



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie de la Nutrition

Thème

Etude photochimique et propriété antioxydant des
composés phénoliques du *Citrus limon*

Présenté et soutenu par : BELILI ISMAHANE

LE : 18/09/2018

LAHMER SIHEM

Jury d'évaluation :

Président du jury : NOUDRIT

Rapporteur : MERGHEM. R

Examinatrice : MOUAS

MAA. Université des Frères Mentouri Constantine

PR. Université des Frères Mentouri Constantin

MAA. Université des Frères Mentouri Constantine

Année universitaire 2017- 2018

Remerciements

Qu'il nous soit permis de réunir ici dans une même pensée
reconnaissante

ALLAH.

Nos remerciements avant tout particulièrement au Monsieur le professeur **MERGHEM.R** qui a accepté de nous encadrer comme directeur de ce mémoire et nous a accueilli au sein du Laboratoire biochimie micromoléculaire et Phytochimie à l'université des frères Mentouri Constantine. C'est lui qui a géré et orienté nos travaux afin que nous puissions développer nos connaissances. Nous le remerciant pour sa disponibilité, pour ses conseils bienveillants et la grande attention qu'il a portée à notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur **NOUDRI,T** pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de juger ce travail de mémoire et de présider le jury.

Nos profonds remerciements vont aussi à Maitre-assistante **MOUAS** à l'université Frères Mentouri, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos meilleures salutations à tout le personnel administratif, technique.
Aussi, nous remercions tous mes collègues pour leur soutien moral,
Nos vifs remerciements vont à tous ceux qui ont collaboré à
l'achèvement de ce mémoire.

Dédicace

Avant tous je remercie le dieu qui m'a donné la volonté, le courage et la patience durant mes 5 ans d'études.

*Aux plus chers et aux plus précieux du monde: la lumière de ma vie,
ma mère et l'homme de ma vie, **mon père***

Tous les sacrifices que j'ai faits pour que je puisse terminer mes études. Je me suis inspiré du sens du devoir, de la responsabilité, de la dignité, de l'honneur et de l'humilité. Je n'aurais pas pu faire ce que vous avez fait pour moi, mais j'espère seulement que dans ce travail humble, vous trouverez une véritable raison de satisfaction. je t'aime très fort

*A mes chères sœurs **Hanane** et **Rokiya** et à mon amour fils :**Qusay Rinad El DIN** et la plus belle petite fille **Hassna Alaa El Rahman** et mon amour **Fatima Baraa** vous êtes toute ma vie, vous êtes mon soutien morale et source de joie et de bonheur je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements je vous aime*

*A mon fiancé et mon futur **Karim**, avec qui je continuerai mon chemin dans la vie avec plein de bonheur et de satisfaction, inchallah. Merci pour ta disponibilité toujours à ma coté et tous ce que tu as fait pour moi. Je t'aime.*

*A mes grands parents : **Fatima el Zahra** et **Bachir et Akila**, et mon oncle **Azzedine** que vos âmes dorent en paix vous resterez toujours dans ma mémoire, et grand père maternelle **Zoubir** je vous souhaite une longue vie pleine de santé.*

*, A toute la famille **Belili** et **Segouat** et mes proches.*

*A toutes mes chères amies : **Lolita ; Racha ; Siche***

**ISMAHAN
LAYAN**

Dédicaces

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ;
maman que j'adore.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères ADEL , HICHEM , SABER et surtout SOFIANE qui me donne l'encouragement durant toute la période de mon travail, et mes sœurs La Belle FADILA et RATIBA , WAHIBA Bien sur AMAL la source de mon bonheur.

Sans oublier Mon Amour et Mon Marie Mohamed qu'il était toujours à me côté



Lorsque t'es venu au monde c'était autour de toi
un véritable émerveillement et je me demandais
comment, et par quel miracle, par quel mystère, ce joli
poupon , ma fille , était là , un petit ange nouveau sur
cette terre . tu as grandi ... , et pour mes yeux ,tu
seras toujours la plus jolie ... , et pour mon cœur ,tu
seras toujours le bonheur de chaque instant je
t'aime ma fille MALAK BAYLASSEN.

Bien sur mes oncles maternels et mes oncles
paternels

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et
encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui
m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études
supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, et
frères de cœur, toi LISH, RADIA et KHADIDJA

SIHEM



Table des matières

INTRODUCTION.....01

PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Généralités sur les agrumes et sur l'espèce Citrus limon

I- Généralités sur les agrumes.....02
II -L'espèce Citrus limon.....02
 2.1-Généralités sur l'espèce Citrus limon.....02
 2.2-Classification botanique.....04
 2.3-Structure04
 2.4-Principales molécules du citron.....05
 2.4.1-Les flavonoides du genre Citrus limon.....06
 2.5-Utilisation et effets thérapeutiques des Citrus limon.....08
III-Zeste de citron (Citrus limon).....09
 3.1-Définition de zeste (flavédo).....09
 3.2-Les éléments nutritifs09
 3.3-les éléments thérapeutiques.....10
VI-Jus de citron.....11
 4.1-Définition11
 4.2-Bienfaits du jus de citron pour la santé.....11

CHAPITRE II : Composés phénoliques, structures et l'intérêt

I- Généralités sur les composés phénoliques.....12
II- Définition des composés phénoliques.12
III-La biosynthèse des polyphénols.....12
 3.1-La voie de shikimate.....12
 3.2-La voie de l'acetate /malonate.....13
VI- Classification des composés phénoliques.....13
 1-Les acides phénoliques14
 2-Flavonoïde.....15
 2.1-Flavanones.....16
 2.2-Flavonols.....16
 2.3-Flavone.....17
 2.4-Isoflavones.....17
 2.5-Flavan-3-ols.....18
 2.6-Anthocyanidine.....18
V-Activités biologique liées aux polyphénols de Citrus limon19
 5.1-Activité anti-inflammatoire.....19
 5.2-Activités vasodilatatrice.....19
 5.3-Activité anti allergique.....19
 5.4-Activité anti microbienne et anti virale.19
 5.5-Activité anticancéreuse.....19
 5.6-Tableau récapitulatif les principales activités des composés phénoliques.....20

Table des matières

CHAPITRE III : Le cancer et L'inflammation

I- Cancer	21
1. 1-Définition.....	21
2. 2-Traitements.....	21
2.2.1-Méthode classique.....	21
2.2.2- Phytothérapie.....	21
1.3-les composés phénoliques et cancer.....	21
II-L'inflammation.....	22
2.1-Définition.....	22
2.2-Intérêt des flavonoïdes contre les inflammations	22
III-Tableau récapitulatif des flavonoïdes identifiés dans le Citrus limon.....	23

PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE IV : Matériels et Méthodes

I. Matériel	24
1.1-La récolte	24
1.2-- Séchage et broyage.....	24
II- Méthodes d'analyses (d'études).....	24
I. <i>Etude quantitative</i>	24
1- Extraction solide liquide.....	24
1.1-Extraction par Macération.....	24
1.2- Extraction au soxhlet.....	25
2. Extraction liquide-liquide.....	25
3.-Dosages des composés phénoliques totaux.....	26
4- Dosages des flavonoïdes.....	27
II. <i>Etude qualitative</i>	28
1. Chromatographie sur couche mince.....	28
1.1. Chromatographie sur couche mince analytique.....	28
2. Spectrophotométrie UV-Visible	30
III. Activité Biologique : Activité Antioxydant.....	31

CHAPITRE V : Résultats et discussion

I. Etude quantitatif	32
1. Dosages des composés phénoliques totaux	32
2. Dosages des flavonoïdes.....	34
II. Etude qualitatif.....	36
1. Caractéristique chromatographique.....	36
1.1. Résultats de chromatographie analytique sur couche mince.....	36
2. Caractéristique spectrophotométriques	39
2.1. Analyse spectral de standards.....	39
2.2. Analyse spectral des phases.....	39
III. Activité Biologique : Activité Antioxydant.....	43
1. La courbe de calibration du DPPH•.....	43

Table des matières

2. Activité Antioxydant de l'acide gallique.....	43
3. Activité Antioxydant des phases.....	44
4. Le pourcentage de la réduction du (DPPH•) par les antioxydants.....	45
CONCLUSION GENERALES.....	46
REFERENCE	
RÉSUMÉ	

Liste des tableaux

Tableau 01 : principaux composés de citron

Tableau 02 : les éléments nutritif de zeste de citron

Tableau 03 : les éléments nutritifs de jus

Tableau 04 : Composés phénoliques et leurs activités

Tableau 05 : Récapulatif des flavonoïdes identifiés dans le *Citrus limon*

Tableau 06 : La gamme étalonnage d'acide gallique

Tableau 07 : La gamme étalonnage du quercétine

Tableau 08 : Relation entre la fluorescence sous UV et la structure des flavonoïdes.

Tableau 09 : Relation entre RF-structure flavoniques

Tableau 10 : Classement décroissant de teneur des composés phénoliques des phases.

Tableau 11 : Classement décroissant de teneur des flavonoïdes des phases.

Tableau 12 : Comportement chromatographique de la phase Ether diéthylique.

Tableau 13 : Comportement chromatographique de la phase Acétate d'éthyle.

Tableau 14 : Comportement chromatographique de la phase MEC.

Tableau 15 : Comportement chromatographique de la phase Aqueuse.

Tableau 16 : Comportement chromatographique des phases Ether diéthylique

Tableau 17 : Comportement chromatographique des phases Acétate d'éthyle.

Tableau 18 : Comportement chromatographique de la phase MEC.

Tableau 19 : Comportement chromatographique de la phase Aqueuse.

Liste des figures

- Figure 01** : Feuilles, fleurs et fruits de citron
Figure 02 : Coupe transversale de fruit d'un Citrus
Figure 03 : Structure des flavonoides présents dans le genre *Citrus*
Figure 04 : zeste de citron
Figure 05 : Structure du noyau phénol
Figure 06 : Les voies de biosynthèse des polyphénols
Figure 07 : classification des composés phénolique
- Figure 08** : Hydroxylation d'acide benzoïque.
- Figure 09** : Hydroxylation d'acide cinnamique.
- Figure 10** : Structure de base des flavonoïdes.
- Figure 11** : Structure chimique de flavanones
Figure 12 : Structures chimiques de flavonols.
Figure 13 : Structure chimique de flavones.
Figure 14 : Structure chimique d'isoflavones.
- Figure 15** : Structures chimiques de certains flavan-3-ols.
Figure 16 : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes
Figure 17 : les effets biologiques des polyphénols
Figure 18 : Le protocole classique d'extraction des compose phénoliques
Figure 19 : Principe réactionnel des flavonoïdes avec le réactif de Neu
- Figure 20** : Conjugaison du groupement carbonyle avec les cycles A et B
Figure 21 : La réduction du radical libre DPPH
Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique
Figure 23 : Le taux des compose phénoliques totaux d'extrait brut du zeste et jus de Citrus limon.
Figure 24 : Le taux des compose phénoliques totaux des phases
Figure 25 : Courbe d'étalonnage du Quercétine
Figure 26 : Le taux des Flavonoïdes d'extrait brut
Figure 27 : Le taux des Flavonoïdes des phases.
Figure 28 : Analyse spectrale UV-visibles de la quercétine
Figure 29 : Analyse spectrale UV-visibles de la rutine
Figure 30 : Analyse spectrale de la phase Ether diéthylique
Figure 31 : Analyse spectrale de la phase Acétate d'éthyle
Figure 32 : Analyse spectrale de la phase MEC
Figure 33 : Analyse spectral de la phase Aqueuse
Figure 34 : Structure spectroscopique de la flavone
Figure 35 : La courbe de calibration du DPPH•

Liste des figures

Figure 36 : La cinétique de la réduction du DPPH• par l'acide gallique

Figure 37 : La cinétique de la réduction du DPPH par zeste

Figure 38 : La cinétique de la réduction du DPPH par jus

Figure 39 : Le pourcentage du DPPH• réduit

Liste des abréviations utilisées

Abs : Absorbance

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

C₁₄H₁₆BNO : Le réactif du Neu ou 2-aminoéthyl diphényl borate

CCM : Chromatographie sur couche mince

DPPH• : 2,2'-Diphényl-1-Pycrylhydrazyl

EAG : Equivalent d'acide gallique

ERO : Espèce réactive de l'oxygène.

EtOH : Ethanol

MEC : (Butanone). Méthyle Ethyle Cétone

MeOH : Méthanol

Mg EAG/g : Milligramme Equivalant Acide gallique/ Gramme

Na₂CO₃ : Carbonates de Sodium

Q : Quercétine

R_f : Rapport frontal

UV : Ultra-violet

VIS : Visible



Introduction

Introduction

Introduction

Des molécules pro-oxydantes appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produit quotidiennement dans l'organisme. Ces dernières sont cependant contrôlées par les antioxydants. Un stress oxydatif survient lorsque l'équilibre est rompu en faveur des radicaux libres. Toute fois, une production excessive de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrer la balance oxydant/antioxydant (**Papazian et al, 2008 ; Christophe et al, 2011**). Ce dernier est à l'origine de plusieurs maladies, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer, le diabète.....etc (**Aruoma, 2003**). Pour échapper aux conséquences du stress oxydant, il est nécessaire de rétablir l'équilibre antioxydants/pro-oxydants par une consommation suffisante d'antioxydants (**Ghedira, 2005**).

Pour cela un grand nombre de recherches ont démontré que les polyphénols laisser disposent de plusieurs applications thérapeutiques, les études épidémiologiques prouvent que la consommation de citron et des produits à base de citron peuvent protéger la santé contre différentes maladies à cause de sa richesse en diverses molécules antioxydants dont l'acides ascorbique, et les polyphénols et les flavonoïdes (**Kim et al. 2002**).

La production mondiale d'agrumes est estimée à plus de 115 millions de tonnes, 517 milles tonnes ont été produits en Algérie qui occupe la 18eme Place mondiale (**FAO, 2013**). Grace à cette richesse, l'extraction des composés phénoliques à partir des 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 (**Ramful et al. 2010**).

Notre travail vise à démontrer la richesse du *Citrus limon* en polyphénols Pour cela notre étude englobe deux aspects :

- ✓ Le premier aspect est l'étude phytochimiques :
 - Extraction des composés phénoliques.
 - Caractérisation des polyphénols par spectrophotométrie UV-Visible et chromatographie sur couche mince sur plaque de polyamide DC6.
 - Dosage quantitatif par les méthodes appropriées.

- ✓ Le deuxième aspect basé sur l'évaluation de pouvoir antioxydant par le test DPPH.



PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE



Chapitre I:
Généralités sur les agrumes et sur
l'espèce Citrus limon

Chapitre 1 : Généralités sur les agrumes et sur l'espèce Citrus limon

I. Généralités sur les agrumes :

Les agrumes sont originaires du Sud-est Asiatique (Ollitrault et al, 2000). Ce sont des arbres de la famille des Rutacées composés de 145 espèces, selon que les auteurs ont ou n'ont pas pris en compte les hybrides (Swingle et Reece, 1967). La diffusion des agrumes à travers le monde s'est faite très lentement. Le bigaradier, le citronnier et l'oranger ont été introduits dans le bassin méditerranéen vers la moitié du XIIe siècle, et le mandarinier au XIXe siècle. L'introduction des agrumes en Afrique de l'Est a été faite par les commerçants arabes et hindous vers le XIVe siècle (Spiegel-Roy et Goldschmidt, 1996). L'expansion dans le sud de l'Europe au XVe siècle est le fait des portugais, qui les ont exportées d'Asie. Au moment de la conquête, l'orange traverse l'atlantique avec le Bigarade, la lime et le cédrat. Ces derniers ont été cultivés dans les Antilles, au Mexique et en Amérique du sud (Loussert, 1989).

Les études épidémiologiques suggèrent que les agrumes possèdent des effets bénéfiques contre de nombreuses maladies dégénératives comme maladies cardiovasculaires et certains cancers (Tripoli, Guardia, Giammanco, MAJO, & Giammanco, 2007).

Ces influences positives sur la sante humaine ont augmente de manière significative la consommation des agrumes au cours des dernières années.

- Classification des agrumes :

Le groupe des agrumes appartient à la famille des Rutacées, sous famille des Aurantioideae, tribu des Citreae et sous tribu des Citrinae (Praloran J.C, 1971). Les agrumes se repartissent en plusieurs genres dont *Poncirus*, *Fortunella* et *Citrus* sont les trois genres les plus cultivés a travers le Monde.

II. L'espèce Citrus limon :

2.1-Généralités sur l'espèce Citrus limon :

Citron (*Citrus limon*) appartenant à la famille des Rutacées, est parmi les plus importantes espèces d'agrumes après l'orange et la mandarine, très cultivée aujourd'hui dans les climats tropicaux et subtropicaux et même dans les régions tempérés du monde (Singh et al., 1994; Bousbia, 2011).

- **Le citronnier** est un arbuste vigoureux aux branches robustes et épineuses de petite taille de 2 à 4 m de hauteur, sensible aux gelées, d'une durée de vie d'environ 40 ans. Avec des feuilles grandes, très parfumées et coriaces. Leurs fleurs sont très agréablement odorantes, regroupées à l'aisselle des feuilles (Bousbia, 2011; Faucon, 2015).

- **Les principales espèces :**

Avec ses 145 espèces dénombrées, le genre *Citrus* est le plus important.

C'est au sein de ce genre que se rencontrent les principales espèces cultivées :

- _ Les oranges (*Citrus sinensis*) ;
- _ Les mandarines (*Citrus réticulata*) ;
- _ Les clémentines (*Citrus clémentina*) ;
- _ Les citronniers (*Citrus limon*) ;
- _ Les pamplemousses (*Citrus maxima*) ;
- _ Les Bigaradiers ou Orangers amers (*Citrus Aurantium L.*) ;

- **Les citrons** sont des fruits de forme ovale, pointus et mamelonnés à leur sommet, de 8 à 12cm de long. Leur écorce (zeste) épaisse de couleur verte vire au jaune à la maturité contenant une essence à odeur caractéristique. Sa pulpe est acide et les graines qu'il contient ont des cotylédons blancs. On pratique 2 récoltes par an : une en été pour les fruits, et l'autre en hiver pour le jus et l'huile essentielle (Goetz, 2014; Faucon, 2015).



Figure 01 : Feuilles, fleurs et fruits de citron

2.2- Classification botanique : Selon (Goetz, 2014)

<p>Règne : Plantae.</p> <p>Division : Magnoliophyta.</p> <p>Classe : Magnoliopsida.</p> <p>Ordre : Sapindales.</p> <p>Famille : Rutacées.</p> <p>Genre : Citrus.</p> <p>Espèce : Citrus limon (L.).</p>	
--	--

2.3-Structure :

Tous les fruits des Citrus cultivés ont presque la même structure, ils sont composés essentiellement de deux parties morphologiques : le péricarpe et l'endocarpe (pulpe) (**Figure 02**) (**Terol et al. 2010**).

- ✓ le péricarpe est nommé aussi l'écorce, il est composé du zeste (épicarpe ou flavédo), partie la plus externe de ce péricarpe, de couleur orangée ou jaune, contenant de nombreuses poches sécrétrices de type schizolysigènes, riche en huile essentielle (**Chavanne, 2011; Faucon, 2015**).

Un mésocarpe (ou albédo) de couleur blanche, de texture souvent cotonneuse ou spongieuse, de nature cellulosique, d'épaisseur variable, est la partie la plus intérieure du péricarpe (**Janati et al. 2012; Faucon, 2015**).

- ✓ La partie interne, l'endocarpe ou pulpe constituée de la pulpe, est divisée en segments (carpelle) où se concentre le jus (avec ou sans pépins selon les variétés) et ont une enveloppe radiale épaisse (ou endocarpe). Cette partie, riche en sucres solubles, renferme des quantités significatives de vitamine C, de pectine, de fibres, de différents acides organiques et de sel de potassium, qui donnent au fruit son acidité caractéristique (**Bousbia, 2011**).

