

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère De l'Enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri De Tizi- Ouzou

Faculté Des Sciences Biologiques Et Des Sciences Agronomiques

Département De Biochimie Et Microbiologie



MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème

ETUDE COMPARATIVE DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE DES AGRUMES

Réalisé par :

M^{elle} SADOUN Fahima

M^{elle} SI TAHAR Melissa

Soutenu le 09 juillet 2023 devant le jury composé de :

M^r. HOUALI. K

Professeur

President

M^r. MOUALEK. I

MCA

Promoteur

M^r. SEBBANE. H

MCB

Examineur

M^{elle} BELOUNIS. Y

Doctorante

Co- Promotrice

2022/2023

REMERCIEMENTS

Avant tout nous remercions Dieu le tout-puissant qui nous a procuré de la volonté, de la santé et du courage pour mener à terme ce travail.

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements à notre promoteur M^r MOUALEK. I et à notre Co promoteur M^{elle} BELOUNIS. Y d'avoir acceptés de nous encadré.

Nous adressons nos profonds remerciement au M^r HOUALI.K d'avoir accepté de présider le jury ;

Nous remercions également M^r SEBBANE Pour l'honneur qu'il nous a fait d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail ;

Et enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

DEDICACES

Avant tout, merci à dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage, la santé et m'accorder son soutien durant les périodes les plus difficiles

Je dédie ce modeste travail en signe de respect de reconnaissance et de gratitude à mes chers Parents pour leur amour et tout ce qu'ils ont fait pour moi. Aucun mot ne serait exprimé mon amour, mon affection et ma grande considération pour eux. Que dieu les procure bonne santé et longue vie.

A ma chère sœur bien-aimé Samra et mon très cher frère Hicham avec qui j'ai partagé des moments agréables dans ma vie à qui je dois énormément d'amour pour leur amour, leur soutien et la motivation qu'ils m'ont offert le long de ma formation et durant toute la période du mémoire

A mon fiancé Raghid pour ses encouragements et tout le plus qu'il a apporté à ma vie et à toute sa famille

A ma chère sœur binôme Melissa pour son soutien, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

A toute ma famille maternelle et paternelle

A tous mes professeurs

A toutes mes copines

Ainsi à tous ceux et celles qui m'ont apporté leur soutien, réconfort moral et leur contribution dans l'élaboration de ce mémoire.

S.FAHIMA

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

À mes très chers parents qui se sont inlassablement sacrifiés, merci pour votre Patience, votre amour, J'espère que vous êtes satisfaits et contents de votre benjamine qui prie dieu nuits et jours à ce Qu'il vous garde et vous protège.

A mes sœurs et mes frères qui m'ont toujours guidé épaulés depuis toujours

A ma chère sœur et copine fahima

À toutes la promo biochimie appliquée et à tous ceux et toutes celles qui m'ont Accompagné et soutenu durant toutes mes années d'étude

S.MELISSA

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Abstract	
Introduction :.....	2

Chapitre I : Les radicaux libres et le stress oxydatif

I les radicaux libres	
1 Les types des radicaux libres :.....	5
1.1 Les éléments radicalaires :.....	5
1.1.1 Radical ion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) :.....	5
1.1.2 Radical hydroxyle ($OH \cdot$) :.....	6
1.1.3 Radical peroxy ($ROO \cdot$) :	6
1.2 Les éléments non radicalaires :.....	6
1.2.1 Oxygène singlet (1O_2) :.....	6
1.2.2 Acide hypochloreux ($HOCl$) :.....	6
1.2.3 Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) :.....	7
2 Les sources des radicaux libres :.....	7
2.1 Les sources endogènes :	7
2.1.1 Mitochondrie :.....	7
2.1.2 Peroxysomes :	7
2.1.3 Réticulum endoplasmique :.....	7
2.2 Les sources exogènes :	8
2.2.1 Radiothérapie et chimiothérapie :	8
2.2.2 La fumée de cigarette :.....	8

Sommaire

2.2.3	Médicaments et substances xénobiotiques :	8
3	Les cibles des radicaux libres :	8
3.1	Acide désoxyribonucléique (ADN) :	8
3.2	Acide ribonucléique (ARN) :	9
3.3	Lipides	9
3.4	Protéines :	9
4	Maladies liées aux radicaux libres et effets bénéfiques:	10
5	Les antioxydants :	11
5.1	Les antioxydants enzymatiques :	11
5.1.1	Superoxyde dismutase :	11
5.1.2	Catalase :	11
5.1.3	Glutathion peroxydase :	11
5.2	Les antioxydants non enzymatiques :	11
5.2.1	Antioxydants non enzymatiques simples :	12
5.2.2	Les antioxydants non enzymatiques complexes :	12
6	Mécanismes d'action des antioxydants :	13
6.1	Les antioxydants de type I :	13
6.2	Les antioxydants de type II :	13
6.3	Les antioxydants de type III :	13
II	Stress Oxydatif :	14

Chapitre II : Les métabolites secondaires

1	Les compose phénoliques :	16
1.1	Les phénols simples :	16
1.2	Les polyphénols :	17
1.2.1	Les flavonoïdes :	17
1.2.2	Les tanins :	17

Sommaire

1.3	Activité antioxydant des composés phénoliques :.....	18
2	Les alcaloïdes :.....	19
2.1	Activités antioxydante des alcaloïdes :.....	20
3	Les terpènes :	21
3.1	Activité antioxydante des terpènes :.....	21

Chapitre III : Les agrumes

1	Les orangers doux :.....	23
4	Les clémentiniers :.....	24
5	Les citronniers :.....	24
6	Composition chimique des agrumes :.....	25
7	Utilisations médicinales et traditionnelles des agrumes :	27
8	Utilisations pharmaceutiques et effets thérapeutiques des agrumes :.....	27

Chapitre IV : Matériel et méthodes

1	Matériel végétale :.....	30
2	Préparation de l'extrait aqueux :	31
3	Dosage des polyphénols totaux :.....	31
4	Évaluation de la capacité antioxydante totale : (TAC)	32
5	Évaluation du pouvoir réducteur du fer (FRAP) :	33

Chapitre V : Résultats et discussions

1	Dosage des composés phénoliques :.....	36
2	Évaluation de la capacité antioxydante totale (TAC):	37
3	Évaluation du pouvoir réduction du fer (FRAP) :	39
	Conclusion.....	43

Références bibliographiques

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EAG : Equivalent acide gallique

FC : Folin Ciocalteu

FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur de l'ion ferrique

IC50 : Concentration inhibitrice de 50%

NADH : Nicotinamide adénine di nucléotide

NO : Oxyde nitrique

Rpm : Rotation par minute

RON/ERN : Espèces réactives de l'azote.

ROS/ ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

SOD : Superoxyde dismutase

TAC : Capacité antioxydante totale

Liste des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	page
Figure 1	Processus de peroxydation lipidique	08
Figure 2	Rôle pathologique des radicaux libres	09
Figure 3	Les radicaux libres et les antioxydants	12
Figure 4	La balance entre les radicaux libres et les antioxydants	13
Figure 5	Quelques acides phénoliques	16
Figure 6	Structure chimique de base des flavonoïdes	16
Figure 7	Structure chimique des tanins hydrolysables (a) condensés(b)	17
Figure 8	Exemple d'alcaloïde : la caféine	19
Figure 9	Structure de a) nicotine, b) (S)-coniine et c) mescaline	20
Figure 10	Structure de l'unité isoprénique (C 5 H 8)	21
Figure11	Répartition des zones agrumicoles en Algérie	23
Figure12	Fruit, fleur et feuilles d'oranger	24
Figure13	Coupe au niveau d'un fruit d'orange	24
Figure14	Fruit feuille et fleur d'une clémentine	24
Figure15	Coupe au niveau d'une clémentine	24
Figure16	Feuilles, fleurs et fruits d'un citronnier	25
Figure17	Coupe au niveau d'un citron	25
Figure 18	Les feuilles des trois plantes étudiées	31
Figure 19	Schéma récapitulatif des étapes de l'expérimentation	31

Liste des figures

Figure 20	Schéma récapitulatif des étapes de la préparation de l'extrait aqueux	32
Figure 21	Protocole de dosage des polyphénols totaux	33
Figure 22	Protocole du test de la capacité antioxydante totale (TAC)	34
Figure 23	Protocole du test de pouvoir réducteur de fer (FRAP)	35
Figure 24	Courbe étalon de l'acide gallique	38
Figure 25	Capacité de réduction de molybdène par les extraits et par la vitamine c	40
Figure 26	Capacité de réduction de Fer par les extraits aqueux et par la vitamine c	41

Liste des tableaux

Numéro de tableau	Titre de tableau	Page
Tableau I	Composition chimique des agrumes pour 100g de matière	26
Tableau II	Résultats du dosage des polyphénols	38
Tableau III	les valeurs des IC50 des extraits aqueux et le standard	40
Tableau IV	les valeurs des ICs50 des extraits aqueux et le standard	41

Résumé

Les agrumes comme d'autres fruits et légumes sont une source importante de différents antioxydants (polyphénols, caroténoïdes, acide ascorbique...etc.) qui peuvent inhiber les effets néfastes des radicaux libres sur l'organisme humain. Dans la présente étude, des extraits aqueux des feuilles de citron (*Citrus limon*), orange (*Citrus sinensis*) et clémentine (*Citrus clementina*) ont été testés pour évaluer leurs activités antioxydantes.

L'évaluation de la teneur en polyphénols par le réactif de Folin Ciocalteu, a révélé que la teneur en polyphénols de la clémentine est plus élevée ($248,27 \pm 2,70$ mg EAG /g d'extrait) par rapport à l'orange ($163,83 \pm 1,68$ mg EAG/g d'extrait) ainsi que le citron ($155,05 \pm 0,84$ mg EAG/g d'extrait).

Le dosage de la capacité antioxydante total a montré que le citron et l'orange ont un pouvoir antioxydant identique et supérieure de celui de la clémentine avec des IC50 de $1943,33 \pm 33,32 \mu\text{g/ml}$, $1944,3 \pm 8,08 \text{g/ml}$, et $2408,33 \pm 618,85 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Le dosage du pouvoir réducteur a révélé que la clémentine a un pouvoir réducteur de Fer plus important que celui de citron et l'orange, avec des IC50 de $886,66 \pm 3,51 \mu\text{g/ml}$, $973 \pm 4,35 \mu\text{g/ml}$, $1007 \pm 11,78 \mu\text{g/ml}$ respectivement.

Les résultats de ce travail nous permettent de conclure que l'extrait aqueux des feuilles de ces trois agrumes possède un potentiel antioxydant important. De ce fait, les feuilles de *Citrus limon*, *Citrus sinensis*, et de *Citrus clementina* peuvent constituer une alternative thérapeutique au traitement de nombre de pathologies initiées par le stress oxydant.

Mots clés : Citrus, stress oxydatif, polyphénols, activité antioxydante

Abstract

Citrus, is an important source of various antioxidants (polyphenols, Carotenoids, ascorbic acid, etc.) Which can inhibit the harmful effects of free radicals on the human Body. In the present study, aqueous extracts of lemon (*Citrus limon*), orange (*Citrus sinensis*) and clementine (*Citrus clementina*) leaves were tested to evaluate their antioxidant compounds (polyphenols) as well as their antioxidant activities.

The evaluation of the polyphenol content by Folin Ciocalteu reagent revealed that the polyphenol content of clementine is higher (248.27 ± 2.70 mg EAG / g of extract) compared to orange (163.83 ± 1.68 mg EAG / g of extract) as well as lemon (155.05 ± 0.84 mg EAG / g of extract).

The total antioxidant capacity assay showed that lemon and orange have an identical and superior antioxidant power than clementine with IC₅₀ of $1943.33 \pm 33.32 \mu\text{g/ml}$, $1944.3 \pm 8.08 \text{g/ml}$, and $2408.33 \pm 618.85 \mu\text{g/ml}$ respectively.

The dosage of the reducing power revealed that the clementine has a greater iron reducing power than lemon and orange, with IC₅₀ of $886.66 \pm 3.51 \mu\text{g/ml}$, $973 \pm 4.35 \mu\text{g/ml}$, and $1007 \pm 11.78 \mu\text{g/ml}$ respectively.

The results of this work allow us to conclude that the aqueous extract of the leaves of these three *Citrus* fruits have a significant potential for antioxidant activity. As a result, the leaves of *Citrus Limon*, *Citrus Sinensis*, and *citrus clementina* may constitute a therapeutic alternative to the treatment of many pathologies initiated by oxidative stress.

Keywords: Citrus, oxidative stress, polyphenols, antioxidant activity

INTRODUCTION

Au cours des dernières années, beaucoup de recherches ont été menées sur les substances naturelles vu leurs propriétés importantes qui peuvent être exploitées dans différents domaines. En effet, plusieurs secteurs industriels (pharmaceutique, agroalimentaire et même cosmétique) se sont trouvés obligés à incorporer des substances d'origines naturelles ayant des propriétés intéressantes dans leur produits afin d'attirer le consommateur qui évite tout ce qui est de synthèse chimique (**Doukani et al., 2017**). Depuis plusieurs années, l'utilisation des plantes médicinales ou des préparations à base des plantes connaît un succès croissant surtout en thérapeutique comme anticarcinogènes, anti-inflammatoires, antitumoraux, et antioxydants. D'après les estimations actuelles, 80% de la population mondiale dépend principalement de la médecine traditionnelle, où les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité (**Ghnimi, 2015**).

Des maladies à l'origine du stress oxydatif sont dues généralement suite à la production excessive des espèces réactives d'oxygène (ERO) et les espèces réactives d'azote (ERN) qui pourraient devenir toxiques pour les composants majeurs de la cellule, les lipides, les protéines et les acides nucléiques (**Valko et al., 2006**). Ceci provoquerait un dysfonctionnement cellulaire et serait impliqué dans diverses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète, les maladies neurodégénératives (Alzheimer, Parkinson) et le processus de vieillissement (**Aruoma, 2003**). Les plantes sont connues pour produire un grand nombre de composés à faible poids moléculaire dont la structure ne fut que récemment déterminée ; et ceci malgré leur exploitation et leur utilisation ancestrale, comme médicaments ou aliments (**Garcia-Pérez, 2008**).

Les agrumes sont les fruits dont la production avec plus de 115 millions de tonnes par ans, dont 517 milles tonnes ont été produits en Algérie qui occupe la 18ème place mondiale (**Fao, 2013**). De nombreux travaux réalisés sur différentes espèces de citrus ont montré qu'elles contenaient en majorité des composés phénoliques ayant un fort potentiel antioxydant corroborant leurs usages traditionnels. Parmi toutes ces espèces, l'orange (*Citrus sinensis*) le citron (*Citrus limon*) et la clémentine (*Citrus clementina*) sont connus par leurs richesses en vitamine C et des quantités considérables en composés phénoliques. parmi ces composés phénoliques on trouve les polyphénols, qui sont un groupe de composés phytochimiques, présents en grande quantité dans les fruits, les légumes et les produits naturels (**Del Rio et al ., 2004**). C'est dans ce contexte, que notre travail de mémoire vise à étudier les composés phénoliques (les polyphénols en particulier) des fruits de ces trois espèces de citrus, et à tester leur pouvoir antioxydant.

