

*Algérienne Démocratique et Populaire*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique*



*Université de Ghardaïa*

N° d'ordre :

**Faculté des Sciences et Technologies**

**Département de Génie des procédés**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Domaine : *Sciences et Technologies***

**Filière : *Génie des procédés***

**Spécialité : *Génie chimique***

**Thème :**

**Extraction des composés Phénoliques de certains Zestes d'agrumes  
Algérienne pour les utiliser comme Antioxydant Naturel**

**Par :**

*CHENINI Djahida*

*CHENINI Koutar*

**Soutenu publiquement le : 19/06/2023**

**Devant le jury :**

<b>Ben Chadi Ouasila</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Ghardaïa</b>	<b>Président</b>
<b>Laghouiter Oum Kelthoum</b>	<b>MCB</b>	<b>Univ. Ghardaïa</b>	<b>Examineur</b>
<b>Adamou Youcef</b>	<b>MAA</b>	<b>Univ. Ghardaïa</b>	<b>Examineur</b>
<b>Babaarbi Ilias</b>	<b>MAA</b>	<b>Univ. Ghardaïa</b>	<b>Encadreur</b>

**Année universitaire 2022/2023**

## Résumé

Les agrumes comme d'autres fruits et légumes sont une source importante riches en antioxydants ayant un effet bénéfique sur la santé. Notre étude est portée sur l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques et la quantification de teneur en polyphénols et en flavonoïdes extraites d'écorces de citron et d'orange amère par deux méthodes d'extraction.

L'extraction des composés phénoliques conjugués et libres d'écorces de citron et d'orange amer par macération dans le méthanol 80% donne un rendement varie de (23.2-31.5%) dont les extraits d'orange présentent le meilleur rendement par rapport au extraits de citron. En revanche, ces deniers obtenus par acétate d'éthyle s'avèrent plus riche en composés phénoliques avec un rendement de (3.1%) suivie des extraits d'orange amère (2.1%).

Le dosage phytochimiques des extraits, montrent qu'ils sont riches en composés phénoliques dont les écorces d'orange amère présentent les taux les plus élevés (421.102 mg AGE/100 g MS). Des faibles teneurs sont enregistrés par la deuxième méthode (41.45 -53.702 mg AGE/100 g MS) correspond aux extraits d'écorce de citron et celle de l'orange amère respectivement. De même pour les flavonoïdes, les extraits d'écorces d'orange amère sont riches en flavonoïdes avec un TFC égale à 1501.77 mg QE/100 MS par la méthode 01 et 541.91 mg QE/100 MS par la méthode 2. La richesse des extraits en ces composés lui attribués une activité antiradicalaire remarquable exprimes par des valeurs d'EC<sub>50</sub> varient de (36.5 à 102.5 µg/ml) pour les extraits de la méthode 01 et (265-541.47 µg/ml) pour les extraits obtenus par l'acétate d'éthyle. Les extraits d'écorces d'orange amère s'avèrent les plus puissants mais toutefois moins efficaces que celui de BHT.

Les écorces de citron et d'orange amère sont riches en composés phénoliques d'une activité antiradicalaire intéressante qu'il faut valoriser pour faciliter leur incorporation comme des agents antioxydant naturels ou lieu des jetés.

Mots clés : *Agrume, extraction, Activité antioxydant, composée phénolique, flavonoïdes.*

## Abstract

Citrus as the other fruits and vegetables are an important source of different antioxidants with a beneficial effect on health, our study aimed to quantified polyphénols and flavonoids from lemon and bitter orange peels, and their antioxidant activity was studied by two extraction methods.

Phenolic extracts of citrus and bitter orange peels by maceration with 80% methanol gave yield of (23.2-31.5%) and yield (3.1-2.1%) for citron extracts and bitter orange obtained by ethyl acetate.

Phytochemical analyses showed that bitter orange extracts were rich with polyphénols with total phenols of (421.102 mg AGE/100 g MS). Fables tenures were enregistred with the second method (41.45 -53.702 mg AGE/100 g MS) for lemon and bitter orange peels extracts. The same for total flavonoids content, bitter orange extracts contained the high levels (1501.77 mg QE/100 DW) with the first method and (541.91 mg QE/100 DW) with the second one. Those amounts of phenolic components responsible of important activity antioxidant exprimd by IC<sub>50</sub> of (36.5 à 102.5 µg/ml) concerned the extracts of first method and (265-541.47 µg/ml) for the extracts obtained by ethyl acetate. However, bitter orange extracts present the powerful activity due to their high level in phenolic composition but less than that of antioxidant BHT.

These results showed that citrus peel extracts have important antioxidant activity and can be used as natural antioxidants.

**Keywords:** *Citrus, extraction, antioxidant activity, phenolic composition, flavonoids.*

## ملخص

تعتبر ثمار الحمضيات ، مثل الفواكه والخضروات الأخرى ، مصدرا مهما لمضادات الأكسدة المختلفة ذات تأثير مفيد على الصحة. تهدف دراستنا إلى تقدير نسبة المركبات الفينولية والفلافونويد المستخلصة من قشور الليمون والبرتقال المر، و تمت دراسة نشاطها المضاد للأكسدة بطريقتين للاستخراج.

تم أخذ قشور الحمضيات وتجفيفها في درجة حرارة الغرفة وسحقها ، ثم نقعها بمحلول ميثانول 80 ٪ بطريقتين للاستخراج (طريقة استخراج المركبات الفينولية المرتبطة والحررة ؛ طريقة استخراج المركبات الفينولية المستخرجة من أسيتات الإيثيل) ، تم تحديد المستخلص الجاف وتراوح بين (67.1 ٪ إلى 31.5٪).

وقد لوحظ أن أعلى تركيز من الفينولات والفلافونويدات في مستخلصات قشور التي تم استخراجها من خلال طريقة استخراج المركبات الفينولية المرتبطة والحررة للفينولات بتراكيز (421-178.84-404.54 ) ملغ حمض الغاليك / 100 غرام من القشور الجافة لكل من قشور البرتقال المر والليمون وخليطهما معا ، والفلافونويد الذي وصل تركيزه إلى (1051,77-330,5-906,72 ) ملغ كيرسيتين / 100 غرام من القشور الجافة لقشور البرتقال المر والليمون وخليطهما معا.

لمقارنة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات ، تم استخدام قيمة  $IC_{50}$  ، بالنسبة لطريقة الاستخراج الأولى كانت القيم (102,5-36,5-76,41 ) ميكروغرام/ مل من البرتقال المر وقشور الليمون وخليطهما ، لطريقة الاستخراج الثانية كانت قيم  $IC_{50}$  على النحو التالي (521,47-265-297,07 ) ميكروغرام/ مل لقشور البرتقال المر والليمون ومزيجهما معا ؛ وبالتالي تم الحصول على أكبر نشاط مضاد للأكسدة من مستخلص قشور البرتقال المر ، في حين أن مستخلص قشور الليمون أعطى أقل فعالية ، بمقارنة هذه النتائج مع قيمة  $IC_{50}$  لمضادات الأكسدة الصناعي BHT الذي يساوي 13.75 ميكروغرام /مل أظهرت النتائج أن مستخلصات قشور الحمضيات لها نشاط مضاد للأكسدة قوي ويمكن استخدامها كمضادات أكسدة طبيعية.

**الكلمات المفتاحية:** الحمضيات, الاستخراج , المركبات الفينولية, الفلافونويد ,مضادات الأكسدة .

# REMERCIEMENT

Remerciement

*Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements tout d'abord:*

*ALLAH le tout puissant pour m'avoir donné la santé, le courage Et la volonté d'étudier, et la force de réaliser ce travail.*

*Notre Encadreur : Mr **Baba arbi Ilias** Maître assistant chargée de cours à l'université de Ghardaïa, pour ses orientations, ses précieux conseils et sa contribution dans l'élaboration de ce travail.*

*Tous les étudiant du Département  
Génie des procédés particulièrement.*

*Nous sollicitons et nos profonds remerciements a tout le personnel de labo de notre université pour leur soutien et précieux efforts qui l'on présenté durant notre période de stage.*

*Merci l'infiniment*



# DÉDICACES

*Je dédie ce travail à:*

*Ma très chère **mère** qui m'a toujours apportée*

*Son amour et son affection*

*Mon cher **père**, qui m'a toujours encouragée, conseillée et*

*Soutenue dans mon travail*

*Mes très chères sœurs*

*Mes très chers frères*

*A mes très chères amies*

*Toute ma belle famille*

*A tous les enseignants de Génie des procédés,*

*Et tous les étudiants de Génie chimique, en particulier la*

*Promotion 2022/2023*

*A tous ceux qui portent le nom **Chenini***

*A toutes personnes utilisant ce document pour un bon usage*

*Djahida*



# Dédicace

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail*

*À ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais Jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect: mon cher père **MOUSSA**.*

*A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit Non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre Heureuse: mon adorable mère*

***Souad**.*

*A ma chère sœur **Bouchra** et mon frère **Abdelhadi** qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A mon adorable sœur **Imane** qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*A mes grands-mères, mes oncles et mes tantes.*

*Que Dieu leur donne une longue et joyeuse vie.*

*A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à Maintenant.*

*Merci pour leurs amours et leurs encouragements.*

*Sans oublier l'ingénieur **Hicham** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

**KOUÏAR**



## Liste des Tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>Tableau I.1</b>	La classification de citron	9
<b>Tableau I.2</b>	la classification d'orange amer	11
<b>Tableau II.1</b>	Principales classes des composés phénoliques	29
<b>Tableau IV.1</b>	Résultats de rendement d'extraction des composés phénoliques par les deux méthodes d'extraction	44
<b>Tableau IV.2</b>	Les absorbances de série d'étalonnage de Quercétine mesurés à 400 nm	47
<b>Tableau IV.3</b>	Les valeurs d'EC <sub>50</sub> des différents extraits phénoliques obtenus par deux méthodes évaluent par le test DPPH	53

## Liste des Figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>Figure I.1</b>	Coupe transversale d'une orange	16
<b>Figure I.2</b>	Évolution de la production d'agrumes en Algérie	17
<b>Figure II.1</b>	Formation des radicaux libres	21
<b>Figure II.2</b>	Réactions de formation de radicaux libres Les principales espèces réactives	23
<b>Figure II.3</b>	Formules chimiques de certains antioxydants naturels	24
<b>Figure II.4</b>	bienfaits de vitamines E	24
<b>Figure II.5</b>	Sources et bienfaits de vitamines C	26

<b>Figure II.6</b>	Formules chimiques de certains antioxydants synthétiques	27
<b>Figure II.7</b>	Structure de base des acides hydroxybenzoïques	37
<b>Figure II.8</b>	Structure de Base de Flavonoïde	39
<b>Figure III.1</b>	l'organigramme présent la méthode d'extraction	51
<b>Figure III.2</b>	l'organigramme présent d'extraction	52
<b>Figure IV.1</b>	courbe d'étalonnage d'acide gallique	45
<b>Figure IV.2</b>	les teneurs de polyphénols totaux dans les extraits de citron, orange amère, le mélange) par deux méthodes d'extraction	46
<b>Figure IV.3</b>	La courbe d'étalonnage de Quercétine	47
<b>Figure IV.4</b>	les teneurs des flavonoïdes totaux dans les extraits de citron, orange amère, le mélange) par deux méthodes d'extraction	48
<b>Figure IV.5</b>	Activité antioxydante totale de BHT	49
<b>Figure IV.6</b>	Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits d'écorces de citron et d'orange amère respectivement (Méthode 1)	50
<b>Figure IV.7</b>	Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits d'écorces de citron et d'orange amère respectivement (Méthode 1)	50
<b>Figure IV.8</b>	Variation des Valeurs d'IC <sub>50</sub> des extraits phénoliques d'écorces d'agrume et leur mélange par la méthode 01	51
<b>Figure IV.9</b>	Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits d'écorces de citron et d'orange amère respectivement (Méthode 2)	52
<b>Figure IV.10</b>	Variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits de mélange d'écorces de citron et	52

	d'orange amère (Méthode 2)	
<b>Figure IV.11</b>	Variation des Valeurs d'EC <sub>50</sub> des extraits phénoliques d'écorces d'agrume et leur mélange par la méthode 2	53
<b>Figure IV.12</b>	Comparaison des valeurs d'IC <sub>50</sub> des extraits phénoliques d'écorces d'agrume et leur mélange par les deux méthodes	54

### Liste des Photos

<b>Photos</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>Photo I.1</b>	Feuilles et fruits de citron	9
<b>Photo I.2</b>	Feuilles et fruits d'orange amère	12
<b>Photo III.1</b>	étape de Dilapidation	38
<b>Photo III.2</b>	Dosage des Polyphenols Totaux	41
<b>Photo III.3</b>	Dosage des Flavonoïdes	43

## Liste des Abreviations

**AG:** Acide gallique.

**AA :** activité antioxydante.

**BHA:** Butylated hydroxy anisole.

**BHT:** butylé hydroxy toluene.

**DPPH:** radical 1, 1-Diphényl-2 picrylhydrazyl.

**ERN:** Espèce Réactives d'azote.

**ERO :** Espèces Réactives de l'oxygène.

**GSH:** Glutathion.

**IC<sub>50</sub>:** Concentration Inhibitrice 50% des radicaux libres.

**NO:** L'oxyde nitrique.

**ONOO<sup>-</sup>:** L'anion peroxy nitrite.

**Q :** Quercitine.

**SOD:** Superoxydes dismutases.

**TFC :** Concentration des flavonoïdes totaux.

**TPC :** Concentration des polyphénols totaux.

## Table des Matières

<b>Résumé</b> .....	I
<b>Liste des Abreviation</b> .....	X
<b>Liste des Figures</b> .....	VII
<b>Liste des Photos</b> .....	IX
<b>Liste des Tableaux</b> .....	VII
<b>Introduction</b> .....	1
<i>Introduction Générale</i> .....	1
<b>Chapitre I: Généralité sur les Agrumes</b> .....	4
I. Les agrumes.....	5
I.1. Définition.....	5
I.2. Position Systématique.....	5
I.3. Caractéristiques et description des agrumes.....	6
I.4. Production des agrumes.....	7
I.4.1. Dans le monde.....	7
I.4.2. En Algérie.....	7
I.5. L'utilisation alimentaire des agrumes.....	8
I.6. Quelque variété d'agrumes.....	8
I.6.1. Citron.....	8
I.6.1.1. Classification.....	8
I.6.1.2. Composition chimique.....	8
I.6.1.3. Les Variétés de Citron.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
I.6.1.4. Intérêt et importance du citron.....	9
I.6.1.5. L'utilisation.....	9
I.6.2. Citrus aurantium.....	10
I.6.2.1. Clasification.....	10
I.6.2.2. les variétés de citrus aurantium.....	11
I.6.2.3. Intérêt et importance du citrus aurantium.....	11
I.6.2.4. l'utilisation.....	12
<b>Chapitre II: L'activité antioxydant des Composes Phénoliques</b> .....	15
II.1. Les radicaux libres.....	16
II.1.1. Définition.....	16
II.1.2. Types de radicaux libres.....	17

II.1.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS).....	17
II.1.2.2. Les espèces réactives de l'azote (RNS).....	18
II.1.3. Sources de production des radicaux libres .....	18
II.1.4. Les Effets des Radicaux Libres.....	19
II.2. Activité antioxydante .....	19
II.2.1. Définition.....	19
II.2.2. Les Différents Types d'antioxydants.....	20
II.2.2.1. Selon l'origine .....	20
II.2.2.2. Selon Le mode d'action .....	24
II.3. Les composés phénoliques .....	25
II.3.1. Définition.....	25
II.3.2. Localisation.....	25
II.3.3. Rôles et intérêt des composés phénolique .....	25
II.3.4. Structure et classification des polyphénols .....	26
II.3.4.1. Acides Phénoliques .....	26
II.3.4.2. Les Flavonoïdes C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> : .....	27
II. 3.4.2.1. Définition .....	27
II.3.4.2.2. Les Flavonoïdes d'agrumes .....	27
II.3.4.3. Tannins .....	28
<b>Chapitre III: Matériel et Méthodes</b> .....	33
III.1. Matériel Végétal .....	34
III.2. La préparation des solutions.....	62
III.3. Extraction et dosage des polyphenols.....	34
III.3.1 Extraction des polyphenols .....	34
III.3.1.1.Extraction des composés phénoliques brutes (conjugués et libres) .....	34
III.3.1.2.Extraction des composés phénoliques par acétate d'éthyle .....	35
III.3.2.Dosage des composés phénoliques .....	38
III.3.2.1. Dosage des polyphenols Totaux .....	38
III.3.2.2. Dosage des Flavonoides .....	39
III.4. Détermination de l'activité antioxydante totale des écorces d'agrumes :.....	41
<b>Chapitre IV: Résultats et Discussion</b> .....	44
IV.1. Détermination de reste sec des extraits : .....	45
IV.2. Détermination de la teneur en polyphénols totaux : .....	46
IV.3. Détermination de la teneur en flavonoides totaux : .....	47

IV.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH: .....	49
IV.4.1. Activité antioxydante totale d'antioxydant industriel BHT: .....	66
IV.4.2. Activité antioxydante totale d'écorces des agrumes : <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
IV.4.2.1. Activité antioxydante totale d'écorces de citron : <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
IV.4.2.2. Activité antioxydante totale d'écorces d'orange amère : .....	66
IV.4.2.3. Activité antioxydante totale d'écorce de mélange : .....	67
<b><i>Cocclusion Générale</i></b> .....	56
<b><i>Références Bibliographiques</i></b> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b><i>Annexes</i></b> .....	61

# *Introduction Générale*

## *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 18ème place mondiale. [1]

Les écorces et les pépins d'orange amer et citron jetés sont riches en nutriments et contiennent de nombreux produits phytochimiques, bioactifs tels que les polyphénols qui constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Ils sont caractérisés comme l'indique le nom, par la présence de plusieurs groupements phénoliques, associés en structures plus en moins complexes. Les polyphénols sont le produit de métabolisme secondaire des plantes. Ils sont dotés de multiples propriétés thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique attribué à leur potentiel antioxydant. [2]

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. [3]

C'est dans ce contexte, que notre travail de mémoire visant à étudier les composés phénoliques des écorces de fruits de deux espèces de *citrus* (*orange amer* et *citron*), et de tester leur pouvoir antioxydant. Pour cela notre travail est structuré comme suit :

- ❖ Le premier chapitre présent une synthèse bibliographique comportant un aperçu générale sur les agrumes étudiés, leurs propriétés pharmacologiques et leur utilisation. Aussi des généralités sur les composés phénoliques et leurs effets.
- ❖ Le deuxième chapitre a été consacré à l'étude bibliographique sur l'activité antioxydante des composés phénolique.
- ❖ Le troisième chapitre présente la partie expérimentale, qui consiste à l'extraction des composés phénoliques par deux méthodes puis leur quantification et l'évaluation de leur activité antiradicalaire par le test de DPPH.
- ❖ Le quatrième chapitre comprend la discussion des résultats obtenus suivie d'une conclusion générale.