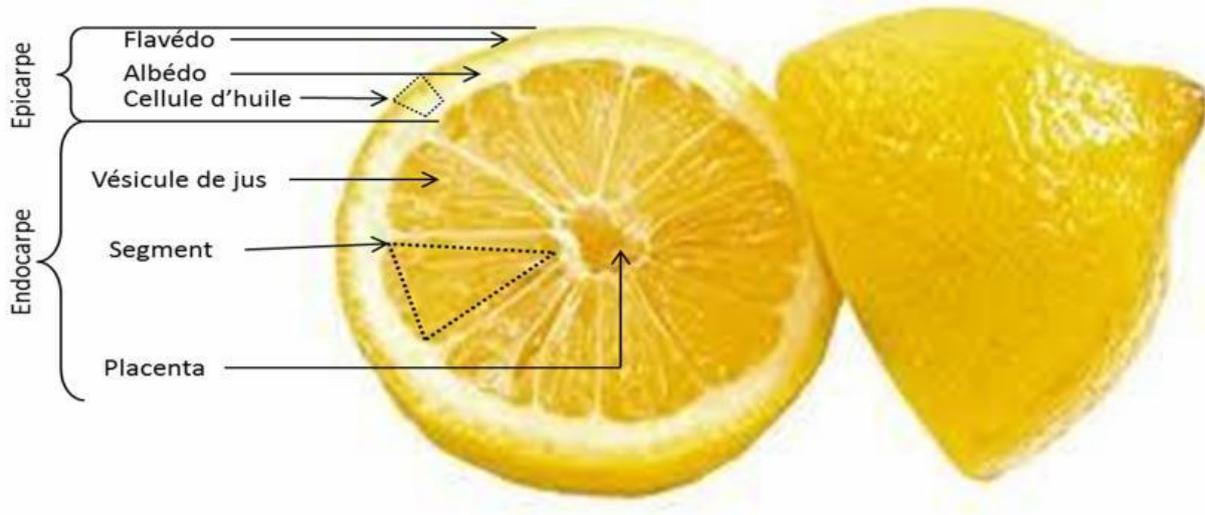


Figure 02 : Coupe transversale de fruit d'un Citrus (Duan et al. 2014).

2.4- principales molécules du citron :

Citrus limon contient de nombreux composants chimiques, y compris les composés phénoliques (tel que les flavonoïdes dont les flavanones sont les plus abondants 90%), et d'autres éléments nutritifs et non nutritifs (vitamines, minéraux, fibres alimentaires, huiles essentielles et caroténoïdes) (González-Molina et al. 2010; Chavanne, 2011).

Le citron est un fruit riche en vitamine C et d'un large éventail de vitamines de groupe B avec des quantités considérables de flavonoïdes. La teneur en glucides et en protéines est faible, il est riche en substances minérales (le potassium est le minéral le plus abondant). (Valnet, 2001).

Ces éléments jouent un rôle important dans les systèmes biologiques, sont essentiels pour la nutrition et largement utilisés dans le domaine de la médecine clinique. L'arôme de citron résulte de ces huiles essentielles abondantes dans les vacuoles de l'écorce, il s'agit d'un mélange de limonène, du citral, citronellal et des coumarines. L'acide citrique est l'acide organique le plus représenté dans le citron avec une quantité de 5–6 g/100 ml (González-Molina et al, 2010; Guimarães et al, 2010; Janati et al, 2012).

Composition chimique	valeur nutritive
Acide organique	6 g/100ml
Acide citrique	5g/100ml
Flavonoïde : flavanones	90%
Flavone	-
flavonol	-
Vitamine : vitamine C	80mg pour 100g
Vitamine B (B1, B2, B3, B6, B9)	Faible quantité
Vitamine A	0.05mg/100g
Protéine	1g/100g
Glucides	Faible quantité
lipide	0.3g
Substance minérales : Na (sodium)	-
K (potassium)	153mg/100g
Ca (calcium)	25mg/100g
Cu (cuivre)	-
Fe (fer)	0.5mg/100g
Mg (magnésium)	-
Zn (zinc)	-
P (phosphore).	-
Huile essentiel	-

Tableau 01 : Principaux composés de citron (Janati et al, 2012)

2.4.1-Les flavonoides du genre *Citrus limon* :

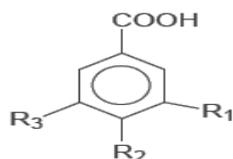
En 1998, Mouly et al, ont travaillé sur les flavanones glycosides et flavones polyméthoxylées présentes dans les diverses variétés d'orange et de citron. L'analyse qualitative et quantitative a été faite par HPLC-DAD (chromatographie liquide à haut pression-détecteur à barrettes de diodes) par comparaison des temps de rétention et des spectres UV réalisés à deux longueurs d'ondes (280 nm et 330 nm).

Celles-ci correspondent aux maxima d'absorption des flavanones glycosides d'une part et des flavones polyméthoxylées d'autre part. L'analyse met en évidence la présence de la **narirutine**, de l'**hespéridine**, et de la **didymine** pour les flavanones glycosides. La **sinensetine**, l'**hexaméthoxyflavone**, la **nobiletine**, la **scutelarine**, l'**heptaméthoxyflavone** et la **tangeretine** pour les flavones polyméthoxylées (**figure 03**). Les flavanones glycosides sont les molécules les plus abondantes avec un taux dix fois plus important que les flavones polyméthoxylées. **En 1998, Pupin et al**, ont étudié la composition des flavanones glycosides dans diverses variétés de citron, ils ont conclu que la narirutine et l'hespéridine sont les composés les plus abondants (l'hespéridine utiliser comme un médicament contre les maladies cardiovasculaire (daflon)).**en 2000, Swatsitang et al**, analysent les composés phénoliques dans le jus de citron et isolent les flavanones glycosides et les flavones polyméthoxylées. Les acides phénoliques les plus abondants sont l'acide caféique et l'acide gallique (**figure 03**). Les agrumes sont riches en flavonoides (**Belajova et Suhaj, 2004**).

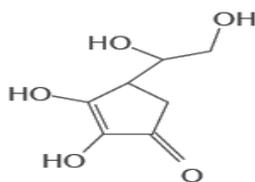
Chapitre I : Généralités sur les agrumes et sur l'espèce *Citrus limon*

Ils contiennent plus de 60 flavonoïdes répartis selon leur structure moléculaire en 4 classes : flavanones, flavonols, flavones et anthocyanes (**Benavente-Garcia et al., 1997**). En 2001, **Gorinstein et al.**, déterminent la composition en acides phénoliques de la peau de citron par fluorescence. Les composés identifiés par ordre décroissant sont l'acide caféique, l'acide p-coumarique, l'acide sinapique, l'acide férulique et l'acide ascorbique (**figure 03**). En 2004 **Belajova et Suhaj**, analysent par HPLC-DAD, les polyphénols dans le jus d'orange fraîchement presse. Ils en déduisent que l'hespéridine est le composé majoritaire. Les autres composés ont des teneurs plus faibles telles la quercétine, la néohesperidine et la naringine.

Acide benzoïque

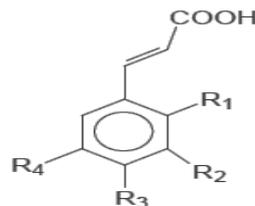


Acide gallique, $R_1=R_2=R_3=OH$



Acide ascorbique

Acide cinnamique

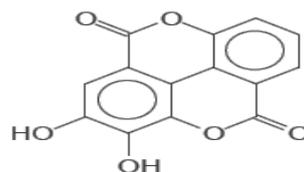


Acide férulique, $R_1=R_2=H$, $R_3=OH$, $R_4=OCH_3$

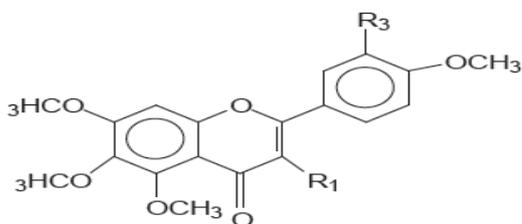
Acide-p-coumarique, $R_1=R_2=R_4=H$, $R_3=OH$

Acide caféique, $R_1=R_2=H$, $R_3=R_4=OH$

Acide sinapique, $R_1=H$, $R_2=R_4=OCH_3$, $R_3=OH$



Acide ellagique



Flavones polyméthoxylées :

sinensétine, $R_1=R_2=H$, $R_3=OCH_3$

hexaméthoxyflavone, $R_1=R_3=OCH_3$, $R_2=H$

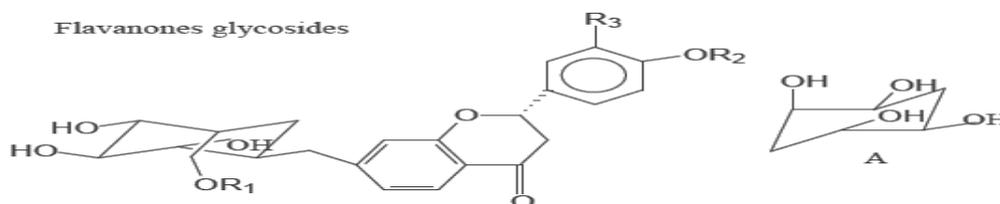
nobilétine, $R_1=H$, $R_2=R_3=OCH_3$

scutélarine, $R_1=R_2=R_3=H$

heptaméthoxyflavone, $R_1=R_2=R_3=OCH_3$

tangéretine, $R_1=R_3=OCH_3$, $R_2=H$

Flavanones glycosides



narirutine, $R=A$, $R_1=R_2=R_3=H$

naringine, $R=R_2=R_3=H$, $R_1=A$

hespéridine, $R=A$, $R_1=H$, $R_2=CH_3$, $R_3=OH$

didymine, $R=A$, $R_1=H$, $R_2=CH_3$, $R_3=H$

néohespéridine, $R=H$, $R_1=A$, $R_2=CH_3$, $R_3=OH$

Figure 03 : Structure des flavonoïdes présents dans le genre *Citrus*

2.5-Utilisation et effets thérapeutiques des *Citrus limon* :

De nombreuses études ont montré que les espèces du genre *Citrus* sont riches en principes actifs tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes, utilisés à des fins thérapeutiques ou dans les domaines cosmétiques ou alimentaires (**Shohaib et al, 2011**).

- Le citron a été utilisé contre l'insomnie, l'asthme et dissoudre des cristaux rénaux (**Okwu and Emenik, 2006**).
- Stimulation de l'appétit (zestes) (**Santo et al. 2011; Karimi et al, 2012**).
- Activité antimicrobienne, anti-oxydante (**Del-rio et al. 2004**)
- Abaissement de la pression artérielle, traiter l'obésité (**Ramful et al. 2011**).
- En cosmétologie, le citron est utilisé pour resserrer les pores, il passe pour éclaircir la peau, résorber les comédons et s'utilise en masque antirides ou pour donner de l'éclat aux cheveux. Il entre aussi dans la composition de nombreux parfums (**Bousbia, 2011**).
- De plus, le citron contient des flavonoïdes, en particulier des flavanones qui montrent des activités bénéfiques en tant qu'agents protecteurs contre le cancer et les maladies cardiovasculaires, inflammatoires et allergiques (**Gil-Izquierdo et al, 2004**).
- Le citron est utilisé par les femmes pendant la grossesse pour soulager les nausées et les vomissements (**Yavarí kia et al. 2014**).
- Usage culinaire: le citron pelé ou finement gratté donne sa propre saveur qui est très prisée en cuisine et en pâtisserie, le jus du citron permet de fabriquer des boissons rafraîchissantes

III. Zeste de citron (*Citrus limon*) :

3.1-Définition de zeste (flavédo) :

On appelle zeste la partie supérieure de la peau de citron, de couleur jaune ou orangée, contenant de nombreuses poches sécrétrices de type schizolysigènes, riche en huiles essentielles.



Figure04 : zeste de citron

3.2-Les éléments nutritifs dans le zeste de citron : pour un teneur de 100g

En 2012 réalisée par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses).

Les éléments nutritifs	Teneur pour 100 g
Vitamine C	129 mg
Vitamine E	0.2mg
Vitamine B1	0.1mg
Vitamine B2	0.1mg
Vitamine B3	0.4mg
Vitamine B5	0.3mg
Vitamine B6	0.2mg
Vitamine B9	12 µg
Calcium	171 mg
Phosphore	12 mg
Magnésium	150mg
Potassium	160 mg
Sodium	6 mg

Fer	0,9 mg
Cuivre	0,1 mg
Zinc	0,2 mg
Acides organiques	4,9 g
Protéine	1.5g
glucides	2.5g
lipide	0.3g
valeur énergétique	51 calories
Eau	82g

Tableau02 : les éléments nutritif de zeste de citron

3.3-Les éléments thérapeutiques de zeste :

- **Réduit le stress oxydatif avec bio flavonoïdes**
- **Aide à la lutte contre le cancer :**

Les citrons sont antimicrobiens et protègent les infections bactériennes et les champignons.

Lorsqu'ils sont consommés zestes de citron, il a été démontré pour prévenir divers types de cancer, y compris le cancer de la peau, le cancer du côlon et le cancer du sein. Une étude a révélé que manger zestes de citron dans le thé a été bénéfique pour prévenir le développement des cellules cancéreuses. Zeste de citron contient Q40 et le limonène, qui a été montré pour prévenir et traiter le cancer. Ces composants présents luttent contre les cellules cancéreuses dans le corps.

- **Alcalinisant :**

Les citrons sont également très alcalinisants. Le cancer se développe dans un corps acide, le zeste de citron profite à votre corps en fournissant l'alcalinité, cela aidera à prévenir le cancer.

IV. Jus de citron

4.1-Définition :

Le jus de citron est un produit liquide dont les propriétés physiques, chimiques et Sensorielles sont ressenties par simple pression du fruit, sans rajout de sucre ou d'additifs. Il est constitué à environ 76% de matière sèche hydrosoluble, contenant :

Vitamine C ; Protéines ; Glucides ; Lipide ; Calories, Potassium, Phosphore, Calcium, Magnésium. Le citron possède une haute teneur en vitamine C, de 52 mg par 100 g. Cette teneur en vitamine C reste égale pour un jus de citron fraîchement pressé

Les éléments nutritifs	Teneur pour 100 g
Vitamine C	52mg
Glucides	0.3g
Protéines	0.4g
lipide	0.1g
Sodium	1mg
Magnésium	6mg
Fer	0.1mg
Calcium	6mg
Potassium	103mg
calories	22

Tableau03:les éléments nutritifs de jus

4.2-Bienfaits du jus de citron pour la santé

- Contre les problèmes digestifs
- Contre les maladies cardiovasculaires
- Pour la perte de poids
- C'est un aliment détox
- Il est un diurétique
- Un puissant nettoyant



Chapitre II :
Composés phénoliques, structures et
l'intérêt

Chapitre 2 : Composés phénoliques, structures et l'intérêt

I. Généralité sur les composés phénoliques :

Comme la majorité des métabolites secondaires, les polyphénols et essentiellement les flavonoïdes sont synthétisés pour accomplir certaines fonctions lors du développement de la plante. En terme de fonction protectrice, ils défendent la plante contre les pathogènes tels que les moisissures, les champignons et les bactéries. Ils assurent sa protection contre le rayonnement ultraviolet. Certains d'entre eux sont des répulsifs qui inhibent la croissance d'autres espèces. Les polyphénols jouent un rôle structural comme la lignine constituant la rigidité du bois (**Buchanan et al. 2000**). Ils participent à la coloration des fleurs et des fruits à fin d'attirer les insectes pollinisateurs qui transportent les graines dans les fruits (**Buchanan et al. 2000**).

II. Définition des composés phénoliques

Dans la littérature il existe deux propositions pour définir les polyphénols. La première les définit comme étant une structure moléculaire qui porte plusieurs groupements phénoliques tandis que la deuxième indique la présence d'un groupement phénol poly hydroxylé. Ces polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par les végétaux pour se défendre contre les agressions environnementales (**Buchanan et al. 2000**). Les polyphénols sont un très vaste groupe de substances dont l'élément structural commun c'est la présence d'au moins : un noyau aromatique lié à un groupement hydroxyle (libre ou Engagé). (**Figure 05**).

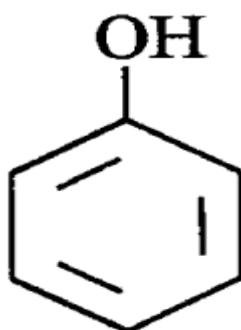


Figure 05 : Structure du noyau phénol

III. La biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de deux grandes voies d'élaboration de cycles aromatiques (**figure 06**) :

3.1- La voie de Shikimate

Egalement responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr.

3.2- La voie de l'Acétate/Malonate

Qui consiste à la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A. Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe et d'un tissu particulier.

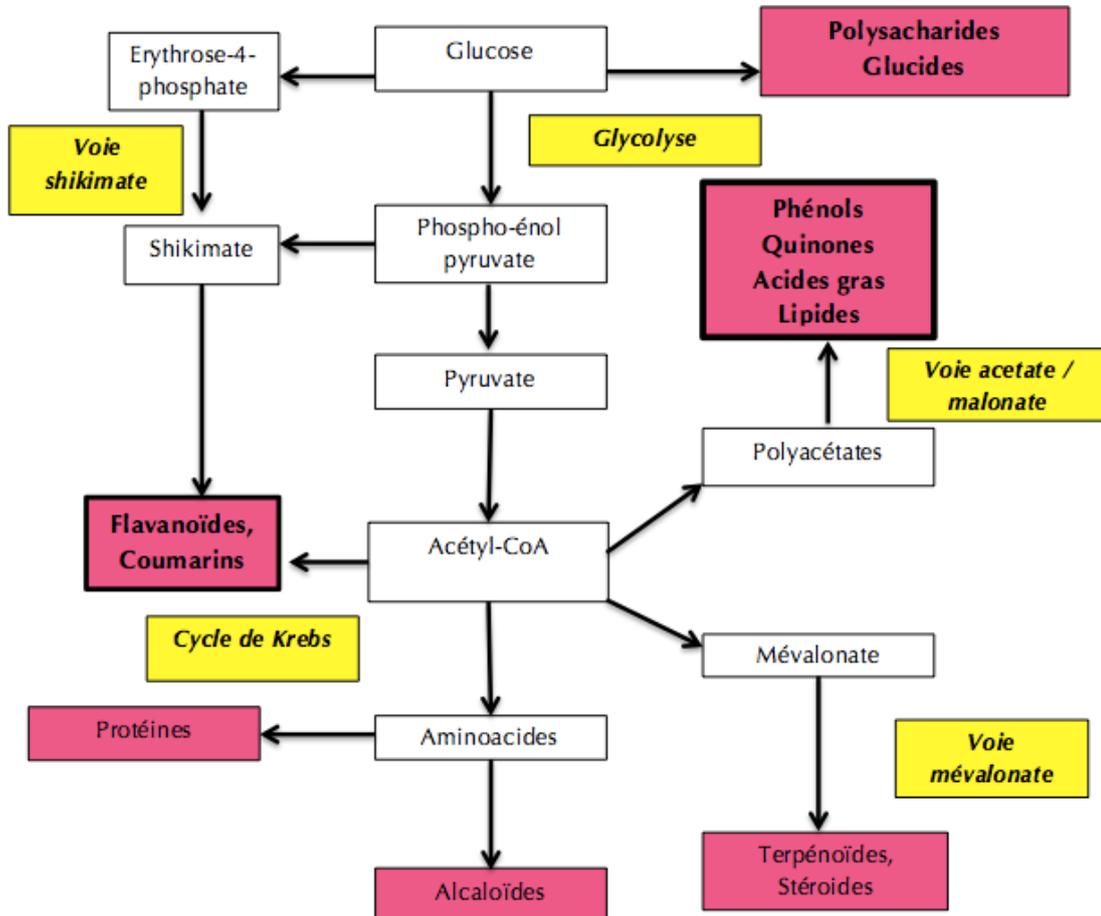


Figure 06 : Les voies de biosynthèse des polyphénols

IV. Classification des composés phénoliques :

Selon Corona (2011) les polyphénols peuvent être répartis en deux classes majeures : les flavonoïdes et les acides phénoliques, les stilbenes hydroxylés, les lignanes, les lignines (figures 07).