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

Partie bibliographique

Les radicaux libres

Et

Le stress oxydatif

I LES RADICAUX LIBRES :

La croissance récente des connaissances sur les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (ROS) en biologie produit une révolution médicale qui promet une nouvelle ère de gestion de la santé et des maladies (**Aruoma, 2003**). Le radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) qui a un électron libre, il est très réactif car il a tendance à capturer des électrons à partir de molécules stable pour atteindre sa stabilité électrochimique (**Avello et Suwalsky, 2006**).

Les radicaux libres se forment à partir de molécules via la rupture d'une liaison chimique (**Phamhuy, 2008**). D'une manière globale, les formes radicalaires initiateurs des événements (oxydants) sont dérivées de l'O₂ et de l'azote (N) (**Rochette, 2008**). La différence entre les radicaux libres et les ions est que les radicaux libres ont des électrons non appariés, tandis que les ions ont des électrons appariés. Ainsi, les radicaux libres sont plus réactifs que les ions qui deviennent chimiquement stables en formant des composés avec d'autres ions et molécules de charge opposée (**Howell, 2021**). Par conséquent les radicaux libres peuvent être classés en deux groupes à savoir, les éléments radicalaires et les éléments non radicalaires.

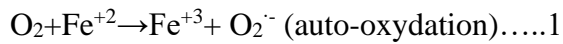
1 Les types des radicaux libres :

1.1 Les éléments radicalaires :

Les radicaux sont des composés qui contiennent au moins un électron non apparié dans leurs couche externe autour du noyau atomique et ils sont capables d'exister seuls. La forte réactivité de ces radicaux est due à la présence de cet électron qui tend à le donner ou à obtenir un autre électron pour atteindre la stabilité (**Halliwell, 2001**), il existe plusieurs éléments radicalaires à savoir, le radical ion superoxyde, le radical hydroxyde et le radical peroxyde.

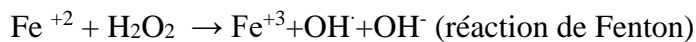
1.1.1 Radical ion superoxyde (O₂^{•-}) :

Le radical anion superoxyde est le ROS le plus important qui est formé soit par le processus enzymatique principalement par 6 voies enzymatiques : faisant intervenir le système xanthine oxydase, la chaîne mitochondriale, le cytochrome p450, la NADPH oxydase, les cyclo-oxygénase et lipoxygénase (**Delbosc et al., 2021**) ; Soit par la réaction d'auto-oxydation (équation 1) ou par une réaction de transfert d'électrons non enzymatique (équation 2) dans laquelle un électron est transféré à l'oxygène moléculaire (**Michelson et al., 1977**)



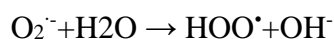
1.1.2 Radical hydroxyle (OH·) :

Le radical hydroxyle est la forme neutre de l'ion hydroxyde (OH⁻) c'est un radical libre hautement réactif qui se forme dans une réaction appelé la réaction de Fenton selon la réaction suivante (**Bedwell, 1989**).



1.1.3 Radical peroxyde (ROO·) :

Il est dérivé de l'oxygène dans les systèmes vivants. La forme la plus simple du radical peroxyde est le radical perhydroxyle (HOO[·]) qui est formé par la protonation du superoxyde selon la réaction suivante (**De Gray, 2002**).

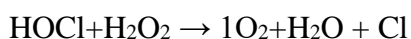


1.2 Les éléments non radicalaires :

Les espèces non radicalaires ne sont pas des radicaux libres mais peuvent facilement conduire à des réactions radicalaires dans les organismes vivants (**Halliwell, 2001**). il y'a plusieurs éléments non radicalaires comme, l'oxygène singlet, l'acide hypochloreux, et le peroxyde d'hydrogène.

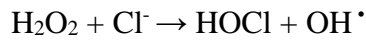
1.2.1 Oxygène singlet (1O₂) :

Il s'agit d'un état métastable électroniquement très excité de l'oxygène moléculaire, c'est une espèce d'oxygène réactif toxique hautement réactive. Il est produit in vivo par l'activation des neutrophiles selon la réaction suivante (**Hojo, 2000**).



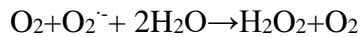
1.2.2 Acide hypochloreux (HOCl) :

C'est un oxydant majeur produit par les neutrophiles activés sur le site de l'inflammation par le peroxyde d'hydrogène et le chlorure dans une réaction catalysée par l'enzyme myéloperoxydase selon la réaction suivante (**Winterbourn et al., 2000**)



1.2.3 Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) :

Le peroxyde d'hydrogène est formé in vivo dans une réaction de dismutation catalysée par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD) selon la réaction suivante (**Phaniendra, 2014**).



2 Les sources des radicaux libres :

Les différents types des ROS sont produits d'une manière endogène lors du métabolisme mitochondrial dans le peroxysome ainsi que par une variété de système d'enzymes cytosoliques. En outre, un certain nombre d'agents extérieurs peuvent déclencher la production de ROS (**Taibur et al., 2012**).

2.1 Les sources endogènes :

2.1.1 Mitochondrie :

La plupart des ROS intracellulaires sont dérivés des mitochondries. Les radicaux superoxydes sont produits au niveau de deux sites majeurs de la chaîne de transport d'électrons, à savoir le complexe I (NADH déshydrogénase) et le complexe III (ubiquinone cytochrome c réductase) (**Finkel et al., 2000**).

2.1.2 Peroxysomes :

La forte consommation peroxysomale d'O₂, la démonstration de la production de H₂O₂, O₂^{•-}, OH[•], et récemment de NO[•], ainsi que la découverte de plusieurs ROS métabolisant les enzymes des peroxysomes montre que les peroxysomes produisent les ROS dans la cellule (**Schrader, 2006**). Différentes enzymes peroxysomales telles que les acyl CoA oxydases, la D-aminoacide oxydase, la L-α-hydroxy oxydase, l'urate oxydase, la xanthine oxydase, la D-aspartate oxydase produisent différents radicaux libres (**Schrader, 2006**).

2.1.3 Réticulum endoplasmique :

Enzymes du réticulum endoplasmique telles que les enzymes cytochrome p-450 et b5 et la diamine oxydase contribuent à la formation de ROS (**Cheeseman, 1993**). Les enzymes du réticulum endoplasmique, dont la famille des cytochromes P450, assurent l'oxydation des

acides gras insaturés (et de certains xénobiotiques) et réduisent l'oxygène moléculaire pour former $O_2^{\cdot-}$ et/ou H_2O_2 (Migdal et Serres, 2011).

2.2 Les sources exogènes :

2.2.1 Radiothérapie et chimiothérapie :

L'irradiation et la chimiothérapie détruisent les cellules cancéreuses en produisant des radicaux libres qui vont léser l'ADN et des protéines indispensables à la survie des cellules (Washington, 2008).

2.2.2 La fumée de cigarette :

C'est un autre générateur important de ROS (Halliwell, 1994). Il est composé de plus de 7000 composés chimiques et agents oxydants, et la fumée de tabac contient un million de milliard de radicaux libres par bouffée (Yang *et al.*, 2008)

2.2.3 Médicaments et substances xénobiotiques :

De nombreux médicaments et substances xénobiotiques contribuent à la formation de radicaux libres dans l'organisme, tels que les médicaments anticancéreux, anesthésiques volatils, l'aspirine et les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (Bhattacharyya, 2014) .

3 Les cibles des radicaux libres :

Les radicaux libres sont hautement réactifs, ils ont été considérés comme des agents Cytotoxiques en raison des dommages oxydatifs qu'ils peuvent provoquer à la cellule lorsqu'ils réagissent avec des classes importantes de molécules biologiques, y compris les acides nucléiques, les protéines, les lipides et les glucides (Favier, 2003). Les différents dommages engendrés par ces radicaux libres sur les macromolécules biologiques (l'ADN, l'ARN, les lipides, les protéines).

3.1 Acide désoxyribonucléique (ADN) :

Les ROS/RNS peuvent endommager les acides désoxyribonucléiques par l'oxydation. L'ADN mitochondrial est plus vulnérable à l'attaque que l'ADN nucléaire, car il est situé à proximité de l'endroit généré par les ROS. Le radical OH^{\cdot} est le plus important, il réagit directement avec tous les composants de l'ADN tels que les bases puriques et pyrimidiques, le squelette de sucre

désoxyribose (**Halliwell, 1999**) en provoquant un certain nombre d'alternances, y compris des cassures simple et double brin dans l'ADN (**Phaniendra, 2014**)

3.2 Acide ribonucléique (ARN) :

Les ROS peuvent attaquer différents ARN produits dans le corps. L'ARN est plus sujet aux dommages oxydatifs que l'ADN, en raison de sa nature simple brin, de l'absence d'un mécanisme de réparation actif pour l'ARN oxydé, d'une protection moindre par les protéines que l'ADN et de plus, ces ARN cytoplasmiques sont situés à proximité des mitochondries où des charges de ROS sont produites. En effet, l'ARN est soumis à plus de dommages oxydatifs que l'ADN chez l'homme (**Hofer, 2005**).

3.3 Lipides :

Les lipides membranaires, en particulier les résidus d'acides gras polyinsaturés des phospholipides sont plus sensibles à l'oxydation par les radicaux libres (**Siems, 1995**). La peroxydation lipidique (figure1) est initiée lorsqu'un radical libre attaque et extrait l'hydrogène d'un groupe méthylène (CH_2) dans un acide gras (LH) ce qui entraîne la formation d'un radical lipidique centré sur le carbone (L^\bullet). Le radical lipidique peut réagir avec l'oxygène moléculaire pour former un radical peroxy lipidique (LOO^\bullet). Ces radicaux peroxy lipidiques peuvent propager davantage le processus de peroxydation en extrayant les atomes d'hydrogène des autres molécules lipidiques (**Phaniendra, 2014**)

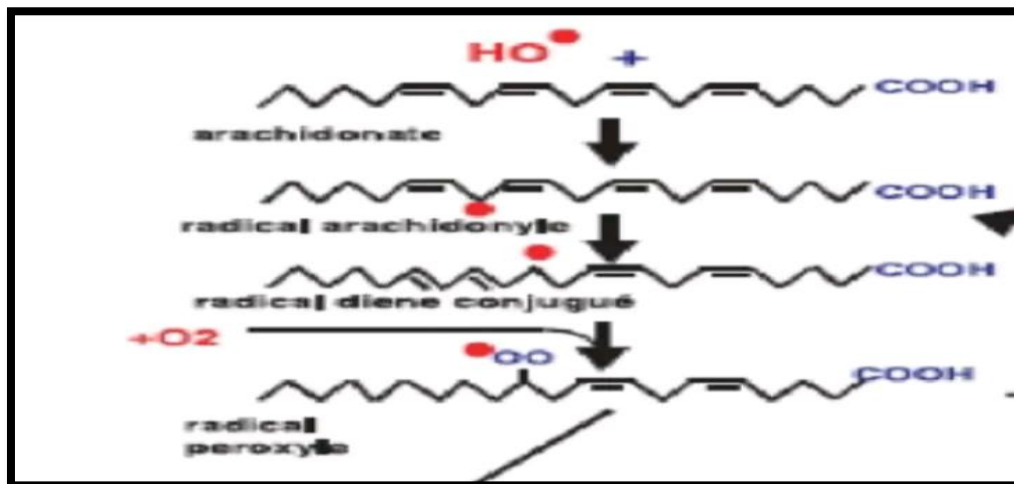


Figure1 : Processus de peroxydation lipidique (**Favier, 2003**)

3.4 Protéines :

Les ROS oxydent différents acides aminés présents dans les protéines, provoquant la formation de liaisons croisées protéine-protéine, entraînant par conséquent la dénaturation et la

perte de fonctionnement des protéines, de l'activité enzymatique, ainsi que de la fonction des récepteurs et des protéines de transport (**Butterfield, 1998**)

4 Maladies liées aux radicaux libres et effets bénéfiques:

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à leur évolution. La plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydants et augmente la production mitochondriale de radicaux (**Sohal et al., 2002**). Les radicaux libres sont présents dans la cellule à des doses raisonnables, leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants (**Halliwell, 1989**). Ainsi à l'état d'équilibre on dit que la balance radicaux libre/antioxydant est en équilibre. Cependant cette homéostasie peut être rompue, soit par production excessive d'ERO (comme dans le vieillissement ou l'athérosclérose), soit par une diminution des capacités antioxydantes (comme chez les personnes souffrant d'obésité et les fumeurs) on parle de stress oxydatif. Ce déséquilibre est transitoire, en revanche dans certain situation pathologique (cancer) il est durable (**Camille, 2011**).

Par ailleurs un grand nombre de fonctions physiologiques sont sous le contrôle des ERO et de leurs effets activateurs/régulateurs dans les voies de signalisations, on peut citer la régulation du tonus vasculaire, la relaxation du muscle lisse, l'adhésion plaquettaire, les régulations des fonctions contrôlées par la concentration en oxygéné et l'apoptose. L'exemple le plus pertinent et celui de la défense microbienne (**Camille, 2011**).

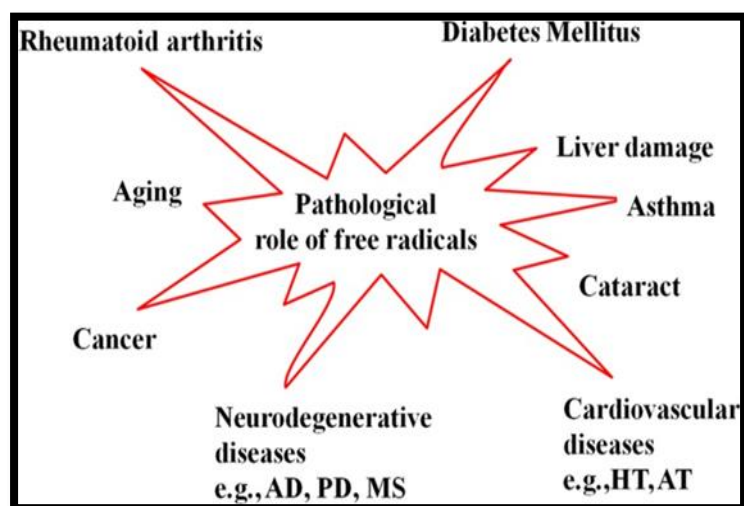


Figure 2 : Rôle pathologique des radicaux libres (Phaniendra, 2014)

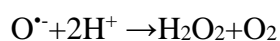
5 Les antioxydants :

Un antioxydant est une molécule suffisamment stable pour donner un électron à un radical libre instable pour le neutraliser (**Lobo, 2010**). Ces antioxydants retardent ou inhibent les dommages cellulaires principalement grâce à leurs propriétés de piégeage des radicaux libres (**Halliwell, 1995**). Les antioxydants peuvent être classés en deux catégories : les antioxydants enzymatiques directement synthétisés par l'organisme et les antioxydants non enzymatiques dont les apports sont nécessaires par l'alimentation.

