DPPH

**G** : gramme

**Kcal** : Kilocalorie

**Kg** : kilogramme

**LDL** : Cholestérol

**Mg** : milligramme

**Min** : minute

**mLl** : millilitre

**NADPH** : Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate

**Nm** : nanomètre

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

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

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

**Ph** : Potentielle hydrogène

**Rdt** : Rendement

**µL** : microlitres

**µg** : microgramme

**VRS** : Virus Respiratoire Syncytial

**(%)** : pourcentage

## Liste des Figures

<b>Figure 01:</b> Arbre de citron. <i>C. aurantifolia</i> (Photoprise au laboratoire).....	<b>12</b>
<b>Figure02:</b> Les étapes de préparation de la matière Végétale (Photo prise au laboratoire)..	<b>12</b>
<b>Figure 03:</b> Les étapes de préparation d'extrait Brute Eau-Méthanol d'écorce de citron... vert <i>C. aurantiifolia</i> (Photo prise au laboratoire).	<b>13</b>
<b>Figure 04:</b> Les Différents étapes réalisées dans L'expérimentation.....	<b>14</b>
<b>Figure 05:</b> Dosage des Polyphénols totaux.....	<b>16</b>
<b>Figure 06:</b> Dosage des flavonoïdes totaux.....	<b>17</b>
<b>Figure 07:</b> Structure Chimique de radical libre et non radical.....	<b>18</b>
<b>Figure 08:</b> Protocole de préparation de l'enchantions de test DPPH.....	<b>19</b>
<b>Figure 09:</b> Mécanisme réactionnel du test DPPH.....	<b>19</b>
<b>Figure10:</b> Rendement d'extraction d'écorce de citron vert.....	<b>21</b>
<b>Figure 11:</b> Courbe étalon de l'acide gallique.....	<b>22</b>
<b>Figure 12:</b> Courbe étalon Quercitaine.....	<b>24</b>
<b>Figure 13:</b> Courbe étalon d'Acide Ascorbique.....	<b>26</b>
<b>Figure 14:</b> Effet anti radicalaire d'extrait méthanolique de l'écorce de citron vert sur la réduction du DPPH et effet de l'acide ascorbique.....	<b>27</b>

## Liste des Tableaux

<b>Tableau I :</b> principaux composés des agrumes.....	<b>04</b>
<b>Tableau II:</b> Distribution des Flavonoïdes dans les fruits et légumes.....	<b>09</b>
<b>Tableau III:</b> Teneurs en composés phénoliques et flavonoïdes totaux dans les matières premières Extraites d'écorce de citron vert.....	<b>24</b>
<b>Tableau IV.</b> Les résultats des IC50 pour le test DPPH.....	<b>27</b>
<b>Tableau V :</b> Gamme étalon des polyphénols totaux réalisée à l'aide de l'acide gallique...	<b>30</b>
<b>Tableau VI :</b> Gamme étalon des flavonoïdes réalisés à l'aide de la quercitine .....	<b>30</b>
<b>Tableau VII:</b> les pourcentages d'inhibition de l'extrait méthanolique (test DPPH).....	<b>30</b>
<b>Tableau VIII:</b> les pourcentages d'inhibition de l'acide ascorbique.....	<b>30</b>

## Table des matières

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>01</b>
<b>CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>03</b>
I. Généralités des agrumes.....	03
I.1.Historique.....	03
I.2.Composition moyenne de quelque agrumes.....	04
I.3.Intérêt nutritionnel des agrumes.....	05
I.4.Composition chimique globale des écorces d'agrumes.....	06
I.5.L'intérêt biologique et économique des écorce de d'agrumes.....	06
II. Les Antioxydants.....	07
II.1. L'acide l'ascorbique (vitamine C).....	07
II.2. Les composés Phénoliques.....	07
III. Les Flavonoïdes.....	08
III.1. Flavonoïdes d'agrumes.....	08
IV. Effet Biologique des Flavonoïdes.....	10
IV.1. Effet antioxydant et piégeurs de radicaux libres.....	10
IV.2. Propriété antiallergiques.....	10
IV.3. Propriétés anti-inflammatoires.....	11
IV.4. Autres effet biologiques.....	11
<b>CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>12</b>
I. Matériel végétal.....	12

II. Objectifs de l'expérimentation.....	12
III. Préparation de l'extrait eau-méthanol d'écorce de citron vert.....	13
III.1. Le rendement obtenu.....	15
IV. Dosage des polyphénols totaux.....	15
IV.1. Méthode.....	15
IV.2. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	16
V. Dosages des flavonoïdes totaux.....	16
V.1. Méthodes.....	16
V.2. courbe d'étalonnage de la quercétine.....	17
VI. Mesure du pouvoir antioxydant.....	17
VI.1. Évaluation de l'activité antiradicalaire du radicale libre DPPH.....	17
VI.2. Mode opératoire.....	18
VI.2.1. Préparation du DPPH.....	18
VI.2. 2. Préparation des échantillons.....	18
VI.3 courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.....	20
<b>CHAPITRE III. RESULTAT ET DISCUSSION.....</b>	<b>21</b>
I : Résultat.....	21
I.1.Rendement d'extraction d'écorce de citron vert.....	21
I.2.Dosage des composés phénoliques.....	22
I.2.1. Teneur en polyphénols totaux dans l'extrait d'écorce de citron vert <i>C</i> <i>.aurantiifolia</i> .....	22
I.2.2. Taux de flavonoïde totaux dans l'extrait d'écorce de citron vert.....	24
I.3. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	25

I.3.1. Effet scavenger du radicale DPPH.....	25
I.3.2 Calcule des pourcentages d'inhibitions.....	26
I.3.3 Evaluation d'IC50.....	27
CONCLUSION ET PEPRSPECTIVES.....	28

## Résumé

Les agrumes sont des composants recommandés du régime alimentaire humain en raison de leur composition enrichie en composés bioactifs et de leurs bienfaits pour la santé. Les phénols sont les principaux constituants des agrumes, en particulier les flavonoïdes, les limonoïdes et les acides carboxyliques. Ces composés sont remarquables en raison de leur présence et de leur contribution potentielle à la composition globale et à la bioactivité des agrumes. L'objectif de cette étude était d'évaluer la capacité antioxydante de l'écorce de citron vert (*Citrus aurantiifolia*) et d'identifier les composés chimiques qu'elle contient. Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'extrait hydro-méthanolique d'écorce d'agrumes a été quantifiée respectivement à l'aide de la méthode Folin-Ciocalteu et la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). En outre, la capacité antioxydante a été évaluée à l'aide de la méthode de piégeage des radicaux DPPH. Les résultats obtenus dans le cadre de notre étude indiquent que l'extrait hydro-méthanol d'écorce de *C. aurantiifolia* présente une activité antioxydante significative. En outre, l'extrait d'écorce présente des concentrations élevées de composés phénoliques et flavonoïdes totaux (**105,30±0,002** et **22,31±0,002 mg/100g**) respectivement. Cet effet de piégeage observé dans l'extrait d'écorce peut être attribué à sa teneur élevée en citroflavonoïdes, qui possèdent le potentiel de réduire efficacement le radical DPPH (**126,29±0,007%**). En conclusion, la consommation d'agrumes, principalement de citron vert, apporte une contribution précieuse à la prévention de l'apparition de diverses maladies chroniques grâce à leur pouvoir antioxydant.

**Mots clés :** *C. aurantiifolia*, polyphénols, activité antioxydants, DPPH

## Abstract

Citrus fruits are recommended components of the human diet due to their enriched composition of bioactive compounds and their health benefits. Phenols are the main constituents of citrus fruits, in particular flavonoids, limonoids and carboxylic acids. These compounds are noteworthy for their presence and potential contribution to the overall composition and bioactivity of citrus fruits. The aim of this study was to assess the antioxidant capacity of *Citrus auratiifolia* (lime) peel and identify the chemical compounds it contains. The total polyphenol and flavonoid contents of citrus peel hydro-methanolic extract were quantified using the Folin-Ciocalteu method and the aluminum trichloride (AlCl<sub>3</sub>) colorimetric method, respectively. In addition, antioxidant capacity was assessed using the DPPH radical scavenging method. The results obtained in our study indicate that the hydro-methanol extract of *Citrus aurantiifolia* peel exhibits significant antioxidant activity. In addition, the peel extract shows high concentrations of total phenolic compounds and flavonoids (**105.30±0.002** and **22.31±0.002** mg/100g) respectively. This scavenging effect observed in peel extract can be attributed to its high content of citroflavonoids, which possess the potential to effectively reduce the DPPH radical (**126.29±0.007%**). In conclusion, consumption of citrus fruit, mainly lime offers a valuable contribution to prevent the onset of various chronic diseases due to their antioxidant power.

**Key words:** *C. aurantiifolia*, polyphenols, antioxidant activities, DPPH

## الخلاصة

يُنصح باستخدام ثمار الحمضيات من مكونات النظام الغذائي للإنسان نظرًا لتكوينها المخصب بالمركبات النشطة بيولوجيًا وفوائدها الصحية. الفينولات هي المكونات الرئيسية للحمضيات ، وخاصة الفلافونويد والليمونويدات والأحماض الكربوكسيلية. هذه المركبات جديرة بالملاحظة لوجودها ومساهمتها المحتملة في التكوين العام والنشاط الحيوي للحمضيات. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القدرة المضادة للأكسدة لقشر الليمون (*Citrus aurantiifolia*) والتعرف على المركبات الكيميائية التي يحتوي عليها. تم قياس كمية محتويات البوليفينول الكلي والفلافونويد لمستخلص قشر الحمضيات الميثانولي على التوالي باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu وطريقة قياس الألوان ثلاثي كلوريد الألومنيوم ( $AlCl_3$ ). بالإضافة إلى ذلك ، تم تقييم قدرة مضادات الأكسدة باستخدام طريقة الكسح الجذري DPPH. تشير النتائج التي تم الحصول عليها في دراستنا إلى أن مستخلص الميثانول المائي من لحاء *C. aurantiifolia* يُظهر نشاطًا كبيرًا كمضاد للأكسدة. علاوة على ذلك ، يُظهر مستخلص اللحاء تركيزات عالية من إجمالي مركبات الفينول والفلافونويد  $105.30 \pm 0.002$  و  $22.31 \pm 0.002$  مجم / 100 جم على التوالي. يمكن أن يُعزى تأثير الكسح الملاحظ في مستخلص اللحاء إلى محتواه العالي من سينتروفلافونويدس ، والتي لديها القدرة على تقليل جذري DPPH بشكل فعال ( $126.29 \pm 0.007\%$ ). في الختام ، فإن استهلاك ثمار الحمضيات ، وخاصة الجير ، يقدم مساهمة قيمة في الوقاية من ظهور الأمراض المزمنة المختلفة بفضل قوتها المضادة للأكسدة.