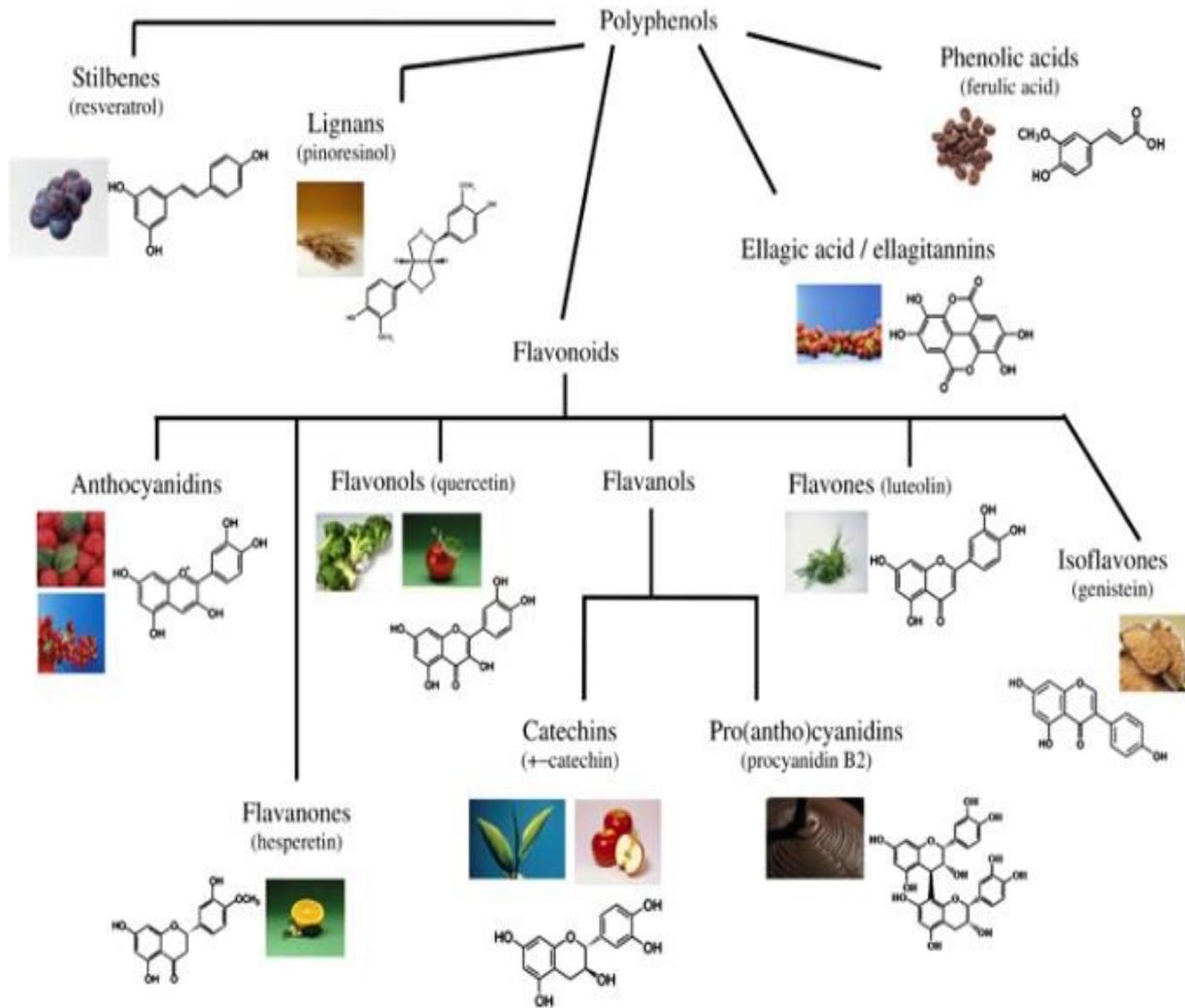


Figure07 : classification des composés phénolique

1- Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont rares dans la nature. Ces composés sont formés de deux catégories : la première catégorie contient les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque

Qui par mono hydroxylation et/ou poly hydroxylation forme des acides phénoliques et des acides polyphénoliques respectivement l'acide gallique et l'acide protocatéchique (**Figure 08**).

La deuxième catégorie regroupe les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique. De même avec l'acide cinnamique, l'hydroxylation conduit à l'acide p-coumarique et à l'acide caféique (**Figures 09**) (Haslam, 1994).

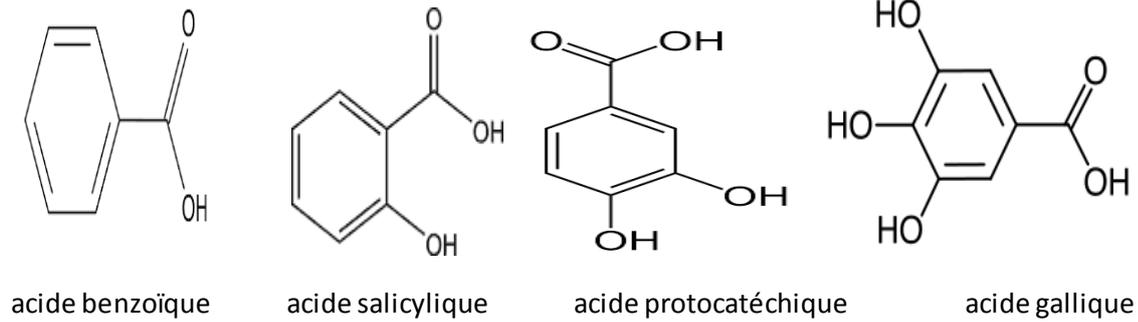


Figure08 : Hydroxylation d'acide benzoïque.

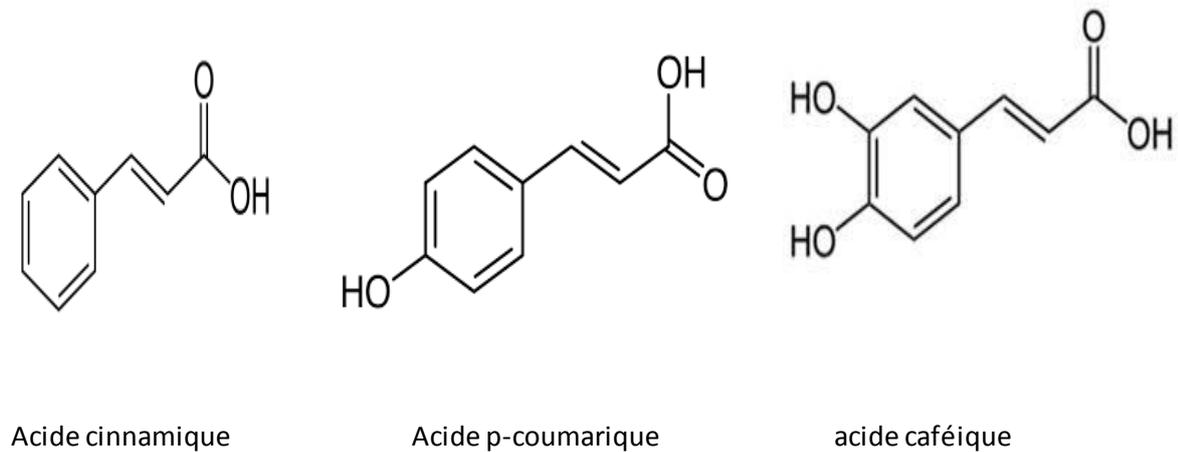


Figure 09 : Hydroxylation d'acide cinnamique.

2- Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la plus vaste classe de composés phénoliques. A présent Plus de 4000 composés ont été identifiés soit environ 50% des polyphénols. Ces composés ont Une structure de base formé de 2 noyaux benzéniques A et B reliés par un noyau C qui est un hétérocycle pyranique (Lobstein, 2010) (Figure10).

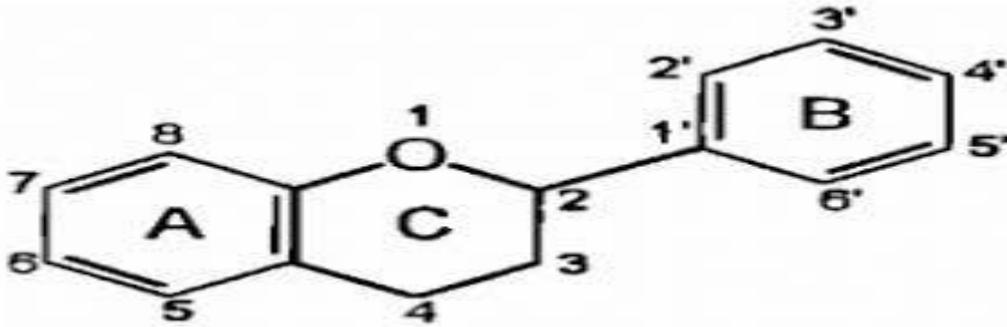


Figure 10 : Structure de base des flavonoïdes.

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes :

2.1-Flavanones

Les flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2 (Bruneton J. 2008).

Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones. Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'hespérite dans l'orange (Figure 11).

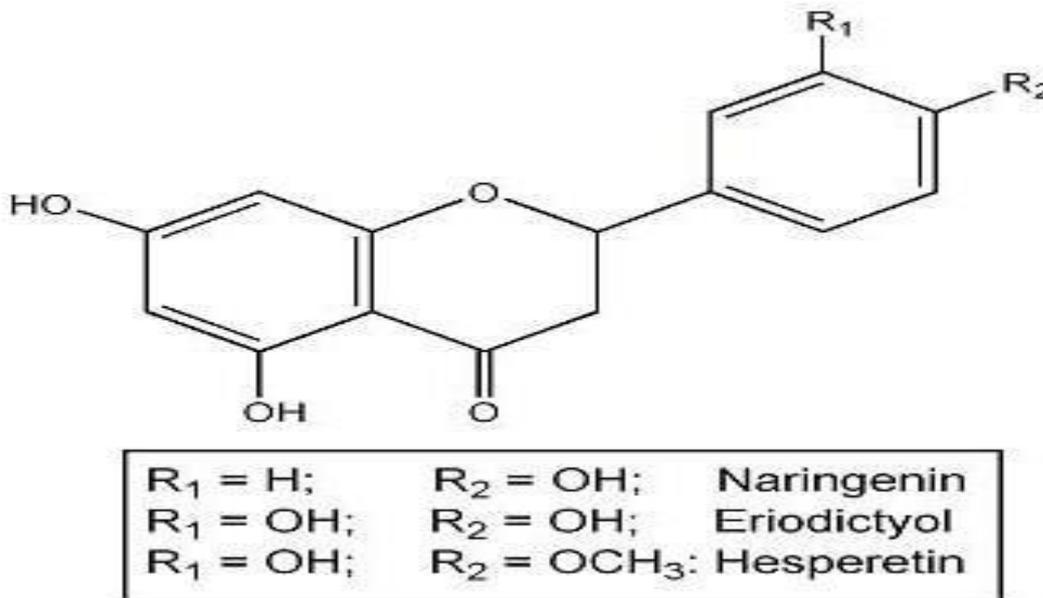
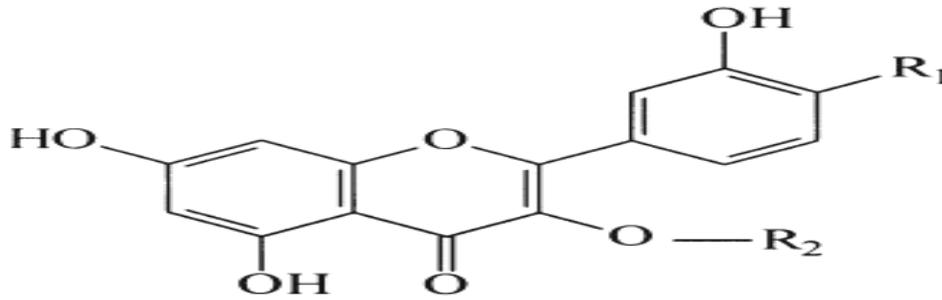


Figure 11 : Structure chimique de flavanones

2.2-Flavonols :

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3 (Figure 12). Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides (Crozier A. 2003).

Leurs principaux représentants sont la quercétine, le kaempférol et la rutine. Les sources les plus riches sont les oignons, le poireau, le chou et le thé contient. (Hertog M.G.L. et al, 2003)



Flavonol	R ₁	R ₂
Rutin	OH	Rutinoose
Quercitrin	OH	Rhamnose
Quercetin	OH	H
Kaempferol	H	H
Isorhamnetin	OCH ₃	H

Figure 12: Structures chimiques de flavonols.

2.3-Flavone :

Les flavones naturelles (**figure 13**) sont des pigments végétaux polyphénoliques, de couleur jaune plus ou moins accentuée, appartenant au vaste groupe phytochimiques des flavonoïdes ; existent à l'état libre (aglycones par exemple apigénine et lutéoline) ou le plus souvent sous forme d'hétérosides (*O*-hétérosides par exemple diosmine). Ils ont une seconde double liaison dans l'hétérocycle (**Heller *et al.* 1998**). Dans plus de 90%, le cycle A est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et C7 (**Bruneton, 1999**).

Les flavones sont présentes dans l'huile d'olive et le persil.

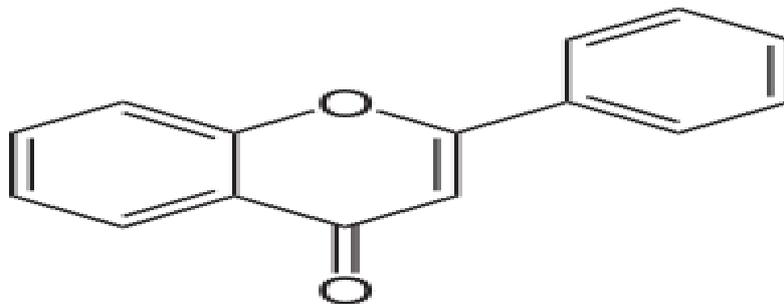


Figure 13 : Structure chimique de flavones

2.4-Isoflavones :

Les isoflavones (**Figure 14**) sont des substances présentes dans le soja et le trèfle violet. Elles sont notamment intéressantes pour l'action qu'elles exercent au niveau de la densité osseuse (notamment chez les femmes âgées ménopausées).

Ils dérivent des flavanones mais outre une oxydation centrale, il y a transposition du cycle latéral du C2 au C4 de l'hétérocycle (**Bruneton, 1999**).

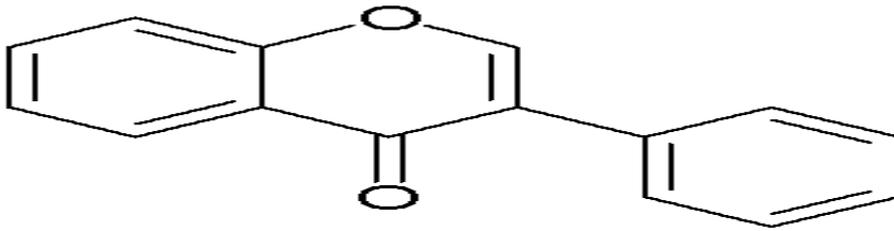


Figure 14: Structure chimique d'isoflavones

2.5-Flavan-3-ols :

Les flavan-3-ols ou dérivés de catéchine (**Figure 15**) sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés vont des simples monomères, (+)-catéchine et son isomère (-)- épi catéchine, jusqu'aux oligomères et polymères, les proanthocyanidines (**ChiraK. et al, 2008**). Les catéchines sont présentes dans le chocolat noir, le thé (thé noir de Chine) et dans les fruits comme l'abricot (**Arts I.C.W. 2000**).

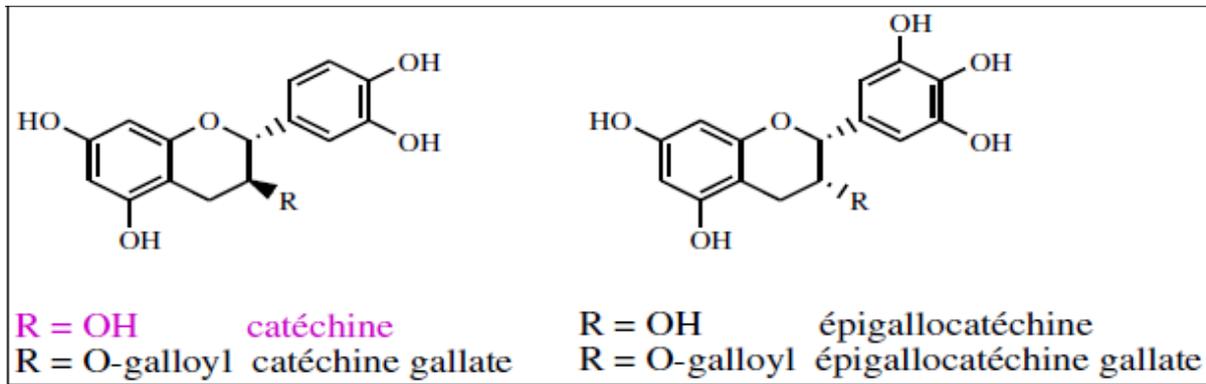


Figure 15 : Structures chimiques de certains flavan-3-ols. (ChiraK et al., 2008)

2.6-Anthocyanidines :

Ce sont des pigments, principalement sous formes de glycosides stables et hydrosolubles, rouges en milieu acide, virant au bleu violet en milieu neutre ou faiblement alcalin. Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (**Figure 16**).

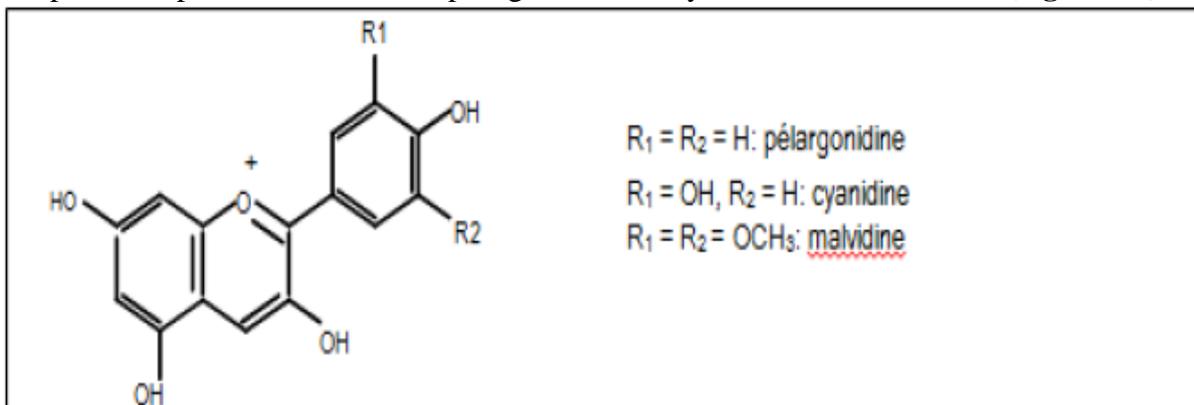


Figure 16: Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes (ChiraK ; et al, 2008)

V. Activités biologiques liées aux polyphénols de *Citrus limon* :

Les propriétés thérapeutiques de *Citrus limon* ont été toujours associées à leurs teneurs en vitamine C et ce n'est que récemment qu'a été montré que leurs polyphénols et principalement les flavonoïdes jouent un rôle très important à cet égard (**Del-Rio et al., 2004**).

Plusieurs études ont démontré que les flavonoïdes de *Citrus limon* possèdent des activités biologiques très importantes telles que l'activité antimicrobienne, anti-inflammatoire, antioxydant, anticancéreuse, action vasodilatatrice, action contre les maladies cardiovasculaire, antiproliférative. (**Del-Rio et al, 2004 ; Tripoli et al, 2007**), (figure 17).

5.1- Activité anti-inflammatoire

Plusieurs études ont démontré que les flavonoïdes des agrumes avaient des propriétés anti-inflammatoires. Ils sont capables d'inhiber les kinases et phosphodiesterases essentiels pour l'activation et la transduction du signal cellulaires. Ils ont également une incidence sur l'activation de certain nombre de cellules impliquées dans la réponse immunitaire, y compris les lymphocytes T et B (**Manthey et al, 2001**).

5.2- Activité vasodilatatrice

Par sa teneur en hespéridine, diosmine et d'autres flavonoïdes, ayant une action similaire à la vitamine P, le citron renforce la résistance capillaire et améliore la circulation veineuse (**Fuster, 1997**).

5.3- Activité antiallergique

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

5.4-Activité antimicrobienne et antiviral

Plusieurs études expérimentales ont montré que les flavonoïdes de *Citrus limon* ont une activité antimicrobienne très importante :

La quercétine et l' hespéridine inhibent l'infectiosité et la réplication de l'herpès, le poliovirus, le virus para influenza et le virus syncytial (**Tripoli et al, 2007**).