5.1 Les antioxydants enzymatiques :

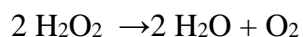
5.1.1 Superoxyde dismutase :

Les superoxydes dismutase (SOD) sont une classe d'enzymes étroitement apparentées qui catalysent la dégradation de l'anion superoxyde en oxygène et en peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante (**Lobo, 2010**).



5.1.2 Catalase :

La catalase est une enzyme commune présente dans presque tous les organismes vivants qui sont exposés à l'oxygène, où elle catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène selon la réaction suivante (**Chelikani et al., 2004**).



5.1.3 Glutathion peroxydase :

La glutathion peroxydase est une enzyme contenant quatre cofacteurs de sélénium qui catalysent la dégradation du peroxyde d'hydrogène et des hydroperoxydes organiques (equation10) (**Brigelius, 1999**).



5.2 Les antioxydants non enzymatiques :

Ils sont apportés par l'alimentation (**Gardès-Albert et al., 2003**), ils sont classés en antioxydants non enzymatiques simples (vitamine C, vitamine E et les minéraux) et antioxydants non enzymatiques complexes (polyphénols, caroténoïdes)

5.2.1 Antioxydants non enzymatiques simples :

- L'acide ascorbique (vitamine c) :

La vitamine C est un antioxydant mono saccharidique présent à la fois chez les animaux et les plantes. Comme il ne peut pas être synthétisé chez l'homme, il doit être obtenu à partir de l'alimentation (**Smirnoff, 2001**). Il peut piéger directement l'anion $O_2^{\cdot-}$, le radical hydroxyle $HO\cdot$, l'oxygène singlet et réduit le peroxyde d'hydrogène en eau via l'ascorbate peroxydase (**Evans, 2000**). Il recycle l' α -tocophérol pour aider à prévenir l'oxydation des lipides (**Chandan et al., 1994**).

- Tocophérols et tocotriénols (Vitamine E) :

La vitamine E est le nom collectif d'un ensemble de huit tocophérols et tocotriénols apparentés, qui sont des vitamines liposolubles aux propriétés (**Herrera et al., 2001**). Il a été affirmé que la forme α -tocophérol est l'antioxydant le plus soluble dans les lipides et qu'elle protège les membranes de l'oxydation en réagissant avec les radicaux lipidiques produits lors de la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique (**Traber, 2007**)

- Les Minéraux :

Le zinc (Zn), le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le fer (Fe) et le sélénium (Se) sont des composants clés des enzymes aux fonctions antioxydantes et sont désignés comme des micronutriments antioxydants (**Bhattacharyya et al., 2014**) .

5.2.2 Les antioxydants non enzymatiques complexes :

- Les polyphénols :

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. L'alimentation fournit environ 1g de polyphénols par jour principalement par l'apport en fruits et, dans une moindre mesure, en légumes et en céréales. Ils sont présents sous forme d'anthocyanine dans les fruits rouges et sous forme de flavonoïdes dans les agrumes (**Haleng, 2007**).

- Les caroténoïdes :

L' α et le β -carotène, le lycopène et la cryptoxanthine présentant des propriétés antioxydantes sont les principaux caroténoïdes présents dans les aliments ainsi que dans le corps. Les fruits jaunes et orange ainsi que les légumes à feuilles vertes fournissent la plupart des caroténoïdes de l'alimentation (**Bhattacharyya et al., 2014**)

6 Mécanismes d'action des antioxydants :

Les antioxydants peuvent exercer leur effet sur les systèmes biologiques par différents mécanismes, notamment le don d'électrons (figure 3), la chélation des ions métalliques, les co-antioxydants ou la régulation de l'expression génique (**Krinsky, 1992**). Suivant leurs mécanismes d'action les antioxydants peuvent être classés en trois types :

6.1 Les antioxydants de type I :

L'action des antioxydants de type I repose sur leur capacité à inactiver les radicaux libres. Ils inhibent la propagation des réactions radicalaires en fournissant des hydrogènes aux radicaux libres présents (**Belaiche, 1979**).

6.2 Les antioxydants de type II :

Ce type d'antioxydant prévient la formation des radicaux libres et peut intervenir par différents mécanismes. Les flavonoïdes (un énorme potentiel antioxydant naturel) rentrent dans cette catégorie d'antioxydants. Ils agissent en piégeant les radicaux libres et en complexant les métaux pro-oxydants (**Roeding, 1998**).

L'efficacité des antioxydants peut être augmentée par l'utilisation d'un mélange d'antioxydants de type I et II. L'association de ces deux types d'antioxydants permet d'inhiber les phases d'initiation et de propagation de l'oxydation des lipides (**Frankel, 1998**).

6.3 Les antioxydants de type III :

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière (**Frankel, 1998**).

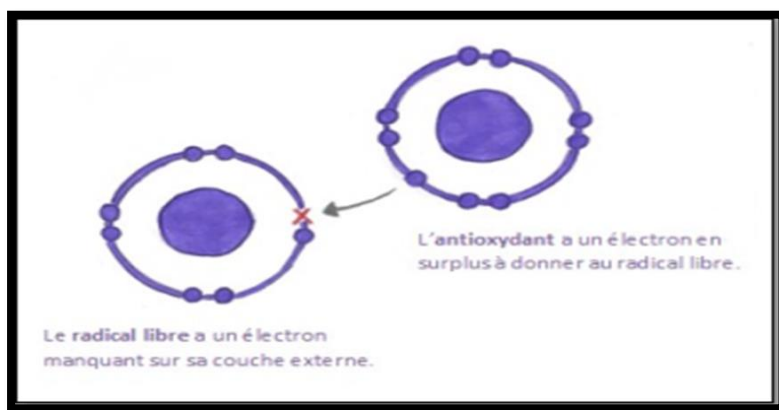


Figure 3: Les radicaux libres et les antioxydants (**De sousa et al., 2004**)

II Stress Oxydatif :

Le concept de stress oxydatif a été mentionné pour la première fois par Helmut Sies en 1985 dans son livre intitulé *Stress oxydatif*, c'est un état de déséquilibre entre un excès de radicaux oxydants (libres) et une dégradation insuffisante de ces radicaux par les systèmes antioxydants (figure 4) (Daenen *et al.*, 2019). Lorsque les cellules sont stimulées par des facteurs indésirables dans l'environnement interne et externe, des radicaux libres excessifs sont produits, qui, lorsqu'ils ne sont pas éliminés à temps, entraînent une augmentation des concentrations et dépassent finalement la plage physiologique normale (Hao *et al.*, 2021). L'évaluation du stress oxydant se fait le plus souvent par des mesures indirectes portant, soit sur les défenses antioxydantes, soit sur les produits des réactions radicalaires : lipides peroxydés, protéines oxydées, acides nucléiques oxydés ou métabolites du NO (nitrites/nitrates) (Rochette, 2008).

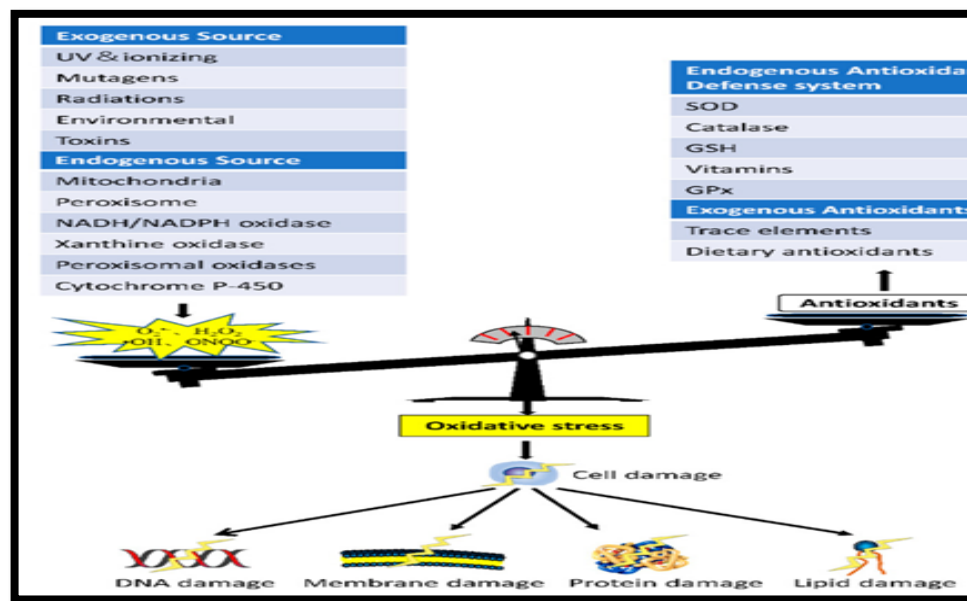


Figure 4 : La balance entre les radicaux libres et les antioxydants (Hao *et al.*, 2021)

Les métabolites Secondaires

Les plantes médicinales ont été utilisées depuis des années pour soigner tous type de pathogènes, elles possèdent des principes actifs responsables des actions thérapeutiques. Elles ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (lipides, protéines acides aminés et glucides) nécessaire à leur croissance et leur développements (**Raven *et al.*, 2000**). en plus ces êtres vivants produisent d'autres métabolites non vitale qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent des réactions chimiques ultérieures, ces composés sont caractérisés par leurs potentiels antioxydants, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Epifano *et al.*, 2007**).

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques produits par les plantes. Ils sont classés en plusieurs grands groupes parmi ceux-ci, on a les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpènes. Chaque classe reforme une très grande diversité des composés qui possèdent une très large gamme d'activité (**Krief, 2003**).

1 Les compose phénoliques :

Les composés phénoliques sont des molécules organiques produites par la plante et jouent un rôle important dans la défense contre les rayonnements UV, les agressions environnementales et les pathogènes. Ils contribuent aussi à la pigmentation des fleurs et les fruits (**Buchanan *et al* ; 2000**)

Selon Wollgast *et al.*,(2000), il existe plus de 8000 structures phénoliques identifiées. Ces structures ont toutes en commun un ou plusieurs cycles aromatiques portant un ou plusieurs fonctions hydroxyles libres ou engagées dans une fonction éthers, ester, hybride (**Sahli, 2017**). Ces composés sont différents par le nombre et l'enchaînement des noyaux aromatiques, le nombre et la position des groupes hydroxyles, ces structures peuvent également être substituées (acylés, estérifiées, glycolyses) (**Mhirin *et al* ., 2015**).

Les composés phénoliques peuvent être classés en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau phénolique (**Mousavi, 2019**) on distingue :

1.1 Les phénols simples :

Les polyphénols simples sont des composés rares dans la nature, ont une structure très simple dans laquelle un ou plusieurs groupements hydroxyle sont attachés au cycle aromatique. On distingue le catéchol, phloroglucinol, thymol...etc. (**Daniel, 2006**)

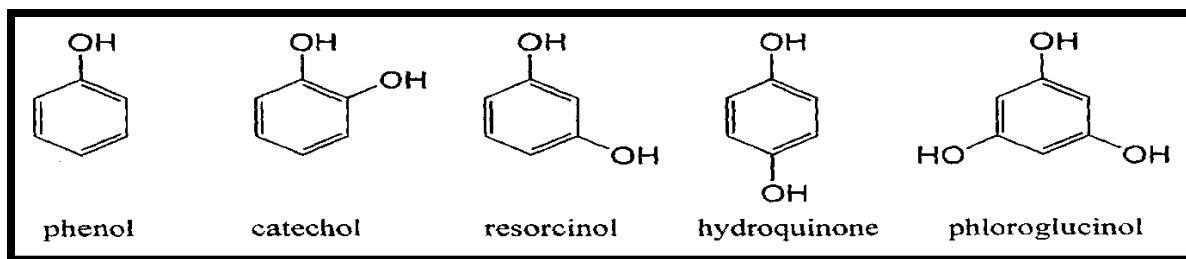


Figure 5 : Quelques acides phénoliques (Droege, 2006)

1.2 Les polyphénols :

Les polyphénols sont des polymères complexes d'un poids moléculaire élevés présents dans toutes les parties de la plante : racine, tige, feuilles (boizot, 2006). Ils sont caractérisés par la présence d'un noyau phénolique et constitué d'un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles (-OH) attachés à celui-ci (Clifford, 2000)

Selon HARBORNE, (1980), on peut classer les polyphénols en fonction de nombre d'atomes des molécules d'un part et d'autre part la structure du squelette de base

1.2.1 Les flavonoïdes :

Le mot flavonoïde vient de latin et désigne la couleur jaune, les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration jaune, orange et rouge des agrumes (Yeza *et al*, 2014), Les flavonoïdes sont constitués d'un même élément structural de base formé par deux cycles benzénique (A et B) qui sont reliés par une chaîne linéaire à trois carbones qui forme un hétérocycle oxygéné (Emeraux, 2019) (figure 6)

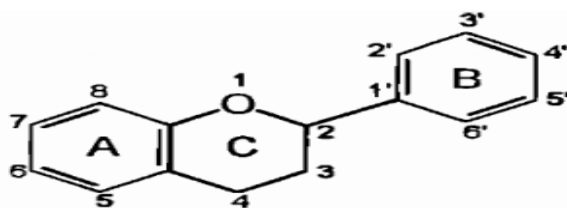


Figure 6 : Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna *et al*., 2001).

1.2.2 Les tanins :

Sont des molécules hydrosolubles et présentant l'aptitude à la précipitation les alcaloïdes et les protéines. Il existe deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Han *et al*., 2007)

- Tanins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont nommés ainsi en raison de leur capacité à se décomposer facilement en présence d'un acide, base, une enzyme ou de l'eau chaude. Ils possèdent des groupements ester, qui lient les phénols aux sucres, comme représenté en Figure 06 (Bruneton, 1999 ; Vermerrit *et al.*, 2006).

- Tanins condensés : (tanins vrai ou tannoïdes) :

Résultent de la condensation de molécules élémentaires de type flavane 3 ol (catéchines) ou flavane 3-4 (leuco anthocyanidines), les liaisons formés entre ces deux molécules est covalente ce qui rend les molécules résistantes à l'hydrolyse (Merghem, 2009). Les tanins condensés se distinguent des tanins hydrolysables en raison de l'absence de sucres dans leur composition, et de leur structure proche de celle des flavonoïdes (Manach *et al.*, 2014).