## INTRODUCTION

---

L'extraction des composés phénoliques à partir des écorces d'agrumes a considérablement attiré l'intérêt scientifique pour les utiliser comme des antioxydants naturels, conservateurs principalement dans les aliments mais aussi dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Rafiq *et al.*, 2018**).

Les polyphénols, également appelés composés phénoliques, sont des substances présentes dans toutes les parties des plantes, y compris les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs et les fruits. Ils se caractérisent par une grande diversité de structures chimiques, mais ont tous en commun la présence de fonctions phénoliques (**Murat, 2009**). Ils forment une vaste famille d'antioxydants présents dans les fruits et les légumes, comprenant plus de six mille molécules différentes (**Pincemail *et al.*, 2007**).

Les flavonoïdes sont une classe de composés phénoliques naturels synthétisés dans les plantes en tant que métabolites secondaires bioactifs qui sont responsables des caractéristiques de la saveur, de la couleur et des activités pharmacologiques (**Scarano *et al.*, 2018**). Ce sont de puissants antioxydants qui protègent les plantes contre les conditions environnementales défavorables (**Nabavi *et al.*, 2018**). Des études ont montré que les flavonoïdes ont des activités immunomodulatrices, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Abotaleb *et al.*, 2018 ; Rodriguez-Garcia & Sanchez-Quesada, 2019**).

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**).

Le citron vert, également connu sous le nom de lime, est un agrume qui provient du limettier, un arbuste de la famille des Rutacées. Les principaux flavonoïdes présents dans le citron vert sont l'ériocitrine et l'hespérétine (**Minato *et al.*, 2003**). Des expériences menées sur des animaux ont démontré que l'ériocitrine et l'hespérétine, extraits de l'écorce ou du jus de citron vert, peuvent réduire ou prévenir les dommages causés par le stress oxydatif (**Minato *et al.*, 2003**).

L'objectif de notre étude est d'estimer les teneurs des composés phénoliques et flavonoïdes dans l'écorce de citron vert *Citrus aurantiifolia*, ensuite d'évaluer le pouvoir antioxydant de l'extrait étudié.

Notre travail est organisé en plusieurs parties

- La partie bibliographique de cette étude repose sur la connaissance théorique des agrumes, en particulier de l'écorce de citron vert. Cela comprend des informations générales sur les agrumes, leur composition chimique et leur valeur nutritionnelle, ainsi que leurs effets thérapeutiques. De plus, des informations générales sur les métabolites secondaires sont prises en compte, notamment les principales catégories de composés, tels que les composés phénoliques (tels que les acides phénoliques et les flavonoïdes), ainsi que l'acide ascorbique (vitamine C).

- La deuxième partie de notre étude décrit le matériel biologique utilisé ainsi que les méthodes d'étude et d'expression des résultats. Nous décrivons en détail les spécificités de l'échantillon prélevé et les techniques expérimentales utilisées pour analyser les composés phénoliques de citron vert.

- Dans la troisième partie, nous présentons les résultats obtenus et les discutons en le comparant à ceux publiés dans la littérature scientifique internationale. Nous examinons les variations des niveaux de composés phénoliques, en mettant en évidence les différences entre les échantillons de citron vert étudiés et les résultats précédemment rapportés.

- Enfin, nous concluons l'étude par une synthèse générale des résultats obtenus et éventuellement des perspectives d'avenir. Nous résumons les principales découvertes liées aux composés phénoliques du citron vert et discutons de leurs implications potentielles pour la santé et la nutrition. Nous pouvons également suggérer des orientations pour des recherches futures dans ce domaine.

## CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

---

### I. Généralités sur les agrumes

#### I.1. Historique

Le mot agrume vient du Latin « acrum », signifiant aigre, et est utilisé pour désigner certains fruits appartenant au genre des agrumes, tel que les oranges, les citrons et les mandarines. Ils sont originaires de pays asiatiques, notamment de Chine, d'Inde, de Malaisie et de Thaïlande, ou ils étaient cultivés depuis au moins 3000 ans (**Ali Arous, 2020**).

Les agrumes en général représentent la première production fruitière au monde, notamment au Brésil, aux États-Unis, en Chine et dans les pays méditerranéens. Les agrumes sont très diversifiées et nous maintiendrons un classement en quatre grandes catégories : les oranges 70 à 75 %, les citrons et limes 10 à 15 %, les mandarines, les clémentines et les tangerines 5% (**Charpentier, 2022**).

Le fruit du citronnier est recouvert d'une écorce composée de deux couches concentriques. La couche extérieure, appelée épicarpe ou flavedo, est de couleur vive, souvent jaune orangé sous l'effet des flavonoïdes, et elle est rugueuse et résistante. La couche intérieure, appelée mésocarpe ou albédo, est spongieuse et blanche (**Lehman, 2021**).

Le citron est un agrume qui provient du citronnier et est particulièrement riche en vitamine C. Il contient également une quantité intéressante de vitamine P et est considéré comme le fruit le moins sucré et donc le moins calorique. Cependant, il est également le fruit le plus acide. Les arbres produisent des fruits plusieurs fois par an, ce qui les rend aptes à être classés comme des "variétés 4 saisons".

- Les "primofiore" qui sont récoltés entre octobre et janvier. Ils ont une couleur jaune pâle.
- Les "verna" qui sont récoltés de décembre à mi-mai et qui sont des fruits de pleine saison. Ils ont une couleur jaune plus vive que les "primofiore".
- Les "verdelli" qui sont récoltés de mi-mai à septembre. Ces citrons sont cueillis verts et "mûris" artificiellement pour devenir jaunes chez le marchand. Les "verdelli" sont moins parfumés que les deux autres variétés (**Hanifa, 2021**).
- **Le citron vert** (*Citrus aurantiifolia*) est principalement originaire des Antilles et d'Amérique du Sud. Le terme "lime" désigne généralement le fruit acide et amer d'une variété de limettier.

Les citrons verts sont récoltés avant maturité et ont une écorce fine et lisse de couleur vert foncé, qui contient une essence aromatique. La chair du citron vert à des reflets verts, elle est juteuse et acide selon **Ménat (2000)**.

## I.2. composition moyenne de quelque agrumes (pour 100 g de fruits)

Les principaux composés des agrumes sont résumés sur le Tableau I (**Régal, 1996**)

**Tableau I** : principaux composés des agrumes

		Citron vert	Clémentine	Orange	Mandarine	Pamplemousse
Composés des nutriments (g)	Glucides	8.42	10.4	9.00	10.1	7.41
	Protides	0.42	0.70	1.00	0.70	0.60
	Lipides	0.07	0.20	0.20	0.30	0.15
	Eau	90.7	86.9	86.3	86.5	88.5
	Fibre Alimentaire	2.80	1.40	1.80	1.70	1.60
Minéraux (mg)	Phosphore	14.00	15.00	14.00	20.00	16
	Calcium	14.00	26.00	40.00	33.00	24
	Magnésium	8.00	11.00	10.00	11.00	9.60
	Sodium	2.000	3.000	1.000	1.100	1.10
	Fer	0.090	0.350	0.120	0.300	0.66
	Cuivre	0.027	0.030	0.050	0.056	0.037
	Zinc	0.080	0.100	0.070	0.063	0.066
	Manganèse	0.030	0.040	0.040	0.037	0.026
Vitamines (Mg)	Nickel	0.020	0.003	0.017	0.003	0.007
	Vitamine C	30.00	41.00	53.00	30.00	44.00
	Provitamine A	0.05	0.300	0.120	0.105	0.077
	Vitamine B1	0.025	0.080	0.090	0.060	0.048
	Vitamine B2	0.015	0.040	0.040	0.030	0.024
	Vitamine B3 ou PP	0.142	0.300	0.280	/	/
	Vitamine B5	0.123	0.200	0.300	/	0.250
	Vitamine B6	0.038	0.040	0.060	0.023	0.028
	Vitamine B8	0.05	0.001	0.002	0.004	0.003
	Vitamine B9	0.000	0.026	0.030	0.070	0.011
Vitamine E	0.001	0.550	0.240	0.320	0.297	
Apport énergétique (Kcal)		23.00	46.00	45.00	46.00	38.00

Ces valeurs sont une composition moyenne donnée à titre indicatif. Il est important de noter que ces valeurs peuvent varier en fonction des variétés, de la saison, du degré de maturité et des conditions de culture. Les chiffres fournis ne sont donc que des ordres de grandeur à prendre en compte.

### **I.3. Intérêt nutritionnel des agrumes**

Ce groupe est caractérisé par plusieurs aspects :

- Une teneur élevée en eau, représentant environ 85% de leur composition;
- Une grande variété de saveurs, grâce à la présence d'acides organiques;
- La possibilité d'être consommés sans nécessiter de préparation préalable;
- Sa richesse en minéraux et vitamines (**Roudaut & Lefranc, 2005**).

Les agrumes sont des aliments connus pour leur richesse en vitamine C, contenant environ 40-50 mg/100 g. Cependant, leur richesse en polyphénols, tels que les monoterpènes, les flavonoïdes, les anthocyanes et les flavonones, leur confère de nombreux autres bienfaits pour la santé. Ainsi, ils sont considérés comme des aliments anti-cancer puissants, car ces composés sont capables de bloquer le développement des tumeurs cancéreuses, notamment celles qui affectent le système digestif, comme l'œsophage, la bouche et l'estomac. Malgré leur saveur acide, les agrumes ont un pouvoir alcalinisant élevé qui peut aider à désacidifier l'organisme (**Khane et al., 2010**). Ils sont également une bonne source de fibres, ce qui est bénéfique pour la santé du système intestinal. Par exemple, une orange contient 1,8 g/100 g de fibres, tandis qu'un pamplemousse en contient 1,6 g/100 g (**Barboni et al., 2010**) (**Tableau I**). Les glucides, en particulier les glucides simples (saccharose, glucose, fructose), représentent les nutriments énergétiques dans notre alimentation. Cependant, les teneurs en ces nutriments varient considérablement en fonction de facteurs tels que l'ensoleillement, le sol, l'espèce, la conservation et le mode de consommation des aliments (**Khadri et al., 2008**).

