



DEPARTEMENT DE SCIENCES ALIMENTAIRES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Hamidi Fatima

Et

Limam Fadila

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité: Nutrition et Pathologies

THÈME

**ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET POUVOIR
ANTIOXYDANT DE
L'ECORCE D'ORANGE ET CITRON**

Soutenue publiquement le 11/09/2018

DEVANT LE JURY

Président	M. ZERROUKI	Grade	U. Mostaganem
Encadreur	M BELHOUCINE MANSOURIA	Grade	U. Mostaganem
Examineurs	M YAHLA	Grade	U. Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire LMBAFS

Année universitaire 2017/2018

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier le bon Dieu Allah a notre créateur le plus puissant de nos avoir donne les forces, la volonté et le courage, ainsi de nous avoir qu'ide vers le chemin de savoir afin d'accomplir ce travail modeste.

Nos profonds remerciements à notre promotrice madame **Belhoucin**

Pour ses encouragements, ces conseils, son aide tout au long de ce travail.

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nos ont fait en acceptant de siéger a notre soutenance :

M zerrouki

M yahla

Nous sincères remerciements s'adressent au responsable et à tout le personnel du laboratoire.

Nos remerciement vont également a tous les personnes qui ont contribue de près ou de loin a la réalisation de ce travail.

Dédicace

**Je dédis ce modeste travail à ma source de mon bonheur mes chers parent
Sans eux je n'est pas pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs
efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études.**

A mes adorables sœurs :

Fatima et INES que j'aime beaucoup

A mes chers frère : moussa et Ismail

Au quels je souhaite une très bonne continuation

Et réussite dans la vie

**A ma chère binôme Fatima, ma douce sœur qui a eu la patience de me
supporter durant ce mémoire et qui m'a encouragé pendant tous les
Moments je t'aime beaucoup ma chère Et tous mes amis sans aucune
exception.**

FADILA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents qui m'ont soutenu depuis toujours. C'est grâce à eux que je suis aujourd'hui au stade final de ma formation.

Mes frères Hamza ,youcef , auxquels je souhaite une très bonne continuité et réussite dans la vies.

Mes sœurs Assia ,chaima, que j'aime beaucoup.

Mon mari Nabil.

A ma chère binôme Fadila que j'aime

Mes amies proches, Toute la promotion de Nutrition et pathologie .

Tous ceux qui me sont chers.

FATIMA

sommaire

Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des tableaux

CHAPITRE I: SYNTHES BIBLIOGRAPHIQUE

I .Introduction générale :	2
I.1 Agrumes: composition chimique	4
I.1.2 Agrumes :	5
I .1.3 Données botaniques :	5
I.1.4 Production mondiale d'agrumes :	6
I.1.4 Importance de l'agrumiculture en Algérie :	6
I.1.5 Les zones de production :	7
I.2 Description morphologique et physiologique :	7
I.3. Composition chimique globale des écorces d'agrumes :	8
II.Propriétés fonctionnelles des composés non phénoliques des écorces d'agrumes et leurs utilisations :	13
II.1. Généralités sur les fruits étudiés :	15
II.2..EFFET THERAPEUTIQUE DES CITRUS :	19
II.3. LE SYSTEME ANTIOXYDANT DE CITRUS :	20
II.3.1 Composés phénoliques :	21
II.3.2.Classification	22
II.4..Propriétés anti-oxydantes :	28
II.5.ACTIVITES BIOLOGIQUES DES CITRUS :	29
II.5.1. ACTIVITE ANTIOXYDANTE	29
II.5.2 AUTRES PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES :	30
III.VALORISATION DES SOUS PRODUITS DE LA TRANSFORMATION DES FRUITS :	31

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

II. Matériel Végétal.	37
II.1. Collecte Des Echantillons.....	37
II.2. Séchage Et Broyage:.....	37
III.. EXTRACTION ET DOSAGE DES POLYPHENOLS	38
III.1. EXTRACTION	38
III.1.1. MACERATION	38
III. 2.DOSAGE DES ANTIOXYDANTS.....	39
III.2.2. DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUE	39
III.3. MESURE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	41
III.3.1. EVALUATION DU POUVOIR ANTIRADICALAIRE	41
Principe.....	43
Dosage	43

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III. Résultats et Discussion :.....	44
III.1. Le taux D'extraction :.....	44
III. 2. DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES TOTAUX :	45
II.2.1. Dosage des flavonoïdes :.....	47
III.3. Détermination du potentiel antioxydant des extraits végétaux :.....	48
III.3.1. Méthode de FRAP (ferric reducing antioxidant power) :	49
III.3.2 Evaluation de pouvoir anti radicalaire par le DPPH :.....	52

CONCLUSION GENERAL.....	57
--------------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	58
----------------------------------	----

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

Liste des abréviations

Aa : Acide ascorbique

Abs: Absorption

Ag: Acide gallique

ATC: Acide trichloracétique

AlCl₃: Trichlorure d'aluminium

C₂H₂NaO₂: acetate de sodium

C₂H₆O: ethanol

CH₃OH: methanol

DPPH : radical 1, 1-Diphényl-2 picrylhydrazyl

EAG/gMS : Equivalent d'Acide Gallique par gramme de Matière Sèche

EQ/gMS : Equivalent de Quercitine par gramme de Matière Sèche

FRAP : Ferric reducing-antioxidant power

FCR : folin ciocalteu

FeCl₃ : chlorrure ferrique

IC₅₀ : Concentration Inhibitrice 50

K 3Fe (CN) : ferricyanure de potassium

ML : millilitre

Min : minute

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

Nm : nanomètre

PI% : Pourcentage d'Inhibition

qc: quercétrine

R: rendement

RL : Radicaux Libres

TCA: Acide trichloroacétique

TP : tampon phosphate

UV : Ultraviolet

µg : Microgramme

% : pourcentage

Listes de figures

Figure 1 :schéma détaillant la structure du péricarpe de l'orange (D'après Huet, 1991).	6
Figure 2:Feuilles, fleurs et fruits d'oranger	15
Figure 3:Feuilles, fleurs et fruits de citron.	17
.Figure 4:structure du phénol.	20
Figure 5:structures chimiques des acides phénoliques.	21
Figure 6 : structure de base des flavonoides (Ghedira,2005).	22
Figure 7:structure chimique des tannins condensés (a)et des tannins hydrolysables(b).	25
Figure 8:structure de l'acide ascorbique (Vertuani,2004)	26
Figure 9 :Mécanisme d'oxydation de l'acide ascorbique (Steinberg et Rucker,2013).	28
Figure 10 :étuve laboratoire	37
Figure 11:extraction par macération.	38
Figure 12:structure chimique du radical libre DPPH (Provici Et AL.,2009)	41
Figure13:réduction du radical DPPH.	42
Figure14:Taux d'extraction des polyphénols des deux échantillons de citrus.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 15:teneur en phénols totaux dans les deux extraits d'orange et de citron .	Erreur ! Signet non défini.
Figure 16:teneurs en flavonoïdes dans les parties de citron et d'orange.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 17:pouvoir réducteur des deux extraits des écorces et l'acides ascorbique.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 18: pouvoir réducteur des deux extraits.	Erreur ! Signet non défini.
.Figure 19: Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50% du fer des différents extraits en mg/ml	Erreur ! Signet non défini.
Figure 20:pouvoir réducteur DPPH des deux extraits et l'acide ascorbique.	Erreur ! Signet non défini.
Figure 21:pouvoir réducteur du DPPH des deux extrais	Erreur ! Signet non défini.
Figure 22:Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50%de DPPH des différents extraits en mg/ml.	Erreur ! Signet non défini.

Listes des tableaux

Tableau 01:composition chimique globale des écorces de différentes variétés d'agrumes (g/100gbs).	7
.Tableau 02:composition en caroténoïdes des écorces d'agrumes (Um/gbs)	10
Tableau 03:composition en fibres des écorces d'agrumes.	11
Tableau 04:composition en minéraux des écorces d'agrumes.	12
Tableau 05:principaux composés de l'orange	15
Tableau 06:composition biochimique moyenne du citron.	18
Tableau 07:structure chimique de certains flavonoïdes représentatifs de chaque classe.	23
Tableau 08:les résultats des IC50 pour le test de FRAP	50
Tableau 09:le résultat des IC50 pour le test DPPH.	54

Résumé

Les citrus comme d'autres fruits et légumes sont une source importante de différents antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes, acide ascorbique.....ect) ces composés ont des effets bénéfiques sur la santé humaine car ils possèdent de nombreuses activités biologiques comme l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne.....ect, ce qui protège et inhibe les effets néfastes des radicaux libres sur l'organisme humain.

Des extraits éthanoliques des écorces de citrus limon et de citrus sinensis ont été testés pour leurs activités antioxydantes. Les composés phénoliques (polyphénols totaux et les flavonoïdes) extraits par le solvant d'extraction (éthanol) présentent des variations selon l'extrait et la variété, l'évaluation du pouvoir antioxydant in vitro a révélé des capacités antioxydantes chez tous les extraits.

Pour cela plusieurs méthodes d'extractions ont été utilisées

La première partie de cette étude concerne l'extraction et la quantification des phénols totaux, des flavonoïdes par le réactif du folin - ciocalteu, par le trichlorure d'aluminium.

La deuxième partie est l'étude de l'activité antioxydante des extraits de plantes en utilisant ainsi des techniques :

Piégeage du radical DPPH, pouvoir anti radicalaire du fer FRAP.

Les résultats obtenus ont été très significatifs la corrélation entre l'activité anti-oxydante et la teneur en composés phénoliques totaux a été également investiguée.

Les résultats aux quels nous avons abouti ont montré que :

- ✓ La teneur en polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques montre des résultats différents qui sont de 83,5 ; 91,33mg GAE/g ES, correspondant aux extraits suivants respectivement : écorce d'orange, écorce de citron.
- ✓ nous avons observé que l'écorce de citron a plus de quantité de flavonoïde de 246,25mg/ml, suivie de l'écorce d'orange de 81, 375 mg/ml.
- ✓ l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique et des deux extraits des écorces d'agrumes.
- ✓ Tous nos extraits présentent des activités antioxydantes nettement inférieures à celle de la référence (acide ascorbique), pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 0,063 mg/ml.

Mots-Clés : Citrus, polyphénols, activité antioxydante, DPPH ,FRAP

Abstract: Citrus as other fruit and vegetables are an important source of various antioxydants (polyphénols, caritenoids, ascorbic...etc) these compounds have beneficial effects on human health because they have many biological activities such as antioxidant activity, anti-inflammatory, antibacterial ect, which protects and inhibits the harmful effects of free radicals on the human body.

Ethanollic extracts of citrus limon bark and citrus sinensis were tested for their antioxidant activities. The phenolic compounds (total poly phenols and flavonoids) extracted with the extraction solvent (ethanol) showed variations according to the extract and variety, in vitro antioxidant potency assessment revealed antioxidant abilities in all extracts.

For this, several extraction methods have been used

The first part of this study concerns the extraction and quantification of total phenols, flavonoids by the folin - ciocalteu reagent, and aluminum trichloride.

The second part is the study of the antioxidant activity of plant extracts using techniques such as:

Trapping of the radical DPPH, anti-radical power of FRAP iron.

The results obtained were very significant and the correlation between the antioxidant activity and the content of total phenol compounds was also investigated.

The results we achieved showed that:

- ✓ The total polyphenol content in the ethanolic extracts shows different results which are 83.5; 91.33mg GAE / g ES, corresponding to the following extracts respectively: orange peel, lemon peel.
- ✓ we observed that lemon peel has more flavonoid amount of 246,25mg / ml, followed by orange peel of 81,375 mg / ml.
- ✓ the increase in iron reduction is proportional with the increase in the concentration of ascorbic acid and the two extracts of citrus peel.
- ✓ All our extracts have significantly lower antioxidant activity than the reference (ascorbic acid), for the latter the reduction is almost total from a concentration of 0.063 mg / ml.

Keywords: Citrus, polyphenols, antioxidant activity, DPPH, FRAP.

ملخص:

الحمضيات مثل الفواكه والخضروات وغيرها مصدرا هاما لمختلف المواد المضادة للأكسدة (المركبات الفينولية، فلافونيدات وحمض الاسكوربيك....الخ)

هذه المركبات لها آثار مفيدة على صحة الإنسان لأن لديهم العديد من الأنشطة البيولوجية مثل النشاط مضاد للأكسدة ، مضاد للالتهابات ، مضاد للجراثيم إلخ ، والذي يحمي ويثبط الآثار الضارة للجذور الحرة على جسم الإنسان

تم اختبار مستخلصات الإيثانول من الطمي قشور الحمضيات والموالح صينية للأنشطة المضادة للأكسدة. ومركبات الفينول (الفينولات الكلية وفلافونيدات بولي) المستخرجة من مذيب استخراجه (الإيثانول) تظهر الاختلافات وفقا لاستخراج و متنوعة ، في تقييم فعالية مضادات الأكسدة في المختبر وكشفت قدرات مضادات الأكسدة في جميع المقطعات

لهذا ، تم استخدام العديد من طرق الاستخلاص:

يتعلق الجزء الأول من هذه الدراسة باستخراج وتقدير الكميات الكاملة من مركبات الفينول ، وفلافونيدات بواسطة كاشف ، وثلاثي كلوريد الألومنيوم folin - ciocalteu.

الجزء الثاني هو دراسة نشاط مضادات الأكسدة للمستخلصات النباتية باستخدام تقنيات مثل:

محاصرة من النتائج التي تم الحصول عليها كانت كبيرة جدا وتم أيضا دراسة العلاقة بين النشاط المضاد للأكسدة ومحتوى FRAP. الراديكالي ، والقوة المضادة للفطريات من الحديد DPPH مركبات الفينول الكلية.

أظهرت النتائج التي حققناها ما يلي:

، تقابل mg GAE / g ES يظهر محتوى البولي فينول الكلي في المقطعات الإيثانولية نتائج مختلفة هي 83.5 ؛ 91.33 المقطعات التالية على التوالي: قشر البرتقال وقشر الليمون لاحظنا أن قشر الليمون يحتوي على كمية أكبر من الفلافونويد 246،25 ملغ / مل ، يليه قشر البرتقال 81،375 ملغ / مل.

الزيادة في الحد من الحديد تتناسب مع الزيادة في تركيز حامض الاسكوربيك واثنين من مقطعات قشر الحمضيات

جميع مستخلصاتنا لها نشاط مضاد للأكسدة أقل بكثير من المرجع (حمض الأسكوربيك) ، وبالنسبة للأخير ، فإن الاختزال ..يكاد يكون كليا من تركيز 0.063 ملغ / مل.

الكلمات المفتاحية:

FRAP ، DPPH ، الحمضيات ، البولي فينول ، النشاط المضاد للأكسدة ،

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I .Introduction générale :

Les agrumes sont les fruits dont la production est la deuxième plus importante au monde avec plus de 115 millions de tonnes par an, 517milles tonnes ont été produits en Algérie qui occupe la 18^{ème} place mondiale (FAO, 2013).

Les écorces d'oranges constituent un gisement riche en ingrédients nutritionnels (eau, protéines, sucres et minéraux)et en ingrédients fonctionnels (huiles essentielles, fibres, caroténoïdes, vitamine c, composés phénoliques) toutefois, la voie de la valorisation industrielle la plus répandue demeure l'extraction des essences et des huiles essentielles qui peuvent être utilisées comme une alternative aux fongicides synthétiques(Tian Et Al., 2001 ; Fisher & Phillips 2006 ; Singh Et Al., 2010), pour les utiliser dans la formulation des aliments diététiques mais aussi l'incorporation directe des écorces dans la filière de production des confiseries (bonbons, confiture....) (BOCCO Et Al., 1998). Les coproduits d'agrumes peuvent être aussi utilisés en tant qu'aliment pour bétails (Bampidis & Robinson 2006). Les écorces d'agrumes sont aussi utilisés dans la production des biocarburants (éthanol) et des biogaz (Wilkins Et Al.,2007 ; Pourbafrani Et Al., 2010 ; Lohrasbi Et Al 2010) ainsi que la production du plastique biodégradable (BYRNE Et Al., 2004) et comme inhibiteur de la corrosion des métaux et des alliages (Saleh Et Al., 1982 ; Da Rocha Et Al., 2010).

Les écorces d'agrumes sont riches en composés phénoliques, essentiellement des flavonoïdes et des acides phénoliques. Les flavonoïdes des écorces d'agrumes sont caractérisés par leurs activités anti-oxydantes, thérapeutique, antivirale, antifongique et antibactérienne (Bocco Et Al., 1998 ; Ma Et Al., 2009 ; Huang Et Al., 2010).

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 (Ramphul Et Al.,2010).

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

De nombreux travaux réalisés sur différentes espèces de citrus ont montré qu'elles contenaient en majorité des composés phénoliques ayant un fort potentiel antioxydant corroborant leurs usages traditionnels .Parmi toutes ces espèces, l'orange et le citron sont populaires par leur richesse en vitamine c et en quantités considérables de composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les caroténoïdes **(Del Rio Et Al., 2004)**.

Les polyphénols constituent une famille de molécules très répandues dans le règne végétal, on les trouve dans les plantes depuis les racines jusqu'aux fruits, sont des métabolites secondaires ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction **(Fleuriet, 1982 Et Yusuf, 2006)**.

Il existe différentes classes de polyphénols notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes les tanins, les stilbenes, les lignines, les saponines et les phytotrons ; les plus importants sont les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins **(Cheynier Et Al., 2005)**.

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, ils sont particulièrement présents dans l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits et donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or, ils sont stockés sous forme libre ou conjuguée mais leur localisation cellulaire est encore incertaine, bien que certains résultats favorisent le stockage dans la vacuole et/ou dans le réticulum endoplasmique **(Lil Et Al., 2008)**.

En effet, les flavonoïdes possèdent non seulement des propriétés antioxydantes mais aussi anticancéreuses, antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires et antiallergiques expliquant de ce fait leur intérêt thérapeutique, ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes **(Korkina Et Afanas'ev 1997)**.

C'est dans ce contexte, que notre travail de mémoire s'inscrit visant à étudier les composés phénoliques des fruits de ces 2 espèces de citrus, et de tester leur pouvoir antioxydant.