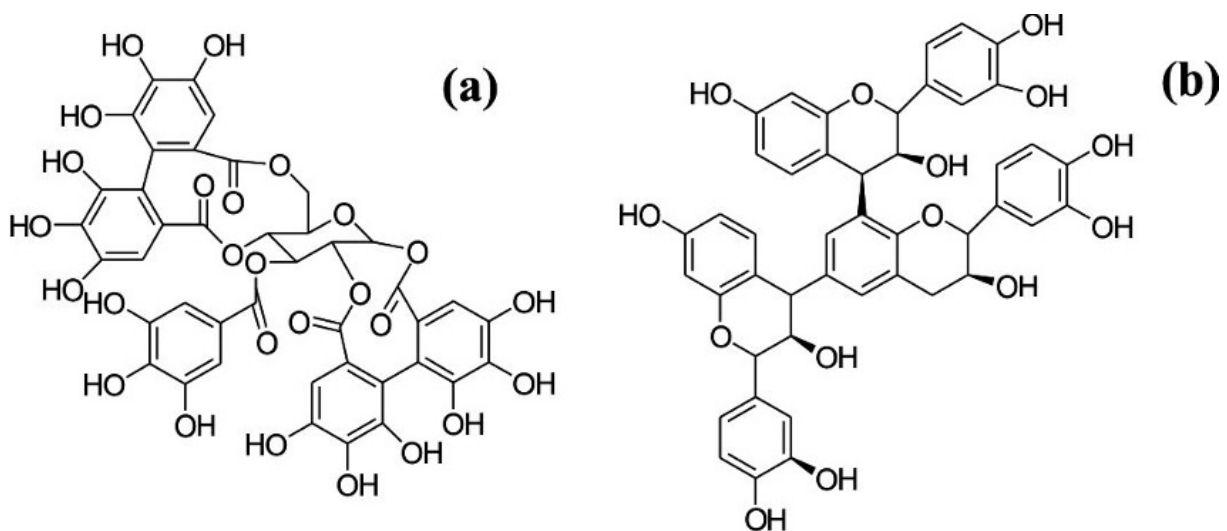


Figure 7 : Structure chimique des tanins hydrolysables (a) condensés (b) (P. B. Raja *et al.*, 2014)

1.3 Activité antioxydante des composés phénoliques :

Les espèces réactives d'oxygène (ROS) générés réagissent avec les composants cellulaires (ADN, protéines, glucides, lipides,) et causent par la suite des mutations, cancer et des troubles cardiovasculaires (Halliwell, 1994). Les composés phénoliques sont connus pour leurs activités antioxydantes. Qui exercent plusieurs mécanismes d'action pour piéger les radicaux libres oxygénés, notamment :

- La capture directe : Les polyphénols présentent des groupes phénoliques qui peuvent piéger les radicaux libres oxygénés en leur donnant un électron pour former un composé stable. Cette réaction est appelée capture directe des radicaux libres oxygénés (**Cabrera, 2006**).
- La chélation des métaux : Les composés phénoliques peuvent chélater les métaux de transition tels que le fer et le cuivre qui peuvent catalyser la production de radicaux libres oxygénés (**Ferrali et al., 1997**).
- L'induction des enzymes antioxydantes : Les composés phénoliques peuvent favoriser la production d'enzymes antioxydantes dans le corps, telles que le superoxyde dimutase (SOD) et la catalase, qui peuvent piéger les radicaux libres oxygénés (**Park et al., 2008**).
- Certains polyphénols peuvent réduire le stress oxydatif en régulant les voies de signalisation cellulaire qui sont entraînées dans la production de radicaux libres. Ils peuvent également inhiber les enzymes qui génèrent des radicaux libres, comme la NADPH oxydase, ou activer des voies de signalisation qui contiennent la survie cellulaire (**Sies, 1999**).

Dans l'ensemble, les polyphénols sont des composés très intéressants en tant qu'antioxydants naturels, car ils peuvent piéger les radicaux libres de plusieurs manières différentes. Cependant, leur efficacité dépend de nombreux facteurs tels que leur structure, leur concentration, leur biodisponibilité et leur capacité à pénétrer dans les cellules (**Mladenka, 2010**).

2 Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles d'origine végétale, généralement hétérocyclique, possédant au moins un atome d'azote (comme hétéroatome) lié à un proton qui lui confère un PH légèrement basique (d'où vient la dénomination alcaloïde) (**Dugrand, 2015**)

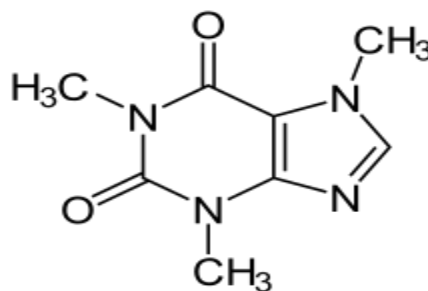


Figure 8 : Exemple d'alcaloïde : la caféine (**osbourn, 2009**)

Les alcaloïdes sont classés en fonction de leur structure chimique, leur activité biologique et écologique ou de la voie de biosynthèse (Eltahchy, 2010).

- **Les alcaloïdes vrais** : ils existent à l'état sels, biosynthétique formé à partir des acides aminés. Les plus part sont toxique, ils sont tous basique grâce à l'atome d'azote situé dans l'hétérocycle (structure A figure 9) (Djaber, 2017).
- **Les protoalcaloïdes** : ils sont dérivés des acides aminés simples dont l'atome d'azote ne fait pas parti de l'hétérocycle. Ils sont solubles dans l'eau (structure B figure 9) (Djaber, 2017).
- **Les pseudoalcaloïdes** : ils ne sont pas dérivés des acides aminés, ils comportant un atome d'azote dans le système hétérocyclique (structure C figure 9) (Djaber, 2017).

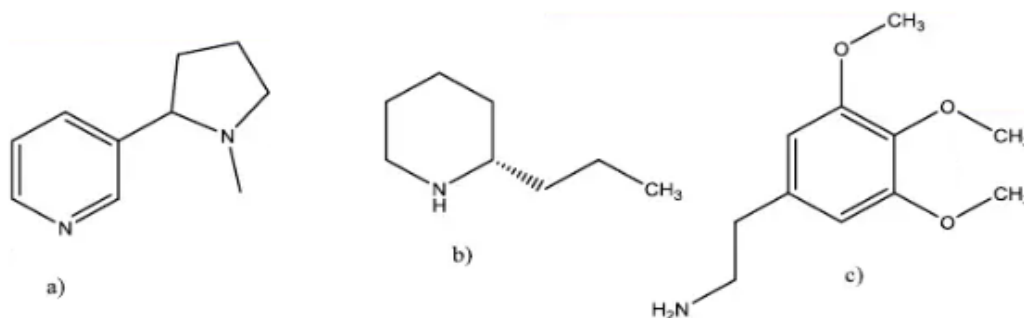


Figure 9 : Structure de a) nicotine, b) (S)-coniine et c) mescaline (Djaber, 2017)

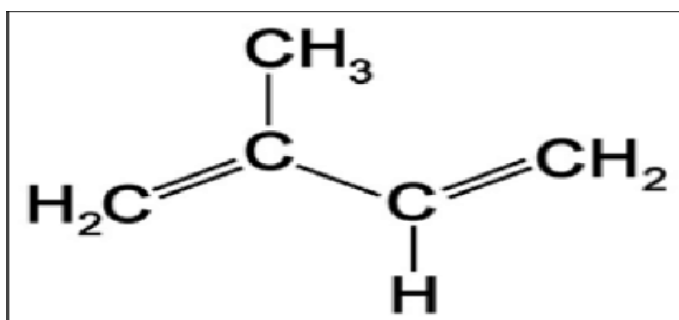
2.1 Activité antioxydante des alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des métabolites secondaires largement distribués dans le règne végétal, ils sont reconnus depuis longtemps comme des puissants antioxydants par excellence, les alcaloïdes présentent une bonne capacité de réduction au fer et de piégeage les radicaux libre (Bentabet *et al.*, 2014) . C'est l'exemple de la pipérine très abondante dans le poivre noir, qui possède un pouvoir antioxydant sur les dommages liés au stress oxydant en neutralisant les radicaux libre responsable de ce dernier. Elle aurait également un effet sur les enzymes antioxydant en augmentant la protection des cellules (Lescuyer, 2019).

La caféine contient une concentration très élevée d'antioxydants sous forme d'acide chlorogéniques et mélanoidines. Cette alcaloïde joue un rôle important dans la prévention du cancer de la peau, le diabète de type 2 et le cancer de foie, l'effet préventif est attribué aux antioxydants présents dans la boisson (Hegel, 2016). Plusieurs autre alcaloïdes présents cette activité antioxydante comme la capsaïcine, galantamine, cammaconine (Ulubelen, 2006).

3 Les terpènes :

Les terpènes ou également connus sous le nom isoprénoïdes, sont des hydrocarbures naturels, produits par de nombreuses plantes en particulier les conifères, les organismes marins, les champignons et par même les animaux (**krief, 2003**). Les terpènes possèdent des structure soit cycliques différentes les unes et les autres, soit à chaîne ouverte. Leurs formules brutes est $(C_5H_X)_n$ dont le (X) variable en fonction d'insaturation de la molécule et (n) nombre de répétition de l'unité de base (C_5H_8) (**Muanda, 2010**)



Figur 10 : Structure de l'unité isoprénique (C_5H_8) (**Solène, 2012**)

En fonction de la valeur (n) on peut distinguer Cinq classes de terpènes : (n=2) les monoterpènes (C_{10}) , (n= 3) les sesquiterpènes (C_{15}) , (n=4) les diterpènes (C_{20}) , (n=5) les sesterpènes (C_{25}) , (n=6) les triterpènes (C_{30}) (**Merghem, 2009**).

3.1 Activités antioxydante des terpènes :

L'un des traits les plus caractéristiques des terpènes réside en leur capacité à neutraliser les radicaux libre. Les lycopènes est un type spécifique de terpènes qu'on peut retrouver dans la tomate et les pastèques. il contribue à limiter le stress oxydant et probablement à éviter le développement des pathologies. Le transfert de l'énergie d'excitation de l'ion d'oxygène vers la molécule de lycopène produit une molécule d'oxygène plus stable et une molécule de lycopène en état d'excitation qui dissipera son excédant sous forme d'une chaleur (**Benakmoum, 2009**).

Les agrumes

Les agrumes, qui comprennent des fruits tels que les oranges, les citrons, les limes, les pamplemousses et les mandarines, sont originaires de l'Asie du Sud-Est. Les preuves archéologiques ont montré que les agrumes étaient cultivés en Chine et dans d'autres parties de l'Asie il y a environ 4 000 ans (**Kim et al ., 2015**).

Aujourd'hui, les agrumes sont cultivés dans de nombreuses parties du monde pour leur valeur nutritionnelle, leur goût unique et leur utilisation dans la cuisine et la production d'huiles essentielles (**Eshun et al., 2004**). En Algérie, Selon Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (2021), Les agrumes sont cultivés dans de nombreuses régions d'u pays, mais les principales régions productrices sont la wilaya d'Oran, Mostaganem, Bejaïa, Tlemcen, Bouira. Ces régions bénéficient d'un climat favorable à la culture des agrumes, ainsi que d'une infrastructure de transport et de commercialisation développées.

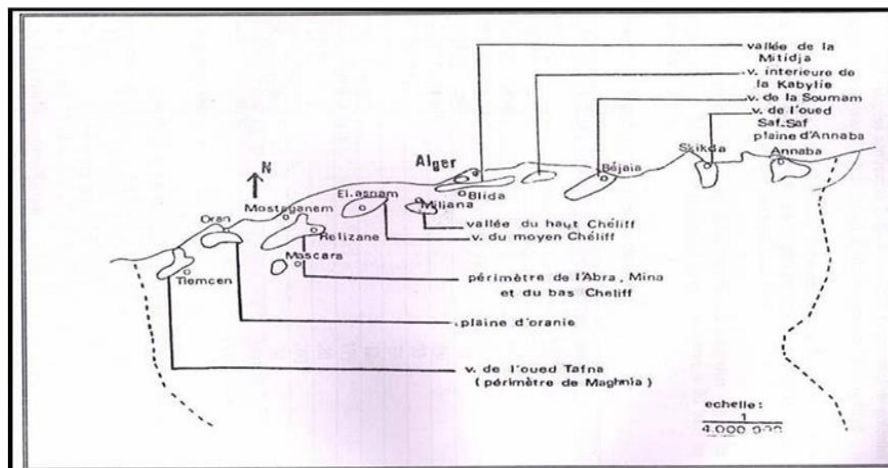


Figure 11 : Répartition des zones agrumicoles en Algérie (**Laupretre, 1975**)

1 Les orangers doux :

Les orangers doux sont l'espèce la plus désignée et cultivée dans le monde entier, et sont souvent associés à la production de jus et de fruits de table. L'oranger est résistant aux températures de $-7/8^{\circ}\text{C}$ et préfère les climats modérés, sans trop de chaleur ni de froid extrême. Il peut atteindre jusqu'à 7 à 8 mètres de hauteur avec une croissance rapide. Les feuilles sont lancéolées avec un pétiole fermé ailé, tandis que les fruits ont une forme sub-globuleuse avec une peau orange ou rougeâtre et une pulpe sucrée et juteuse. Les cotylédons et les embryons sont blancs (**Berger, 2003**).



Figure 12 : Fruit, fleur et feuille d'oranger

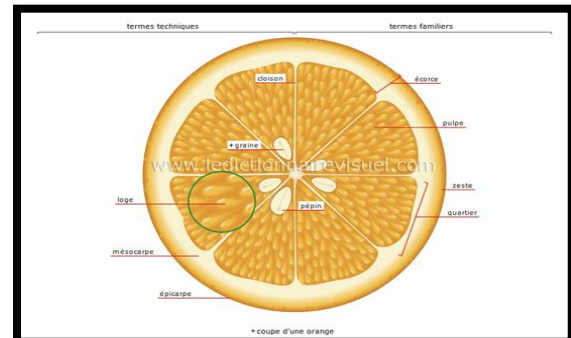


Figure 13: Coupe au niveau d'un fruit
D'orange (Loussert, 1989)

2 Les clémentiniers :

Le père Clément a créé le clémentinier en Algérie en 1902 en croisant un mandarinier et un bigaradier, contrairement à la plupart des agrumes, ce fruit a peu ou pas de pépins, bien qu'il puisse en avoir occasionnellement. L'arbre est robuste, avec un port résistant et compact qui peut atteindre jusqu'à 3 mètres de hauteur. Il peut résister à des températures aussi basses que 7/8°C, comme l'oranger. Les feuilles sont étroites et allongées, les fleurs sont petites et blanches, tandis que les fruits ont une peau fine et brillante, de couleur foncée, mesurée entre 7 et 10 cm de diamètre (Jean, 2004).



Figure 14: Fruit feuille et fleur d'une clémentine

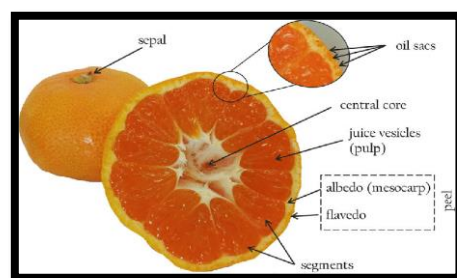


Figure 15: Coupe au niveau d'une
Clémentine (Maslov, 2022)

3 Les citronniers :

Les citronniers sont originaires d'Asie du Sud-Est et sont cultivés dans de nombreuses régions du monde pour leur fruit juteux et acide ainsi que pour leur huile essentielle aromatique. Les citronniers sont des arbres ou des arbustes qui peuvent atteindre une hauteur de 3 à 6 m. Il possède des feuilles persistantes vert foncé, luisantes et ovales qui dégagent une odeur de citron

lorsqu'elles sont froissées. Les fleurs blanches et parfumées sont solitaires ou groupées par deux ou trois et apparaissent en abondance sur l'arbre en été. Les fruits, de forme ovale ou oblongue, ont une peau jaune épaisse (**Hanelt et al ., 2001**).