5.5- Activité anticancéreuse

Récemment, l'influence des flavonoïdes de citron sur le cancer a été mise à jour (**Gonzalez-Molina et al., 2010**), l'activité anticancéreuse des citroflavonoïdes peut se Produire par deux effets selon **Tripoli et al. (2007)**.

- **Effet antimutagène**: La naringénine et la rutine ont un effet photo-protecteur contre Les UV.

- **Effet antiprolifératif**: Les citroflavonoïdes sont démontrés qu'ils pouvaient ralentir la prolifération de plusieurs lignées de cellules cancéreuses et diminuer la croissance des métastases.

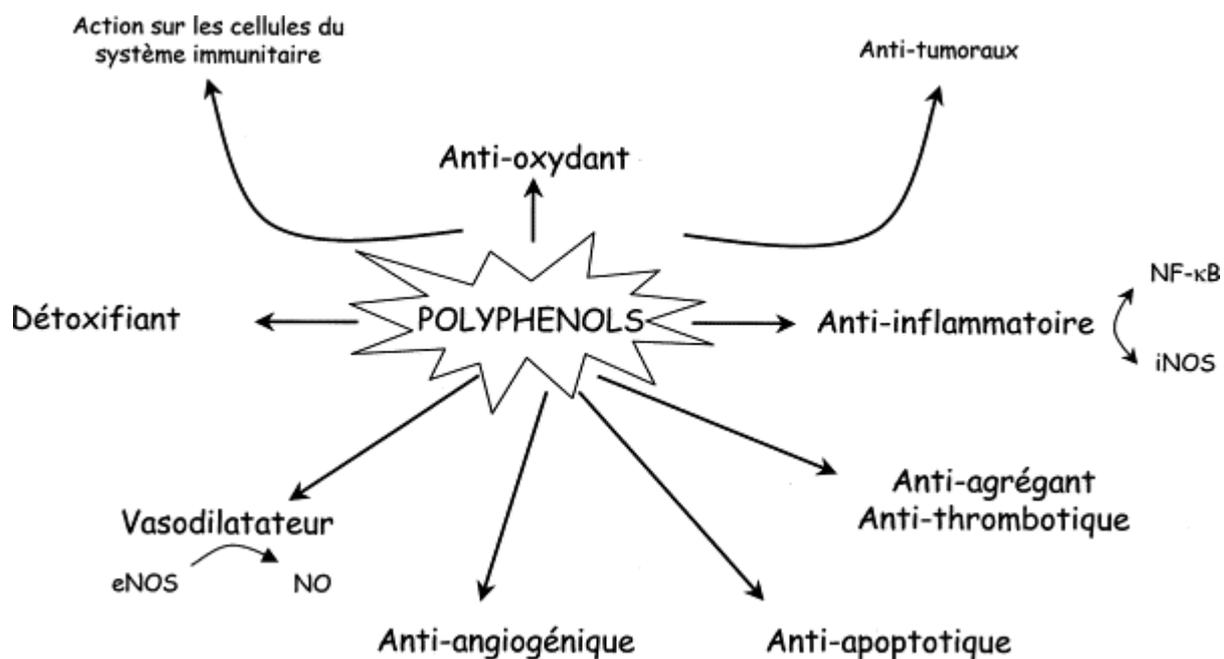


Figure 17 : les effets biologiques des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002).

5.6-Tableau suivant récapitulatif les principales activités des composés phénoliques :

Voici d'autres activités des composés phénoliques :

Classes de polyphénols	Activités	Références
Acide phénoliques	Anti carcinogènes - Anti mutagènes Anti oxydants	Ferguson ; 2001 Sarni-Manchado et Chenyier ; 2006
Flavonoïdes	Anti carcinogènes ; Anti mutagènes. Anti oxydants. Anti microbienne. Anti fongique.	Ferguson ; 2001 Alothane <i>et al</i> , 2009 Ulanowska <i>et al</i> , 2006 Ortuno <i>et al</i> , 2006
Anthocyanes	Anti oxydants	Sarni-Manchado et Chenyier ; 2006 Ferguson ; 2001
Tanins	Anti oxydants - Anti tumoral.	Mousavinejade <i>et al</i> , 2009
Flavonoïde(Catéchine)	Prévention de la mort par cardiopathie ischémique	Arts <i>et al</i> , 2001

Tableau 04 : Composés phénoliques et leurs activités.



Chapitre III :
Le cancer et l'inflammation

Chapitre 3 : Le cancer et l'inflammation

I. Le cancer

1.1- Définition :

Le cancer est une maladie multifactorielle qui correspond à une multiplication anarchique et incontrôlée de certaines cellules normales de l'organisme. Ces cellules échappent aux mécanismes normaux de différenciation, de régulation de leur multiplication et résistent à la mort cellulaire programmée. Pour qu'un cancer se développe, la cellule doit accumuler plusieurs mutations dans son génome (**Macdonald et al. 2003**).

Ces mutations sont le résultat d'agressions par des facteurs environnementaux, ou d'origine naturelle lors de la division cellulaire. Le cancer se développe à partir d'une seule cellule saine en un ensemble de cellules cancéreuses (**Macdonald et al, 2003; Mareel et Leroy, 2003**).

1.2- Traitement :

1-2.1- Traitement par méthodes classiques :

La Chirurgie, La Chimiothérapie, La Radiothérapie et l'immunothérapie (ces méthodes sont très lourdes et utilisées pour être la dernière chose après la maladie d'une personne).

1-2.2- Prétraitement Phytothérapie :

Elle est basée sur l'utilisation des propriétés pharmacologiques naturelles des molécules (les composés phénoliques) contenues dans les plantes. Certaines de ces propriétés sont également utilisées par la médecine occidentale, pour la confection de médicaments contrôlés (**Gonzalez-Molina et al, 2010**).

1.3-Les Composés phénoliques et Cancer :

Parmi les flavonoïdes les plus actifs sur les cellules tumorales, nous citons la quercétine et la catéchine qui sont très abondantes dans les aliments.

La quercétine prévient la cancérogénèse, surtout le cancer de la peau et du colon. La présence de 20% de quercétine dans l'alimentation chez les animaux diminue le cancer du colon et y prévient l'apparition des cryptes anormales. Le mécanisme suggéré est que la quercétine joue le rôle d'un antagoniste des topoisomérases 1 et 2 produites par les cellules tumorales.

La catéchine, quant à elle, est un inhibiteur de certaine réaction d'oxydation donnant un ADN anormal, elle inhibe surtout la formation du 8-hydroxydesoxyguanosine (8-OHdG).

Un marqueur des dommages oxydatifs de l'ADN. La catéchine a été démontré comme étant plus active que la vitamine E sur les radicaux libres. Elle est très abondante dans le thé sous forme d'épigallocatechingallate (EGCG) (**Pietta 2000, Tomofuji et al 2009**).

II. l'inflammation

2.1-Définition :

La réaction inflammatoire est la réponse physiologique des tissus vivants, vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique (Ndoye Foe et al, 2016). Son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore de régulations anormales du processus inflammatoire (Poubelle et Borgeat, 2000; Hellal, 2007).

L'inflammation se caractérise par des manifestations clé: la rougeur, la chaleur, l'enflure et la douleur. Elle est maintenant reconnue comme un type de réponse immunitaire non spécifique (Srdan V. Stankov, 2012).

2.2-Intérêt des flavonoides contre les inflammations :

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoides possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation atherosclerosique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires (Gonzalez-Gallegos et al, 2007)

D'autres flavonoides sont capables d'inhiber l'histamine (Kim et al, 2004). Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercetine, kaempférol, myrecetine ont une activité inhibitrice de COX (Cyclooxygenase) (Tapas et al, 2008).

Les mastocytes sont des cellules qui participent aux réactions allergiques et a l'inflammation en sécrétant des médiateurs inflammatoires comme l'histamine et des cytokines pro-inflammatoires .L'action pharmacologique des flavonoides suggère qu'ils pourraient présenter un intérêt dans le traitement des désodres allergiques en sous-régulant ces mastocytes.

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

III. Tableau récapitulatif des flavonoïdes identifiés dans le *Citrus limon* :

Les flavanones, les flavones et les flavonols sont les trois principaux types de flavonoïdes de *Citrus limon* (Ghasemi et al. 2009).

classe	Flavonoïde		références
flavones	l'apigénine, la lutéoline, la diosmetine et la diosmine		(Del-Rio et al ., 2004).
flavanones	formes glycosides	formes aglycones	(Gonzalez-Molina et al., 2010 ; Peterson et al., 2006)
	1-les neohesperidosides (naringine, néo hespéridine, neoeriocitrine) 2-les rutinosides (hespéridine, narirutine et eriocitrine)	l'ériodictyol L'hespéridine la naringénine	
flavonols	le kaempférol, la myrecetine, la quercetine et la rutine		(Calomme et al., 1996).

0

Tableau 05 : Récapitulatif des flavonoïdes identifiés dans le *Citrus limon*



PARTIE II : ETUDE EXPERIMENTALE



Chapitre VI :
Matériel et méthode

- Notre travail a été réalisé au laboratoire de Biochimie Micromoléculaire et Phytochimie à l'université des frères Mentouri Constantine

Matériel et méthodes

I. Matériel

1.1- Récolte

Notre étude a été réalisée sur les fruits de Citrus limon appelés localement citronnier, que nous avons récolté durant le mois de mars 2018 au niveau d'une propriété privée sise à sidi mabrouk wilaya de Constantine au Est de l'Algérie

Les échantillons de fruits prélevés à partir d'un citronnier sain, bien développé et ne présentant aucune lésion, ont subi une série de traitements en vue de réaliser l'extraction et le dosage des différentes classes de polyphénols et flavonoïdes ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydant.

1.2- Séchage et broyage

Les fruits de Citrus limon sont lavés et débarrassés de la poussière et d'autres particules, puis mis à l'étuve à 70°C pour sécher, le séchage complet est confirmé par la stabilisation du poids de l'échantillon 60g.

Après le séchage, les échantillons sont broyés à l'aide d'un broyeur mantaque afin d'avoir Une poudre fine.

II -méthodes d'analyses (d'études) :

I. Etude quantitative

1- Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est une technique d'extraction par solvant qui consiste à extraire une espèce chimique se trouvant dans un solide pour la transférer dans un solvant choisi, dans notre étude l'opération a été effectuée comme suivant :

1.1- Extraction par Macération

La macération est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante.

➤ Méthode :

30 g d'échantillon finement broyés (La poudre du matériel végétal) ont été ajouté à 1 l du solvant hydro alcoolique (70/30 éthanol/eau) pendant 72h à l'air libre avec renouvellement du solvant chaque 24h.

L'extrait est récupéré dans un récipient Puis, évaporé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif équipé d'une pompe à vide pour éliminer le maximum de solvant et de concentrer l'extrait(Laisser évaporer l'extrait jusqu'à ce qu'il atteigne environ 150 ml).

Pour le jus : en va faire l'évaporation (500ml de jus évaporé) jusqu'à 150ml a peut pré, et en continue avec l'eau distillée jusqu'à 200ml pour réaliser l'affrontement.

1.2- Extraction au soxhlet

L'extracteur soxhlet est un ingénieux dispositif en verre permettant l'extraction par solvant continue des espèces chimiques contenues dans une poudre solide. Il est principalement utilisé dans la préparation d'échantillons avant analyse. Cet appareil porte le nom de son inventeur : **Franz Von Soxhlet**.

➤ Méthode :

Dans des cartouche propres et sèches, verser un gramme du poudre végétal de zeste de citron et 5ml de jus de citron, et les placer dans le corps en verre de l'appareil de Soxhlet, le solvant d'extraction qui a un volume de 500 ml d'éthanol, est introduit dans un ballon porté à ébullition, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer la poudre végétal et le jus au bout du 1h 30 min, le solvant condensé s'accumule dans le corps en verre ; jusqu'à atteindre le sommet de tube siphon ; qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon accompagné des substances extraites.

Le solvant continue de s'évaporer, alors que les substances extraites restent dans le ballon (leurs températures d'ébullition doivent être nettement supérieures à celle de l'éthanol).

L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus rien du solide.

Le contenu du ballon (solvant chargé d'extrait) est récupéré puis évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif pour éliminer le solvant. Le résidu sec est repris dans 6 ml de méthanol dans un tube à essais.

2- Extraction liquide – liquide

La phase limpide de la macération subit un lavage par

- ❖ **l'éther du pétrole** : Pour éliminer tous les composés non phénoliques, comme les lipides et caroténoïdes et les pigments chlorophylliens.

Afin de séparer les composés phénoliques en fractions (**Merghem, 2009**) aglycones, mono glycosides et di-tri-glycosides, l'extrait brut est successivement mélangé avec les solvants suivants

- ❖ **l'éther diéthylique**: est un solvant préférentiel des composés simples tels que les acides phénols et les flavonoïdes.
- ❖ **L'acétate d'éthyle** : pour entraîner les flavonoïdes aglycones mais surtout les mono glycosides et partiellement les di-o-glycosides.
- ❖ **Le méthyle-éthyle-cétone (butanone)** : pour le reste des di-o-glycosides, les tri-o-glycosides et les c-glycosides.

➤ Méthode :

Les différents affrontements sont faits dans l'ampoule à décanter. L'extrait brut et le solvant (v/v) sont mélangés énergétiquement en laissant sortir à chaque fois les gaz produits. Après quelle que minute, on récupère séparément la phase eau et le solvant utilisé chargé de ses composés spécifiques, on fait ces démarches d'abord avec **l'éther diéthylique**, la séparation des deux phases nous permet d'obtenir une phase organique qui s'évapore à l'air libre et une phase aqueuse qui subit à son tour une nouvelle extraction avec **l'acétate d'éthyle**. La phase aqueuse restante se mélange avec le **méthyle-éthyle-cétone** comme le dernier solvant, ces trois dernière phases récoltées sont concentrées par évaporation à basse pression à 70°C (**Merghem, 2009**). La récupération est de 10 ml de méthanol par phase dans un tube à essai.

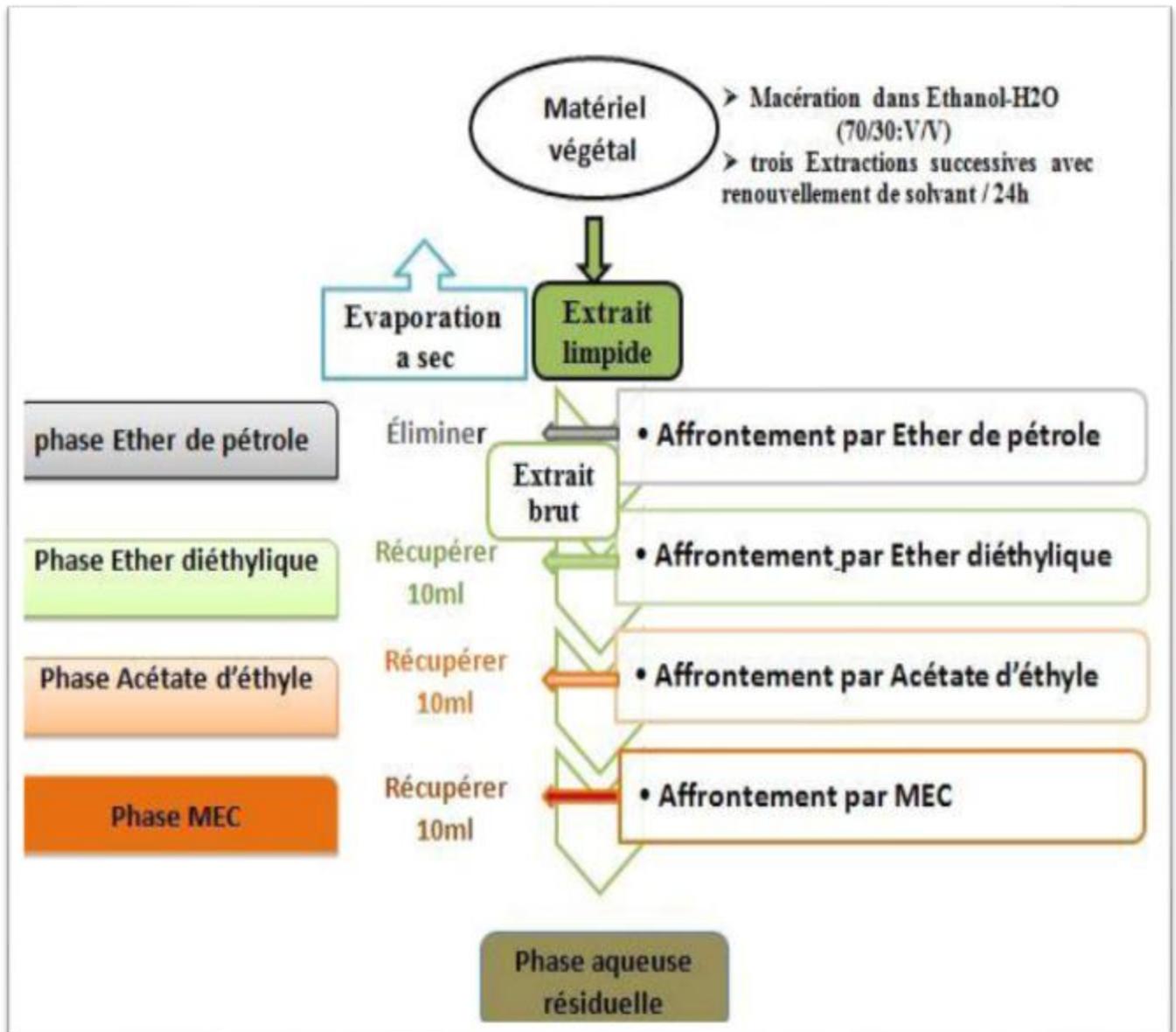


Figure 18: Le protocole classique d'extraction des composés phénoliques (Merghem, 2009).

3- Dosages des composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (N. Boizot et J-P. Charpentier 2006). Ce réactif est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (Ribereau, 1968). La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ghazi et Sahraoui, 2005).

➤ Méthode :

- **Préparation de la solution mère de l'acide gallique** : Mettre 0,03 g d'acide gallique en poudre dans 100 ml de l'eau distillée. Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'une solution mère d'acide gallique de différentes concentrations (0-0,3 mg/ml). Le dosage a été fait selon cette gamme (tableau 06)

Chapitre VI : Matériel et méthode

Concentration (mg/ml)	0	0.02	0.09	0.15	0.21	0.27	0.3
Volume prélevé de la solution mère de l'acide gallique (ml)	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1
Volume d'eau distillée (ml)	1	0.9	0.7	0.5	0.3	0.1	0

Tableau 06: La gamme étalonnage d'acide gallique.

- Dans 7 tubes à essais :

- 1ml de chaque solution de la gamme étalon préparée.
- 5 ml du réactif Folin Ciocalteu (dilué 10 fois dans l'eau distillée).
- Après 10 min.
- 4 ml Carbonates de Sodium (Na_2CO_3) à 20 %.
- Incubation de 30 min à une température ambiante dans l'obscurité.
- L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 760 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible (UV 1601, SHIMADZU).

- Même méthode avec 1 ml de chaque extrait.

4- Dosage des Flavonoïdes :

La détermination des flavonoïdes a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) (Bahorun *et al*, 1996), elle est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits. L' AlCl_3 forme un complexe jaune avec les flavonoïdes, absorbe dans le visible à 430 nm.

➤ **Méthode :**

- Préparation de la solution mère du quercétine : Mettre 0,006g du quercétine en poudre dans 50 ml de l'eau distillée. Le dosage a été effectué selon, une gamme d'étalonnage qui a été préparée à partir d'une solution mère du quercétine de différentes concentrations (0-0,12 mg/ml) (tableau 07).

Tableau 07: La gamme étalonnage du quercétine

Concentration (mg/ml)	0	0.012	0.036	0.06	0.084	0.108	0.12
Volume prélevé de la solution mère du quercétine (ml)	0	0.1	0.3	0.5	0.7	0.9	1
Volume d'eau distillée (ml)	1	0.9	0.7	0.5	0.3	0.1	0

- Dans 7 tubes à essais :

- 1 ml de chaque solution de la gamme étalon préparée.
- 1 ml d' AlCl_3 à 1 % (m/v).
- Agiter puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 10 min.
- L'absorbance est mesurée à 430 nm en utilisant un spectrophotomètre UV (UV 1601, SHIMADZU).