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique comportant une partie consacrée à la présentation de données générales sur les agrumes, une autre partie présentant l'activité antioxydante.

Le deuxième chapitre comporte la partie expérimentale, qui consiste en l'extraction éthanolique et le dosage des composés phénoliques dont les polyphénols totaux et les flavonoïdes, ainsi que l'évaluation *in vitro* de l'activité anti-oxydante par les tests anti-radicalaire (DPPH et FRAP).

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Le troisième chapitre comprend les résultats obtenus ainsi que leur discussion suivie d'une conclusion générale.

I.1 Agrumes: composition chimique

L'agrumiculture constitue le plus grand secteur de production de fruits dans le monde, avec plus de 89 millions de tonnes produites durant l'année 2014 (USDA, 2014), plus que le tiers de cette production est transformé industriellement en jus. La quantité correspondante aux déchets industriels d'agrumes est estimée à 15×10⁶ tonnes (Marin *et al.*2007). Le coproduit de la transformation industrielle des agrumes est constitué essentiellement des écorces d'agrumes et de résidus de graines (**Bocco Et Al.,1998**). Les écorces d'agrumes sont l'association du flavédo qui est la surface périphérique du fruit coloré par des pigments caroténoïdes et de l'albédo qui est la couche intérieure blanchâtre du fruit (**Huet, 1991; Ramful Et Al., 2010**).

Les écorces d'agrumes sont une matrice hautement valorisable vue sa richesse en ingrédients fonctionnels (huiles essentielles, fibres, caroténoïdes, vitamine C, composés phénoliques) ayant des applications très variées dans les industries agroalimentaires, cosmétique, nutraceutique et dans les industries de production de biocarburant et de matériaux biodégradables (**Ledesma-Escobar & Luque De Castro, 2014**). Les écorces d'agrumes représentent un gisement important de composés phénoliques, essentiellement des flavonoïdes et des acides phénoliques. Les flavonoïdes présents dans les agrumes sont les flavanones glycosylés et les flavones polyméthoxylés (**Mouly, 1994; Kawaii Et Al.,1999; Manthey & Grohmann, 2001**). Les flavonoïdes des écorces d'agrumes sont caractérisés par leur activité antioxydante, thérapeutique, antivirale, antifongique et antibactérienne (**Bocco et al.,1998 ; Ma et al.,2009; Huang et al.,2010**).

L'objectif principal de ce premier chapitre est de présenter la composition chimique globale des écorces d'agrumes, leurs composés phénoliques caractéristiques ainsi que leurs propriétés fonctionnelles et leurs domaines d'utilisation.

I.1.2 Agrumes :

DEFINITION :

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les agrumes sont des petits arbres ou arbustes, dont la taille peut varier de 2 à 10 mètres de haut suivant les espèces. Leur frondaison est généralement dense et leurs feuilles sont persistantes, à l'exception des *Poncirus*. Leurs fruits et toutes les parties de l'arbre (écorce, feuilles, branches, et fleurs) contiennent des glandes à essence.

La peau du fruit est une écorce (péricarpe) composée de deux couches concentriques. La couche superficielle, rugueuse et résistante, de couleur vive souvent jaune orange sous l'action des flavonoïdes, est nommée épicarpe ou flavedo ou encore zeste en terme culinaire. La couche interne, blanche et spongieuse, est le mésocarpe ou albédo.

La pulpe est composée de quartiers juteux contenant les pépins. Elle est riche en vitamine C. Ce sont des fruits non-climactériques qui doivent être récoltés à maturité. Ils sont résistants au transport et à la conservation. Si les fruits sont assez aisés à différencier sur le plan culinaire, la distinction des espèces botaniques est en revanche complexes, car les différentes espèces s'hybrident très facilement et sont difficiles à fixer. Le genre *Citrus* ne contiendrait finalement pas plus de onze espèces (**Bénédict et Michel, 2011**).

I.1.3 Données botaniques :

Le groupe des agrumes appartient à la famille des Rutaceae, sous famille des Aurantioideae, tribu des Citreae et sous tribu des Citrinae (**Praloran 1971**).

Les agrumes se répartissent en plusieurs genres. *Poncirus*, *Fortunella* et *Citrus* sont les trois genres les plus cultivés à travers le monde. Le genre *Poncirus* ne renferme qu'une seule espèce le *Poncirus trifoliata*. Cette espèce est essentiellement utilisée en agrumiculture comme porte greffe car ses fruits ne sont pas comestibles. Le genre *Fortunella* comprend six espèces dont deux seulement font l'objet d'une culture dans le Monde. Il s'agit de *Fortunella japonica* et *Fortunella Margarita*. Le genre *Citrus* est le plus important. C'est au sein de ce genre que se rencontrent les principales espèces cultivées: les oranges (*Citrus sinensis*); les mandarines (*Citrus reticulata*); les clémentines (*Citrus clémentina*); les citronniers (*Citrus limon*); et les pomelos (*Citrus paradis*).

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.4 Production mondiale d'agrumes :

La production mondiale d'agrumes se situe autour de 89 millions de tonnes (MT), dont 73% de la production sont consommés en frais, 26% sont destinés à la transformation et 9% à l'exportation. Cette production est répartie en plusieurs variétés d'agrumes dans laquelle l'orange représente 57%, la mandarine 30%, le pamplemousse 7% et le citron et la lime 6%(USDA, 2014). Avec une production de 17,34 MT, le Brésil est le premier producteur d'oranges dans le monde. Il assure 34% de la production mondiale, suivi par la Chine (7,6MT), les Etats-Unis (6,29 MT) et l'Union Européenne (6,07 MT).

Dans la région Méditerranéenne, 22,5 MT d'agrumes sont produites par les 12 pays membres du Comité de Liaison des Agrumes Méditerranéens (CLAM) dont l'Espagne, le Maroc, la Turquie, l'Italie, l'Egypte, la Grèce et la Tunisie (USDA, 2014).

I.1.4 Importance de l'agrumiculture en Algérie :

Selon **Aouane et Ghezli** (2001), à l'instar de l'arboriculture fruitière, l'agrumiculture occupe une place primordiale et constitue l'une des préoccupations majeures des décideurs au niveau du ministère de l'agriculture algérien. Le programme de reconversion mis en œuvre vise à réinstaurer l'agrumiculture dans des zones de prédilection à travers une démarche d'adaptation des systèmes de production aux vocations pédoclimatiques de chaque zone. La culture commerciale des Citrus est localisée dans les zones irrigables, dans la partie Nord du pays où elle trouve la température clémente qui assure sa réussite (**Rebour, 1948**). En effet, le verger agrumicole se localise essentiellement dans la plaine de la Mitidja en raison de son exigence en eau et qualité de sol (**Karboa, 2001**). L'INRAA en 2006 a rapporté que l'Algérie détient une collection variétale composée de 227 variétés d'agrumes. Cette richesse arboricole constitue un patrimoine génétique inestimable (**Karboa, 2001**).

I.1.5 Les zones de production :

La culture des Citrus est localisée essentiellement dans les zones irrigables de la partie Nord du pays, où elle trouve la température clémente qui assure sa réussite. La plaine de la Mitidja de la

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

région centre du pays est la zone potentielle en agrumiculture, elle couvre une surface de : 36 219 ha en 2013 ce qui représente environ 56,4% de la superficie agrumicole totale.

I.2 Description morphologique et physiologique :

Les fruits des principales espèces et variétés cultivées du genre *Citrus* diffèrent par leur coloration, leur forme, leur calibre, la composition de leur jus et leur époque de maturité.

Cependant, tous les fruits des *Citrus* cultivés présentent la même structure anatomique présentée dans la **figure 1 (Ramful Et Al., 2010)**.

D'un point de vue botanique, les agrumes sont des fruits charnus de type baie avec un péricarpe structuré en trois parties bien différenciées : l'épicarpe appelé flavédo, le mésocarpe appelé albédo et l'endocarpe (pulpe).

L'épicarpe est la surface périphérique du fruit. Il est coloré par des pigments caroténoïdes être présente 8 à 10% du fruit. Il contient de nombreuses glandes sécrétrices d'essences aromatiques qui sont réparties de façon irrégulière.

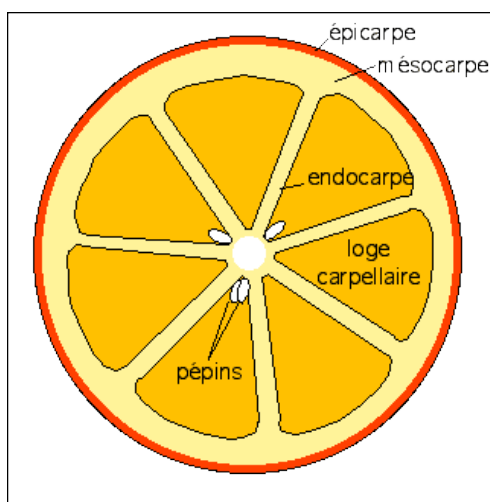


Figure 1 : Schéma détaillant la structure du péricarpe de l'orange (D'après Huet, 1991).

Ces glandes sont des poches bordées par plusieurs assises de cellules sécrétrices dont la formation fait intervenir des cellules épidermiques et des nodules méristématiques

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Superficiels. Le mésocarpe est la couche intérieure blanchâtre, de structure spongieuse, plus ou moins épaisse par rapport à la taille du fruit, elle peut constituer 12 à 30% du fruit. Elle est intimement associée à l'épicarpe avec lequel elle forme ce qu'il est convenu d'appeler les écorces d'agrumes. L'endocarpe est la partie comestible d'agrumes. Il est constitué d'une fine membrane qui tapisse les nombreuses loges carpellaires. Du côté interne, cette membrane porte des poils succulents dont l'ensemble forme la partie comestible ou pulpe renfermant les graines ou pépins (**Huet, 1991; Albagnac, 2002 ; Bennici Et Al., 2004 ; Ramful Et Al., 2010**)

I.3. Composition chimique globale des écorces d'agrumes :

La composition chimique des écorces d'agrumes est sujette à des variations sous l'influence de divers facteurs et notamment la variété. De plus, dans une même variété, la teneur en divers composés dépend des facteurs climatiques et environnementaux. La composition chimique globale des écorces d'agrumes des principales variétés comestibles, exprimée en g pour 100g base sèche (bs). (**Tableau 1**)

Les écorces d'agrumes présentent des teneurs élevées en eau (variant de 2,97-3,79 g/g bs), soit 60% à 75% en base humide) et en sucres solubles (6,52-47,81 g/100g bs). De ce fait, c'est un coproduit hautement périssable qui fermente et présente un développement des moisissures (**Ferhat Et Al., 2011; Kammoun Et Al., 2011**). De plus, ce coproduit est riche en protéines (1,79-9,06 g/100g bs) et en minéraux (2,52-10,03 g/100 bs) alors que les lipides sont très peu abondants (de 0,48 jusqu'à 4 g/100g bs).

Les écorces sont particulièrement riches en composés digestibles et offrent de nombreuses possibilités d'utilisation pour l'alimentation fonctionnelle humaine et animale ainsi qu'en tant que complément alimentaire (**Bampidis & Robinson, 2006**). L'utilisation des écorces fraîche en alimentation pour bétail est limitée à cause des maladies que peut provoquer la consommation de ce produit (mycotoxicose, para kératose du rumen) (**Duoss-Jennings et al. 2013**). Les écorces d'agrumes sont une source importante d'essences odorantes et d'huile essentielles de 0,6 à 1% (**Oreopoulou Et Al., 2007; Yeoh Et Al., 2008 ; Hosni Et Al. 2010 ; Farhat Et Al., 2011**). Les écorces contiennent aussi des pigments, essentiellement des caroténoïdes (0,01-0,20 g/100g bs) mais aussi des anthocyanes (dans le cas des oranges Sanguines).

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 1. *Composition chimique globale des écorces de différentes variétés d'agrumes (g/100g bs).*

Variété de citrus	Orange	Mandarine	Citron	Pamplemousse
Eau	2,97 _a -3,14 _b	3,79 _b	3,01 _b	-
Lipides	0,95 _a 1,66 _b 4,00 _c	1,57 _c 2,97 _b -	0,48 _b 1,51 _c 1,89 _d	-
Protéines	1,79 _b 2,67 _e 7,90 _f 8,01 _a 9,06 _c	2,16 _e 7,33 _c 8,55 _b - -	5,87 _b 6,79 _d 7,88 _g - -	-
Glucides	15,01 _b 46,60 _a 47,81 _c	8,50 _c 18,27 _b -	6,52 _c 13,77 _g 14,89 _b	-
Minéraux	2,56 _c 3,31 _a 3,45 _b 4,24 _e	3,96 _b 4,06 _e 10,03 _c -	2,52 _c 4,68 _b - -	-
Fibres	6,30 _c 13,38 _e 13,90 _h 41,64 _b 42,13 _a	7,14 _e 27,89 _b - - -	14,00 _h - - - -	82,69 _j - - - -

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Caroténoïdes totaux	0,04 _k	0,20 _k	0,01 _k	-
Phénols totaux	0,67 _e 0,96 _i 1,13 _a 1,89 _b 2,51 _i 3,94 _m 7,30 _n 16,03 _o 19,62 _p	0,78 _e 2,91 _b 17,21 _o - - - - - -	2,45 _b 4,40 _n 13,01 _o - - - - - -	22,32 _o - - - - - - -
Huiles essentielles	0,6-1 _r	-	-	-
Vitamine C	0,145 _s -1,15 _p	0,280 _s	0,109 _s	-

^a Kammoun et *al.*, 2011; ^b Ghanem et *al.*, 2012 ; ^c Marin et *al.*, 2007 ; ^d Fiaguerola et *al.*, 2005 ; ^e Magda et *al.*, 2008 ; ^f Grigelmo-Minguel et *al.*, 1999 ; ^g Masmoudi et *al.*, 2008 ; ^h Gorinstein et *al.*, 2001; ^j Chinapongtitiwat et *al.*, 2013 ; ^k Wang et *al.*, 2008 ; ⁱ Lagha-Bernamrouche et *al.*, 2013 ; ^m Chen et *al.*, 2011 ; ⁿ Cheynier et *al.*, 2006 ; ^o Ghasemi et *al.*, 2009 ; ^p Goulas et *al.*, 2012; ^r Espiard, 2002 ; ^s Barros et *al.*, 2012.

D'autre part, plusieurs études montrent que les écorces d'agrumes contiennent aussi des composés biologiquement actifs comme la vitamine C (0,109-1,150 g/100g bs) (**Goulas Et Al., 2012 ; Barros Et Al., 2012**) et les fibres alimentaires (6,30-82,69 g/100g bs) (**Ghasemi Et Al., 2009 ; Magda Et Al., 2008**). Les écorces d'agrumes sont aussi riches en composés phénoliques (0,67-22,32 g/100g bs). La composition en composés phénoliques des écorces et leurs propriétés fonctionnelles seront détaillées dans la section I.1.2.

❖ Pigments

La couleur verte des oranges immatures est due aux chlorophylles. Au cours de la maturité, la couleur de l'épicarpe ou flavédo vire du vert au jaune orangé. Ce virage résulte de la dégradation des chlorophylles et l'augmentation de la synthèse des caroténoïdes associée à la disparition des chloroplastes et la formation des chromoplastes (**Meléndez-Martínez, 2007**).

Ainsi, la couleur des écorces et de la pulpe de la plupart des oranges matures est due aux pigments caroténoïdes. La couleur de certaines variétés appelées orange sanguines telles que l'orange Maltaise est due aux caroténoïdes et aux anthocyanes. Une alimentation riche en

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

caroténoïdes peut diminuer le risque du cancer, la dégénérescence musculaire, les dommages de la peau induits par les brûlures du soleil et les maladies cardiovasculaires (**Aust Et AL., 2001; Wang Et AL.,2008**).

Le **tableau 2** montre que les teneurs en caroténoïdes des écorces sont variables d'une variété d'agrumes à une autre (orange, mandarine, citron, pamplemousse). Par exemple, pour la lutéine, les teneurs peuvent aller de 0,80 µg/g bs pour le pamplemousse jusqu'à 29,3 µg/g bs pour les oranges. Pour le β-carotène, le pamplemousse contient 0,96 µg/g bs alors que la mandarine en contient 69,2 µg/g bs.

Tableau 2. Composition en caroténoïdes des écorces d'agrumes (µg/g bs) (Wang et *al.*, 2008).

Variété	Lutéine	Zeaxanthine	βcryptoxanthine	β-carotène
Mandarine	7,75	6,46	30,50	69,20
Orange	29,30	27,70	0,76	50,30
Citron	2,95	0,81	0,81	10,30
Pamplemousse	0,80	0,51	0,40	0,96

❖ **Huiles essentielles**

Les écorces d'agrumes sont riches en huiles essentielles qui sont localisées dans des glandes situées dans le flavédo. Ces huiles essentielles sont extraites à partir des écorces par une simple pression à froid ou bien simultanément avec l'extraction du jus.

En effet, les huiles essentielles d'agrumes peuvent être extraites à froid. Ces huiles sont ensuite entraînées par un courant d'eau froide. Une émulsion constituée d'eau et d'huile se forme (Dugo et *al.*, 1997; Oreopoulou et *al.*, 2007 ; Yeoh et *al.*, 2008; Sahraoui et *al.*, 2011).

Les huiles essentielles des écorces d'agrumes peuvent aussi être extraites par la distillation à la vapeur ou l'hydro-distillation (Gamiz-Garcia & Luque de Castro, 2000 ; Gamarra et *al.* 2006) et par des solvants organiques (Lin et *al.*2010)

❖ **Fibres**

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les écorces d'agrumes sont riches en fibres (13,9-78,66 g/100g bs) et surtout en fibres hydrosolubles (pectines). En effet, les teneurs en pectine varient selon la variété d'agrumes : 2,58-3,73% pour la mandarine, 6,52-13,00% pour le citron et 0,22-23,02% pour les oranges. Le **tableau 3** récapitule la composition en fibres des écorces d'agrumes. Les écorces d'agrumes contiennent aussi des fibres insolubles (l'hémicellulose, la cellulose et la lignine). Les teneurs en lignine sont de l'ordre de 7,52% pour les oranges et de 13,54% pour la mandarine (Kratchanova et al., 2004; Liu et al., 2006; Marin et al., 2007; Wang et al., 2008), alors que pour la cellulose, c'est l'orange qui a la teneur la plus élevée par rapport à la Mandarine et au citron respectivement 30,53% et 23,06%.

