

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEEN

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,
Sciences de la Terre et de l'Univers**



Département de biologie

Laboratoire de recherche

Physiologie, Physiopathologie et Biochimie de la Nutrition

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master

Option : physiologie cellulaire et physiopathologie

THEME

**Mesure de la vitamine C et de l'activité anti-radicalaire et
anti-oxydante des citroflavonoïdes de l'écorce du citron**

Présenté par : BOUCHACHIA AMEL

Soutenu le : 04 / 07 / 2017 devant le jury.

Présidente : MOKHTARI SOULIMANE NASSIMA	Professeur,	Université de Tlemcen.
Examineur : BENAMMAR CHAHID	Maître de conférences,	Université de Tlemcen.
Promotrice : BEKHTI SARI FADIA	Maître de conférences,	Université de Tlemcen.

Année Universitaire : 2016 / 2017

Remerciements

Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Mme BEKHTI SARI F, Maître de conférences à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Un grand merci à mon encadreur pour avoir dirigé ce travail, pour son sérieux et ses efforts afin de m'aider, de me conseiller et de m'orienter. Je lui exprime mon profond respect et mes chaleureux remerciements.

Je tiens à remercier Mme MOKHTARI, Professeur à l'université de Tlemcen, sa gentillesse ainsi pour l'honneur qu'elle nous fait de faire partie de ce jury et de présider cette soutenance.

J'adresse mes sincères remerciements à Mr BENAMMAR, maître de conférences à l'université de Tlemcen, qui nous a fait l'honneur de bien vouloir examiner ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les doctorants du laboratoire PPABIONUT qui m'ont aidé durant la réalisation de ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les enseignant(e)s qui m'ont aidé durant les cinq ans surtout Mme MARZOUK, Mme MALTI, Mme BABA AHMED, Mr Azzí Rachid, Mr LAHFA, Mme BENARIBA N, Mme BRIKCI...

Dédicaces

Au nom de Dieu le clément. Louange à dieu qui nous aidés durant des années, éclairé et ouvert les portes du savoir.

C'est avec une profonde émotion qu'on dédie ce mémoire :

A mes très chers parents que j'aime beaucoup, qui ont veillé sur mon éducation et qui ont sacrifié les meilleurs moments de leur vie pour ma réussite. Jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur d'eux même. Que dieu les gardent.

*A mes chers frères **MOUHAMED** et **ABDELHAFID** pour leurs conseils et orientations.*

*A ma chère sœur **ZAHIA**, qui a me encouragé et soutenue tout au long de mes études.*

A mes chers grands parents,

A mes chers oncles,

A tous mes enseignants,

*A mes ami(e)s : **HAFIDA, FATIMA, HODA, SARAH, NADJET, SOUAD, FATIHA** et **HADJER**.*

Et enfin à toute mes amies de la promotion physiopathologie 2016- 12017 pour tous les moments que nous avons partagés ensemble.

Lise des abréviations

AA : l'Acide Ascorbique

ADN : acide désoxiribonucléique

AGPI : acide gras polyinsaturée

AO: antioxydant

ArO° :(forme oxydée de l'antioxydant)

Co A: Co enzyme A

Cu²⁺: cuivre

DPPH: 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyle)

DO: densité optique

DTNB: 5,5'-dithiobis (2-acide nitrobenzoïque)

EC50 (IC50) : concentration inhibitrice à 50 %

EDTA : Acide éthylènediamine tétra-acétique

ERO: espèce réactive oxygénée

FAO: Food and agriculture organization of United Nations

Fe²⁺: fer

FL: flavonoïde

g: gramme

g/Kg :gramme/Kilo gramme

GPx: glutathione peroxydase

GSH: glutathionréduit

GSSG: glutathione oxydé

GR :globules rouges

Hb: hémoglobine

H₂O₂:peroxyded'hydrogène

H₂O: eau

HO°: radical hydroxyle

I₂ : diiode

KPO₄ : tampon

LDL :lipoprotéines à bassedensité (*low density lipoproteins*)

MDA :malondialdéhyde

mg/g : milligramme par gramme

mg : milligramme

mg/j : milligramme par jour

ml : millilitre

m mole : milli mole

NADPH: nicotinamide adénine diphosphate

Na₂S₂O₃: Thiosulfate de sodium

Na₂SO₃: carbonate de sodium

NO°: monoxyde d'azote

NOS : monoxydes synthases

O₂°-: anion superoxyde

°O₂ : oxygène singulet

OH : groupe hydroxyle

PBS: Phosphate buffer saline.

R°: représente le radical libre.

RH : forme réduite du radical néfaste

RL: radical libre

RNS: espèce réactive de l'azote

ROS: espèces réactives de l'oxygène

2S₂O₃- : ion thiosulfate

SUVIMAX : Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants.

SOD: superoxydedismutase.

TBA: **acide** thiobarbiturique

TBHP: *tert*-butylehydroperoxyde

TCA: acide trichlorureacétique.

TNB: acide thionitrobenzoïque

t/min : tour par minute

vit C : vitamine C

μL : micro litre

μmol/L : micro mol par litre

UV : ultraviolet

% : Pourcentage

Introduction	1
Etat actuel de sujet	
I. Citron	3
I. 1-Historique et origine géographique de citron et de la lime.....	3
I. 2-Définition	3
I. 3-Morphologie et Composition de citron	4
I. 4-Principaux constituants du citron	5
I. 5-les valeurs nutritive du citron et de la lime	6
I. 6-Les variétés de citron	6
I. 7-Citron et lime : quelles différences ?	7
I. 8-Les bienfaits connus de citron	7
I. 9-Précautions	8
II. Stress oxydatif	9
II. 1-Généralité et définition.....	9
II. 2-Les radicaux libres	10
II. 2-1-Définition.....	10
II. 2-2-Production des radicaux libres.....	10
II. 2-3-Les principales espèces réactives de l’oxygène	12
II. 2-4-Dommages oxydatives des radicaux libres	12
II. 2-5--La peroxydation lipidique	13
II. 3-La défense anti-oxydante	14
II. 3-1-Les antioxydants	14
II. 3-2-Classification des antioxydants	15
II. 3-2-1- Antioxydants endogènes	15
II. 3-2-2-Antioxydants Exogènes	15
II. 3-2-3-L’alimentation	15
II. 3-2-4-Les médicaments	15
III. Les Composés phénoliques et la vitamine C	17
III. 1-Les Composés phénoliques	17
III. 1-1-Définition.....	17
III. 1-2-Classification	17
III. 1-3-Mécanismes antioxydants des systèmes phénoliques.....	18
III. 1-3-1-Transfert d’atome d’hydrogène (HAT, hydrogen atom transfer)	18

Sommaire

III.	1-3-2-Transfert mono-électronique d'électron (SET, single electrontransfer.....	18
III.	2-Les flavonoïdes	18
III.	2-1-Définition et historique	18
III.	2-2-Structure	19
III.	2-3-Définition de citro-flavonoïdes	19
III.	2-4-Localisation	20
III.	2-5- Biosynthèse.....	20
III.	3-La vitamine C	22
III.	3-1-Historique	22
III.	3-2-Définition	22
III.	3-3- Source de vitamine C	23
III.	3-4-L'apport journalier recommandé	23
III.	3-5-Le métabolisme et l'élimination de l'acide ascorbique	23
III.	3-6-Rôles	24
III.	3-7-La carence en vitamine C	24

Matériel et méthodes

I.	Caractéristiques du citron étudié	26
II.	Préparation des échantillons	26
II.	1-Ecorce fraîche :	26
II.	2-Ecorce sèche :	26
II.	Dosage des polyphénols	27
III.	1-Principe	27
III.	2-Mode opératoire	27
IV.	Le dosage indirect de la vitamine C	27
IV.	1- Principe de dosage :	27
IV.	2-Mode opératoire	28
V.	Mesure de l'activité antioxydante:	28
V.	1-Test de piégeage du radical DPPH :	28
V.	1-1-Objectif :	28
V.	1-2-Principe :.....	28
V.	1-3-Mode opératoire	29
V.	5-2-Test d'hémolyse :	29

Sommaire

V.	2-1-Principe	29
V.	2-2-Mode opératoire	29
V.	2-3-Taux d'hémolyse	29
V.	2-4-Hémolyse Totale.....	30
VI.	Mesure des marqueurs de stress oxydatif	30
VI.	1-Dosage du GSH.....	30
VI.	1-1-Principe	30
VI.	2-Dosage des MDA.....	30
VI.	2-1-Principe	30
VII.	Analyse statistique	30

Résultats et interprétation

I.	Taux des polyphénols	31
II.	Taux de la vitamine C	31
III.	Mesure de l'activité anti-oxydante par le test de piégeage du radical DPPH	31
IV.	Taux d'hémolyse	31
IV.	1-Taux d'hémolyse en présence d'écorce fraiche de citron	31
V.	Statut oxydant/antioxydant	31
V.	1- Teneurs érythrocytaires en GSH en présence d'écorce fraiche de citron	31
V.	2-Teneurs érythrocytaires en MDA en présence d'écorce fraiche de citron	32

Discussion.....35

Conclusion.....39

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 01 : La composition de citron	4
Figure 02 : Balance radicaux libres/antioxydants	9
Figure 03 : Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène	11
Figure 04 : Mécanisme de la peroxydation lipidique.....	14
Figure 05 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.....	14
Figure 06 : Répartition des principales défenses antioxydantes dans la cellule.....	16
Figure 07 : Structure de flavonoïdes	19
Figure 08 : La biosynthèse des flavonoïdes illustrant les voies de l'acétyl CoA et de la phénylalanine.	21
Figure 09 : Structure de l'acide ascorbique	22
Figure 10 : Equation entre l'acide ascorbique et déshydroascorbique	22
Figure 11 : Réduction de DPPH.....	28
Figure 12 : Pouvoir d'inhibition du DPPH (%) par rapport aux volumes (μ L) de l'écorce fraîche.	33
Figure 13 : Taux d'hémolyse d'une solution de GR à 2% (V/V) en présence de l'écorce fraîche de citron, de TBHP et de TBHP + écorce fraîche	33
Figure 14 : Teneurs érythrocytaires en GSH d'une solution de GR à 2% (v/v) et en présence de l'écorce fraîche de citron.....	34
Figure 15 : Teneurs érythrocytaires en MDA d'une solution de GR à 2% (v/v) et en présence de l'écorce fraîche de citron.....	34

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principaux constituants du citron.....	5
Tableau 02 : Valeur nutritive du citron et de la lime.....	6
Tableau 03 : Les variétés de citron	6
Tableau 04 : Sources des radicaux libres.....	11
Tableau 05 : Quelques composées des polyphénols.....	17
Tableau 06 : Caractéristiques du citron étudié	26
Tableau 07 : Taux de la vitamine C et de Polyphénols dans l'écorce fraîche et sèche du citron.....	32

Les pays producteurs du citron forment une ceinture terrestre entre 40^e parallèle nord et sud (Mexique, Inde, Espagne, Argentine, Brésil, Etats-Unis, Chine, Italie, Turquie)

En Algérie, trois régions agricoles dans le nord sont connus pour la culture des agrumes:

-La région ouest avec les wilayas d'Oran, Mostaganem, Tlemcen, Sidi Bel Abbes et Rilizane ;

-la région centre avec la plaine de la Mitidja qui constitue le berceau de l'agrumiculture en Algérie avec la plaine Tizi-Ouzou, Chlef et Bouira ;

-la région où la culture des agrumes atteint un grand degré de propriété, avec les régions d'Annaba, Skikda, Jijel, Guelma et Bejaia (**Anonyme, 1997**).

Le citron s'est révélée être riche en micro-constituants antioxydants, d'après une étude récente une consommation régulière du citron réduirait les risques de cancer mais également les maladies cardiovasculaires et le diabète (**Chanforan, 2010**).

Parmi les antioxydants naturels : la vitamine C et les composés phénoliques, plus particulièrement les acides phénoliques et les flavonoïdes, suscitent un intérêt grandissant.

Les antioxydants permettent de ralentir le phénomène d'oxydation, ils empêchent le vieillissement cellulaire en interrompant la propagation du stress oxydatif, interceptant ainsi le message de l'apoptose (mort cellulaire programmé) (**Macheix, 2005**).

L'homme n'est pas capable d'assurer la biosynthèse de la plus part des antioxydants, en particulier ceux de nature phénolique. Il doit les trouver dans la ration journalière (**Bravo, 1998**). Les différents constituants végétaux de notre ration alimentaire quotidienne sont généralement riches en polyphénols à forte activité anti-oxydante, et selon les habitudes alimentaires, nous pouvons en ingérer 100 mg par jour. Cela est vrai dans Les régimes dits « méditerranéens » où la consommation de fruits, de légumes, céréales et d'huile d'olive est importante (**Besançon, 2000**).

Les études d'intervention visant à montrer qu'une alimentation riche en fruits et légumes avec une incidence positive sur les taux plasmatiques en antioxydants sont très diversifiées et surtout concluantes.

L'ensemble des études épidémiologiques dans diverses régions du globe montre indéniablement que la consommation de fruits et légumes entraîne une augmentation significative de la concentration plasmatique en antioxydants, dont la vitamine C et divers caroténoïdes et polyphénols (**Stephoe, 2004**). Ainsi, il a été montré que la consommation de trois à huit portions

de fruits et légumes par jour permet, après deux semaines, d'augmenter significativement la concentration plasmatique en vitamine C et en β -carotène de 72,8 et 53 %, respectivement (Zino, 1997).

Les orientations récentes des recherches sur les polyphénols visent d'une part à mieux comprendre les mécanismes d'action au niveau moléculaire et cellulaire et à évaluer par des études cliniques leurs incidences sur certains marqueurs clés associés aux pathologies. D'autre part, les recherches épidémiologiques visant à préciser les associations entre les niveaux de consommation des divers poly-phénols et les niveaux d'apports les plus favorables à la prévention des diverses pathologies.

C'est dans ce cadre que nous avons mené notre étude qui concerne le dosage des poly phénols et la vitamine C dans le *Citrus limon* et de leur effet antioxydant in vitro.

Le présent travail est une contribution dans l'évaluation d'activité antioxydante des citroflavonoïdes et qui sera présenté comme suit:

- Un premier chapitre comprend un rappel sur les grandes caractéristiques du citron : , la description botanique, les différents composant de fruit et jus , les déférents variétés .
- Un deuxième chapitre comprend un rappel sur le stress oxydatif
- Un troisième chapitre est consacré sur les poly phénols et les flavonoïdes et comporte aussi une petite rappelle sur la vitamine C et leur effet antioxydant
- Le quatrième chapitre comporte deux parties la première est consacrée au matériel et aux méthodes utilisées ; ensuite les résultats obtenus et la discussions
- Enfin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus.

I. Citron

I. 1-Historique et origine géographique de citron et de la lime:

Les agrumes sont d'origine sud asiatique, selon (**Tanaka, 1977**), la diffusion à travers le monde s'est effectuée lors des échanges commerciaux.

Certains prétendent que ce fruit serait né d'un croisement entre le pamplemousse, le cédrat et la lime. Ses premières traces remontent il y a près de 3000 ans lors de sa découverte dans les forêts de Himalaya. Par la suite, il a été cultivé abondamment en chine (**Boukhobzalalia , 2015**).

C'est à partir du bassin méditerranéen et grâce aux grandes découvertes (Christoph Colomb; 1493 et les navigateurs ANGLO-HOLLANDIS 1654) que les agrumes furent diffuser dans le monde (**Praloran, 1971 ; Loussser, 1989**).

Au fil des invasions et des fluctuations climatiques, il se peut que le citron ait disparu du sud de l'Europe à quelques reprises pour y être réintroduit plus tard. Après les invasions barbares (350 à 400 de notre ère), ce sont les Arabes qui reprennent les rênes du commerce. Ils diffuseront le citron, l'introduisant en Afrique du Nord, et en Espagne, de même que tout le bassin méditerranéen. Les Européens de l'ouest de l'est et du nord découvriront les agrumes et développeront un gout pour ces fruits acides et juteux qu'ils rapporteront dans leur pays respectif (**Jacquemend et al., 1986**).