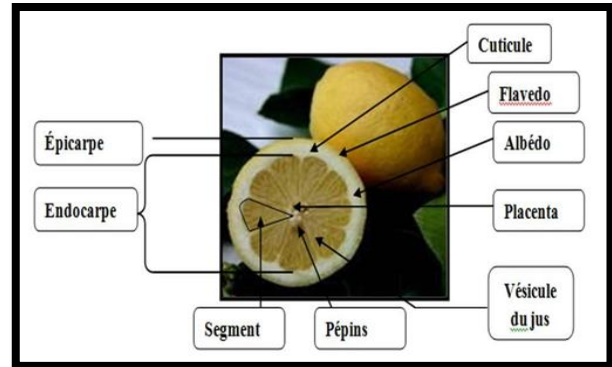


Figure 16 : Fruit feuille, et fleur d'un citronnier

Figure 17: Coupe au niveau d'un citron (**Swingle,1967**)

4 Composition chimique des agrumes :

Les agrumes sont des fruits composés par les citrons, les oranges, les pamelos et pamplemousses pour ceux les plus consommés. Sur un plan nutritionnel, la perception de ces fruits réside principalement sur leur contenu en vitamine C et l'action antioxydante qui leur est associée. Les antioxydants organiques considérés comme spécifiques des agrumes sont la vitamine C, la vitamine E, et les carotènes (**Rock, 2014**).

Tableau I : Composition chimique des agrumes pour 100g de matière (Bounouala, 2001).

Constituants	Unité	clémentine	Oranges	Citrons
Energie	K cal	47	39	32
Energie	K j	203	165	130
Eau	G	88	86	89
Fibres alimentaires	G	1,9	2	1
Glucides disponibles	G	10,6	8,5	8
Sucre	G	10,6	8,5	8
Polysaccharides	G	0	0	0
Lipides	G	0,3	0,2	0,4
Sodium	Mg	2	3	6
Potassium	Mg	210	200	160
Magnésium	Mg	11	13	12
Phosphore	Mg	20	24	21
Calcium	Mg	33	41	30
Fer	Mg	0,3	0,3	0,4
Carotène	Mg	100	50	2
Thiamine	Mg	0,04	0,1	0,05
Riboflavine	Mg	0,02	0,03	0,04
Vitamine B6	Mg	0,07	0,06	0,11
Vitamine B12	Mg	0	0	0
Vitamine C	Mg	30	50	80
Vitamine D	Mg	0	0	0
Vitamine E	Mg	0,22	0,24	0,5
Niacine	Mg	0,2	0,2	0,2
Acide pantathénique	Mg	0,2	0,25	0,23
Folacine	Ug	29	42,5	21

5 Utilisations médicinales et traditionnelles des agrumes:

Les agrumes ont été utilisés dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. Les extraits de citron ont été utilisés pour traiter les maux de gorge, les infections respiratoires, la toux et le rhume. Les extraits d'orange ont été utilisés pour traiter l'insomnie, stress. Les extraits de pamplemousse ont été utilisés pour traiter les infections bactériennes et fongiques. (Benavente *et al.*, 1997). Une enquête ethnobotanique a été réalisée par HACHI *et al.*,(2015) dans la ville de Khénifra, a montré que les plantes médicinales tels que les agrumes sont généralement utilisées pour traiter les maladies digestives, faire face aux problèmes de métabolisme et contre les maladies respiratoires et ostéo-articulaires, de même, la cosmétologie occupe une place de choix dans la médecine traditionnelle, pour la santé des cheveux et les soins de visage. D'autres utilisations sont moins représentées dans la région, on parle des maladies plus compliquées telles que les maladies cardio-vasculaire, hépatique, génito-urinaire.

6 Utilisations pharmaceutiques et effets thérapeutiques des agrumes :

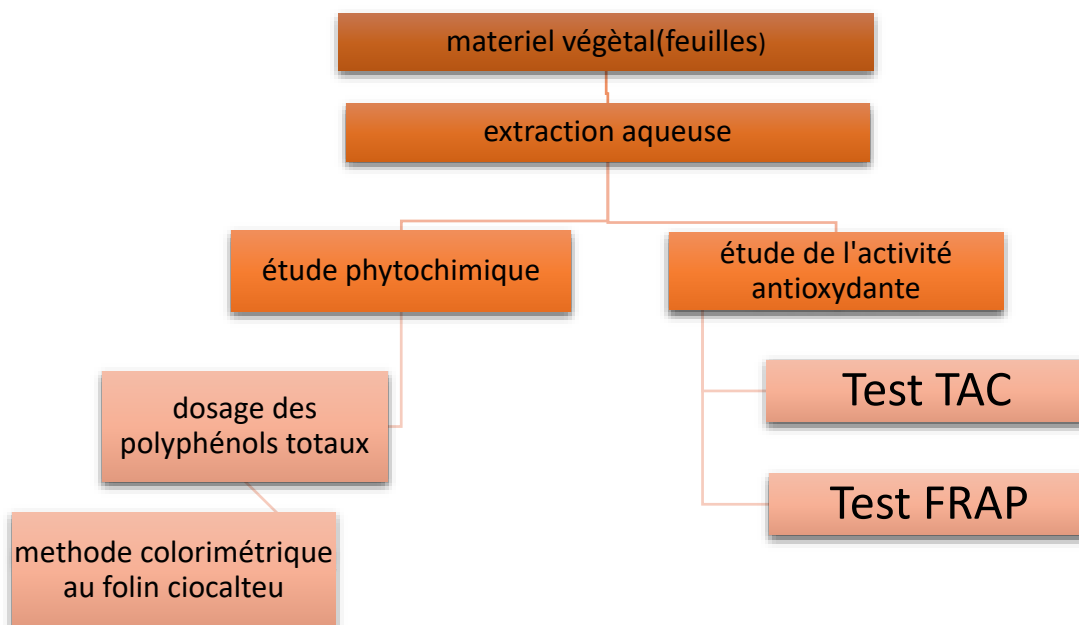
Les agrumes sont largement utilisés en pharmacie pour leurs propriétés médicinales bénéfiques pour la santé. Ils sont riches en antioxydants et en vitamine C, qui peuvent être utilisés comme ingrédients dans les compléments alimentaires et les médicaments. La vitamine C est également utilisée comme agent de conservation dans les formulations pharmaceutiques pour éviter l'oxydation des principes actifs (Vinson *et al.*, 1988). L'huile essentielle d'orange douce est connue pour ses propriétés anti-inflammatoires et antidépresseur (Kim *et al.* , 2002). L'extrait de pépins de pamplemousse est riche en antioxydants et en propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales. Il est souvent utilisé comme remède naturel pour traiter les infections bactériennes et fongiques. L'extrait de citron est riche en flavonoïdes, qui sont des composés végétaux bénéfiques pour la santé (Kakuda *et al.*, 2000). Les agrumes sont aussi reconnus pour leurs effets thérapeutiques. Ils sont notamment bénéfiques sur la santé digestive par leurs richesses en fibres solubles, qui peuvent aider à réduire les niveaux de cholestérol et de glucose dans le sang, tout en favorisant la santé digestive en augmentant le volume des selles et en suggérant la constipation, ces fibres peuvent aussi aider à la gestion du poids en éveillant l'appétit et en augmentant la sensation de satiété (Oviedo *et al.*, 2014) . Les agrumes sont aussi riches en vitamine C, qui est un nutriment important pour la fonction immunitaire. La vitamine C stimule la production de globules blancs, qui sont des cellules clés du système immunitaire (Hemilä *et al.*, 2013)

Partie expérimentale

Matériel Et Méthodes

1 Matériel végétale :

Les feuilles d'orange, du citron et de clémentine utilisées dans notre étude ont été récoltées dans la région de maâtkas (wilaya de Tizi-Ouzou) au cours du mois de février 2023. La récolte a été faite manuellement, au hasard, en prélevant des feuilles sur plusieurs arbres pour chaque variété. Ces feuilles ensuite ont été soigneusement nettoyées à l'eau courante, puis séchées à température ambiante à l'abri de la lumière et de l'humidité. Les feuilles séchées ont été broyées en une poudre très fine à l'aide d'un broyeur électrique puis stockées avec précaution dans un endroit sec en vue de son analyse ultérieure.

Feuille d'un *Citrus sinensis*Feuille d'un *Citrus limon*Feuille d'un *Citrus clementina***Figure 18 :** Les feuilles des trois plantes étudiées**Figure 19:** Schéma récapitulatif des étapes de l'expérimentation

2 Préparation de l'extrait aqueux :

Extrait aqueux 10% a été préparé par dissolution de 10g de la matière végétale (la poudre des feuilles d'orange, citron et clémentine) puis mise à une extraction par macération dans 100ml de l'eau distillée avec une agitation magnétique pendant 24h à température ambiante. Après cela, le mélange a été filtré une première fois à l'aide d'une passoire pour éliminer les gros débris, puis une seconde fois sur un filtre en papier Whatman n°1 pour obtenir un filtrat homogène. Enfin, l'extrait a été lyophilisé puis stocké en vue de son utilisation (figure 20).

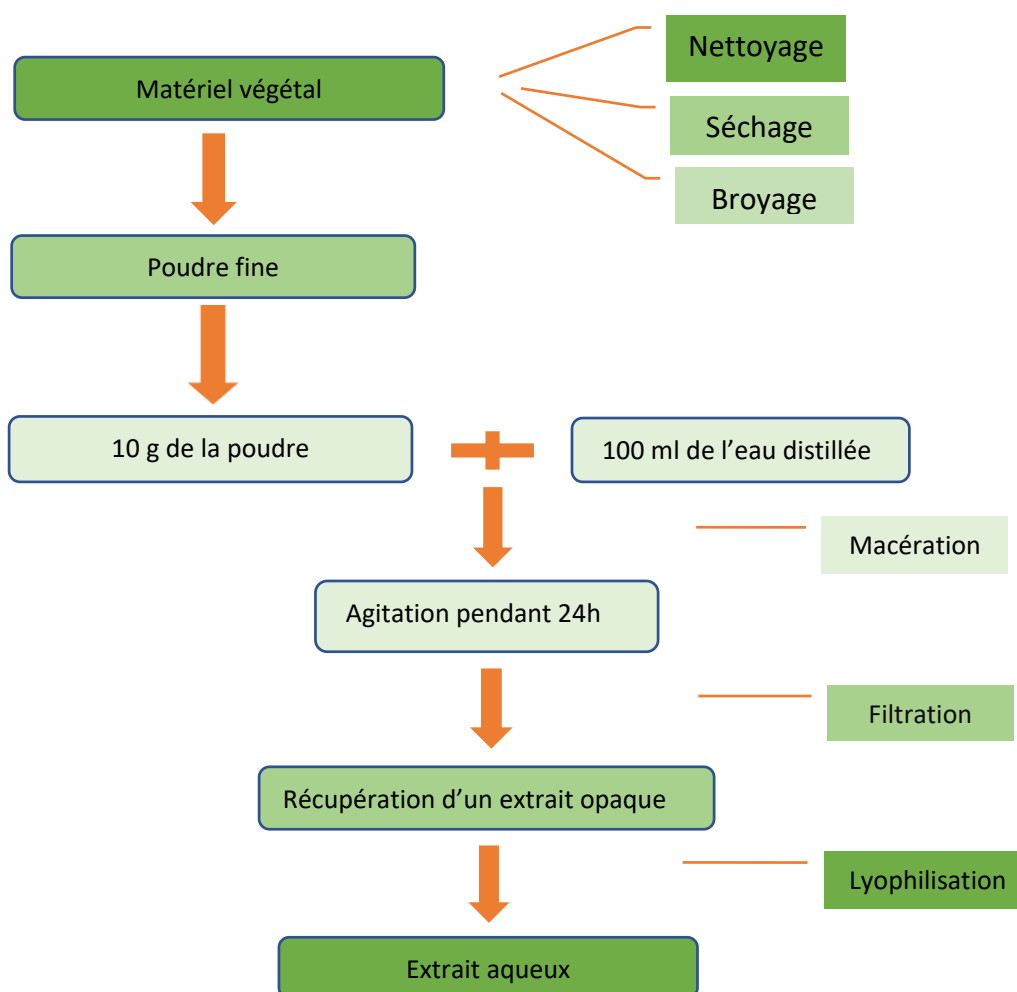


Figure 20 : Schéma récapitulatif des étapes de la préparation de l'extrait aqueux

3 Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux des extraits de feuilles des trois plantes étudiées, est effectué en utilisant le réactif de Folin Ciocalteu (**Boizot et al ., 2006**) qui est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide Phosphomolybdique ($12MoO_3H_3PO_4$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu

de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleu produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Boizot *et al.*, 2006).