Tableau 3. Composition en fibres des écorces d'agrumes.

(^a Marin et al., 2007 ; ^b Wang et al., 2008, ^c Liu et al., 2006; ^d Kratchanova et al., 2004).

Classes des fibres (% bs)				
Variété	Pectine ^{a, b, c, d}	Lignine ^a	Cellulose ^a	Hémicellulose ^a
Mandarine	2,58-3,73	13,54	30,53	11,04
Citron	6,52-13,00	7,56	23,06	8,09
Orange	0,22-23,02	7,52	37,08	11,04

❖ **Minéraux**

Les écorces d'agrumes sont riches en minéraux majeurs (Ca, Mg, K, Na) et quelques minéraux mineurs (Zn, Fer, Cu). Ces teneurs varient selon la variété considérée d'agrumes (**Tableau 4**). Selon Kammoun et al. (2011) les oranges Maltaise sont riches surtout en calcium (1201,21 mg/100g bs) et en potassium (220,40 mg/100g bs) alors que les mandarines sont, essentiellement, riches en potassium (641-831 mg/100g bs) (Xu et al., 2008).

Concernant les éléments mineurs, on remarque que les oranges « Maltaise » contiennent des concentrations appréciables en zinc, en cuivre et en fer (1,86; 1,13; 1,58 mg/100g bs) par rapport à la mandarine qui en contient respectivement 0,42; 0,31; 2,67 mg/100g.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau 4. *Composition en minéraux des écorces d'agrumes.*

Minéraux	Teneurs (mg/100g bs)			
	Orange Maltaise ^a	Orange Thompson ^b	Mandarine ^c	Citron ^b
Potassium	220,40	816,24	641-831	527,93
Sodium	312,89	148,28	-	188,00
Calcium	1201,21	485,73	363-584	747,36
Magnésium	156,77	111,09	63-104	182,08
Zinc	1,86	1,43	0,42-2,82	8,61
Cuivre	1,13	1,58	0,31-2,26	1,19
Fer	1,58	7,96	2,67-9,38	7,87

II. Propriétés fonctionnelles des composés non phénoliques des écorces d'agrumes et leurs utilisations :

➤ Utilisation alimentaire :

Dans la cuisine algérienne, les écorces fraîches ou sous forme de poudre de *Citrus sinensis* sont utilisées pour aromatiser le thé et pour la préparation de certains plats traditionnels ou gâteaux.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les fibres des écorces d'agrumes sont naturellement associées avec des composés bioactifs (composés phénoliques, vitamine C) ce qui leur confère des propriétés fonctionnelles multiples. Plusieurs études ont porté sur l'extraction des fibres des écorces d'agrumes (Fernandez-Lopez Et Al., 2004; Marin Et Al., 2007; Bicu Et Al., 2011; Wang Et Al., 2014) pour les utiliser dans la formulation des aliments diététiques. La pectine commerciale est extraite dans la plupart des cas des agrumes (le pamplemousse, le citron et l'orange) et aussi des pommes (Wang Et Al., 2008). La pectine est utilisée en industries agroalimentaires grâce à son pouvoir épaississant, texturant mais aussi pour son pouvoir gélifiant et stabilisant. La pectine est utilisée dans plusieurs formulations (produits laitiers, préparations à base de fruits, crèmes glacés, produits à base émulsionnée, confiture et gelées) (Hawthorne Et Al., 2000).

Grâce à leur pouvoir adsorbant de l'eau, les fibres consommées gonflent dans l'estomac et l'intestin et jouent le rôle de coupe-faim en procurant une sensation de satiété. Les fibres insolubles facilitent le transit intestinal, tandis que les fibres solubles favorisent la croissance de la flore intestinale et améliorent par la suite la digestion. La consommation des fibres réduit le risque des maladies cardiovasculaires, du cancer du côlon et de l'obésité.

Les fibres des écorces d'agrumes acquièrent ainsi toutes les vertus des probiotiques et ont des applications potentielles en alimentation fonctionnelle (Chau & Huang, 2004 ; Kang Et Al., 2006 ; Marin Et Al., 2007; Wang Et Al., 2008 ; Kammoun Et Al., 2011).

➤ Utilisation en produits pharma et para pharmaceutiques :

Les extraits naturels des écorces sont également l'un des intrants de l'industrie pharmaceutique pour la préparation de médicaments, de savons, de parfums et autres produits cosmétiques. De plus, les écorces d'agrumes sont riches en limonène, qui est employé dans la formulation de solvants industriels mais aussi comme solvant biologique (Lohrasbi Et Al., 2010). Le linalol et le citral extraits des écorces de pamplemousse et d'orange douce ont des effets antibactériens contre *Campylobacter Jejuni*, *E. coli*, *L. Monocytogenes* Et *Bacillus Cereus*. Le citral est un composé actif aussi contre le *Penicillium digitatum* et *Aspergillus niger*. Pour ces raisons, les

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

huiles essentielles peuvent être utilisées comme une alternative aux fongicides synthétiques (Tian Et Al., 2001; Fisher & Phillips, 2006; Fisher & Phillips, 2008; Virot Et Al., 2008; Chutia Et Al., 2009; Singh Et Al., 2010).

➤ Autres utilisations :

La cellulose est aussi utilisée dans la production de la pâte à papier ou comme matière Première pour les dérivés de cellulose (Ververis Et Al., 2007). Les écorces d'agrumes sont également utilisées dans les réactions biochimiques telles que la production du plastique biodégradable par la copolymérisation de limonène extrait des écorces d'agrumes et le dioxyde de carbone (Byrne Et Al. 2004). La richesse des écorces d'agrumes en sucres a permis aussi leur utilisation pour la production de biocarburants (éthanol), des biogaz, obtenus par hydrolyse enzymatique, suivi par une fermentation en utilisant *Saccharomyces cerevisiae*. Ce procédé nécessite initialement l'enlèvement du D-limonène des écorces d'agrumes car il est extrêmement toxique pour l'activité biologique des microorganismes et inhibe le processus de la digestion anaérobie. Le limonène récupéré est ensuite utilisé dans plusieurs applications comme il a été précédemment discuté (Wilkins Et Al., 2007; Pourbafrani Et Al., 2010 ; Lohrasbi Et Al., 2010).

La pectine peut être utilisée dans la fabrication des suspensions pharmaceutiques (Piriyaprasarth & Sriamornsak, 2011), des médicaments de détoxification et anti-diarrhéiques (Liu et al., 2003; Fernandez-Lopez et al., 2004). La pectine permet de réduire le niveau de cholestérol (Wang et al., 2014) et se présente aussi comme agent anticancéreux (Maxwell et al., 2012).

II.1. Généralités sur les fruits étudiés :

Les agrumes sont originaires du Sud-est Asiatique (Ollitrault et Al., 1997). Ce sont des arbres de la famille des Rutacées composés de 156 ou de 16 espèces, selon que les auteurs ont ou n'ont pas pris en compte les hybrides (Swingle et Reece, 1967). La diffusion des agrumes à travers le monde s'est faite très lentement. Le bigaradier, le citronnier et l'oranger ont été introduits dans le bassin méditerranéen vers la moitié du XIIe siècle, et le mandarinier au XIXe siècle. L'introduction des agrumes en Afrique de l'Est a été faite par les commerçants Arabes et hindous vers le XIVe siècle (Loussert, 1989 ; Spiegel-Roy Et Goldschmidt, 1996). L'expansion dans le

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

sud de l'Europe au XVe siècle est le fait des portugais, qui les ont exportées d'Asie. Au moment de la conquête, l'orange traverse l'atlantique avec le Bigarade, la lime et le cédrat. Ces derniers ont été cultivés dans les Antilles, au Mexique et en Amérique du sud (Loussert, 1989).

➤ QUELQUES ESPECES DE CITRUS

• L'ORANGE

L'oranger est un arbre, pouvant atteindre 10 m de hauteur environ, avec un feuillage vert sombre persistant et légèrement aile. La floraison blanche très parfumée, les fruits mettent 10 à 12 mois pour murir, de taille moyenne, de forme sphérique, et de couleur caractéristique orange (Figure 2). Il existe plusieurs variétés les plus connues la Sanguine, Thomson navel, valencia latte, Washington navel Powell, Florida pineapple, orange portugaise etc.... (LOUSSERT, 1989).



Figure 2 : Feuilles, fleurs et fruits d'oranger

Classification

Taxonomiquement, les oranges douces appartiennent à :

Ordre : Sapindales

Sous-ordre : des geraniineae,

Classe : des dicotyledoneae

Famille : Rutaceae

Genre : *Citrus*

Espèce : *Citrus sinensis*

➤ Composition chimique et valeur nutritive d'orange

L'orange contient de glucides (40% de saccharose), de la vitamine C, vitamines P, B1, B9, E, provitamine A. Riche en calcium, riche en pectines, elle a un rôle de régulateur du

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

transit intestinal. Elle contient une flore mésophile (levures et lactobacilles) indispensable pour une bonne digestion (**Bousbia, 2011**)

Les principaux composés de l'orange sont résumés dans le **Tableau 05**.

Tableau 5 : Principaux composés de l'orange (Anonyme, 2007)

Constituants	Teneurs
Glucides	8.5 a 12 % dans le fruit a maturité, représente par le saccharose (40 %). Fructose et glucose
Acides organiques	1.2 %, surtout de l'acide citrique et de l'acide malique
Autres composés Energétiques	Lipides concentres dans les pépins peu de protéines
Vitamines	Teneur élevée en vitamine C (40 a 80 mg pour 100g). Vitamines hydrosolubles qui sont toutes des vitamines du groupe B (B1 et B9, en particulier), vitamine A (0.05 a 0.2 mg pour 100g), vitamine E (0.24mg pour 100g).
Minéraux	Calcium, Magnésium, Potassium et Phosphore
Oligoéléments	Fer, Cuivre, Zinc, Manganèse, Nickel, Iode, trace de Bore et de Sélénium
Fibres	Une teneur de 2.4 % en moyenne, elles ont l'originalité d'être riches en pectine (environ 50 %)
Flore mésophile	Levures et lactobacilles indispensables à sa bonne digestion
Substances aromatiques	Ce sont des composés complexes caractéristiques de ce fruit (aldéhydes, esters... etc.), des essences odorantes

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Pigments	Donnent à la pulpe sa couleur plus ou moins marquée jaune orange pour les flavonoïdes et les caroténoïdes, jaune pour les xanthophylles, rouge ou rouge violace pour les anthocyanes
-----------------	--

➤ **Le citron :**

Le citronnier, un membre de la famille des Rutacées, est un petit arbre (arbuste) vert et Aromatique dont la taille peut varier de 2 à 10 m de haut, porte 5-6 branches charpentières très Fournies en rameaux, les racines superficielles forment un réseau dans les 80 premiers Centimètres de sol. Les feuilles des citronniers sont des feuilles vertes, alternatives et Persistantes, très adurantes en raison des multiples poches à essence qu'elles contiennent, qui Sont visible à l'œil nu **Figure 3 (Gollouin et Tonelli, 2013).**



Figure 3 : Feuilles, fleurs et fruits de citron

Classification

Selon **Padrini et al. (1996)** la classification de citron est la suivante :

Ordre : Sapindales

Famille : Rutaceae

Genre : *Citrus*

Espèce : *Citrus limon*

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

➤ Composition chimique et valeur nutritive du citron.

Comme les autres agrumes, le citron est un fruit très juteux renfermant 90%d'eau, fortement acide (pH inférieur à 3). L'acidité est due essentiellement à l'acide citrique accompagnée de faibles quantités d'acides malique, Caféique et ferulique

Le citron est un fruit remarquable par sa haute teneur en vitamine C et d'un large éventail de vitamines du groupe B avec des quantités considérables de flavonoïdes (naringosides, hesperidosides). La teneur de ce fruit en glucides est faible mais les fibres (cellulose, hémicelluloses et pectines) représentent 2,1% du poids total. La teneur en protéines ne dépasse pas 1g/100g.

Diverses substances minérales ont été identifiées dans le citron. Le potassium est le minéral le plus abondant (**Valnet, 2001**).

Selon **Souci et al. (1996)** la composition biochimique moyenne du citron (pour 100g de fruit frais) (Tableau 06):

Tableau 6: Composition biochimique moyenne du citron.

Composition	Teneur
Eau	90,20 g/100 g
Glucides	3.16/ 100g
Protéines	0,70 g/100g
Lipides	0,60 g/100g
Acides organiques	4,88 g/100g
Fibres alimentaires	0,50 g/100g
Les vitamines	51,26 mg/100g
Les minéraux	211,95 mg/100g
Apports énergétiques	36,48 K Calories

II.2..EFFET THERAPEUTIQUE DES CITRUS :

Les Citrus contiennent des quantités élevées de composés qui ont des effets bénéfiques pour la santé, y compris les poly phénols, l'acide ascorbique, les caroténoïdes et les tocophérols (**Ercan**

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Et Al., 2011). Ils ont une valeur très importante dans la médecine traditionnelle et pour la fabrication des produits comestibles (**Choi Et Al., 2007**). Comme ils présentent plusieurs activités biologiques, telles que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, anti-oxydante, anticancéreuse (**Del-Rio Et Al., 2004**). La consommation d'agrumes frais ou de leurs jus semble être associée a une amélioration des profils lipidique sanguins, la survie chez les personnes âgées, moins de risque de cancers l'abaissement de la pression artérielle, ainsi que la réduction des risques d'accident vasculaire cérébral, les maladies cardiaques coronariennes, traiter l'obésité (**Ramful Et Al., 2011**).

- Les fruits d'agrumes ont également des propriétés antiallergique qui sont dues a sa richesse en quercitrine, hespéridine et diosmine, étant des inhibiteurs de l'histamine, qui est un neurotransmetteur implique dans les réactions allergiques et inflammatoire (**Gonzalez Molina Et Al., 2010**). L'activité anticancéreuse des flavonoïdes peut se produire par deux effets selon (**Tripoli Et Al. 2007**):
 - effet antimutagène.
 - effet antiprolifératif.

II.3. LE SYSTEME ANTIOXYDANT DE CITRUS :

➤ Antioxydants :

Les agrumes sont importants en raison de leurs propriétés nutritionnelles et anti-oxydantes. Les antioxydants les plus connus sont les caroténoïdes (surtout le β -carotène), l'acide ascorbique, les tocophérols (vitamine E) et les poly phénols. Ces derniers incluent les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques (**Hercberg Et Al., 2004**).

Les antioxydants sont des composes qui peuvent atténuer, inhiber ou prévenir l'oxydation des matières oxydables en éliminant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif (**Kim et Lee., 2004**).

Les antioxydants sont classes selon différents critères :

- Leur origine : naturelle ou synthétique
- Leur nature : hydrosoluble ou liposoluble.
- Leur mode d'action : primaires ou secondaires.

❖ Les antioxydants synthétiques

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les plus utilisés dans l'industrie agroalimentaire sont: butylate hydroxyanisole (BHA), butylate hydroxyl toluène (BHT), propylgallate et le tert-butylhydroxyquinone. Mais leur emploi est astreint à des règlements rigoureux à cause des soupçons qui planent sur leur toxicité (troubles hépatiques et cancers) (**Gulcin *Et Al.*, 2004**).

❖ Les antioxydants naturels

Ils incluent des espèces chimiques différentes (composés phénoliques, vitamines...etc.) qui sont d'origine végétale pour la plupart (**Berger, 2005**).

❖ Les antioxydants primaires

Ils englobent les composés qui interfèrent avec l'auto-oxydation lipidique en convertissant les produits d'oxydation lipidiques ($L\bullet$, $LOO\bullet$, $LO\bullet$) en produits plus stables grâce à leur propriété de donneurs de protons actifs. Le radical ($A\bullet$) dérivé de l'antioxydant se convertit en produit stable:



❖ Les antioxydants secondaires

Se sont des composés qui retardent l'auto-oxydation lipidique selon différents modes d'action :

- Absorption des radiations ultraviolettes.
- Inactivation de l'oxygène singulet.
- Chélation des métaux.
- Décomposition des hydroperoxydes

II.3.1 Composés phénoliques :

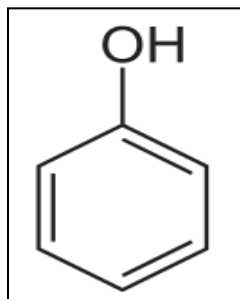
Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux, non essentiels à la survie de la plante. Au niveau végétal, les composés phénoliques sont un moyen de défense contre le rayonnement U.V, les agressions par les pathogènes et ils contribuent à la pigmentation des plantes (Manach *et al.*, 2004; Ignat *et al.*, 2011). Ils sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique et d'un ou plusieurs groupements phénoliques dans leur structure (**Figure 4**) et se différencient par le nombre et l'enchaînement des noyaux aromatiques, le nombre et la position des groupes hydroxyles ainsi que la présence de divers substituants (groupes alkyles, glycosyles, acides organiques...) (Macheix *et*

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

al., 2006; Hollman et *al.*, 2010).

Figure 4. Structure du phénol .



Les oranges sont une très bonne source de composés phénoliques (**Balasundram et *al.*, 2006**). Ces derniers se trouvent en grande proportion dans l'écorce (plus de 15% que la pulpe) (**Gorinstein et *al.*, 2001 ; Goulas et Manganaris, 2012**).

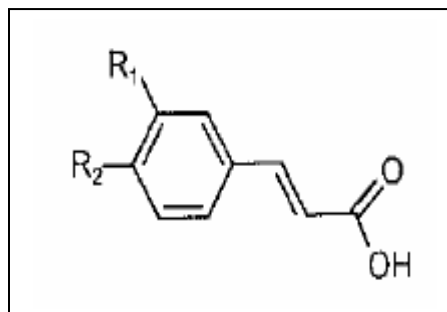
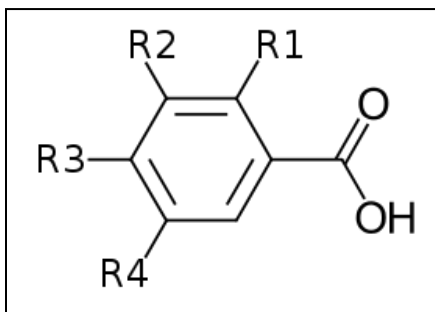
II.3.2.Classification

II.3.2.1 Principaux composés phénoliques des écorces des agrumes

On retrouve principalement deux classes de composés phénoliques dans les écorces D'agrumes: les flavonoïdes et les acides phénoliques.