Le citron vert est largement utilisé en phytothérapie pour traiter de nombreux problèmes de santé, notamment l'insomnie et l'anxiété. Il est également utilisé comme désaltérant et possède des propriétés antimicrobiennes, toniques, stimulantes, diurétiques et antispasmodiques (**Bardeau, 2009**). Des recherches qui ont été faites par **Ware et al., (2019)** montre les bienfaits de l'écorce de citron vert à réduire le risque d'accident vasculaire cérébral et augmenter l'absorption du fer, ainsi à prévenir de l'asthme et stimuler le système immunitaire.

La culture des agrumes est l'une des plus importantes au monde. En Algérie, une quantité importante de résidus d'agrumes est produite chaque année, estimée à 1,488,000 tonnes, et est principalement consommée sous forme de produits frais ou de jus en raison de ses valeurs nutritives et de ses saveurs spéciales (FAO, 2007).

#### **I.4. Composition chimique globale des écorces d'agrumes**

Les écorces d'agrumes représentent environ 40 à 50 % de la masse totale des fruits, mais sont souvent considérées comme des déchets. Cependant, c'est une excellente source de composés naturels qui améliorent la santé. Elles sont riches en vitamine C et en métabolites secondaires tels que les composés phénoliques et les caroténoïdes, en particulier les flavonoïdes et les huiles essentielles. Il a également été noté que les composés phénoliques contiennent plus de ces composés que les parties comestibles correspondantes des fruits (Singh *et al.*, 2020).

Les déchets agricoles contiennent des millions de composés chimiques qui doivent être criblés pour les composés bioactifs responsables de l'activité pharmaceutique. Les déchets d'écorces d'agrumes sont considérés comme une riche source de métabolites pharmacologiquement actifs à activité antioxydant (Hussein *et al.*, 2022).

#### **I.5. L'intérêt biologique et économique des écorces d'agrumes**

Des utilisations médicinales traditionnelles de différents types d'agrumes ont été signalées dans plusieurs pays, où la peau ou le fruit entier est utilisé pour traiter l'indigestion, l'inflammation et l'infection de la peau, les douleurs musculaires, la toux et les douleurs d'estomac et hypertension (Caputo *et al.*, 2020).

Les fruits et légumes constituent les options les plus consommatrices, le secteur de la transformation des agrumes génère des quantités importantes de déchets solides (écorces, graines et membranes) qui représentant 50% des fruits. Actuellement, les écorces d'agrumes représentent un défi pour l'industrie des déchets d'un point de vue environnemental. Les pelures sont soit mises en décharge, incinérées, compostées ou, dans certaines régions, utilisées en partie pour l'alimentation animale les déchets d'écorce d'agrumes contiennent une composition riche en composants précieux (par exemple pectine, huiles essentielles, cellulose) et en nutriments de fermentation tels que les monosaccharides constituant une ressource précieuse pour la fabrication (Kyriakou *et al.*, 2020 & Teigiserova *et al.*, 2021).

## **II. LES ANTIOXYDANTS**

L'oxydation est un processus chimique qui endommage les cellules et les tissus du corps. Heureusement, il existe des molécules appelées antioxydants qui peuvent aider à prévenir ou à réduire ces dommages. Les antioxydants neutralisent les radicaux libres, molécules instables produites par l'organisme lors de la respiration et du métabolisme (**Tanguy et al., 2009**). Les antioxydants exogènes comprennent les composés naturels présents dans les plantes tels que les polyphénols, les caroténoïdes, les terpénoïdes, les tocophérols et les vitamines telles que C et A. Ces antioxydants exogènes peuvent aider à maintenir des niveaux non toxiques de radicaux libres dans le corps, protégeant ainsi notre santé (**Hedhili, 2010**).

### **II.1. L'acide L-ascorbique (vitamine C)**

La vitamine C est une vitamine hydrosoluble est également considéré comme l'un des antioxydants le plus important agissant au niveau des fluides extracellulaires. En raison de ses propriétés, son manque dans l'organisme entraîne une diminution de ses drastique du système immunitaire dans la lutte contre les infection et elle favorise la cicatrisation des plaies et prévient le stress et la fatigue (**Pruteanu et al., 2023**).

### **II.2. Les composés phénoliques**

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans de nombreuses plantes et reconnus pour leurs diverses propriétés biologiques. Ils ont la structure chimique idéale pour être de puissants antioxydants naturels, aidant efficacement à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs. En fait, leur activité antioxydante est supérieure à celle d'autres antioxydants naturels tels que le tocophérol et l'acide ascorbique (**Murat, 2009**). Les polyphénols possèdent également des propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques et anticancéreuses, ce qui en fait des composés d'une grande importance pour la santé (**Ozsoy et al., 2008**).

Les polyphénols appartiennent à plusieurs classes, notamment les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les lignanes, qui sont également connus sous le nom de phytoestrogènes lorsqu'ils sont associés à des effets de type œstrogène dans le corps (**Edeas, 2007**). De nombreuses études ont montré qu'il existe une relation entre la structure chimique des polyphénols et leur activité antioxydante. Les polyphénols peuvent exercer leur effet protecteur contre les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène de plusieurs manières, notamment en inhibant leur formation, en piégeant les radicaux libres, en chélatant

les ions métalliques qui contribuent à leur production, ou en inhibant les enzymes telles que la xanthine oxydase et la cyclooxygénase. Ces actions aident à maintenir les niveaux d'homéostasie du stress oxydatif, prévenant ainsi certains troubles de santé associés à une oxydation excessive (Magalha *et al.*, 2008).

### III. Les flavonoïdes

La capacité des flavonoïdes à interagir avec différents radicaux libres a été étudiée pour identifier les éléments clés de leur activité antioxydante. En raison de leur faible potentiel redox, les flavonoïdes ont la capacité thermodynamique de réduire les radicaux libres oxydatifs tels que les groupes superoxyde, peroxyde d'hydrogène, alcoyle et hydroxyle par transfert d'hydrogène. De plus, ils sont à la fois liposolubles et hydrosolubles. (Spencer & Vauzour, 2009 ; Ramful *et al.*, 2011).

#### III.1. Flavonoïdes d'agrumes

Les flavonoïdes sont une classe de métabolites secondaires produits par les plantes à partir de la voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes. Ils ont une structure moléculaire caractéristique constituée de deux cycles aromatiques en C<sub>6</sub>, appelés cycle A et cycle B, reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> pour former un cycle 2-phényl-1-benzopyrane. La plupart des flavonoïdes ont cette structure, à l'exception de quelques dérivés comme les chalcones, les aurones et les isoflavones.

Les flavonoïdes de la chaux sont des composés polyphénoliques appartenant à la famille des flavonoïdes et se trouvent principalement dans les écorces d'agrumes tels que les oranges, les citrons, les pamplemousses, les mandarines et les oranges amères. La lithamone a été largement étudiée pour ses propriétés antioxydantes en raison de sa capacité à neutraliser les radicaux libres. De plus, il a été déterminé qu'ils ont un effet synergique avec la vitamine C, augmentant l'absorption de la vitamine C par l'organisme. Les bioflavonoïdes présents dans les agrumes sont riches en rutine, hespéridine, locustol et naringénine. La nobilétine, un flavonoïde spécifique présent dans les agrumes, a attiré l'attention des chercheurs en raison de ses propriétés anti-inflammatoires et anti-tumorales potentielles. Le mécanisme d'action de la nobilétine est toujours à l'étude, mais il a été suggéré qu'il pourrait fonctionner en inhibant la prolifération des cellules cancéreuses et en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires. Par conséquent, les flavonoïdes de citron et leurs dérivés peuvent avoir un potentiel thérapeutique en tant que compléments alimentaires ou agents thérapeutiques pour le traitement de diverses maladies associées au stress oxydatif et à l'inflammation. **Pupe les gens. (1998)** ont étudié la composition des glycosides de flavanone

dans diverses oranges et ont conclu que la naringine et l'hespéridine étaient les composés les plus abondants (**Tableau II**). **Peuple Oufedjikheth. (2000)** ont étudié les effets de l'irradiation aux rayons gamma sur les agrumes et ont montré que les concentrations de flavonoïdes étaient réduites de moitié après irradiation.

**Swatsitang et al. (2000)** ont analysé les composés phénoliques dans le jus d'orange et isolé les glycosides de flavanone et les flavones polyméthoxylées. Les acides phénoliques les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide gallique. **Gorinstein et al. (2001)** ont déterminé les composants de l'acide phénolique dans la peau d'orange par la méthode de fluorescence, et les composés identifiés ont été répertoriés par ordre décroissant : acide caféique, acide p-coumarique, acide sinapinique, acide férulique et acide ascorbique.

**Belajová & Suhaj (2004)** ont indiqué que l'hespéridine était le principal composé (92 mg/L) du jus d'orange fraîchement pressé. Enfin, **Whitman et al. (2005)** ont mis en évidence les avantages des glycosides de flavanone et des flavones polyméthoxylées pour abaisser le taux de cholestérol.

**Tableau II.** Distribution des Flavonoïdes dans les fruits et légumes (**Sampson et al., 2002**)

Famille	Molécules principales	Distribution
Flavone	Apigénine, lutéoline, chrysine	Pomme, céleri, grains de céréale (teneur = 5-100 mg/kg)
Flavanone	Héspéritine, naringine, taxifoline	Citrus et agrumes (teneur=250-6000 mg/kg)
Flavanol	Quercétine, myricétine et kaempférol	Pomme, pamplemousse, laitue (teneur = 56-250 mg/kg)
Isoflavanones	Genistéine et daidzéine	Légumineuses, et les graines de tournesol (teneur=150-1500 mg/kg)
Flavan-3-ols	Catéchine Epicathéchine Epigallocatechine et leurs esters de gallate	Thé vert et noir, vin rouge (teneur =5-250 mg/kg)
Anthocyanes	Cyanidine, pelargonidine	Fruits et légumes rouges et violets (pommes, raisins, cassis) (teneur =100-4000 mg/kg)

## IV. Effets biologiques des Flavonoïdes

### IV.1. Effets antioxydant et piègeurs de radicaux libres

La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ( $\text{OH}\cdot$ ), anions superoxydes ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) et radicaux peroxylipidiques.