I. 2-Définition :

Le citron est un agrume, fruit du citronnier dont le jus a un pH=2.5. Le citronnier (citrus limon) est un arbuste de 5 à10 mètres de haut, a feuilles persistantes, de la famille de Rutacées. (**JAcquemend et al., 1986**).

De l'écorce on extrait une huile essentielle qui contient entre autres de la limonène et le citral.

La position taxonomique des agrumes présents par la classification de TANAKA :

Embranchement : Spermaphytes.

Sous/embranchement : Angiospermes.

Classe : *Eudicots*.

Ordre : *Géraniales*.

Famille : *Rutaceae*.

Sous/famille : *Aurantoideae*.

Genre : *Citrus*.

Présentation de l'espèce : *Citrus Limon*: Citronnier

I. 3-Morphologie et Composition de citron :

A l'état naturel, on retrouve l'huile essentielle dans l'écorce des citrons frais, séparée de la pulpe par l'albedo (membrane blanche que l'on retrouve dans tous les agrumes). On trouve le jus dans la pulpe.

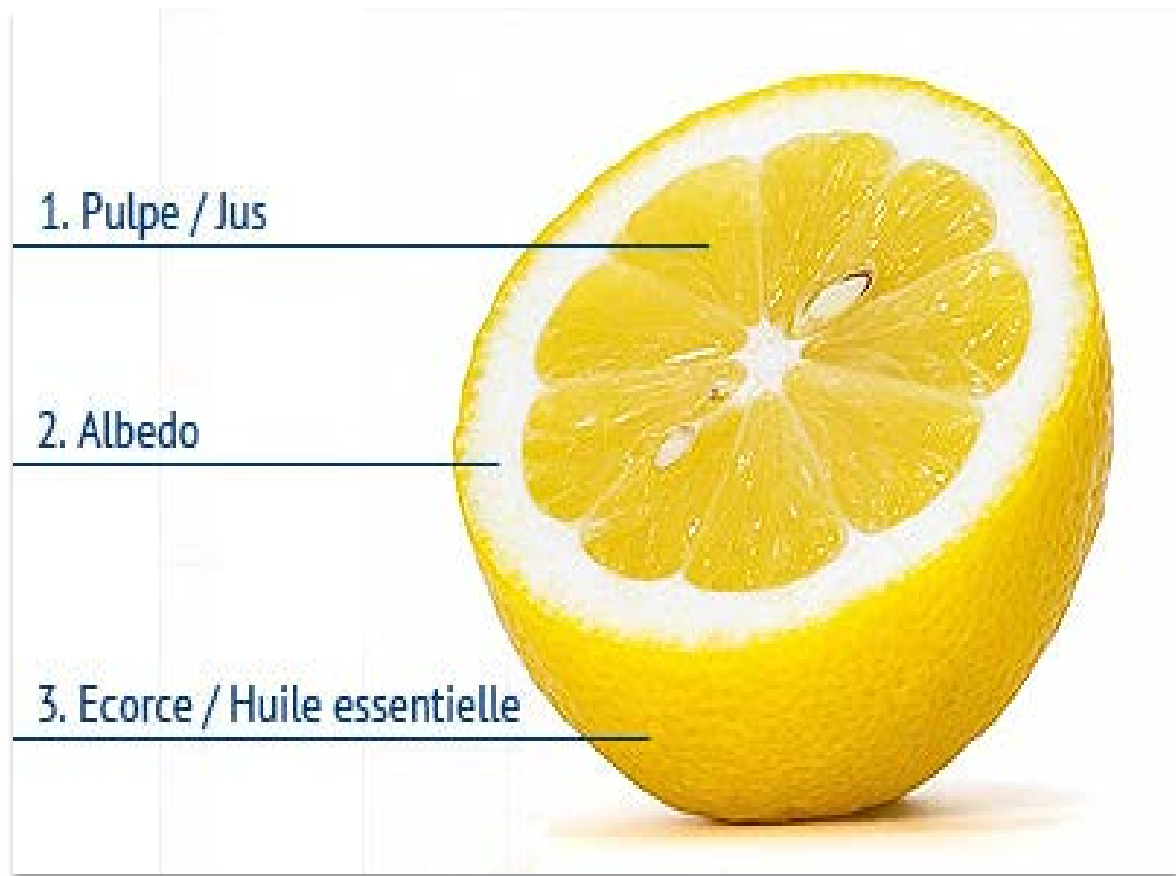


Figure 01 : Composition du citron (Anonyme).

I. 4-Principaux constituants du citron :

Constitué de 88 % l'eau ce qui en fait un fruit hypocalorique. Parmi les vitamines présentes dans le citron on retrouve et en premier lieu, la vitamine C, mais aussi les vitamines du groupe B ainsi que les vitamines E et K. Le citron est également riche en minéraux et oligo-éléments, notamment beaucoup de potassium (150mg pour 100g), du calcium en grande quantité (60mg pour 100g), du phosphore, du fer, du cuivre et du magnésium. On trouvera aussi des fibres de la pectine, des flavonoïdes, des glucides des lipides et des acides gras (Desaulniers, 2003).

Tableau 01 : Principaux Composants du citron (Mouton, 2012).

Morphologie	Composition
Ecorce du fruit	-Huile essentielle (0.2 à 0.6% séchée, 1.2 à 1.5% fraîche) -Flavonoïdes :hespéridine,diosmine, ériocitrine.... -Caroténoïdes -Coumarines -Pectines
Pulpe	-acide citrique (5 à 8%) -flavonoïdes : hespéridine et ériocitrine -Vitamine C
Graines	Limonoides
Fruit	-Régulation de l'appétit -stimulation de la digestion -citroflavonoides ; vagotoniques
Huiles essentielles	Antibactérienne
Jus	antioxydant bactéricide

I. 5- les valeurs nutritives du citron et de la lime :





Le jus de citron a une valeur nutritive légèrement plus élevé que le jus de la lime.

Tableau 02 : Valeur nutritive du citron et de la lime (Fichier canadien sur les éléments nutritifs, 2010).

	Citron sans écorce, 1 moyen (5,4 cm de diamètre)/60 g	Jus de citron frais, 63 ml(¼ tasse)/65 g	Jus de lime frais, 63 ml (¼ tasse)/65 g
Calories (cal)	17	16	16
Protéines	0,6 g	0,3 g	0,3 g
Glucides	5,4 g	5,6 g	5,5 g
Lipides	0,2 g	0,0 g	0,0 g
Fibres	1,6 g	0,3 g	0,3 g

I. 6-Les variétés de citron :

Tableau 03 : Variétés de citronniers à cultiver en pleine terre ou en pot selon la région (Cano et al., 2008).

Noms	Caractères	Fructification	Rendement	Période de récolte	Image
Citronnier 4 saisons (Citrus limon)	Jaunes juteux avec quelques pépins	: 8mois sur 12	Excellent	janvier à décembre	
Citron Meyer	Jaunes à la peau lisse jaunes-orangés, juteux avec quelques pépins	8 mois / 12	Excellent	janvier à décembre	
Citron caviar	verts offrant une chair de petites perles qui éclatent en bouche, au goût vif et citronné avec de légères notes de pamplemousse	8 mois/12	Bon	Octobre à février	
Citronnier vert	citrons verts donnant un jus abondant, sans pépins, à la peau très fine	8mois/12	Moyen	De janvier à décembre	

I. 7-Citron et lime : quelles différences ?

La lime et le citron sont de la famille des agrumes.

La lime : est le fruit du limettier. Elle est récoltée avant maturité et a l'aspect d'un petit citron. Son écorce est fine et lisse, de couleur vert foncé. Cependant, la lime, autrement appelée citron vert.

Le citron : fruit du citronnier, présente la particularité d'être remontant, c'est-à-dire qu'il fleurit plusieurs fois dans l'année. Ainsi, un même citronnier peut fournir des citrons en toute saison (**Anonyme**).

I. 8-Les bienfaits connus de citron :

Le citron possède beaucoup de propriétés bienfaitantes pour la santé qui sont connues depuis des siècles. Les deux principales sont : d'une part, sa puissante action antibactérienne et antivirale, et d'autre part, son efficacité pour stimuler le système immunitaire.

C'est pour ces raisons qu'il est utilisé depuis des siècles à soigner de multiples maux. De plus, en raison de sa teneur élevée en vitamine C, il était également utilisé comme remède pour prévenir de maladies d'antan, comme le scorbut.

Parmi les différentes vertus du citron.

1-Le citron dispose d'importantes vertus hydratantes puisqu'il contiendrait 88% d'eau.

2-Favorise la digestion : l'eau citronnée, consommée à jeun, permettrait d'améliorer le transit permettant ainsi de nettoyer notre système digestif et ainsi d'améliorer notre digestion.

3- Booste le système immunitaire : Le citron est un des aliments les plus riches en vitamine C, il aide à lutter contre la fatigue passagère ou chronique.

4- Il est également un diurétique doux et naturel, puisqu'il stimulerait l'activité des reins aidant ainsi à l'élimination des toxines de l'organisme.

5- Le citron aide à rafraîchir l'haleine et aussi à soulager les douleurs dentaires et la gingivite.

6- Nettoie la peau : Grâce à ces propriétés détoxifiantes et diurétique, l'eau tiède au citron

permet de garder une peau saine et lumineuse. En effet, il détruit quelques-unes des bactéries qui sont à l'origine de l'acné et d'autres problèmes de peaux.

La vitamine C et d'autres antioxydants que contient le citron contribuent également à effacer les rides et les taches, et à combattre les radicaux libres – responsable du vieillissement de la peau.

7- Équilibre le pH du corps : le citron, de par sa contenance en acide citrique, se combine dans l'organisme avec les minéraux et libère des résidus alcalins qui ont une action anti-acidifiante. De par son action alcalinisante, le citron permet donc au pH du corps de s'équilibrer.

8- Un coupe-faim naturel : Le citron est un coupe-faim car il contient de la pectine, le citron envoie un message de satiété

9-Fait maigrir : Sa forte teneur en vitamine C booste l'organisme permettant ainsi de brûler plus de calories (**Benavente-Garcia et al ., 2008**).

I. 9-Précautions :

Le citron, la lime, ainsi que leurs jus, devraient également être évités par les personnes souffrant de reflux gastro-œsophagien, d'œsophagite peptique et de hernie hiatale (en phase aiguë de ces maladies). Ces aliments peuvent causer une irritation de la muqueuse de l'œsophage ou causer des brûlures épigastriques. Le jus de lime cause une diminution de l'activité anticoagulante de la warfarine(**Adepoju et al., 2010**)

II. Stress oxydatif

II. 1-Généralité et définition:

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques (**Desceemaeker, 2004**).

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre de la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants (**Pincemail, 1999**).

La formation d'espèces réactives n'est pas toujours synonyme de toxicité. En effet, certaines sont des intermédiaires de processus physiologiques normaux.

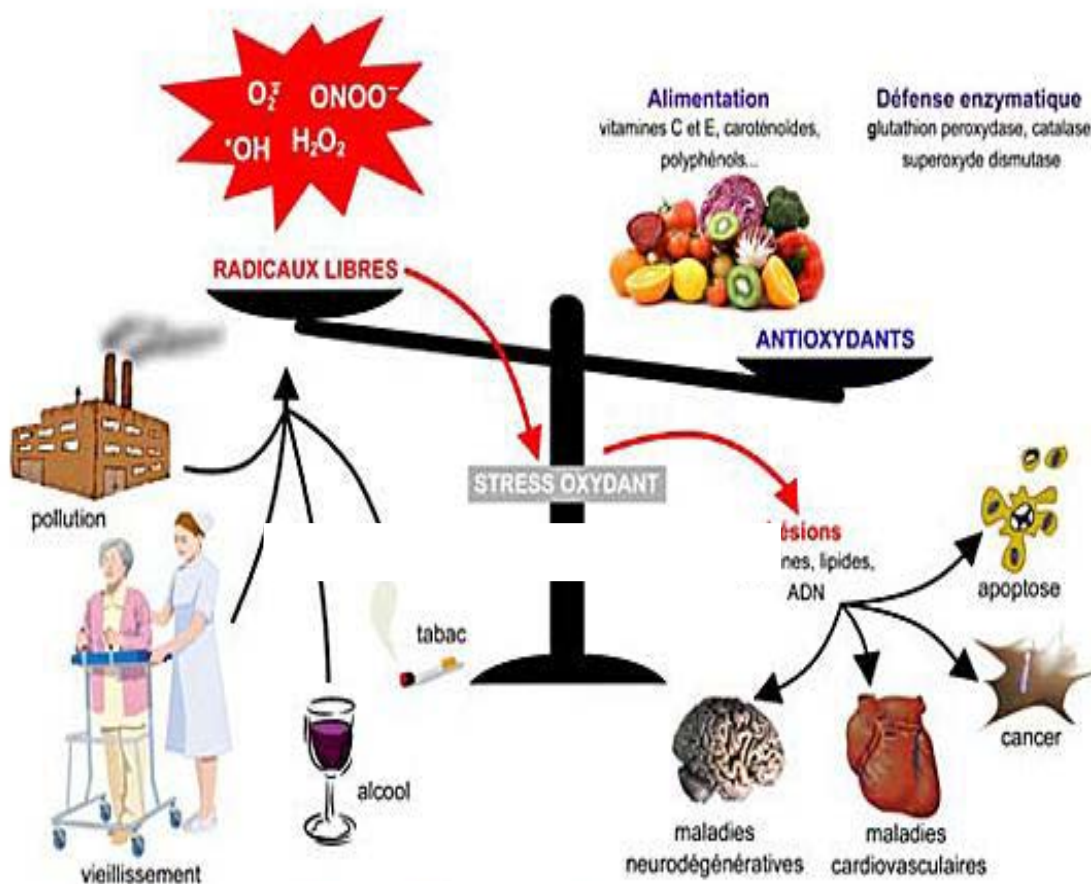


Figure 02 : Balance radicaux libres/antioxydants.

II. 2-Les radicaux libres :

II. 2-1-Définition :

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou électron non apparié) sur leur couche externe (**Toussant, 2008**). Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal, mais plus encore en cas d'exposition à diverses agressions de l'environnement (agents infectieux, pollution, UV, fumée de cigarettes, rayonnement) (**Tanguy, 2009**).

L'exercice vigoureux accélère la formation de radicaux libres, tout comme l'inflammation, l'exposition à certains produits chimiques, la fumée de cigarette, l'alcool, la pollution ambiante et les diètes riches en matières grasses (**Benbrook, 2005**). Les radicaux libres peuvent se former lorsque l'oxygène interagit avec certaines molécules. Très instables, ils réagissent rapidement avec les autres composants, essayant de capturer l'électron qui leur est nécessaire pour acquérir de la stabilité. Une réaction en chaîne débute lorsqu'ils attaquent la molécule stable la plus proche en lui «volant» son électron, la transformant elle-même en radical libre (**Tanguy, 2009**).

II. 2-2-Production des radicaux libres :

Toute réaction biochimique faisant intervenir l'oxygène moléculaire est susceptible de libérer des radicaux libres (**Vignais et al., 2002**). C'est ainsi que la chaîne respiratoire provoque une libération importante des radicaux libres (**Barouki, 2006**). D'autres activités enzymatiques fournissent aussi des espèces réactives oxygénées (ERO), notamment les NADPH oxydases au cours de l'inflammation (**Demoffarts et al., 2005**) et les cytochromes P450 au cours de la détoxification des xénobiotiques. Ainsi, la mitochondrie (**Morrow, 2000**), la membrane plasmique et le réticulum endoplasmique sont les sièges principaux de libération d'ERO (**Barouki et al., 2001**).

Les réductions mono-électroniques successives de l'oxygène donnent naissance à différentes ERO : l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle (OH) (**Carriere et al., 2006**). Dans cette chimie particulière, les métaux de transition, comme le Fe^{2+} et le Cu^{2+} (Fenton), agissent comme catalyseurs dans la formation du radical hydroxyle (**Haleng et al., 2007**).