## *Introduction Générale*

### **Les Références Bibliographie**

[1] Hamidi Fatima et Limam Fadila, « étude phytochimique et pouvoir antioxydant de l'écorce d'orange et de citron», mémoire de master en sciences de la nature et de la vie ; Université de Mostaganem-, 2018.

[2] Ousmer Lila et Tahri Safia, «Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénolique de *citrus sinensis* et *citrus aurantim* », mémoire de master en en Biologie ; Université de Tizi-Ouzou, 2017.

[3] Said, A et Djouadi, D, « Effets des solvants d'extraction sur la composition chimique de deux fruits de l'hiver : *Citrus sinensis* et *Citrus limon* », », mémoire de master en Chimie pharmaceutique ; Université de Biskra 2021.

***Chapitre I:***

***Généralité sur les Agrumes***

## **I. Les agrumes**

### **I.1.Définition**

Les agrumes sont de petits arbres ou arbustes dont les dimensions peuvent varier de 2 à 10 mètres de hauteur selon les espèces. Leurs feuilles sont généralement denses et persistantes, à l'exception de *Poncirus*. Leurs fruits et toutes les parties de l'arbre (écorce, feuilles, branches et fleurs) contiennent des glandes sébacées [1].

La peau d'un fruit est la peau (péricarpe), qui se compose de deux couches concentriques. La couche superficielle, rugueuse et dure, souvent jaune-orangé vif sous l'action des flavonoïdes, est appelée épicarpe ou flavédo, ou peau. La couche interne, blanche et spongieuse, est le mésocarpe ou albédo [1].

La pulpe est constituée de segments juteux contenant des graines. Il est riche en vitamine C. C'est un fruit non ménopausique qui doit être récolté à maturité. Ils sont stables au transport et au stockage. Si les fruits sont assez faciles à distinguer culinairement, la distinction des espèces botaniques est au contraire complexe, puisque les différentes espèces se croisent très facilement et sont difficiles à fixer. Le genre *Citrus* ne comprendrait finalement pas plus de onze espèces. [1]

### **I.2.Position Systématique**

Beaucoup des travaux ont été fait au XXe siècle pour classer les différents cultivars et espèces. Les agrumes appartiennent à trois genres botaniques compatibles: *Poncirus*, *Fortunella* et *Citrus* appartenant à la tribu des *Citreae*. [2]

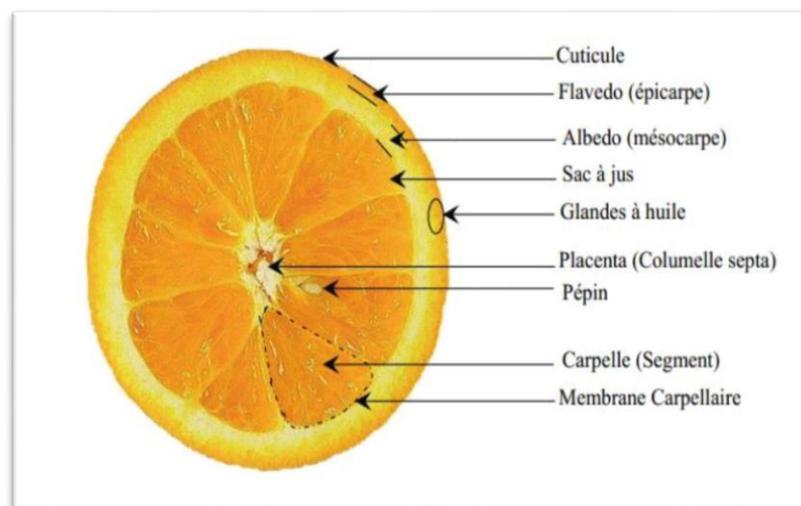
Le *Poncirus* ne produit pas de fruits comestibles mais il est utilisé comme porte-greffe car il offre une rusticité intéressante. *Fortunella* produit de petits fruits qui se mangent avec la peau. Le genre *Citrus*, comprend la plupart des espèces d'agrumes cultivées et, selon les taxonomistes, comprend 16 à 156 espèces. [2]

**I.3.Caractéristiques et description des agrumes**

Tous les agrumes cultivés ont quasiment la même structure : la peau, partie non comestible du fruit, n'est que faiblement développée chez les oranges, les mandarines et les clémentines. En revanche, il constitue l'essentiel des citrons et des pamplemousses. La pulpe, la partie comestible, est constituée de trichomes, ou sacs, entourant le jus et regroupés en quartiers.

À la surface du fruit dans la peau se trouvent des glandes sébacées remplies d'huiles essentielles. La section transversale du fruit permet de séparer les parties successives (Figure I.2): [4]

- **Écorce** rugueuse, dure et de couleur claire (jaune à orange), communément appelée épicarpe, qui recouvre le fruit et le protège des dommages. Ses glandes sébacées contiennent des huiles essentielles qui donnent au fruit son odeur caractéristique. [5]
- **Mésocarpe** (ou albedo) blanc, épais et spongieux qui se forme avec l'épicarpe, le péricarpe ou la peau du fruit.
- La partie interne, constituée de la **pulpe**, est divisée en segments (carpelle) dans lesquels se concentre le jus (avec ou sans pépins, selon les variétés) et une épaisse gaine radiale (ou endocarpe). Cette partie, riche en sucres solubles, contient des quantités importantes de vitamine C, de pectines, de fibres, d'acides organiques divers et de sel de potassium, qui confèrent au fruit son acidité caractéristique. [6]



**Figure I.1: Coupe transversale d'une orange. [4]**

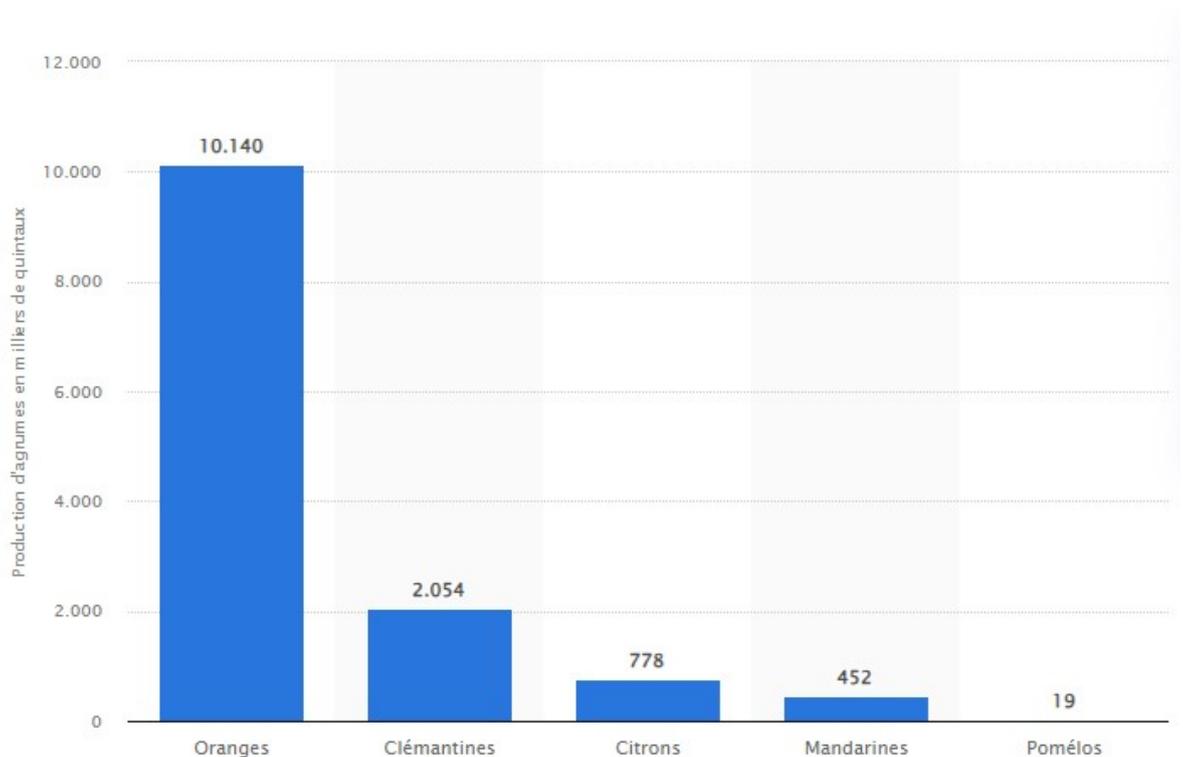
**I.4. Production des agrumes**

**I.4.1. Dans le monde**

La production d'agrumes est très variable et s'élève à 47.5 millions de tonnes d'oranges, 13.7 millions de tonnes de citrons et limes et 4.4 millions de tonnes de pamplemousses et pomelos en 2023. [7]

La production mondiale d'oranges en 2023 était d'environ 110 millions de tonnes, soit une augmentation de 14 % par rapport à la quantité enregistrée en 1997-1999. dont 18 millions de tonnes rien qu'au Brésil, suivi de la Floride avec 11 millions de tonnes et du bassin méditerranéen avec 10 millions de tonnes. [8]

**I.4.2. En Algérie**



**Figure I.2 : Évolution de la production d'agrumes en Algérie entre 2016 et 2017, par type d'agrumes(en milliers de quintaux). [15]**

Cette statistique montre la production d'agrumes en Algérie entre 2016 et 2017, selon le type d'agrumes. On peut observer que la production d'oranges s'élevait à plus d'un million de quintaux pendant la saison 2016 / 2017, tandis que la production de citrons était d'environ 800.000 quintaux. [15]

## **I.5. L'utilisation alimentaire des agrumes**

Dans la cuisine algérienne, l'écorce de *Citrus sinensis*, fraîche ou en poudre, est utilisée pour aromatiser le thé et dans la préparation de certains plats ou desserts traditionnels.

Plusieurs études se sont concentrées sur l'extraction de fibres alimentaires à partir d'écorces d'agrumes pour une utilisation dans des recettes saines. La pectine commerciale est le plus souvent dérivée des agrumes (pamplemousse, citron et orange) et des pommes. [9]

La pectine est utilisée dans l'industrie alimentaire pour ses propriétés épaississantes et texturants, mais aussi pour ses propriétés gélifiantes et stabilisantes. Elle est utilisée dans diverses préparations (produits laitiers, conserves de fruits, glaces, produits émulsionnés, confitures et gelées). [9]

## **I.6. Quelques variétés d'agrumes**

### **I.6.1. Citron**

Le citronnier, appartenant à la famille des *Rutacées*, est un petit arbre vert et aromatique (arbuste) dont la hauteur peut varier entre 2 et 10 m, il possède 5-6 rameaux de charpentier, très bien disposés en rameaux, les racines superficielles formant un réseau le premiers 80 cm de sol (photo. I.1). Les feuilles de citronnier sont vertes alternativement persistantes qui sont très intrigantes en raison des nombreux sacs d'essence qu'elles contiennent et visibles à l'œil nu. [9]

#### **I.6.1.1. Classification**

**Tableau I.1: La classification de citron. [9]**

<i>Ordre</i>	<i>Sapindales</i>
<i>Famille</i>	<i>Rutaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Citrus</i>
<i>Espèce</i>	<i>Citrus limon</i>



**Photo I.1 : Feuilles et fruits de citron.**

#### **I.6.1.2. Composition chimique**

Comme les autres agrumes, les feuilles et les fruits très juteux du citron sont une source de composés naturels tels que 90% d'eau, très acide (pH inférieur à 3), dont l'acidité est

principalement due à l'acide citrique, accompagné de petites quantités de malique, acides caféique et férulique. Le citron est un fruit caractérisé par une teneur élevée en vitamine C et une large gamme de vitamines B avec une teneur importante en flavonoïdes (naringosides, hespéridosides) et en polyphénols. [10]

Les citrons frais sont peu caloriques et sucrés, mais les fibres (Cellulose, hémicelluloses et pectines) représentent 2,1% du poids total. La teneur en protéines ne dépasse pas 1 g/100 g. Différents minéraux ont été identifiés dans le citron, il est riche en calcium, magnésium et potassium, qui est le minéral le plus courant. [10]

#### **I.6.1.4. Intérêt et importance du citron**

Le citron est appelé la reine des fruits, il possède de nombreuses propriétés saines. C'est une plante médicinale puissante dont les nombreux bienfaits sont utilisés depuis plus de 3 000 ans. Il soutient la digestion, combat la grippe et l'angine, les maux de tête, stimulant ainsi les mécanismes de défense naturels. Les flavonoïdes du citron en font un puissant antioxydant. De ce fait, il permet de lutter contre l'apparition des maladies cardiovasculaires et de certains cancers (oesophage, estomac, côlon ou gorge). Les flavonoïdes, les limonoïdes et les fibres solubles comme la pectine aident également à réguler le taux de cholestérol sanguin. [11]

#### **I.6.1.5. L'utilisation**

Le citron ne se mange pas frais, mais on le trouve sur toutes les tables de la Méditerranée, que ce soit de la viande, de la volaille ou du poisson. Le jus de citron est pressé pour donner du goût aux grillades ou aux frites. Les bols à fruits sont très populaires dans la cuisine. Un citron pelé ou finement râpé donne à la limonade son goût très apprécié en cuisine et au four. Le jus de citron est également utilisé pour éloigner les fourmis et aide à préserver les fruits et légumes qui s'oxydent facilement dans l'air. La pulpe restante de l'extraction commerciale du jus est une source importante d'huiles essentielles, de pectines et d'acide citrique utilisés dans les formulations alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. [6, 11]

En cosmétique, le citron est utilisé pour resserrer les pores, blanchir la peau, réduire les points noirs, comme masque anti-rides ou pour apporter de la brillance aux cheveux. En médecine, il est utilisé comme antiseptique naturel, mais il est également connu pour d'autres effets : antirhumatismal, antithrombotique, anti-fatigue, diététique, digestif, expectorant, antiallergique.... En parfumerie il entre dans la composition de nombreux parfums. [6]

**I.6.2. *Citrus aurantium***

Le bigaradier appartient à la famille des *Rutaceae*, genre *Citrus*, elle est aussi appelée orange de Séville ou orange amère, elle pousse dans les zones climatiques subtropicales. [12]

L'oranger amer est un grand arbre de 5 à 8 m de haut, aux feuilles vert brillant, aux fleurs actinomorphes d'un blanc très pur, au parfum agréable, à 5 à 8 pétales. Le fruit mesure environ 7 cm de diamètre, a une peau dure et une chair très aigre. Il est très résistant au froid, à l'excès d'eau et à certaines maladies. [12]

**I.6.2.1. Classification****Tableau I.2: la classification d'orange amer. [13]**

<i>Règne</i>	<i>Végétal</i>
<i>Division</i>	<i>Embryophyta</i>
<i>Sous-division</i>	<i>Angiospermes</i>
<i>Classe</i>	<i>Dicotyledoneae</i>
<i>Sous-classe</i>	<i>Archychalmydeae</i>
<i>Ordre</i>	<i>Géraniale</i>
<i>Sous-ordre</i>	<i>Géraniineae</i>
<i>Famille</i>	<i>Rutaceae</i>
<i>Sous-famille</i>	<i>Aurantiodeae</i>
<i>Tribus</i>	<i>Citreae</i>
<i>Sous-tribus</i>	<i>Citrinae</i>
<i>Genre</i>	<i>Citrus</i>
<i>Espèce</i>	<i>Citrus aurantium</i>



**Photo I.2 : Feuilles et fruits d'orange amère.**

#### **I.6.2.2. Les variétés de *Citrus aurantium***

Elles sont réparties en deux classes, variétés d'orange amère et leurs hybrides :

- *Variétés d'Oranges amères* : orange amère commune ; orange de Séville ; Orange Bitterswett du Paraguay, Apepu; Variété parfumerie Bouquetier; Orange amère panachée, Abers feuille étroite, Orange amère Willowleaf ; Goutou (orange amère cuir-tête) ; orange feuilles Myrtle : Chinotto [6].
- *Hybrides d'oranges amères* : Bergamote ; Smooth flat Séville; Kikudaïdai (*Citrus canaliculata*); Yama (*Citrus intermedia*); Karna (*Citrus karna*); Kitheli (*Citrus maderaspatana*); Miaray (*Citrus miaray*); Natsumikan (*Citrus natsudaïdai*); Tosu (*Citrus neoaurantium*); Zadaïdai (*Citrus rokugatsu*); Sanbokan (*Citrus sulcata*); Nanshodaïdai (*Citrus taiwanica*). [6]

#### **I.6.2.3. Intérêt et importance du *Citrus aurantium***

Comme les autres agrumes, l'orange amère est très riche en vitamine C, mais aussi en vitamines B et en vitamine P. elle est aussi une source de minéraux, de fibres et d'acides phénoliques, ainsi que des flavonoïdes. L'orange amère a un effet revigorant sur le corps, aidant à revitaliser les personnes fatiguées et stimulant le système immunitaire [14].

Il aurait également un effet positif sur la microcirculation et le bon fonctionnement des intestins, aide à perdre du poids grâce à leur contenu en synéphrine, une substance qui

favorise la combustion des graisses et réduit la sensation de faim. A cet effet, l'orange amère entre souvent dans la composition de compléments brûle-graisses [14].