-Même méthode avec 1 ml de chaque extrait.

II. Etude qualitative

1- Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur Couche Mince (CCM) est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de l'identification des métabolites.

Elle permet d'avoir une idée globale des métabolites présents dans un extrait ou une fraction, un contrôle aisé et rapide de la pureté d'un composé lorsque les conditions opératoires sont bien déterminées.

➤ Méthode :

A- Préparation de la phase stationnaire : elle est constituée d'un gel de polyamide préparé dans l'éthanol (11 g de gel de polyamide en poudre + 60 ml d'éthanol) et étalé sur une plaque en verre (20×20 cm) à l'aide d'un étaleur. Après 48h la phase stationnaire sera prête à utiliser.

B- Préparation de la phase mobile ou l'éluant : c'est un système de solvant (mélange de solvants organiques), en utilise :

- méthanol/toluène/éthanol : 40/30/30.
- Toluène/méthanol/MEC/éther de pétrole : 40/25/25/10.
✚ le système qui montre une bonne séparation est le suivant
- Toluène / MEC / éthanol / éther de pétrole : 40 / 30 / 30 / 20

C- Le dépôt :

D- Développement :

E- Révélation et identification : L'identification des substances isolées se fait :

E.1-A l'œil nu ou sous UV :

Les composés colorés visualisés : Soit à l'œil nu. Soit sous une lampe UV (365nm) (dans une chambre noire).

E.2-Avec le réactif du Neu (C₁₄H₁₆BNO) ou 2-aminoéthyl diphenyle borate : Les composés non colorés, on ne peut pas les voir directement, on doit les révéler à l'aide d'un révélateur (réactif du Neu). Cette révélation consiste à vaporiser et pulvériser le réactif du Neu sur la plaque (Grünz G *et al.* 2010). Les spots flavoniques sont caractérisés par leurs fluorescences et leurs facteurs de rétention (Figure 19).

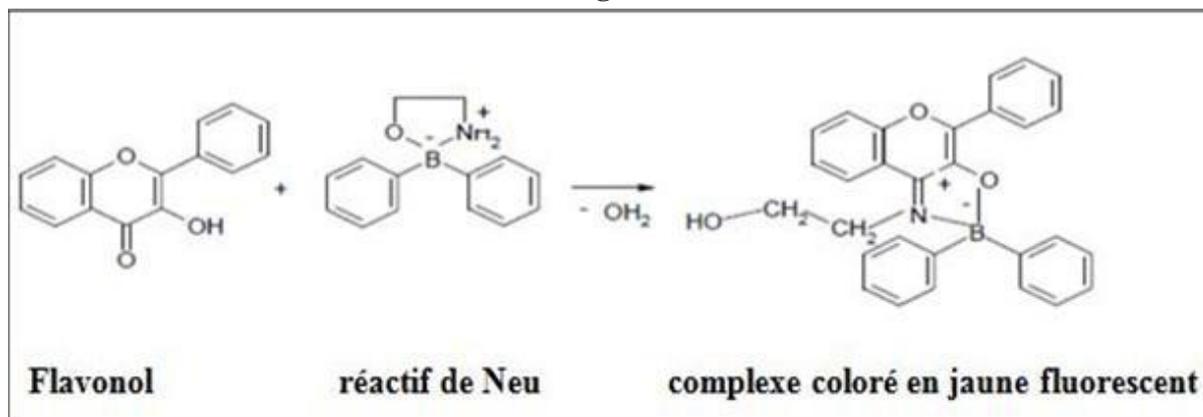


Figure 19 : Principe réactionnel des flavonoïdes avec le réactif de Neu

Chapitre VI : Matériel et méthode

E.3-Relation fluorescence-structure :

Spot coloré	Types de flavonoïdes
Noir, Marron	Flavonols 5, 6, 7 tris-OH libres Flavonols 5, 7, 8 tris-OH libres
Brun- noir	3- OH absent ou 3-OH substitué
Violet	Flavones 5 -OH et 4'-OH Flavones 3- OR et 5 -OH, 4'-OH Flavones ou Flavonols 5 -OH avec 4'-OH absent ou substitué en 3. Flavones 6 -ou 8 -OH Chalcones, isoflavones, dihydroflavonols, flavanones
Bleu- clair (fluorescent)	Flavones sans 5 -OH libres. Flavones sans 5 -OH libres avec 3 -OH substitué
Jaune terne, jaune, fluorescence orangé	Flavonols 3- OH libres avec ou sans 5 -OH substitué.
Jaune vert brillant	Flavonols 3- OH libres avec ou sans 5 -OH substitué.
Jaune Fluorescent	Flavonols avec 3- OH libre
Jaune pâle	Dihydroflavonols
Rouge	Anthocyanidine 3 glucoside
Rose	Anthocyanidine 3,5 di glucoside

Tableau 08: Relation entre la fluorescence sous UV et la structure des flavonoïdes. (Markham, 1982, Lahouel, 2005).

E.4-Relation RF-structure :

Chaque constituant migre à certaine hauteur, caractéristique de la substance, que l'on appelle **rapport frontal** ou **rétenion frontale** (Rf) :

$$RF = \frac{\text{Distance [ligne de dépôt-tache]}}{\text{Distance [ligne de dépôt-front de solvant]}}$$

Ce rapport frontal peut donner des informations sur la structure des composés flavoniques séparés (Bandyukova et Shinkarenko, 1973 ; Yaou, 2001) (tableau 09).

Structure flavoniques	RF
Augmentation des OH	Diminution du RF dans un solvant lipophile
Glycosylation	RF augmente dans un solvant aqueux RF diminue dans un solvant alcoolique
Hydroxyles méthyles	RF augmente dans un solvant alcoolique
Méthylation d'un OH en C5	RF diminue dans un solvant alcoolique
Hétéroside des flavones avec 3-OH libre	RF nul dans l'eau

Tableau 09 : Relation entre RF-structure flavoniques (Akroum S., 2011)

2- Spectrophotométrie UV-Visible

C'est la méthode la plus importante pour l'identification des structures flavoniques. Elle est basée essentiellement sur l'enregistrement d'un spectre dans un milieu alcoolique (méthanol ou éthanol) qui sera caractérisé par deux bandes d'absorption principales, la bande I et la bande II.

Ces deux bandes représentent les absorptions dans le proche UV, des chromophores composant le squelette flavoniques.

❖ **La bande I** : présentant un maximum d'absorption entre 300 et 400 nm, est attribuée à l'absorption du système cinnamoyle qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison (C2-C3) et le noyau B, elle donne donc, des renseignements sur les variations structurales du cycle B et l'hétérocycle C.

❖ **La bande II** : présentant un maximum d'absorption entre 240 et 280 nm, est attribuée à l'absorption du système benzoylé qui dérive de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A et donne des informations sur les variations structurales du cycle A (Markham, 1982) (figure 25).

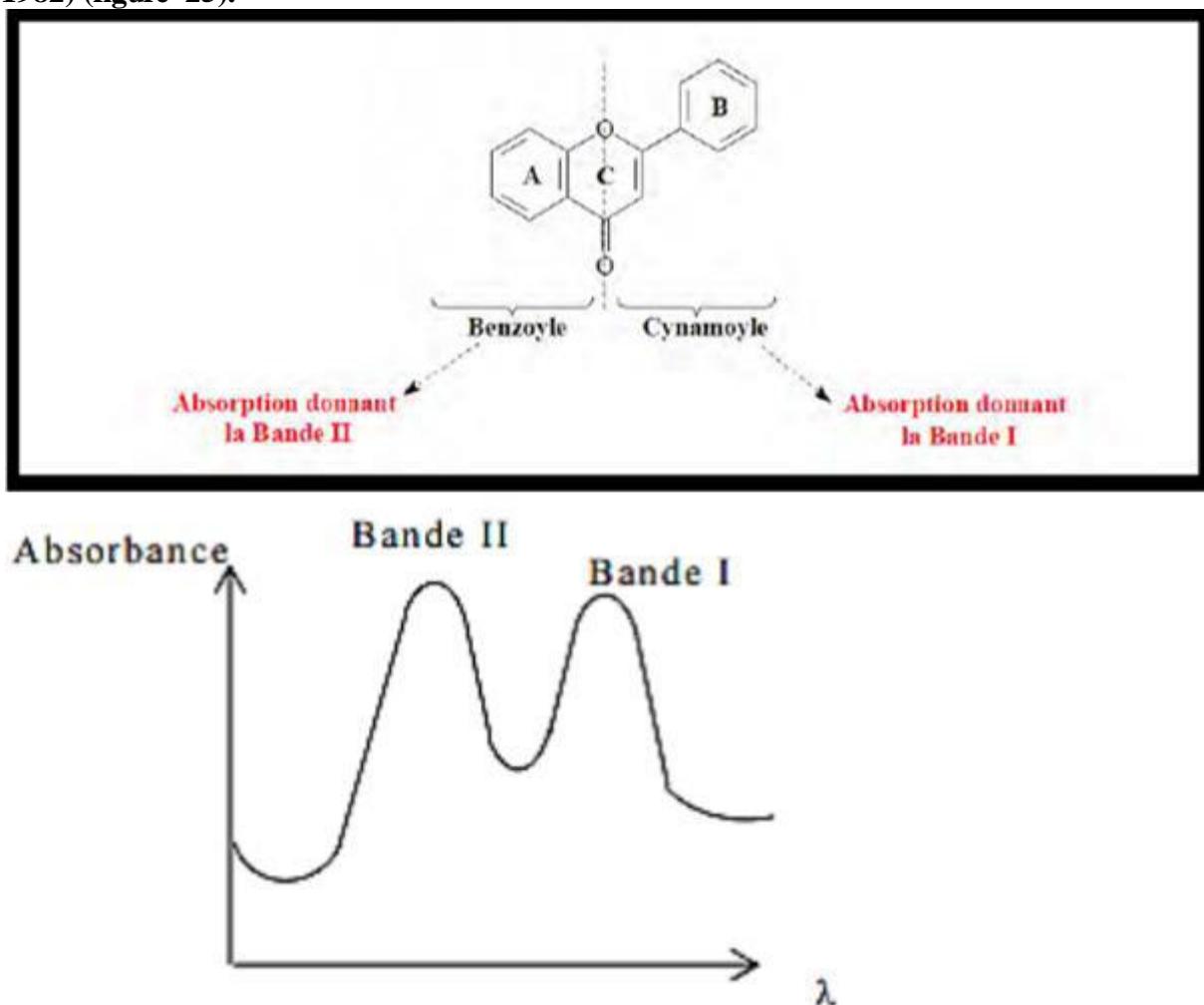


Figure 20: Conjugaison du groupement carbonyle avec les cycles A et B.

❖ **Analyse spectroscopique des phases dans le méthanol :**

L'analyse des phases (Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse) de zeste et de jus de citron, se fait par le spectrophotomètre (UV 1601, SHIMADZU).

On utilise la quercétine et la rutine comme standard.

III. Activité biologique : Activité Antioxydant

Le DPPH• (2,2'-Diphényle-1-Picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violette intense. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH• (2,2'-Diphényle-1-picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en DPPHH (2,2'-Diphényle-1-picryl-hydrazine de couleur jaune (Maataoui *et al*, 2006) (Figure 21). Le DPPH• possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Lorsqu'il est mélangé avec une substance qui peut donner un hydrogène, alors cette réaction

Donne lieu à la forme réduite DPPHH avec perte de la couleur violette et l'apparition d'une couleur jaune pâle. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration violette par spectrophotométrie à 515-518 nm ; mais dans notre travail en mesurant la diminution visuellement

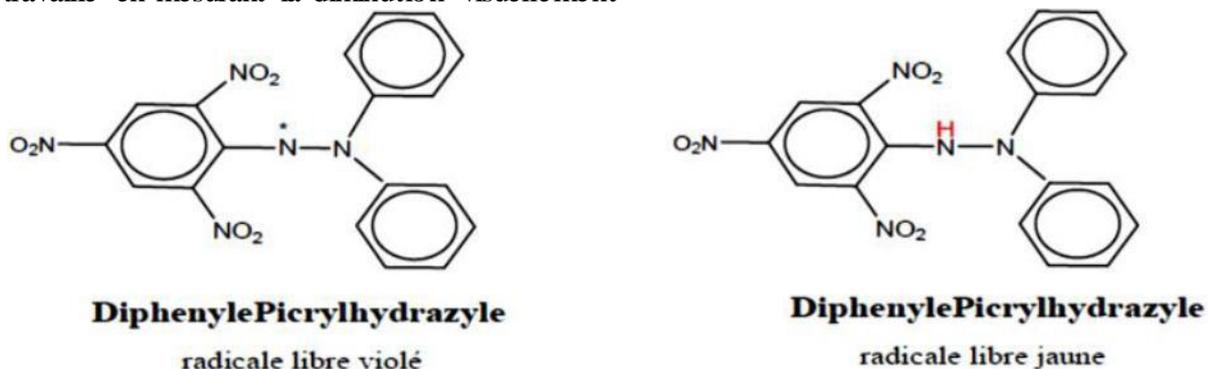


Figure 21 : La réduction du radical libre DPPH (Molyneux, 2004)

➤ Méthode

Une solution de DPPH• (0,00625 g dans 100 ml de méthanol 90%, soit 0,0625 mg/ml) est préparée au moins 1 à 2 heures à l'avance car la solubilisation est difficile et elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à -5°C et à l'obscurité.

- Mélanger 0.1 ml de chaque extrait à tester avec 3,9ml de la solution du DPPH• avec agitation vigoureuse pendant 10 secondes.
- Incuber le contenu dans la cavité du spectrophotomètre pendant le temps nécessaire pour atteindre le plateau avec ce type d'échantillon.
- A l'aide d'un spectrophotomètre (UV 1601, SHIMADZU), lire les absorbances à 515 nm sur des intervalles de temps réguliers (0, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30 min)
- Dans notre travail, nous avons estimé le pouvoir antioxydant (Test DPPH) visuellement, et à l'aide d'un chronomètre.

Le témoin choisi est : **acide gallique**.



Chapitre V :
Résultats et Discussions

Chapitre 05 : Résultats et Discussions.

I- Etude quantitative

1- Dosages des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques totaux a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu.

L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage (figure 22)

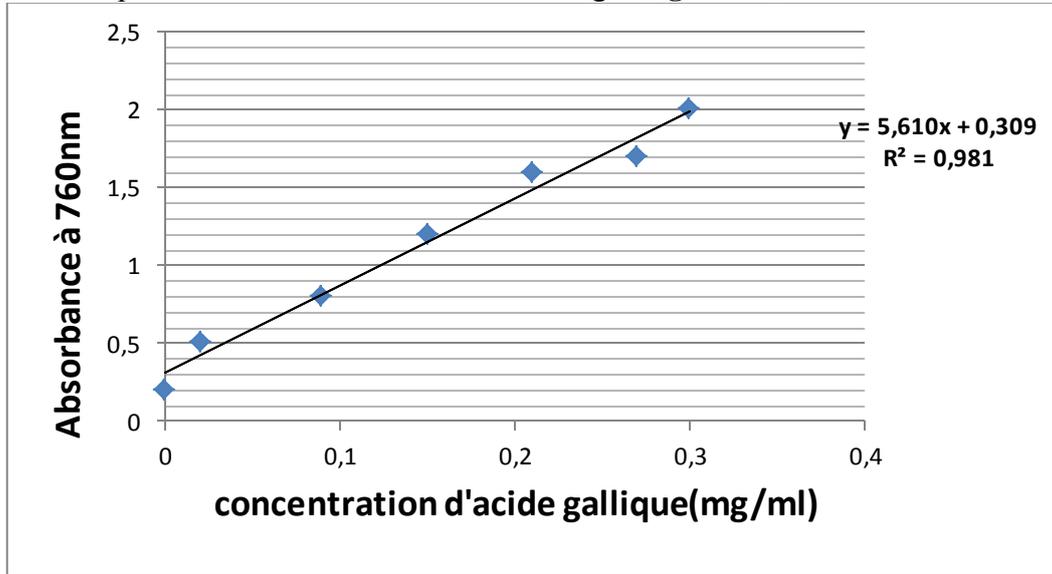


Figure 22 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des composés phénoliques totaux des extraits du citron (*Citrus limon*) de zeste et le jus a été estimée par l'équation de la courbe : $y = 5,610x + 0,309$ avec un coefficient $R^2 = 0,981$.

Correspond à la forme $Abs = a [AG] + b$, la teneur en composés phénoliques est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g)

➤ Taux des composés phénoliques d'extrait brut :

Les résultats sont représentés dans histogramme suivant :

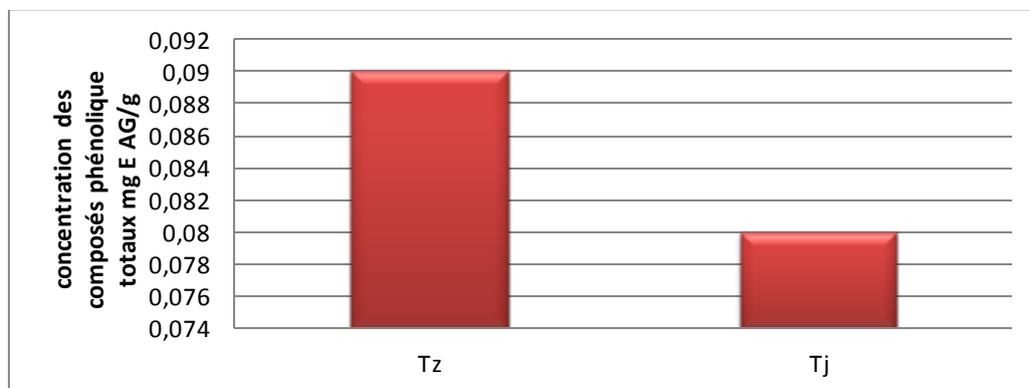


Figure 23: Le taux des composés phénoliques totaux d'extrait brut du zeste et jus de Citrus limon.

Chapitre V : Résultats et Discussions

Ces résultats montrent que le *Citrus limon* est riche en composés phénoliques sachant que le zeste de citrus limon contient un taux plus élevé que le jus (0,09 mg E AG /g ; 0,08mg E AG/g)

➤ **Taux des composés phénoliques totaux des phases du zeste et jus de Citrus limon :**

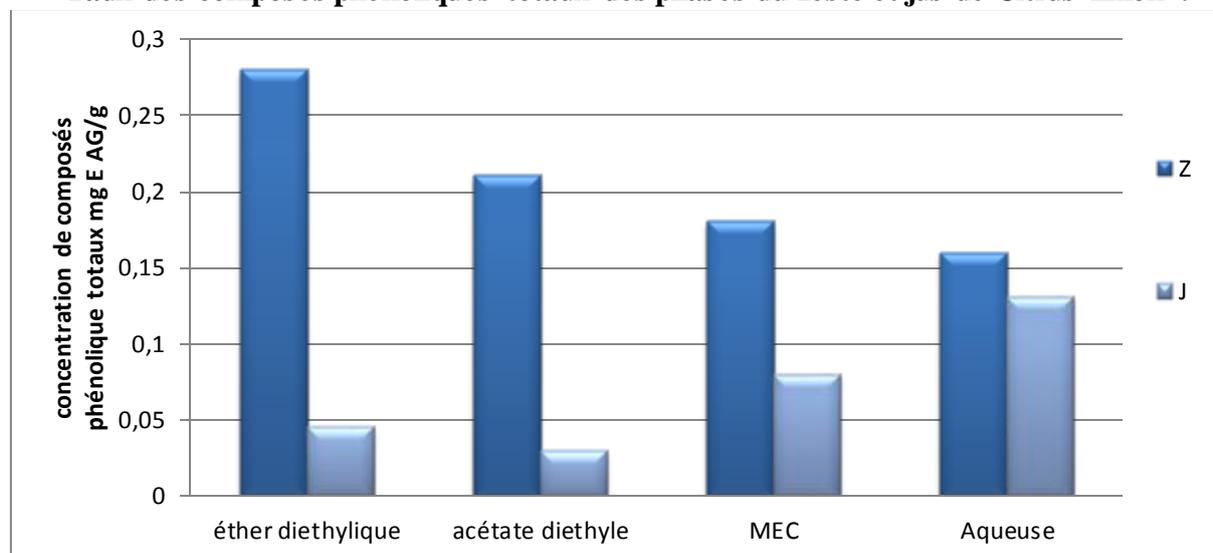


Figure 24 : Le taux des composés phénoliques totaux des phases.