- **Acides phénoliques**

Un acide phénolique est un composé organique qui possède au moins une fonction Carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques sont divisés en deux Classes : les acides hydrox benzoïques et les acides hydroxycinnamiques (**figure.5** en Annexe) (**Richter, 1993**).



CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Acide hydroxybenzoïque Acide hydroxycinnamique

R1=OH : Acide coumarique. R1=R2=OH ; R3=H : Acide protocatechuique.

R = R2=OH : Acide caféique. R= R2=R3=OH : Acide gallique.

R1=OCH3 ; R2=OH : Acide ferulique

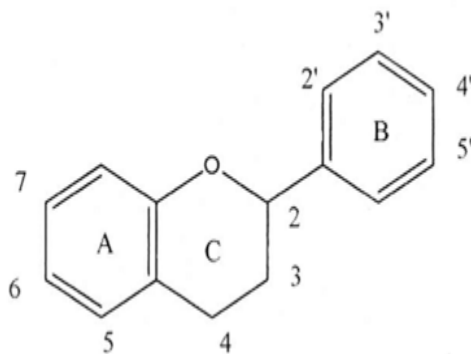
Figure 5 : Structures chimiques des acides phénoliques (Manach et al., 2004).

• Flavonoïdes

Le terme flavonoïdes désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des poly phénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ils sont particulièrement présents dans l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits et donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Ils sont stockés sous forme libre ou conjuguée mais leur localisation cellulaire est encore incertaine, bien que certains résultats favorisent le stockage dans la vacuole et/ou dans le réticulum endoplasmique (LILOU Et Al., 2008).

➤ Structures chimiques et classification :

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des composés phénoliques de faible poids moléculaire possédant un squelette carboné en C₆-C₃-C₆. Ils sont constitués d'un squelette à 15 atomes de carbone (**Figure 6**) formant 2 noyaux aromatiques (A et B) et un hétérocycle (C) à oxygène dont la nature définit l'appartenance du flavonoïde à un groupe déterminé (Erdman et al., 2007; Ignat et al., 2011). Les principaux groupes de flavonoïdes présents dans les écorces d'agrumes sont les flavanones, les flavones et les flavonols. Chaque groupe comprend lui-même de nombreux composés qui diffèrent selon le degré d'hydroxylation et de glycosylation.



CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

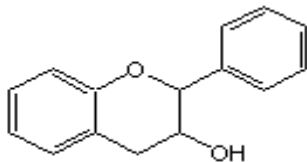
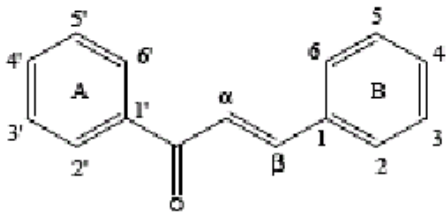
Figure 6:Structure de base des flavonoïdes (**Ghedira, 2005**).

Les différents sous-groupes rencontrés sont les : flavones, flavanols (catéchines), isoflavones, flavonols, flavanones et les anthocyanes (**Yang et al., 2001**).

Tableau 7: Structure chimique de certains flavonoides representatifs de chaque classe.

Principaux classes des flavonoïdes	Composés	Structure de base
Flavone	Naringénine Galangine Diosmetine	
Flavonol	Myricetine Quercétine Kaempférol Dihydrokaempférol	
flavanone	Hesperetine Galangine	

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

flavanol	Catéchine	
Chalcone	Anthocyanine	

❖ Propriétés antioxydants des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (**Fuhrman Et Al., 1995**). L'action antioxydant de ces phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces d'ions métalliques responsables de la production de ROS (**Cotelle,**

2001). (Figure 3) A cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (FL-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (R*), comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxy et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène et le radical flavonoxy (FL-O.) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (**Jovanovic Et Al., 1998**)

D'autres études ont montré que les flavonoïdes sont des bons inhibiteurs d'enzymes responsables de la production des radicaux libres comme la xanthine oxydase qui est une source biologique importante du radical superoxyde (**Cos Et Al., 1998**). Les flavonoïdes sont aussi considérés

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

comme de bons chélateurs d'ions métalliques (**Dacosta, 2003**), comme les ions du fer (Fe^{2+}) et du cuivre

(Cu^{+}) qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques, mais ils sont aussi responsables de la production du radical hydroxyle par la réduction du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante:



• Les Tannins :

Les tannins sont des molécules à poids moléculaire élevé qui constituent le troisième groupe important des composés phénoliques. Ainsi, les tannins se réfèrent à l'acide tannique, il a une structure qui est composée d'un glucose centrale et 10 groupes galloyl, ce sont des polyphénols solubles dans l'eau et sont présents dans les écorces des fruits de quelques plantes (**Gulçin et al., 2010**).

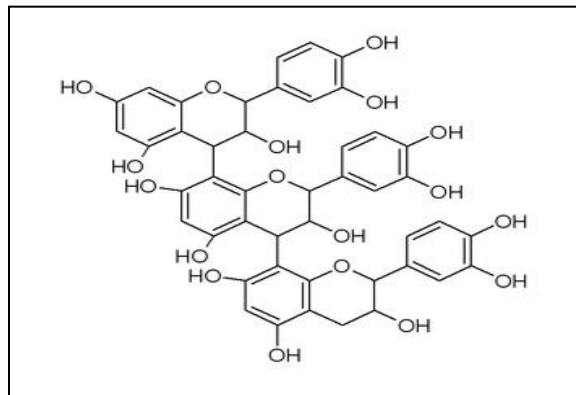
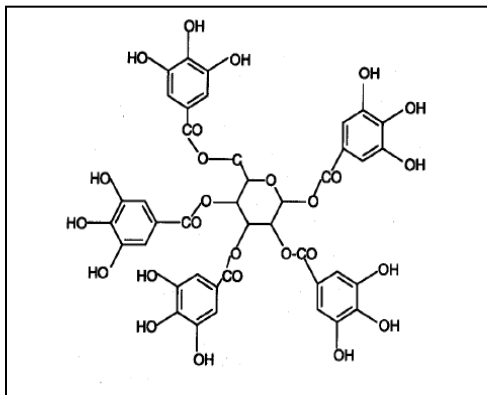
Sur le plan structural, les tannins sont divisés en tannins hydrolysables et tannins condensés ou proanthocyanidines (**al-zoreky, 2009**).

❖ Les tannins condensés

Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane-3-ol dérivés de la catéchine ou de son nombreux isomère (Figure 4 a). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (**Cowan, 1999**).

❖ Les tannins hydrolysables

Ce sont des esters de glucose et d'acide gallique. Ils sont caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique, ils libèrent alors une partie non phénolique (souvent du glucose) et une partie phénolique qui peut être soit de l'acide gallique, soit un dimère de ce même acide-l'acide ellagique (Figure 7) (**Cowan, 1999**).



CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

(b)

(a)

Figure 7 : Structure chimique des tannins condensés(a) et des tannins hydrolysables(b)

- **Vitamine C :**

La vitamine C ou acide L-ascorbique de formule brute $C_6H_8O_6$ (**Figure 8**) est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra- et extracellulaires (compartiments hydrophiles) (**Vertuani et al., 2004**). Elle est sensible à la chaleur, aux ultraviolets et à l'oxygène, elle n'est pas synthétisée par l'homme; c'est pour ça elle doit être apportée par l'alimentation (**Fain, 2004**).

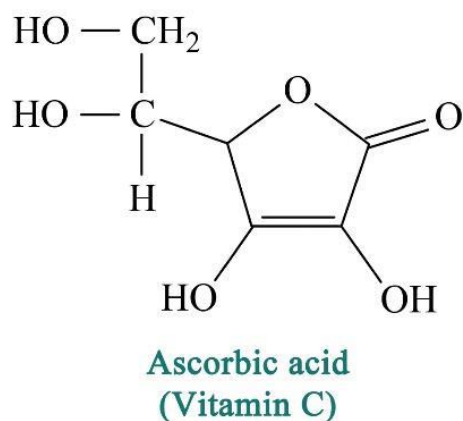


Figure 8 : Structure de l'acide ascorbique (**Vertuani, 2004**)

L'acide ascorbique joue plusieurs rôles dans l'organisme, notamment grâce à ses propriétés antioxydantes et hydroxylantes. Il est impliqué dans la synthèse du collagène et des globules rouges et joue un rôle de promoteur de l'absorption du fer. Elle intervient dans la conversion du cholestérol et des acides biliaires. Il participe également au métabolisme du fer et a un rôle dans l'élimination des carcinogènes et des nitrosamines cancérigènes (**Mirvish, 1986**).

II.4..Propriétés anti-oxydantes :

Acide phénoliques :

Les acides phénoliques agissent comme donneurs de protons ou d'électrons et chélatent les métaux de transition (**Blokhina et Al., 2003**). La position et le degré d'hydroxylation, et la méthylation du cycle aromatique sont des facteurs importants qui déterminent l'activité antioxydant des acides cinnamiques et de leurs dérivés (**Robardet et Al., 1999**). L'activité antioxydant des acides cinnamiques suit l'ordre décroissant suivant : acide chlorogénique > acide caféique > acide férulique > acide coumarique (**Soobrattee et Al., 2005**).

❖ Propriétés antioxydants des flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, ces activités sont attribuées en partie aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. Les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées (**Fuhrman et Al., 1995**).

L'action antioxydant de ces phytonutriments ne s'exerce pas seulement par l'inhibition et la désactivation des radicaux libres, elle se manifeste aussi par la neutralisation d'enzymes oxydantes et par la chélation des traces d'ions métalliques responsables de la production de ROS (**Cotelle, 2001**). A cause de leurs faibles potentiels redox, les flavonoïdes (Fl-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les radicaux libres oxydants (R^*), comme le superoxyde, le peroxyde, l'alkoxyde et l'hydroxyle, par transfert d'hydrogène et le radical flavonoxy (FL-O.) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (**Jovanovic et Al., 1998**).

❖ Propriétés antioxydants des tannins

La nature poly phénolique de l'acide tannique qui est hydrophobe est le caractère responsable de l'action antioxydant, et son mécanisme antioxydant est encore loin d'être complètement compris. En présence de cuivre métallique l'acide tannique agit comme un prooxydant, ou comme un antioxydant suppresseur du radical hydroxyle (**Gulçin et al., 2010**).

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Comme beaucoup de poly phénols, l'acide tannique possède des propriétés antimutagéniques et antimicrobiennes.

❖ Propriété anti radicalaire de vitamine C

Le caractère antioxydant de la vitamine C provient de sa forme ionisée abondante, l'anion ascorbate (AscH^-) qui peut aisément réagir avec des radicaux libres et produire le radical ascorbyl ($\text{AscH}\cdot$), stabilisé par résonance. Du fait de son très faible pK, la forme non protonnée radicalaire (acide déshydroascorbique) faiblement réactive est privilégiée ($\text{Asc}\cdot^-$) (**Valko et al., 2006**) (**Figure 9**).

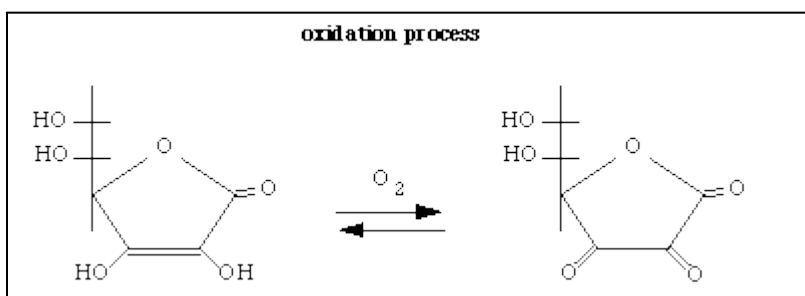


Figure 9 : Mécanisme d'oxydation de l'acide ascorbique (Steinberg et Rucker, 2013).

II.5.ACTIVITES BIOLOGIQUES DES CITRUS :

II.5.1. ACTIVITE ANTIOXYDANTE

Les poly phénols jouent un rôle important comme système de défense contre les RL, leurs activité antioxydant se produit par plusieurs mécanismes:

Absorption des rayons UV: la naringénine et la rutine ont un effet protecteur contre les UV, en empêchant ainsi la surproduction des RL (**Tripoli et al.2007**).

Renforcement de l'activité des enzymes antioxydants : les citroflavonoïdes jouent un rôle important dans l'augmentation de l'activité antioxydant du superoxyde-dismutase et de la catalase et par la modulation de l'expression de gène de su-peroxyde dismutase, catalase et de glutathion peroxydase (**Tripoli et al., 2007**).

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Neutralisation des RL et chélation des métaux :des études réalisées in vitro et in vivo ont montre la capacité des poly phénols d'agrumes à neutraliser les RL et a chélater les métaux principalement le fer (**Del-Rio et al.2004**)

Inhibition de la lipoperoxydation : diverses études expérimentales ont montre l'existence d'une relation importante entre les flavonoïdes de citrus limon et la diminution de l'oxydation de taux des lipoprotéines de faible densité LDL dans le sang (**Gonzalez-Molina et al. 2010**)

II.5.2 AUTRES PROPRIETES PHARMACOLOGIQUES :

❖ Activité anti-inflammatoire

Ils sont capables d'inhiber les kinases et phosphodiesterases essentiels pour l'activation et la transduction du signal cellulaire. Ils ont également une incidence sur l'activation de certains nombre de cellules impliquées dans la réponse immunitaire, y compris les lymphocytes T et B (**Manthey et al., 2001**).

❖ Activité antiallergique

Les citrus sont également des propriétés antiallergiques qui sont dues à sa richesse en quercetine, hespéridine et diosmine, étant des inhibiteurs de l'histamine, un neurotransmetteur implique dans les réactions allergiques et l'inflammation (**Gonzalez-Molina et al.2010**)

❖ Activité antimicrobienne et antivirale

Plusieurs études expérimentales ont montre que les flavonoïdes des agrumes ont une activité antimicrobienne très importante :

- La quercetine et l'hespéridine inhibent l'infectiosite et la réplication de l'herpes simplex, le poliovirus, le virus parainfluenza et le virus syncytial(**Tripoli et al., 2007**).
- Hesperetine, l'aglycone d'hespéridine, possède une activité timicrobienne modérée contre *salmonella typhi* et *salmonella typhimurium*.

❖ Activité anti-cancer

La richesse de certaines plantes en métabolites secondaires comme les flavonoïdes est à l' origine de leur efficacité dans la prévention et le traitement des cancers. Les flavonoïdes sont considères comme des agents antiprolifératifs et cytotoxiques vis-à-vis plusieurs lignées de cellules cancéreuses.

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

❖ Action contre les maladies cardiovasculaires

Beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les apports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du cœur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes. Ces substances sont des agents de relaxation vasculaires les plus efficaces comme l'épigénine et la genistéine. Cette relaxation est attribuée à l'action directe de ces flavonoïdes sur le muscle lisse vasculaire

III. VALORISATION DES SOUS PRODUITS DE LA TRANSFORMATION DES FRUITS :

La transformation des fruits produit deux types de déchets : des déchets solides (épluchures, peau, graines, noyaux et autres matières solides étrangères) et les déchets liquides (jus et liquide de lavage et de traitement). Pour certains fruits, les résidus peuvent avoir une proportion très élevée (Mangue 30-50%, Banane douce 20%, Ananas 40-50% et Orange 30-50%). Il existe donc une nécessité de traitement des déchets. En effet, ces déchets peuvent occasionner la présence de mouches, rats et autres êtres indésirables autour de l'unité de production s'ils ne sont pas convenablement traités. Si il n'y a pas de plan préétabli pour le traitement des déchets, ceux-ci peuvent être enterré dans une fosse ou fourni comme nourriture aux animaux mais bien loin de la ferme.

13 façons de recycler vos pelures d'oranges	
1. TRANSFORMEZ-LES EN CONTENANTS POUR LES GRAINES DES OISEAUX : Vous êtes amoureuse de la nature et vous voulez contribuer au bien être des petits oiseaux? Fabriquez des contenants pour les graines des oiseaux .	
2. FAITES-EN DES PETITES SUCRERIES Vous pouvez cuisiner les pelures d'oranges! Pour en faire des petites douceurs sucrées, Brossez et lavez vos oranges • Coupez l'épluchure en lamelles et retirez aux maximum la partie blanche puis plongez-les dans une casserole d'eau froide. • Portez à ébullition, coupez le feu, égouttez. Répétez l'opération 3 fois (recouvrez de	

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

nouveau d'eau froide, portez à ébullition, égouttez et ainsi de suite...) • Une fois vos trois ébullitions réalisées, faites un sirop avec 200g de sucre et 470ml d'eau pour deux oranges. Mélangez jusqu'à ce que le sucre soit bien incorporé et ajoutez les pelures. Faites cuire à ébullition légère pendant 30 minutes (les oranges doivent devenir un peu translucides) • Coupez le feu et filtrez. Enrobez les pelures de sucre • Déposez les pelures sur une grille pour les faire sécher	
3. AJOUTEZ-LES DANS VOTRE VINAIGRE BLANC : Non seulement, votre vinaigre sentira bien meilleur mais il sera d'autant plus efficace.	
4. Les zestes confis : il faut faire bouillir les morceaux de zestes dans un sirop à 20% de sucre pendant 15-20 minutes. Ensuite augmenter progressivement la concentration en sucre du sirop jusqu'à atteindre un degré Brix entre 65 et 70%. Le zeste séjourne dans le sirop pour 4 à 5 jours. A l'issu de ce séjour, le zeste est retiré, rincé et séché dans un séchoir solaire ou à air chaud.	

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

5. METTEZ-LE DANS UN POT DE SUCRE BRUN :

Cela évitera que le sucre brun ne se solidifie et devienne un gros bloc.