Dans le domaine pharmaceutique, les huiles essentielles obtenues à partir de l'écorce d'orange amère ont des propriétés digestives, relaxantes et appétissantes. [14]

#### **I.6.2.4. L'utilisation**

La Bigarade est appréciée pour sa croûte fortement poivrée, son parfum exceptionnellement doux et ses fleurs blanches parfumées depuis le Moyen Âge. L'huile essentielle obtenue par distillation des fleurs d'oranger amer (connu sous le nom de Néroli), en hommage à la princesse Nérole (XVIII<sup>e</sup> siècle). Ces huiles confèrent la saveur typique d'orange utilisée dans les épices, les bonbons, les liqueurs, etc. [6]

Certaines variétés produisent des huiles essentielles utilisées pour fabriquer des parfums, des savons populaires et des lotions après-rasages. Ils sont également utilisés en aromathérapie et comme ingrédient clé dans les boissons gazeuses. [6]

**Les Références Bibliographie**

- [1] Bénédicte., et Michel B., 2011 : Agrumes comment les choisir et cultiver facilement. Les éditions Eugen Ulmer. Paris, éd: 440-01.P :127.
- [2] Ait amer, M et Ayache, R, « Contribution à l'étude des pucerons des agrumes dans la région de l'Akhdaria », mémoire de master en Sciences Agronomiques Spécialité Protection des végétaux, Université de Bouira 2020.
- [3] Praloran C., 1971. Les agrumes. Ed. 8348, Paris, 10(5), P25.
- [4] Spiegel Roy P; et Goldschmidt E.E; 1996.biology of *Citrus* .1ère édition; ed cambridge university press. 239.
- [5] Hendrix C.M et Redd J.B; 1995: Production and packaging of non carbonate juices and fruit beverages . Edition blackie academic et professional, 53-87.
- [6] Bousbia, N, « extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires », mémoire de doctorat en Chimie, L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique ; 2013.
- [7] Loeillet (2010)-la production mondiale des agrumes "les marchés mondiaux".
- [8] Anonyme(2012)-l'égère base de la production agrumicole en 2011/2012
- [9] Said, A et Djouadi, D, « Effets des solvants d'extraction sur la composition chimique de deux fruits de l'hiver : *Citrus sinensis* et *Citrus limon* », mémoire de master en Chimie pharmaceutique, Université de Biskra 2021.
- [10] Badaoui, Wet Barchi, Y, « Analyse physicochimique et propriétés antioxydants de jus de fruits (orange, citrons et cocktail) »mémoire de master, Université Mohamed El -Bachir El Ibrahim BAA 2019.
- [11] Boudjeriou Racha Ichrak, « Essai de fabrication des produits cosmétiques- bio à base de *Citrus limon* et *Boswellia carteri* », mémoire master en Biodiversité et Physiologie végétale, université de Constantine ; 2022.

[12] Benabdi, B & Otmani, A, « Evaluation des activités antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et *Citrus reticulata* », mémoire master en Microbiologie Appliquée, Université BOUIRA ; 2019.

[13] Ouguelmane A & Houichiti, R, « Etude des activités biologiques d'une plante aromatique médicinale locale "*Citrus aurantium*" » mémoire de master en Génie chimie, Université de Ghardaïa, 2020 .

[14] <https://www.finedininglovers.fr/article/tout-sur-l-orange-amereconsulter>, consulté le 11 janvier 2022.

[15] Volume de production d'agrumes par type en Algérie 2016-2017 ; Publié par Statista Research Department, 17 mai 2023 ; <https://fr.statista.com/statistiques/990991/production-totale-d-agrumes-par-type-algerie>.

***Chapitre II:***

***Les Activités Antioxydants des Composes***

***Phénolique***

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique

### II.1. Les radicaux libres

#### II.1.1. Définition

Un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un électron non apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et qui est comblé par l'acceptation d'un autre électron ou par le transfert de cet électron libre sur une autre molécule. [1]

Les radicaux libres sont des substances générées par l'organisme lors de processus naturels, mais ils peuvent être augmentés par certains comportements et environnements, comme par exemple la fumée de cigarette ou bien la pollution urbaine (Figure II.1). [2]

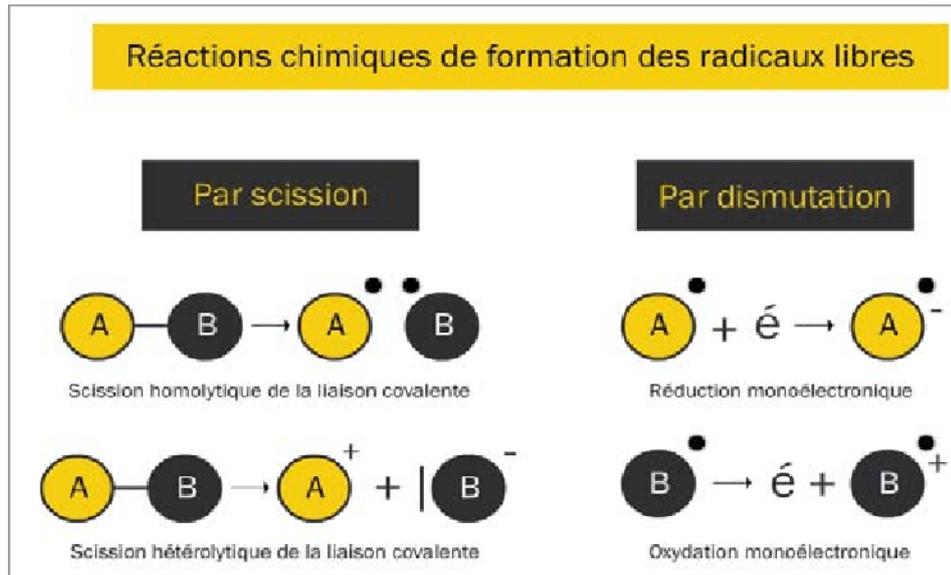


Figure II.1: Formation des radicaux libres. [2]

#### *Formation des radicaux libres*

La formation des radicaux libres peut être le résultat : [3]

- D'un transfert d'électron:  $A + e \rightarrow A^-$ .
- D'une fusion homolytique:  $X : Y \rightarrow X^\cdot + Y^\cdot$ .
- D'une fusion hétérolytique:  $X : Y \rightarrow X^- + Y^+$ .



**Figure II.2: Réactions de formation de radicaux libres. [4]**

### **II.1.2.Types de radicaux libres**

Il existe de nombreux types de radicaux libres qui peuvent se former dans le corps (humain ou animal) Dans des conditions physiologiques, pathologiques notamment :

#### **II.1.2.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS)**

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) se forment dans les cellules à la suite de nombreux processus, stress biotiques ou abiotiques, déséquilibres rédox, interventions ou synthèses d'hormones, développement, mort cellulaire programmée... Ces molécules sont généralement produites par des enzymes spécifiques (chaîne de transport d'électrons, peroxydases) dans les organites comme le chloroplaste, dans le cytoplasme ou le périplasme et peuvent être la conséquence de disfonctionnements cellulaires. [5]

Les ROS sont à l'origine d'un système de signalisation cellulaire, et leur concentration et leur influence sur le métabolisme cellulaire est régulée par des mécanismes de protection tels que la dissipation de l'énergie lumineuse excédentaire dans la membrane photosynthétique, ou l'intervention d'enzymes (superoxyde dismutase, peroxydases, catalases) [5]. Leur localisation, ainsi que l'importance et la durée de leur production, et leur stabilité dans le temps déterminent la spécificité de la réponse cellulaire. [5]

## ***Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique***

### **II.1.2.2. Les espèces réactives de l'azote (RNS)**

- **L'oxyde nitrique (NO) :**

L'oxyde nitrique est un radical libre synthétisé par trois iso formes de l'oxyde nitrique synthétase (NOS). [3] Il peut être formé par voie non enzymatique à partir de nitrite à pH bas (<5). Il est impliqué dans plusieurs fonctions biologiques comme la respiration, la transmission nerveuse, l'apoptose et l'homéostasie. [3]

- **L'anion peroxy nitrite (ONOO<sup>-</sup>) :**

La génération simultanée de l'oxyde nitrique et de superoxyde favorise la production de l'anion peroxy nitrite, ce dernier est un puissant oxydant qui peut initier la peroxydation lipidique ainsi que l'oxydation des protéines et de l'ADN. [3]

### **II.1.3.Sources de production des radicaux libres**

Les 4 principales sources qui génèrent la formation de radicaux libres dans notre organisme :

- **L'alimentation :**

Les aliments trop cuits (au barbecue ou au grill par exemple) contiennent de grandes quantités de radicaux libres. Il convient de les consommer exceptionnellement. Certains aliments quant à eux favorisent la formation de radicaux libres. C'est le cas de l'alcool, du sucre raffiné, des acides gras trans, et plus globalement des aliments transformés. [2]

- **La pollution :**

La pollution, omniprésente dans les grandes métropoles, est une source importante de radicaux libres. L'idéal est, dans la mesure du possible, d'éviter les lieux pollués. [2]

- **La fumée du tabac :**

Le tabac est également une source de radicaux libres. Le fait de fumer une cigarette génère de nombreuses réactions d'oxydation à l'intérieur de l'organisme et accélère considérablement le vieillissement cellulaire. [2]

- **Le stress :**

Le stress et l'anxiété peuvent également induire des radicaux libres : on parle dans ce cas de stress oxydatif. Dans ces situations, l'organisme se sent menacer et génère de lui-même des situations d'oxydations. Les radicaux libres ainsi générés conduiront à une fatigue physique et à long terme à un vieillissement cellulaire plus important. Du côté de l'alimentation, certaines plantes ont un effet bénéfique sur le stress en agissant notamment sur

## **Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique**

le système hormonal. C'est notamment le cas de la camomille, du houblon, l'aubépine et la passiflore. [2]

### **II.1.4. Les Effets des Radicaux Libres**

Le paradoxe des radicaux libres réside dans le fait que ce sont des molécules très réactives et dommageables tout en étant indispensables pour différents mécanismes cellulaires. En effet, en réponse à divers stimuli, les organismes aérobiques produisent constamment une petite quantité de radicaux libres et ce faible niveau intervient dans différentes fonctions essentielles. Par exemple, les ROS participent à la transduction de signaux cellulaires, au fonctionnement de certaines enzymes, à la défense immunitaire, à la des tractions par apoptose de cellules tumorales, au cycle cellulaire, à la vasodilatation des vaisseaux et à la différenciation cellulaire. [6]

Par contre, la production excessive de radicaux libres induits des dommages directs aux différentes molécules biologiques, soient à l'ADN, aux protéines et aux lipides. L'ADN est très vulnérable à l'attaque par les radicaux libres et subit donc différents dommages oxydatifs. Tout d'abord, les bases qui composent l'ADN sont sensibles au phénomène d'oxydation qui induit la modification de celles-ci. Les radicaux libres peuvent également altérer la liaison entre la base et le désoxyribose, ce qui provoque la création d'un site abasique, ou attaquer directement le sucre créant ainsi une coupure de la chaîne simple brin. [6]

## **II.2. Activité antioxydante**

### **II.2.1. Définition**

Les antioxydants jouent un rôle vachement important pour protéger notre organisme du vieillissement prématuré en s'opposant à l'action des radicaux libres.

Pour fonctionner, notre organisme a besoin d'oxygène, essentiel à de nombreuses fonctions (entre autres, transformer les graisses et les sucres des aliments en énergie). Ces phénomènes s'accompagnent d'une libération de radicaux libres. Les radicaux libres ont une fonction importante, voire essentielle : très puissants, ils participant aux réactions de défense de l'organisme, en particulier contre les bactéries. Sans eux, nous serions démunis face à leurs attaques. [7]

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique

L'organisme libère en permanence des radicaux libres, et c'est tant mieux. Mais leur structure chimique fait qu'ils endommagent les autres atomes en les « oxydant ». S'ils sont nécessaires au bon fonctionnement cellulaire, certains facteurs peuvent parfois rompre cet équilibre : consommation de tabac, d'alcool, rayons ultraviolets, pollution atmosphérique, maladies inflammatoires... Soumis à cette pression, le corps se met alors à produire des radicaux libres en excès : c'est ce qu'on appelle "le stress oxydatif". Le stress oxydatif, qui agresse les cellules et les tissus, est un facteur d'inflammation et de mutagenèse, qui joue un rôle dans la survenue de cancers, de maladie d'Alzheimer, de maladies cardio-vasculaires, l'arthrite rhumatoïde ou les cataractes... et pis tout simplement dans le vieillissement de la peau. [7]

Les agrumes sont importants en raison de leurs propriétés nutritionnelles et anti-oxydantes. Les antioxydants les plus connus sont les caroténoïdes (surtout le  $\beta$ -carotène), l'acide ascorbique, les tocophérols (vitamine E) et les polyphénols. Ces derniers incluent les flavonoïdes, les tanins et les acides phénoliques. [8]

Les antioxydants sont classés selon différents critères : [8]

- ❖ **Leur origine** : naturelle ou synthétique
- ❖ **Leur mode d'action** : primaires ou secondaires.

### II.2.2. Les Différents Types d'antioxydants

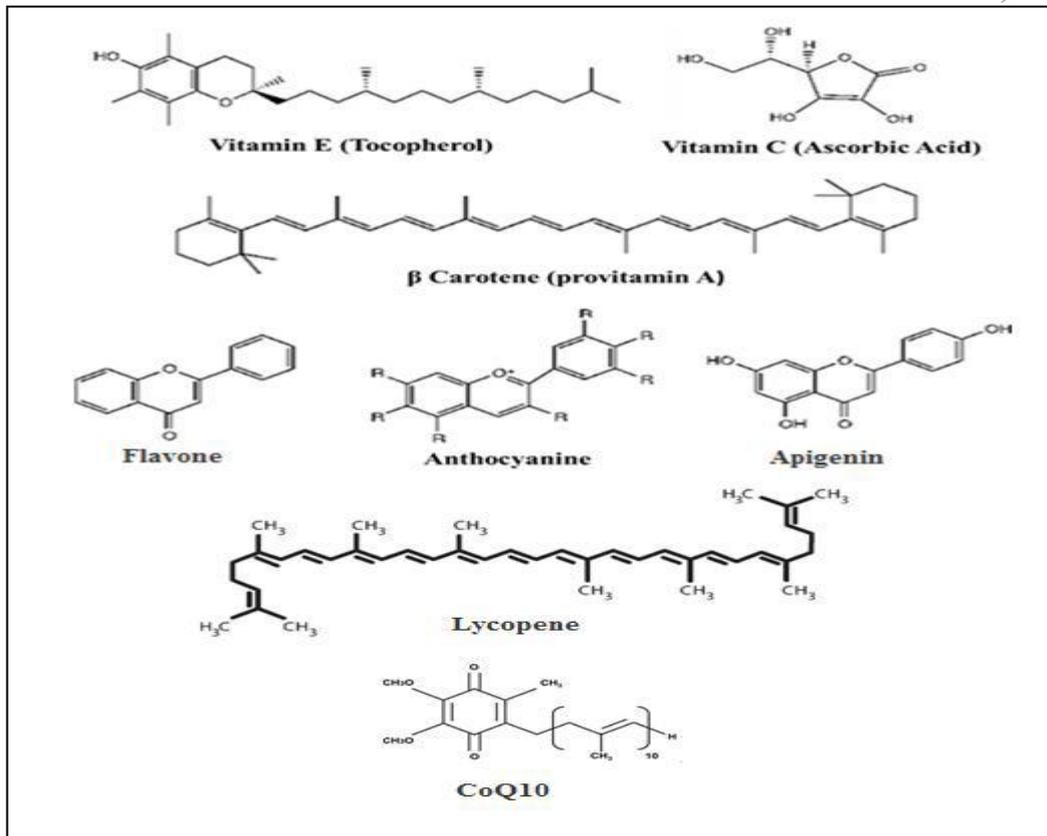
#### II.2.2.1. Selon l'origine

##### **Antioxydants naturels :**

Ils incluent des espèces chimiques différentes (polyphénols, vitamines...etc.) qui sont d'origine végétale pour la plupart. [8]

La production excessive ou incontrôlée d'espèces oxydantes induit une perturbation du statut redox pouvant induire de sérieuses altérations des structures cellulaires. Il est donc absolument nécessaire que cette production d'ROS et d'RNS soit contrôlée. Pour cela, les cellules disposent de systèmes de défenses antioxydants classés en antioxydants enzymatiques ou non-enzymatiques. [9]

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composés Phénolique



**Figure II.3: Formules chimiques de certains antioxydants naturels. [9]**

### **a- Antioxydants enzymatiques :**

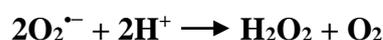
L'organisme se défend contre les radicaux en synthétisant des enzymes qui les neutralisent. Les principales enzymes antioxydants sont le superoxyde dismutase, la glutathion peroxydase et la catalase. [10]

- **Superoxydes dismutases (SOD) :**

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant. Chez l'homme, trois iso formes compartimentées de l'enzyme SOD ont été caractérisées de façon biochimique et moléculaire. [11]

La Cu/Zn-SOD ou SOD<sub>1</sub> cytosolique, et la ECSOD ou SOD<sub>3</sub> extracellulaire, utilisent le cuivre et le zinc comme cofacteurs nécessaires à l'activité enzymatique, alors que la SOD<sub>2</sub>, mitochondriale, utilise le manganèse. [11]

La SOD catalyse la dismutation de l'O<sub>2</sub><sup>-</sup> en dioxygène et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selon la formule :



## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique

- **Catalase:**

La catalase est présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire. [11]

- **Glutathion peroxydase :**

Elle est l'un des principaux systèmes de protection capables de réduire le peroxyde d'hydrogène et les peroxydes organiques (ROOH) toxiques formés par l'oxydation des acides gras ou du cholestérol, elle utilise le glutathion réduit comme cofacteur. [12]

### **b- Antioxydants non-enzymatiques :**

Ce système fait appel à des molécules non enzymatiques telles que les vitamines antioxydants (vitamine C et vitamine E), les caroténoïdes et les composés phénoliques. Contrairement aux enzymes antioxydants, ces composés ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. [10]

- **Glutathion (GSH) :**

Le glutathion joue un rôle majeur dans la protection des lipides, des protéines et des acides nucléiques contre l'oxydation. En situation de stress oxydant, son rôle protecteur et détoxifiant résulte principalement de sa fonction de coenzyme des Glutathion peroxydase. [12]

- **Vitamine E :**

La vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol) est le principal antioxydant. Elle neutralise les radicaux libres ensuite stoppe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides. Cette vitamine devient à son tour un radical moins réactif, qui pourra être régénéré par l'acide ascorbique. [10]



**Figure II.4: bienfaits de vitamines E. [13]**

- **Vitamine C (Acide ascorbique) :**

La vitamine C, ou acide ascorbique, peut être considérée comme un dérivé cyclique des hexoses. Sa caractéristique essentielle est d'exister sous trois degrés d'oxydoréduction différents: la forme réduite (acide ascorbique), la forme semi-réduite (mono-oxydée ou acide mono-déhydro-ascorbique) et la forme oxydée (acide déhydro-ascorbique). [14]

Le jus d'agrumes est très concentré en vitamine C, le lait en contient peu, mais le lait de femme en contient suffisamment pour couvrir les besoins du nourrisson.