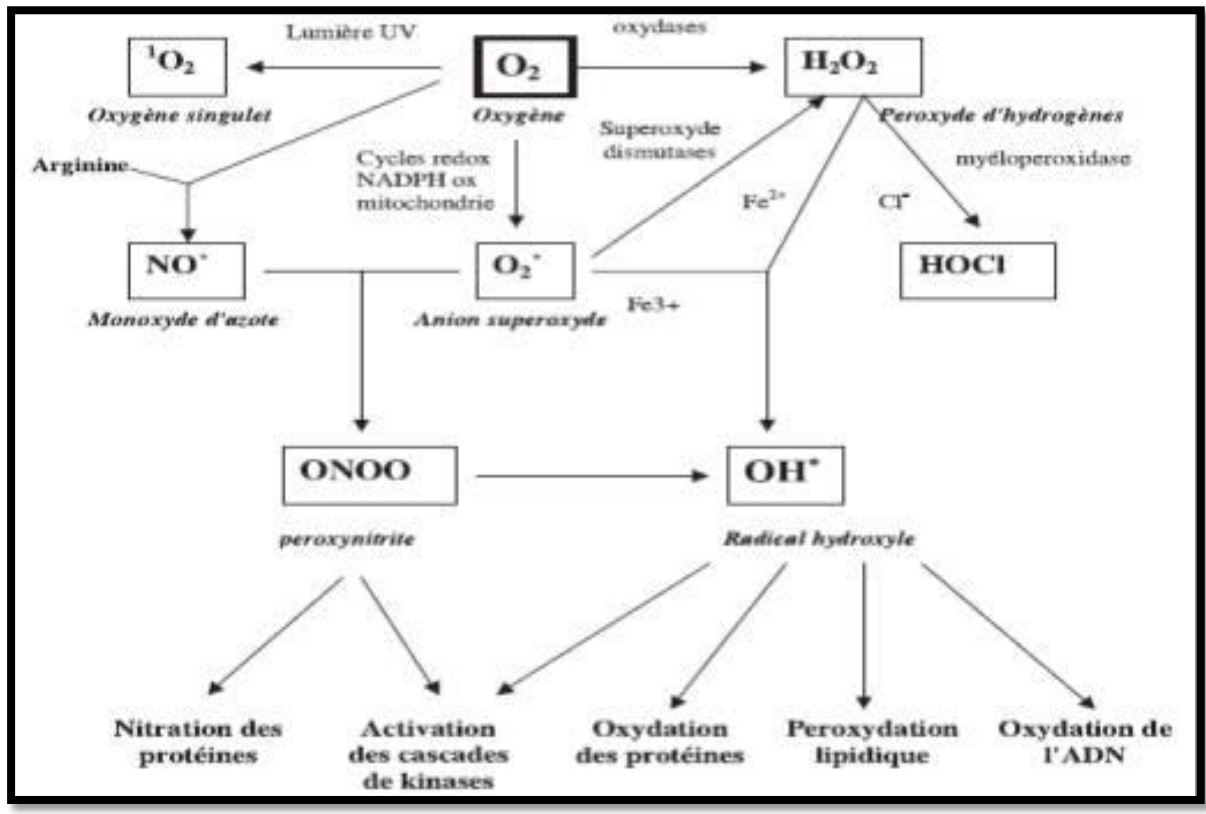


Figure03: Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

Tableau 04: Sources des radicaux libres (Haleng et al., 2007).

Endogène	Exogène
<ul style="list-style-type: none"> • Mitochondries • Phagocytoses • Xanthine oxydase • Métaux de transition • Peroxysomes • Exercice • Inflammation • Choc ischiémique/reperfusion 	<ul style="list-style-type: none"> • Cigarette • Radiation ionisantes • Pollutions diverses • Rayonnement UV • Produits chimiques & Médicaments

L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$), radical hydroxyle ($OH \bullet$) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tel que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

A côté des ROS, il existe des ERN (espèces réactives nitrogénase) dont le représentant majeur le monoxyde d'azote ($NO \bullet$). Synthétisé par les NO synthases (NOS), Le $NO \bullet$ est un radical peu réactif mais peut se lier aux radicaux libres oxygénés pour former des molécules plus toxiques. C'est aussi un agent vasodilatateur (**Hare, 2004**).

II. 2-3-Les principales espèces réactives de l'oxygène : (**Racch, 2004**).

-L'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) formé par la réduction mono électrique de l'oxygène : adition d'un seul électron, c'est le radicale le moins réactif mais le précurseur des autres ERO.



-Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) : produit à partir de l'anion superoxyde, réaction catalysé par la superoxydedismutase, la majeure partie de la toxicité de l'eau oxygénée provient de sa capacité à généré le radicale hydroxyle ($O^{\circ}H$)



-Radicale hydroxyle (OH°) : formé par la réaction de fenton à partir de H_2O_2 en présence des métaux de transition : l'ion ferreux réagit avec le peroxyde d'hydrogène. Le radicale hydroxyle OH° est le radicale le plus avide d'électron et le plus dangereux pour l'organisme. (**Racciah, 2004**).



II. 2-4-Dommages oxydatives des radicaux libres :

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme.

L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient

Lorsqu'il'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité

d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression

appelée « stressoxydatif » (**Rahman, 2002**). Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés :lipides, protéines, glucides et ADN (**Aurausseau, 2002 ; Valkoet al., 2006**).

II. 2-5--La peroxydation lipidique :

La peroxydation des lipides résulte de l'attaque par des radicaux libres des acides gras polyinsaturés (acide linoléique, linoléinique, arachidonique). Cette réaction est à l'origine de dommages tissulaires responsables de cancers, de maladies inflammatoires, du vieillissement et de lésions vasculaires comme l'athérosclérose (**Racciah, 2004**).

Le radical hydroxyle capable d'arracher un hydrogène sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, qui en présence d'oxygène va être oxydé en radical peroxy, c'est l'étape d'initiation (**Hennebelle et al., 2004**).

Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne, car le radical peroxy formé va s'attaquer à un acide gras voisin.

Une partie des hydroperoxydes formés vont être réduits et neutralisés par le glutathion peroxydases, Les hydroperoxydes non réduits vont se décomposer facilement en différents produits, les plus étudiés sont les aldéhydes : malondialdéhyde (MDA), l'hydroxynonanal et les isoprostanes(**Therond, 2006**).

Le MDA fait partie des aldéhydes réactifs issus de la décomposition des hydroperoxydes. Il est le produit le plus étudié de la dégradation des hydroperoxydes(**Flourie, 2006**).Il est considéré comme ayant une implication dans l'initiation des cancers (**Cadet, 1997**).

Cette attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes (oxydation des LDL) ou les phospholipides membranaires et elle est très dommageable pour les cellules tant au niveau de leur fonction que sur les propriétés de leurs membranes: altération de la fluidité membranaire, augmentation de leur perméabilité, diminution du potentiel de membrane, voire rupture (**Racciah, 2004**).

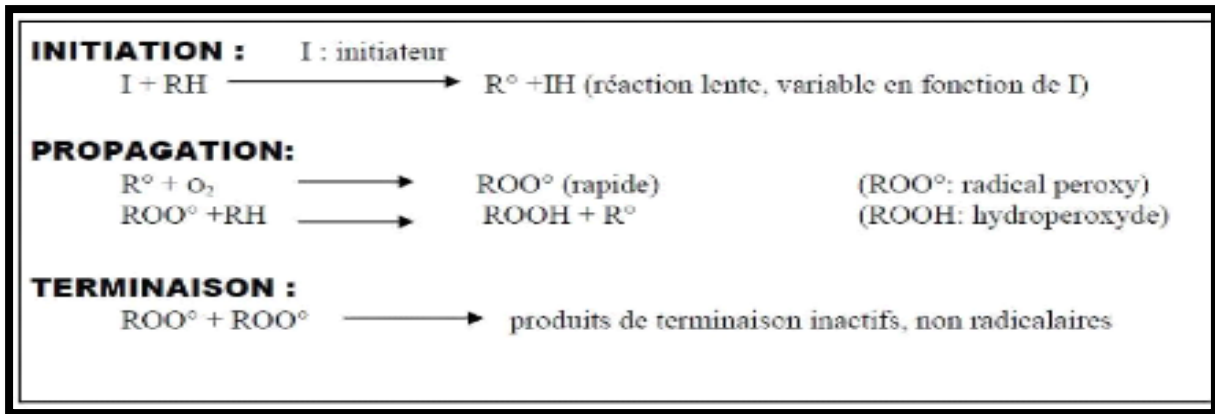


Figure 04 : Mécanismes de la peroxydation lipidique (Favier, 2003).

II. 3-La défense anti-oxydante :

L'organisme subit également le phénomène d'oxydation, mais il est équipé pour lutter contre ces altérations: un énorme système de défense est en permanence mis en place, avec des systèmes enzymatiques et/ou des systèmes dégénératifs de complexe mettant en jeu par exemple l'acide ascorbique (vitamine C) ou le glutathion.

II. 3-1-Les antioxydants :

Les antioxydants sont définis par Helliwell, 2012 comme «toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat. Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire (Tanguy, 2009).

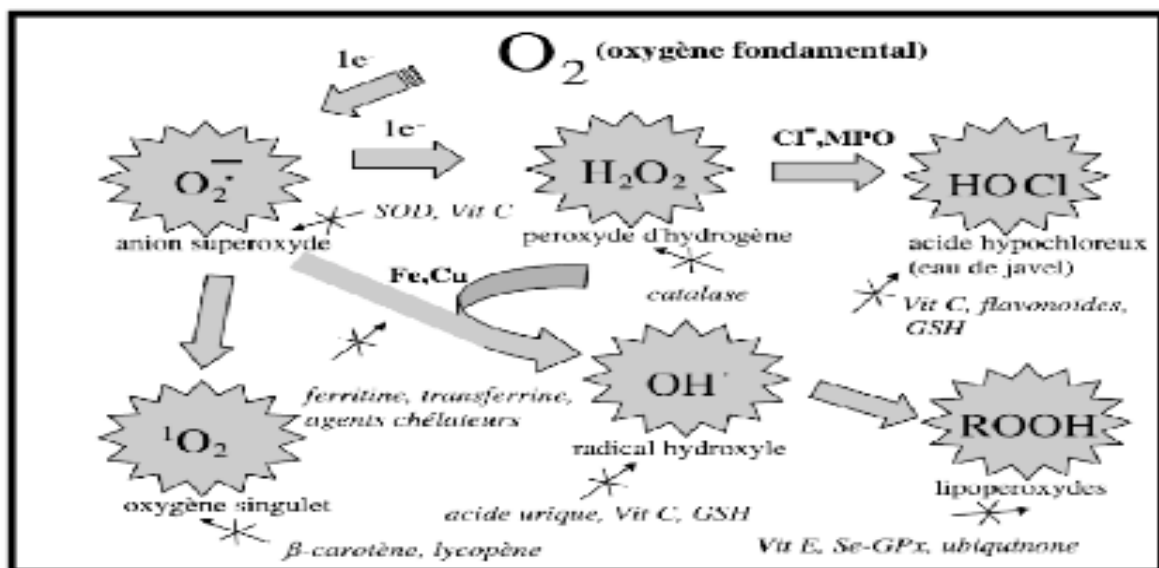


Figure 05 : Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydantes (Milbury, 2008).

II. 3-2-Classification des antioxydants:

Il existe de très nombreuses sources d'antioxydants (tant ceux fabriqués par l'organisme que ceux qui sont fournis par les aliments). Il est difficile de départager, par rapport à la quantité totale d'antioxydants présents dans l'organisme, la proportion d'antioxydants attribuables à l'alimentation (antioxydants exogènes) et la proportion attribuable à la synthèse par l'organisme (antioxydants endogènes). Cela dit, on en sait beaucoup sur le rôle et l'importance relative des sources d'antioxydants endogènes et exogènes (**Benbrook, 2005**).

II. 3-2-1- Antioxydants endogènes :

Les antioxydants endogènes sont des enzymes ou protéines antioxydants (Superoxydedismutase, Catalase, et Glutathion peroxydase) élaborés par notre organisme avec l'aide de certains minéraux. Elles sont présents en permanence dans l'organisme mais leur quantité diminue avec l'âge (**Mika et al., 2004**).

II. 3-2-2-Antioxydants Exogènes :

II. 3-2-2-1-L'alimentation :

Les fruits et légumes qui composent notre alimentation sont riches en antioxydants comme la vitamine E et C, le β - carotène et les composés phénoliques (**Garait, 2006**).

II. 3-2-2-2-Les médicaments :

Ces agents thérapeutiques ont des propriétés anti-oxydantes comme les anti-hypertensifs, les anti-inflammatoires non stéroïdiens et les bêtabloquants (**Aouissa, 2002**).

Le schéma suivant représente les différents antioxydants exogènes et endogènes.

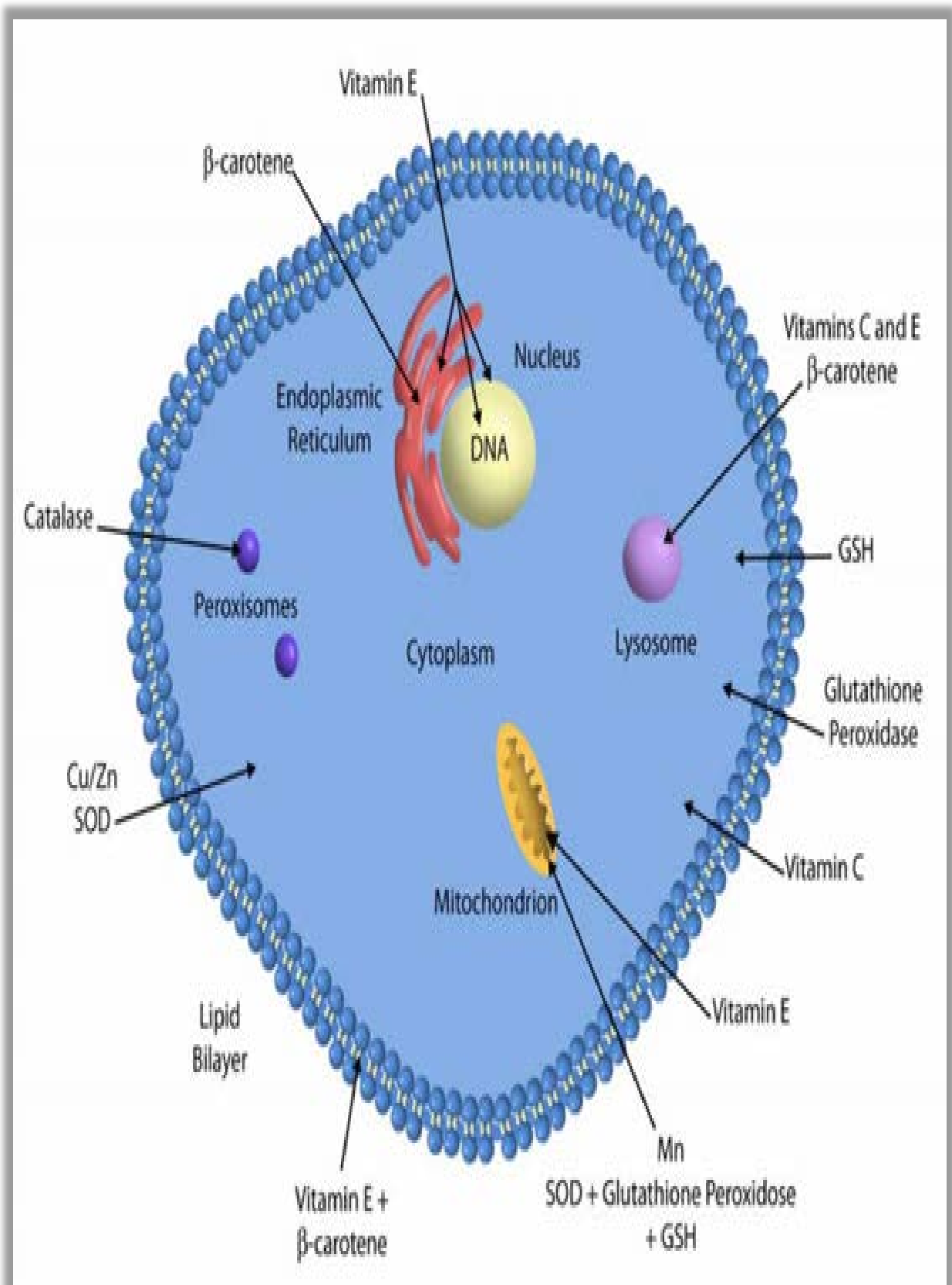


Figure 06 : Répartition des principales défenses anti-oxydantes dans la cellule (Garait, 2006).