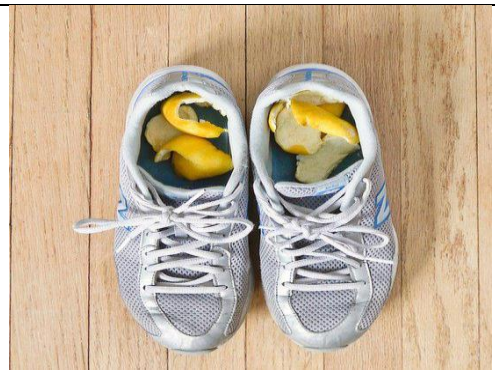
6. FROTTEZ LES FEUILLES DE VOS PLANTES :

Répétez l'opération chaque mois, cela éloignera votre chat de vos plantes.



7. METTEZ-LES DANS VOS CHAUSSURES :

Les pelures neutralisent les mauvaises odeurs dans vos chaussures. Pratique.



8. UTILISEZ-LES POUR ÉLOIGNER LES INSECTES :

La plus grande phobie des moustiques, fourmis ou des mites sont les pelures d'oranges! Mettez-les dans les endroits où vous redoutez leur apparition.



CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

9. LAISSEZ-LES INFUSER DANS VOTRE THÉ :

. Faites sécher les pelures et ajoutez-les dans votre tasse d'eau chaude. Laissez infuser 10 minutes.



10. PASSEZ-LES AU FOUR : Si vous passez les épluchures d'oranges au four, ça lui donnera une odeur délicieuse



11. UTILISEZ-LES COMME PARFUM

D'AMBIANCE : Faites les bouillir dans de l'eau chaude et cela donnera à votre pièce une merveilleuse odeur.



12. FAITES-EN UNE BOUGIE : Saviez-vous que les pelures d'oranges étaient d'excellentes bougies *homemade*?



13. AJOUTEZ-LES À VOTRE POT POURRI



II. Matériel Végétal.

Les fruits utilisés dans notre étude comprennent deux genres de *citrus* : (*Citrus* limon, *Citrus* sinensis).

II.1. Collecte Des Echantillons

Deux variétés d'oranges et de citron ont été récoltées.

La récolte a été faite d'une Manière aléatoire en fonction de la période de maturation de chaque variété.

Chaque Échantillon, a été choisi sur la base de critères établi ; les fruits sélectionnés sont mûrs et sains.

Les deux fruits sont bien lavées a l'eau courante et coupés ensuite pour séparer les parties de fruits.

II.2. Séchage Et Broyage:

Les peaux fraîche (environ 400g) a été séchée en (étuve laboratoire **Figure 10**) a 50°C pendant trois jours jusqu'à l'obtention de 25% du poids des peaux de départ. Ces peaux séchées ont été broyées finement a l'aide d'un mixeur électrique afin d'obtenir des poudres granulométrique fine. Ces derniers sont placées dans des flacons fermés, fumés, étiquetés et conservés a température ambiante a 25°C jusqu'au moment de l'extraction.



Figure 10 : étuve laboratoire

III.. EXTRACTION ET DOSAGE DES POLYPHENOLS

III.1. EXTRACTION

La méthode de (Ladoh Yemeda *Et Al.*, 2014) a été adoptée pour l'extraction des composés phénoliques totaux, et les étapes sont comme suit :

III.1.1. MACERATION

L'extrait brut des échantillons étudiés est obtenu par macération **Figure 11**. Ce type d'extraction est un simple contact entre le support solide et le solvant ; 5g de poudre ont été mélangés avec 100 ml du solvant d'extraction (éthanol à 96%) ; le mélange a été mis sous agitateur magnétique à température ambiante pendant 24h. Après la macération, le mélange a été filtré à l'aide d'un papier Whatman N°3. Le filtrat correspond à la fraction éthanolique.

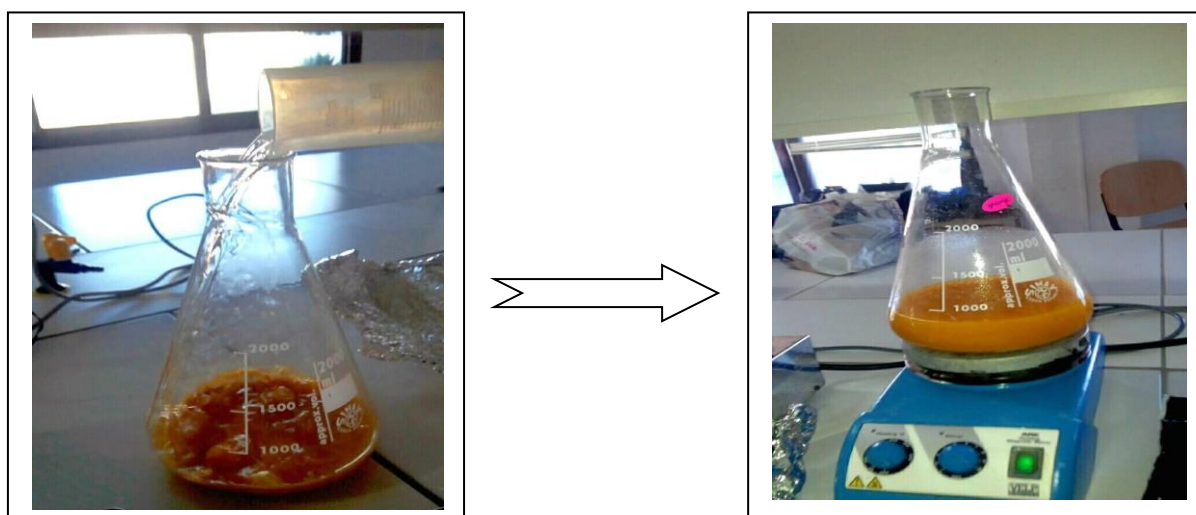


Figure 11 : extraction par macération

➤ L'évaporateur Rotatif :

Après filtration de deux solutions :

Placé dans l'appareil, le principe basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer les grandes quantités de solvant, la solution est mise en relation dans un ballon, la durée : procède à l'évaporation jusqu'à la disparition complète du solvant.

Le taux d'extraction est calculé par la formule suivante :

Taux d'extraction(%). $\frac{[P_1 - P_0]}{E} \times 100$

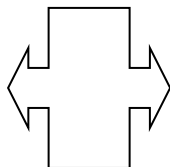
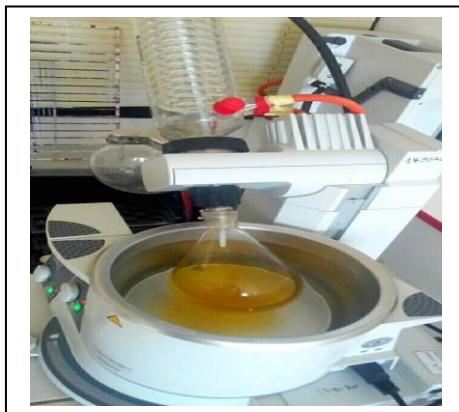
E

P₁: poids de la matière sèche après évaporation.

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.

P_0 : poids initial du ballon

E : poids de l'échantillon initial (poudre en gramme)



III. 2.DOSAGE DES ANTIOXYDANTS

III.2.2. DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUE

III.2.2.1. DOSAGE DES POLYPHENOLS TOTAUX

L'estimation de la teneur en phénol totaux contenue dans les deux extraits : écorce d'orange, écorce de citron est réalisée par dosage au spectrophotomètre, selon la méthode de (**Ladoh Yemeda Et Al., 2014**). Cette méthode repose sur l'utilisation du réactif de Folin-ciocalteu.

➤ Principe

Cette méthode est basée sur les réactions d'oxydoréduction, le réactif de Folin- Ciocalteu, acide de couleur jaune, est utilise comme oxydant, il est constitue par un mélange d'acide phosphotungstique($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$).

Lors de l'oxydation des poly phénols, le Folin est réduit en un mélange bleu d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène(MO_8O_{23}) et ca en présence de carbonate de sodium. L'intensité de la coloration est proportionnelle aux taux des poly phénols présents dans les extraits (**Ribereau-Gayon, 1968**).

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES.

➤ Mode opératoire

Un volume de 0,2 ml de chaque 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 a été incubé température ambiante à l'obscurité pendant 2h et l'absorbance est lue à 725 nm au spectrophotomètre. L'acide gallique est utilisé comme standard de référence (**annexe II.1**). Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec ($\mu\text{g EAA/g ES}$) (**Singleton Et Rossi., 1965**).

III.2.2.2. DOSAGE DES FLAVONOÏDES

➤ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium) (**Chang Et Al., 2002**). L' AlCl_3 forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols, ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm (**Ribéreau-Gayon., 1968**).

➤ Mode opératoire

La teneur en flavonoïde des extraits a été déterminée selon la méthode de (**Ibrahim Et Hegazy., 2012**). Un volume de 1 ml d'extrait a été additionné à 1 ml de chlorure d'aluminium à 2% (préparé dans le méthanol). Le mélange a été placé à l'obscurité pendant 10 min puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm.

Les résultats ont été exprimés en μg équivalent de Quercétine par 1 g de matière sèche. Ces concentrations sont déterminées en se référant à la courbe d'étalonnage réalisée avec de la Quercétine préparée dans le méthanol ($200 \mu\text{g/ml}$) (**annexe II.2**).

III.3. MESURE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE

III.3.1. EVALUATION DU POUVOIR ANTIRADICALAIRE

III.3.1.1. LE TEST DE PIEGEAGE DU RADICAL DPPH

Le DPPH est un radical libre stable utilisé expérimentalement pour remplacer les radicaux libres produits par les cellules en réponse à des stress internes ou externes (**Akroum, 2011**).

Le composé chimique DPPH est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la Relation structure-activité antioxydants des composés phénoliques (figure 12). Il possède un électron non apparié sur l'atome du pont formé par les deux azotes (**Popovici Et Al., 2009**).

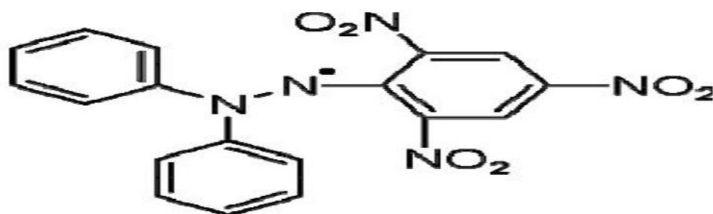


Figure 12 : Structure chimique du radical libre DPPH° (**Popovici Et Al., 2009**).

- **Principe :** Le test de DPPH permet de mesurer le pouvoir anti radicalaire des jus d'orange ou des extraits de peaux fraîches ou sèches en suivant la disparition, en fonction du temps, du radical DPPH par spectrophotométrie d'absorption UV-visible à 515 nm.

Le DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violette qui se réduit en 2,2 diphényle-1-picryl hydrazine (DPPH₂), faiblement coloré en jaune par captation d'un hydrogène de l'antioxydant (**Figure 13**).

Le changement de la coloration est proportionnel à l'activité antioxydante ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (**Moon Et Shibamoto., 2009**).

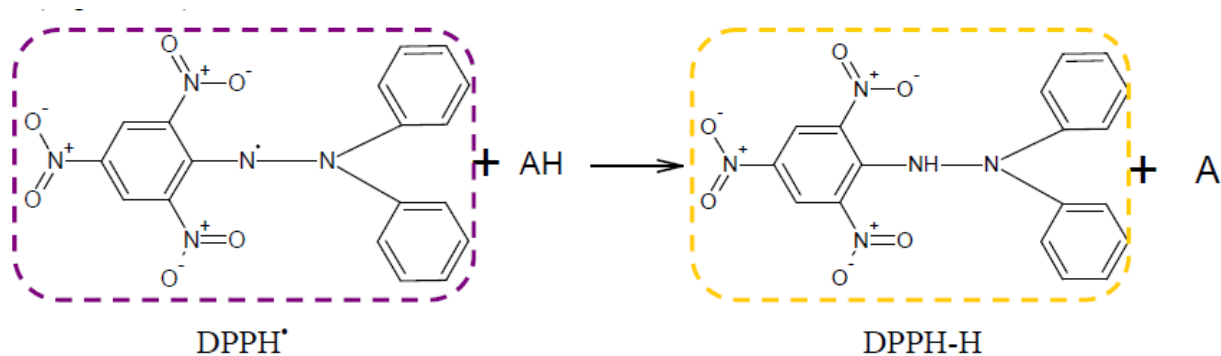


Figure 13 : Réduction du radical DPPH

➤ **Mode opératoire**

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par **Seung-Cheol Et Al., (2004)**.

Un volume de 100µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) fraîchement préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 100µl du méthanol avec 1ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Des standards de référence (acide ascorbique et BHA) ont également été analysés en respectant la même procédure (**annexe II.3**).

❖ **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition (% I) du radical DPPH par les extraits a été calculé comme suit :

Le pourcentage d'inhibition est donné selon la formule suivante : (**Harris Et Al., 2009**).

$$\text{Activité anti radicalaire \%} = ((A_0 - A_1) / A_0) \times 100$$

***AC** : absorbance en absence de l'inhibiteur (contrôle négatif).

***AE** : absorbance en présence de l'inhibiteur (échantillon).

III.3. 1.2.Test de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing-antioxidant power)

✓ Principe

Le pouvoir réducteur du fer (Fe^{3+}) dans les extraits est déterminé selon la méthode décrite par OYAIZ (1986) (BOUGANDOURA, 2013). La méthode de la réduction du fer est basée sur la réduction de fer ferrique en sel de fer par les antioxydants qui donnent la couleur bleu (OU et *al.*, 2001) selon la figure 10.

✓ Dosage

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations (de 0,007à 2,5mg/ml) est mélangé avec 2,5ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min ensuite, 2.5ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min. Un aliquote (2,5ml) de surnageant est combinée avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (Chlorure ferrique) à 0,1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS). Le contrôle positif est représenté par un standard d'un antioxydant; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton Et Rossi., 1965).

III. Résultats et Discussion :

III.1. Le taux D'extraction :

L'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de plusieurs facteurs qui contribuent à son efficacité : la méthode d'extraction, la granulométrie des particules, la durée d'extraction, la nature et le volume du solvant utilisé.

La méthode d'extraction par macération en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction des deux échantillons (écorce de citron, écorce d'orange) a permis d'obtenir respectivement des taux d'extraction de **12,25%, 11,32%** (figure 14).

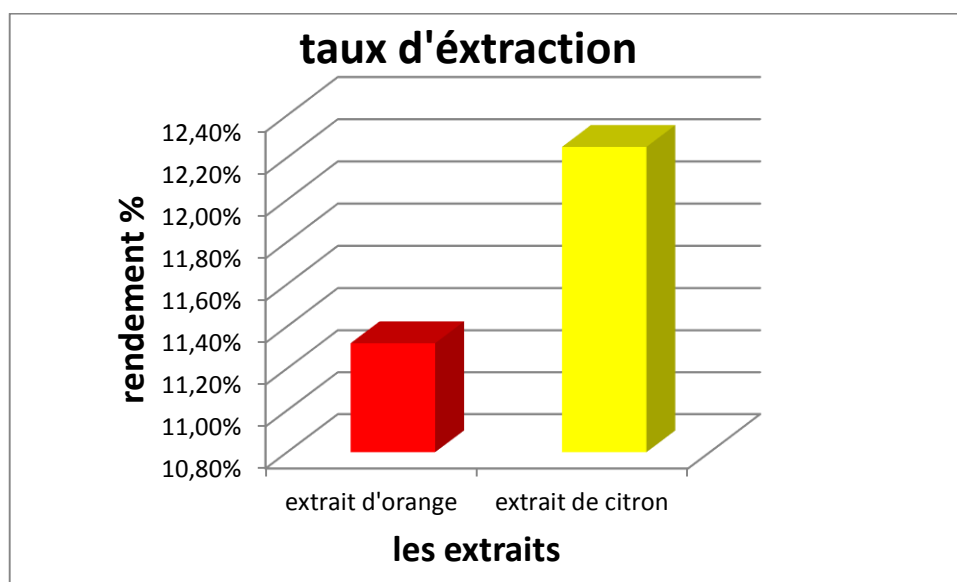


Figure (14) : Taux d'extraction des polyphénols des deux échantillons de citrus.

Bien que le matériel végétal est le même, une variabilité des rendements d'extraction des écorces d'orange et de citron a été observée. L'extraction de l'écorce de citron a donné le rendement le plus élevé (**12,25%**), suivie de celle de l'écorce d'orange (**11,32%**).

Cette variabilité du rendement des deux extraits peut être due à la différence de la granulométrie des particules et le type de matériel végétal utilisé.

CHAPITRE III :RESULTATS ET DISCUSSION .

D'autre part, indépendamment du solvant utilisé, il a été noté que l'espèce de citron présente les meilleurs taux d'extraction par rapport à l'espèce citrus orange.

III. 2. DOSAGE DES COMPOSES PHENOLIQUES TOTAUX :

Les citrus sont une source importante en composés bioactifs dont les composés phénoliques (acide phénolique, flavonoïdes...) qui peuvent être le majeur contributeur a l'activité antioxydante.

Le contenu phénolique a été déterminé via le test de folin-ciocalteu et selon la méthode de (Zhu K.X.2010) .d'après (Huang Et Al., 2005), le test de folin –ciocalteu a été choisi pour doser les composés phénolique pour les raisons suivantes :

- C'est une méthode qui satisfait les critères de faisabilité et de reproductibilité.
- La disponibilité du réactif de folin-ciocalteu.
- La méthode est bien standardisée.
- La grande longueur d'onde (765 nm) d'absorption du chromophore permet de minimiser les interférences avec la matrice d'échantillon qui est souvent colorée.
- C'est un test largement pratiqué dans les laboratoires de recherche des antioxydants alimentaires à travers le monde.

La couleur bleu après 2h d'incubation confirme la présence des polyphénols qui ont réduit le réactif folin-ciocalteu. L'intensité de la couleur qui varie entre le bleu clair et le foncé est fonction de la teneur en polyphénols.

Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme étalonnage établie avec l'acide gallique ($y=0,006x +0,110$).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg d'acide gallique équivalents par gramme d'échantillon (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Annexe 1**).

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait de plante a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage.

Les concentrations des polyphénols totaux obtenues sont présentées dans la figure () ils sont exprimés en ($\mu\text{g/ EAA/g}$) ES.

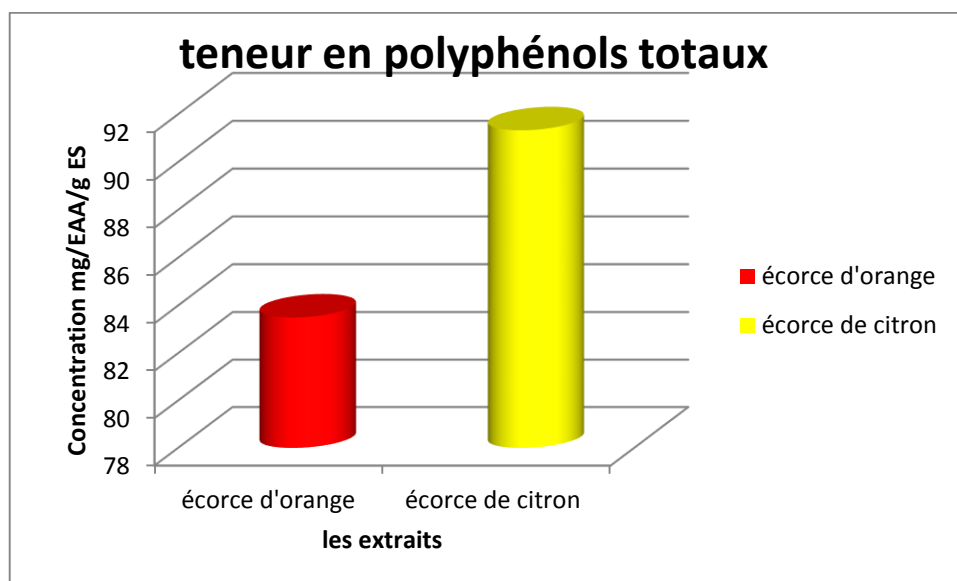


Figure 15 : teneur en phénols totaux dans les deux extraits d’orange et de citron

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques montre des résultats différents qui sont de 83,5 ; 91,33mg GAE/g ES, correspondants aux extraits suivant respectivement : écorce d’orange, écorce de citron.

Selon les résultats, la teneur en polyphénols totaux est significativement supérieure dans les extraits de citron que dans ceux d’orange, ces résultats sont en accord avec ceux démontré par d’autres travaux antérieurs sur la teneur totale de polyphénols de citrus (**Gorinstein Et Al ., 2001**).

Toutefois, d’autres études ont montré que les teneurs en polyphénols totaux des extraits d’écorce de citron et d’orange sont variable et non conformes avec nos résultats (**Ghasemi Et Al., 2009 ; K Et Alexander., 2009**) ; ceci peut être du a la nature du solvant utilisé, la méthode d’extraction et la température d’extraction.

II.2.1. Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été effectué avec la méthode spectrophotométrique qui est une méthode colorimétrique adaptée de (**Zhishen Et Al., 1999**).

CHAPITRE III :RESULTATS ET DISCUSSION .

Une couleur jaunâtre est formée dans les deux extraits de citron et d'orange après l'addition de la solution de chlorure d'aluminium (AlCl_3), cette coloration révèle la présence des flavonoïdes dans les extraits analysés. D'où on a calculé la teneur en flavonoïdes qui est exprimée en mg équivalent de quercitrine pour 100 gramme de pois sec des poudres (mg QE/100g DW) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de quercitrine (**annexe 2**).

Les concentrations des flavonoïdes sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme étalonnage établie avec la quercitrine ($y=0,008x-0,31$).

Les concentrations des flavonoïdes obtenues sont présentées dans la figure (16) ils sont exprimés en mg QE/ 100g DW.

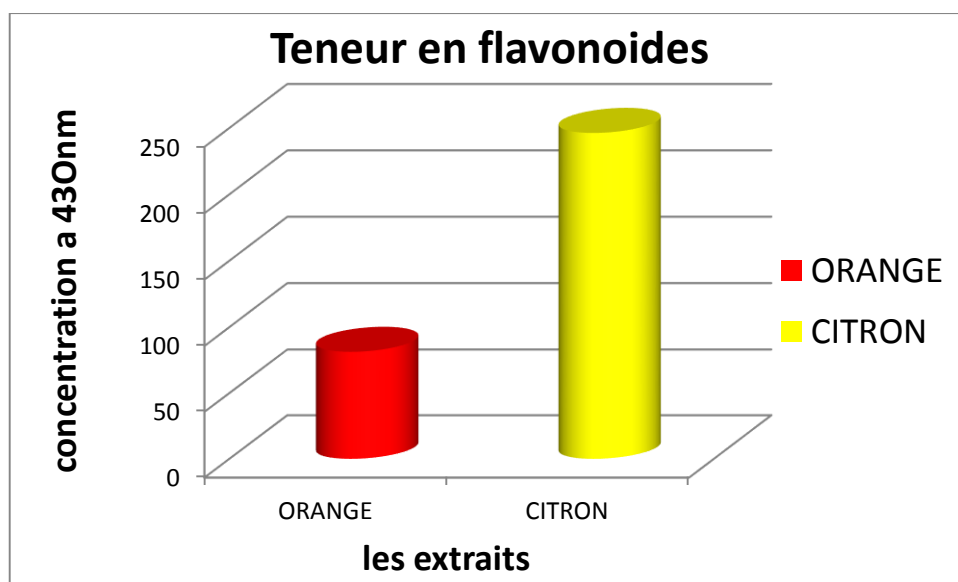


Figure 16 : teneurs en flavonoïdes dans les parties écorce de citron et d'orange

D'après l'histogramme illustré dans la figure , nous avons observé que l'écorce de citron a plus de quantité de flavonoïde de 246,25mg/ml, suivi de l'écorce d'orange de 81,375 mg/ml. 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 extrinsèques tels que la méthode d'extraction et la nature du solvant utilisé.

III.3. Détermination du potentiel antioxydant des extraits végétaux :

Pour évaluer l'effet antioxydant des extraits végétaux deux techniques ont été réalisées :

On a utilisé la technique **FRAP (ferric reducing antioxydant power)** et le radical **2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyl (DPPH)**.

III.3.1. Méthode de FRAP (ferric reducing antioxidant power) :

L'activité antioxydante des deux extraits a été évaluée en utilisant la méthode FRAP ; cette dernière est un essai simple, rapide et reproductible. Il est universel peut être appliqué aussi bien chez les plantes et dans les extraits organique et aqueux (**Li Et Al., 2008**). Cette méthode est basée sur la capacité des polyphénols à réduire le fer ferrique Fe^{3+} en fer ferreux Fe^{2+} . La puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants (**Karagozler Et Al., 2008**).

Dans notre travail nous avons opté pour tester les différents extraits de citron et d'orange les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait d'après la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

➤ Acide ascorbique :

L'acide ascorbique est un antioxydant hydrosoluble, son rôle essentiel dans les compartiments intra et extracellulaire, est mal connu. Il fait intervenir dans son mécanisme d'action, des réactions d'oxydoréduction entre la forme réduite de l'acide ascorbique et sa forme oxydée (dehydroascorbate) (**Pastre., 2005**).

Les résultats représentés dans nos courbes ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration nos échantillons (**Ozturk Et Al., 2007 ; Su Et Al., 2008 ; Liuk Et Al., 2009**).

D'après la d'acide ascorbique (méthode démontré en annexe 1) on mesure le pouvoir réducteur des deux extraits selon leur absorbance.

Les valeurs présentées selon les **figures (17 et 18)** ; montrent le pouvoir réducteur des deux extraits à différentes concentrations.

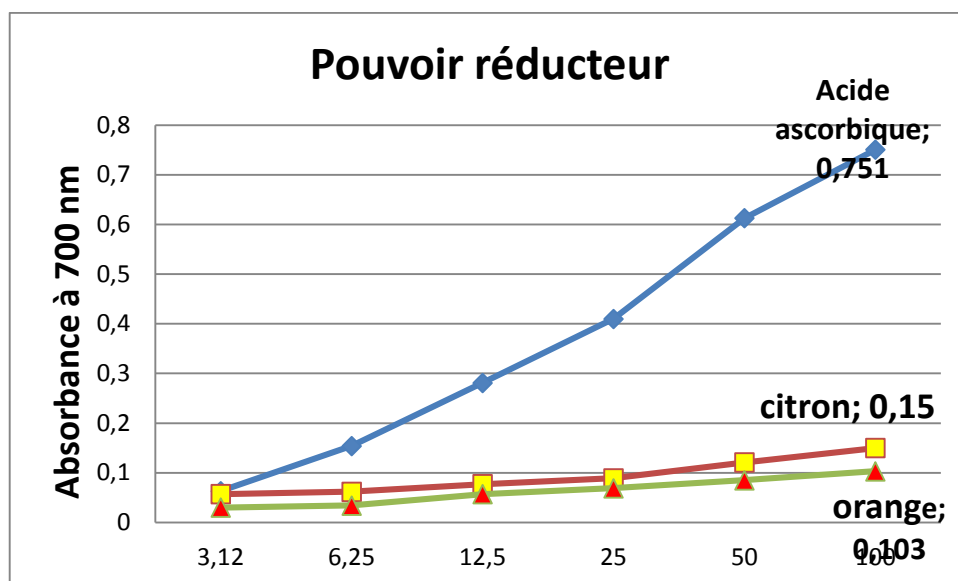


Figure 17 : Pouvoir réducteur des deux extraits des écorces (orange et citron) et l'acide ascorbique.

Nous remarquons dans les graphes illustrés dans la **figure 18** que la capacité à réduire le fer de l'acide ascorbique est plus importante si nous la comparons avec les autres fractions qui possèdent une faible activité avec des densités optiques qui ne dépassent pas 100mg/ml. (DO=0,15 pour le citron ; DO=0,103 pour l'orange mais elle reste toujours inférieure à celle de l'acide ascorbique.

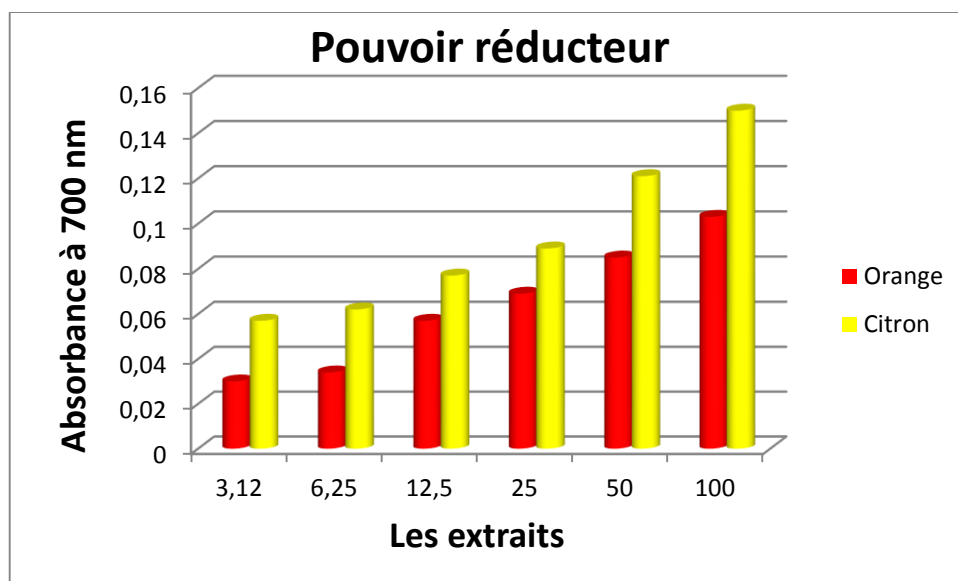


Figure 18 : Pouvoir réducteur des deux extraits.

CHAPITRE III :RESULTATS ET DISCUSSION .

La capacité antioxydante totale des extraits étudiés est exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique à partir d'une courbe d'étalonnage ($y=0,006 X +0,158$; $R^2=0,874$). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par g de l'extrait sec (mg EAA/g ES) (annexe3).

Les résultats obtenus ont montré que l'augmentation de la réduction du fer (DO à 700 nm) est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique et des deux extraits des écorces d'agrumes.

Tous nos extraits présentent des activités antioxydantes nettement inférieures à celle de la référence (acide ascorbique), pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 0,063 mg/ml.

Afin de comparer l'activité antioxydante des extraits des deux fruits par cette méthode, nous avons calculé IC 50 qui est défini comme la concentration nécessaire pour réduire 50% du fer. Les résultats obtenus sont illustrés sous forme d'histogramme dans le tableau 8.

Tableau 8 : les résultats des IC50 pour le test de FRAP

	IC 50 (mg/ml)
Acide ascorbique	8307
Ecorce de citron	49939
Ecorce d'orange	49961

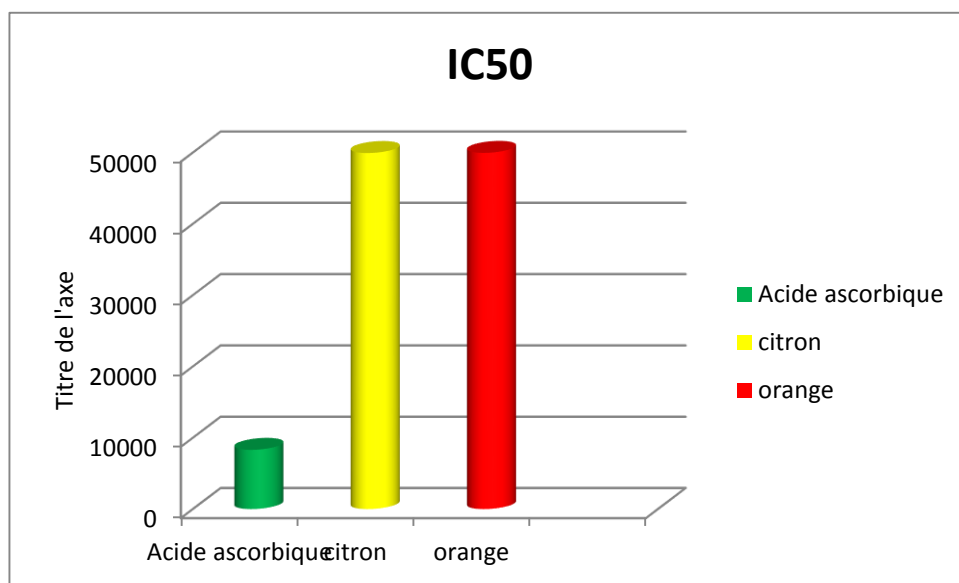


Figure 19 : Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50% du fer des différents extraits en mg/ml.

Nous remarquons que la capacité à réduire le fer est variable entre les différents extraits de fruits. Elle est beaucoup plus importante dans l'extrait d'orange suivi de citron, nous pouvons déduire que tous les extraits de citrus ont la capacité pour réduire le fer.

La capacité réductrice d'un composé peut servir comme un indicateur significatif de son activité antioxydante potentielle (Yang Et Al, 2008) .

III.3.2 Evaluation de pouvoir anti radicalaire par le DPPH :

Le pouvoir antioxydant de nos différents extraits a été aussi estimé avec la méthode de DPPH. En effet, c'est celle qui est utilisée dans le monde entier (Scherveret Godoy, 2009) et la plus populaire pour le dépistage de l'activité anti-radicalaire d'un composé unique ou d'un mélange de composés. Cette méthode est considérée, d'un point de vue méthodologique, comme l'une des plus faciles, plus précise et productive de l'activité antioxydante des jus des fruits, des extraits de plantes et des composés purs comme les flavonoïdes (Pereira Nunes Et Al, 2012).

Le radical DPPH est l'un des substrats le plus utilisé généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin Et Al., 2008).

CHAPITRE III :RESULTATS ET DISCUSSION.

Cette méthode spectrophotométrique utilise le radical DPPH (2, 2'- diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette comme réactif, qui vire au jaune en présence de capteurs de RLS, et se réduit en 2,2'-diphényle-1-icrydrazine (**Burits Et Bucar, 2000**).

Après 30 min d'incubation de la solution DPPH-extrait (à différente concentration), la coloration violette vire vers une coloration jaune dans les deux extraits. Ce changement de couleur est dû à la réduction de DPPH, ce qui montre que l'échantillon a un effet Scavenger de radical DPPH.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH dans sa forme non radicalaire. À partir de ces courbes, nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition obtenus en fonction des concentrations utilisées ainsi que la valeur d'IC50 de chaque extrait.

Nous avons opté pour tester les différents extraits de citron et d'orange et les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes pour chaque extrait d'après la courbe d'acide ascorbique, les résultats représentés dans nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos echantillons (**Ozturk Et Al, 2007 ; Su Et Al, 2008 ; Liuk Et Al,2009**).

La capacité antioxydante totale des extraits étudiés est exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique à partir d'une courbe étalonnage ($y=0,006 X + 0,158$; $R^2=0,874$) (figure :) les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par g de l'extrait sec (mg EAA/g ES).

D'après la d'acide ascorbique (méthode démontré en annexe3) on mesure le pouvoir réducteur des deux extraits selon leur absorbance.

Les valeurs présentées selon les **figures** 20 et 21 ; montrent le pouvoir réducteur des deux extraits a différents concentrations.