D'autres aliments sources de vitamine C: kiwi, fraise, épinard, agrumes (orange, citron, mandarine), chou-fleur, foie, melon, brugnion, les pommes de terre nouvelles, les tomates. Les fruits et les légumes représentent environ 70% de l'apport journalier. La vitamine C est plus fragile, et peut affecter par la chaleur et l'oxydation (la cuisson peuvent atteindre 90% de la valeur initiale) de plus, elle est soluble dans l'eau, ce qui occasionne des pertes supplémentaires lors des préparations de certains modes de cuisson. [14] Elle est un antioxydant puissant hydrosoluble, capable de piéger à des concentrations très faibles les espèces réactives de l'oxygène. [12]

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composés Phénolique



Figure II.5: Sources et bienfaits de vitamines C. [15]

### ✚ Antioxydants Synthétiques :

Les plus utilisés dans l'industrie agroalimentaire sont: butylate hydroxyanisol (BHA), butylate hydrox toluène (BHT), propylée gallate et le ter butyle hydroxyquinone. Mais leur emploi est astreint à des règlements rigoureux a cause des soupçons qui planent sur leur toxicité (troubles Hépatiques et cancers). [8]

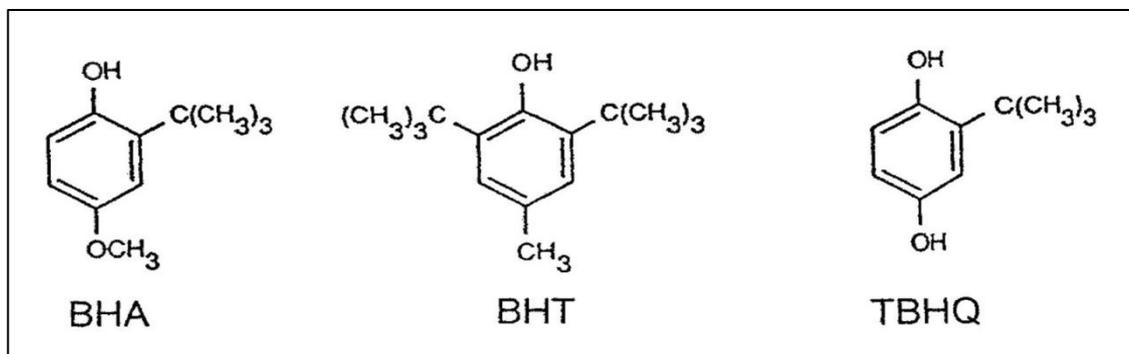


Figure II.6: Formules chimiques de certains antioxydants synthétiques.

### II.2.2.2. Selon Le mode d'action

#### ✚ Antioxydants primaires :

Ils englobent les composés qui interfèrent avec l'auto-oxydation lipidique en convertissant les produits d'oxydation lipidiques ( $L\cdot$ ,  $LOO\cdot$ ,  $LO\cdot$ ) en produits plus stables grâce à leur propriété de donneurs de protons actifs. Le radical ( $A\cdot$ ) dérivé de l'antioxydant se convertit en produit stable : [16]

## **Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique**

### **✚ Antioxydants secondaires :**

Ce sont des composés qui retardent l'auto-oxydation lipidique selon différents modes d'actions soient par absorption des radiations ultraviolettes, inactivation de l'oxygène singlet, chélation des métaux et décomposition des hydro peroxydent. [16]

## **II.3. Les composés phénoliques**

### **II.3.1. Définition**

Les polyphénols sont des micro-constituants végétaux abondants dans nos aliments et font donc une partie intégrante de l'alimentation humaine, Ils sont abondants dans la majorité des fruits et légumes, olives, céréales, chocolat, et boissons telles que la bière, le vin, le café et le thé. [17] Ils sont un groupe important et diversifié de métabolites secondaires des plantes. Ils se révèlent posséder une forte bioactivité qui se traduit au niveau de l'organisme par une large gamme de propriétés biologiques, Les polyphénols alimentaires les plus courants sont les flavonoïdes et les acides phénoliques. [17]

### **II.3.2. Localisation**

Les polyphénols sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Ils sont présents aussi dans diverses substances naturelles comme les fruits rouges, le raisin ...etc. [18]

### **II.3.3. Rôles et intérêt des composés phénolique :**

Les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales ; ils ont la capacité de moduler l'activité d'un grand nombre d'enzymes et de certains récepteurs cellulaires. Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits. Ces composés sont réputés aussi pour leur caractère antioxydant, neutralisant les radicaux libres et limitant ainsi certains dommages oxydatifs responsables de plusieurs maladies. [18]

En outre, un grand nombre de polyphénols sont reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales et anticancéreuses. [18]

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique

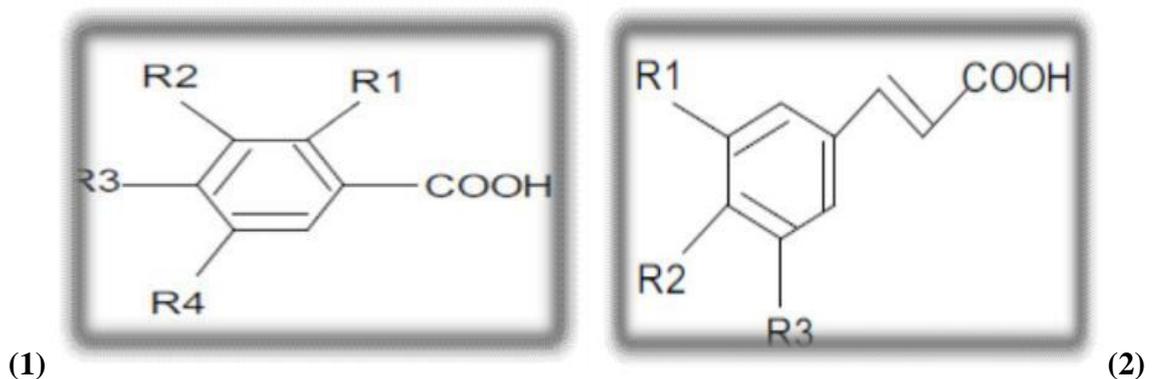
### II.3.4. Structure et classification des polyphénols :

Les composés phénoliques sont classés selon le nombre d'atome de carbone dans le squelette de base, ces structures peuvent être sous forme libres ou liées à l'ester ou hétérosides. Les différentes classes de ces composés phénoliques. [19]

#### II.3.4.1. Acides Phénoliques :

Les acides phénoliques ces acides phénoliques sont des composés organiques qui contiennent au moins un La fonction du carboxyle et de l'hydroxyle phénol. C'est l'un des véhicules Les phénols sont prédominants dans les figues et sont principalement concentrés dans le cortex. [20] Ils se divisent en:

- a. **Acides hydroxybenzoïques** : ce sont dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Ils sont souvent présents sous formes d'esters ou de glycosides. Ces acides sont caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle lié au phénol (Ex : l'acide gallique, l'acide salicylique et l'acide vanillique). [20]
- b. **Acides hydroxycinnamiques** : dérivés de l'acide cinnamique, ils ont une formule de base de C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>. Toutes les plantes contiennent au moins trois parmi les acides connus, citant comme exemples : l'acide cinnamique, l'acide p-coumarique, l'acide caffeique, l'acide ferulique, et l'acide sinapique. [20]



FigureII.7: Structure de base des acides hydroxybenzoïques (1) et l'acide hydroxycinnamique (2). [21]

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composés Phénolique

### II.3.4.2. Les Flavonoïdes C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> :

#### II. 3.4.2.1. Définition :

Le nom flavonoïde proviendrait du terme flavedo, désignant la couche externe des écorces d'orange, cependant d'autres auteurs supposaient que le terme flavonoïde a été plutôt prêté du flavus ; (flavus=jaune). [22]

Les flavonoïdes ont été isolés par le scientifique E.Chervreul en 1814, mais ont été réellement découverts qu'en 1930 par Albert Szent-Györgyui, désignés sous le nom de vitamine P, en raison de leur efficacité à normaliser la perméabilité des vaisseaux sanguins, cette dénomination fut abandonnée lorsqu'on se rendit compte que ces substances ne correspondaient pas à la définition officielle des vitamines, il devient clair que ces substances appartiennent aux flavonoïdes. [22]

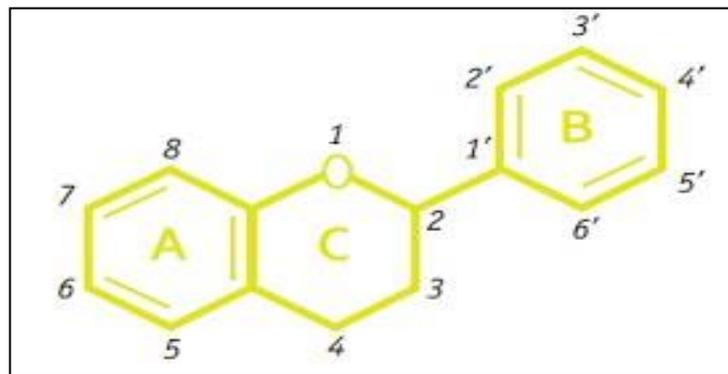


Figure II.8: Structure de Base de Flavonoïde. [23]

#### II.3.4.2.2. Les Flavonoïdes d'agrumes :

Les écorces d'agrumes et les graines sont très riches en composés phénoliques, comme les acides phénoliques et les flavonoïdes. La peau d'agrumes est plus riche en flavonoïdes que les graines.

Une grande partie des composés phénoliques des oranges et des jus d'orange sont les acides hydroxycinnamiques (HCA) et les flavonoïdes, dont les flavanones, les flavones, les flavonols, et les anthocyanines sont quantitativement les plus prédominantes. L'utilisation et la valorisation des écorces d'agrumes ont fait l'objet de diverses recherches, ce sont des sources potentielles d'antioxydants naturels. Elles sont riches en composés phénoliques comme les flavanones, les glycosides de flavanones et les flavonespolyméthoxylées (FPM), qui sont physiologiquement très actifs. Ces FPM sont représentés par la nobiletine, la tangerétine, la sinesétine, la 3,5,6,7,8,3',4'-heptaméthoxyflavone et la 3,5,6,7,3',4'

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique

hexaméthoxyflavone. Les peaux d'agrumes sont aussi une source de polyhydroxyl flavonoïdes (FPH) tels que l'héspéridine, la neohéspéridine et la naringine qui sont des glycosides de flavanones. [17]

Les FPM et les glycosides de flavanones se retrouvent exclusivement dans les peaux du genre *Citrus*, en particulier dans les peaux d'oranges douces (*Citrus sinensis*) et les mandarines, ils se produisent relativement rarement dans les autres plantes, les aglycones de flavanones varient selon les types d'agrumes : l'héspéridine est majoritaire dans l'orange et la clémentine, et la naringénine dans le pamplemousse et l'ériodictyol dans le citron. [17]

### **II.3.4.3. Tannins :**

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente ayant en commun la propriété de tanner la peau, cette aptitude est liée à leur propriété de se combiner aux protéines. [22]

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs, deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biogénétique: Les tanins hydrolysables et les tanins condensés. [22]

#### **a- Les Tanins Hydrolysables :**

Les tanins hydrolysables sont des polymères hétérogènes formés par des acides phénoliques, en particulier l'acide gallique, et des sucres simples. Ils sont plus petits que les tanins condensés et sont hydrolysés plus facilement; seul l'acide dilué est suffisant pour y parvenir. La plupart ont une masse moléculaire comprise entre 600 et 3000. [24]

#### **b- Les Tanins Condensés :**

Les tanins condensés sont des composés non hydrolysables ayant un poids moléculaire plus élevé, issus de la polymérisation d'unités flavan-3-ols en dimères, oligomères (2-10 monomères) et polymères (>10 monomères), qui sont hydroxylés en position 3. [17]

Cette condensation leur confère une structure voisine à celle des flavonoïdes. La variation structurelle des tanins condensés est due aux différentes unités, aux positions, orientations et types des liaisons inter-flavonoïdes. Les unités flavan-3-ols les plus courantes trouvées dans les tanins condensés comprennent la catéchine, l'épicatéchine, la gallocatéchine et l'épigallocatéchine. [17]

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composés Phénolique

Tableau II.1: Principales classes des composés phénoliques. [23]

Squelette carboné	Classe	exemple	Origine (exemple)
C <sub>6</sub>	Phénols simples	Catéchol	-
C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Acides hydroxybenzoïques	p-hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Acides hydroxycinnamiques	Acide caféique, férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine	Citrus
C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoïdes : Flavonols Anthocyanes Flavanols Flavanones	Kaempférol, Quercétine Cyanidine, pélagonidine Catéchine, épicatéchine Naringénine	Fruit, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Tanins condensés	-	Raisin rouge, kaki

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique

### Les Références Bibliographie

- [1] Revue du rhumatisme, Tome 74, Numéro 7, juillet 2007, pages 636-643, <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1169833007002207>.
- [2] Les radicaux libres: qui sont-ils et comment les neutraliser?, <https://www.lasante-danslassiette.com/au-menu/articles/radicaux-libres.html>.
- [3] Tigrine Nadir, « Activité antioxydante des extraits d'écorce et de pulpe de Citrus limon et Citrus sinensis », mémoire de master en Sciences Biologiques ; Option Pharmacologie Moléculaire ; Université de Bejaïa, 2016.
- [4] Ayoub Bensakhria, « Toxicologie Générale - Le Stress Oxydatif », publiée le 07/2018, [https://www.researchgate.net/figure/Reactions-de-formation-de-radicaux-libres-Les-principales-especes-reactives-d-O2\\_fig4\\_326107870](https://www.researchgate.net/figure/Reactions-de-formation-de-radicaux-libres-Les-principales-especes-reactives-d-O2_fig4_326107870).
- [5] Espèces réactives de l'oxygène ; Responsable Anja LISZKAY-KRIEGER ; CEA/Saclay / Bât. 532 ; publié le 9 mai 2017 ; [https://joliot.cea.fr/drf/joliot/Pages/Entites\\_de\\_recherche/I2BC\\_saclay/SB2SM/LMB/especes-reactives-de-l-oxygene.aspx](https://joliot.cea.fr/drf/joliot/Pages/Entites_de_recherche/I2BC_saclay/SB2SM/LMB/especes-reactives-de-l-oxygene.aspx) .
- [6] Julie Carange, « rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassins stéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection ? », mémoire de master en biophysique et biologie cellulaires, l'université du québec à trois-rivières, 2010.
- [7] MEUHRICI LES ANTIOXYDANTS, publié le 12/07/21 <https://www.les2vaches.com/c-est-quoi-les-antioxydants/>.
- [8] Hamidi Fatima & Limam Fadila, « étude phytochimique et pouvoir antioxydant de l'écorce d'orange et citron », mémoire de master en sciences alimentaires Spécialité Nutrition et Pathologies, Université Mostaganem, 2018.
- [9] Boughellout Manel & Amara Takoua, «les effets protecteur de plantes contre le stress oxydant », mémoire de Master en Sciences Biologiques Spécialité Toxicologie et Santé ; Université de Constantine, 2015.
- [10] **Benourad Djamilia**; « Influence de différentes méthodes d'extraction sur le rendement, la composition chimique et l'activité antioxydante des extraits de *zingiber*

## Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique

*officinale* (Formes fraîche & sèche) », mémoire de Master en sciences Biologiques ; Université de Mostaganem, 2018.

[11] Gharbi Safa & Zeghib Khaoula, « L'effet de *Aquilaria malaccensis* et *Aristolochia longa* sur la toxicité de plomb chez les rattes Wistar », mémoire de .....en .....Université de El OUED, 2016.

[12] Nour Elhouda BEZZIOU & Selma ATHMANI, « Etude de l'effet hépato-préventif de l'extrait aqueux d'*Astragalus gombiformis* Pomel. Contre la toxicité induite par la Doxorubicine », mémoire de .....en .....Université de Biskra, 2019.

[13] Vitamine pour grossir rapidement : que trouver en pharmacie pour les adultes? ; publié le 1 JANVIER 2023 par Nicolas Dematteo ; <https://prise-de-masse-rapide.fr/vitamine-pour-grossir-rapidement-pharmacie-pour-adultes/>.

[14] Vitamines hydrosolubles, <https://elearn.univoran1.dz/pluginfile.php/53972/course/overviewfiles/vitamines%20hydrosolubles.docx?forcedownload=1>.

[15] vitamine C ; [https://fr.freepik.com/search?format=search&query=vitamine %20E&type=vector](https://fr.freepik.com/search?format=search&query=vitamine%20E&type=vector).

[16] BADAoui Warda & BARCHI Yasma, « Analyse physicochimique et propriétés antioxydantes de jus de fruits (orange, citrons et cocktail) », mémoire de master en Sciences Alimentaires Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire ; Université BAA, 2019.

[17] Ousmer Lila & TAHRI Safia, «évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits phénolique de *citrus sinensis* et *citrus aurantim* », Université de Tizi-Ouzou, 2017.

[18] Said Asma et Djouadi Djihane, « Effets des solvants d'extraction sur la composition chimique de deux fruits de l'hiver : *Citrus sinensis* et *Citrus limon* », Université de Biskra, 2021.

[19] KHALFA Raounek & HAMROUCHE Nour El Imen, « Etude des résidus d'orange (écorce) par la combinaison de deux approches, chimique et biologique », Université de Constantine 1, 2021.

## **Chapitre II : Les Activités Antioxydants des Composes Phénolique**

[20] ABAYAHIA Wahiba & KAIBOU Assia « Etude de l'activité antioxydant des extraits de quelques variétés de figes d'Algérie », Université de Ghardaïa, 2022.

[21] HACHEMAOUI Kamila & OUMBICHE Nadia « Activités antioxydant et antibactérienne des polyphenols des feuilles de *Citrus reticulata blanco* (mandarine) » Université de Bejaia-,2013.

[22] Mohammed Doudou& Omar Foutia, « Extraction des flavonoïdes et Evaluation de l'efficacité antioxydant de la plante *Lobularia Maritima .L.(Desv)* », Université de OUARGLA-, 2020.