D'après les résultats représentés dans la (Figure 30) : le zeste et le jus sont riches en composés phénoliques mais avec des concentrations différentes selon la phase (Tableau 10).

- **Zeste :** La teneur de la phase **Ether diéthylique** du : **0,28 mg EQ/g**. La phase **Acétate d'éthyle** avec une teneur de : **0,18 mg EQ/g**. Le taux de la phase **MEC** est **0,21 mg EQ/g**. En fin La phase **Aqueuse** est **0,16 mg EQ/g**.
- **Jus :** La phase **Aqueuse** est la plus riche en composés phénoliques de taux **0,13mg EQ/g**, suit par la phase **MEC** avec une teneur de **0,08 mg EQ/g**, Et la phase **Acétate d'éthyle** du **0,03 mg EQ/g** .En fin la phase **Ether diéthylique** est moins riche en composés phénolique du teneur **0,045mg EQ/g**.

Tableau 10: Classement décroissant de teneur des composés phénoliques des phases.

- | |
|--|
| <input type="checkbox"/> zeste : \emptyset Ether diéthylique > \emptyset Acétate d'éthyle > \emptyset MEC > \emptyset Aqueuse. |
| <input type="checkbox"/> jus : \emptyset Aqueuse > \emptyset MEC > \emptyset Ether diéthylique. > \emptyset Acétate d'éthyle. |

2- Dosages des Flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃), la quercétine est utilisé comme étalon.

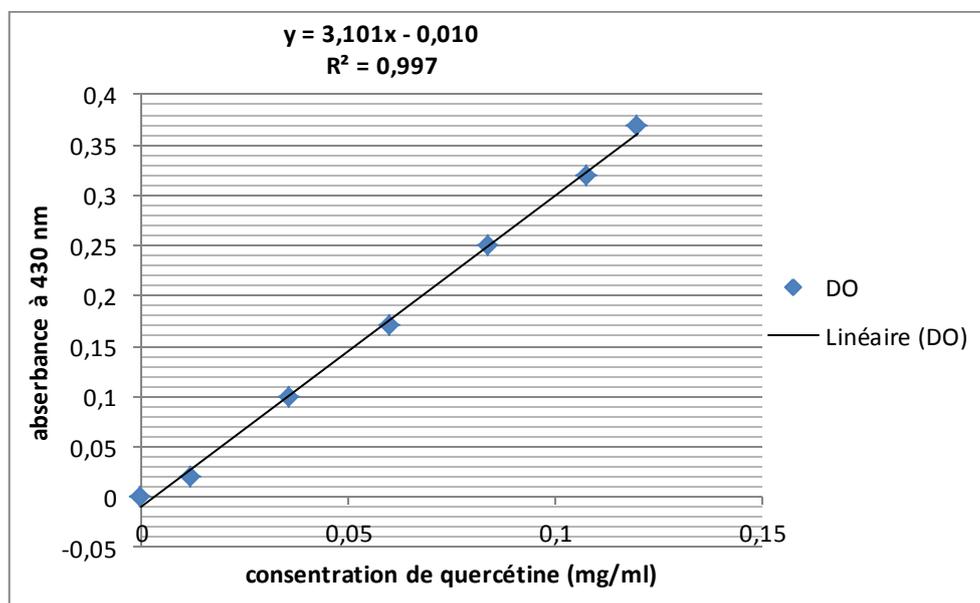


Figure 25 : Courbe d'étalonnage du Quercétine.

À partir de la courbe d'étalonnage (figure 25), la concentration des flavonoïdes des extraits méthanoliques de citron *Citrus limon* de : zeste et jus a été estimée par l'équation de la courbe :

$y = 3,101x - 0,010$ avec un coefficient $R_2 = 0,997$.

Correspond à la forme $Abs = a [Q] - b$, la teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g).

Les résultats sont représentés par les histogrammes suivants (figures 26 et 27) :

➤ Taux des flavonoïdes d'extrait brut :

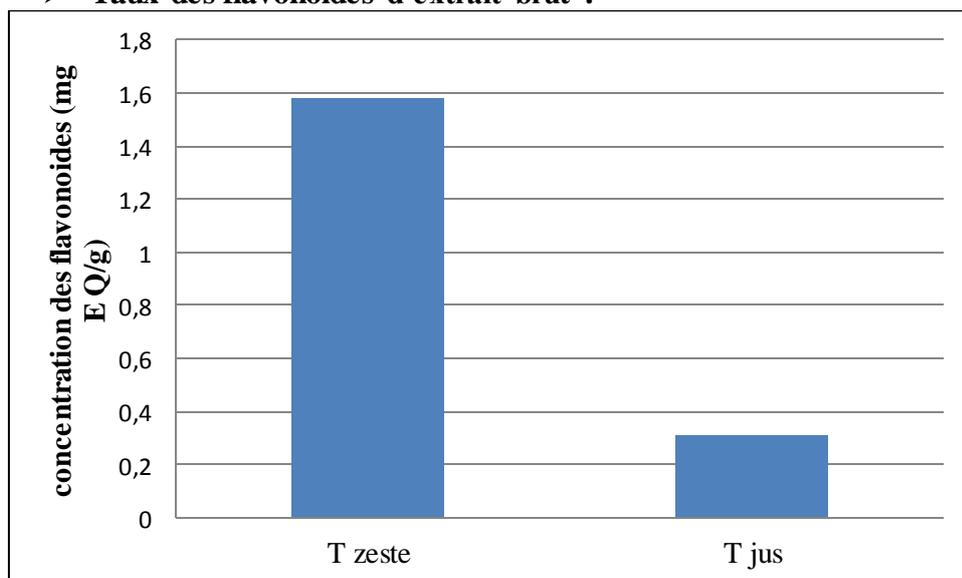


Figure 26 : Le taux des Flavonoïdes d'extrait brut.

D'après ces résultats (**figure 26**) on déduit que le zeste est plus riche des flavonoïdes (**1.58mg E Q/g**) que le jus qui contient un taux de (**0,31mg E Q/g**).

➤ **Taux des flavonoïdes totaux des phases du zeste et jus :**

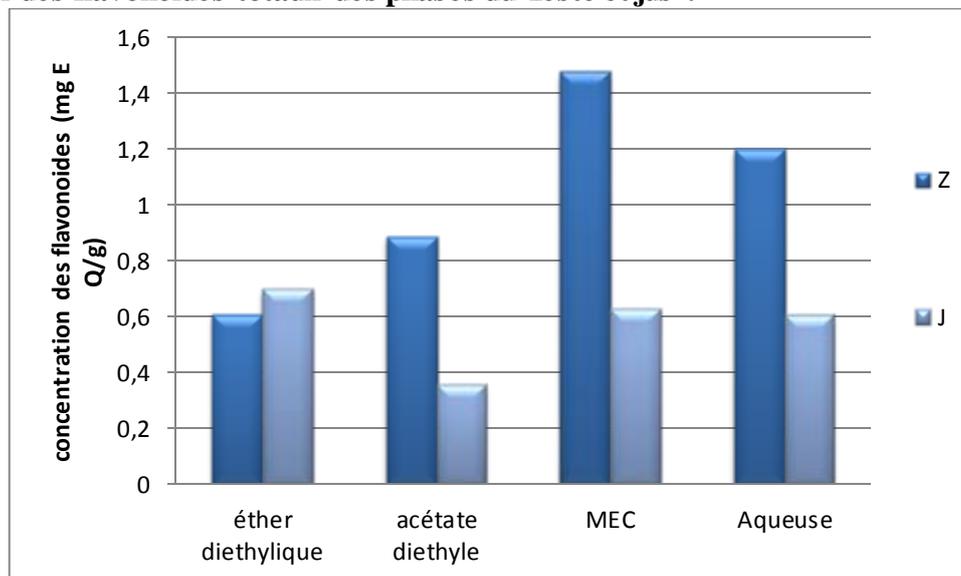


Figure 27: Le taux des Flavonoïdes des phases.

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle les résultats représentés dans la (**Figure 27**)

La phase **MEC** est la plus riche en flavonoïdes pour le zeste mais la phase **Ether diéthylique** est la plus riche en flavonoïde pour le jus avec une valeur respectivement : **1.48mg EQ/g** et **0.70 mg EQ/g**.

• **zeste** : La phase **Aqueuse** avec une valeur **1.2 mg EQ/g**, la phase **Acétate d'éthyle** de taux : **0.89mg EQ/g**.et un taux de **0.61mg EQ/g** pour la phase **Ether diéthylique**.

• **jus** : La phase **MEC** avec un taux de **0.63mg EQ/g**, suivie par la phase **Aqueuse** avec une teneur de **0,61 mg EQ/g** .Cependant seulement **0,36 mg EQ/g** de teneur pour la phase **Acétate d'éthyle**.

Tableau 11: Classement décroissant de teneur des flavonoïdes des phases.

- | |
|---|
| <input type="checkbox"/> zeste : Θ MEC > Θ Aqueuse > Θ Acétate d'éthyle > Θ Ether Diéthylique. |
| <input type="checkbox"/> jus : Θ Ether Diéthylique > Θ MEC > Θ Aqueuse > Θ Acétate d'éthyle |

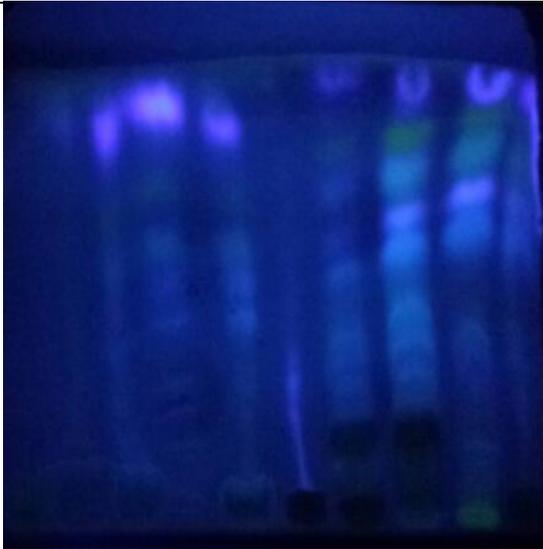
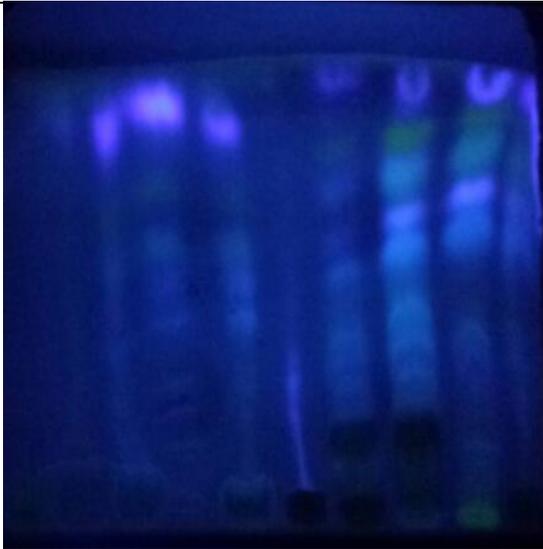
II- Etude qualitative

1- Caractéristiques chromatographiques

1.1. Résultats de la chromatographie analytique sur couche mince

La CCM analytique est réalisée sur le gel de polyamide (Tableau 06).

Cette technique peut nous informer sur le contenu en composés phénoliques et en particulier en flavonoïdes des extraits analysés sous forme des spots flavonoïques.

Les phases	à l'œil nu		UV à 365 nm	
	jus	Zeste	jus	Zeste
Sans le réactif de Neu				
	Aq M A E T	Aq M A E T	Aq M A E T	Aq M A E T
Avec le réactif de Neu (Après 24 h)				
	Aq M A E T	Aq M A E T	Aq M A E T	Aq M A E T

Chapitre V : Résultats et Discussions

Après la visualisation du chromatogramme sous l'UV à 365 nm dans une chambre noire, on a remarqué que :

✚ Il y a des tâches surtout dans les phases de zeste.

Les rapports frontaux (RF) et les fluorescences des extraits phénoliques sont représentés dans les tableaux suivants qui montrent le comportement chromatographique de chaque phase de zeste et de jus, sans révélateur et sous UV 365 nm, les spots obtenus montrent une richesse et une diversité des échantillons.

Tableau 12: Comportement chromatographique de la phase Ether diéthylique.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2	Spot 3	Spot 4	Spot 5
Zeste	RF=0.52 Bleu clair	RF=0.60 Bleu clair	RF=0.67 Vert clair	RF=0.72 marron	RF=0.78 Violet
Jus	RF=0.47 Bleu clair	RF=0.55 Bleu clair	RF=0.70 Bleu clair		

Tableau 13 : Comportement chromatographique de la phase Acétate d'éthyle.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2	Spot 3	Spot 4	Spot 5	Spot 6
Zeste	RF=0.38 Bleu clair	RF=0.48 Bleu clair	RF=0.54 Vert clair	RF=0.61 Bleu très clair	RF=0.68 marron	RF=0.77 Violet
Jus	RF=0.47 bleu	RF=0.67 Bleu clair				

Tableau 14 : Comportement chromatographique de la phase MEC.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2	Spot 3	Spot 4
Zeste	RF=0.29 violet	RF=0.41 Bleu clair	RF=0.58 violet	RF=0.64 Bleu très clair
Jus	RF=0.70 violet			

Tableau 15 : Comportement chromatographique de la phase Aqueuse.

Spots Variétés	Spot 1	Spot 2
Zeste	RF=0.17 Bleu clair	RF=0.29 Bleu clair
Jus		

L'utilisation de réactif de Neu a permis l'observation d'autres fluorescences, donc les nouveaux spots les plus remarquables sont résumés dans les tableaux suivants, qui montrent le RF et la fluorescence de chaque phase (Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse) de **zeste** et **jus**, sous UV 365 nm.

Chapitre V : Résultats et Discussions

Tableau 16 : Comportement chromatographique des phases Ether diéthylique.

Spots Variétés	Spots 1	Spots 2	Spots 3
Zeste	RF=0.37 Marron	RF=0.64 Bleu clair	RF=0.70 Bleu
Jus	RF=0.47 Bleu clair	RF=0.57 Bleu	RF=0.73 Violet

Tableau 17 : Comportement chromatographique des phases Acétate d'éthyle.

Spots Variétés	Spots 1	Spots 2	Spots 3
Zeste	RF=0.52 Violet	RF=0.64 Violet	/
Jus	RF=0.41 Bleu clair	RF=0.52 Bleu clair	RF=0.70 Violet

Tableau 18 : Comportement chromatographique de la phase MEC.

Spots Variétés	Spots 1	Spots 2	Spots 3
Zeste	RF=0.47 Violet	RF=0.58 Violet	RF=0.66 Violet
Jus	RF=0.35 Bleu clair	/	/

Tableau 19 : Comportement chromatographique de la phase Aqueuse.

Spots Variétés	Spots 1	Spots 2
Zeste	RF=0.17 Bleu clair	RF=0.29 Bleu clair
Jus	/	/

D'après ces résultats et après la pulvérisation par réactif de **Neu** on remarque que :

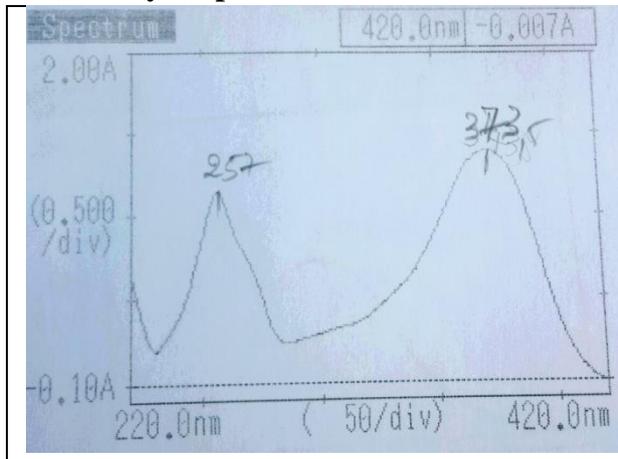
- **La phase Ether diéthylique** : l'apparition d'un spot (RF=0,37) de couleur marron pour **zeste de citron** et l'apparition de nouveaux spot (RF=0,73) de couleur violet pour **le jus**.
- **La phase Acétate d'éthyle** : l'apparition des deux spots (RF=0,52) et RF=0.64 de couleur violet pour **le zeste** et le spot (RF=0,70) de couleur violet pour **le jus**.
- **La phase MEC** : l'apparition d'un spot (RF=0,58) de couleur violet pour **zeste de citron** et l'apparition de nouveaux spot (RF=0.35) de couleur bleu clair pour **le jus**.
- **La phase Aqueuse** : il n'y a pas des modifications chez les deux **zeste** et **jus**.

Après l'observation de la fluorescence et en s'appuyant sur les données de la bibliographie (**Markham, 1982 ; Lahouel, 2005**) on peut éventuellement prédire les composés ou les familles de composés les plus probables qui peuvent entrer dans la composition des phases : éther diéthylique, acétate d'éthyle et MEC.

- Les résultats nous montrent que la majorité des polyphénols sont des flavonoïdes de type flavones et flavonols et flavanones.

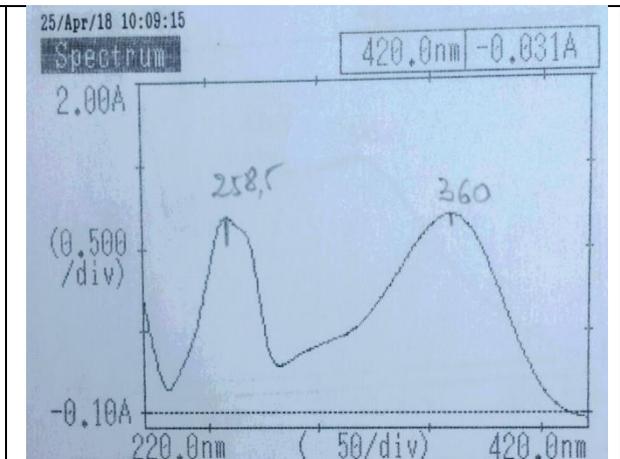
2- Caractéristiques spectrophotométriques

2-1- Analyse spectrale UV-visibles des standards



λ max I = 373,5 nm, λ max II = 257 nm

Figure 28: Analyse spectrale UV-visibles
De la quercétine



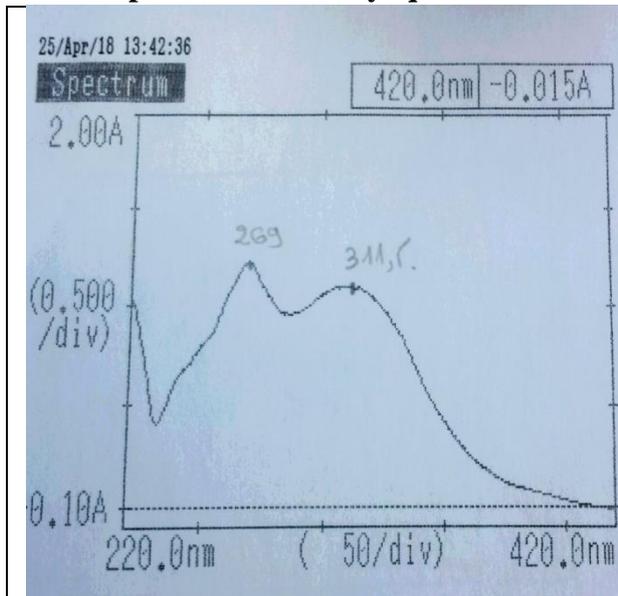
λ max I = 360 nm, λ max II = 258,5 nm

Figure 29 : Analyse spectrale UV-visible
de la rutine

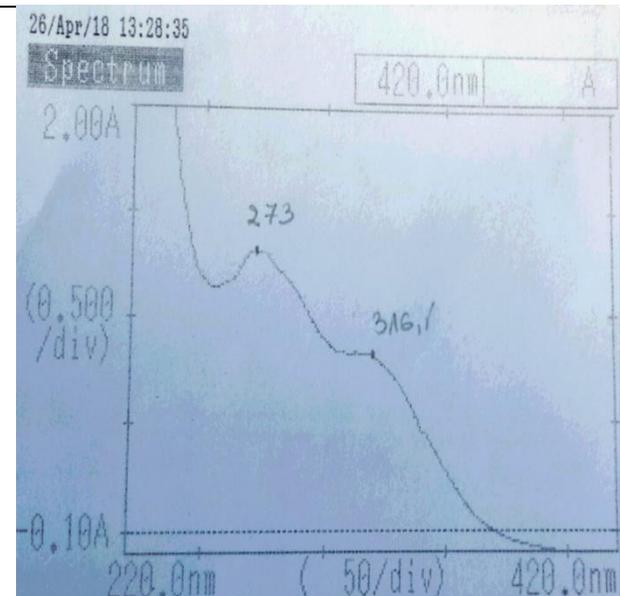
2-2-Analyse spectrale UV-Visible des phases

Selon l'analyse des spectres UV-Visible on a montré que toutes les phases chez zeste et jus ont des absorbances dans l'intervalle (220 nm-420 nm) qui est l'intervalle d'absorption des composés flavoniques.