Les radicaux libres peuvent se former dans diverses situations, notamment :

- En cas d'anoxie, ce qui entraîne la production de l'anion superoxyde ( $\text{O}_2\cdot^-$ ).
- Lors d'une inflammation, qui se caractérise par la production d'anions superoxydes ( $\text{O}_2\cdot^-$ ) par la NADPH-oxydase membranaire des leucocytes activés, ainsi que par la dismutation qui génère le radical hydroxyle hautement réactif ( $\text{OH}\cdot$ ) (**Burda et Oleszek, 2001**).
- Par l'auto-oxydation des lipides, qui survient lors d'un stress oxydant. Dans ce cas, les espèces radicalaires, dépourvues de tout contrôle, peuvent attaquer des cibles bioactives telles que les protéines, altérant ainsi les récepteurs cellulaires et les enzymes, les acides nucléiques, qui favorisent l'apparition de mutations délétères à l'origine de divers cancers, ainsi que les lipides, en particulier les particules de LDL présentes dans l'intima vasculaire, jouent un rôle essentiel dans la cascade athérogène.

Les flavonoïdes ont la capacité d'inactiver et de stabiliser les radicaux libres grâce à leur groupe hydroxyle ( $\text{C}_3\text{-OH}$ ) hautement réactif. De plus, ils peuvent chélater les ions métalliques qui sont libérés par les protéines de fixation ou de transport, ces ions pouvant renforcer les effets délétères en générant des radicaux hydroxyles ( $\text{OH}\cdot$ ) (**Niyvel et al., 2001**).

En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogénèse. Ils ont également un effet inhibiteur sur l'angiogénèse, la prolifération cellulaire, ainsi qu'une influence sur le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales (**Riz & Evans, 2001**).

### IV.2. Propriétés antiallergiques

Les flavonoïdes sont réputés pour leurs propriétés antiallergiques (**Maglule et al., 1973**). Ils agissent en inhibant les enzymes responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles, à savoir l'AMPc phosphodiesterase et la  $\text{Ca}^{++}$  ATPase (**Kotomi et al., 2000**). La quercétine, en particulier, présente un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes (**Formica & Regl, 1995**).

### **IV.3. Propriétés anti-inflammatoire**

De plus, plusieurs flavonoïdes ont la capacité de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire *in vitro* (Delport *et al.*, 2005). Par exemple, la myricétine et la quercétine peuvent bloquer l'action de la cyclo-oxygénase et de la lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À des concentrations plus faibles, c'est la lipoxygénase qui est préférentiellement inhibée. Certaines études suggèrent que ces flavonoïdes présentent une bonne activité anti-inflammatoire sans les effets indésirables de type ulcérogène (Yongmoon, 2005). Par exemple, l'hespéridine administrée par voie sous-cutanée (en raison de son inactivité par voie orale) présente une activité anti-inflammatoire significative chez le rat dont l'œdème a été induit par la carragénine ou le dextran (Galati *et al.*, 1994).

### **IV.4. Autres effets biologiques**

Les flavonoïdes préviennent la cataracte diabétique par inhibition de l'aldose réductase du cristallin. En effet, la myricétine présente des effets hypoglycémiants et hypotriglycéridémiants chez les animaux (Ongk & Khoo, 2000). L'effet des flavonoïdes sur le système immunitaire est complexe et demeure encore mal élucidé (Middleton *et al.*, 1998). Certains d'entre eux réduisent l'activation du complément, diminuant de façon générale la réponse inflammatoire (Berrens *et al.*, 1997). À doses élevées, ils inhibent les fonctions lymphocytaires, mais, à concentrations plus faibles, ils 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 l'écorce de citron vert (*Citrus aurantiifolia*). Cette écorce est récoltée en Janvier 2023 sur les rochers de la cote de la région d'Achaacha, Wilaya de Mostaganem.



**Figure 01.** Arbre de citron vert. *C. aurantiifolia* (Photo prise par nous-mêmes).

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

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

La partie externe du citron vert est nettoyée. 50 g de zeste (épicarpe) est séché à l'étuve pendant 1h à 70°C, puis broyé en poudre à l'aide d'un mixeur, et conservé jusqu'aux jours d'extraction (**Figure 02**).



**Rincage et séchage du matériel végétal a l'étuve a 65C° Ecorce de citron vert broyé**

**Figure 02.** Les étapes de préparation de la matière Végétale (Photo prise au laboratoire).

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

L'objectif général de ce travail est de déterminer le contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux dans l'écorce de citron vert *C. aurantiifolia*. Ensuite mesurer le pouvoir antioxydant des composés phénoliques contenu dans l'extrait d'écorce de citron vert étudié.

## **III. Préparation de l'extrait hydro-méthanolique d'écorce de citron vert**

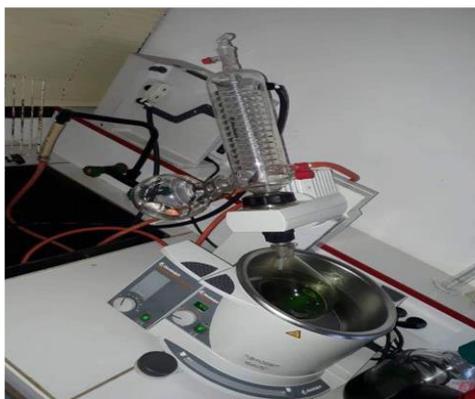
Après broyage et séchage l'écorce de citron vert étudié, 100 g du matériel végétale et soumis à une agitation pendant 30 minutes à température ambiante, dans 200 mL du mélange eau-méthanol (75-125 mL) pendant 1 heure. L'extrait ensuite filtrés sur papier Whatman N°05, puis concentrés au l'étuve. La solution récupérée est séchée dans l'étuve à 37°C pendant 72h, c'est l'extrait brut eau-méthanol pour écorce de citron vert *C.aurantiifolia*. (Karumi *et al.*, 2004). (Figure 03).



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



**Filtration de l'extrait sur papier Whatman.**

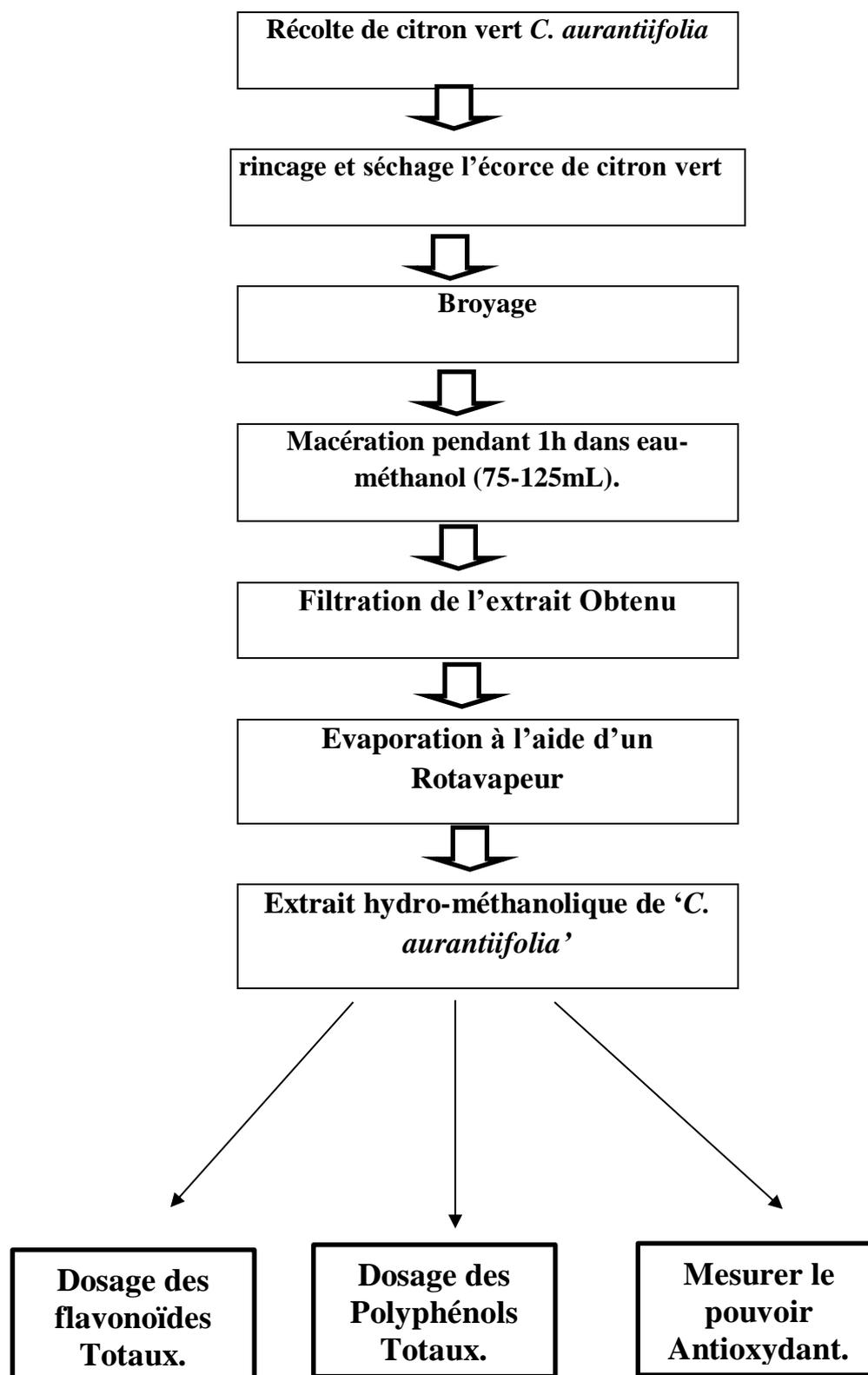


**Evaporation rotatif sur un Rotavapeur. L'extrait brut eau-méthanol d'écorce de citron vert.**



**Figure 03.** Les étapes de préparation d'extrait Brute hydro-méthanolique d'écorce de citron vert *C. aurantiifolia* (Photo prise au laboratoire).