[23] Labbani, « chapitre 4: Composés phénoliques », Cour Biochimie végétale, 2022.

[24] « Tanin », publiée le 18/08/2009, <https://www.aquaportail.com/definition-5295-tanin.html>.

[25] Moufida RIRA, « Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthaneentérique par les ruminants en milieu tropical », école doctorale des sciences de la vie et de la santé – agronomie – environnement, 2019.

***Chapitre III:***  
***Matériel et Méthodes***

### **III. Matériels et Méthodes**

La partie expérimentale de ce mémoire est réalisé au sien du laboratoire pédagogique de département de génie de procédés, faculté de sciences et de la Technologie de l'université de Ghardaïa.

#### **III.1. Matériel Végétal**

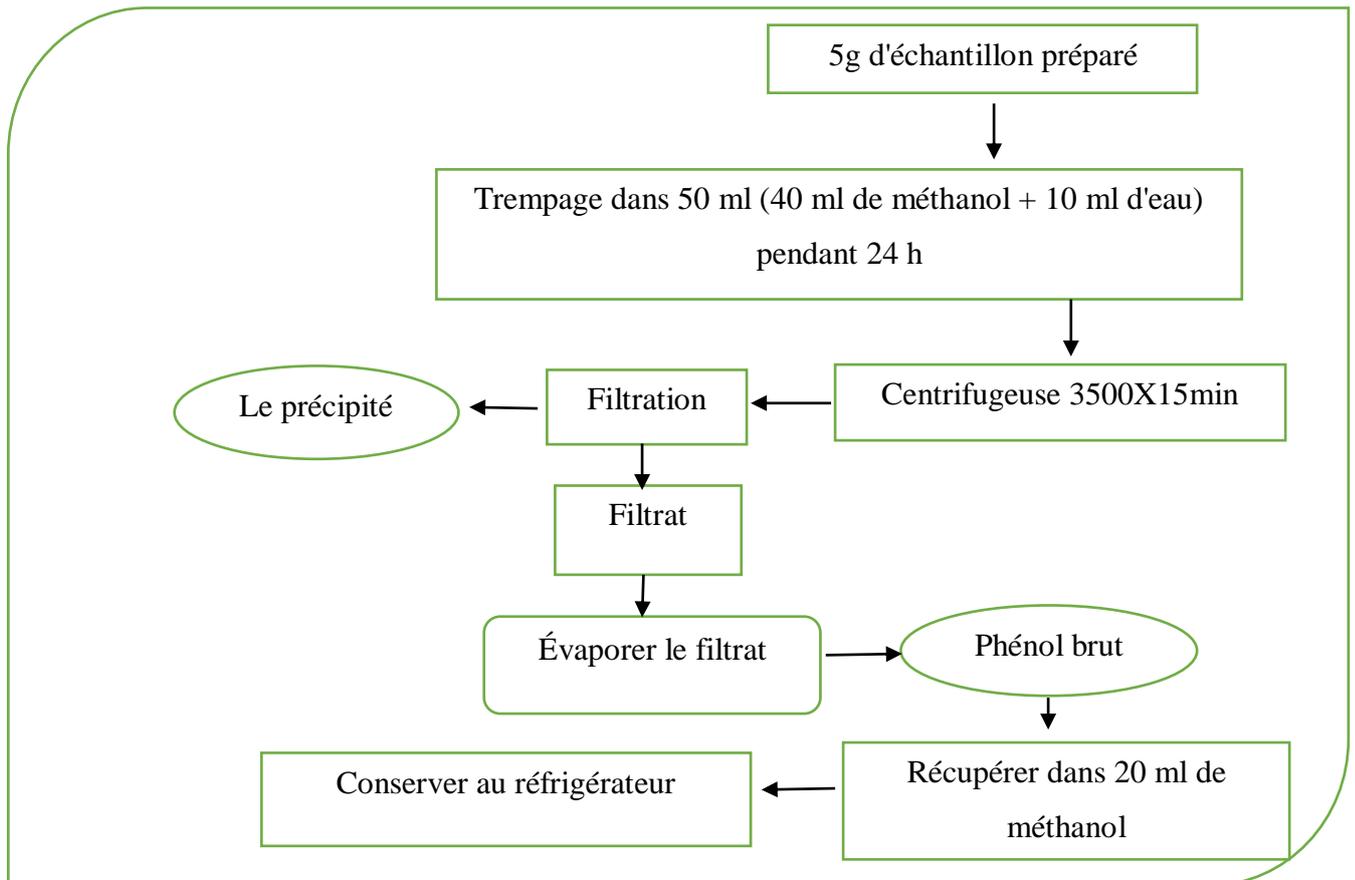
Les deux fruits de *Citrus limon* (citron) et *Citrus aurantium* (l'orange amère) utilisés dans cette étude ont été récoltés pendant le mois de janvier 2023 dans la région de Metlili (Ghardaïa). Les fruits fraîchement récoltés, sont nettoyés, lavés, séchés avec une serviette en coton propre. Après un séchage de 17 jours à l'abri de la lumière à une température ambiante, les écorces sont broyées finement à l'aide d'un broyeur électrique et mises dans des flacons fermés, étiquetés et conservés jusqu'à l'analyse.

#### **III.2. Extraction et dosage des polyphenols**

##### **III.2.1. Extraction des composés phénoliques**

###### **III.2.1.1. Extraction des composés phénoliques conjugués et libres (méthode 01):**

Pour ce faire, selon le protocole [1], 5 g de poudre d'écorces d'orange amère, celles de citron et d'un mélange des deux fruits (citron et d'orange amère) sont macérés séparément dans 50 ml de méthanol 80%, pendant 24 heures à une température ambiante après une agitation de 2 heures pour bien homogénéiser. Le mélange est ensuite centrifugé pendant 15 minutes puis filtrée à l'aide d'un papier filtre. L'extrait aqueux est obtenu après évaporation de méthanol à l'aide d'un évaporateur rotatif et conservé dans 20 ml méthanol jusqu'à analyse.



**Figure III.1:** protocole d'extraction des composés phénoliques conjugués et libres. [1]

### III.2.1.2. Extraction des composés phénoliques par acétate d'éthyle (méthode 02) :

Les polyphénols ont été extraits selon la méthode [2], avec quelques modifications pour améliorer le rendement d'extraction, inspirée de la méthode 1.

#### ❖ Dépigmentation et élimination des lipides :

10 g de chaque échantillon sont macérées dans 100 ml d'hexane pendant 24 heures. Les lipides sont obtenus après filtration et évaporation de solvant, puis pesés afin de calculer de rendement en lipides.



**Photo III.1** : étape de délipidation de deux échantillons.

➤ **Extraction solide-liquide (macération) :**

Les composés phénoliques sont extraits de poudre délipidée de chaque échantillon et de mélange (écorces de citron et d'orange amer) par extraction solide liquide (macération) dans 100 ml de méthanol 80 % pendant 24h à une température ambiante à l'abri de lumière, le mélange est centrifugé pendant 15 minutes et filtré sur papier filtre, puis le méthanol est évaporé par rotavapeur à 40°C.

➤ **L'extraction liquide-liquide**

La phase aqueuse obtenue est ensuite extraite une ou plusieurs fois avec de l'acétate d'éthyle (1/1 : V/V), après l'addition de 2ml de solution aqueuse de sulfate d'ammonium (20%) et 2ml d'acide ortho phosphorique (2%) qui facilite le passage des substances phénoliques vers la phase organique, les extraits organiques sont regroupées et séchées sur sulfate de sodium anhydre, et sont alors évaporés à sec par évaporateur rotatif à une température de 40 C°. Les extraits phénoliques obtenues sont pesés afin de calculer le rendement et conservés dans 20 ml de méthanol au réfrigérateur jusqu'à analyse.

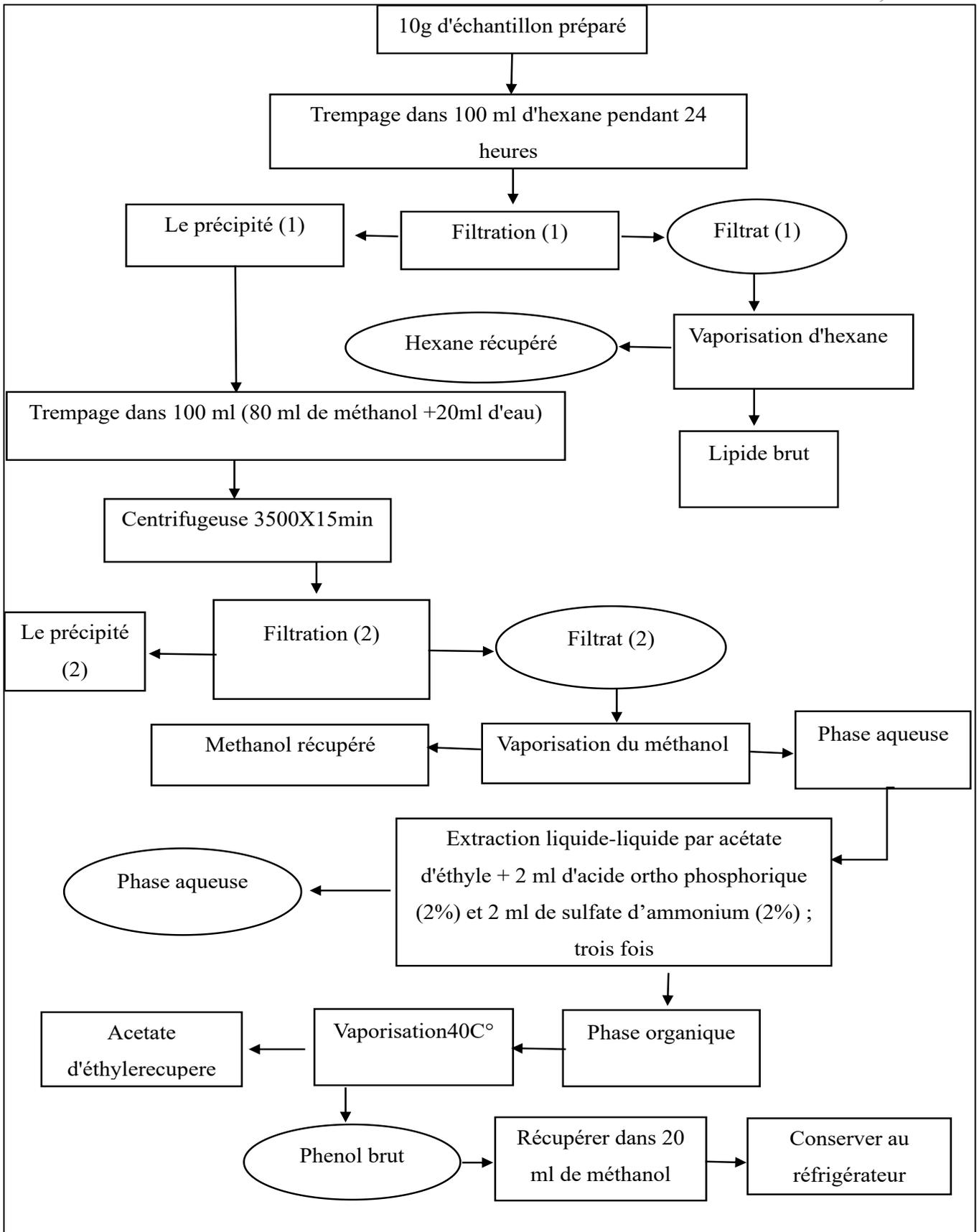


Figure III.2: protocole d'extraction des composés phénoliques d'écorces de citron, d'orange amer et de mélange par acétate d'éthyle [2].

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

$$R (\%) = \left[ \frac{P_1 - P_0}{P_1} \right] \times 100$$

Avec :

**P<sub>1</sub>** : poids de la matière sec après évaporation (g) ;

**P<sub>0</sub>**: poids initial du ballon (g) ;

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

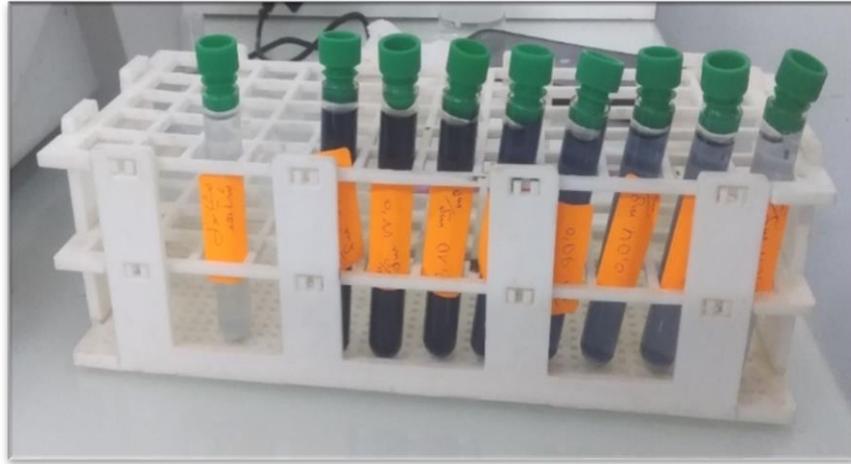
### **III.2.2.dosage des composes phenolique**

#### **III.2.2.1. Dosage des polyphénols totaux :**

Le dosage des phénols totaux d'écorces d'agrumes a été effectué par la méthode de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Denis, basé sur la réduction de réactif de Folin par les polyphénols lors de leur oxydation en présence de carbonate de sodium. [6]

1ml de chaque extrait a été introduit dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 2.5 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué). Après incubation pendant 5 minutes, 2.5 ml de carbonates de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> à 20% ont été ajoutées, puis les solutions ont été secouées immédiatement et sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante (photo **III.2**). L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm contre un blanc sur un spectrophotomètre UV-visible. La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique et exprimée en milligrammes par gramme de la matière sèche équivalent en acide gallique (mg AGE/g MS).

La même procédé pour la courbe d'étalonnage avec l'acide gallique pour une gamme de concentrations de 0,01 à 0,12 mg/ml dans du méthanol.



**Photo III.2 :** Dosage des Polyphénols Totaux.

La teneur en polyphénols totaux (TPC) est calculée selon la relation suivante :

$$C \left( \frac{mg}{100g} \right) = \left( \frac{A}{K} \times F \times \frac{V}{P} \right) \times 100$$

**Alors que:**

A : Absorbance à 725 nm.

K : la pente obtenu d'après le courbe étalonnage de l'acide gallique (K=16,908 mg/ml.nm).

F : facteur de dilution des extraits.

C : la quantité de composés phénoliques totaux (100g/mg.)

V : le volume où l'extrait phénolique brut est dissous.

P : la masse de la prise d'essai en grammes.

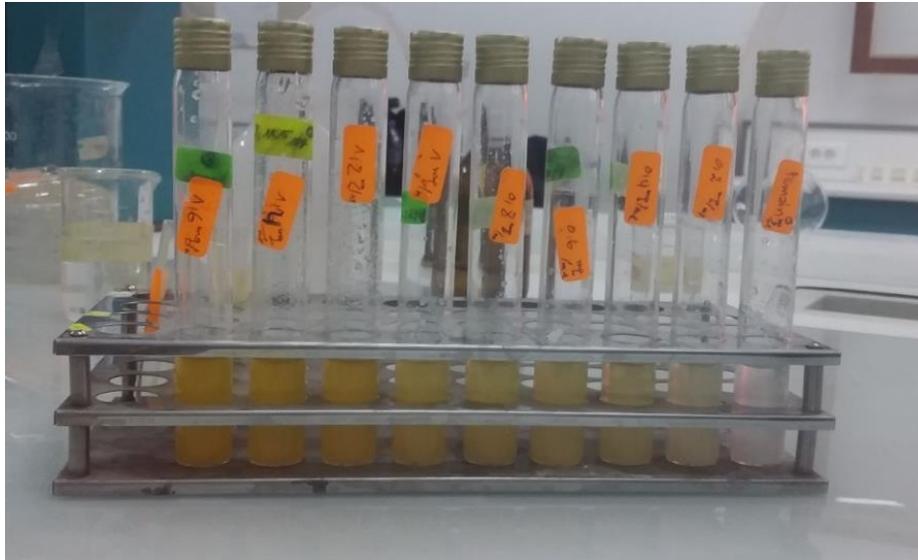
### **III.2.2.2. Dosage des flavonoïdes**

La teneur totale en flavonoïdes dans les extraits d'écorces d'agrumes a été estimée par la méthode de Zhishen et al (1999) en utilisant le tri-chlorure d'aluminium  $AlCl_3$  comme réactif. Cette méthode est basée sur la complexation entre les flavonoïdes et le trichlorure d'aluminium en présence de nitrite de sodium et la soude, ce qui entraîne une coloration rose détectable dans le visible [6].

#### **➤ Mode opératoire**

A 0.3 ml de chaque solution ainsi préparée, 1.2 ml d'eau distillée et 0.3 ml de 5% de  $NaNO_2$  sont ajoutés. Après 5 minutes, 3 ml de 10% d' $AlCl_3$  a été ajouté. Deux millilitres de  $NaOH$  (1M) a été ajouté 5 minutes plus tard et alors le volume était ajusté avec 0.2 ml de l'eau distillée. La solution est bien homogénéisée et l'absorbance a été mesurée immédiatement à

510 nm contre un blanc en employant le même spectrophotomètre pour le dosage précédent. On parallèle une courbe d'étalonnage est établie avec les mêmes procédures on remplace les extraits testés par le quercétine avec des concentrations de 0,2 à 1,6 mg/ml dans le méthanol.



**Photo III.3 :** Dosage des Flavonoïdes.

La teneur en flavonoïdes totaux (TFC) des extraits a été exprimée en mg quercétine équivalent de 100 g matière sèche (mg QE/100g MS) selon la relation suivante :

$$C \left( \frac{mg}{100g} \right) = \left( \frac{A'}{K'} \times F' \times \frac{V}{P} \right) \times 100 \dots \dots \dots (2 - III)$$

Où :

A' : absorbance à 510 nm.

K' : est la pente de la courbe standard quercétine (QE), dans cette étude K'=0.847mg/ml.nm (Fig.IV.2).

F': facteur de dilution des extraits.

C': la quantité de flavonoïdes totaux (100g/mg.)

V : le volume de l'extrait phénolique brut.

P : la masse de la prise d'essai en grammes.

**III.3. Détermination de l'activité antioxydante des écorces d'agrumes :**

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'écorces d'agrumes a été faite colorimétriquement par le test de DPPH selon Molyneux, (2004).