III. 1-Les Composés phénoliques :

III. 1-1-Définition :

Les poly-phénols ou composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal.

Plus de 8000 composés naturels appartiennent à cette famille et le nombre ne cessent de croître ils ont en commun un noyau benzénique portant au moins un groupement hydroxyle (Ignat et al., 2011).

III. 1-2-Classification :

Selon leurs caractéristiques structurales, ils se répartissent en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH) (Hennebelle et al., 2000). Ils comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les lignanes et lignines et les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins, sont considérés comme les principaux composés phénoliques (Harbone, 1993).

Tableau 05 : Quelques composées des poly-phénols (Macheix et al., 2006).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféique, férulique Scopolétine, esculétine	Pomme de terre, pomme Citrus
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C ₆ -C ₅ -C ₆	Flavonoïdes • Flavonols • Anthocyanes • Flavanols • Flavanones Isoflavonoïdes	Kaempférol, quercétine Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine Daidzéine	Fruits, légumes, fleurs Fleurs, fruits rouges Pomme, raisin Citrus Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, kaki

III. 1-3-Mécanismes antioxydants des systèmes phénoliques :

Les principaux oxydants dans les milieux biologiques sont les radicaux libres et les métaux de transition. Les poly-phénols désactivent les radicaux libres *via* trois mécanismes :

III. 1-3-1-Transfert d'atome d'hydrogène (HAT, hydrogen atom transfer):

L'antioxydant phénolique agit avec le radical libre par transfert d'un atome d'hydrogène *via* la rupture homolytique de la liaison O-H.



Les produits de cette réaction sont la forme réduite (RH) du radical néfaste, et le radical ArO• (forme oxydée de l'antioxydant). Bien que cette réaction donne naissance à un autre radical libre, celui-ci est moins réactif.

III. 1-3-2-Transfert mono-électronique d'électron (SET, single electron transfer) :

Dans ce mécanisme, un électron est transféré au radical libre R•. L'anion R⁻ et le cation radical ArOH^{+•} ainsi formés sont généralement des entités stables.



Le potentiel d'ionisation est le facteur déterminant du pouvoir piègeur d'électrons. Un potentiel bas implique un arrachement facile d'électron et en conséquence une réaction avec le radical libre (**Leopoldini, 2011**).

III. 2-Les flavonoïdes :

III. 2-1-Définition et historique :

Le terme *flavonoïde* est dérivé du mot « Flavus » en latin, qui signifie jaune (**Prochazkova et al., 2011**).

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de composés phénoliques, avec plus de 6000 composés naturels. Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux.

Les flavonoïdes sont souvent rencontrés dans les légumes feuilles (salade, Chou, épinard, etc.) ainsi que dans les téguments externes des fruits (Knežević et al., 2012).

III. 2-2-Structure :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure

2-phényl chromane (Yao et al., 2004). Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux. Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connus

(Edenharder, Grünhage., 2003).

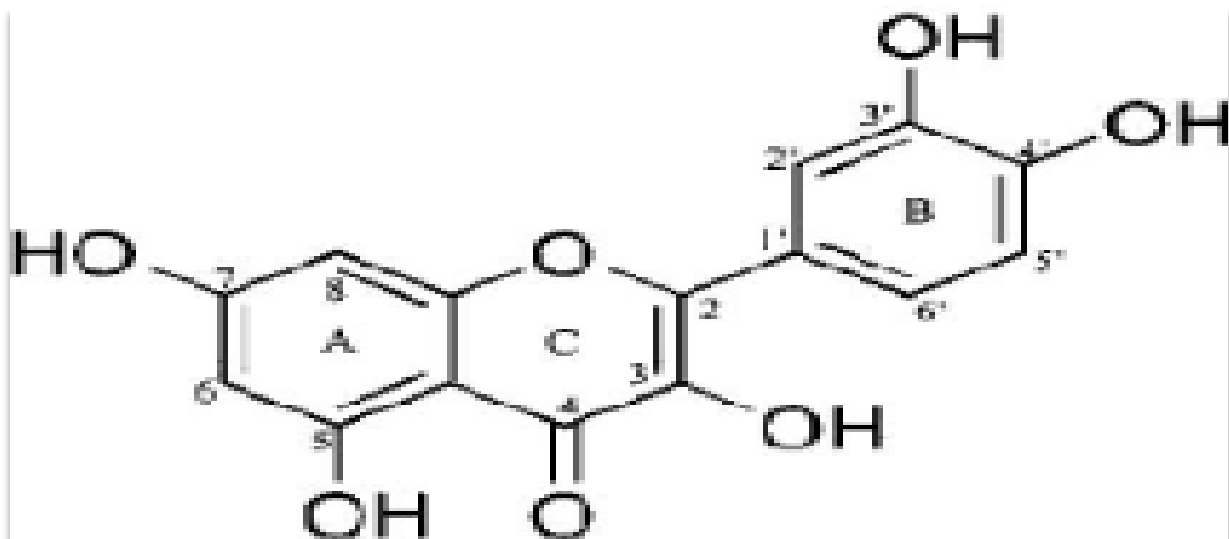


Figure 07 : Structure de flavonoïdes (Terrier, 2010).

III. 2-3-Définition de citro-flavonoïdes :

Les citro-flavonoïdes sont des poly-phénols de la famille des flavonoïdes que l'on trouve spécifiquement dans l'écorce des agrumes (orange, citron, pamplemousse, mandarine, orange amère). Ce sont des pigments neutralisant les radicaux libres. Ils sont antioxydants et améliorent l'absorption de la vitamine C. Les citro-flavonoïdes de *citrus* sont riches en rutine, hespéridine, érodyctol et naringénine (Jagetia et al., 2003).

III. 2-4-Localisation:

Sur le plan cellulaire, les flavonoïdes sont synthétisés dans les chloroplastes puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles, la répartition de ces composés montre des accumulations très localisées, généralement en relation avec une fonction physiologique ou avec l'interaction de la plante avec son environnement.

Ainsi, les flavonoïdes qui ont une localisation épidermique ont un rôle d'écran vis-à-vis des rayonnements solaires, tandis que ceux qui sont impliqués dans les mécanismes de défense ont plutôt une localisation sous épidermique (**Boudjellal, 2009**).

III. 2-5- Biosynthèse :

Les flavonoïdes possèdent tous le même élément structural de base commun, car ils dérivent d'une origine biosynthétique commune. Le cycle A est formé à partir de trois molécules de malonyl-coenzyme A (malonyl-CoA), issues du métabolisme du glucose (voie de la glycolyse).

Les cycles B et C proviennent eux aussi du métabolisme du glucose, mais par la voie du shikimate via la phénylalanine qui est convertie en p-coumarate puis en p-coumaroyl-CoA, le p-coumaroyl-CoA et les 3 malonyl-CoA se condensent en une seule étape enzymatique pour former une chalcone, la 4,2'.4',6'-tétrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthétase).

Le cycle C se forme par cyclisation de la chalcone, réaction catalysée par la chalcone-isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à un seul énantiomère 2(S)-flavanone: la naringénine. Ce cycle s'hydrate ensuite pour former les différentes classes de flavonoïdes (**Maamri, 2008 ; Kanoun, 2011**).

La chalcone (4,2'.4',6'-tétrahydroxychalcone) est métabolisée en différentes classes de flavonoïde : flavanone, aurone, flavanonol, flavone, anthocyane et flavonol.

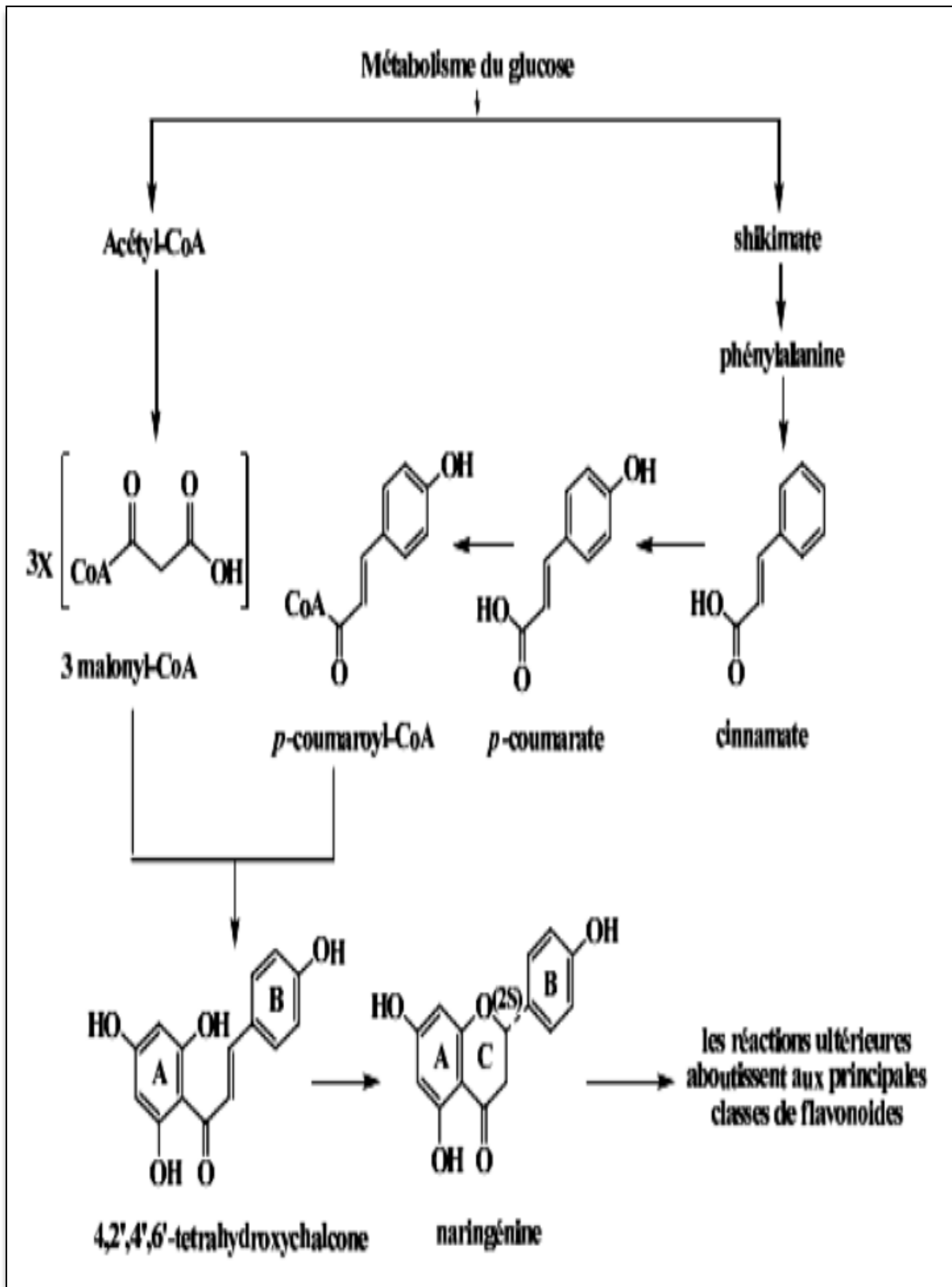


Figure 08 : Biosynthèse des flavonoïdes illustrant les voies de l'acétyle CoA et de la phénylalanine (Terrier, 2010).

III. 3-La vitamine C :

III. 3-1-Historique :

La vitamine C fût constatée par Amiral James Lind 1716-1794 (1747) .Il l'utilisa du jus de citron pour sauvé les marins du scorbut 40 ans après sa découverte fût appliquée par la marine.Ce n'est qu'en 1928 qu'un biochimiste hongrois, Albert SzentGyörgyi, isole une substance cristalline du jus de citron qu'il dénomma « acide ascorbique » en référence à ses effets bénéfiques sur le scorbut. L'acide ascorbique est appelé de manière plus courante« **vitamine C** »(SinghetErnst, 2011).

III. 3-2-Définition :

La vitamine C est le terme générique pour définir tous les composés ayant les propriétés de l'acide ascorbique, elle est hydrosoluble, sensible à la chaleur, à l'eau et à la lumière.

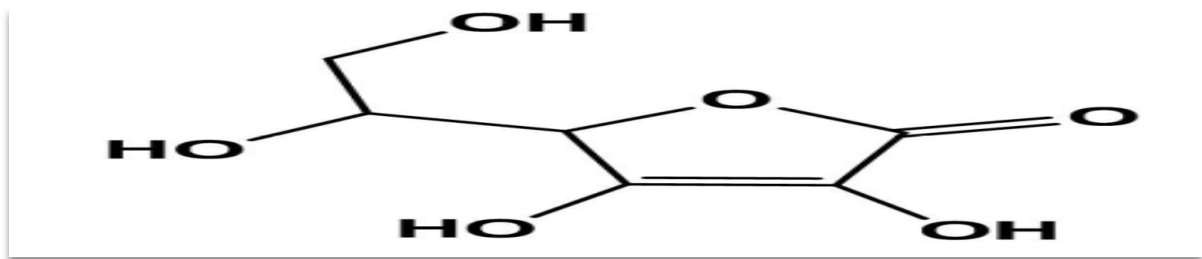


Figure 09 : Structure de l'acide ascorbique

- L'acide ascorbique est formée de 6 atomes de Carbone, 8 atomes d'hydrogènes et 6 atomes d'oxygènes, sa forme oxydée est peu présente dans le plasma car rapidement réduit en acide ascorbique par le glutathion notamment (Fain, 2004).

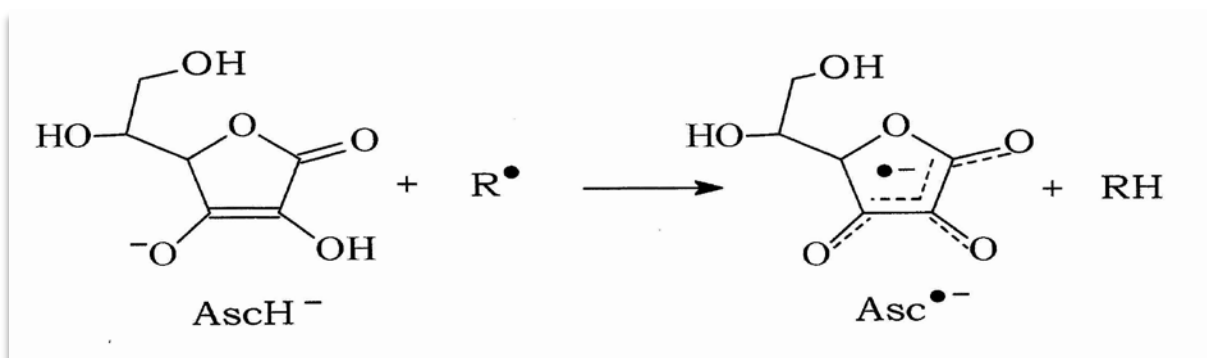


Figure 10: Equation entre l'Acide Ascorbique et Déshydroascorbique.

III. 3-3- Source de vitamine C :

Comme la vitamine C n'est pas synthétisée par l'homme, les végétaux constituent la principale source, en particulier les légumes verts feuillus et les fruits comme ceux de la famille des agrumes, les kiwis, la tomate...etc.

III. 3-4-L'apport journalier recommandé :

La quantité de vitamine C quotidienne recommandée pour un adulte est de 60 mg.