Les étapes de l'expérimentation sont présentées dans **la Figure 04:**



**Figure 04.** 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 ( $\mu\text{g EA}/\text{mg d'extrait}$ ).

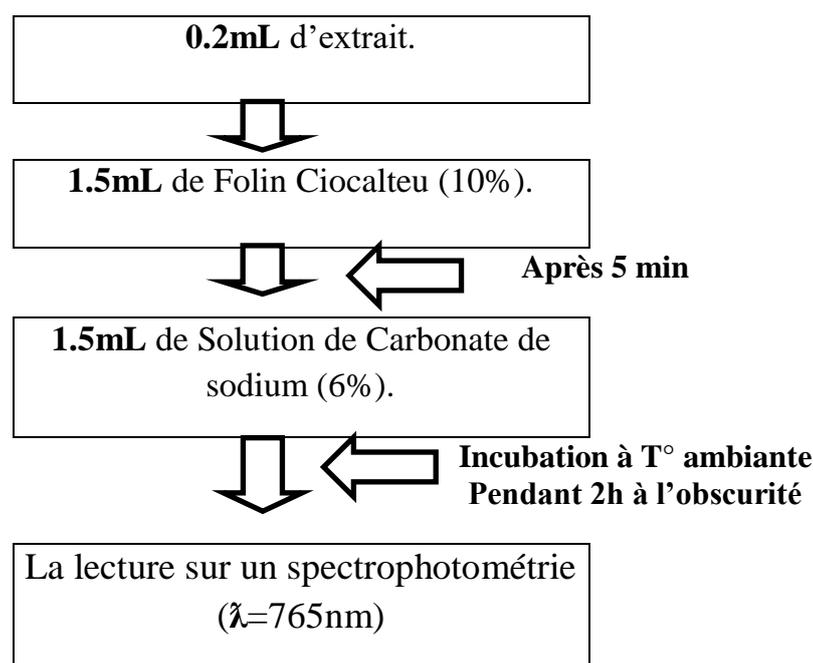
$$\text{Polyphénols} = \frac{\text{a} \cdot \text{f}}{\text{C}}$$

**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 5** :



**Figure 05.** 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).

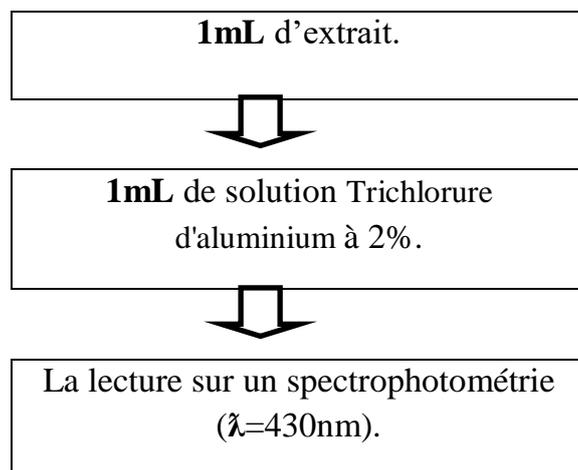
$$\text{Flavonoïdes} = a \cdot f/C$$

**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 6** :



**Figure 06.** Dosage de Flavonoïdes totaux (Ardestani & Yazdanparast, 2007).

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

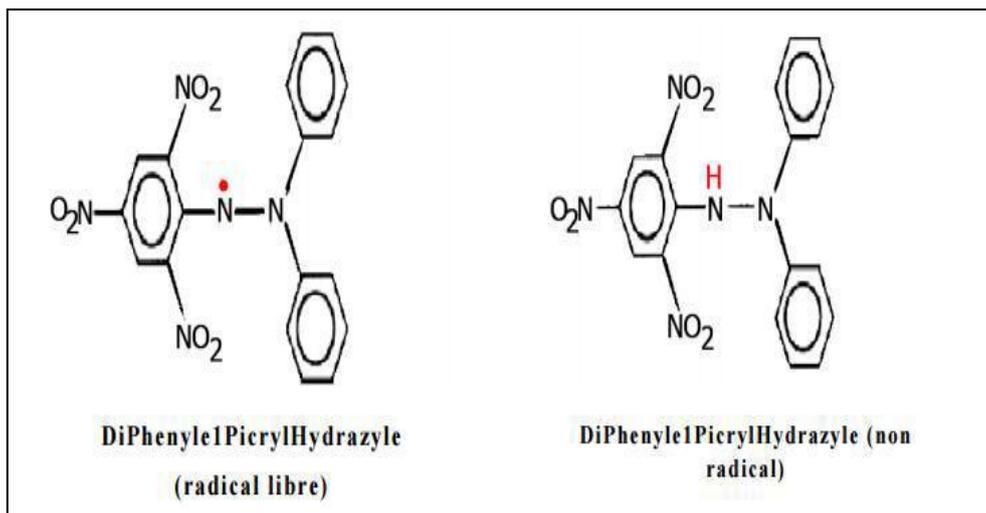
La courbe d'étalonnage est effectuée par Quercétine à différentes concentrations de 0.1 au 10  $\mu\text{g/L}$ , dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents de Quercétine par gramme de matière végétale fraîche.

## 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 07.** Structure Chimique de radical libre et non radical (Molyneux, 2004).

## VI. 2. Mode Opérateur

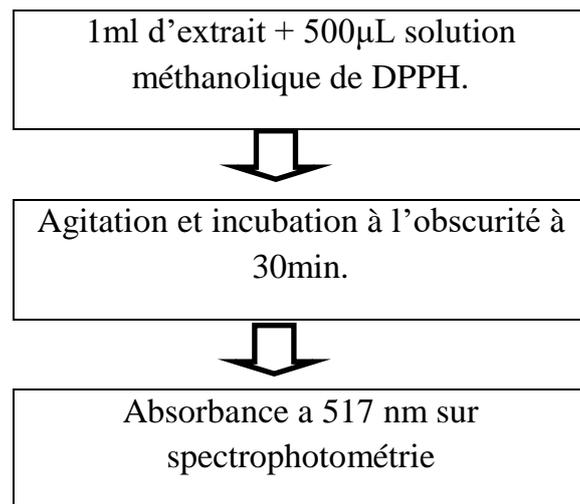
L'effet de l'extrait sur la réduction du DPPH a été réalisé selon le Protocole suivant (Benariba *et al.*, 2013).

### 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 notre 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 08).



**Figure 08.** Protocol de préparation de l'enchantions de test *DPPH* (Benariba *et al.*, 2013).

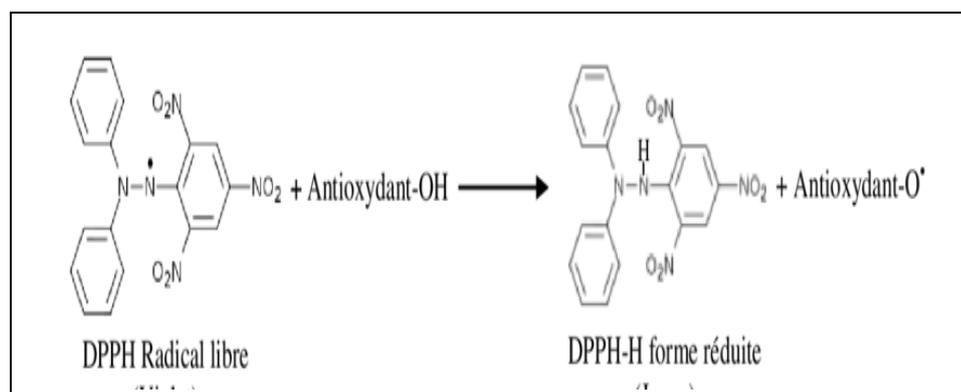
### Pourcentage D'inhibition du radical DPPH

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

**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 09)



**Figure 09.** 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 d'écorce de citron vert

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.

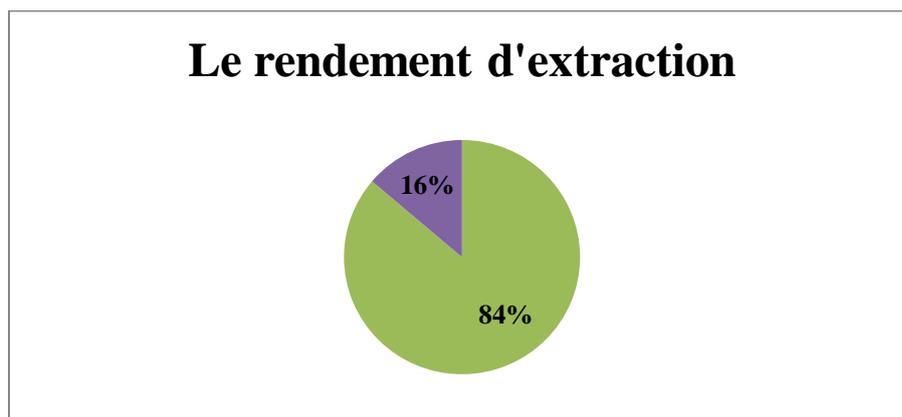
Donc :

**P1** : 228.1g

**P2** : 223.3 g

**P3** : 30 g

Nous avons calculé le rendement d'extraction et les résultats obtenus sont exprimés en **Figure 10** :



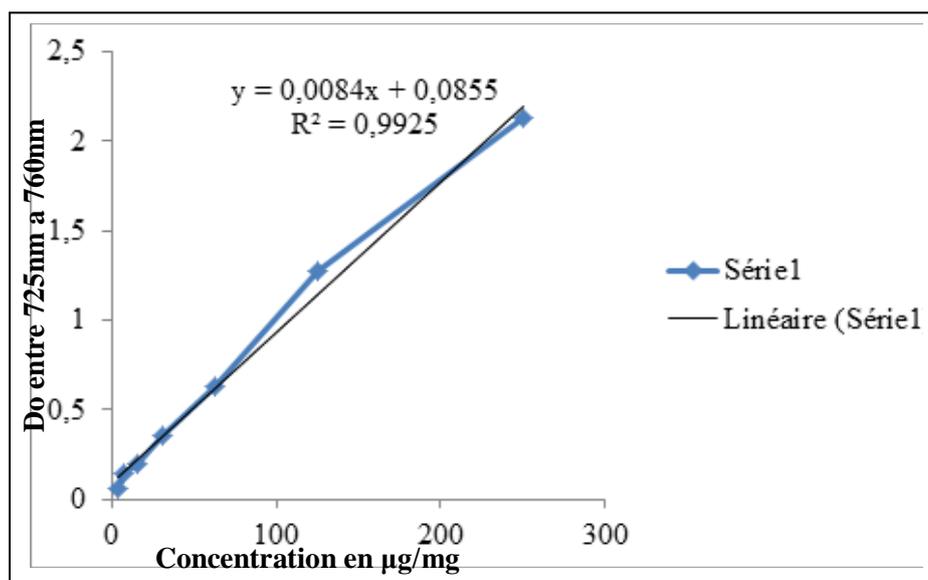
**Figure 10.** Rendement d'extraction d'écorce de citron vert *C. aurantiifolia*.