Le DPPH<sup>•</sup> est un radical libre stable de couleur violet foncé lorsqu'il est piégé par un antioxydant, il apparaît sous sa forme réduite de couleur jaune pâle qui peut être suivie spectrophotomètre par UV-visible à 517 nm. Pour réaliser ce test, 1 ml de chaque extrait dilué dans le méthanol est additionné à 1ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.04 mg/ml).

Après 30 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517 nm. Un control est réalisé en parallèle en mélangeant 1 ml du méthanol avec 1ml de solution de DPPH. Les résultats sont exprimés par apport à l'antioxydant synthétique BHT (0,1 mg/ml) dans le méthanol.

L'activité antiradicalaire des extraits phénoliques exprimé par le pourcentage d'inhibition (Inh (%)) a été calculée en utilisant la relation suivante :

$$Inh (\%) = [(A \text{ controle} - A \text{ echantillon}) / (A \text{ controle})] \times 100$$

L'activité antiradicalaire des extraits obtenus est exprimée en valeur d'IC<sub>50</sub> qui exprime la concentration de l'échantillon nécessaire pour inhiber 50% de la concentration initiale de DPPH.

**Les Références Bibliographie**

- [1] M. Al-Farsi, C. Alasalvar, A. Morris, M. Baron, and F. Shahidi, Compositional and sensory characteristics of three native sun-dried date (*Phoenix dactylifera L.*) varieties grown in Oman. *J Agric Food Chem*, 2005. 53(19): p.91-7586.
- [2] M.J. Amiot, A. Fleuriet, and J.J. Macheix, Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1986. 34(5): p. 823-826.
- [3] DIANKOV S., KARSHEVA M., HINKOV I., 2011- Extraction Of Natural Antioxidants From Lemon Peels, Kinetics And Antioxidant Capacity, *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 46(3): 315-319.
- [4]. NG T.B., HUANG B., FONG W.P., YEUNG H.W., 1997- AntiHuman Immunodeficiency Virus (Anti-HIV) Natural Products With Special Emphasis on HIV Reverse Transcriptase Inhibitors, *Life Sciences*, 61:933–49.
- [5] VLIETINCK A.J., DE BRUYNE T., APERS S., PIETERS L.A., 1998- Plant-Derived Leading Compounds For Chemotherapy of Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection, *Planta Medica* , 64:97– 109.
- [6] Rebereau-Gayon, p. (1968). Notion générale sur les composés phénoliques. In: les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, 1-40
- [7] ZHISHEN J., MENGCHENG T. JIANMING W., 1999- The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals, *Food Chemistry*, 64(4): 555-559.
- [8] NABAVI S.M., EBRAHIMZADEH M.A., NABAVI S.F., HAMIDINIA A., AND BEKHRADNIA A.R., 2008- Determination of Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoids Content of *Parrotia Persica Mey*, *Pharmacologyonline*, 2: 560-567.
- [9] MIEAN K.H., AND MOHAMED S., 2001- Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, And Apigenin) Content of Edible Tropical Plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 3106-3112.

[10].MA Y-Q., YE X-Q., FANG Z-X., CHEN J-C., XU G-H., LIU D-H., 2008-Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Extracts From Ultrasonic Treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus Unshiu* Marc.) Peels, *Agriculture Food Chemistry*, 56: 5682-5690.

[11]. OLAJIRE A., AZEEZ L., 2011- Total Antioxidant Activity, Phenolic, Flavonoid and Ascorbic Acid Contents of Nigerian Vegetables, *African Journal of Food Science and Technology*, 2(2): 22-29.

[12]. SU M., AND SILVA J.L., 2006- Antioxidant Activity, Anthocyanins, and Phenolics of Rabbiteye Blueberry (*Vaccinium Ashei*) Byproducts as Affected By Fermentation, *Food Chemistry*, 97: 447- 451.

*Chapitre IV:*  
*Résultats et Discussion*

**IV.1. Déterminer le reste sec des extraits**

L'extraction des composés phénoliques d'écorces de citron et d'orange amer par macération de méthanol 80% par deux méthodes (extraction des composés phénoliques conjugués et libres l'autre extraction par l'acétate d'éthyle) révèlent les résultats de rendement de **tableau IV.1**.

**Tableau IV.1:** Résultats de rendement d'extraction des composés phénoliques par les deux méthodes d'extraction :

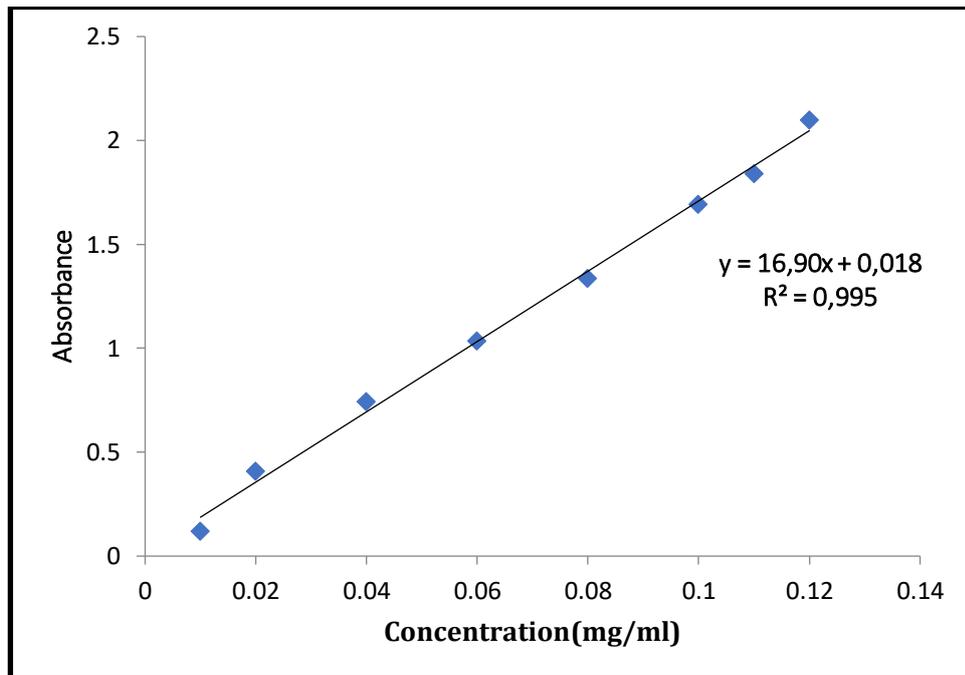
	Méthode 1			Méthode 2		
	Orange amère	Citron	Le mélange	Orange amère	Citron	Le mélange
<b>masse (g)</b>	1,575	1,155	1,29	0,105	0,155	0,083
<b>Rendement (%)</b>	31,5	23,2	25,8	2,1	3,1	1,67

Ces résultats montrent que les écorces de citron et celle d'orange amer contiennent des quantités élevées en composés phénoliques avec des taux variables.

Pour la première méthode le rendement varie de **(23.2-31.5%)** dont les extraits d'orange présentent le meilleur rendement **(31.5%)** suivie de mélange **(25.8%)** au contraire dans la deuxième méthode où les extraits d'écorces de citron s'avèrent plus riches en composés phénoliques avec un rendement de **(3.1%)** suivie de d'orange amère **(2.1%)** et le mélange **(1.67%)**. Quelque soit les résultats trouvés, la deuxième méthode reste plus fiable et convenable à l'extraction des composés phénoliques parce que dans la première méthode il est risqué d'extraire d'autres composés phytochimiques (protéines et glucides...) ce qui interfère l'extraction et dosage des composés phénoliques. Cependant, la variation des valeurs de rendement peut être attribuée à la matière végétale utilisée, au solvant et méthode d'extraction et peut être due à la nature des composés phénoliques contenus dans les écorces des agrumes utilisés, de la durée d'extraction, période de récolte.

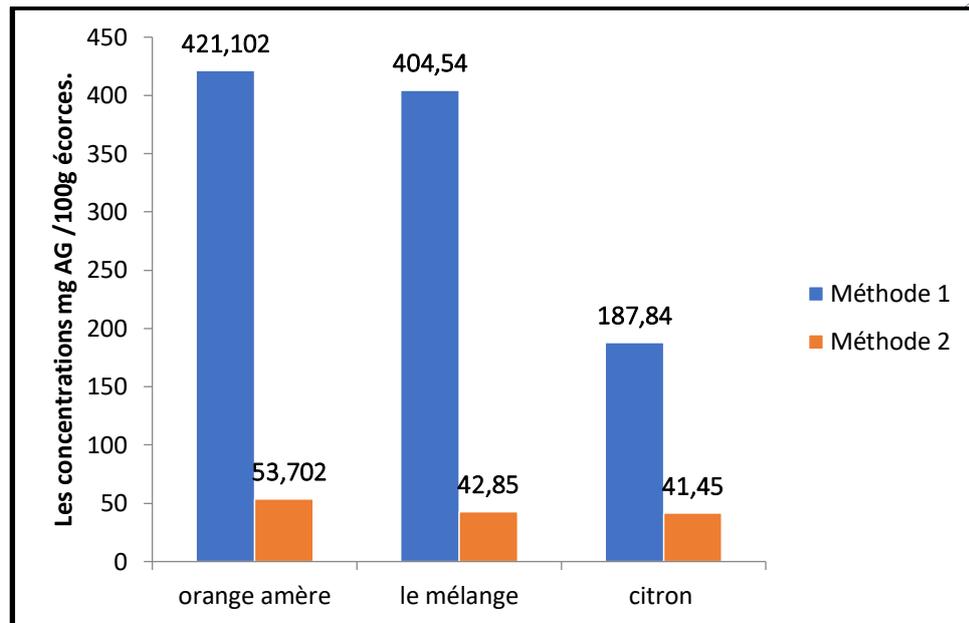
**IV.2. Détermination de la teneur totale des phénols :**

Le dosage des composés phénoliques des extraits d'écorce d'agrumes (citron, orange amère et leur mélange) obtenus par deux méthodes, permet de calculer les teneurs en polyphénols totaux à l'aide d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Figure IV.1).



**Figure IV.1:** courbe d'étalonnage d'acide gallique.

La teneur en polyphénols totaux dans les extraits d'écorces d'agrumes (citron, orange amère, le mélange) par deux méthodes d'extraction sont présentées dans la figure (IV.2), ils sont exprimés en mg AGE /100g écorces.



**Figure IV.2:** les teneurs de polyphénols totaux dans les extraits de citron, orange amère, le mélange) par deux méthodes d'extraction.

A la lumière de ces résultats, les extraits d'écorces d'agrumes extraites par la méthode 1 sont riches en composés phénoliques totaux, dont l'écorces d'orange amère présente le taux le plus élevé (421.102 mg AGE/100 g MS) plus quatre fois de taux enregistré par celui de citron (187.84 mg AGE/100 g MS), cependant le mélange (404.54 mg AGE/100 g MS).

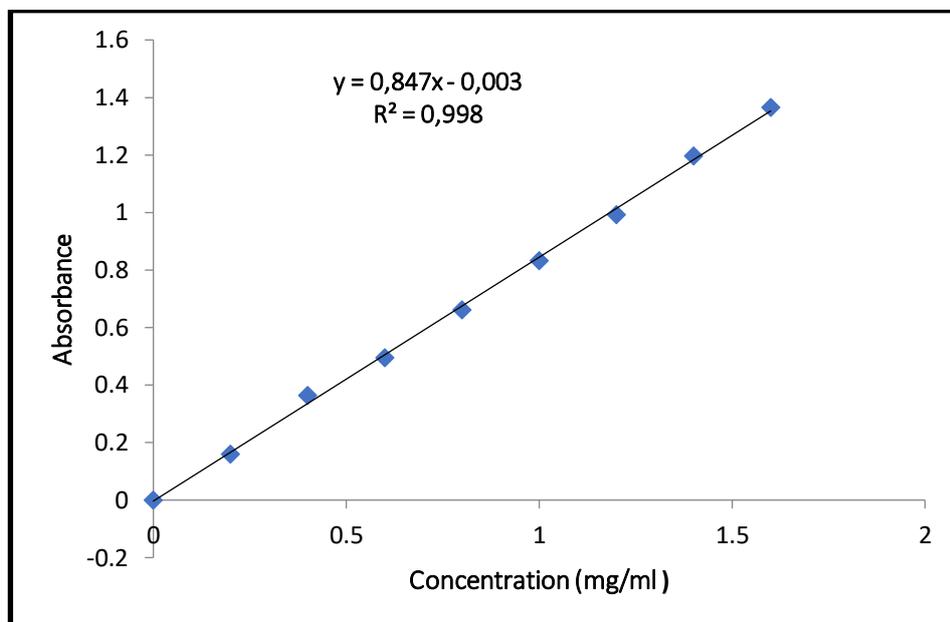
Les teneurs en polyphénols totaux dans les extraits obtenus par la deuxième méthode sont faibles par rapport à celui obtenus par la première méthode avec des taux de (41.45 -53.702 mg AGE/100 g MS) correspond l'écorce de citron et celle de l'orange amère respectivement. Ceci peut être expliqué par l'interférence des autres composés phytochimiques telle les protéines qui peuvent extraits par la première méthode et détectées par le réactif Folin. D'autres paramètres peuvent être mis en jeu : la nature des composés phénoliques extraits par chaque méthode d'extraction, le solvant utilisé etc.

### IV.3. Détermination de la teneur totale des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes totaux des extraits d'écorces d'agrumes étudiées (citron, orange amère) et de leur mélange sont calculés à partir de courbe d'étalonnage de Quercétine (Figure IV.3).

**Tableau IV.2 :** Les absorbances de série d'étalonnage de Quercétine mesurés à 400 nm:

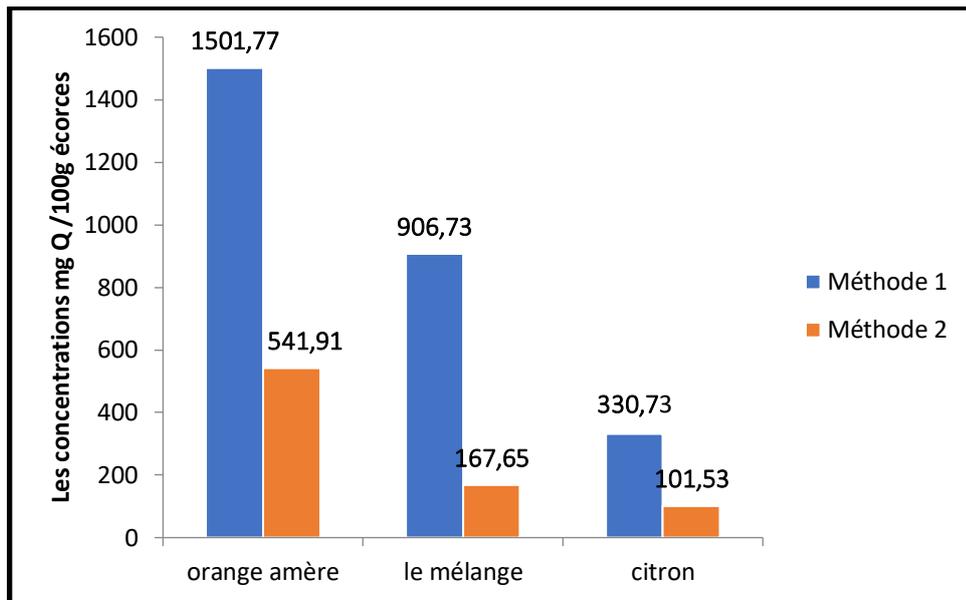
Concentration (mg/ml)	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6
Absorbance	0.161	0.364	0.496	0.661	0.834	0.994	1.198	1.366



**Figure IV.3:** La courbe d'étalonnage de Quercétine.

D'après les résultats obtenus (Figure IV.4), de même que les polyphénols, les teneurs en flavonoïdes totaux sont plus élevés pour la première méthode que celles des extraits obtenus par la deuxième méthode. Toutefois, les extraits d'écorces d'orange amère sont les plus riches en flavonoïdes dans les deux méthodes avec un TFC égale à 1501.77 mg QE/100 MS par la méthode 01 et 541.91 mg QE/100 MS par la méthode 2. Les extraits d'écorces de citron enregistrent un faible TFC de l'ordre de (330.57- 101.53 mg QE/100 g MS).

A l'issue de cette étude, l'analyse quantitative des extraits phénoliques d'écorces d'orange amère et celle de citron, montrent la richesse de ces écorces par des polyphénols et flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires très intéressantes en plusieurs termes médicinales, agroalimentaire, industrielle et d'autre ce qu'attribue aux écorces d'orange amère en particulier et celles de citron des effets pharmacologiques et des application permettent de les bien valoriser ces plantes et de mieux profiter de tous leurs parties.



**Figure IV.4:** les teneurs des flavonoïdes totaux dans les extraits de citron, orange amère, le mélange) par deux méthodes d'extraction.

#### IV.4. Evaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH

Étant donné que les résultats précédents ont montré la présence d'une grande quantité de composés phénoliques dans les différents extraits d'écorces d'agrumes étudiés, ces composés sont connus par leurs effets antioxydants intéressants, leur capacité à balayer les radicaux libres et de chélater certains métaux.