Dans chaque tube on met 200 μ l d'échantillon à différentes concentrations, puis 1 ml de réactif de Folin fraîchement préparé (dilué 10 fois). Après 4 minutes d'incubation à l'obscurité à température ambiante, 800 μ l de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (75mg/ml) est ajouté au mélange réactionnel, puis incubé pendant 45min dans les mêmes conditions. La densité optique est mesurée à 765nm avec un spectrophotomètre UV Visible. Et trois répétitions ont été effectuées pour chaque extrait. La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (10 à 100 μ g/ml), effectuée dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Le résultat est exprimé en mg équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg EAG/g d'extrait)

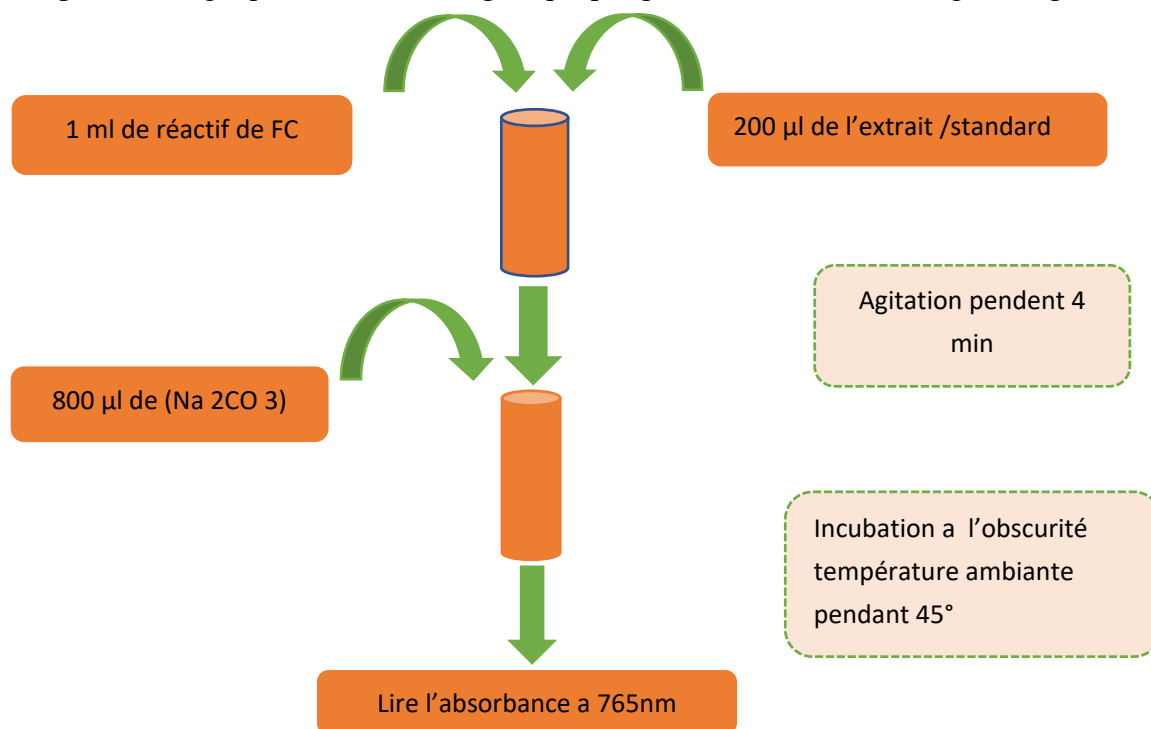


Figure 21 : Protocole du dosage des polyphénols totaux (Boizot *et al.*, 2006)

4 Évaluation de la capacité antioxydante totale : (TAC)

Cette méthode a été développée par Prieto *et al.*, (1999). Elle a été largement utilisée pour évaluer la capacité antioxydante totale de divers extraits de plantes, de fruits et de légumes, ainsi que de produits alimentaires. Cette méthode est basée sur la réduction molybdène Mo (VI)

présent sous la forme d'ions molybdate MoO_4^{2-} en molybdène Mo (V) MoO_2^+ par les antioxydants présents dans l'échantillon. Le molybdate d'ammonium est un composé incolore qui peut être réduit en un complexe bleu intense en présence d'antioxydants. Plus la capacité antioxydante d'un échantillon est élevée, plus la réduction des ions de molybdène (VI) est importante, ce qui se traduit par une augmentation de l'absorbance à 695 nm. (Aziz *et al.*, 2017).

Le réactif TAC est préparé en mélangeant de l'acide sulfurique 0,6M, du phosphate de sodium 28mM et du molybdate d'ammonium 4mM. Le test consiste à introduire dans des tubes 0,1ml de l'extrait à différente concentration ou du standard (acide ascorbique comme témoins positif), puis 1ml du réactif. Les tubes sont agités et incubés dans un bain marie à 95°C pendant 30min. Après refroidissement, l'absorbance est mesurée à 695 nm. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque extrait / vitamine C et les résultats sont exprimés en IC 50 qui est la concentration en extrait aqueux qui permettant de réduire 50% du molybdate.

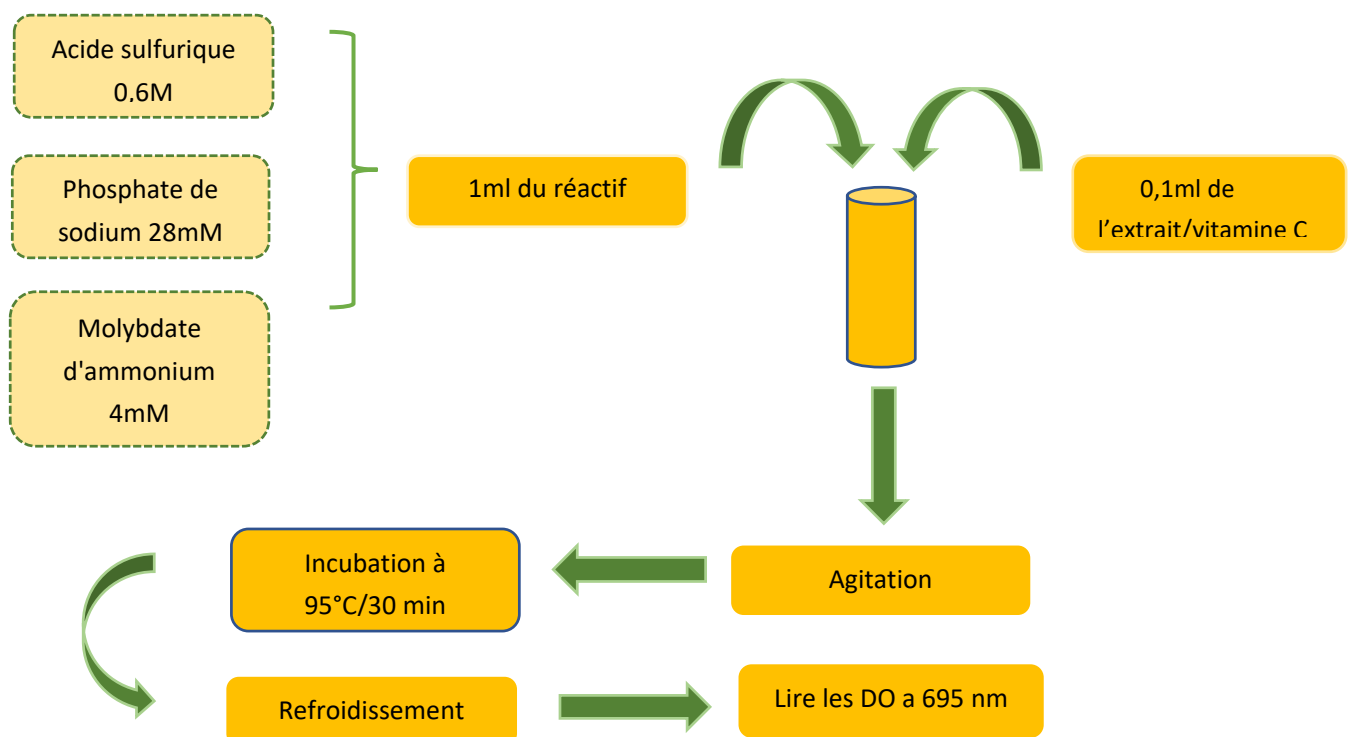


Figure 22 : Protocole du test de la capacité antioxydante totale (TAC) (Prieto *et al.*, 1999)

5 Évaluation du pouvoir réducteur du fer (FRAP) :

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}), pour évaluer le pouvoir réducteur des phénols (Ou *et al.*, 2001). La présence des réducteurs (AH)

dans les extraits de plantes provoque la réduction de Fe^{3+} du complexe ferricyanide à la forme ferreuse. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm (**Chung *et al.* , 2002**)

Le test consiste à introduire dans chaque tube 200 μl de l'extrait à différentes concentrations ou du standard (acide ascorbique), 200 μl de tampon phosphate (0,2M, pH 6,6) puis 200 μl de potassium hexacyanoferrate [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] à 1%. L'ensemble est chauffé à 50°C au bain marie pendant 20 minutes. Ensuite 200 μl d'acide trichloracétique est ajouté (10%) et le mélange est centrifugé à 3000 Rpm pendant 10 minutes. 200 μL du surnageant est transféré dans un autre tube auquel on ajoute 200 μl de l'eau distillée et 80 μl de FeCl_3 . Trois répétitions ont été effectuées et les résultats sont exprimés en IC 50 qui est la concentration en extrait aqueux permettant de réduire 50% du fer.

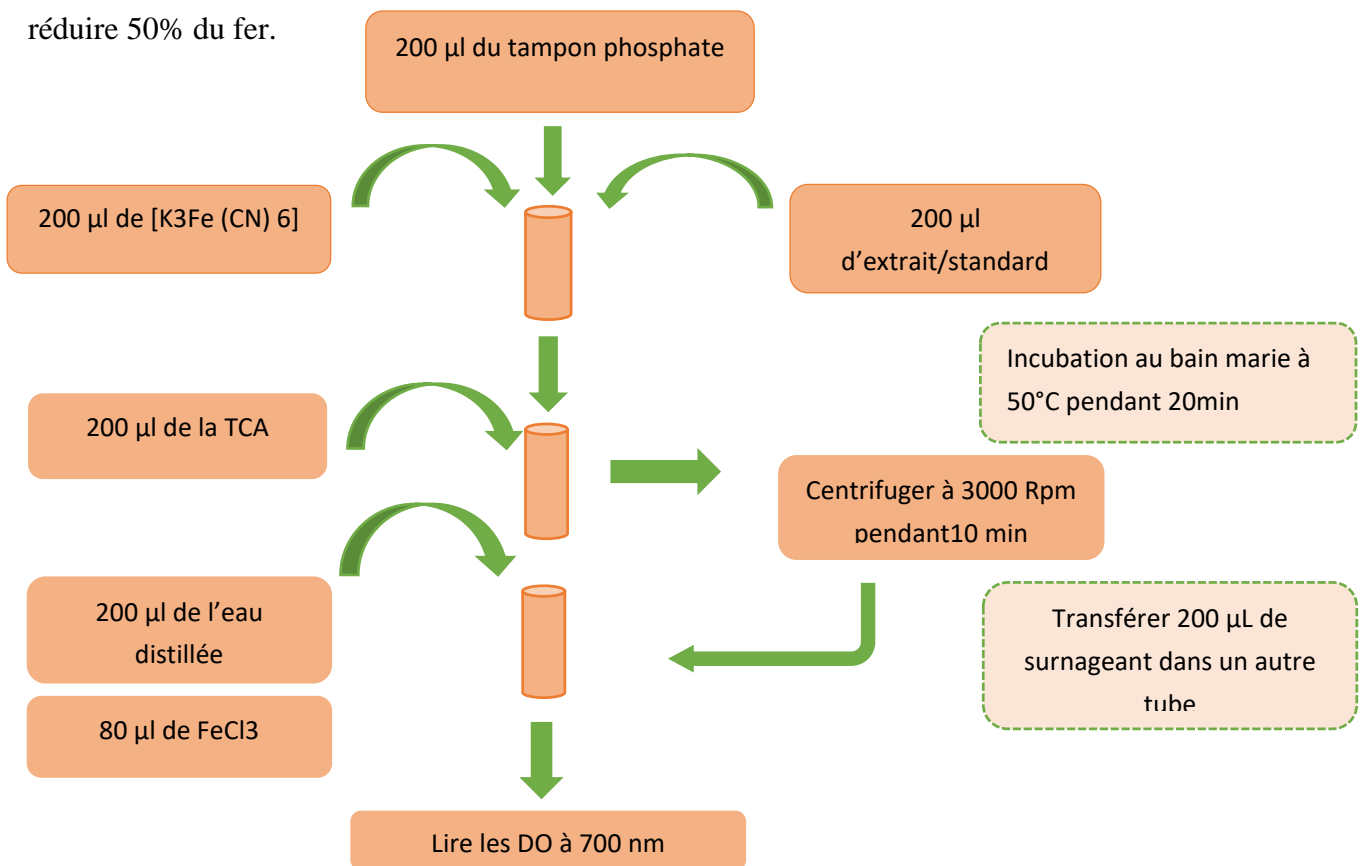


Figure 23 : protocole du test du pouvoir réducteur d'fer (FRAP) (**Oyaizu, 1986**)

ANALYSE STATISTIQUYE :

Les résultats sont analysés par le test ANOVA à un seul facteur suivi d'un test post hoc (tukey et tahaman) pour étudier les variables différents des moyennes grâce au logiciel SPSS.

Résultats Et Discussion

1 Dosage des composés phénoliques :

Les concentrations en polyphénols des extraits aqueux des feuilles de la clémentine, l'orange et du citron sont calculées à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**figure 24**). Les résultats obtenus (tableau II) montrent que la teneur en polyphénols de la clémentine est plus élevée ($248,27 \pm 2,70$ mg EAG /g d'extrait sec) par rapport à l'orange ($163,83 \pm 1,68$ mg EAG/g d'extrait) et du citron ($155,05 \pm 0,84$ mg EAG/g d'extrait)

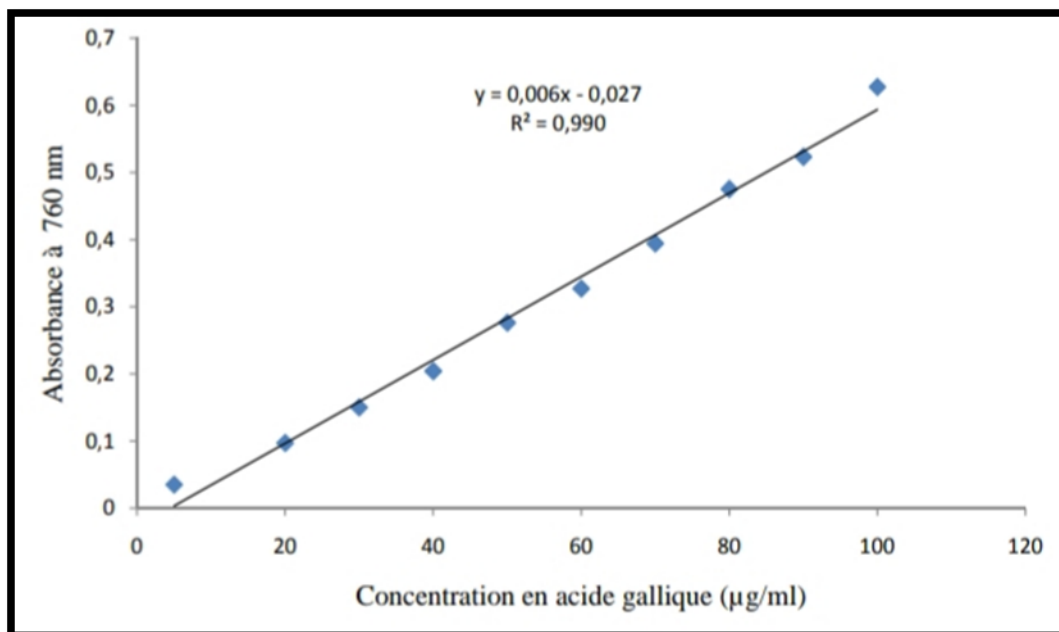


Figure 24 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

TABLEAU II: Résultats du dosage des polyphénols des plantes étudiés

PLANTES	[POLYPHENOLS]
Citron	$155,05 \pm 0,84$ mg EAG/g d'extrait
Orange	$163,83 \pm 1,68$ mg EAG/g d'extrait
Clémentine	$248,27 \pm 2,70$ mg /g d'extrait EAG

Bachra et al, (2016) a montré que la teneur en polyphénols de l'extrait aqueux du citron et de la clémentine était inférieure en comparaison avec nos résultats ($98,06 \pm 3,01$ mg EAG/g d'extrait, $125 \pm 4,15$ mg /g d'extrait EAG respectivement). Selon cette étude, la différence peut être liée à de nombreux facteurs qui peuvent affecter le taux en phénols comme la répartition géographique de la plante, la période de la culture de l'espèce, de la méthode d'extraction et du degré de maturation des feuilles.