La concentration plasmatique en vitamine C, est un bon indicateur pour connaître le statut vitaminique. Chez le jeune adulte la concentration plasmatique optimale de vitamine C serait de 60 $\mu\text{mol/L}$ selon l'étude SUVIMAX (Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants). C'est à cette concentration que le pouvoir antioxydant serait maximal, assurant ainsi la protection de la population vis-à-vis des pathologies cardiovasculaires, cancéreuses et la cataracte (Joas, 2009).

III. 3-5-Le métabolisme et l'élimination de l'acide ascorbique :

La plupart des animaux métabolisent l'AA à partir du glucose à l'aide d'enzymes contrairement à l'homme et certains singes et oiseaux qui nécessitent sa présence dans l'alimentation. L'absorption intestinale s'effectue au niveau de l'iléon selon un coefficient d'absorption de 85 % qui diminue pour de larges doses (saturable au-delà de 180 mg/j).

La vitamine C circule dans le sang sous forme d'acide ascorbique (80 à 95%) et d'acide déshydroascorbique (5 à 20%).

La réserve de l'organisme est estimée à environ 1500 mg, le turnover quotidien est de 45 à 60 mg/j, et a une durée de vie de 10 à 20 jours (Herberg et al., 2004).

L'AA est principalement éliminé par l'excrétion urinaire lorsque la concentration plasmatique excède 14 mg/L, elle augmente avec la prise alimentaire à partir d'une prise quotidienne de 60 à 70 mg/j (Hirschmann, 1999).

L'AA est le cofacteur d'un certain nombre d'enzymes impliqués dans la biosynthèse du collagène, de la carnitine et de neurotransmetteurs (Levine, 1996).

III. 3-6-Rôles :

Cette vitamine joue un rôle important contre le stress oxydatif provoqué par les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO). Dans ce cas, l'ascorbate participe aux mécanismes de défense antioxydants qui vont réduire le niveau intracellulaire des ERO (**Foyer et al., 1994**).

La molécule d'acide ascorbique semble jouer un rôle dans des mécanismes aussi diversifiés qu'importants au niveau de la santé humaine : réactions immunitaires, oxydation cellulaire, cancer, hypertension, risques cardiovasculaires et cataracte (**Naidu, 2003**).

L'ascorbate en tant qu'agent réducteur donneur d'électron est l'antioxydant hydrosoluble le plus abondant dans le règne vivant. Cette propriété chimique est probablement la base de toutes les fonctions connues de la vitamine C (**Linster et Van Schaftingen, 2006**).

Deux électrons arrachés à la double liaison entre le C2 et C3 de la molécule d'ascorbate participent à la réaction d'oxydoréduction.

Le premier rôle de l'ascorbate, est sa capacité à réagir avec les espèces oxydantes pour les transformer en molécules moins réactives et ainsi éviter l'accumulation de radicaux libres dans la cellule. Les cibles de la vitamine C peuvent être des espèces réactives à l'oxygène comme l'ion superoxyde, les radicaux hydroxyl ou peroxy ou à l'azote.

Les composés tels que l'acide hypochlorique, les nitrosamines ou l'ozone peuvent également être réduits ou engendrer la formation de molécules qui seront par la suite réduites par l'ascorbate. Enfin, la vitamine C réagit avec les ions métalliques (**Padayatty et al., 2003**).

La vitamine C permettrait d'expliquer son rôle dans la prévention de certaines maladies, voire de certains cancers (**Le Müel et al., 1998**).

III. 3-7-La carence en vitamine C :

La carence en vitamine C responsable de la pathologie doit être profonde et durable, mais, rappelons-le, ne touchera pas toutes les espèces animales: l'homme, le cobaye et le singe sont en effet incapables de synthétiser la vitamine C en raison d'un déficit enzymatique particulier, une oxydase appelée L gulonolactone-oxydase, qui va réaliser l'oxydation du glucose et sa transformation en acide déhydroascorbique.

Le scorbut résulte d'un déficit en vitamine C caractérisé par une valeur strictement inférieure à 1 à 2 $\mu\text{mol/L}$ (**Johnston et al., 1998**) et des signes cliniques, incluant une fragilité capillaire, un syndrome hémorragique, une asthénie, une anorexie, des œdèmes ou des arthralgies, et un signe biologique à type d'anémie (**Hirschmann et al., 1999**).

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de physiologie, physiopathologie et biochimie de la nutrition (PPABIONUT), faculté des sciences de la nature et de la vie ; sciences de la terre et de l'univers, Université de Tlemcen.

I. Caractéristiques du citron étudié :

Dans ce travail nous avons choisi d'utiliser une espèce de citron « *Citrus Limon* » de la famille de rutacées planté à Tlemcen.

Tableau 06: Caractéristiques du citron étudié

Caractéristiques	Moyenne ± écart type
Poids du citron (g)	217,37± 3,10
Poids de la peau (g)	80,27 ± 8,91
Masse de la peau par rapport à la masse du fruit %	26,93 ± 2,31

II. Préparation des échantillons :

II. 1-Ecorce fraîche :

Dans un erlenmeyer, **5g** d'écorce de citron mixés est mélangés avec **50 ml** d'eau distillé à 4°C et **50 ml** d'eau distillé à 90°C puis **60ml** de méthanol sont ajoutées. Le mélange est mis en incubation à 4°C pendant trois jours.

Le mélange est ensuite filtré. Le filtrat obtenu est centrifugé à 1500 t/min pendant 10 minutes. Le surnageant est réservé.

II. 2-Ecorce sèche :

Une partie de l'écorce de citron est coupée en petits morceaux puis séchée dans une étuve à 40°C pendant 3 jours. L'écorce séchée est ensuite mixée suivie par une extraction dont les étapes sont les mêmes que l'écorce fraîche.

III. Dosage de poly-phénols :

III. 1-Principe :

Le Folinest réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

L'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés.

Le dosage des poly phénols a été effectué à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible à double faisceaux de type SHIMADZU UV -2401PC, la technique à double faisceaux a aidé à éliminer l'absorbance du blanc et donner directement la densité optique de l'échantillon (Boizot et Charpentier, 2006).

III. 2-Mode opératoire :

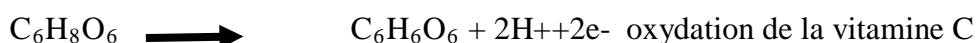
200 µl de chaque échantillon sont introduits dans un tube, **1ml** de réactif de FolinCiocalteu dilué 10 fois est ajouté. Après 4 minutes, **800 µl** de solution de carbonate de sodium est ajouté à chaque échantillon. L'absorbance est mesuré à **765nm** après **2 h** d'incubation.

IV. Le dosage indirect de la vitamine C :

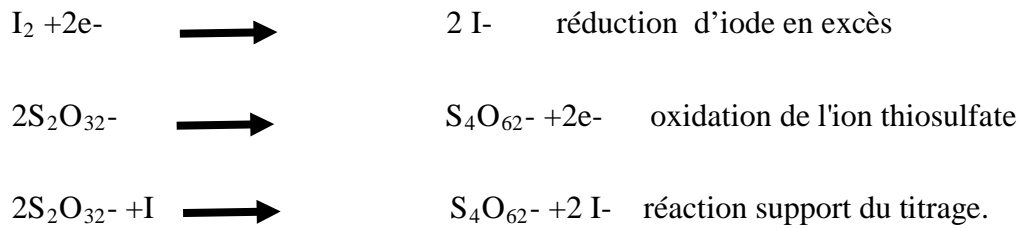
IV. Principe de dosage :

La totalité de la vitamine C réagit avec le d'iode en excès l'iode restant est dosé par une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Lorsqu'il n'y a plus de molécule de vitamine C, les molécules d'iode vont s'accumuler dans la solution, cette accumulation indique la fin de titrage et la mise en évidence par la formation d'un composé bleu de grande intensité, ce composé est formé par l'iode et l'amidon

*couples oxydant / réducteur : $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6 / \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$; I^2 / I^- .



*couplesoxydant / réducteur: $\text{S}_4\text{O}_6^{2-} / \text{S}_2\text{O}_3^{2-}$; I_2 / I^- .



IV. 2-Mode opératoire :

Dans un bécher sont introduit **10ml** de chaque extrait et **20ml** d'iode, le mélange est agité puis incubé pendant 4 minutes. **10 gouttes** de d'empois d'amidon sont ajoutés. La titration est réalisée par une solution de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ jusqu'à la disparition de la couleur.

V. Mesure de l'activité anti-oxydante:

V. 1-Test de piégeage du radical DPPH :

V. 1-1-Objectif :

Le test de DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) permet d'étudier l'activité anti radicalaire de molécules contenues dans les extraits préparés (Mighri et al., 2010).

V. 1-2-Principe :

Le changement de la coloration est proportionnel à l'activité anti-oxydante ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (Moon et Shibamoto, 2009)

Le DPPH est un radical stable et il présente en solution une absorption caractéristique à 517 nm qui lui confèrent une coloration violette. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres.

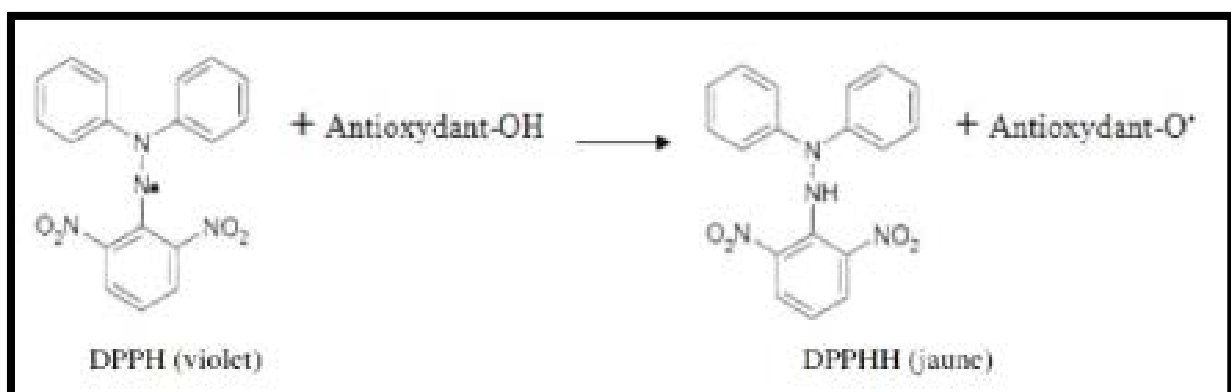


Figure 11 : la réduction de DPPH (Congo, 2012).

V. 1-3-Mode opératoire :

Dans 4 tubes à essais sont introduits :

- Le 1^{er} tube (témoin) : contient **1ml** de la solution méthanoïque de DPPH et 1ml de méthanol
- les 3 tubes restants : contiennent **1 ml** de la solution de DPPH préparée à 100 mM avec des volumes croissants des extraits préparés (10µl ; 30 µl ; 50 µl ; 70 µl).

Les solutions sont vortexées et l'absorbance est mesurée à **515 nm** par un spectrophotomètre pendant 30 minutes.

V. 2-Test d'hémolyse :

V. 2-1-Principe :

-Ce test consiste à soumettre un échantillon de sang à une agression oxydante (production contrôlée des **RL**)

-La lyse des cellules sanguines est induite par un générateur des **RL** le **TBHP**, les érythrocytes ainsi libèrent tout leur équipement enzymatique et moléculaire pour résister à cette agression jusqu'à ce que la membrane soit modifiée et que la cellule laisse échapper son contenu (**Lesgard, 2000**).

V. 2-2-Mode opératoire :

Le sang prélevé est collecté dans des tubes héparinés puis centrifugés à **2000 t/min** pendant 10 minutes. Le plasma est éliminé et le culot est réservé. Trois lavages successifs sont effectués avec du tampon phosphate. Chaque lavage est suivi d'une centrifugation à **2000 t/min** pendant **10 minutes**. Le surnageant est éliminé et le culot contenant les érythrocytes est dilué dans un tampon de phosphate pour obtenir un hématocrite de 2 %.

A la solution de globules rouges de 2 % est ajoutée **50 µl** de l'extrait d'écorce et l'incuber pendant 30 min à 37 C° sous agitation, puis **5 µl** de TBHP (pro-oxydant) sont ajoutés. Une deuxième incubation à 37°C pendant 2h sous agitation est réalisée.

V. 2-3-Taux d'hémolyse :

Dans un ependorf, **100 µl** de chaque échantillons sont introduits puis **900 µl** de PBS sont ajoutés. Le mélange est ensuite agité puis centrifugé à 2000 t/ min pendant 10 min. Lire la DO du surnageant à **545 nm** contre le blanc (PBS).

V. 2-4-Hémolyse Total :

Dans les épendorfs sont introduits **200 µl** de chaque échantillon et **800 µl** d'eau distillée glacée à 4 °C, le mélange est agité puis incubé pendant **15 min** à **4° C**. Lire la DO du tube PBS contre l'eau distillée. Des aliquotes de **360 µl** de l'hémolyse totale sont réservés vue du dosage des paramètres de stress oxydatif.

VI. Mesure des marqueurs de stress oxydatif:**VI. 1-Dosage du GSH :****VI. 1-1-Principe :**

Le taux du glutathion réduit (GSH) est mesuré sur le plasma et le lysat érythrocytaire, le dosage est réalisé par le réactif d'Ellman (DTNB) (**Ellman,1959**). La réaction consiste à couper la molécule d'acide 5,5dithiodis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par le GSH, ce qui libère l'acide thionitrobenzoïque (TNB). Ce dernier à pH (8-9) alcalin présente une absorbance à 412 nm avec un coefficient d'extinction égal à $13,6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

VI. 2-Dosage du MDA :**VI. 2-1-Principe :**

Le malondialdéhyde (MDA) plasmatique et érythrocytaire est mesuré selon la méthode de Draper & Hadley, 1990. Il représente le marqueur le plus utilisé en peroxydation lipidique, notamment par la simplicité et la sensibilité de la méthode de dosage. Après traitement par l'acide à chaud, les aldéhydes réagissent avec l'acide thiobarbiturique (TBA) pour former un produit de condensation chromogénique consistant en 2 molécules de TBA et une molécule de MDA. L'absorption intense de ce chromogène se fait à une longueur d'onde de 532 nm. La concentration du MDA est calculée en utilisant le coefficient d'extinction du complexe MDA-TBA ; $\epsilon = 1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ à 532 nm.

VII. 7-Analyse statistique :

Les résultats sont présentes sous forme de moyenne \pm erreur stand. .Après analyse, La comparaison des moyennes entre les trois extrais de citron est effectuée par le test « t » de Student. Tous les tests sont réalisés à l'aide du programme STATISTICA version 4.1 (STATSOFT, TULSA, OK).

I. Taux des polyphénols

Les résultats montrent que le taux des polyphénols dans l'écorce fraîche du citron est significativement augmenté par rapport à l'écorce sèche.

II. Taux de la vitamine C

Les résultats montrent que la concentration en vitamine C dans l'écorce sèche (295.68g/kg) diminue significativement par rapport à l'écorce fraîche (364.20g/kg).

III. Mesure de l'activité anti-oxydante par le test de piégeage du radical DPPH

L'écorce sèche a un pouvoir d'inhibition de radical libre DPPH qui atteint 100% à 10 μ l et diminue jusqu'à 50 % à un volume de 70 μ l de l'extrait de l'écorce sèche (**Figure12**).

EC₅₀ de l'écorce sèche est de 70 μ l.

IV. Taux d'hémolyse en présence d'écorce fraîche de citron

Les résultats montrent que le taux d'hémolyse dans les tubes contenant les érythrocytes en présence de l'écorce fraîche (26.79%) diminue significativement comparé au TBHP. Aussi, le taux d'hémolyse en présence de l'écorce fraîche et du TBHP (35.37%) est diminué par rapport au TBHP (**Figure 13**).

V. Statut oxydant/antioxydant

1-Teneurs érythrocytaires en GSH en présence d'écorce fraîche de citron

Les teneurs érythrocytaires en GSH ne montrent aucune différence significative dans les tubes contenant les érythrocytes en présence de TBHP et du TBHP en présence de l'écorce fraîche par rapport au témoin. Par contre, la teneur en GSH augmente significativement en présence de l'écorce fraîche (**Figure 14**).