Le calcul de la teneur en rendement d'extraction est un processus qui repose sur plusieurs facteurs, notamment la température d'extraction, la quantité de matière végétale initiale utilisée et le taux d'humidité (Wattiaux, 1994). Selon Michel *et al.* (2012), le rendement de l'extraction est influencé par la nature du solvant utilisé ainsi que les propriétés chimiques des molécules à extraire. En outre, la méthode d'extraction utilisée (macération, décoction, infusion) joue un rôle important dans la détermination du rendement et de la composition chimique de l'extrait obtenu (Tefiani, 2015).

## I.2. Dosage des composés phénoliques

### I.2.1 Teneur en polyphénols totaux dans l'extrait d'écorce de citron vert *C. aurantiifolia*

La quantification de la teneur en polyphénols totaux dans l'extrait hydro-méthanolique a été réalisée en utilisant une équation de régression linéaire de la courbe standard, exprimée en  $\mu\text{g}$  équivalent acide gallique par mg d'extrait (voir **Figure 11**).



**Figure 11.** Courbe étalon de l'acide gallique.

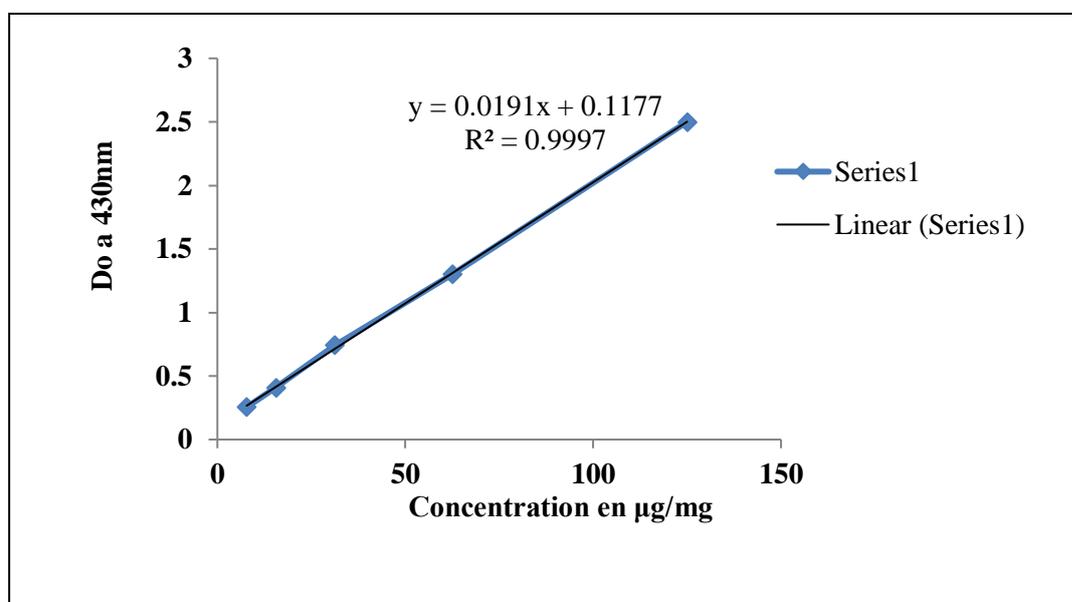
Les agrumes contiennent des composés phénoliques, dont les concentrations varient en fonction des variétés, du taux de maturation et des conditions de culture. Le dosage des polyphénols totaux permet d'obtenir une estimation globale des concentrations de composés phénoliques présents dans les extraits d'écorces d'agrumes. La méthode de Folin-Ciocalteu a été sélectionnée pour doser les polyphénols en raison de sa faisabilité et de sa reproductibilité, de la disponibilité du réactif de Folin, de l'absorption du chromophore à 760 nm qui permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon souvent colorée, ainsi que de la large utilisation de ce test dans les laboratoires de recherche d'antioxydants alimentaires à travers le monde (**Huang *et al.*, 2005**). En ce qui concerne notre étude, l'analyse des composés phénoliques a révélé une teneur en polyphénols totaux de **105,30** µg équivalent acide gallique par mg d'extrait (**Tableau III**).

Selon des études qui ont été faites, les écorces de citron vert présentent les teneurs les plus élevées en polyphénols, avec une valeur de  $124,63 \pm 0,52$  mg/100g, suivies du citron jaune ( $87,77 \pm 1,42$  mg/100g), de l'orange ( $79,75 \pm 1,25$  mg/100g), des pamplemousses et des mandarines. En comparant nos résultats à ceux de la littérature, nous observons que les teneurs en polyphénols de notre extrait d'écorce de citron vert sont inférieures de 1,2 fois à celles obtenues par **Rafaela *et al.* (2010)**.

Les teneurs en composés phénoliques, en particulier les polyphénols, varient considérablement d'une espèce à l'autre et au sein de la même espèce, en raison de facteurs extrinsèques tels que la température et le climat, des facteurs génétiques tels que la variété et l'origine des espèces, des facteurs physiologiques tels que le degré de maturation des fruits et des légumes, des organes utilisés pour l'extraction, et de la durée de stockage (**Maisuthisakul *et al.*, 2007; Ksouri *et al.*, 2009**).

## I.2.2 Taux de Flavonoïde totaux dans l'extrait d'écorce de citron vert

Les équations de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, exprimées en microgrammes par milligramme d'extrait, ont été établies pour la quantification de la quercétine (**Figure 12**).



**Figure 12.** Courbe étalon de Quercétine.

La quantification des flavonoïdes a été réalisée à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec de la quercétine. Les résultats obtenus indiquent une teneur en flavonoïdes de **22,31** microgrammes équivalent quercétine par milligramme d'extrait. Ces données concordent avec celles de précédentes études, qui ont montré que les flavonoïdes sont fortement abondants dans toutes les variétés d'agrumes. Selon **Gorinstein et al., (2012)** les écorces d'agrumes contiennent différents types de flavonoïdes.

**Tableau III.** Teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux dans l'extrait hydro-méthanolique d'écorce de citron vert

	Phénols totaux (µg EA/mg extrait)	Flavonoïdes (µg EQ/mg extrait)
Extrait hydro-methanolique d'écorce de <i>C. aurantiifolia</i>	<b>105.30 ±0.02</b>	<b>22.31±0.02</b>

Les résultats obtenus indiquent que *C. aurantiifolia* présente une teneur élevée en phénols totaux (**105,30±0.02**) microgrammes équivalent acide gallique par milligramme d'extrait) par rapport aux flavonoïdes totaux (**22,31±0.02**) microgrammes équivalent quercétine par milligramme d'extrait) (**Tableau III**).

La comparaison de ces résultats avec ceux de la littérature est complexe en raison de l'utilisation de différentes méthodes d'extraction, ce qui réduit la possibilité de comparaison entre les différentes études antérieures (**Trabelsi et al., 2010**). En conséquence, le méthanol demeure le solvant de prédilection pour l'extraction de ces composés, ce qui est étayé par plusieurs études antérieures (**Abdille et al., 2005**).

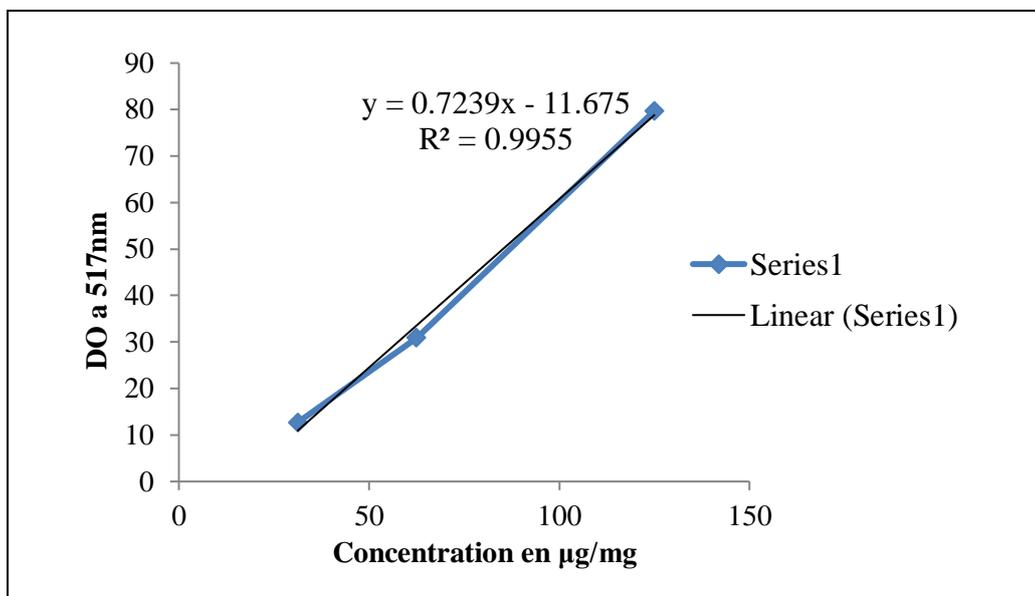
### **I.3. Evaluation du pouvoir antioxydant**

Pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait de citron vert *C. aurantiifolia*, le test de réduction du radical libre DPPH a été réalisé.

#### **I.3.1. Effet scavenger du radical 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 éthanolique, permettant une bonne solubilisation de la plupart des antioxydants. Bien que ce test soit rapide et facile, son coût peut être élevé.

La quantification de l'acide ascorbique dans l'écorce de citron vert "*C. aurantiifolia*" est effectuée par des dosages spectrophotométriques. La teneur en vitamine C est exprimée en microgrammes d'équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait et est représentée graphiquement dans la **figure 13**.



**Figure 13.** Courbe étalon d'acide ascorbique.

### I.3.2. Calcul des pourcentages d'inhibitions I%

Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'extrait méthanolique de citron vert *C. aurantiifolia* sont présentés dans graphiquement représentés dans la **figure 14**. Ces résultats sont ensuite comparés aux pourcentages d'inhibition obtenus avec un antioxydant puissant, l'acide ascorbique, utilisé comme témoin positif dans le cadre de cette étude (**Figure 14**).