La capacité de nos extraits à empêcher les radicaux libres est estimée par les valeurs d'IC<sub>50</sub> (défini comme la concentration de substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH). Ces valeurs ont été déterminées pour tous les extraits et à 30 min à partir des figures (**figure IV.6, figure IV.7 figure IV.9 figure IV.10**) représentant les variations du pouvoir antioxydant (% d'inhibition) en fonction de la concentration de chaque extrait. Le pourcentage d'inhibition est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [ (A_{\text{Témoin}} - A_{\text{Echantillon}}) / A_{\text{Témoin}} ] * 100$$

Où,

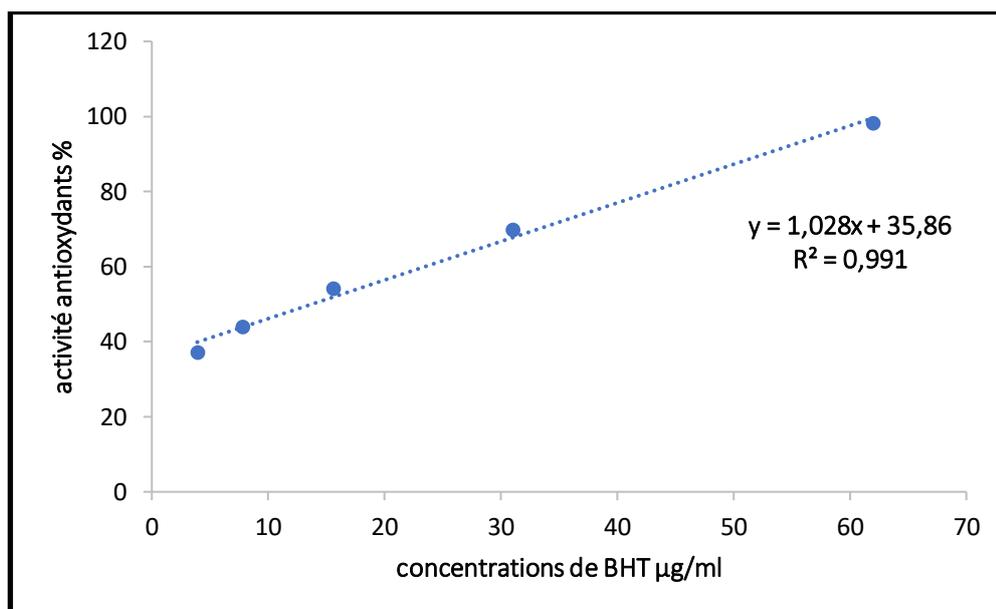
$A_{\text{Témoin}}$ : désigne l'absorbance du DPPH seul;

$A_{\text{Echantillon}}$  : représente l'absorbance du DPPH.

Il est bien connu que plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est faible, plus l'activité antioxydante du composé est élevée et vis versa.

Dans cette étude nos valeurs sont comparées par l'antioxydant synthétique BHT (62µg/ml) qui représente le contrôle positif.

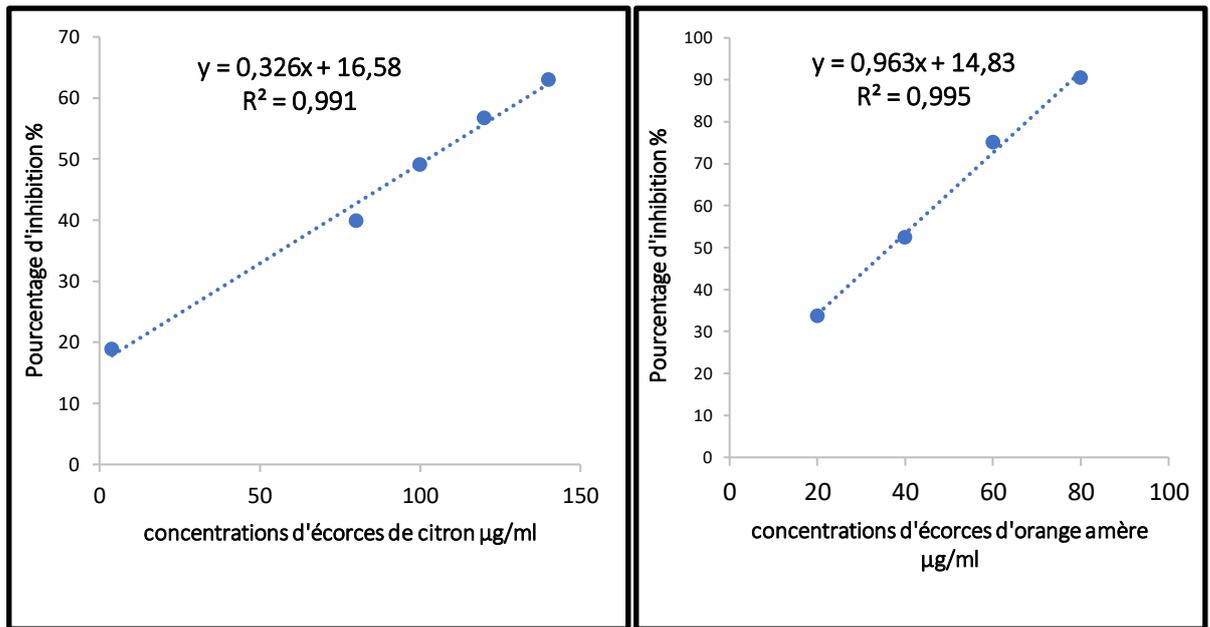
En basant sur l'équation de la courbe de **figure IV.5** on a calculer la valeur IC<sub>50</sub> de BHT qui est égale 13.75 µg/ml.



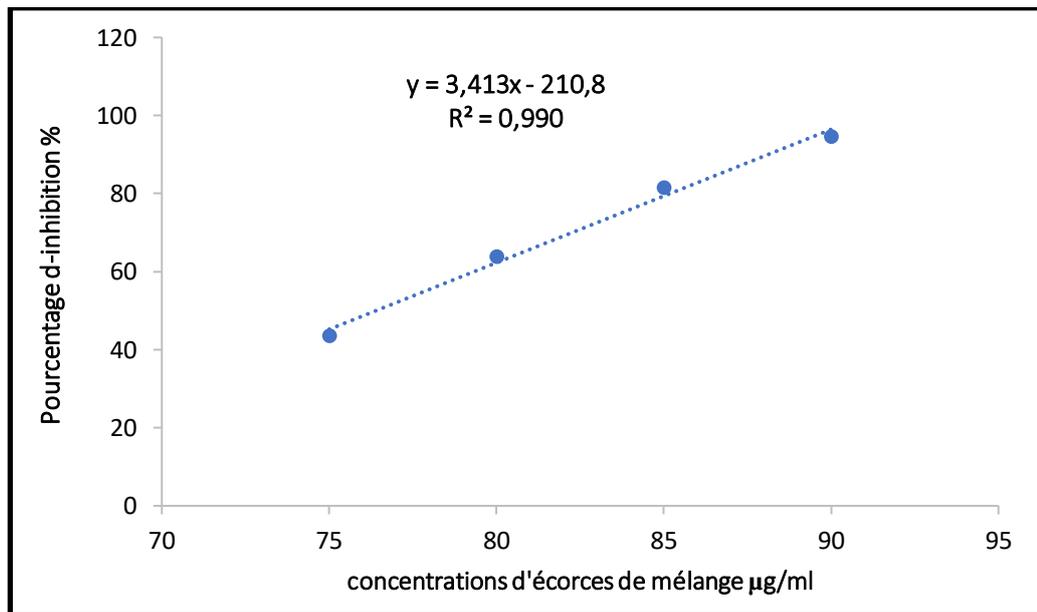
**Figure IV.5 :** Activité antioxydante totale de BHT.

En comparaison avec l'antioxydant standard BHT, tous les extraits testés s'avèrent moins actifs.

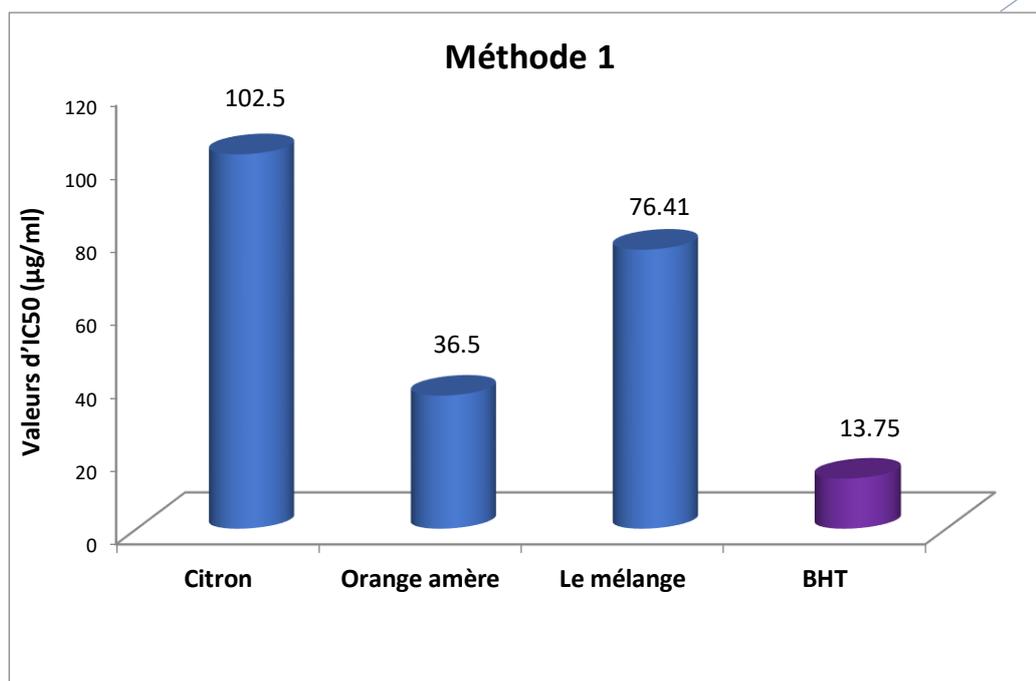
D'après les courbes des figures (**Figure IV.6, Figure IV.7 et Figure IV.8**) et les valeurs d'EC<sub>50</sub> résumés dans le tableau IV.3, on constat que les extraits d'écorces de citron et d'orange amère et celui de leur mélange possèdent des activités anti-radicalaires moyennes exprimées par des valeurs d'EC<sub>50</sub> variant de 36.5 à 102.5 µg/ml pour les extraits obtenus par la méthode 01. Les extraits d'écorces d'orange amère s'avèrent les plus puissants mais toutefois moins efficace que celle de BHT. Pour les extraits phénoliques des écorces de citron présentent un faible statu antioxydant. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que l'activité antioxydante est due principalement à la contribution des composés phénoliques qui contenus en grandes quantités dans les extraits des écorces d'orange amère.



**Figure IV.6:** Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits d'écorces de citron et d'orange amère respectivement (**Méthode 1**).



**Figure IV.7:** Variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits de mélange d'écorces de citron et d'orange amère (**Méthode 1**).



**Figure IV.8:** Variation des Valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits phénoliques d'écorces d'agrumes et leur mélange par la **méthode 01**.

De même pour l'extraction par la deuxième méthode, les extraits phénoliques extraits des écorces de citron et celle d'orange amère obtenus par acétate d'éthyle présentent un pouvoir antioxydant mais moins efficace que le pouvoir antioxydant des extraits par la première méthode (**Tableau IV.3**) avec des valeurs d'EC<sub>50</sub> variable de 265-541.47 µg/ml (**Figure IV.9**, **Figure IV.10** et **Figure IV.11**). Les extraits d'écorces d'orange amère toujours possèdent l'activité antiradicalaire la plus élevée au contraire à celle des extraits des écorces de citron.

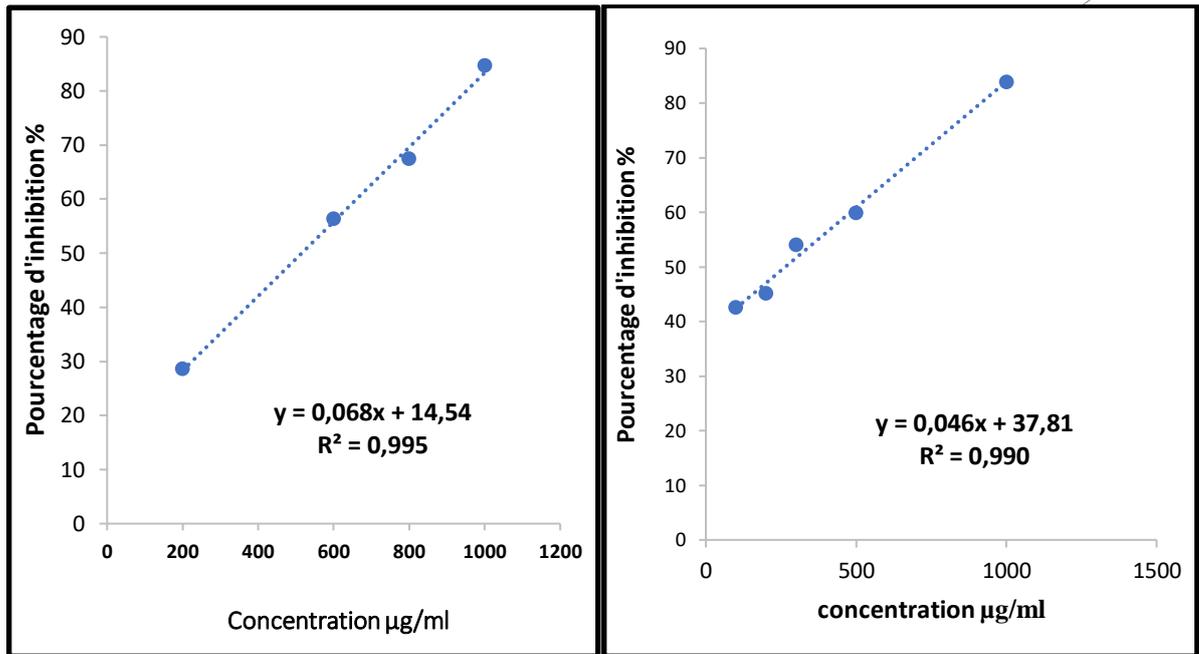


Figure IV.9: Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits d'écorces de citron et d'orange amère respectivement (Méthode 2).

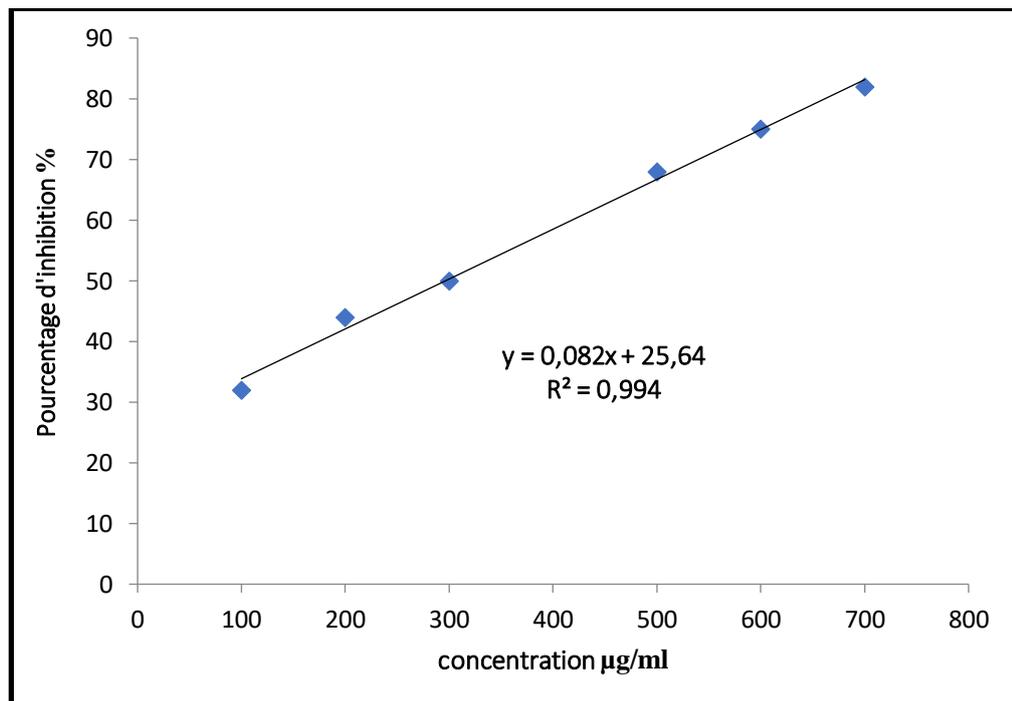
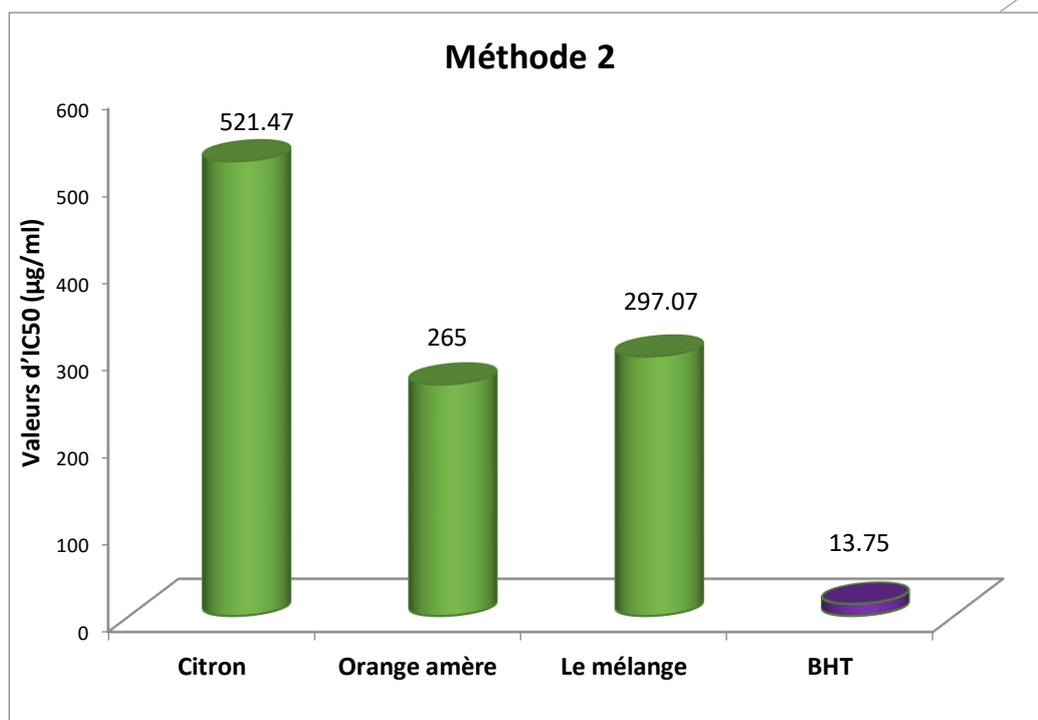


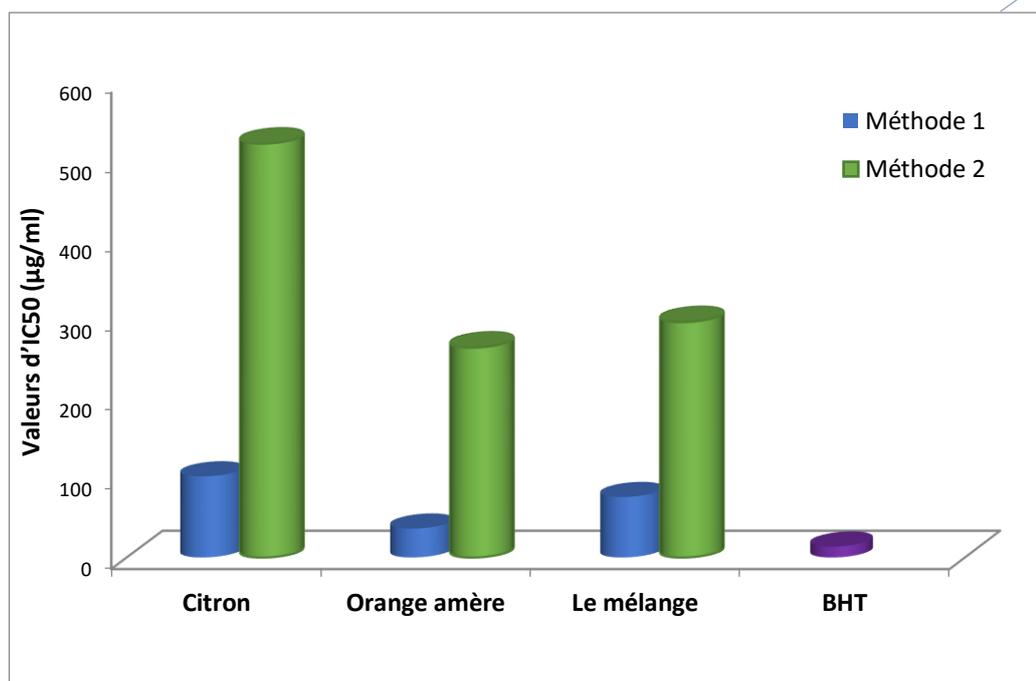
Figure IV.10: Variation des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations des extraits de mélange d'écorces de citron et d'orange amère (Méthode 2).