V. 2-Teneurs érythrocytaires en MDA en présence d'écorce fraîche de citron

Les résultats montrent que la teneur en MDA diminue significativement dans les tubes contenant les érythrocytes en présence de l'écorce fraîche ainsi comparé au témoin (PBS) Par ailleurs, la teneur en MDA est augmentée en présence du TBHP mais aussi en présence du TBHP et l'écorce fraîche (**Figure 15**).

Tableau 07 :Taux de la vitamine C et de Polyphénols dans l'écorce fraîche et sèche du citron

	Ecorce fraîche	Ecorce sèche
Taux en vitamine C (g/kg)	364,20 ± 28.35 ^a	295,68 ±10 ^b
Taux en polyphénols (µg EAG/mg)	3210,15 ± 212,63 ^a	5367,59 ± 106,97 ^b

Chaque valeur représente la moyenne ±écart type de la concentration de la vitamine C et polyphénols

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne ± écart type. La comparaison des moyennes entre les trois extrais est effectuée par le test « t » de Student. Les différences significatives entre les extraits sont marquées par les lettres différentes (a,b,c).

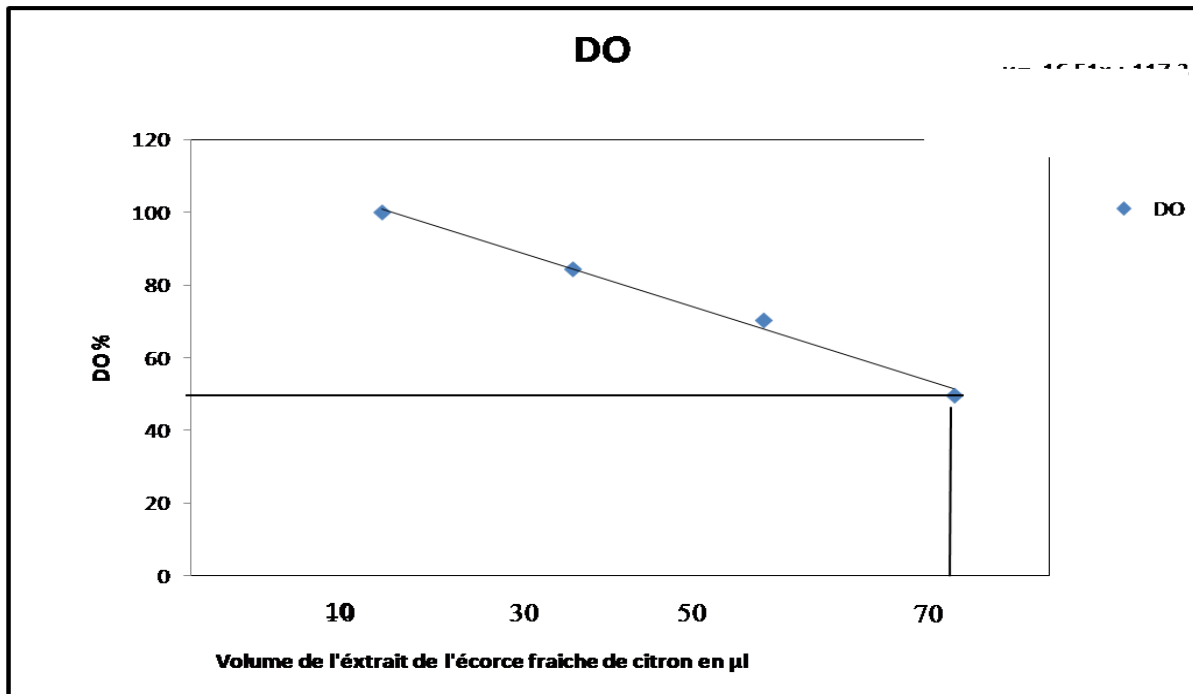


Figure 12: Pouvoir d'inhibition du DPPH (%) par rapport aux volumes (µL) de l'écorce fraîche du citron.

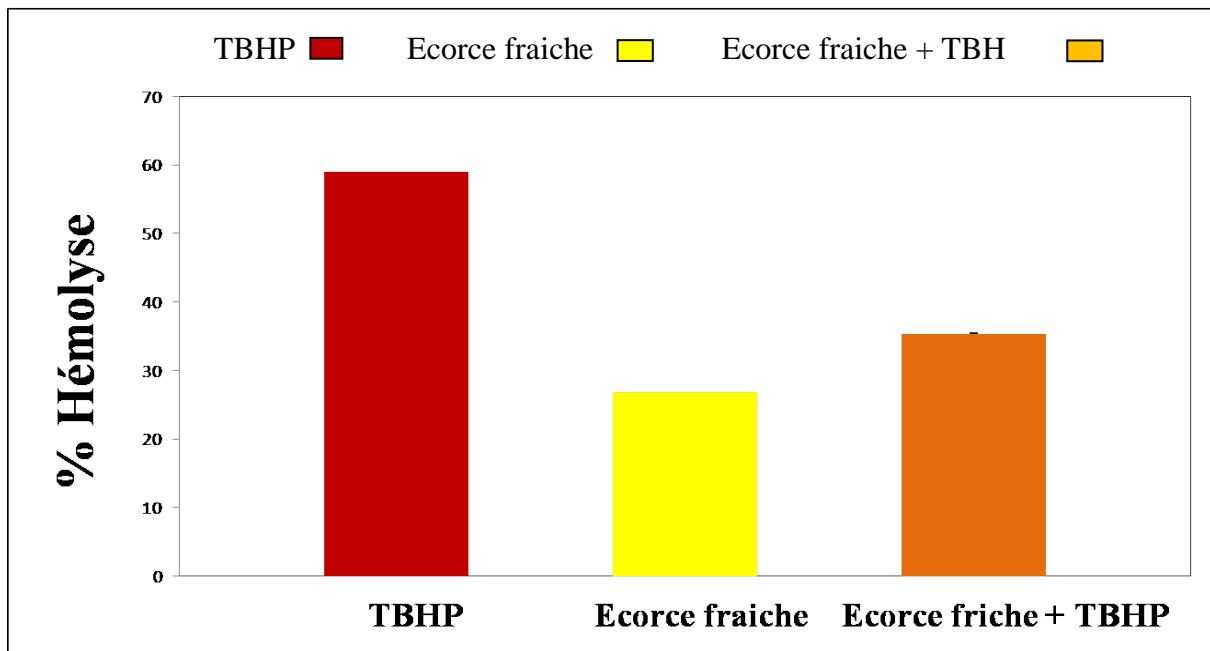


Figure 13: Taux d'hémolyse d'une solution de GR à 2% (V/V) en présence de l'écorce fraîche de citron, de TBHP et de TBHP + écorce fraîche.

Les érythrocytes sont incubés en présence d'écorce fraîche, de TBHP et de TBHP + écorce fraîche. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. La comparaison des moyennes entre les trois tubes est effectuée par le test « t » de Student.

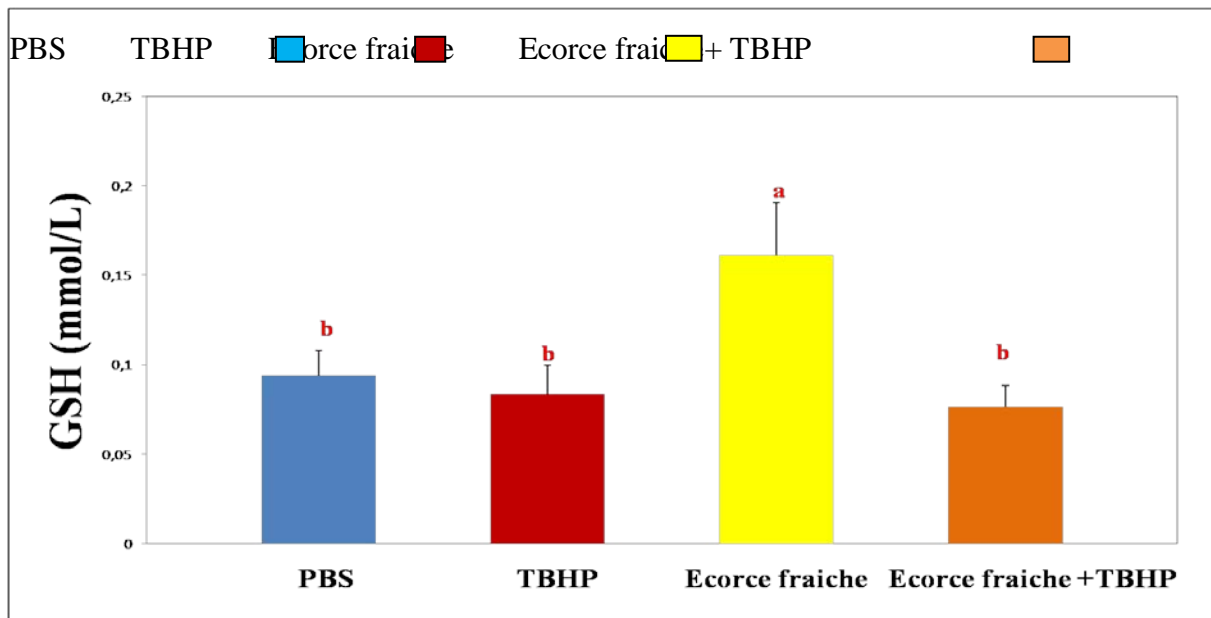


Figure 14: Teneurs érythrocytaires en GSH d'une solution de GR à 2% (v/v) et en présence de l'écorce fraiche de citron .

Les érythrocytes ont été incubés en présence de PBS, de jus ou écorce fraiche, de TBHP et de TBHP + écorce fraiche. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les différences significatives sont marquées par les lettres différentes (a,b).

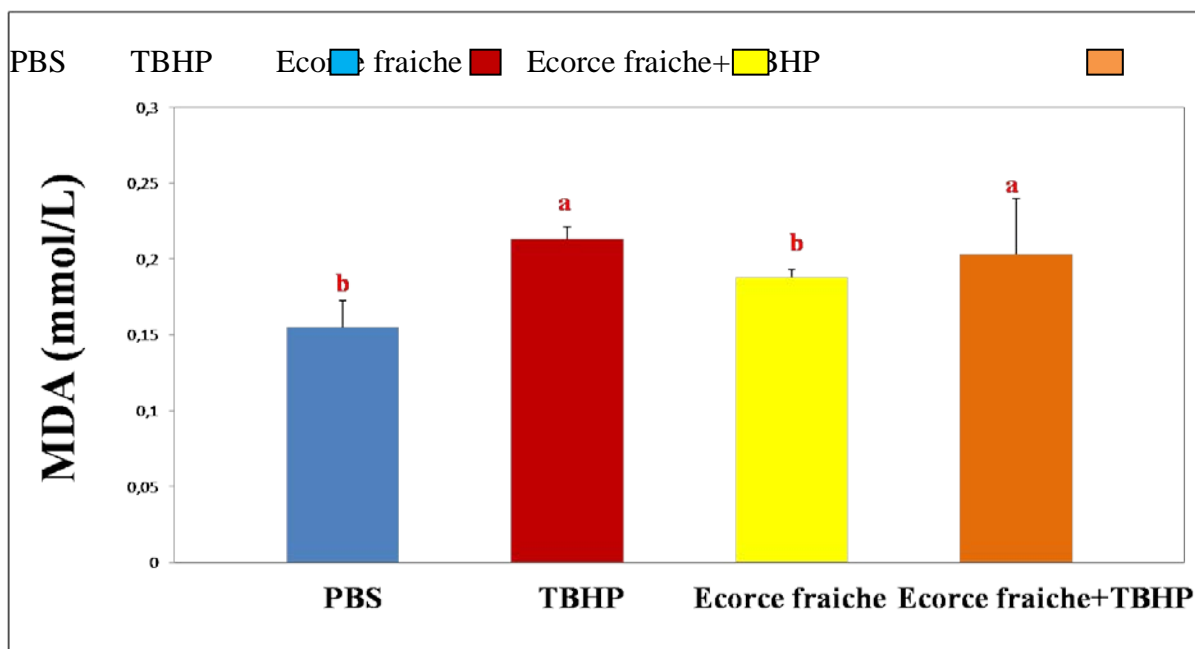


Figure 15: Teneurs érythrocytaires en MDA d'une solution de GR à 2% (v/v) et en présence de l'écorce fraiche de citron.

Les érythrocytes ont été incubés en présence de PBS, de jus ou écorce fraiche, de TBHP et de TBHP + écorce fraiche. Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne \pm écart type. Les différences significatives sont marquées par les lettres différentes (a,b).

Les citro-flavonoïdes sont des poly-phénols de la famille des flavonoïdes que l'on trouve spécifiquement dans l'écorce des agrumes (orange, citron, pamplemousse, mandarine, orange amère). Ce sont des pigments neutralisant les radicaux libres. Ils sont des antioxydants et améliorent l'absorption de la vitamine C (**Jagetia et al., 2003**).

Ce travail vise à doser et à mettre en évidence l'effet de deux antioxydants : les composés phénoliques et la vitamine C sur le stress oxydatif *in vitro*. Au cours de ce travail, nous avons aussi étudié la capacité de ces antioxydants à piéger les radicaux libres.

Concernant le dosage de la vitamine C, nos résultats ont révélé que les extraits des écorces fraîches (364,20g/kg) contiennent plus de vitamine C que les extraits des écorces sèches (295,68g/kg). La vitamine C est très sensible et s'oxyde facilement à la lumière et à la chaleur. Selon une étude, menée sur 2 cultivars, les conditions météorologiques avaient plus d'influence sur la concentration en vitamine C et en flavonoïdes du fruit que le cultivar lui-même (**Gonzales-Molina, 2008**). Ces résultats suggèrent que les peaux perdraient une certaine quantité de vitamine C sous l'effet de la température. En effet selon les travaux Higashi-Okai et ses collaborateurs la température élevées altèrent la vitamine C (**Higashietal., 2002**). Ce qui permet dans notre travail, d'expliquer la diminution du taux de la vitamine C lorsque l'écorce est séché.

Les poly-phénols ont été longtemps considérés comme des agents chimio-prévenants avec de fortes activités anti-oxydantes (**Lee et al., 2003**). Et forment les composés antioxydants poly-phénoliques alimentaires qui peuvent avoir des avantages potentiels dans la santé et la gestion des maladies. Les extraits d'agrumes et les flavonoïdes d'agrumes présentent une large gamme de propriétés biologiques prometteuses, y compris des activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-tumorales et anti-oxydantes et l'inhibition des caillots de sang (**Middleton et al., 1994**). Des espèces d'agrumes de diverses origines ont été évaluées pour leurs constituants phénoliques et leurs activités anti-oxydantes (**Anagnostopoulou et al., 2006**).

Nos résultats ont révélé que l'écorce sèche (5367,59 μg EAG/mg) est la plus riche en polyphénols comparé avec l'extrait d'écorce fraîche (3210,15 μg EAG/mg). Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Gorinsteina et ses collaborateurs 2001**, qui ont démontré que les polyphénols sont les composants majeurs de l'écorce sèche de citrus limon.

Concernant le test de DPPH, le radical libre DPPH permet l'estimation de l'activité anti-radicalaire de l'écorce sèche. Les résultats de notre travail montrent que l'extrait d'écorce sèche possède un pouvoir d'inhibition de radical libre DPPH qui atteint 100% à 10 μ l et diminue jusqu'à 50 % à un volume de 70 μ l de l'extrait de l'écorce sèche. Ces observations suggèrent que les poly-phénols de citron et particulièrement les citroflavonoïdes contribueraient en grande partie à l'activité anti-oxydante totale en raison de leur forte abondance dans l'écorce sèche.

Selon **Turkmen et al., 2007**, les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale. La vitamine C possède aussi une activité anti-radicalaire. En effet, la totalité de l'activité anti-radicalaire serait due à la vitamine C dans le cas de réactions très rapides, tandis que, dans les réactions à cinétiques lentes, ce serait les poly-phénols qui contribueraient en grande partie à l'activité antioxydante totale.