Selon les données présentées dans la **figure 14**, le pourcentage d'inhibition de l'extrait hydro-méthanolique d'écorce de citron vert varie de **3,8%** à **69,8%**. Le pourcentage d'inhibition le plus élevé (**69,8%**) est observé avec une concentration de l'extrait hydro-méthanolique de **1000µg/mL**.

Nos résultats concordent avec celle obtenus par **Tefiani (2015)**, où un pourcentage d'inhibition maximal de 7% a été obtenu avec une concentration de 1 mg/ml, les valeurs obtenues dans notre étude sont donc très intéressantes.

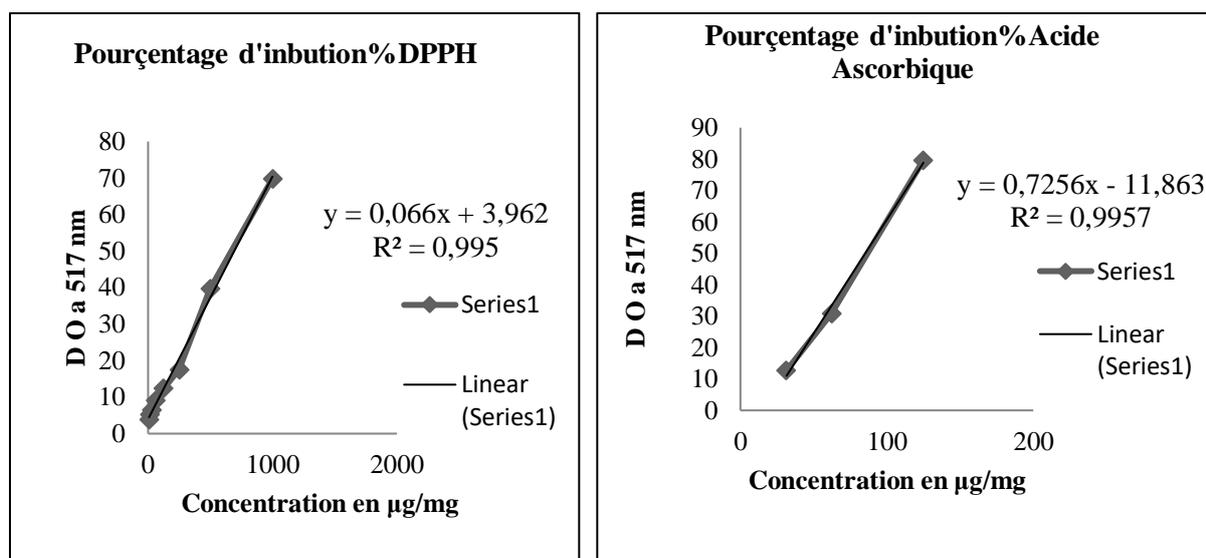
Nous calculons les pourcentages d'inhibition par la formule suivante :

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

**Ac** : Absorbance du contrôle négatif.

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

Les résultats sont représentés sur la Figure 14



**Figure 14 :** Effet antiradicalaire d'extrait hydro-méthanolique de l'écorce citron vert sur la réduction du DPPH et effet de l'acide ascorbique

### I.3.3 Evaluation de l'IC50

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée.

La concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, est calculée par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations d'extrait préparé.

La concentration de l'acide ascorbique qui inhibe 50% du DPPH (IC50) est évaluée graphiquement. L'acide ascorbique présente donc un faible (IC50), ce qui est en accord avec le pouvoir antiradicalaire élevé obtenu.

L'IC50 est déterminée à partir d'une courbe de pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH enregistrée dans cette étude est de (**667.24 ±0.04 µg /mL**), cette valeur reste nettement supérieur à celle de l'acide ascorbique (**85.19±0.07 µg/mL**).

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

	IC50
Acide Ascorbique	<b>85.19±0.07 µg/mg</b>
Extrait hydro methanolique decorce de <i>C. aurantiifolia</i>	<b>667.24 ±0.04 µg/mg</b>

## Conclusion Et Perspectives

---

Dans le cadre de cette étude, nous avons observé que l'extrait hydro-méthanolique de citron vert *Citrus aurantiifolia* présente une teneur élevée en polyphénols totaux, mesurée à **105,30±0.02** µg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait. Cette richesse en polyphénols est responsable de l'activité antioxydante significative de l'extrait, comme démontré par le test du DPPH (Radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

Les résultats de l'extraction de la matière végétale indiquent que l'extrait brut hydro-méthanolique de *C. aurantiifolia* a été récupéré avec un rendement de **6,5%**.

De plus, nous avons utilisé la méthode décrite par **Ardestani & Yazdanparast (2007)** pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait étudié, ce qui nous a permis de déterminer une teneur de **22,31±0.02** µg d'équivalent de quercétine par milligramme d'extrait.

La méthode d'extraction revêt une importance capitale dans la détermination du rendement et de la composition chimique des extraits préparés. Le rendement de l'extrait est influencé par le choix du solvant utilisé ainsi que par les propriétés chimiques des molécules à extraire (**Michel et al., 2012**).

L'étude du pouvoir antioxydant de l'extrait hydro-méthanolique d'écorce de citron vert *C. aurantiifolia* contribue à notre compréhension de sa composition chimique, de ses propriétés fonctionnelles et de ses utilisations potentielles dans les domaines de la nutrition, de la santé et de l'industrie alimentaire.

Il existe plusieurs perspectives de recherche à explorer afin d'approfondir ce travail :

- Identifier les composés spécifiques responsables de l'activité antioxydante dans l'écorce de citron vert. Cela permettra de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de l'activité antioxydante.
- Evaluer d'autres activités biologiques de l'écorce de citron vert. Cela peut inclure des études sur son potentiel anti-inflammatoire, antimicrobien, anticancéreux ou neuroprotecteur.
- Explorer les applications pratiques de l'écorce de citron vert en tant qu'ingrédient fonctionnel dans les aliments, les boissons ou les compléments alimentaires. Des études sur la stabilité des composés actifs lors du traitement et du stockage, ainsi que sur leur efficacité dans des formulations spécifiques, sont nécessaires pour optimiser leur utilisation.

En poursuivant ces perspectives de recherche, il sera possible d'approfondir notre compréhension des propriétés bénéfiques de l'écorce de citron vert et d'explorer ses applications potentielles en tant qu'agent thérapeutique ou additif alimentaire.

## ANNEXE

### I. MATERIEL ET PRODUITS CHIMIQUES

#### 1. Matériel de Laboratoire

- La Verrerie: tube à essai, bécher, flacon
- Spectrométrie
- Rota vapeur
- Etuve
- Spatule, micropipette, papier d'aluminium, papier filtre

#### 2. Les Produits Chimique et les solvants

- Réactive de Folin-Ciocalteu
- Carbonate de sodium
- Trichlorure d'aluminium
- Le DPPH
- Eau distillée
- Methanol

#### 3. Les standard Utilisés

- Acide gallique
- Quercétine
- Acide ascorbique

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

<b>Concentration µg/mg</b>	125	62.5	31.25	15.62	7.81
Absorbance nm	1.272	0.634	0.354	0.198	0.062

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

<b>Concentration µg/mg</b>	125	62.5	31.25	15.62	7.81
Absorbance nm	2.5	1.3	0.742	0.409	0.255

**Tableau VI.** Les pourcentages d'inhibition de l'extrait hydro- méthanolique (teste DPPH)

<b>Concentration DPPH µg/mg</b>	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81
Absorbance nm	0.27	0.55	0.75	0.80	0.83	0.85	0.87	0.88
I %	<b>69.82</b>	39.65	17.53	12.418	9.15	6.42	5.22	3.81

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

<b>Concentration µg/mg</b>	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81
Absorbance nm	0.02	0.31	0.33	0.17	0.59	0.131	0.95	0.89
I %	<b>96.61</b>	63.82	61.49	79.69	30.92	12.71	7.32	4.25

## Références

---

### *A*

- 1- Abdille MH, Singh RP, Jayaprakasha GK, Jena BS. (2005).** Activité antioxydante des extraits defruits de *Dillenia indica*. *Chimie alimentaire*, **90 (4)**, 891-896.
- 2- Abotaleb M, Samuel SM, Varghese E, Varghese S, Kubatka P, Liskova A, Büsselberg D. (2018).** Flavonoïdes dans le cancer et l'apoptose. *Cancers*, **11 (1)**, 28.
- 3- Abou Baker, Ibrahim AE, Salama ZA. (2022).** Les pelures d'agrumes comme source de composés bioactifs avec des applications industrielles et thérapeutiques. *Plant Biochemistry*.1-11.
- 4- Arous A. (2020).** Rôle des pucerons dans la propagation du virus de la Tristeza (CTV) responsable du dépérissement rapide desagrumes dans le moyen Chlef et identification des biotypes vecteurs des souches virulentes. Thèse de doctorat. Sciences agronomiques. Université Abdelhamid Ibn Badis. Mostaganem. **pp 207.**
- 5- Ardestani A, Yazdanparast R. (2018).** Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of *Achillea santolina* Extracts. *Food Chemistry*, **104 (1)**, 21-29.

### *B*

- 6- Barboni T, Chiaramoni N, Leoni E, Desjobert J.M, Santoni PA. (2010).** Analysis of smoke during prescribed fires. First international symposium on environment identities and Mediterranean area, Corte-Ajaccio, **46**, 2269-2286.
- 7- Bardeau F, 2009.** Les huiles essentielles. Édition LANORE, Paris, France. **P 85.**
- 8- Belajovà E., Suhaj M. (2004).** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits. *Food Chemistry*, **86**, 339-343.
- 9- Benariba N, Djaziri R, Bellakhdar W, Belkacem N, Kadiata M, Malaisse WJ, Sener A. (2013).** Phytochemical screening and free radical scavenging activity of *Citrullus colocynthis* seeds extracts. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. **3 (1)**, 35-40.

**10- Berrens L, de la Cuadra B, Gallego MT. (1997).** Complement inactivation by allergenic plant pollen extracts. *Life Sci*, **60 (17)**, 1497-1503.

**11- Boufedjikh H., Lacroix M., Mahrouz M., Amiot M.J. (2000).** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, **48**, 559-565.

**12- Bourkhiss M, Hnach M, Paolini J, Costa J, Farah A, Satrani B. (2010).** Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des huiles essentielles des différentes parties de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters du Maroc. *Bulletin de la Société royale des sciences de Liège*, **79**, 141 - 154.