❖ La phase Ether diéthylique :



ZESTE



JUS

Figure 30 : Analyse spectrale de la phase Ether diéthylique.

Chapitre V : Résultats et Discussions

Le spectre UV-Visible des solutions méthanoliques de la phase Ether diéthylique montre que :

- **zeste** : deux pics caractéristiques dans le domaine (220-420) nm, (λ_{max} de la bande I = 311,5 nm et λ_{max} de la bande II = 269 nm).

- **jus** : avec deux pics, (λ_{max} de la bande I = 316,5 nm et λ_{max} de la bande II = 273 nm).

Donc les molécules de la phase Ether diéthylique sont en faveur de :

- 1) **Flavones** : λ_{max} de la bande II = 250 nm - 280 nm et λ_{max} de la bande I = 310 nm - 350 nm.
- 2) **Isoflavones** : λ_{max} de la bande II = 245 nm - 275 nm et λ_{max} de la bande I = 310 nm - 330 nm.

❖ La phase Acétate d'éthyle :

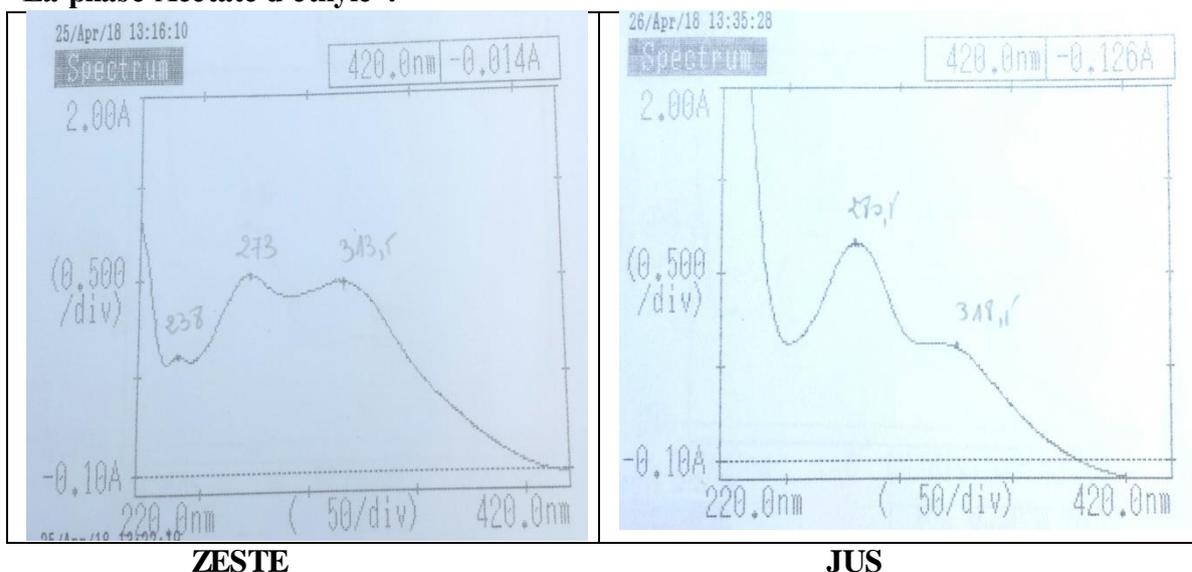


Figure 31 : Analyse spectrale de la phase Acétate d'éthyle.

La phase acétate d'éthyle comme la phase Ether diéthylique aussi donnent deux pics caractéristiques des composés flavonoïques qui absorbent dans l'intervalle (220 nm- 420nm)

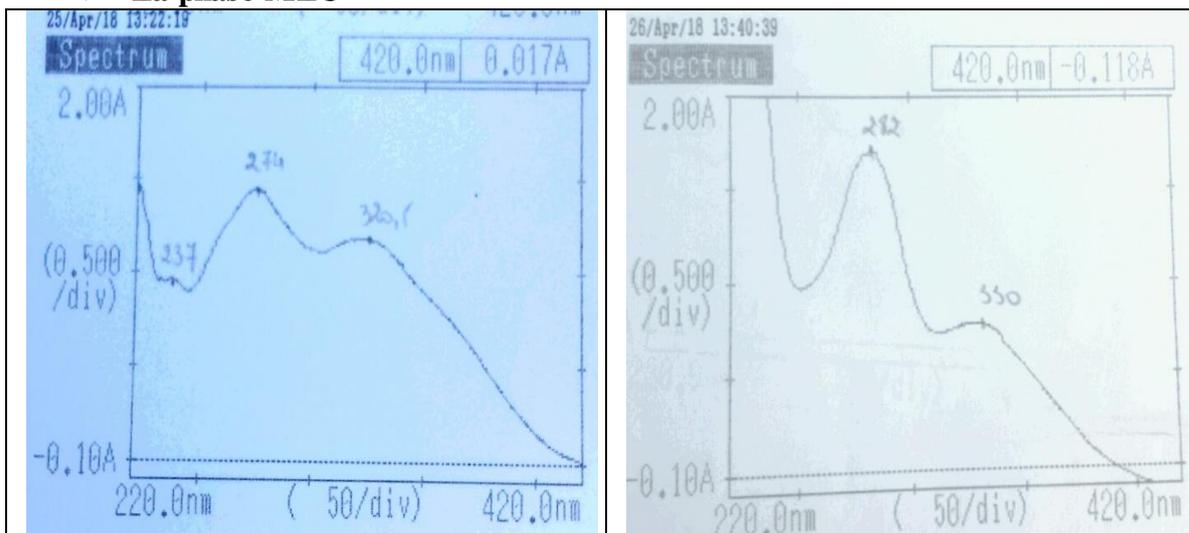
- **zeste** : λ_{max} de la bande I = 313,5 nm et λ_{max} de la bande II = 273 nm.

- **jus** : λ_{max} de la bande I = 318,5 nm et λ_{max} de la bande II = 280,5 nm.

Les molécules de cette phase sont en faveur de :

1. **Flavones** : λ_{max} de la bande II = 250 nm - 280 nm et λ_{max} de la bande I = 310 nm - 350 nm.
2. **Isoflavones** : λ_{max} de la bande II = 245 nm - 275 nm et λ_{max} de la bande I = 310 - 330 nm
3. **Flavanones et dihydroflavonols (catéchine)** : λ_{max} de la bande II = 275 nm - 295 nm et λ_{max} de la bande I = 300 - 330 nm

❖ La phase MEC



ZESTE

JUS

Figure 32 : Analyse spectrale de la phase MEC.

La phase MEC donne des spectres caractéristiques des flavonoïdes qui sont en faveur de **flavones ; flavanones et dihydroflavonols (catéchine)**

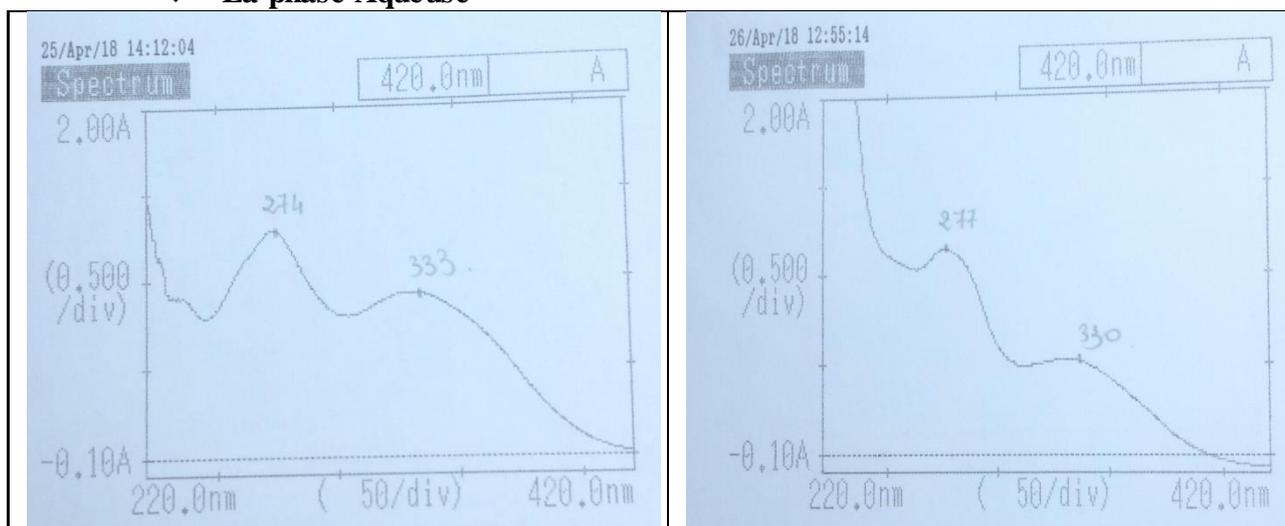
- **zeste** : λ max de la bande I = 320,5 nm et λ max de la bande II = 274 nm.

- **jus** : λ max de la bande I = 330 nm et λ max de la bande II = 282 nm.

Les molécules de cette phase sont :

1. **Flavones** : λ max de la bande II = 250 nm - 280 nm et λ max de la bande I = 310 nm - 350 nm.
2. **Flavanones et dihydroflavonols (catéchine)** : λ max de la bande II = 275 nm - 295 nm et λ max de la bande I = 300 - 330 nm

❖ La phase Aqueuse



ZESTE

JUS

Figure 33: Analyse spectral de la phase Aqueuse

Chapitre V : Résultats et Discussions

La phase aqueuse donne des spectres caractéristiques des flavonoïdes qui sont en faveur de **flavones ; flavonols (3-OH substitué) ; flavanones et dihydroflavonols (catéchine)**

- **zeste** : λ max de la bande **I** = 333 nm et λ max de la bande **II** = 274 nm.

- **jus** : λ max de la bande **I** = 330 nm et λ max de la bande **II** = 277 nm.

Les molécules de cette phase sont :

1. **Flavones** : λ max de la bande **II** = 250 nm - 280 nm et λ max de la bande **I** = 310 nm - 350 nm.
2. **Flavanones et dihydroflavonols (catéchine)** : λ max de la bande **II** = 275 nm - 295 nm et λ max de la bande **I** = 300 - 330 nm
3. **Flavonols (3OH substitué)** : λ max de la bande **II** = 250 nm - 280 nm et λ max de la bande **I** = 330 - 360 nm

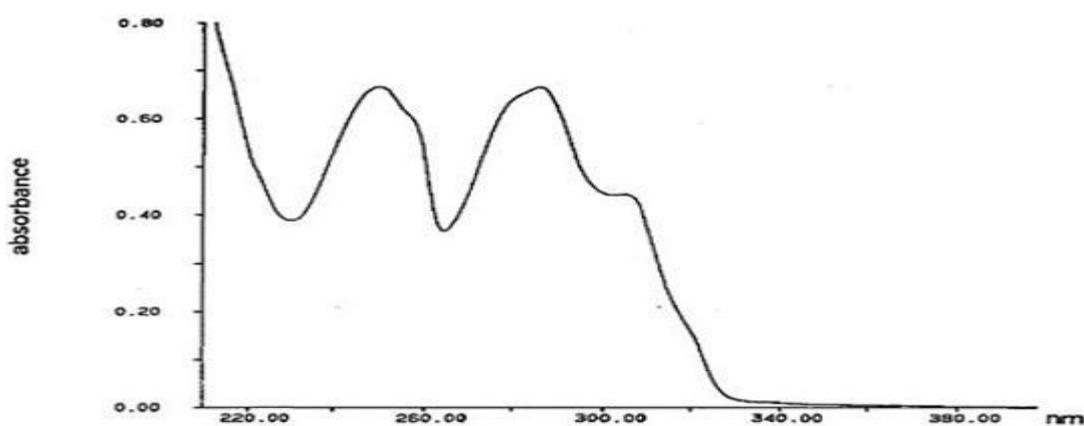


Figure 34: structure spectroscopique de Flavones

III. Activité biologique : Activité antioxydant

L'activité antioxydant des différents extraits (phases) issus des deux catégories étudiées (**zeste et jus**) a été évaluée *in-vitro* par le piégeage du radical libre **DPPH•**

1- Courbe d'étalonnage de la solution du DPPH•

Les dilutions de la solution du **DPPH•** sont faites dans le méthanol dans l'intervalle (0-0,0625) (mg/ml). Les résultats sont présentés sur la **Figure 35** suivante :

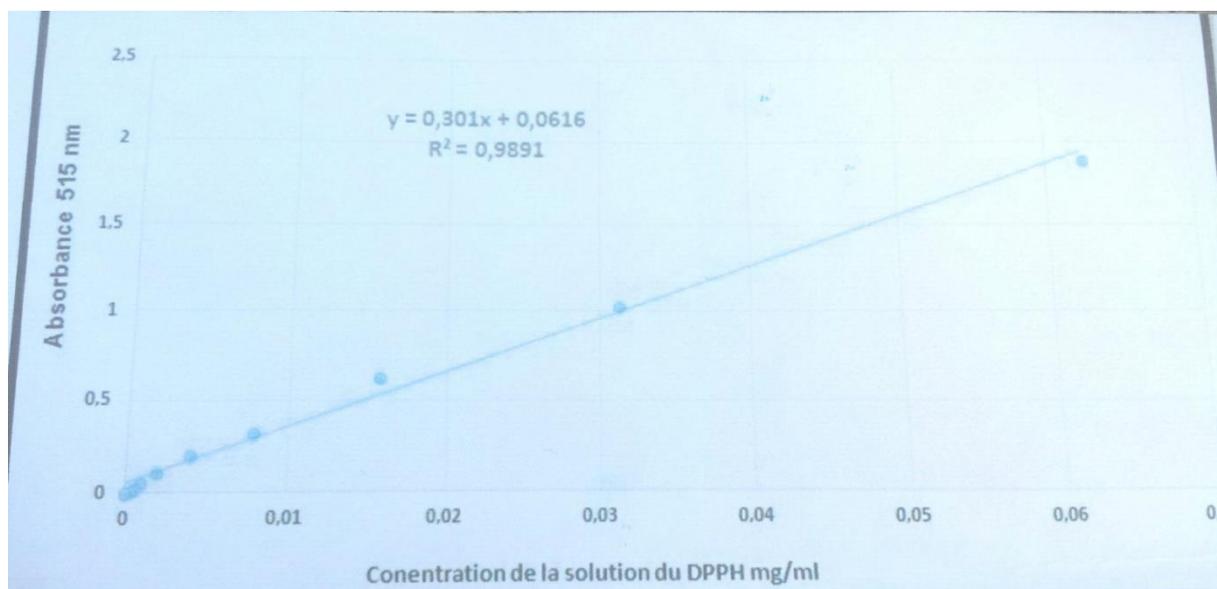


Figure 35: La courbe de calibration du DPPH•

2- Activité anti-radicalaire du standard testé

L'acide gallique : L'acide gallique est un isomère de l'acide trihydroxybenzoïque. Ce composé organique aromatique est naturellement présent dans les plantes et les arbres. Considéré comme un acide phénolique, Il présente une activité antioxydant en piégeant 2,2-diphényl- 1- picrylhydrazyl et des radicaux libres hydroxyles et l'inhibition de la peroxydation des lipides des microsomes. Pour cela on a choisir comme standard d'activité anti radicalaire (**Figure 36**).



Figure 36 : La cinétique de la réduction du DPPH• par l'acide gallique.

3- Activité anti-radicalaire des phases testées

Les figures 37 et 38 montrent les profils de la cinétique de réduction du DPPH• en présence de la phase : Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse des deux catégorie zeste et jus .

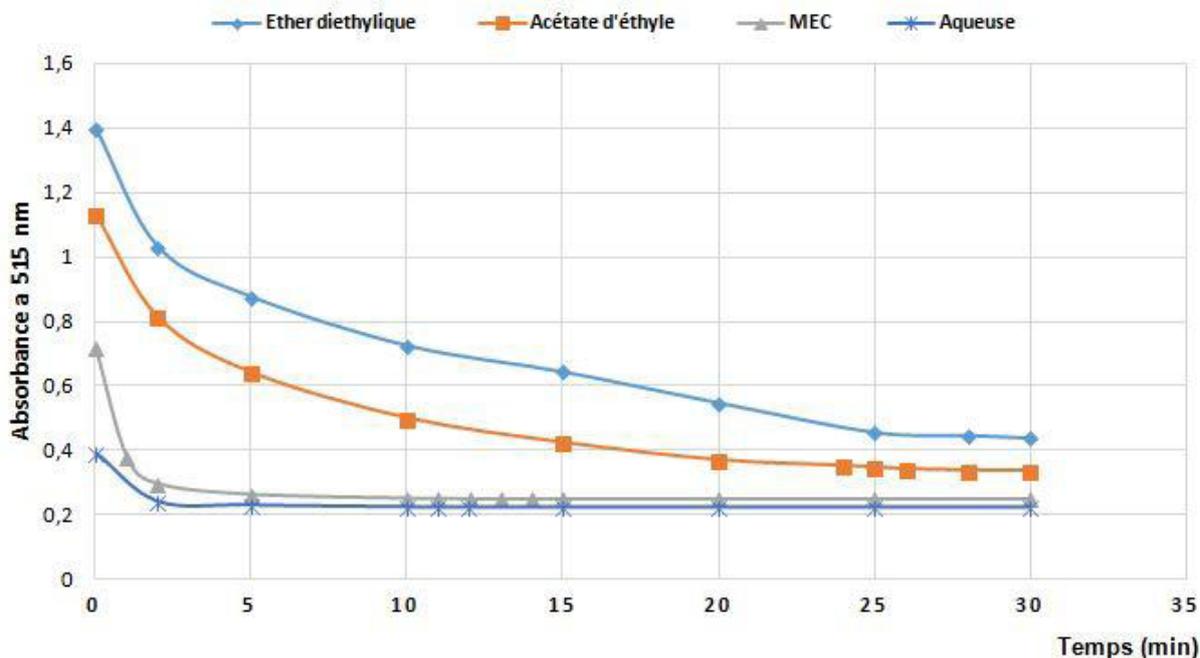


Figure 37 : La cinétique de la réduction du DPPH• par zeste

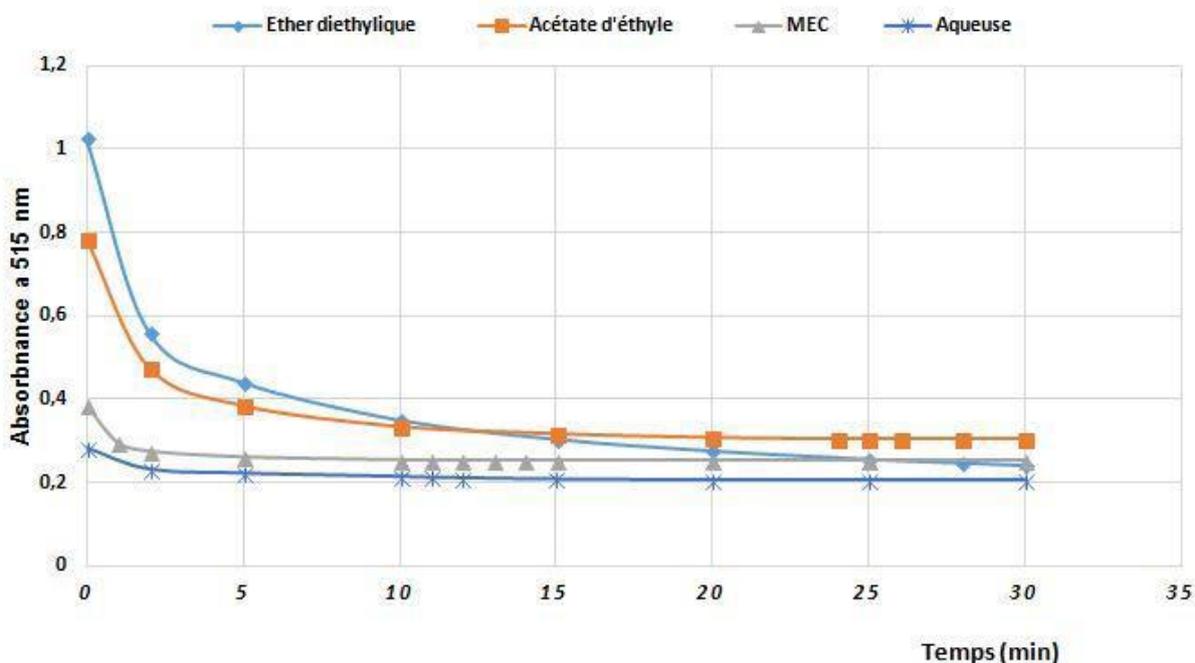


Figure 38: La cinétique de la réduction du DPPH• par jus

Chapitre V : Résultats et Discussions

Le profil cinétique de la réduction du radical **DPPH•** chez **zeste** et **jus** révèle que : La réduction du radical libre **DPPH•** (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible (Molyneux, 2004), en mesurant la diminution de l'absorbance à 515 nm. Cette dernière est remarquable avec toutes les phases. Par rapport à la diminution de l'absorbance du **DPPH•** avec l'acide gallique.