Ces résultats, sont en accord avec de nombreuses études issues de la littérature qui montrent la forte potentialité industrielle du recyclage de déchets de citron en tant qu'antioxydants (**Higashi, 2002**). L'écorce de citron 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 le cancer, et les maladies cardiovasculaires.

Concernant le test d'hémolyse l'incubation in vitro des érythrocytes isolés du sang humain avec des concentrations variables des extraits a été réalisée à fin de d'évaluer l'activité anti-hémolyse. Les érythrocytes constituent un modèle cellulaire très adéquat pour l'étude du stress oxydant. En raison de leurs facilités d'isolement, leurs simplicités, la richesse de leurs membranes en acides gras polyinsaturés et la concentration cellulaire élevée en oxygène et en hémoglobine, ces cellules sont extrêmement susceptibles aux endommagements oxydatifs (**Arbos et al., 2008**). Quand les antioxydants seront consommés, les radicaux libres agiront alors sur les parois des érythrocytes entraînant alors leur éclatement. Si dans le milieu sont présents des composés à activité anti-oxydante, l'hémolyse sera logiquement retardée (**Thomas, 2016**).

De nombreuses études réalisées sur les produits naturels ont prouvé que ce sont

particulièrement les composés phénoliques qui sont responsables de leur activité anti-oxydante (**Apostolidis et al ., 2007**).

Dans les conditions de ce test, les radicaux libres sont générés par le TBHP. Nos résultats ont révélé une diminution de l'hémolyse en présence de l'écorce sèche lorsque les globules rouges sont soumis à l'action pro-oxydante du TBHP.

L'extrait de l'écorce sèche montre des activités anti-hémolytiques de part la présence des citroflavonoïdes et de la vitamine C. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par d'autres auteurs qui ont confirmé que les citroflavonoïdes sont capables de piéger les radicaux libres en cédant l'hydrogène de leurs groupements hydroxyles. Ils renforcent aussi l'action de la vitamine C en empêchant son oxydation (**Sandharet al.,2011**).

Concernant les teneurs érythrocytaires du GSH, nos résultats révèlent de fortes teneurs en GSH en présence de l'écorce fraîche du citron. Ceci peut être expliqué par la capacité des cellules à réduire en masse le GSSG (glutathion oxydé) en GSH (glutathion réduit) lorsque la vitamine C est présente en très grande quantité (**Jones,2002**). Lorsque le TBHP est ajouté à l'écorce sèche du citron la teneur du GSH diminue. Ceci est dû à forte utilisation de la GSH au cours du stress oxydatif. En effet lors d'un stress oxydatif le GSH régénère les autres antioxydants que sont les vitamines C et E et l'ubiquinone sous leur forme initiale, après que ceux-ci aient réagi avec les radicaux libres (**Jones,2002**). Le glutathion permet aussi la neutralisation des radicaux libres générés par le TBHP empêchant ainsi l'oxydation des acides gras (**Jones et al ., 2002 ;Martin, 2003**).

Il y a certaines études qui montrent que la supplémentation de l'alimentation ou l'administration orale d'extraits végétaux riches en poly-phénols corrige également la chute du taux de GSH (**Mustafa et al.. 2006 ; Marquez et al., 2010**).

Le taux élevé du MDA reflète un stress oxydatif portant notamment sur l'oxydation des lipides (**Delattre et al., 2005**). Les résultats de notre étude ont montré que les concentrations en MDA érythrocytaires sont significativement augmentées dans les tubes contenant les érythrocytes en présence de TBHP par rapport au contrôle. Ces résultats sont en faveur de la présence d'un stress oxydant évident dû à la capacité de ce radical synthétique à générer des radicaux libres portant notamment sur l'oxydation des lipides ce qui augmente le taux de MDA. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études antérieures qui ont montré

que la décomposition thermique du TBHP produit un radical libre qui attaque les lipides polyinsaturés des membranes ce qui provoque la peroxydation lipidique (**Dwight et Hendry, 1995**).

Concernant à l'écorce sèche complexée au TBHP montre une augmentation très significative du MDA, cette élévation peut être expliquée par la capacité des antioxydants (polyphénols et vitamine C : présents dans l'écorce) à piéger les radicaux libres générés par le TBHP au lieu de capter le MDA et leur effet pro oxydant. Ce paradoxe de poly-phénols et vitamine C a été confirmé par (**Fukumoto et Mazza, 2000**).

Le citron (*Citrus limon*) est une source de composés bioactifs : vitamines C et flavonoïdes. Dans le but de valoriser l'écorce du citron, nous avons mesuré le taux de la vitamine C, des polyphénols, l'activité anti-radicalaire, anti-hémolytique et les concentrations en composés antioxydants.

Concernant le dosage de la vitamine C et des poly-phénols, l'écorce fraîche (364.20g/kg) est la plus riche en vitamine C comparée à l'écorce sèche du citron (295.68g/kg). A l'inverse l'écorce sèche (5367,59 µg EAG/mg) est plus riche en polyphénols par rapport à l'écorce fraîche (3210,15 µg EAG/mg).

L'exposition des érythrocytes à des conditions oxydatives résulte en la formation des radicaux libres qui conduisent finalement à la lyse cellulaire. Les antioxydants sont capables de contrecarrer la formation des radicaux libres et la lyse cellulaire.

En effet, nos résultats concernant le test hémolytique montrent une diminution du taux d'hémolyse dans les tubes contenant les érythrocytes en présence d'écorce de citron de part leurs richesses en poly-phénols et en vitamine C.

Pour l'étude du DPPH•, ce test révèle que les extraits d'écorce de citron présentent une activité anti-radicalaire qui atteint 100% à 10 µl et diminue jusqu'à 50 % à un volume de 70µl de l'extrait de l'écorce sèche

En ce qui concerne l'évaluation de certains marqueurs du statut oxydant / antioxydant au niveau du lysat érythrocytaire, il apparaît que ces poly-phénols et la vitamine C présente dans l'écorce de citron, diminuent la teneur en MDA et augmentent l'activité érythrocytaire du GSH. Ceci suggère que ces composants du citron améliorent le statut redox en stimulant le système de défenses antioxydants.

L'écorce de citron constitue donc une source intéressante d'antioxydants naturels qui peuvent remplacer les antioxydants synthétiques nuisible à la santé.

Les perspectives :

Au terme de ce travail, afin de valoriser le jus et l'écorce de citron il faut prendre en considération ces bienfaits qui représentent une source d'anti-oxydants. Pour cela :

- Il faut investir dans des projets pour le recyclage des écorces de citron.
- Utilisez le citron comme antioxydant naturel et évitez les antioxydants synthétiques.

- Encouragez la consommation quotidienne de citron par les autorités de santé publique.
- Evaluation de l'effet antioxydantes des citroflavonoïdes sur d'autres paramètres du stress oxydatif.
- Mesure de la quantité des autres vitamines dans le jus et l'écorce de citron.
- Faire des études sur d'autre espèce de citron

A

- **Adepoju G et Adeyemi T.** (2010). Evaluation of the effect of lime fruit juice on the anticoagulant effect of warfarin. *J.Young Pharm.*
- **Anagnostopoulou M.A., Kefalas P., Papageorgiou V.P.,Assimopoulou A.N., Boskou D.**(2006). Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*) *Food Chem.* **94**:19–25.
- **Anderson C.M ., Hallberg A., Hogberg T.**(1996). Advances in development of pharmaceutical antioxidants. *Adv. Drug. Res.*
- **Anonyme.**(1997).La création d'un verger. Spécial agrumes. Edité par le CNPA, Bir Mourad Raïs, Alger. page74.
- **Aouissa I.W.R.** (2002). Etude des activités biologiques et toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de *Mangifera indica* L.(anacardiaceae). Mémoire de doctorat.Université de Bamako.Mali. page127.
- **Apostolidis E., Kwon Y.I., Shetty K.**(2007).Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type II diabetes and hypertension. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies.***8**:46-54.
- **Arbos K.A., Claro L.M., Borges L., Santos C.A.M., Weffort-Santos A.M.**(2008).Human erythrocytes as a system for evaluating the antioxidant capacity of vegetable extracts. *Nutrition Research.***28**:457-463.
- **Aruoma O.I et coll., Agric J.**(1993).*Food. Chem.***41**:1880-1885.
- **Aurousseau B.** (2002). Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod. Anim,* **15(1)**: 67-82.

B

- **Barouki R., Morel Y.**(2001).Repression of cytochrome P450 1A1 gene expression by oxidative stress: mechanisms and biological implications. *BiochemPharmacol.***61**:511-516.

- **Barouki R.**(2006).Stress oxydant et vieillissement. *Medecine/Sciences*.**22(3)** :266-272.
- **Benarous K.**(2006).Effets des extraits de quelques plantes medicinales locales sur les enzymes alpha amylase, trypsine et lipase, mémoire d'Ingénieur d'état, Université Amar Telidji Laghouat, Algérie.
- **Benavente-Garcia O., Castillo J., Marin F R., Ortuno A and Del Rio J A.**(1997). Uses and properties of Citrus flavonoids. *J. Agric. Food Chem.***45**:4505-4515.
- **Benavente-Garcia O., Castillo J.**(2008).Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *J.Agric.Food.Chem.***56(6)**:185-205.
- **Benbrook M.** (2005). Accroitre la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed.Theorganic center .Pages 6-8.
- **Besançon P.**(2000). Effets bénéfiques pour la santé des fruits et des légumes. Alimentation méditerranéenne et santé : actualité et perspectives. Montpellier, John libbey. Pages 99-108.
- **Boukhobzalalia.**(2015).Mémoire : L'effet des sels minéraux du sol sur l'écologie de *Parlatoriaziziphi* (Homoptera : Diaspididae) dans un verger d'oranger à Rouïba. Page23.
- **Boudjellal K.** (2009).Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'*Elaeagnusangustifolia* L. Mémoire de Magister Université de Batna. pages 9-29-30.
- **Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H., Marzouk B.** (2008).Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Compte Rendu de Biologies* . **331** :48–55.
- **Bravo L.** (1998).Polyphenols: chemistry, dietary, sources, metabolism and nutritional significance, *Nutr.Rev.***56**:317-333.
- **Bruneton J.**(1993). Pharmacognosie: Phytochimie, Plantes médicinales. 2ème édition,Lavoisier Techniques & Documentation, Paris.

- **Cadet J., Vigny P.** (1990).The Photochemistry of Nucleic Acids. Dans : Bioorganic Photochemistry, Vol.1, (H. Morrison, Ed.) Wiley-Interscience, New-York, Chapter 1, pages 1-272.
- **Cano A., Medina and Bermejo A.** (2008).Bioactive Compounds in Different Citrus Varieties. Discrimination among Cultivars.Journal of Food Composition and Analysis. **21(5):377-381.**
- **Carriere A., Galinier A., Fernandez Y., Carmona M.C., Penicaud L., Casteilla L.** (2006).Les espèces actives de l'oxygène : le yin et le yang de la mitochondrie .Médecine/Sciences. **22(1) :47-53.**
- **Chaudière J., Gérard D.**(1988). Dosage de l'activité glutathion peroxydase. In : Biologie des lipides chez l'homme. Douste-Blazy et F Mendy, eds. Éditions Médicales Internationales, Technique & Documentation Lavoisier.Pages 275-9.
- **Chanforan C.**(2010) .Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénolique, carténoïde, vitamine C et E) au cours des procédés de transformation :études en systèmes modèles mis en point d'un modèle stoechiocinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate . Thèsedoctonale. Pages54-68, 84-88.
- **Chebil L.** (2006).Acylation des flavonoides par les lipases de Candida antarctica et de Pseudomonas cepacia: etudes cinétiques, structural et conformationnelle. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine
- **Cowan M.**(1999) .Plant products as antimicrobial agents.Clin.Microbiol.Rev.**12 (4):564-582.**

D

- **Dangles M O .,Gessner F., Guérold E .,Chauvet.** (2006).Unexpected mechanisms sustain the stress gradient hypothesis in a tropical alpine environment .page57.
- **Deena Ramfula., EvelyneTarnusb.,Okezie I., Aruomac., Emmanuel Bourdonb., TheeshanBahorund.**(2011).Food Research internationale. Composition de poly phénol, la teneur en vitamine C et de la capacité antioxydante de pulpes de fruits d'agrumes Maurice. **44 (7) :2088-2099**
- **Defraigne.,Pincemail.** (2008). Stress oxydatif et antioxydants mythes et réalités. Rev Med Liège .**63(S1) :10-19.**

- **Delattre J.** (2005).Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot D. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et pathologiques. Cachan : Lavoisier.
- **De moffarts B., Kirschvinki N., Pincemail J., Lekeux P.** (2005). Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. Ann MédVét. **9(149)** :1-9.
- **Desaulniers Marguerite., Dubost Mireille.** (2003).Table de composition des aliments,. Département de nutrition, Université de Montréal, Canada. **1**
- **Desceemaeker k.**(2004).Nutri- & Phytothérapie: développements récents. Ed. Garant. Pages 41-51.
- **Djeridane A., yousfi M., najjemi B., boutassouna D., stocker P., vidal N.** (2006).Antioxidant activity of some algian medicinal plants extracts containing phenolic compound, food chemistry. **97**:654-660.
- **Dr. Philippe Tacchini.** (2014).EDEL THERAPEUTICS, PSE-B, 1015 LAUSANNE.
- **Dwight J F, Hendry B M.**(1995).Effects of membrane incorporation of short-chain phospholipids on sodium pump function in human erythrocytes. ClinChimActa .

E

- **Edenharder R., Grünhage D.** (2003).Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumenehydroperoxide in Salmonella typhimuriumTA102. Mutat. Res. **540** :1-18.

F

- **Fain O.** (2004).Carences en vitamine C. Rev Médecine Interne. **25(12)** :872–80.
- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C.** (2008). Phenolic composition of Cynaracardunculus L. organs, and their biological activities. C. R. Biologies.**331**:372-379.
- **Favier A.** (2003).Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans lacompréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. Pages 108-115.
- **Foyer C.H., Lelandais M., Kunert K.J.**(1994). Photooxidative stress in plants. PhysiologiaPlantarum.**92**:696–717.

- **Frei B., Stocker R., England L., Ames B N.,** (1990). Ascorbate the most effective antioxidant in human blood plasma. *Adv. Med. Exp. Biol.***264**:155-163.
- **Fukumoto L.R., and Mazza G.** (2000) Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Page 48.

G

- **Garait B.**(2006).Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin [Thèse de doctorat en biologie cellulaire] université Joseph Fourier. Page195.
- **González-Molina E., Moreno D.A, García-Viguera C.**(2008).Genotype and harvest time influence the phytochemical quality of Fino lemon juice (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) for industrial use. *J Agric Food Chem.* **56(5)**:69-75.
- **Gow-Chin Yen., Pin-Der Duh., Hui-Ling Tsai.** (2002).*J. Food. Chem.***79**:307-313.

H

- **Harbone J.B.** (1993). *Introduction to Ecological Biochemistry*, 4th Ed; Academic Press:London.
- **Haleng I.; Defraigne .J.O ., Pincemail J.** (2007) .Stress oxydatif et antioxydants mythes et réalités. *Rev Med Liège* .**62(10)**:628-638.
- **Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F.** (2004). Polyphénols végétaux, sources,utilisations et potentielles dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. **1** :3-6.
- **Higashi-Okai K., Kamimoto K., Yoshioka A., Okai Y.** (2002). Potent suppressive activity of fresh and dried peels from Satsuma mandarin *Citrus unshiu* (Marcorv.) on hydroperoxide generation from oxidized linoleic acid. *PhytotherRes.***16**:781–784.
- **Hirschmann J.V., Raugi G.J., Adult Scurvy., J Am AcadDermatol.**(1999).**41(6)**:895–910.
- **.HollmanP.C.H .,Katan M.B.** (1998).Absorption, Metabolism, and Bioavailabiliy of Flavonoids. En: *Flavonoids in Health and Disease*. Ed. Marcel Dekker, INC. New York,**22** :483-522.

- **Hodek P., Trefil P., Stiborov A.M.,**(2002).Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem. Biol. Interact.***139**: 1–21.
- **Huet O., Duranteau J.** (2008).Endothélial dysfunction involvement of réactive oxygènespecies réanimation **17(4)** :357-392.