Les résultats enregistrés pour de l'extrait méthanolique de la clémentine et de citron la même étude (**Bachra et al ., 2016**) étaient clairement inférieure aux extrait aqueux de leur étude et également à la nôtre ($11,67 \pm 0,82$; $3,83 \pm 0,78$ mg EAG/g d'extrait respectivement), cela a été de même ordre que les résultats de **Doukani et al, (2017)** qui a enregistré des valeurs de $32,92 \pm 4,17$ mg EAG/g d'extrait, $23,27 \pm 0,79$ mg EAG/g d'extrait sec respectivement, ce qui est probablement lié à la nature hydrophile des principes actifs des deux plantes qui sont plus soluble dans l'eau distillée que dans le méthanol

Gorinstein et al, (2001) a montré des résultats similaire à notre étude pour les teneurs en polyphénols de l'extrait aqueux de pelé de citron et de l'orange ($164 \pm 10,3$; $154 \pm 10,2$ mg EAG/ g d'extrait respectivement) par contre les pelures de citron et de l'orange montent des valeurs de $190 \pm 10,6$; $179 \pm 10,5$ mg EAG/ g d'extrait respectivement, qui était un peu plus élevée que les résultats obtenus dans notre étude. Cela a été justifié par la variation des concentrations en polyphénols d'une partie végétale à autre.

2 Évaluation de la capacité antioxydante totale (TAC):

Cette méthode permet d'évaluer la capacité antioxydante totale et le pouvoir réducteur de molybdène des extraits aqueux des feuilles des trois variétés d'agrumes étudiées ainsi que celui de la vitamine C comme référence. Ce test est une mesure globale de la capacité antioxydante, qui prend en compte tous les antioxydants présents dans l'échantillon (**Avant et al ., 1999**).

Les résultats de la capacité réductrice de molybdène des extraits aqueux étudiées et la vitamine c sont représentés dans le tableau III. Le pouvoir réducteur de la vitamine C est significativement différent ($P < 0,05$) et largement supérieure (IC₅₀ de $427,16 \pm 2,03$ µg/ml) comparativement à l'orange, le citron et la clémentine avec des IC₅₀ de $1943,33 \pm 33,32$ µg/ml, $1944,3 \pm 8,08$ µg/ml et $2408,33 \pm 618,85$ µg/ml respectivement.

L'histogramme représenté dans la figure 25 montre des variations de l'absorbance de la vitamine C et les extraits aqueux qui présentent une relation Dose- Dépendante qui vont de 100 à 1000 µg/ml.

Tableau III : les valeurs des IC50 des extraits aqueux des plantes étudiés et de la vitamine C.

PLANTES	TAC
Acide ascorbique	427,16±2,03 µg/ml
Citron	1944,3±8,08g/ml
Orange	1943,33±33,32µg/ml
Clémentine	2408,33±618,85µg/ml

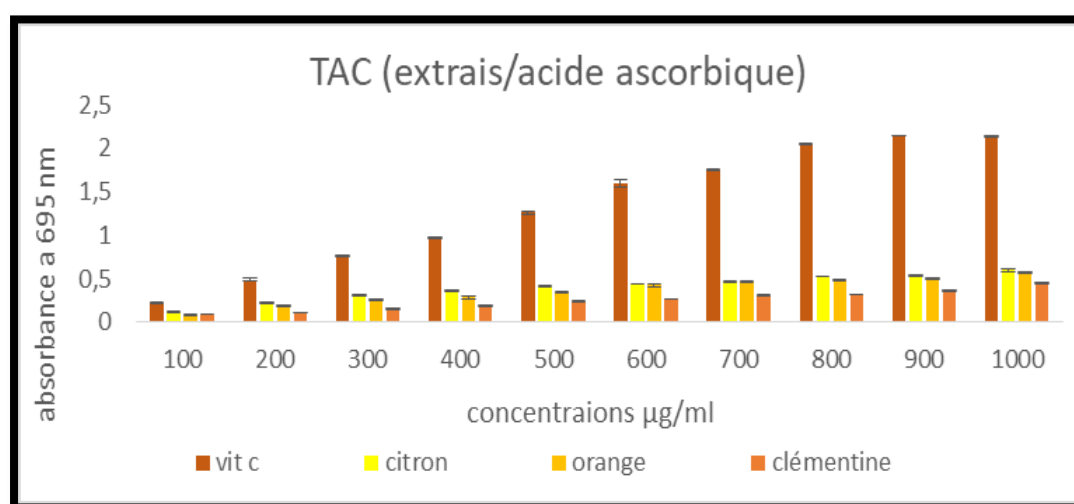


Figure 25 : la capacité de réduction de molybdène par les extrais et par la vitamine C.

D'après nos résultats et notre étude statistique ($p < 0,05$), on peut constater que l'extrait aqueux du citron et de l'orange présentent un pouvoir réducteur de molybdène significativement identique et plus élevé par rapport à la clémentine. Cela peut être justifié par la composition chimique du citron et de l'orange qui possède des teneurs plus élevées en vitamine C comparativement à la clémentine (Bounouala, 2001).

Des études récentes ont montré que de nombreux polyphénols contribuent de manière significative à l'activité antioxydante totale des fruits et des légumes (Negro *et al.*, 2003) ainsi des plantes médicinales (Borgou *et al.*, 2008). De ce fait, la différence dans l'activité antioxydante totale entre les plantes étudiées est probablement liée à la différence de leur composition phénolique.

La capacité réductrice de nos extraits est nettement plus faible comparativement à l'IC50 enregistré pour les feuilles de *Ficus Benghalensis* ($31.48 \pm 0.12 \mu\text{g/ml}$) (YADAV et al, 2011)

A notre connaissance et selon les articles consultés, aucune étude a été effectuée sur l'activité antioxydantes totales de l'extrait aqueux des feuilles des trois variétés d'agrumes testés pour cela il est difficile de comparer nos résultats.

3 Evaluation du pouvoir réduction du fer (FRAP) :

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Elle évalue le pouvoir réducteur des phénols (Ou et al., 2001), ou la présence des réducteurs (AH) dans les extraits de plantes provoque la réduction du complexe ferricyanide Fe^{3+} à la forme ferreux Fe^{2+} (Chung et al., 2002). Les résultats de l'activité antioxydante des extraits aqueux des trois plantes étudiés sont exprimés en IC50 (concentration d'inhibition de 50%).

La capacité réductrice du Fer par les extraits aqueux des plantes étudiées et de la vitamine C est représentée dans le tableau IV. IC50= $886,66 \pm 3,51 \mu\text{g/ml}$, $973 \pm 4,35 \mu\text{g/ml}$, $1007 \pm 11,78 \mu\text{g/ml}$ cela montre une activité réductrice significativement différentes ($p < 0.05$) et nettement plus faible que celle enregistré pour la vitamine C (IC50= $114 \pm 0,26 \mu\text{g/ml}$)

Tableau IV : IC50 des extraits aqueux des plantes étudiés et de la vitamine C

PLANTES	FRAP
Acide ascorbique	$462 \pm 1,15 \mu\text{g/ml}$
Citron	$1007 \pm 11,78 \mu\text{g/ml}$
Orange	$973 \pm 4,3 \mu\text{g/ml}$
Clémentine	$886,66 \pm 3,51 \mu\text{g/ml}$

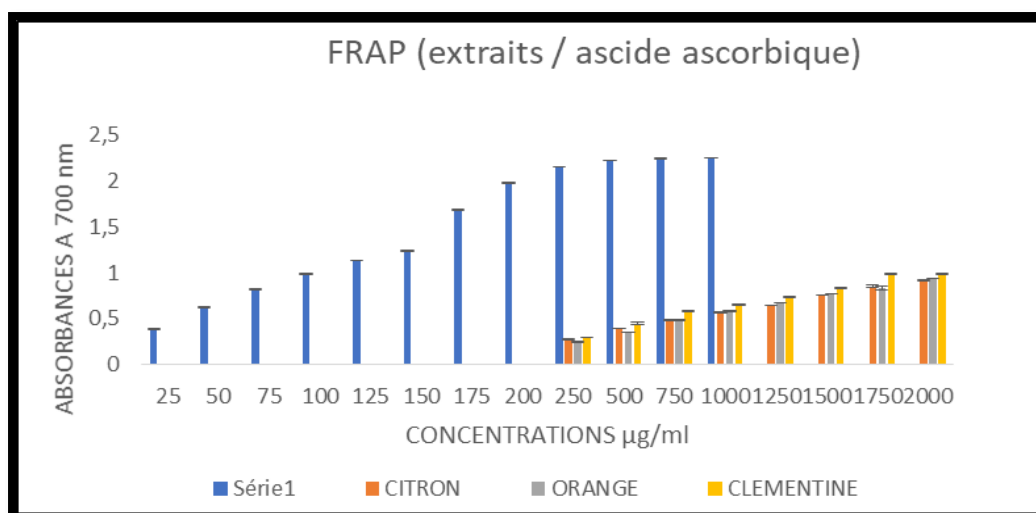


Figure 26 : la capacité réductrice de Fer par les extraits aqueux et par la vitamine C.

Les résultats enregistrés ont montrés une réduction du fer par les plantes ce qui exprime un potentiel antioxydant non négligeable. D'après ces résultats, on peut constater que l'extrait aqueux de la clémentine a une activité antioxydante plus élevée comparativement au citron et l'orange qui sont significativement similaires ($p < 0.05$) cela peut être justifié par la composition chimique des agrumes ou la clémentine est connu une teneur en beta carotène et en vitamine E plus importante que le citron et l'orange qui présentent des quantités identiques (**Bounouala, 2001**).

Muthiah et al, (2012) montre une activité plus importante comparativement à nos résultats (Citron $707,16 \pm 0,44$, orange $586,66 \pm 1,20$ et clémentine $445,08 \pm 1,08$ µg/ml) ou l'activité antioxydante la plus forte a été enregistrée pour la clémentine ce qui est similaires à nos résultats. Cela peut être attribué à la présence d'une quantité importante en composés phénoliques, ce qui est confirmé dans notre étude (**Ouerdane et Ramdani, 2007**).

Qiyang et al, (2020) ont montré également que la clémentine présente une activité antioxydante plus forte que l'orange et le citron. **Doukani et al, 2017**, ont constaté dans leur étude sur l'extrait méthanolique des feuilles des mêmes plantes, que le citron est riche en composés phénoliques et il a un potentiel antioxydant puissant par rapport à la clémentine et l'orange ce qui est différent à nos résultats. Cela peut être justifié probablement par l'activité antioxydante des extraits végétaux qui dépend du type et de la polarité des solvants d'extraction, la procédure d'extraction, la pureté des composés actifs, la technique d'essai et le type d'échantillon utilisé (**Ismail, 2004**).

Conclusion Et Perspectives

Le présent travail est consacré à l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits aqueux des feuilles de trois variétés d'agrumes (orange, citron et clémentine) récolté dans la région de maâtkas en février 2023.

Les résultats de l'analyse quantitative par spectrophotométrie nous a permet de conclure la présence des teneurs en polyphénols totaux très variables entre les différents extraits. la meilleure teneur a été enregistré pour la clémentine puis l'extrait de citron et l'orange.

L'évaluation du potentiel antioxydant a été confirmée en se basant sur deux tests, celui de la réduction de molybdène (TAC) et celui de la réduction de Fer (FRAP) ou les résultats de test TAC ont montré que le citron et de l'orange possèdent un pouvoir antioxydant identique et supérieure de celui de la clémentine mais ils sont moins importants que celui de la vitamine C.

Les résultats test FRAP ont montré que la clémentine a un pouvoir réducteur de Fer plus important que celui de citron et l'orange, mais inférieur à celui du standard

A la suite de ces résultats, pour mieux cerner l'effet thérapeutique de ces plantes, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées

- Effectuer une étude précise pour identifier les différent composés phénolique implique dans chaque activité étudié
- Appliquer d'autres tests antioxydants pour avoir un aspect plus affiné sur le pouvoir antioxydant de nos plantes
- Etudier d'autres activités biologiques telles que l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire
- Elargir l'étude sur d'autres parties de la plantes (racines et fleurs)
- Etudes du mode d'action de l'extrait sur les ROS.

Références Bibliographiques

A

- **Ali, J.**, (2017). Matrices MALDI bithiophéniques spécifiques aux alcaloïdes : étude des Mécanismes fondamentaux et applications. Université d'Angers, Français.
- **Aruoma, O. I.**, (2003). Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in food plants. *Mut. Res*, 9(20) : 523 – 524.

B

- **Bachra, K; Kadr, Nabil; Tighilet, K; Adjebli, A; Dahmoune, F; Maiza-Benabdeslam, F.** (2016) Phenolic compounds from Citrusleaves: antioxidant activity and enzymatic browning inhibition
- **Bedwell, S., Dear, R.T., Jessup, W.** (1989). L'action de radical libre sur l'oxygène défini sur lipoprotéines humaines de basse densité. *Biochem J*, 262 (3) : 707-712
- **Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., & Ortuno, A.** (1997). Activité antioxydante des composés phénoliques extraits des feuilles d'Olea europaea L.. *Chimie alimentaire*, 58(3), 245-250.
- **Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K.** (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de béchar en algérie. *Phytothérapie*.
- **Bgattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitral, S., Crowe, S.** (2014). Le stress oxydatif : un facteur essentiel dans la pathologie des maladies de la muqueuse gastro intestinale. *Physiol Rev*, 94(2) : 329-354.
- **Pharmacol, J.** (2001). Biochemical effects and therapeutic potential. *Indian*, 33: 2-16.
- **Boizot, N., & Charpentier, J. P.** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en Composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de LIINRA, Numéro spécial 2006 : Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques*, 79-82.
- **Bounouala R.**, (2001). Valorisation des sous-produits de l'industrie agrumicole dans l'alimentation du bétail. Unité de Ramdane Djamel Wilaya de Skikda. Mémoire d'ingénieur agronome. Université Badji Mokhtar –Annaba p27
- **Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandarani I., Falleh H., Marzouk B.** (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *C.R. Biol* 331: 48-55.

- **Brigelius-flohe., R.** (1999). Fonctions spécifiques des glutathion peroxydases individuelles. *Radix libre Biol Med*, 27 : 951-65
- **Bruneton J.**, (1999). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales*. 3ème édition,
- **Buchanan, B., Gruissem, W., Jones J.** (2000). *American Society of Plant Physiologists*
- **Butterfield, DA, Koppal, T, Howard, B, Subralanial, R, Hall, N, Hensley, K., Et al.** (1998). Modification structurelles et fonctionnelles des protéines induites par le stress oxydatif



- **Cabrera C., Artacho R., Giménez R.** (2006). Beneficial effects of green tea. *J. Am. Coll. Nutr*, 25: 79-99.
- **Caruso, T., & Campisi, G.** (2012). Histoire, taxonomie et distribution des agrumes. *Génétique, sélection et biotechnologie des agrumes*, 1-22.
- **Chandan, K., Sens, MA., Osmo, H.** (1994). Exercise induced oxydatif stress : glutathione supplémentation and deficiency. *Journal of Applied Physiology*, 77(5) : 2177-2187
- **Cheesman, KH., Et Slater, TF.** (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3) : 491-493.
- **Chelikani, P., Fita, I., Loewe, PC.** (2004). Densité de structures et de propriétés parmi les catalases. *Cell Mol Life Sci*, 61 :192-208
- **Chung, YC., Chang, CT., Chao, WW., Lin, CF., Chou, ST.** (2002). Antioxydative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50: 2454-2458
- **Clifford, MN.** (2000). Anthocyanins–nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the science of food and agriculture*,80(7), 1063-1072.
- **Cogniaux-Bertrand, L., Petit, C., & Garcia-Berthou, E.** (2018). Caractérisation des fragrances des huiles essentielles d'agrumes par chromatographie en phase gazeuse avec détection ultraviolette sous vide. *Journal de chromatographie A*, 1573, 22-28.