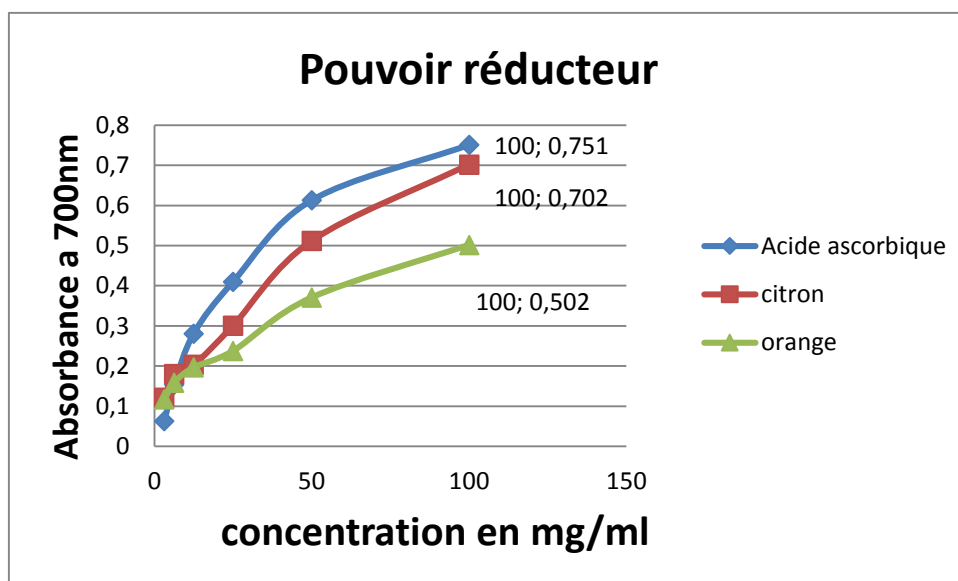


Figure 20 : pouvoir réducteur DPPH des deux extraits (orange et citron) et l'acide ascorbique

Nous remarquons dans les graphes illustrés dans la figure que la capacité antioxydante de l'acide ascorbique est la plus importante si nous avons la comparé avec les autres fractions qui representent une faible activité avec des densités optiques qui ne dépasse pas 100mg/ml. (DO=0,702 pour le citron ; DO=0,502 pour l'orange mais elle reste toujours inferieur a celle de l'acide ascorbique.

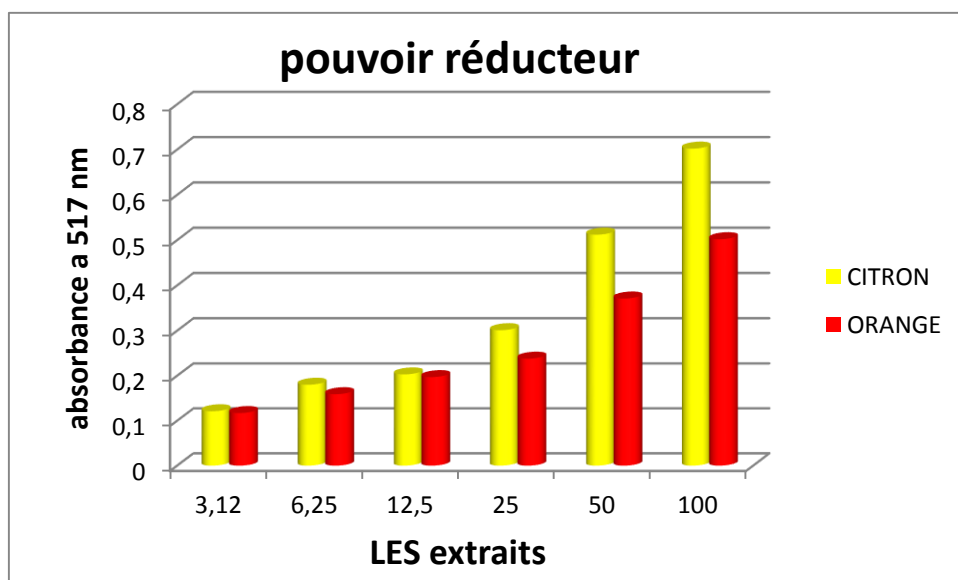


Figure 21 : Pouvoir réducteur du DPPH des deux extraits.

CHAPITRE III :RESULTATS ET DISCUSSION .

Les résultats obtenus ont montré que l'augmentation de la réduction du fer (DO a 517 nm) est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique et des deux extraits des écorces d'agrumes.

Tous nos extraits présentent des activités antioxydant nettement inférieures à celle de la référence (Acide ascorbique), pour ce dernier la réduction est presque totale à partir d'une concentration de 0,063 mg/ml.

L'activité antioxydante évaluée pour les différents extraits de citrus que le standard utilisé est exprimé en IC₅₀ (concentration inhibitrice 50) ; c'est la concentration d'extrait qui neutralise (réduit) 50% de radical libre (DPPH), plus L'IC₅₀ est faible plus l'extrait est doté d'un potentiel antioxydant puissant. L'ensemble des résultats de l'activité antioxydante exprimée en IC₅₀ est représenté dans le tableau ci -dessous (figure) :

	IC 50 (mg/ml)
Acide ascorbique	8307
Ecorce de citron	8310
Ecorce d'orange	16622,6

Tableau 9 : les résultats des IC₅₀ pour le test DPPH

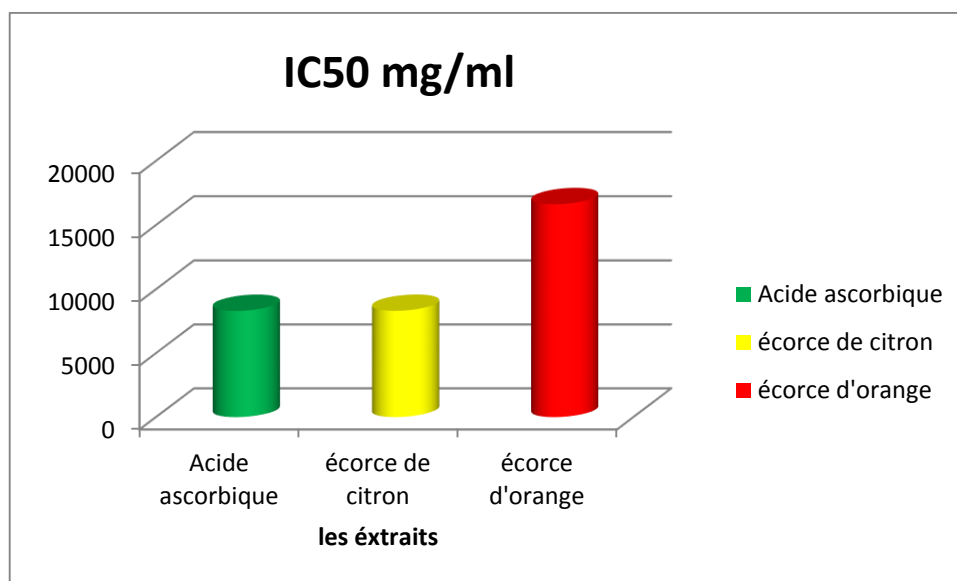


Figure 22: Histogramme des valeurs des concentrations nécessaires pour la réduction de 50% de DPPH des différents extraits en mg/ml

Selon ces résultats, il est à constater que quelque soit l'espèce, l'écorce de citron est plus active que l'écorce d'orange ; toutefois, cette activité antioxydante est significativement importante par rapport aux standard utilisé (acide ascorbique) qui a donné une IC50 égale 8307 mg/ml

La différence dans l'activité anti-radicalaire au DPPH entre les extraits des deux citrus analysés est probablement due à leur composition en différents composés phénoliques. La réduction du DPPH n'est généralement pas due à l'action d'un seul composé mais à l'interaction entre plusieurs composés, ces interactions peuvent exister dans un extrait pas dans un autre, conduisant ainsi à cette différence d'activité entre les extraits.

Nos résultats sont en accord avec ceux déjà publiés qui ont montré que l'écorces de citrus représentent la fraction la plus riche en polyphénols, laquelle a révélé un potentiel antioxydant puissant (**Bacco Et Al. 1998 ; Gorinstein Et Al. 2001**).

CONCLUSION GENERAL

-Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude des activités antioxydantes (pouvoir réducteur, activité anti radicalaire DPPH) et au dosage des antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes) contenus dans les écorces d'orange et de citron.

-Ce travail nous a permis en premier lieu de maîtriser les plus simples techniques analytiques en passant de l'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale, la méthode d'extraction par macération en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction des écorces d'orange et de citron.

-L'extraction de l'écorce de citron a donné le rendement le plus élevé par rapport à l'écorce d'orange et cette variabilité peut être due à la différence de la granulométrie des particules et le type de matériel végétal utilisé.

-Les principaux résultats obtenus indiquent que, la teneur en polyphénols totaux est significativement supérieure dans les extraits de citron que dans ceux d'orange.

-Pour les flavonoïdes nous avons observé que l'écorce de citron a plus de quantité de flavonoïde par rapport à l'écorce d'orange.

-Les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits d'orange sont plus faibles que celles des extraits de citron, ceci est lié en particulier à la nature chimique du matériel investigué.

-L'évaluation du pouvoir antioxydant de nos extraits analysés a été réalisé par la détermination de leur pouvoir de piégeage du radical du DPPH en déterminant leur efficacité (IC50) suivant ce paramètre, les extraits de l'écorce de citron sont plus puissants que les extraits d'écorce d'orange.

-L'évaluation de l'activité antioxydante des deux extraits analysés a été évaluée en utilisant la méthode de frappe, d'après la courbe d'acide ascorbique on mesure le pouvoir réducteur des deux extraits, les résultats obtenus ont montré que l'augmentation de la réduction du fer est proportionnelle avec l'augmentation de la concentration des deux extraits, en déterminant leur efficacité (IC50) suivant ce paramètre les extraits de l'écorce de citron plus puissants que l'écorce d'orange .

LES ANNEXES

I. Annexe 1 : matériels et produits chimiques

1-Matériel du laboratoire.

- La verrerie : tube à essai, bécher, erlenmeyer, flacon.
- L'appareillage
- Balance de précision
- Etuve
- Spectrophotomètre
- Autre : spatule, micropipettes (100 et 1000 μ l), papier d'aluminium, papier absorbant, papier filtre, tube à essais,

2 - les produits chimiques et les solvants.

- Réactif de folin –ciocalteu (FCR)
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Trichlorure d'aluminium (AlCl_3) et Acétate de sodium
- Eau distillée, Ethanol, Méthanol.
- Le DPPH
- Le FRAP
- Tampon phosphate
- Ferricyanure de potassium
- Acide trichloracétique
- Chlorure ferrique

➤ Les standards utilisés :

- Acide gallique
- Quercitrine
- Acide ascorbique

LES ANNEXES

II. Annexe : les courbes d'étalonnage .

Figure 1 : Courbe d'étalonnage (d'acide gallique) du dosage des poly phénols totaux

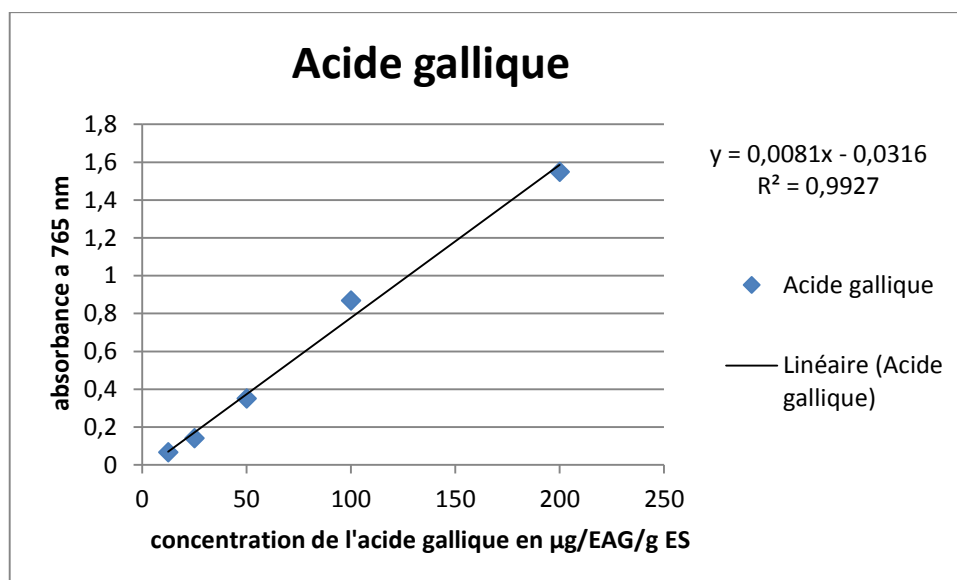
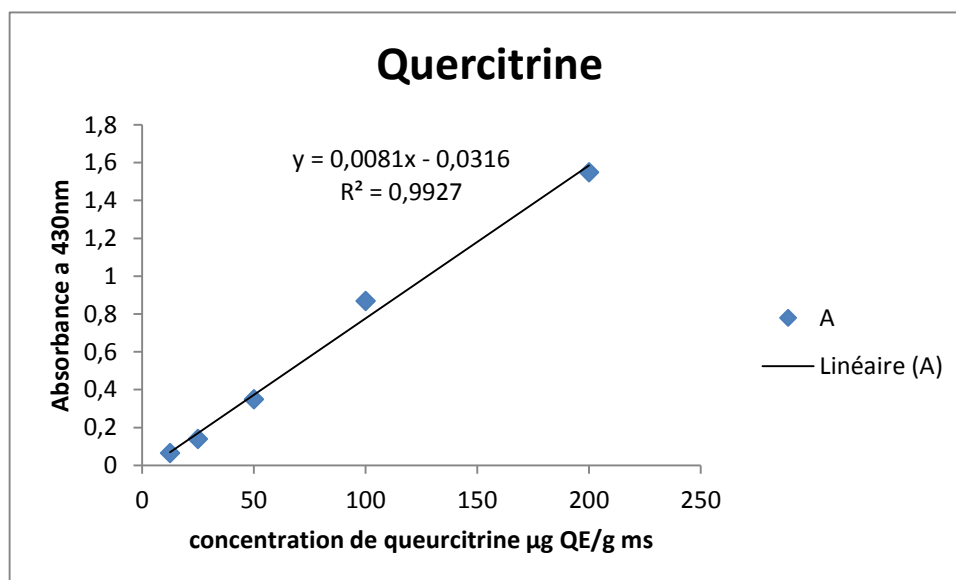


Figure 2 : courbe d'étalonnage de Quercitrine pour le dosage des flavonoïdes.



LES ANNEXES

Figure 3 : courbe étalonnage de l'acide ascorbique

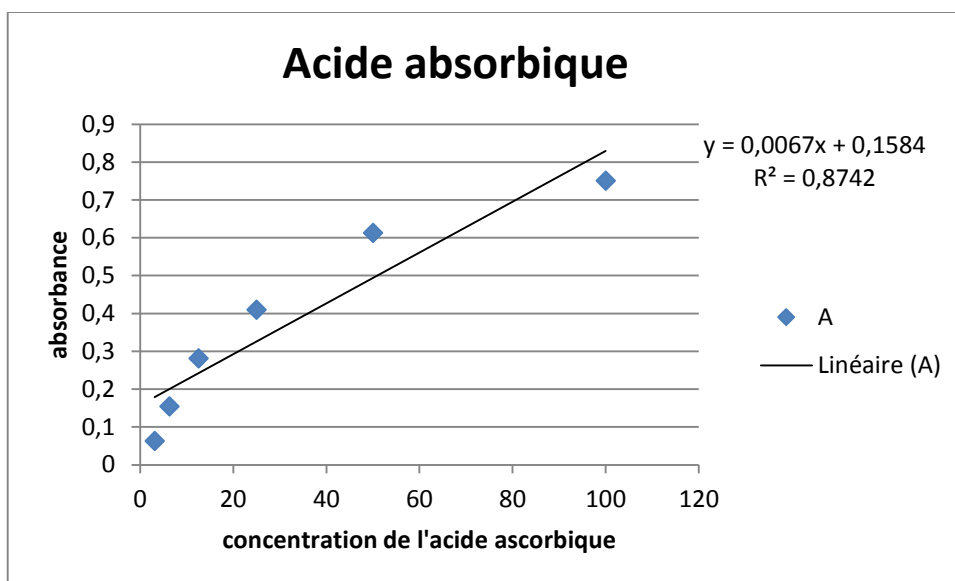
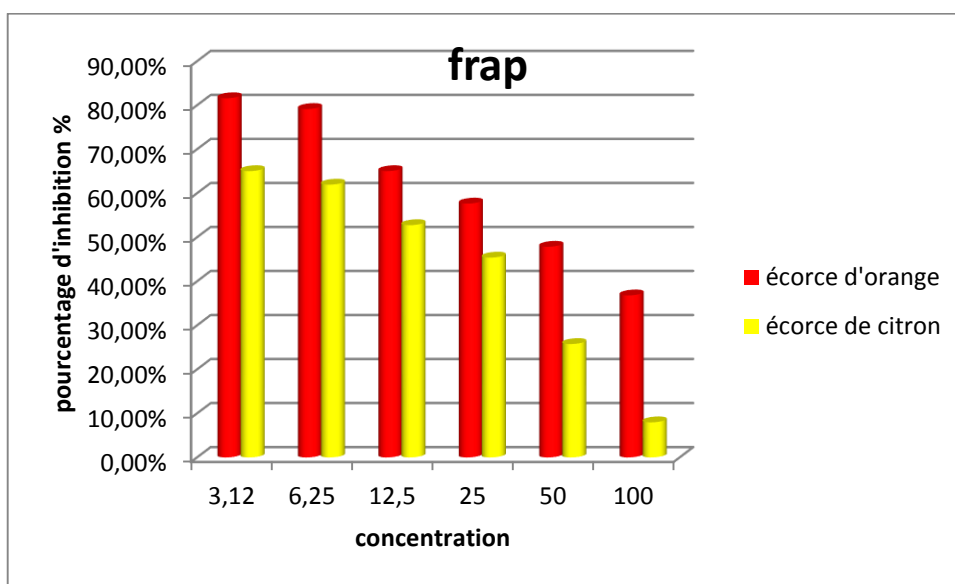


Figure 4 : évaluation de pouvoir réducteur FRAP en fonction des extraits de citron et d'orange



LES ANNEXES

Figure 5 : évaluation de pouvoir réducteur DPPH en fonction des extraits de citron et d'orange