I

- **Ignat I., Volf I., Popa I.V.** (2011).A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry* .**126**:1821-1835.

J

- **Jacquemend C., et Blondel L**1986).Contribution a l'étude des portegreffes des agrumes. *Le Poncirustrifoliata* .page 41.
- **Jagetia G.C., Venkatesha V.A., Reddy T.K.**(2003). Naringin, a citrus flavonone, protects against radiation-induced chromosome damage in mouse bone marrow. *Mutagenesis* .**18(4)**:337–343.
- **Jean B.**(2009).Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.). Lavoisier,; Page 1289.
- **Joas J**(2009).Incidence de l'état physiologique de la mangue à la récolte sur sa maturation en cours de conservation. Thèse de doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- **Johnston C Thompson L**1998).Vitamin C Status of an Outpatient Population. *J Am CollNutr.* Aug. **17(4)**:66–70.
- **Jones DP et al.**(2002). Redox analysis of human plasma allows separation of pro-oxidant and dried peels from satsuma mandarin *Citrus unshiu* (Marcov.) on hydroperoxide generation from oxidized linoleic acid, *Phytother. RES.* **16**:781–784.
- **Jonsson G., Beyer J., Wells D., and Ariese F.**(2003). The application of HPLC-F and GCMS to the analysis of selected hydroxy polycyclic hydrocarbons in two certified fish bile reference materials. *Journal of Environmental Monitoring.* **5(3)**:513–520.
- **Julia Mouton.** (2012). Valorisation du citron citrus limon ; M2 – VRV .

K

- **Kessler M et coll.**(2002).Pharm. Pharmacol.**55**:1-11.
- **Kobayashi T., Tsunawaki S., Seguchi H.** (2001)- Evaluation of the process for superoxide production by NADPH oxidase in human neutrophils: evidence for cytoplasmic origin of superoxide. Redox Rep. **6**:27-36.
- **Kobayashi H., Oikawa S., Hirakawa K., Kawanishi S.**(2004).Muta. Res., **558**:111-120.
- **Knežević S.V., Blazekwic B., Stefan M.B., Babac M.** (2012).Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. In “Phytochemicals as nutraceuticals-global approaches to their role in nutrition and health. Edition VenketeshwerRao. Pages 155-180.

L

- **Lahouel M.**(2005).Interaction Flavonoïdes-Mitochondrie et rôle de la Propolis dans la prévention de l'apoptose induite par certains médicaments anticancéreux. Thèse de Doctorat d'Etat de L'Université de Constantine.
- **Laughton M.J et coll.**(1989).Biochem. Pharmacol. **38**:2859-2865.
- **Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y.** (2003).Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. J Agric Food Chem.**51**:7292–7295.
- **LE MüEl G., Savero T-Dauvergne A., Gausson T., Gueant J.L.** (1998). Le statut vitaminique: physiopathologie, exploration biologique et intérêt clinique. Éditions Médicales Internationales.
- **Leopoldini M., Russo N., Toscano M.** (2011).The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. Food Chemistry. **125**:288–306.
- **Lesgards J.F.** (2000).Contribution à l'étude du statut antioxydant de l'homme ; aspect chimiques et biochimiques. Thèse de doctorat. Pages 19-20.
- **Levine M.**(1986).New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid. N Engl J Med.**314**(14):892–902.
- **Linster C.L and Van Schaftingen E.**(2006).Glucuronate, the precursor of vitamin C, is directly formed from UDP-glucuronate in liver. FEBS J .**273**:1516-1527.
- **Lousser R.** (1989). les agrumes ,production .Ed.Sci .Univ. **2** :280 .

M

- **Madi A.** (2008).Caractérisation et comparaison du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de Magister Université de Constantine. Pages :12-15-18-19- 42-47-49.
- **MaamriS.** (2008). Etude de pistaciaatlantica de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de Magister Université de BOUMERDES. Pages :10, 11, 12, 35, 57.
- **Macheix J.J., FleurietA.Jay-Allemand C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique .Bio ed.pages 54-65.
- **Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P.** (2006). Les Polyphénols en agroalimenta
- **Marquez L.,Perez-Nievas I,Garate et al.** (2010). "Anti-inflammatory effects of Mangiferaindica L. extract in a model of colitis." World J Gastroenterol .**16** :4922-4931.ire, Lavoisier. Pages : 1-28.
- **Martin F.**(2003). Vannin-1, un nouveau régulateur moléculaire du stress oxydant .
- **Meghri H., Hajlaoui H., Akrou A., Najjaa H., Neffati M.**(2010). C. R. Chimie **13** :380-386
- **Middleton E., Kandaswami C.**(1994).Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. Food Technol.**48**:115–119.
- **Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S.**(2004). Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. PhytochemistryReviews. **3** :173-193.
- **Milbury P., Richer A.**(2008). Understanding the Antioxidant Controversy. Ed. Praeger. Page 81.
- **Morrow J.D.** (2000). The isoprostanes: their quantification as an index of oxidant stress status in vivo. Drug Metab Rev. **32**:377-385.
- **Mustafa A., El-Medany A., Hagar H H et al.**(2006)."Ginkgo biloba attenuates mucosal damage in a rat model of ulcerative colitis." PharmacolRes .**53**:324-330.

N

- **Naidu K.A.** (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery .An overview. *Nutr. J.* **21**: 2-7.
- **Nancy Terrier.** (2010). Les apports de la génomique pour comprendre la biosynthèse des poly phénols.
- **Nijveldt R., Van Nood E., Van Hoorn D., Boelens P., Van Norren K, Van Leeuwen P.** (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* **74(4)**:18-25.

O

- **Ortuno A., Baidez A., Gomez P., Arcas MC., Porras I., Garcia-Lidon A., Del Rio JA.** (2006). Citrus paradisi and Citrus sinensis flavonoids: Their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chem.* **98 (2)**:351-8.

P

- **Padayatty S.J., Katz A., Wang Y., Eck P., Kwon O., Lee J.H., Chen S., Corpe C., Dutta A., Dutta S.K and Levine M.** (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am Coll Nutr.* **22** :18-35.4
- **Pastorea A., Federicia G., Bertinib E., Piemonteb F.** (2003). Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clinica Chimica Acta* .**333**:19–39.
- **Pastre J., Priymenko N.**(2007). Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* **(4)** :187.
- **Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne JO.**(1999). L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons.* **4(5)** :133- 8
- **Praloran J.C.**(1971). les agrumes technique agricole et production tropicale .Ed Maisonneuve et Larose , Paris. Page 561.
- **Prochazkova D., Bousova I., Wilhelmova N.** (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* .**82** : 513-523.

R

- **Raccah D.** (2004). Epidémiologie et physiopathologie des complications dégénératives du diabète sucré. *EMC-Endocrinologie*.**1(1)** :29-42.
- **Rahman I.**(2002).Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive. pulmonary disease: antioxidant therapeutic target. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*.**1(3)**:291-315.
- **Raskin I., Ribnicky D.M., Komarnytsky S., Ilic N., Poulev A., Borisjuk N., Brinker A.** (2002).Plants and human health in the twenty –first century trends biotechnol.**20**:522-531.
- **Rice-Evans C.A., Miller N.J and Paganga J.** (1996).Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med*. **20**:933-956.
- **Robert F., Bebin K., Garrau J.M., Gueriot J.F., Foret R., Brack M., Garrel C.** (2009). Evaluation et correction du stress oxydatif du porcelet en post-sevrage.**41** :173-178.

S

- **Sayre L.M., Moreira P.I., Smith M.A., Perry G.** (2005).Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*. **41(2)**:143-164.
- **Sertejn D., Mouithys-Mickalad A., Franck T., Grulke S., Lamy M., Deby C., Dupont G.** (2002).La nature chimique et la réactivité de l'oxygène. *Ann MédVét*. **17(146)** :137-153.
- **Servais.**(2004). Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga 3 [thèse de doctorat]. Université - Claude Bernard Lyon. **1** :63.
- **Schlienger J.L., Monnier L.** (2011).The history of the discovery of vitamins. **5(6)**:593-597
- **Shela Gorinsteina., Olga Martin-Bellosob., Yong-Seo Parcamenagée, Ratiporn Haruenkitd., Antonin Lojeke., Milan Cize., Abraham Caspif., Imanuel Libmanf., Simon Trakhtenbergf.** (2001).Chimie alimentaire. Comparaison de certaines caractéristiques biochimiques des différents agrumes.**74(3)**:309-315.
- **Steptoe A et al.**(2003). Behavioural counseling to increase consumption of fruit and vegetables in low income adults :randomised trial.*BMJ*. pages 61,326,855

T

- **Tanaka T.**(1977) .Fundamental discussion of citrus classification .stud citrologia.**14**:1-6
- **Tanguy M.** (2009). Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation .Médecine. **5(6)** :256-260.
- **Therond P.**(2006). Stress oxydant: Dommages créé aux biomolécules (lipides, protéines, ADN). Annales pharmaceutiques françaises. **64** :383-389.
- **Thomas Desmier.**(2016).Les Antioxydants De Nos Jours : Definition Et Applications. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie.Page55.
- **Toussant B.** (2008). Oxygène et stress oxydants, Faculté de Médecine de Greenble (UJF), Université Jose Ph.Furier,page19.
- **Turkmen N., Velioglu Y.S., Sari F., Polat G.** (2007).Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. Molecules.**12**:484-496.

V

- **Valko M., Rhodes, C J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M.,** (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chem. Biol Interact, **160**:1–40.
- **Vignais P.V.,** (2002).The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism. Cell Mol Life Sci.**59 (9)**:1428-59.

W

- **Winkel-Shirley B.**(2001).Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology. Plant Physiol. **126**:485-93.

X

- **Xu G.H., Ryoo I.J., Kim Y.H., Choo S.J., Yoo I.D.** (2009).Free radical scavenging and antielastase activities of flavonoids from the fruits of Thujaorientalis. Arch Pharm Res. févr. **32(2):**275-82.

Y

- **Yao L.H., Jiang Y.M., SHI J., Tomas-Barberan F.A., Datta N., Singanusong R., Chen S.S.,**(2004).Flavonoids in Food and their health benefits. Plant.FoodHuman.Nutrition, **59:**113-122.
- **Yen G.C et coll.**(1997).J.Agr. Food Chem.vol:45, 30-34.
- **Yusof S., MohdGhazali H., Swee King G.** (1990).Naringin content in local citrus fruits. FoodChemistry, **37:**113-121.

Z

- **Zino S et al.** (1997).RandomisedControlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentration of lipids and antioxidant.BMJ. **91:**314-1787.



INTRODUCTION GENERALE



ETAT ACTUEL DE SUJET



MATERIEL ET MMETHODES



RESULTATS



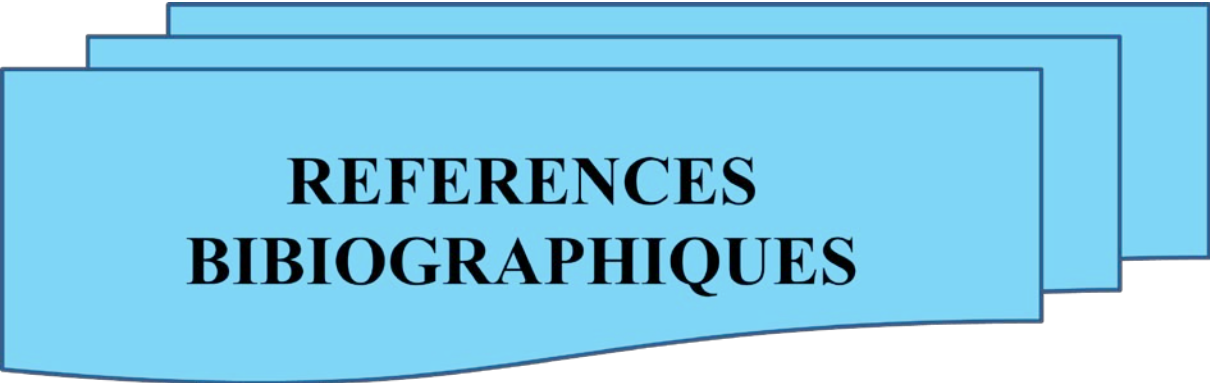
INTERPRETATION



DISCUSSION



**CONCLUSION ET
PERSPECTIVES**



**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Résumé :

Dans ce travail nous avons choisi d'utiliser une espèce de citron « *Citrus Limon* planté à Tlemcen de la famille de rutacée

Les composés antioxydants font l'objet de nombreux travaux car, en plus de leurs utilisations comme des conservateurs dans les denrées alimentaires en remplaçant les antioxydants de synthèse, ils interviennent dans le traitement de nombreuses maladies.

Ce travail a pour but d'évaluer le taux des poly-phénols et de la vitamine C dans l'écorce fraîche, et sèche de citron ainsi que la détermination des propriétés chimiques par le test du DPPH et biologiques in vitro (Activité antioxydante et hémolytique). Les résultats obtenus montrent la richesse de *citrus limon* en poly-phénols dont la teneur varie entre 3210.15 à 55367.59 µg EAG/ mg. Les teneurs en vitamine C dans le citrus limon sont comprises entre 295.68g/kg et 364g/kg.

Les méthodes de l'activité anti-oxydante montrent que les extraits de citron étudiés présentent des propriétés anti-oxydantes, un fort piégeage du radical DPPH, une diminution de l'hémolyse, une augmentation du GSH et la diminution du MDA.

Les résultats de la présente étude nous permettent de conclure que l'écorce du citron constitue une bonne source en divers antioxydants et une bonne activité biologique antioxydante.

Mots clés : citrus limon ; polyphénols ; citroflavonoïdes ; vitamine C ; activité anti-oxydante

Abstract:

The antioxidant compounds are the subject of numerous studies because, in addition to their use as preservatives in foods by replacing synthetic antioxidants, they are involved in the treatment of many diseases.

The purpose of this work was to evaluate the levels of polyphenols and vitamin C in fresh, and dry bark as well as the determination of chemical properties by the DPPH test and biological in vitro (Oxidative and hemolytic). The results obtained show the richness of citrus silt in polyphenols whose content varies between 3210.15 and 55367.59 µg EAG / g. Vitamin C in citrus silt is between 295.68g / kg and 364g / kg.

The methods of antioxidant activity show that the lemon extracts studied have antioxidant properties, a strong trapping of the DPPH radical, a decrease in hemolytic, an increase in GSH and a decrease in MDA.

The results of this study allow us to conclude that lemon bark are a good source of various antioxidants..And good antioxidant biological activity.

The Key words:polyphenols;citroflavonoids;vitaminC;lemon; antioxidant activity;

الملخص:

المركبات المضادة للأكسدة هي موضوع العديد من الدراسات لأنه بالإضافة إلى استخدامها كمواد حافظة في الأغذية بديلاً للمواد المضادة للأكسدة الاصطناعية، تستعمل كذلك في علاج الكثير من الأمراض.

يهدف هذا العمل إلى تحديد كمية البوليفينول و فيتامين سي في قشور الليمون و تحديد الخصائص الكيميائية من خلال اختبار ال DPPH في المخبر (النشاط المضاد للأكسدة , منع انحلال الدم).

و أظهرت النتائج المتحصل عليها أن الليمون غني بالبوليفينول الذي يتراوح بين 3210.15-55367.59 ميكروغرام /غرام, و يحتوي على فيتامين سي بكمية تتراوح بين 295.68غرام/كيلوغرام و 364غرام/كيلوغرام.

أظهرت الأساليب المضادة للأكسدة بان الليمون الذي درس لديه خصائص مضادة للأكسدة و باستطاعته محاصرة جذر DDPH تخفيض انحلال الدم, رفع مستوى GSH و تخفيض ال MDA.

نتائج هذه الدراسة تسمح لنا باستنتاج أن قشور الليمون مصدراً جيداً لمختلف المواد المضادة للأكسدة مع نشاط بيولوجي جيد مضاد للأكسدة. **كلمات مفتاحية:** البوليفينول, فيتامين سي, الليمون, النشاط المضاد للأكسدة