- **Daenen, K., Andries, A., Mekahli, D., Van Schepedael, A., Jouret Bammen, B.** (2019). Stress oxydatif dans les maladies rénales chronique. *Pédiatre Néphrol*, 34 : 975-991
- **Daniel, M.** (2006). *Medicinal Plants: Chemistry and Properties*: Taylor & Francis.
- **De Gray, A. (2002).** H₂O• : le radical oublié. *Cellule ADN Biol*, 21 : 251-257
de l'obtention de diplôme de licence en biochimie fondamentale et appliqué p20-25.
De Padua, L. S., Bunyaphatsara, N., & Lemmens, R. H. M. J. (1999). *Plant resources of South-East Asia 12:(1) medicinal and poisonous plants 1*: Backhuys Publishers.
- **De Sousa, L., Lavault, M., Tessier, O, To, J., Zamour, K.** (2004). Santé et anti oxydant : une recette miracle, 364 : 1219-1228
- **Del Rio, J.A., Fuster, M. D., Gomez, P., Porras, I., Garcia-Lidon, A., ET Ortuno, A.**(2004). Citrus limon : a source of flavonoid of pharmaceutical interest. *Food chem*, 84 :457-461.
- **Dépeche, W.** (2008). Les suppléments en antioxydants risquent d'altérer les bénéfices la radiothérapie et de la chimiothérapie. *JNCI*, 100:11
- **Dhuique-Mayer C., Caris-Veyrat C., Ollitrault P., Curk F., Amiot MJ.**(2005). Influence variétale et interspécifique sur les teneurs en micronutriments des agrumes du bassin méditerranéen. *Journal de chimie agricole et alimentaire .;* 53 (6):2140–2145.
doctorat, muséum national d'histoire naturelle,32p
- **Dugrand-Judek, A.** (2015). Contribution à l'étude phytochimique et moléculaire de la synthèse des coumarines et furocoumarines chez diverses variétés d'agrumes du genre Citrus. Thèse de doctorat en sciences agronomiques université de Lorraine.1-286.
- **Doukani K., tabak S.** (2017). Profil phytochimique de quelques espèces de Citrus (C. aurantium, C. sinensis et C. limonum) ; *Revue Écologie-Environnement* ; 13 :1-4.



- **EL Tahchy A.,** (2010). Etude de La voie de la biosynthèse de la galanthamine chez *Leucojum aestivum* L. Criblage phytochimique de quelque Amaryllidaceae. Thèse Doc. Univ. De Nancy, 297p.

- **Emeraux, E.** (2019). Propriétés biologiques des flavonoïdes : étude bibliographique et évaluation de l'activité antioxydante Doctoral dissertation, Université de Lorraine. 11p
- **Epifano, F., Genovese, S., Menghini, L., Curini, M.** (2007). Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry*, 68, 939-953
- **Eshun, K., & He, Q.** (2004). Un examen de la chimie, de la pharmacologie et des effets cliniques des limonoïdes d'agrumes. *Phytochimie*, 65(22), 325-340
- **Evans, WJ.** (2000). Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr*, 72 : 647-652
Exploration de leurs activités biologiques. Thèses université de lille 2. Pp : 1.

F

- **Favier, A.** (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115.
- **Frankel, P.** 1998. *Biologie*. Bruxelles De Boeck, 1250 p.
- **Ferrali, M., Signorini, C., Caciotti, B., Sugherini, L., Ciccoli, L., Giachetti, D., Comporti, M.**, 1997. Protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity. *FEBS Lett.* 416, 123–129.
- **Finkel, T., Et Holbrook, NJ** .(2000). Oxidants oxidative stress and the biology of ageing . *Nature*, 408 : 239-24

G

- **Gardes Albert, M., Bonnefont Rousselot D., Abdinzadeh Z., et Jore D.** (2003). Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique* P 91.
- **Goldschmidt, EE** (2019). *L'industrie des agrumes : amélioration des cultures, physiologie post-récolte, sélection et culture*. Presse académique.
- **Gorinstein S., Martín-Belloso O., Park Y.-S., Haruenkit R., Lojek A., Číž M., Caspi A., Libman I., Trakhtenberg S.** (2005) Comparaison de certaines caractéristiques biochimiques de différents agrumes des fruits. *Chimie alimentaire.* ; 74 : 309–315.

H

- **Halliwell B, Gutteridge JMC** .(1989). Free radicals in biology and medicine, 2e ed.. Oxford, UK : Clarendon.
- **Halliwell B.** (1995) .How to characterize an antioxidant- An update. Biochem Soc Symp, 61 :73–101.
- **Halliwell, B, Goix, CF.** (1994). Espèces réactifs de l’oxygène : leur relation avec les maladies humaines et le stress environmental. Enviro Health Perspect, 10 : 5-12
- **Halliwell, B, Gutteridge, JM.** (1999). Les radicaux libres en biologie et en médecine. Midsomer Norton : Oxford University Press.
- **Halliwell, B.** (1994). Free radicals and antioxidants: a personal view. Nutrition
- **Hao, Y, Xing, M, Gu, X.** (2002). Progrès de la recherche sur le stress oxydatif et ses stratégies de régulation nutritionnelle chez le porc. Animaux (Bêta), 11(5) : 1384.
- **Haleng, E.**2007. Les antioxydants des agrumes: action en solitaire ou matricielle ? Phytothérapie 12:80
- **Herrera E., Barbas C** (2001). Vitamin E: Action, metabolism and perspectives. J Physiol BBioche, 57:43–56.
- **Hofer, T., Badouard, C., Bajak, E., Ravank, JL., Mattson, A., Cotgreave, IA.** (2005). Le peroxyde d’hydrogène provoque une plus grande oxydation dans l’ARN cellulaire que dans l’ADN. Biol Chem, 386(4) : 333-337

H

- **Kim, HJ et Chen, F.** (2015). Origines et évolution des agrumes. Dans les progrès de la nutrition des agrumes (pp. 3-14). Springer, Dordrecht.
- **kakuda., Ma. Luisa V., Gabriela R. and Xavier L.**2000. Antimicrobial evaluation of plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. Journal of Ethnopharmacology, 53(3): 143–147.
- **KRIEF, S.** (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse Lavoisier Techniques & Documentation, Paris..
- **Krinsky, T.,** 1992. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients 2, 1231-1246.

L

- **Lobo,V., Patil, A., Phatak, A., Et Chandra, N.** (2010). Radicaux libres et aliments fonctionnel : impact sur la santé humaine. *Pharmacogn Rev*, 4(8) :118-126

M

- **Manach, C., Scalbert, A., Morand C., Remesy C., Amenez L.** (2004). Polyphenols: Food
- **Marija SB., Luna MB & Kristina VK.** (2022) : Détermination des composants bioactifs dans les mandarines : un examen, des examens critiques dans Chimie analytique médié par les radicaux libres et l'action protectrice des antioxydants N-tert-butyl-alpha-phenylnitrone et de la vitamine E. *Ann NY Acad Sci*, 854 : 448-462
- **Maryama Hachi, Touria Hachi, Nadia Belahbib, Jamila Dahmani, and Lahcen Zidane** (2015) *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324 Vol. 11 No., pp. 754-770
- **Mennella, I., Fogliano, V., & Vitaglione, P.** (2017). Flavonoïdes d'agrumes : structure moléculaire, activité biologique et propriétés nutritionnelles : une revue. *Chimie alimentaire*, 228, 697-715.
- **Merghem R.**, 2009. *Eléments de biochimie végétale*. Edition Bahaeddine: 107-133.
- **Michelson, AM, Cord, JM, Fridovich, I.** (1971). Superoxide et superoxide dismutases. *Londres : Academic Press*, p320 nanoparticles using tannins », *Mater. Sci.-Pol.*, vol. 32,
- **M'hiri, N., Ioannou, I., Mihoubi Boudhrioua, N., Ghoul, M.,** (2015). Effect of different operating conditions on the extraction of phenolic compounds in orange peel. *Food and Bioproducts Processing*. 96, 161-170. DOI information: 10.1016/j.fbp.2015.07.010
- **Mladenka P., Zatloukalova L., Filipsky T., Hrdina R.** (2010). Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *Free Radic Biol Med*;49: 963–75.
- **Mousavi Khaneghah, A.; Fakhri, Y.; Gahruie, H.H.; Niakousari, M.; Sant'Ana, A.S.** (2019). Mycotoxins in cereal-based products during 24 years (1983–2017): A global systematic review. *Trends Food Sci. Technol.*,
- **Muanda F., Dicko A., SoulimaniR.** (2010). Chemical composition and biological

Natural Products (Secondary Metabolites) Chapter 24: Biochemistry & Molecular Biology of Nutr. 2006;25:79–99

- **Muthiah, p.** (2012) In vitro antioxydant activities of leaves,fruits and peel extracts of citrus. International Journal of Phtopharmacy, 2,pp.13-20.

N

- **Negro C., Tommasi L., Miceli A** (2003) Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. Bioresource Technology 87: 41-44.

O

- **Qiyang Chen, Dan Wang, Chun Tan, Yan Hu, Balasubramani Sundararajan et Zhiqin Zhou.** (2020). Profilage de l'activité flavonoïde et antioxydante des tissus de fruits de 27 cultivars d'agrumes locaux chinois, 9(196).
- **Overdane C., Jai-Heon L. and Sang U.P.** 2014.Recent studies on flavonoids and their aactivities.Experimental and Clinical Sciences, 12 : 225 230.
- **Oviedo T., Sine G., Hedor F.** 2014. Phenylpropanoid biosynthesis. Molecular Plant, 3: 2–20.Voirin B.1983. UV spectral differentiation of 5-hydroxy and 5-hydroxy-3-méthoxyflavones with mono-4',di-3',4' or tri-3',4',5'-substituted B rings. Phytochemistry, 10: 2107–2145.
- **Ou K.V.,Fishi S., Thiur K.** 2001. Adaptogenes of the natural origin in prophylactic oncology. Journal Of Cancer Research and Clinical Oncology, 116–182.
- **Oyaizu, M.** (1986). Studies on products of browning reaction. The Japanese JournalOf utrition and Dietetics, 44(6), 307-315.

P

- **P.B Raja, M.G. Sethuraman, Mater. Lett.** 62 (2008) l'action protectrice des antioxydants N-tert-butyl-alpha-phenylnitronne et de la vitamine E. Ann NY Acad Sci, 854 : 448-462

- **Pazyar, N., Yaghoobi, R., Ghassemi, MR, Kazerouni, A., & Rafeie, E.** (2013). Cicatrisation cutanée et phytomédecine : un bilan. *Pharmacologie et physiologie de la peau*, 26(6), 317-323.
- **Phanhuy, L., Hua, H., Chuong, P.** (2008). Radicaux libres antioxydant dans la maladie et la santé. *Int J Biomes Sci*, 4(2) : 89-96
- **Pharmacol, J.** (2001). Biochemical effects and therapeutic potential. *Indian*, 33: 2-16.
- **Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M.** (1999). Quantification spectrophotométrique de la capacité antioxydante par la formation d'un complexe de phosphomolybdène : application spécifique au dosage de la vitamine E. *Biochimie analytique*, 269(2), 337-341.

R

- **Raven H., Evert R. F., Eichhorn S. E.** (2000). *Biologie végétale*. 6^e édition. Traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles-Marie Evrard. De Boeck Université - Paris, 944p.
- **Roeding, Y Sasaki, N., Ohmiya, A.,** 1998. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *Plant Journal* 54: 733-749.
- **Rochette, L.** (2008). Stress oxydant et sepsis. *Réanimation*, 3 : 1-4
- **Rock, J.M.** 2014. Antioxydant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, Vol. 32 (8), 595-603.

S

- **Sahli, R.** (2017). Etude phytochimique de quelques plantes extrémophiles Tunisiennes et toxicité. Thèse de diplôme d'état de docteur en pharmacie, faculté de pharmacie, Université de Lorraine
- **Saunt, J.** (2014). *À l'ouest de la révolution : Une histoire peu commune de 1776*. WW Norton & Company.
- **Schrader, M., Et Fahimi, HD.** (2006). Peroxisomes and oxidative stress. *Biochimica and Biophysica Acta*, 1755-1766
- **Siems, WG, Grun, T, Esterbauer, H.** (1995). Formation de 4-hydroxynonanal pendant l'ischémie et la reperfusion de l'intestin a de la rat. *Vie Sci*, 57(8) : 785-789

- **Sies H.** (1999). Glutathion and its role in cellular functions. *Free radic biol med* 27(9-10), p 916-21.
- **Smirnoff, N.**(2001). Biosynthèse de l'acide L-ascorbique. *Vitam Horm*, 61 :241-66
- **Solène J.** (2012). La qualite des huiles essentielles et son influence sur leur efficacite et sur leur sources and bioavailability. *The American journal of Clinical Nutrition*.

T

- **Tolkowsky, S.** (1938). Hespérides, les agrumes dans la littérature classique. Presse universitaire d'Oxford.
- **Traber, MG., Atkinson, J.** (2007). Vitamin E antioxidant and nothing more. *Free Radical Biology Médecine*, 43 :4-15

V

- **Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J., Telser, J.** (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266 :37-56
- **Vermerris W., Nicholson R.** (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*. Ed, Springer: U.S.A
- **Vinson Y., Néné-bi A.S., Zahoui O.S., Yapi A. and Traoré F.** 1988. Activité anti-Inflammatoire del'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné) (Olacaceae). *Journal Of Animal and Plant Sciences*, 24(3) : 3802– 3813.

W

- **Wollgast, J. and E. Anklam** (2000). "Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification." *Food Research International* 33(6): 423-447.
- **Wu, G., & Hu, X.** (2019). Traits racinaires et plasticité pour l'acquisition du phosphore chez les agrumes. *Plante et sol*, 439(1-2), 251-264.

Y

- **Yadav, Y. C., Srivastava, D. N., Saini, V., Singhal, S., Seth, A. K., & Kumar, S.**
- **Yang, SH, Valvo, S, Yao, H, Kode, A, Rajendrasozhan, S, Edirisingh, I, Cairo, S, Adenuga, D, Henry, R.** (2008). Ikk alpha provoque une modification de la chromatine sur gènes pro-inflammatoires par la fumée de cigarette dans le poumon de la souris. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 38 : 689-69
- **Yezza, S .,Bouchama, S .** (2014)Index des métabolites secondaires végétaux ,in mémoire