**13- Burda S, Oleszek W. (2001).** Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*. **49 (6)**, 2774-2779.



**14- Caputo L, Cornara L, Bazzicalupo M, De Francesco C, De Feo V, Trombetta D, Smeriglio A, 2020.** Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Peels of Three Citrus Species. *Molecules*, **25 (8)**, 1890.



**15- Delporte C, Backhouse N, Erazo S. (2005).** Analgesic-antiinflammatory properties of *Proustia pyrifolia*. *Journal Ethnopharmacol*, **99 (1)**, 119-124.



**16- Edeas M, 2007.** Citroflavonoides. *Phytothérapie*. **5 (4)**, 210-211.



**17- FAO, 2007.** Rapport annuel de l'organisation des nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.

**18- Formica JV, Regelson W. (1995).** Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol*, **33** (12), 1061-1080.



**19- Galati EM, Monforte MT, Kirjavainen S. (1994).** Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid antiinflammatory and anal-gesic activity. *Drug. Food Chem*, **40** (11), 709-712.

**20- Gonçalves JLS, Leitão SG, Delle Monache F, Miranda MMFS, Santos MGM, Romanos MTV, Wigg MD. (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. *Phytomédecine* **8** (6), 477-480.

**21- Gorinstein S., Martin-Belloso O, Park S, Haruenkit B, Lojek A, Cíz A, Caspi I, Libman A., Trakhtenberg S. (2001).** Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits., *Food Chem*. **74**, 309-315.



**22- Han Y. (2005)** Ginkgo terpene component has an anti-inflammatory effect on *Candida albicans*-caused arthritic inflammation. *International immunopharmacology*, **5**(6), 1049-1056.

**23- Hedhili L. (2012).** Cell tension, matrix mechanics, and cancer development. *Cancer cell*, **8** (3), 175-176.



**24- Karumi Y. (2004).** Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract. *Journal of Medical Sciences*, **4 (3)**, 179-182.

**25- Khadri A, Serralheiro ML, Nogueira JMF, Neffati M., Smiti S, Araujo MEM. (2008).** Antioxidant and antiacetylcholinesteras activities of essential oils from *Cymbogon schoenanthus* L. *Food Chemistry*. **109 (3)**, 630-637.

**26- Khane I, Shah ZA, Saeed M, Shah HU. (2010).** Physicochemical analysis of citrus *sinensis*, citrus *reticulate* and citrus *paradise*. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*. **32 (6)**, 774-780.

**27- Kotani M, Matsumoto M, Fujita A, Higa S, Wang W, Suemura M, Kishimoto T, Tanaka T. (2000).** Persimmon leaf extract and astragalol inhibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. **106 (1)**, 159-166.

**28- Ksouri R, Falleh H, Megdiche W, Trabelsi N, Mhamdi B, Chaieb K, Bakrouf A, Magne C, Abdely C. (2009).** Antioxidant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte *Tamarix gallica* L. and related polyphenolic constituents. *Food and Chemical toxicology*. **47 (8)**, 2083-2091.

**29- Kyriakou V, Garagounis I, Vourros A, Vasileiou E, Stoukides M, 2020.** An electrochemical haber-bosch process. **4 (1)**, 142-158.



**30- Li HB , Cheng KW , Wong CC, Fan KW, Chen F, Jiang Y. (2007).** Évaluation de la capacité antioxydante et du contenu phénolique total de différentes fractions de microalgues sélectionnées. *Chimie alimentaire* **102 (3)**, 771-776.



- 31- Magalhaes LM, Segundo MA, Reis S, Reis S, Lima JLFC. (2008).** Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*. **613 (1)**, 1-19.
- 32- Magliulo E, Carosi PG, Minoli L, Gorini S. (1973).** Studies on the regenerative capacity of the liver in rats subjected to partial hepatectomy and treated with silymarin. *Drug Research* **23**.
- 33- Maisuthisakul P, Suttajit M, Pongsawatmanit R. (2007).** Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food chemistry* **100 (4)**, 1409-1418.
- 34- Mainate E. (2000).** Practical dictionary of dietetics; the golden rules of eating well. Edition Grancher. **527**, 306-311.
- 35- Michel T., Destandau E., Floch GL., 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(3)**. 754-760.
- 36- Middleton EJ. (1998).** Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory. *Flavonoïdes dans le système vivant*, 175-182.
- 37- Minato K., Miyake Y., Fukumoto D., Yamamoto S. (2003).** Lemon flavonoid, eriocitrin, suppresses exercise-induced oxidative damage in rat liver. *Life sciences*. **72**, 1609-1616.
- 38- Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal Science and Technology*, **26(2)**, 211-219.
- 39- Murat M. (2009).** Nutrition humaine et sécurité alimentaire, édition Tec&Doc collection BTSESF économie sociale familiale, 235-236.



**40- Nabavi ML, Russo D, Habtemariam S, Suntar I, Rastrelli L, Daglia M, Xiao J, Giampieri F, Battino M, Sobarzo-Sanchez E, Nabavi SF, Yousefi B, Jeandet P, Xu S, Shirooie S. (2020).** Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. *Biotechnology advances*. **38**, 107316.

**41- Nijveldt RJ, van Nood ELS, van Hoorn DEC, Boelens PG, Van Norren K, Van Leeuwen PAM. (2001).** Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*. **74 (4)**, 418-425.



**42- Ong KC, Khoo HE. (2000).** Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. *Life Sciences*. **67 (14)**, 1695-705.

**43- Ozsoy N, Can A, Yanardag R, Akev N. (2008).** Antioxidant activity of *Smilax excelsa* L. leaf extracts. *Food Chemistry*. **110**, 571-583.



**44- Parejo I, Viladomat F, Bastida J, Rosas-Romero A, Saavedra G, Murcia MA, Codina C, Jimenez AM. (2003).** Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. *Life Sciences*. **73(13)**, 1667-1681.

**45- Pincemail J, Degruneb F, Voussurec S, Malherbec C, Paquotd N, Defraigne JO. (2007).** Effect of a diet rich in fruits and vegetables on the plasmatic antioxidant rates and of the markers of the oxidative damage. *Nutrition Clinique et Metabolism*. **21(2)**, 66-75.

**46- Pruteanu LL, Bailey DB, Grădinaru AC, Jäntschi L. (2023).** The Biochemistry and Effectiveness of Antioxidants in Food, Fruits, and Marine Algae. *Antioxydants*. **12 (4)**, 860.



**47- Rafaela G, Lillian B, João C.M, Ana Maria C, Isabel C.F.R. (2010).** Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. *Food and Chemical Toxicology*. **48**, 99–10.

**48- Rafiq S, Kaul R, Sofi SA, Bashir N, Nazir F, Nayik GA, (2018).** Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, **17** (4), 351-358.

**49- Ramful D, Tarnus E, Okezie I, Aruoma O, Bourdon E, Bahorun T. (2011).** Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Research International*. **44**, 2088–2099.

**50- Rice-Evans C. (2001).** Antioxydants flavonoïdes. *Chimie médicinale actuelle*. **8** (7), 797-807.

**51- Rodriguez-Garcia, C., Sanchez-Quesada, C, Gaforio JJ. (2019).** Dietary flavonoids as cancer chemopreventive agents: an updated review of human studies. *Antioxidants*. **8**(5), 137

**52- Roudaut H, Lefrancq E. (2005).** *Alimentation théorique*. Editions Doin, France. **302**, 143-144.



**53- Samarth R.M., Panawar M.,Soni A., Kumar M, Kumar M, Kumar A. (2008).** Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extracts. *Food chemistry*. **106** (2), 868-873.

**54- Sampson L, Rimm E, Hollman PCH., De Vries M., Katan M. (2002).** Flavanol and Flavone Intake in US Health Professionals. *Journal of the American Dietetic Association.*, **102** (10), 1414-1420.

**55- Sanchez-Moreno C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*. **8** (3), 121-137.

- 56- Scarano, A., Chieppa, M., Santino, A. (2018).** Looking at flavonoid biodiversity in horticultural crops: a colored mine with nutritional benefits. *Plants*. **7 (4)**, 98.
- 57- Sharma OP, Bhat TK. (2009).** DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, **113(4)**, 1202-1205.
- 58- Singh B, Singh JP, Kaur A, Singh N. (2020).** Phenolic composition, antioxidant potential and health benefits of Citrus Peel. *Food Research International* **132**, 109-114.
- 59- Spencer JPE, Vauzour D. (2009).** Les effets des flavonoïdes sur la mémoire et l'apprentissage. *Food and Pharmacy*. **31(1)**, 85-88.
- 60- Swatsitang P, Tucker G., Robards K., Jardine K, 2000.** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits. *Analytica Chimica Acta*. **417**, 231-240.
- 61- Tanguy M., Begué-Simon AM. (2009).** Antioxydants Première partie : les antioxydants dans l'alimentation. *Médecine*. **5(6)**, 256-60.
- 62- 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).
- 63- Teigiserova, DA, Tiruta-Barna L, Ahmadi A, Hamelin L, Thomsen M. (2021).** A step closer to circular bioeconomy for citrus peel waste : A review of yields and technologies for sustainable management of essential oils. *Journal of Environmental Management*. **280**, 111-832.
- 64- Trabelsi K, Tour J, Soulié-Märsche I, Martín-Closas C, Soussi M, Colin JP. (2010).** implications paléoécologiques et paléobiogéographiques. *Annales de Paléontologie*. **96(3)**, 117-133.

*W*

**65- Wang HB, Yao H, Bao GH, Zhang HP, Qin GW. (2004).** Flavone glucosides with immunomodulatory activity from the leaves of *Pleioblastus amarus*. *Phytochemistry*. **65(7)**, 969-974.

**66- Wattiaux D. (1994).** Prediction of the electronic equipment during a pyrotechnic shock. In first International Symposium on Environmental Testing Engineering. **23**, 541-545.

**67- Whitman SC, Kurowsky EM, Manthey JA, Daugherty A. 2005.** Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits. *Atherosclerosis*. **178**, 25-32.



**68- Yadava RN, Tiwari L. (2005).** A potential antiviral flavone glycoside from the seeds of *Butea monosperma* O.Kuntze. *Journal of Asian natural products research*. **7(2)**, 185-188.

**69- Yongmoon H. (2005).** Ginkgo terpene component has an anti-inflammatory effect on *Candida albicans*-caused arthritic inflammation. *Int Immunopharmacol*. **5 (6)**, 1049-56