Donc à partir de la cinétique de la réduction du **DPPH•** par les phases (Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse), et en fonction de la couleur (la couleur violette vers le jaune), nos extraits (phases) sont des antioxydants.

4-Le pourcentage de la réduction du (DPPH•)

La cinétique de la réduction du **DPPH•** par l'antioxydant standard l'acide gallique et les différentes phases testées (Ether diéthylique, Acétate d'éthyle, MEC et Aqueuse) est suivie au cours du temps jusqu'à l'obtention d'un plateau au temps final (T_{eq}). La réduction des radicaux libres est évaluée par le rapport relatif de la concentration résiduelle $[DPPH•]_{t=T}$ eq restant en fin de la cinétique par rapport à sa concentration initiale.

On a calculé le pourcentage de réduction du **DPPH•** par l'équation suivante :

$$\% (DPPH) = \frac{[DPPH]_{t=0} - [DPPH]_{t=T_{eq}}}{[DPPH]_{t=0}} * 100$$

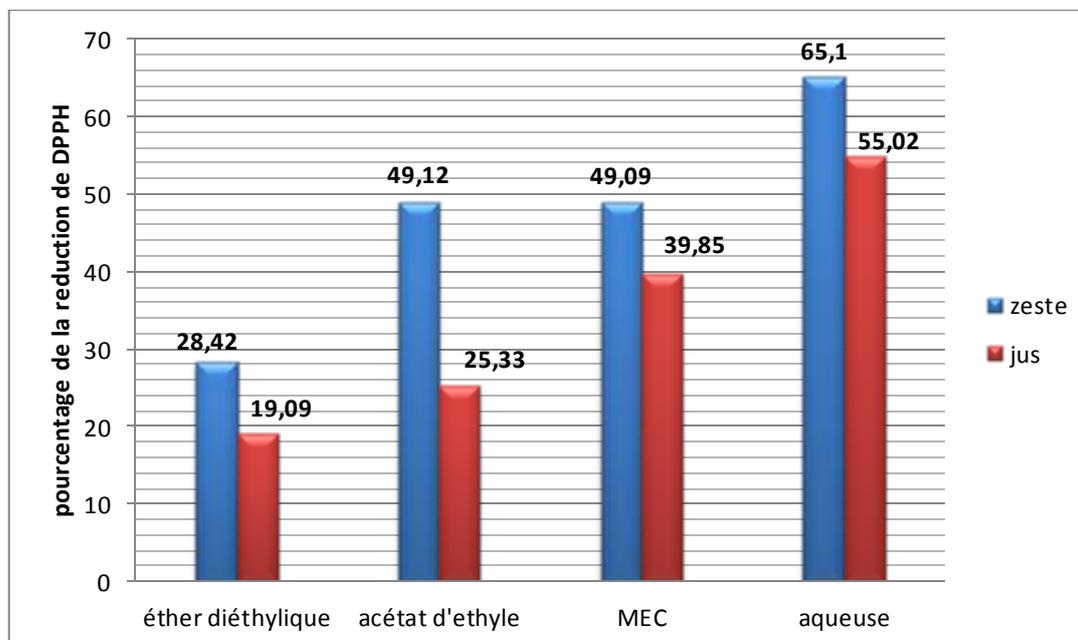


Figure 39 : Le pourcentage du **DPPH•** réduit

D'après ces résultats (figure 39), on confirme que les phases testées sont des anti oxydantes puissantes où la phase Aqueuse a la plus forte activité antioxydant pour les deux catégories. Les autres phases sont les suivant :

1- La phase Aqueuse : **zeste** (65.1%) et **jus** (55.02%).

2- La phase MEC : **zeste** (49.09%) et **jus** (39.85%).

3- La phase Acétate d'éthyle : **zeste** (49.12%) et **jus** (25.33%).

4- La phase Ether diéthylique : **zeste** (28.42%) et **jus** (19.09%).

- ✓ Les deux catégories de **Citrus limon** (**zeste** et **jus**) sont des antioxydants riches en composés phénoliques notamment les flavonoïdes qui ont des propriétés antioxydants.



Conclusion

Conclusion

Conclusion :

Le citron est une source fiable des principes actifs connus pour son pouvoir antioxydant, et leurs propriétés thérapeutiques. Ces propriétés sont recherchées dans L'industrie alimentaire et pharmaceutique.

D'après notre recherches, nous concluons que le citron est bien pour notre santé car il possède des composés phénoliques ; flavonoïde, acide phénolique,etc.

L'étude phytochimiques révèle que le zeste est plus riche en flavonoïdes que le jus de citron.

Les principales molécules isolées : flavanones, flavone, flavonol

- 1) **Flavanone** : hespéritine, l'ériodictyol, naringénine
- 2) **Flavone** : lutéoline
- 3) **Flavonol** : le kaempférol

Les différentes phases à une activité antioxydant La phase aqueuse du zeste et du jus semble être la plus antioxydante et renfermerait des molécules flavoniques à haute pouvoir antioxydant.

En perspectives, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur le zeste et jus de citron.

Il serait donc intéressant de pousser et approfondir ce travail par :

- ✓ Isoler et identifier les principales molécules des zestes du citron
- ✓ Déterminer la masse moléculaire de chaque composé isolé et purifié
- ✓ Etude des propriétés biologiques à l'aide d'autre technique pour identifier l'activité thérapeutique des zestes et des jus.



Référence

Référence

A

- Aruoma, O.I. (2003).** Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in food plants. *Mut. Res*,**9(20)**:523-524.
- Arts I.C.W., Van de Putte B., Hollman P.C.H. (2000).** Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods and processed foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 1746-1751.
- Akroum S.(2011).** Etude analytique et biologique des flavonoïdes naturels. Thèse de Doctorat en Science de l'Université de Constantine.

B

- Bousbia, N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse co-tutelle présentée pour obtenir le grade de docteur en sciences. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique. 128p.
- Belajová E., Suhaj M.,** Food Chemistry, 86, 339-343, 2004.
- Benavente-Garcia O, Castillo J, Marin FR, Ortuno A, Rio JA.** Uses and properties of citrus flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 45 (1997) 4505–4515..
- Bruneton J. (2008).** Acides phénols. In: Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. *Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris.* pp 198-260.
- Bruneton, J. 1999.** Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales 3ème édition. Tec&doc.Paris.
- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Vasseur J., Gazin JC., Pinkas M., Luyckx M., Gazin M., 1996** Oxygen species scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneim-Forsch/drug Res*:1-6.
- Bandyukova V. A. et Shinkareako A. L (1973)** The thin layer chromatography of flavonoids. *Chemistry of natural compounds.*, **9 (1)** : 17-21.

C

- Christophe et al, 2011** Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. *Edition Springer*, p 84
- Chavanne, P. (2011).** 200 remèdes au citron. Editions First – Grund, Paris, 255p.
- Crozier A. (2003).** Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants' Diet and Health*". *Ed. Goldberg.* pp: 27- 48
- Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Ed :Springer.*6 :75-82.

Référence

D

Del Caro A., Piga A., Vacca V. et Agabbio M. 2004. Changes of flavonoids, vitamin C and antioxidant capacity in minimally processed citrus segments and juices during storage. *Food Chemistry*, 84 : 99-105

F

Faucon, M. (2015). Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : Fondements & aide à la prescription. Édition sang de la terre, Paris, pp: 39-455.

G

Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, M.A., 2009. Antioxydant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 22 (3), 277-281.

Ghazi F., Sahraoui S., 2005- Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes : Tantbouchet et Hamraia. Mémoire d'Ingénieur. Institute national d'agronomie. Alger, 81 p.

Ghedira, K., 2005. Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois et thérapeutique. *Phytothérapie* 17(4), 162-169.

Goetz, P. (2014). *Citrus limon* (L.) Burm. f. (*Rutacées*) Citronnier. *Phytothérapie*.

González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D.A. et García-Viguera, C. (2010). Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *J. Pharm. Biomed. Anal*, 51: 327–345.

Guimaraes, R., Barros, L., Barreira, J.C.M., Sousa, M.J., Carvalho, A.M. et Ferreira, I.C.F.R. (2010). Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange. *Food Chem. Toxicol*, 48: 99 –106.

Gorinstein S., Belloso O.H., Park V.S., Haruenkit R., Lojek A., Ciž M., Caspi A., Libman I., Trokhtenberg S., *Food Chemistry*, 74, 309-315, 2001.

Gil-Izquierdo, A., Gil, M.I., Ferreres, F., Tomàs-Barberà, F.A., 2001. In vitro availability of flavonoids and other phenolics in orange Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 1035-1041.

Grünz G., Daniel H. and Spanier B (2010) In vivo visualization of flavonoids in *C. elegans* using 2-aminoethyl diphenyl borate. *The worm breeder's gazette* 18 : 1.

H

Heller, R., Esnault, R., et Delance, C. 1998. physiologie végétale 1-nutrition 6ème édition. Dunod. Paris, Pp 289-288

Référence

Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B. (1992). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 2379-2383.

J

Janati, S.S.F., Beheshti, H.R., Feizy, J. et Fahim, N.K. (2012). Chemical composition of lemon (*Citrus limon*) and peels its considerations as animal food. *GIDA*, 37 (5): 267-271

K

karimi E., Oskoueian E., Hawa Z.J.(2012). Phenolic compounds choraetrization and biological activities of citrus aurantium bloom molecules; **14**: 1203-1218.

L

Lahouel, M. 2005 : Interaction flavonoïdes-mithochrondrie et role de la propolis dans la prevention de l'apopose induite par certains medicaments anticancéreux, Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine.

M

Mouly P., Gaydou E.M., Auffray A., Journal of chromatography A, 800, 171-179, 1998.
Moure A, Cruz JM, Franco D, Dominguez JM, Sineiro J, Dominguez H, Nunez MJ, Parajo JC. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem*. 72 (2001) 145-171.

Martin S., Andriantsitohaina R. (2002) Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*. **51**: 304-315

Macdonald, F., Ford, C.H.J., Casson, A.G, 2003 : Molecular biology of cancer. BIOS Scientific Publishers (Oxford), 2003, 277p.

Mareel, M., Leroy, A., 2003. Clinical, cellular, and molecular aspects of cancer invasion. *Physiological Reviews* 83, 337-376.

Merghem R (2009) Eléments de biochimie végétale. *Edition Bahaeddine*: 118-132.

Merghem R. (2011). Les plantes sources de molécules d'intérêt pharmacologique ou nutritionnel. In « congrès international de Nutrition. 22, 23 Mai 2011. Université d'Oran, Algérie. P 24-25.

Markham K. R. (1982) Techniques of flavonoids identification. Ed Academic Press: 6-58.

Maataoui B S , Hmyene A , Hilali S. (2006). Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de Fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. 7(1).P 3-8.

Molyneux P (2004) The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol* 26 (2) :211-219.

Référence

O

Okwn D.E., Em e nike , I.N. 2006. Evaluation of p h ytonutrie ntsand vitam insconte nts of Citrus fruits.Inte rnationaljournalof Mole cularMe de cine and Advance Scie nce 1: 1-6.

Ollitrault, P., Dambier, D., Froelicher, Y., Luro, F., Cottin, R., 2000. La diversité des agrumes : structuration et exploitation par hybridation somatique. Compte rendu d'Académie d'Agriculture de France 86 (8), 197-221.

P

Papazian et al, 2008 Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, *Edition Springer*, p 153.

Pupin A.M., Dennis M.J., Toledo M.C.F., Food Chemistry, 61, 275-280, 1998.

Praloran J.C., Les agrumes, Maisonneuve G.P., Larose, Paris, 1971.

R

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

S

Santos R. M., Fortes G. A. C., Ferri P. H., Santos S. C. (2011). Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of *Eugenia uniflora*; *Rev. Bras. Farmacogn. Braz. J. Pharmacogn*; **21(4)**: 581-586

Swingle, W. T., Reece, P. C., 1967. The botany of citrus and its wild relatives. In: Reuther, W., Batchelor, L. D., Webber, H. J., (Eds.). *The Citrus Industry* (Vol. 1). University of California Berkeley. Pp: 130-190.

Spiegel- Roy P. et Goldschmidt E.E. 1996 . Horticultural classification of cultivated citrus. In: *Biology of citrus* .Ed. Cambridge university press, 19-44.

Singh, S., Ray, B.K., Bhattacharyya, S. et Deka, P.C. (1994). In vitro propagation of *Citrus reticulata* blanco and *Citrus limon* Burm.f. *J. Hort. Sci*, 29(3): 214-216.

Swatsitang P., Tucker G., Robards K., Jardine K., *Analytica Chimica Acta*, 417, 231- 240, 2000.

Shohaib.T, Shafique M., Dhanya.N, Madhu.C.Divakar. (2011). Importance of flavonoides in therapeutics; *Hygeia Journal for Drugs and Medicines (.J.D.M)*; **3 (1)**: 1-18.

Référence

T

Terol, J., Soler, G., Talon, M. et Cercos, M. (2010). The aconitate hydratase family from *Citrus*. *BMC Plant Biology*, 10: 222.

Tripoli E, Guardia ML, Giammanco S, Majo DD, Giammanco M. Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chem.* 104 (2007) 466-479.

Y

Yavari kia, P., Safajou, F., Shahnazi, M. et Nazemiyeh, H. (2014). The effect of lemon inhalation aromatherapy on nausea and vomiting of pregnancy: a double-blinded, randomized, controlled clinical trial. *Iran Red Crescent Med J*, 16 (3).

Yaou A (2001) Contribution à l'étude des composés flavoniques d'une labiée : le *Teucrium polium* thès

Résumé

Les citrus comme d'autres fruits et légumes c'est une source importante de composés bioactifs (composés phénoliques, flavonoïdes, acide ascorbique, ...etc.). Ces composés ont des effets bénéfiques sur la santé humaine, car ils possèdent de nombreuses activités biologiques comme l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, antibactérienne, ...etc ; ce qui protège et inhibe les effets néfastes des radicaux libres sur l'organisme humain. Des extraits éthanoliques de la pulpe et de *Citrus limon* ont été testé pour leurs activités anti-oxydantes.

Une étude phytochimiques a été réalisée par l'extraction des composés phénoliques à partir du citron (*Citrus limon*) de deux parties (**zeste** et **jus**).

D'une part, les résultats de l'étude quantitative montrent l'existence des composés phénoliques et des flavonoïdes avec une variabilité de la teneur entre les deux parties.

D'autre part, l'étude qualitative basé sur la chromatographie sur couches mince et la spectrométrie UV-Visible de ces composés nous permette de visualiser des empreintes flavoniques, d'identifier les molécules et donner une approche sur la structure moléculaire et qui résulte que la majorité des composés phénoliques sont des flavonoïdes de type **flavones** et **flavonols**, **Flavanone**.

L'activité antioxydant des extraits phénoliques a été déterminée par la méthode de **DPPH** dont les résultats montrent que ces extraits possèdent une bonne activité mais d'une façon inégale entre les phases.

Finalement, ce fruit contient des molécules qui sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que les maladies d'inflammation et le Cancer.

Mots clés : *Citrus limon*, zeste et jus, composés phénoliques, flavonoïdes, étude phytochimiques, étude quantitative, étude qualitative, **DPPH**

Abstract

Citrus fruits like other fruits and vegetables is an important source of compounds

bioactives (phenolic compounds, flavonoids, ascorbic acid, ... etc.) These compounds have beneficial effects on human health, because they have many biological activities such as antioxidant activity, anti-inflammatory, antibacterial, ... etc; which protects and inhibits the harmful effects of free radicals on the human body. Ethanolic extracts of the pulp and citrus limon were tested for their antioxidant activities.

A phytochemical study was performed by extracting phenolic compounds from lemon (Citrus limon) from two parts (zest and juice).

On the one hand, the results of the quantitative study show the existence of phenolic compounds and flavonoids with a variability of the content between the two parts.

On the other hand, the qualitative study based on the thin-layer chromatography and the UV-Vis spectrometry of these compounds allows us to visualize flavonol imprints, to identify the molecules and to give an approach on the molecular structure and which results that the majority of phenolic compounds are flavonoids flavones and flavonols, Flavanone.

The antioxidant activity of the phenolic extracts was determined by the DPPH method, the results of which show that these extracts have a good activity but unequally between the phases.

Finally, this fruit contains molecules that are considered first class antioxidants and can be used for therapeutic applications, knowing that antioxidants contribute very effectively to the prevention of diseases such as inflammation diseases and cancer. .

Key words: Citrus limon, zest and juice, phenolic compounds, flavonoids, phytochemical study, quantitative study, qualitative study, DPPH

تلخيص :

تعد الفواكه الحمضية مثل الفواكه والخضروات الأخرى مصدرًا مهمًا للمركبات

. النشطة بيولوجيا (. الفينول، مركبات الفلافونويد، وحامض الاسكوربيك، الخ ...) وهذه المركبات لها آثار مفيدة على صحة الإنسان لأن لديهم الأنشطة البيولوجية بما في ذلك العديد من مضادات الأكسدة، المضادة للالتهابات، مضاد للجراثيم، الخ...؛ الذي يحمي ويثبط الآثار الضارة للجذور الحرة على جسم الإنسان. تم اختبار المستخلصات الايثانولية من اللب والليمون ليمون لأنشطتها المضادة للأكسدة.

تم إجراء دراسة كيميائية عن طريق استخراج مركبات الفينول من الليمون (ليمون الحمضيات) من جزأين (الحامض والعصير).

من ناحية ، تظهر نتائج الدراسة الكمية وجود مركبات الفينول والفلافونويد مع تباين المحتوى بين الجزأين.

من ناحية أخرى، فإن الدراسة النوعية على أساس اللوني طبقة رقيقة والتحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية مرئية هذه المركبات تمكننا من تصور بصمات الفلافونويد التعرف على الجزيئات وتعطي مدخلا لالتركيب الجزيئي والتي تؤدي، معظم المركبات الفينولية هي flavonols flavonoids و Flavanone. ، flavonols

تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة من مستخلصات الفينول بواسطة طريقة DPPH ، وتظهر نتائج ذلك أن هذه المستخلصات لديها نشاط جيد ولكن بشكل غير متساو بين المراحل.

وأخيرا، هذه الفاكهة تحتوي على الجزيئات التي تعتبر مضادات الأكسدة من الدرجة الأولى، ويمكن استخدامها لتطبيقات العلاجية، مع العلم أن مضادات الأكسدة تساهم بشكل فعال جدا في الوقاية من الأمراض مثل الأمراض الالتهابية وسرطان.

الكلمات المفتاحية: الليمون الحامض ، تلذذ وعصير ، مركبات فينولية ، مركبات فلافونويد ، دراسة كيميائية حيوية ، دراسة كمية ، دراسة نوعية ، DPPH