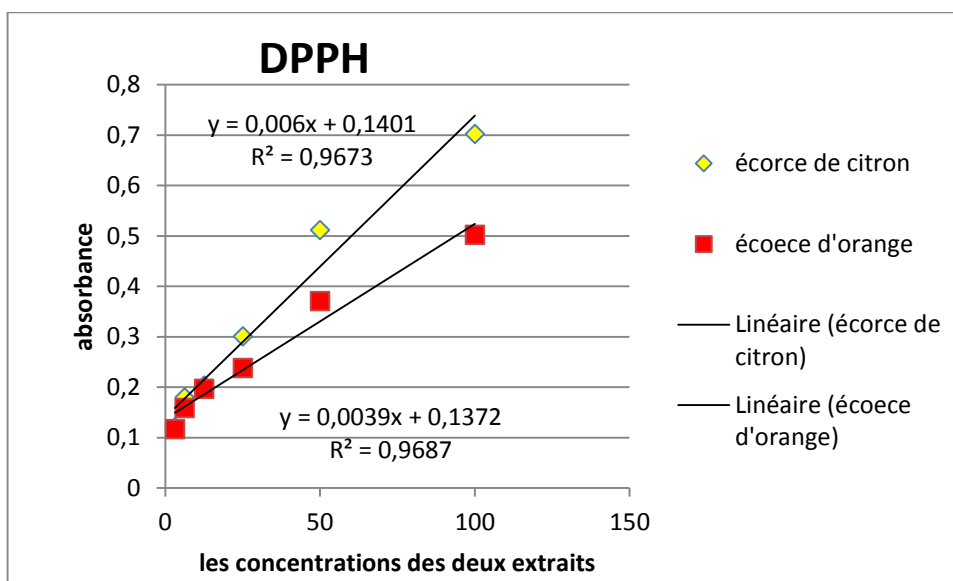
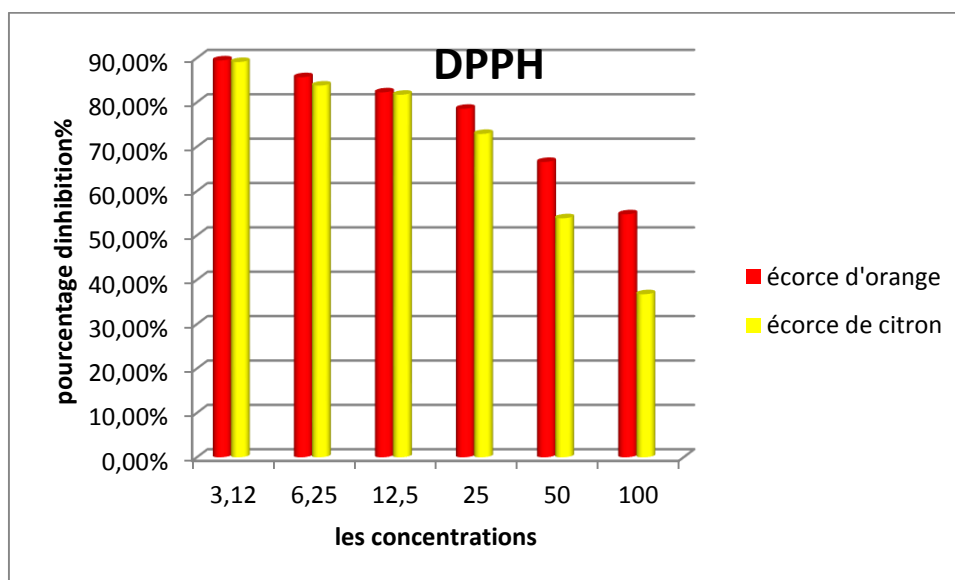
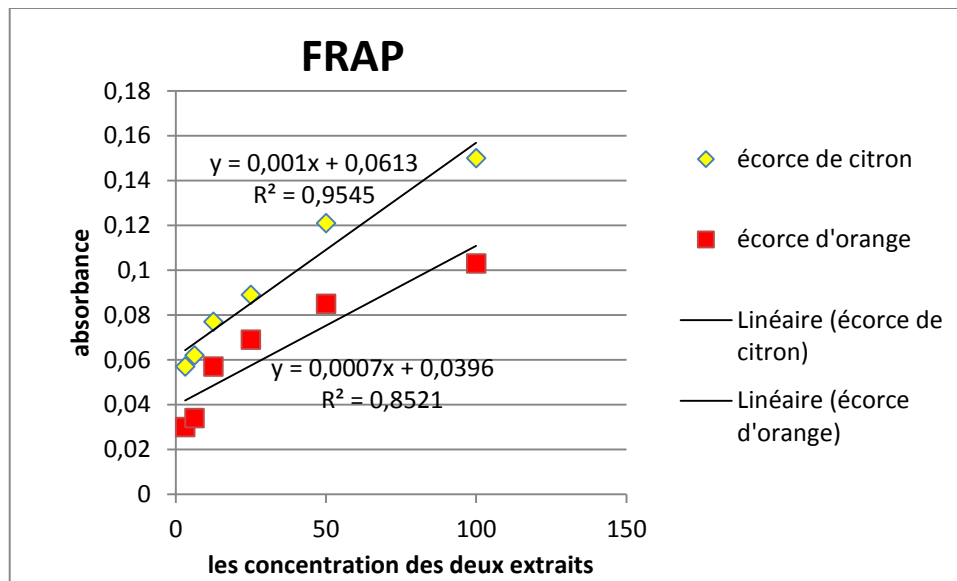


Figure 6 : pouvoir réducteur DPPH des deux extraits d'orange et citron



LES ANNEXES

Figure 7 : pouvoir réducteur FRAP des deux extraits orange et citron



Références bibliographique

A

- **Al-zoreky, N.S. (2009).** Antimicrobial activity of *pomegranate (punica grantum L.)* fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, **134**: 244-248.
- **Aruoma, O.I. (2003).** Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in food plants. *Mut. Res*, **9(20)**: 523 - 524.

B

- **Bahouri, W., Mohamed, B. S., Soumaya., Ines, B., Marie-Genevière., Dijoux-franca., kamel, G., et leila, C.G. (2011).** Evaluation of antioxydant and antigenotoxic activity of two flavonoides from *Rhamnus alaternus L.* (Rhamnaceae), kaempferol 3-o-isorhamnisoside and rhamnocitrin 3-O-b isorhamnisoside. *Food and chemical toxicology*, **49**: 1167- 1173.
- **Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Gazin, M., Gazing, J.C. ET Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimforsch Drug Research*, **49**: 1086-1108.
- **Bénédict ET Michel, B. (2011).** *Agrumes comment les choisir ET cultiver facilement. Les éditions eugen ulmer, 8 rue Blanche, Paris, N° d'édition: 440-01.p.127.*
- **Berlett, B.S., Stadtman, E.R. (1997).** Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *The journal of biological chemistry*, **272 (33)**: 20313-20316.
- **Berger, M.M. (2005).** Can oxydatif damage be treated nutritionally? *Clinical nutrition*, **24**: 172-183.
- **Bocco, A., Cuvelier, M.E. Richard, H., Berset, C. (1998).** Antioxydant Activity and Phenol Composition of Citrus Pell and Seed Extracts. *J. Agric. Food Chem*, **46(6)**: 2123-23.

- **Bousbia, N. (2009).** *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires.* Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique.
- **Bousbia, N., Vian, M.A., Ferhat, M.A., Meklati B.Y., Chemat, F. (2009).** A New process for extraction of essential oil from citrus peel: Microwave Hydrodiffusion and Gravity. *Journal of Food Engineering*, 90: 409- 413.
- **Bumrela, S., Naik, S., (2011).** Identification of β -carotene and β sitosterol in methanolic extract of *Dipteracanthus patulus* (Jacq) nees and their role in antimicrobial and antioxidant activity. *International journal of phytomedicine*, (3): 207p.

C

- **Cheesman K., Slater H. (1993).** An introduction to free radicals biochemistry. *British Medical Bulletin*. 49: 481-493.
- **Choi, S., Hee-chul, K., Soo-youn, K., Joon-HO, H., Ji-Gweon, P., shin-hae, K., Sanghun, H., Su-Hyun, ET Se-Jae, k. (2007).** Correlation between Flavonoid content and the in vitro production inhibitory Activity of peel extracts from various citrus fruits. *Boil. Pharm. Bull.* **30(4)**: 772-778.
- **Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K. et al., (1998).** Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod*, **61**: 71-76.
- **Cotelle, N. (2001).** Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem*, **1**: 569-590.
- **Cowan, M.M. (1999).** Plant products as antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 564-582.

D

- **Dacosta, Y. (2003).** *Les phytonutriments bioactifs.* Paris : Ed Yves Dacosta. P. 317.

- **Davier, K.J.A. (2000).** Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life*, **50**: 279–289.
- **Del Rio, J.A., Fuster, M. D., Gomez, P., Porras, I., Garcia-Lidon, A., ET Ortuno, A. (2004).** *Citrus limon* : a source of flavonoid of pharmaceutical interest. *Food chem*, **84**:457-461.

E

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

F

- **Favier, A. (2003).** Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques*, 108-115.
- **Fuhrman, B., Lavy, A., Aviram, M. (1995).** Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am. J. Clin. Nutr*, **61**: 549-554.
- **Fuji, J., Iuchi, Y., Matsuki, S., Ishi, T. (2003).** Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissue. *Asian Journal of Andrology*, 1-12.

G

- **Gardes-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, D., Abedinzadeh Z., Jore, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. Comment l'oxygène peut-il devenir toxique?. *Mécanisme biochimique*, 91-96.
- **Gerhard, K et Alexander, H. (2009).** Nutritional-Physiological Properties of Citrus Fruit Peel and Seed. *Nutrition Security For all*.
- **Ghasemi, K., Ghasemi, Y., and Mohammed, A.E. (2009).** Antioxydant Activity, Phénol and Flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm*, **22 (3)**: 277- 281.
- **Griotti, A.W. (1998).** Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of Lipid Research*, **39**: 1523-1542.

- **Gonzalez-molina, E., Dominguez-perles, R., Moreno, D.A. ET Garcia-viguera. (2010).** Natural bioactive compounds of *citrus limon* for food and health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51: 327-345.
- **Gordon, M.H. (1990).** *The mechanism of antioxidant in vitro*. In: "Food antioxidants": Ed. HUDSON B.J.F. pp: 1-18.
- **Gorinstein, S., Martin-belloso, O., Park, Y.S et al (2001).** Composition of some biochemical characteristics of different citrus fruit. *Food Chem*, 47(3): 115-309.
- **Grun, I., Barbeu, W.E., Crowther, J.B. (1996).** Change in headspace and peroxide value of undeorized menhaden oil over 20 weeks of storage. *Journal of agricultural and food chemistry*,
- **Gulçin, I., Huyut, Z.B., Elmastas, M., Hassan, Y. ET Aboul-Eein, d. (2010).** Radical scavenging and antioxydant activity of tannic acid. *Arabian Journal of chemistry*. 3: 43-53.
- **Gutteridge, J.M.C. (1995).** Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *CLIN CHEM*, 41/12: 1819-1 828.

H

- **Halliwel, B. (2007).** Dietary polyphénol: good, bad, or different for your health?, *Cardiovasc Res*, 73(2): 47-341.
- **Halliwel, B., Clement, M.V., Long, H.L. (2000).** Hydrogen peroxide in the human body. *Federation of European Biochemical Societies*, 486: 10-13.

I

- **Ibrahim, M.I. ET Hegazy, A.E. (2012).** Antioxydant activities of orange peel extract. *Departement of Food science and technology*, 18(5): 684-688.

J

- **Jovanovic, S.V., Steenken, S., Simic, M.G., Hara, Y. (1998).** Antioxidant properties of flavonoids. *AHDIEQ Journal*, 7: 137-161.

K

- **Kawaguchi, K., Kikuchi, S., Hasunuma, R., Maruyama, H., Yoshikawa, T., ET Kumazawa, Y. (2004).** A citrus flavonoid hesperidin suppresses infection. Induced endotoxin shock in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(5): 679-683.

- **Kim, D. k., Lee, C.Y. (2004).** Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free Radical and its Structural Relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **44**: 253–273.

L

- **Ladoh Yemeda, C.F., Dibong, S.D., Nyegue, M.A., Djembissi Talla, R.P., Lenta Ndjakou, B., Mpondo, E., Yinyang, J., Wansi, J.D. (2014).** Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) récoltée sur *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*. **84**: 7636– 7643.
- **Lee, J., Koo, N., Min, D.B. (2004).** Reactive oxygen species, aging, and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, **3**: 21-33.
- **Lillo, C., Uunis. And Peter, R. (2008).** Nutrient depletion as a key factor for manipulating gene expression and product formation in different branches of the flavonoid pathway. *Plant, Cell and Environment*, **31**: 787-601.
- **Liu R. H. (2004).** Potential Synergy of Phytochemicals in cancer prevention: Mecanisme of action. *The Journal of Nutrition*. **134**: 34795-34855.
- **Loussert, R. (1989).** *Les agrumes.2.paris* : production Edition Lavoisier. 157 p.

M

- **Manach, C., Scalbert, A., Morand C., Remesy C., Amenez L. (2004).** Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American journal of Clinical Nutrition*. **79**: 727-747.
- **Manthey, J.A., Guthrie, N., ET Grohmann, K. (2001).** Biological properties of citrus flavonoids pertaining to cancer and inflammation. *Current Medicinal Chemistry*, **8**, 135-153.
- **Matés, J.M. (2000).** Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, **84, 153**: 83–104.
- **Marfak, A. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de pesticides.** Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie, Université de LIMOGES-Ecole Doctorale Science Biologie Santé, Décembre 2003, p. 220.

- **Miladovic, S., Ivekovic, D. et Bozidar, S.G. (2006).** A novel amperometric method method for antioxydant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, **68**: 175-180.
- **Min, Y.K., In-Jung., Hyo, Y.L., Dong-Sun, L., Soon, J.I., Ji, H.K., Ji, H.B., Ji, Y.K. , Youn, J.L., Seo, R.J., Jung, H.K., Seo, H.M. (2012).** Characterization of the antioxidant properties of citrus mutants induced by Gamma-rays. *Life Science Journal*. **9** (3): 1495- 1500.
- **Muthiah, P.L., Umamaheswari, M., Asokkumar, K. (2012).** In vitro antioxidant activities of leaves, fruit and peel extracts of citrus. *International Journal of Phytopharmacy*, **2(1)**: 13- 20.

O

- **Ortuno, A.A., Baidez, P., Gomez, M.C., Arcas, I., Del-Rio, J.A. (2006).** Citrus paradise and *citrus sinensis* flavonoids: their influence in the defense mechanism against penicillium digitatum. *Food Chem*, **98(2)**: 58-351.

P

- **Padrini, F., Lucheroni, M.T. (1996).** Le grand livre des huiles essentielles - guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et L'aromassage Energetiques avec Plus de 100 Photographies. Paris : Ed. De Vecchi. pp.11, 15, 61 et 111.
- **Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A; Flerlage, N., Burillo, J., Codina, C. (2002).** Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and no distilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem*. **50**: 90–6882.
- **Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005).** Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary. *J. Agric. Food Chem*, **53**: 4290-4302.
- **Prouillac, C. (2009).** *Synthèse et évaluation de nouveaux composés organique et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro.* Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III.

R

- **Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, 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.
- **Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O., Bourdon, E ET Bahorun, T. (2011).** Polyohénol composition, vitamin C content and antioxydant capacity of mauritian citrus fruit pulp. *Food Research International*, **44**: 2088-2099.
- **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ET Rice-Evans, C. (1999).** Antioxydant activity applying and inapoved ABTS radical cation decolorization assay free,radical biology and medicine, **26**: 1231-1237.
- **Rebereau-Gayon, p. (1968).** Notion générale sur les composés phénoliques. In : *lescomposés phénoliques des végétaux*. Edition Dunod, 1-40.
- **Roncone, R., Barbieri, M., Monzani, E., Casella, L. (2006).** Reactive nitrogen species generated by heme proteins: Mechanism of formation and targets. *Coordination Chemistry Reviews*, (sous press).

S

- **Sanchez-Moreno, C. (2002).** Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Tech Int*, **8(3)**: 121–137.
- **Seung-cheol, L., Seok-Moo, J., So-Young, K, Dong-Ryul, K., Seong-Chun, J., Nam, K.C., ET Ahn, D.U. (2004).** Effet of Heat Treatement on the Antioxydant Activity of Extracts from Citrus Peel. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**: 3389-339.
- **Shaik, M., Harekrishna, R., Shaik, A.R. (2015).** Antioxidant and Free Radical Scavenging,Activity of *Citrus Medica*. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*, **3(4)**: 810-816.
- **Singleton, V.L and Esau, P. (1969).** Phenolic substances in grapes and wine and their significance. *Advances in Food research*.
- **Singleton, V., ET Rossi, J.A. (1965).** Colorimetry of total phénolics with phosphomotungstungstics acid reagent. *Am J Enol Viticulture*, **16**: 144-158

- **Souci, S.W., Fachmann, W., Kraut, H. (1996).** *Fruit. In "Food composition and nutrition tables"*. Ed. CRC. pp: 892, 893, 928, 929.
- **Sultana, B., Anwar, F., Mushtaq, M. and Alim., M. (2015).** Citrus residues: A potential source of phenolics with high antioxidant values. *International Food Research Journal*, **22(3)**: 1161-1163.
- **Szabo, C. (2003).** Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. *Toxicology Letters*, 140- 141,105-112.

T

- **Tripoli, E., Guardia, M., Gimmanco, S., DiMajo, D. ET Giammanco, M. (2007).** Citrus flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties. *Food Chemistry*, **104**: 466-479.
- **Tumbas Vesna, T., Cetkovic Gordana, S., Djilas Sonja, M., Canadanovic-Brunet Jasna, M., Vulic, K., Zeljko, K.J., Skerget, M. (2010).** Antioxydant activity of mandarin (citrus reticulate) peel. *BIBLID*, **40**: 195-203.

V

- **Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J. (2004).** Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **266**: 37-56.
- **Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact*, **160**: 1-40.
- **Valnet J. (2001).** La santé par les fruits, légumes et les céréales. Ed Vigot. pp: 207-281.

W

- **Webber, H.J., Reuther, W., ET Batcholor, L.D. (1967).** The citrus industry, volume 1: History, world distribution, botany and varieties. Edition. University of California press.

Site internet:

Anonyme. www. lycos. Fr. Consulté le 18 janvier 2007.

www.femmesdaujourdhui.be .

euphryagrifood.blogspot.com/2012/10/valorisation-des-sous-produits-de-la_4.html.