**Figure IV.11:** Variation des Valeurs d'EC<sub>50</sub> des extraits phénoliques d'écorces d'agrumes et leur mélange par la **méthode 2**.

**Tableau IV.3:** Les valeurs d'EC<sub>50</sub> des différents extraits phénoliques obtenus par deux méthodes évalués par le test DPPH.

Les extraits phénoliques	Valeurs d'IC <sub>50</sub> (µg/ml)	
	Méthode 1	Méthode 2
Citron	102,5	521,47
Orange amère	36,5	265
Le mélange	76,41	297,07
BHT	13,75	



**Figure IV.12:** Comparaison des valeurs d'IC<sub>50</sub> des extraits phénoliques d'écorces d'agrumes et leur mélange par les deux méthodes.

A l'essor de ces résultats, les écorces de citron et d'orange amère sont riches en composés phénoliques d'une activité antiradicalaire intéressante qu'il faut valoriser pour faciliter leur incorporation comme des agents antioxydants naturels ou lieu de les jeter. Cependant, cette activité dépend de leur composition phytochimique (composés phénoliques et flavonoïdes) qui affectent principalement par la méthode et le solvant d'extraction, la nature des composés extraits, la période de récolte, mode de séchage et d'autres facteurs mis en jeu lors des procédés d'extraction ou de dosage ou même les conditions d'évaluation de leur activité antioxydante (méthode d'évaluation...).

## ***Coclusion Générale***

## *Conclusion Générale*

Les agrumes comme les autres fruits sont très connus par leur richesse en substances nutritives en particulier une grande quantité en vitamine C ce qui lui fait très demandes surtout en hiver pour renforcer le système immunitaire contre rumen la grippe etc. Les écorces d'agrumes sont aussi utilisées comme tisane, aromatisant ou parfois jetées malgré leurs effets importants. Cette étude vise à valoriser et évaluer l'activité antiradicalaire des écorces d'orange amère et celles de citron et leur mélange, aussi de quantifier leur teneur en composés phénoliques.

L'extraction des composés phénoliques conjugués et libres d'écorces de citron et d'orange amer par macération dans le méthanol 80% donne un rendement varie de (**23.2-31.5%**) dont les extraits d'orange présentent le meilleur rendement (**31.5%**) au contraire aux extraits des écorces de citron obtenus par la même méthode, concernant le mélange (**25.8%**). Au contraire dans la deuxième méthode (le cas d'extraction par acétate d'éthyle) où les extraits d'écorces de citron s'avèrent plus riche en composés phénoliques avec un rendement de (**3.1%**) suivie de d'orange amère (**2.1%**) et le mélange (**1.67%**). Ces résultats montrent que les écorces de citron et celle d'orange amer contiennent des quantités élevées en composées phénoliques avec des taux variables. Quelque soit les résultats trouvés, la deuxième méthode reste plus convenable à l'extraction des composés phénolique parce que dans la première méthode il risque d'extraire d'autre composés phytochimiques (protéines et glucides...) ce qui interférence l'extraction et le dosage des composés phénoliques.

Le dosage des composés phénoliques des extraits d'écorce d'agrumes (citron, orange amère et leur mélange) obtenus par deux méthodes, montrent que les extraits d'écorces d'agrumes extraites par la méthode 1 sont riches en composés phénoliques totaux, dont l'écorces d'orange amère présente le taux le plus élevé (421.102 mg AGE/100 g MS) plus quatre fois de taux enregistré par celui de citron (187.84 mg AGE/100 g MS), cependant le mélange (404.54 mg AGE/100 g MS). Des faibles teneurs en polyphénols totaux sont enregistrés par la deuxième méthode avec des taux de (41.45 -53.702 mg AGE/100 g MS) correspond aux extraits d'écorce de citron et celle de l'orange amère respectivement. Ceci peut être expliqué par l'interférence des autres composés phytochimiques telle les protéines qui peuvent extraits par la première méthode et détectées par le réactif Folin. D'autres paramètres peuvent être misent en jeu : la nature des composés phénoliques extraits par chaque méthode d'extraction, le solvant utilisé etc.

## Conclusion Générale

Les teneurs en flavonoïdes totaux sont plus élevés dans la première méthode que celles des extraits obtenus par la deuxième méthode. Toutefois, les extraits d'écorces d'orange amère sont les plus riches en flavonoïdes dans les deux méthodes avec un TFC égale à 1501.77 mg QE/100 MS par la méthode 01 et 541.91 mg QE/100 MS par la méthode 2. Les extraits d'écorces de citron enregistrent un faible TFC de l'ordre de (330.57- 101.53 mg QE/100 g MS).

L'étude de l'activité antiradicalaire des extraits phénoliques par le test de DPPH, montrent que les extraits d'écorces de citron et d'orange amère et celui de leur mélange possèdent des activités anti-radicalaires moyennes exprimées par des valeurs d'EC<sub>50</sub> variant de (36.5 à 102.5 µg/ml) pour les extraits de la méthode 01 et (265-541.47 µg/ml) pour les extraits obtenus par l'acétate d'éthyle. Les extraits d'écorces d'orange amère s'avèrent les plus puissants mais toutefois moins efficaces que celui de BHT. Pour les extraits phénoliques des écorces de citron présentent un faible statut antioxydant. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que l'activité antioxydante est due principalement à la contribution des composés phénoliques qui sont contenus en grandes quantités dans les extraits des écorces d'orange amère.

A l'issue de cette étude, l'analyse quantitative des extraits phénoliques des écorces d'orange amère et celles de citron, montrent leur richesse par des polyphénols et flavonoïdes qui sont des métabolites secondaires très intéressants en plusieurs termes médicinaux, agroalimentaire, industrielle et d'autres ce qui attribue aux écorces d'orange amère en particulier et celles de citron des effets pharmacologiques et des applications permettent de les bien valoriser ces plantes et de mieux profiter de toutes leurs parties.

Les écorces de citron et d'orange amère sont riches en composés phénoliques d'une activité antiradicalaire intéressante qu'il faut valoriser pour faciliter leur incorporation comme des agents antioxydants naturels ou lieu des jetés. Cependant, cette activité dépend de leur composition phytochimique qui affectent principalement par la méthode et le solvant d'extraction, la nature des composés extraits, la période de récolte, mode de séchage et d'autres facteurs mis en jeu lors de procédés d'extraction ou de dosage ou même les conditions d'évaluation de leur activité antioxydante (méthode d'évaluation...).

Il faudra alors :

- D'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques de ces agrumes donnant le meilleur rendement avec des effets antioxydants intéressants.

## *Conclusion Générale*

- La caractérisation des composés actifs dans les différentes parties du fruit par des techniques plus performantes, en vue d'identification des différentes molécules responsables des différentes activités biologiques ;
- L'évaluation du pouvoir antioxydant de ces extraits par d'autres méthodes et l'identification des composés phytochimiques de différentes parties des fruits telle les écorces d'orange amère à fin de leur incorporation dans domaines divers que la médecine, cosmétiques etc.

Il est donc recommandé de profiter de cette recherche.

- Environnement : par l'extraction des antioxydants naturels des écorces d'agrumes au lieu de les jeter à la poubelle.
- Économique : en profitant de la gratuité des écorces d'agrumes en les recyclant.
- Industriellement : En orientant l'utilisation des écorces comme antioxydants naturels dans les domaines nutritionnel et pharmaceutique.
- Sain : utiliser des antioxydants naturels provenant des écorces d'agrumes au lieu d'antioxydants artificiel, qui ont de mauvais effets sur la santé.



***Annexe***

## **Annexe : matériels et produits chimiques**

### 1-Matériel du laboratoire

- La verrerie : tube à essai, bécher, erlenmeyer, flacon.
- Balance de précision
- Spectrophotomètre
- Centrifugeuse
- évaporateur rotatif
- Autre : spatule, micropipettes, papier d'aluminium, papier filtre, , tube à essais

### 2- Les produits chimiques et les solvants

- Réactif de folin-ciocalteu (FCR).
- Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).
- Chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ), chlorure de sodium
- Nitrite de sodium, acide ortho phosphorique, acétate d'éthyle, sulfate d'ammonium
- Eau distillée, Méthanol. Hexane
- Le DPPH
- Les standards utilisés :
  - Acide gallique
  - Quercitine
  - BHA

### **La préparation des solutions**

- **La solution de carbonate de sodium à une concentration de 60 g / l :**
  - Dissoudre 6 g de carbonate de sodium avec un peu d'eau dans un bécher,
  - Transférer la solution dans une fiole jaugée d'une contenance de 100 ml
  - Compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'au niveau indiqué
- **Solution de nitrite de sodium à 5 % :**
  - Dissoudre 5 g de nitrite de sodium avec un peu d'eau dans un bécher,

## Annexe

- Transférer la solution dans une fiole jaugée d'une contenance de 100 ml
- Compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'au niveau indiqué
  
- **Solution de chlorure d'aluminium à 10 % :**
  - Dissoudre 10 g de chlorure d'aluminium avec un peu d'eau dans un bécher
  - Transférer la solution dans une fiole jaugée d'une contenance de 100 ml
  - Compléter le volume avec de l'eau jusqu'au niveau indiqué
  
- **Solution d'hydroxyde de sodium 1M :**
  - Dissoudre 4 g d'hydroxyde de sodium avec un peu d'eau dans un bécher
  - Transférer la solution dans une fiole jaugée de 100 ml de capacité
  - Compléter le volume avec de l'eau jusqu'au niveau indiqué
  
- **Solution DPPH :**
  - Dissoudre 4mgDPPH avec un peu de méthanol dans un bécher
  - Transférer la solution dans une fiole jaugée d'une contenance de 100 ml.
  - Compléter le volume avec de méthanol jusqu'au niveau indiqué.
  
- **Solutions d'acide gallique dans le méthanol :**

Une série de titres d'acide gallique avec des concentrations de (0,01- 0,02- 0,04- 0,06 -0,08 0,10- 0,11- 0,12) mg/ml dans du méthanol a été préparée comme suit.

### **A/ Préparer une solution d'acide gallique d'une concentration de 5 mg/ml :**

- Dissoudre 0,25 g d'acide gallique dans un bécher avec un peu de méthanol
- Transférer la solution dans une fiole jaugée d'une capacité de 50 ml
- Compléter avec de méthanol jusqu'au niveau indiqué.

### **B/ Préparer une solution d'acide gallique d'une concentration de 1,66 mg/ml :**

- Transférer 16,6 ml de la solution standard de 5 mg/ml dans une fiole jaugée de 50 ml et diluer avec le méthanol jusqu'au niveau indiqué.

### **C/ Préparation de la série d'étalonnage :**

- Prélever des volumes croissants de la solution standard d'une concentration de 16,6 mg/ml, soit (0,06- 0,12-0,24-0,36- 0,48- 0,6 -0,66- 0,72) ml et les

## Annexe

transférer dans des fioles jaugées de 10 ml. Compléter par le méthanol jusqu'au niveau indiqué.

L'absorbance a été mesurée pour la série d'étalonnage d'acide gallique indiquée dans le tableau suivant :

Concentration (mg/ml)	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.11	0.12
Absorbance a 725 nm	0,12	0,41	0,744	1,035	1,335	1,694	1,84	2,097

### • Solutions étalent de Quercétine dans le méthanol :

Préparé Une série de titres de Quercétine à des concentrations de (0,2- 0,4- 0,6- 0,8- 1- 1,2 - 1,4 1,6 ) mg/ml dans le méthanol comme suit :

#### **A/Préparer une solution de Quercétine d une concentration de 5 mg/ml :**

- Dissoudre 0,25 g de Quercétine dans un bécher avec un peu de méthanol
- Transférer la solution dans une fiole jaugée d'une capacité de 50 ml
- Compléter le volume avec de méthanol jusqu'au niveau indiqué.

#### **B/ Préparation de la série standard de Quercétine :**

- Prélever des volumes croissants de la solution étalon avec une concentration de 5 mg/ml, soit (0.4 -0.8-1.2-1.6-2-2.4-2.8-3.2) ml
- Transférer dans des fioles jaugées d'une capacité de 10 ml
- Compléter par le méthanol jusqu'au niveau indiqué.

#### 1) Préparez les solutions suivantes (**méthode 01**) :

- Une série d'extraits secs dissous dans du méthanol d'écorces de citron résultant de l'extraction par macération avec une solution de méthanol à 80 % à des concentrations de (3,9-80-100-120-140) µg/ml.

## Annexe

Ces solutions ont été préparées de l'extrait solide sec d'écorces de citron conservées au réfrigérateur et dissoutes dans 10 ml de méthanol (0,47 gramme d'écorces sèches dans 10 ml de méthanol), puis prélevé de cette solution (0.829-17-21-25-29) µl successivement et mettre chacun dans une fiole jaugée de 10 ml et diluer avec du méthanol jusqu'au signal.

- Une série d'extraits secs dissous dans du méthanol d'écorces d'orange amère résultant de l'extraction par macération avec une solution de méthanol à 80 % à des concentrations de (20-40-60-80) µg/ml

Ces solutions ont été préparées de l'extrait solide sec d'écorces d'orange amère conservées au réfrigérateur et dissoutes dans 10 ml de méthanol (1.26 gramme d'écorces sèches dans 10 ml de méthanol), puis prélevé de cette solution (0,79 - 1,5 - 2,38 - 3.17) µl et dilué dans 5 ml de méthanol.

- Une série d'extraits secs dissous dans du méthanol d'un mélange (écorce d'orange amère et de citron) résultant d'un trempage dans une solution de méthanol à 80 % à des concentrations de (75-80-85-90-95-100) µg/ml.

Ces solutions ont été préparées à partir de l'extrait solide sec du mélange qui a été conservé au réfrigérateur et dissous dans 10 ml de méthanol (1,29 g d'écorce sèche dans 10 ml de méthanol), puis prélevé de cette solution (2,9-1,5- 3,1-3,29-3,48-3,68-3,87) µl et dilué dans 5 ml de méthanol.

### 2) Préparez les solutions suivantes (**méthode 02**) :

- Une série d'extraits secs dissous dans du méthanol d'écorces de citron résultant de l'extraction par macération avec une solution de méthanol à 80 % à des concentrations de (200-600-800-1000) µg/ml

Ces solutions ont été préparées de l'extrait solide sec d'écorces de citron conservées au réfrigérateur et dissoutes dans 10 ml de méthanol (0.13 gramme d'écorces sèches dans 10 ml de méthanol), puis prélevé de cette solution (0,15 - 0,45 - 0,61 - 0.76) ml et dilué dans 10 ml de méthanol.

Ces solutions ont été préparées de l'extrait solide sec d'écorces d'orange amère conservées au réfrigérateur et dissoutes dans 10 ml de méthanol (0.1 gramme d'écorces sèches

## Annexe

dans 10 ml de méthanol), puis prélevé de cette solution (0,1 -0,2-0,3-0,5-1) ml et dilué dans 10 ml de méthanol.

Ces solutions ont été préparées de l'extrait solide sec du mélange conservées au réfrigérateur et dissoutes dans 10 ml de méthanol (0.1 gramme d'écorces sèches dans 10 ml de méthanol), puis prélevé de cette solution (0,11 -0,24-0,35-0,59-0,71-0,83-1,19) ml et dilué dans 10 ml de méthanol.

### **Activité antioxydante totale d'antioxydant industriel BHT:**

On a déterminé l'activité antioxydante totale d'une série de solution d'antioxydant industriel BHT de concentrations (3.9- 7.81- 15.6- 31-,62) µg/ml comme indiqué dans le tableau suivant :

Concentrations (µg/ml)	3,9	7,81	15,6	31	62
Activité AO (%)	37	43,91	54,1	69,8	98,2

### **Activité antioxydante totale d'écorces de citron :**

Concentrations (mg/ml)	3,9	80	100	120	140
Activité AO %	18,93	40	49,11	56,8	63,01

Concentrations (µg/ml)	200	600	800	1000
Activité AO %	28,57	56,39	67,41	84,71

### **IV.4.2.2. Activité antioxydante totale d'écorces d'orange amère :**

Concentrations (µg/ml)	20	40	60	80
Activité AO %	33,83	52,5	75,18	90,5

Concentrations (mg/ml)	100	200	300	500	1000
Activité %	42,6	45,2	54,13	60	83,95

## Annexe

### IV.4.2.3. Activité antioxydante totale d'écorce de mélange :

Concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ )	75	80	85	90
Activité AO %	43,5	63,81	81,5	94,5

Concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ )	100	200	300	500	600	700
Activité AO%	32	44	50	68	75	82